

**SULU ORTAMDA RADYASYONLA BAŞLATILAN ÇAPRAZ
BAĞLANMA İLE İNTERPOLİMER KOMPLEKSLERDEN
NANOJEL HAZIRLANMASI, KARAKTERİZASYONU VE
FARMASÖTİK KULLANIMI**

**PREPARATION OF NANOGELS BY RADIATION-INDUCED
CROSS-LINKING OF INTERPOLYMER COMPLEXES IN
AQUEOUS MEDIUM, THEIR CHARACTERIZATION AND
PHARMACEUTICAL USE**

MOHAMMADREZA GHAFARLOU

Prof. Dr. OLGUN GÜVEN

Tez Danışmanı

Hacettepe Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin

Kimya Anabilim Dalı İçin Öngördüğü

DOKTORA TEZİ Olarak hazırlanmıştır.

2022

ÖZET

SULU ORTAMDA RADYASYONLA BAŞLATILAN ÇAPRAZ BAĞLANMA İLE İNTERPOLİMER KOMPLEKSLERDEN NANOJEL HAZIRLANMASI, KARAKTERİZASYONU VE FARMASÖTİK KULLANIMI

MOHAMMADREZA GHAFARLOU

Doktora, Kimya Bölümü

Tez Danışmanı: Prof. Dr. OLGUN GÜVEN

Haziran 2022, 261 Sayfa

Nanojellerin boyutu, yüzey yükü ve işlevselliği spesifik ilaç dağıtım uygulamaları için kontrol edilmesi gereken en önemli özelliklerdir. Boyut, nanojellerin oluşumu esnasında uygulanan deneysel parametrelerin (pH, molekül ağırlığı, çözücü, gibi) ayarlanması ile kontrol edilebilir. Yüzey yükü, katyonik veya anyonik monomer veya polimer kullanarak ayarlanabilmektedir. İşlevsellik ise, hali hazırda oluşturulmuş nanojellerin kimyasal modifikasyonu veya belirli işlevsellikler taşıyan polimerlerden yola çıkarak nanojellerinin elde edilmesi ile sağlanabilir. Nanojellere uyaranlara duyarlılık gibi akıllı özellikler kazandırmak için fonksiyonel gruplar kullanılır. Bu gruplar, hedeflenen bölgelerde biyoaktif türlerin kontrollü salımı için son derece önemli olan pH, sıcaklık, iyonik şiddet, elektromanyetik alan, ışık vb. farklılıklara yanıt verebilmeleri için nanojellerin yapısına eklenebilir. Bu üç önemli özelliği (boyut, yüzey yükü ve işlevsellik) interpolimer kompleks (IPC) oluşumu yaklaşımı ile nanojellerin yapısına kazandırmak mümkündür.

Poli(akrilik asit) (PAA) pH duyarlı, biyouyumlu, hidrofilik ve anyonik bir polielektrolittir. Bu avantajlı özelliklerine bağlı olarak, ilaç taşıyıcı sistemlerde oldukça geniş bir kullanım alanına sahiptir. Poli(N-vinilimidazol) (PVI_m), su içinde polikasyon olarak davranan, hidrofilik, biyouyumlu ve pH'a karşı duyarlı zayıf bir polibazdır ve ilaç taşıyıcı sistemlerde sıklıkla kullanılmaktadır. Poli(N-vinil pirolidon) (PVP), iyonik olmayan, biyouyumlu, biyobozunur ve toksik olmaması nedeni ile FDA tarafından onaylanan sentetik polimerlerden biridir ve gıda sektörünün yanı sıra ilaç, kozmetik, farmasötik ve biyomedikal uygulamalarda yaygın olarak kullanılmaktadır. PAA, PVP ve PVI_m'ın sahip oldukları avantajlı özelliklerine bağlı olarak, bu polimerlerden oluşacak PAA-PVP ve PAA-PVI_m gibi ikili interpolimer kompleksler, nanojel sentezi için umut vadetmektedirler. Bu tez çalışmasında, radyasyonla başlatılan çapraz bağlanma yöntemi ile biyouyumlu, işlevselleştirilmiş interpolimer kompleks (IPC) nanojellerinin sentezi, BSA adsorpsiyonu ve ilaç taşıyıcı özellikleri incelenmiştir.

Çok fonksiyonlu PAA-PVP ve PAA-PVI_m IPC nanojelleri radyasyonla başlatılan çapraz bağlanma yöntemi ile, herhangi bir monomer, başlatıcı, çapraz-bağlayıcı ya da diğer tür bir kimyasal ajan kullanılmadan hazırlanmıştır. Bu yöntem, nanojellerin daha yeşil bir kimya protokolü ile elde edilmesine ve çapraz bağlanma derecesinin kontrolüne olanak sağladığı için tercih edilmiştir. PVP, PAA ve PVI_m'ın sulu çözeltilerinin termodinamiğini kontrol etmek, IPC yumak boyutlarının da kontrolünü sağlar. IPC yumakları, elde edilecek IPC nanojellerinin öncülü olduğundan, yumak boyut kontrolü aynı zamanda nanojellerin boyut kontrolünü de mümkün kılmaktadır. Tez çalışmasında, PVP, PAA ve PVI_m'ın aseton/su ortamında seyreltik çözeltileri hazırlanıp, farklı koşullarda (pH, derişim, molekül ağırlığı, ekleme sırası, karışım oranı, iyonik şiddet, sıcaklık ve aseton oranı) oluşan IPC'lerin boyutları Dinamik Işık Saçılması (DLS) tekniği ile incelenmiştir. PVP ve PVI_m çözeltileri, PAA çözeltisi ile etkileştirilip IPC'ler hazırlanmıştır. Hazırlanan IPC örneklerinin DLS ile boyut dağılımı ve kompleks kararlılıkları analiz edilmiştir. İkinci aşamada hazırlanan kompleksler, radyasyona maruz bırakılarak yumak- içi çapraz bağlanmış ve IPC nanojelleri elde edilmiştir. Yumak- içi çapraz bağlanma gerçekleştiği için nanojel boyutları, kendilerini oluşturan IPC yumak boyutundan daha küçük olmuştur. Bu IPC nanojelleri, interpolimer komplekslerin 0,022 kGy/saat doz hızına sahip ⁶⁰Co gama kaynağında, 3, 5, ve 10 kGy ışınlaması ile elde edilmiştir. Işınlama sonrası yumak içi oluşan çapraz bağlardan dolayı büzülme meydana gelmiş ve geniş boyut (30-300 nm) aralığına ve -7 ile

-44 mV aralığında değişen yüzey yüküne sahip nanojeller elde edilmiştir. Sentezlenen IPC nanojellerin şişmesini ve yumak iēi çapraz bağlanmasını kontrol etmek iēin pH, sıcaklık ve iyonik şiddet etkileri araştırılmıştır. Işınlanarak sentezlenen IPC nanojellerinin boyut kontrolü sağlandıktan sonra nanojeller, Dinamik Işık Saçılması (DLS), Taramalı Elektron Mikroskopi (SEM) ve atomik kuvvet mikroskobu (AFM) kullanılarak karakterize edilmiştir. Sentezlenen IPC nanojellerin ilaē taşıyıcı sistem olarak performansları, BSA varlığında ve BSA'sız koşullarda, kurkumin yükleme ve salım çalışmaları ile incelenmiştir.

Anahtar Kelimeler: İnterpolimer kompleksleri, Poli(akrilik asit), Poli(N-vinyl pirolidon), Poli(N-vinilimidazol), Radyasyonla nanojel sentezi, Dinamik Işık Saçılması (DLS), atomik kuvvet mikroskobu (AFM), Bovin serum albümin (BSA), Kurkumin

ABSTRACT

PREPARATION OF NANOGELS BY RADIATION-INDUCED CROSS-LINKING OF INTERPOLYMER COMPLEXES IN AQUEOUS MEDIUM, THEIR CHARACTERIZATION AND PHARMACEUTICAL USE

MOHAMMADREZA GHAFARLOU

Doctor of Philosophy, Department of Chemistry

Supervisor: Prof. Dr. OLGUN GÜVEN

June 2022, 261 Pages

The size, surface charge and functionality of nanogels are the most important properties to be controlled for specific drug delivery applications. The size can be controlled by adjusting the experimental parameters (such as pH, molecular weight, solvent) applied during the formation of nanogels. Surface charge can be controlled by using cationic or anionic monomers or polymers in nanogels. Functionality can be introduced using chemical modification of already formed nanogels or polymers with specific functionalities. Functional groups are used to impart stimulus-responsive properties to nanogels. These structures are extremely important for the controlled release of bioactive species in targeted areas such as pH, temperature, ionic strength, electromagnetic field, light, etc. can be incorporated into the structure of nanogels so that they can respond to differences. It is possible to bring these three important features (size, surface charge and functionality) to the structure of nanogels with the approach of interpolymer complex (IPC) formation.

Poly(acrylic acid) (PAA) is a pH sensitive, biocompatible, hydrophilic and anionic polyelectrolyte. For these reasons, it has a wide range of use in drug delivery systems. Poly(N-vinylimidazole) (PVIIm) is a weak polybase, polycation in water, hydrophilic, biocompatible and pH sensitive and it is widely used in drug carriers. Poly(N-vinyl pyrrolidone) (PVP) is one of the synthetic polymers approved by the FDA because it is non-ionic, biocompatible, biodegradable, and non-toxic and it is widely used in pharmaceutical and biomedical applications, as well as in the food industry. Due to these advantageous properties of PAA, PVP and PVIIm, the interpolymer complexes formed by two of these polymers such as PAA-PVP and PAA-PVIIm are quite promising for future nanogel synthesis. In this thesis study, the synthesis, BSA adsorption and drug carrier properties of biocompatible, functionalized interpolymer complex nanogels by the radiation-initiated cross-linking method were aimed.

Multifunctional PAA-PVP and PAA-PVIIm interpolymer complex (IPC) nanogels by radiation-initiated crosslinking method were prepared without the use of any monomers, initiators, cross-linking agents, or other chemical agents. This method was preferred because it allows nanogels to be obtained with a greener chemistry protocol and to control the degree of crosslinking. Controlling the thermodynamics of aqueous solutions of PVP, PAA, and PVIIm allows control of IPC coil sizes. Because IPC coils are the precursors of IPC nanogels to be obtained, spherical size control also enables the size control of nanogels. In this study, dilute solutions of PAA, PVP and PVIIm in an acetone/water environment were prepared and IPCs prepared under different conditions (concentration, pH, molecular weight, addition order, mixing ratio, ionic strength, temperature, and acetone ratio) were investigated by Dynamic Light Scattering (DLS) technique. Interpolymer complexes were prepared by interacting PVP and PVIIm solutions with PAA solution. The size distribution and complex stability of the prepared IPC samples were analyzed by DLS. In the second step, the prepared IPCs were exposed to radiation, yielding cross-linked interpolymer complex nanogels. Nanogel sizes were smaller than their constituent IPC coils as intra-coil crosslinking took place. IPC nanogels were obtained by irradiating the IPC coils at 3, 5, and 10 kGy in a ^{60}Co gamma source with a dose rate of 0.022 kGy/h. After irradiation, shrinkage occurred due to the cross-links formed in the coils, and nanogels with wide size distribution (30-300 nm) and surface charge ranging between -7 and -44 mV were obtained. The effects of pH, temperature and ionic strength were investigated to control swelling and intra-coil

crosslinking of synthesized IPC nanogels. After the size control of the irradiated IPC nanogels was achieved, they were characterized using DLS, Scanning Electron Microscopy (SEM) and Atomic Force Microscopy (AFM). The synthesized IPC nanogels were loaded with curcumin to obtain a drug carrier system in the presence and absence of BSA, and their release studies were investigated.

Keywords: Interpolymer complexes, Poly(acrylic acid), Poly(N-vinyl pyrrolidone), Poly(N-vinylimidazole), Radiation induced nanogel synthesis, Dynamic Light Scattering (DLS), Atomic Force Microscopy (AFM), Bovine serum albumin (BSA), Curcumin

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam boyunca sabrı ve ilgisi ile daima yanımda olan bilgi ve tecrübesi ile yolumu aydınlatan, yanında çalışmaktan onur duyduğum ve prensibi ile hayatımın her döneminde örnek almaya devam edeceğim Değerli Hocam, Sayın Prof. Dr. Olgun Güven’e,

Tez yazım aşamasında Türkçe bozuklarımı düzelten ayrıca her türlü yardımlarından dolayı bilgi ve deneyimini paylaştığı için Prof. Dr. Murat Barsbay’a,

Çalışmalarım sırasında vermiş oldukları yardımlarından dolayı Dr. Feyza Genç Kırac, Dr. Semiha Duygu Sütekin ve polimer grubu üyelerine,

Herşeyi onlara borçlu olduğum, bugüne kadar eğitim öğretim hayatım boyunca maddi manevi hiçbir desteği esirgemeyen, hayallerimi yaşamam için yıllardır uzak kaldığım ve sevgileri sayesinde kendimi bulduğum canım aileme,

Desteklerini her an hissettiren ve maddi ve manevi her zaman yanımda olan canım kardeşim, Ramin Ghaffarlou’a,

Çalışmalarım sırasında manevi desteklerinden ve sabrından dolayı ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen hayat yoldaşım Negar Habibzadeh’ye,

Beni ben yapan bugüne kadar hep yanımda olan ve beni bu zorlu süreçte yalnız bırakmayan Kendim’e,

sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	iv
TEŞEKKÜR	vii
İÇİNDEKİLER	viii
ŞEKİLLER	xii
ÇİZELGELER	xxi
SİMGELER VE KISALTMALAR	xxv
1. GİRİŞ	1
2. İNTERPOLİMER KOMPLEKSLERİ	5
2.1. İnterpolimer komplekslerin sınıflandırılması	5
2.1.1. Hidrojen bağı kompleksler	5
2.1.1.1. Hidrojen bağı komplekslerinin oluşumu	9
2.1.2. Polielektrolit kompleksler	11
2.1.2.1. Polielektrolit komplekslerin (PEC) oluşum mekanizması	13
2.1.2.2.1. Ekleme sırası	16
2.1.2.2.2. pH'nın etkisi	17
2.1.2.2.3. Polielektrolit konsantrasyonunun etkisi	19
2.1.2.2.4. Polielektrolit molekül ağırlıklarının etkisi	20
2.1.2.2.5. İyonik şiddet etkisi	21
2.1.2.2.6. Yük yoğunluğu etkisi	23
2.1.2.2.7. Polielektrolit kompleks oluşumunu etkileyen diğer parametreler	23
2.1.3. Stereo kompleksler	25
2.1.4. Yük transfer kompleksleri	25
3. NANOJELLER	26
3.1. Nanojellerin Sentez Yöntemleri	27
3.1.1. Çapraz Bağlanma Polimerizasyon	28
3.1.1.1. Serbest Radikal Polimerizasyonu	28
3.1.1.2. Anyonik Polimerizasyon	29
3.1.1.3. Emülsiyon Polimerizasyonu	30
3.1.1.4. Yığın içinde Serbest Radikal Polimerizasyonu	31
3.1.1.5. Klasik Olmayan Başlatıcılarla Polimerizasyon	31
3.1.2. Polimerlerin İntramoleküler Çapraz Bağlanması	32

3.1.2.1. Kimyasal Zincir-içi Çapraz Bağlanma	32
3.1.2.2. Radyasyonla İntramoleküler Çapraz Bağlama	32
3.2. Sulu Sistemlerin Radyasyon Kimyası	34
3.2.1. Aseton Etkisi	39
3.3. NANOJELLERİN UYGULAMA ALANLARI	40
4. İLAÇ SALIMI	41
5. DENEYSEL ÇALIŞMALAR	45
5.1. Kimyasallar	45
5.2. Kullanılan Polimerlerin, BSA'nın ve kurkuminin kimyasal yapıları ve özellikleri.....	46
5.3. İnterpolimer Kompleks Nanojellerinin Hazırlanması	50
5.4. IPC ve IPC Nanojellerin Karakterizasyonu	51
5.4.1. Dinamik Işık Saçılması (DLS).....	51
5.4.2. Atomik Kuvvet Mikroskopisi (AFM).....	52
5.4.3. Taramalı Elektron Mikroskopisi (SEM)	52
5.5. IPC Nanojellerine Protein ve İlaç Yükleme ve Salım Çalışmaları	52
5.5.1. BSA'nın adsorpsiyonu	52
5.5.2. Kurkumin Yükleme	52
5.5.3. İlaç Salımı	53
5.5.4. Lüminesans Spektroskopisi	54
6. SONUÇLAR VE TARTIŞMA	57
6.1. Poli(akrilik asit) - poli(N-vinil pirolidon) (PAA-PVP) nanojellerin interpolimer komplekslerinden (IPC) radyasyona bağlı çapraz bağlanma yöntemi ile hazırlanması.....	57
6.1.1. Polimer konsantrasyonunun pH ve iletkenlik üzerindeki etkisi	57
6.1.2. Asetonun (PAA-PVP) IPC'lerin boyutuna etkisi	59
6.1.3. PAA ve PVP interpolimer komplekslerinin oluşumu.....	65
6.1.4. İnterpolimer komplekslerin oluşumunu ve boyutlarını etkileyen faktörler	66
6.1.4.1. pH	66
6.1.4.2. Molekül ağırlığı	68
6.1.4.3. Konsantrasyon	70
6.1.4.4. Karışım oranının etkisi	71
6.1.5. PVP-PAA IPC nanojellerin radyasyonla hazırlanması.....	72
6.1.5.1. PVP-PAA IPC'lerin Işınlanması	72
6.1.5.2. PAA-PVP IPC ve IPC nanojellerinin AFM ve SEM Analizleri	86
6.1.6. PAA-PVP Nanojellerinin şişmesini etkileyen faktörler	91
6.1.6.1. PAA-PVP IPC ve IPC Nanojellerine pH'ın Etkisi	91

6.1.6.2. Sıcaklığın PAA-PVP IPC ve IPC Nanojellerine Etkisi	95
6.1.6.3. İyonik Şiddetin PAA-PVP IPC ve IPC Nanojellerine Etkisi	100
6.1.7. IPC ve IPC nanojellerinin depolama kararlılığı.....	103
6.1.8. İlaç Salım Çalışmaları.....	104
6.1.8.1. BSA'nin Kontrollü adsorpsiyonu	104
6.1.8.2. Kurkuminin BSA'sız ve BSA varlığında PAA-PVP IPC nanojellerine yüklenmesi	120
6.1.8.3. Kurkuminin BSA'sız ve BSA varlığında salımı	122
6.1.8.3.1. NG(PAA-PVP)/KK sistemi	122
6.1.8.3.2. NG(PAA-PVP) / BSA-KK sistemi	125
6.1.8.4. Kurkuminin Salım Kinetiklerinin İncelenmesi	127
6.2. Poli(akrilik asit) - poli(N-vinil imidazol) (PAA-PVIm) nanojellerin interpolimer komplekslerinden (IPC) radyasyona bağlı çapraz bağlanma yöntemi ile hazırlanması.....	138
6.2.1.Kullanılan Polimerlerin konsantrasyonu ile pH ve iletkenliği arasındaki ilişki	138
6.2.2. Asetonun (PAA-PVIm) IPC'lerin boyutuna etkisi.....	141
6.2.3. PAA ve PVIm interpolimer komplekslerinin oluşumu.....	146
6.2.4. PAA ve PVIm interpolimer komplekslerinin oluşumunu ve boyutlarını etkileyen faktörler.....	147
6.2.4.1. Ekleme sırası ve Karışım oranının etkisi.....	148
6.2.4.2. pH	160
6.2.4.3. Polielektrolit derişimi	163
6.2.4.4. Polielektrolit molekül ağırlığı.....	165
6.2.5. (PAA - PVIm) IPC nanojellerin radyasyonla hazırlanması.....	168
6.2.5.1. (PAA-PVIm) IPC'lerin Işınlanması	168
6.2.5.2. PAA-PVIm IPC ve IPC nanojellerinin AFM ve SEM Analizleri	181
6.2.6. (PAA-PVIm) IPC nanojellerinin şişmelerini etkileyen faktörler	186
6.2.6.1. (PAA-PVIm) IPC ve IPC nanojellerine pH'ın Etkisi	186
6.2.6.2. İyonik şiddetin (PAA-PVP) IPC ve IPC Nanojellerine Etkisi	189
6.2.6.3. Sıcaklığın IPC ve IPC (PAA-PVIm) Nanojellerine Etkisi	192
6.2.7. PAA-PVIm IPC ve IPC nanojellerinin depolama kararlılığı.....	196
6.2.8. İlaç Salım Çalışmaları.....	198
6.2.8.1. BSA'nin Kontrollü adsorpsiyonu	198
6.2.8.2. Kurkuminin BSA'sız ve BSA varlığında (PAA-PVIm) IPC nanojellerine yüklenmesi.....	209
6.2.8.3. Kürkuminin BSA'sız ve BSA varlığında salımı	211

6.2.8.3.1. NG(PAA-PVIm) /KK sistemi	211
6.2.8.3.2. NG(PAA-PVIm) / BSA-KK sistemi	213
6.2.8.4. Kurkuminin Salım Kinetiğinin İncelenmesi.....	215
7.TOPLU SONUÇLAR.....	224
KAYNAKLAR.....	229
EKLER	259
EK 1 - Tezden Türetilmiş Yayınlar.....	259
EK 2 - Tez Çalışması Orjinallik Raporu	260
ÖZGEÇMİŞ.....	261



ŞEKİLLER

Şekil 2.1. Hidrojen bağı IPC oluşumunun şeması (daireler çözücü molekülleridir) [15].	10
Şekil 2.2. PAA'nın pH'a bağlı olarak PVA ile hidrojen bağı komplekslerin oluşumu.....	10
Şekil 2.3. Farklı pH değerlerinde PAA/PEO hidrojen bağı komplekslerin yapısı.	11
Şekil 2.4. Elektrostatik (Coulomb) etkileşimler yoluyla karşıt yüklü polielektrolitlerden oluşan Polielektrolit kompleks nanoparçacıklarının oluşumu.	12
Şekil 2.5. Polikasyonların ve polianyonların karıştırılması sırasında polielektrolit kompleks parçacık oluşumunu ve ardından agregatların oluşumunu gösteren şematik reaksiyon [56].	15
Şekil 2.6. İki tip polielektrolit kompleks yapısı (a) “merdiven” modelinin ve (b) “çırpılmış yumurta” modelinin şematik gösterimi [57].	15
Şekil 2.7. PEC'lerin oluşumunu ve stabilitesini etkileyen çeşitli faktörlerin gösterimi [69].	17
Şekil 3.1. Radyasyonla başlatılan moleküller arası ve moleküller içi çapraz bağlamanın şematik gösterimi.	34
Şekil 3.2. Suyun ısıtılması ile oluşan geçiş türlerinin radikal süpürücü olarak işlev gören seyreltilmiş S'li ve S'siz reaksiyonlarının şematik şeması [129]. S radikal süpürücü olarak davranan seyreltik çözünen.	37
Şekil 5.1. PVP'nin, pirolidon halkasında keto-enol totomerizmi.	46
Şekil 5.2. Sulu ortamda PAA'nın yapısal formülü.	47
Şekil 5.3. Sulu ortamda PVIm'un yapısal formülü.	48
Şekil 5.5. Kurkuminin kimyasal yapısı.	49
Şekil 5.6. Sığır Serum Albümin'in şematik görünümü	50
Şekil 5.7. İlaç Salım Hücresi.	54
Şekil 5.8. Farklı derişimlere sahip BSA çözeltilerin lüminesans spektrumları.	55
Şekil 5.9. Farklı derişimlerdeki BSA çözeltilerinin lüminesans spektrumları kullanılarak hazırlanmış kalibrasyon eğrisi.	55
Şekil 5.10. Farklı derişimlere sahip kurkumin çözeltilerinin lüminesans spektrumları.	56
Şekil 5.11. Farklı derişimlerdeki kurkumin çözeltilerinin lüminesans spektrumları kullanılarak hazırlanmış kalibrasyon eğrisi.	56
Şekil 6.1. PAA'ın (250.000 g/mol) sulu çözeltilerinin farklı konsantrasyonlardaki pH ve iletkenlik değerleri.	58

Şekil 6.2. PVP'nin (360.000 g/mol) sulu çözeltilerinin farklı konsantrasyonlardaki pH ve iletkenlik değerleri.....	58
Şekil 6.3. (PAA-PVP) IPC'lerin 1:1 stokiyometrik oranda sulu çözeltilerinin farklı konsantrasyonlardaki (0.3, 0.5, 0,7 1.0, 1 .5 ve 2.0 mg/mL) pH ve iletkenlik değerleri.....	59
Şekil 6.4. %0, %10, %15, %20, %25, %30 ve %40 (v/v) hacim oranına sahip su ve su/aseton çözeltilerindeki 1.0 mg/mL PAA'nın dinamik ışık saçılması tekniği ile ölçülen yumaklarının boyut dağılımı. (PAA'nın 1.0 mg/mL sulu çözeltisinin pH değeri 3.42'dir ve aseton varlığında pH önemsenmeyecek kadar az değişmiştir).	60
Şekil 6.5. %0, %10, %15, %20, %25, %30 ve %40 (v/v) hacim oranına sahip su ve su/aseton çözeltilerindeki 1.0 mg/mL PVP'nin dinamik ışık saçılması tekniği ile ölçülen yumaklarının boyut dağılımı. (PVP'nin 1.0 mg/mL sulu çözeltisinin pH değeri 6.27'dir).....	61
Şekil 6.6. Aseton konsantrasyonunun, PVP, PAA ve (PAA-PVP) IPC'nin yumak boyutuna, aseton / su karışımlarının karşılık gelen çözünürlük parametreleri (δ) ile olan etkisi.....	62
Şekil 6.7. IPC'lerin çok aşamalı oluşumunu gösteren diyagram.	65
Şekil 6.8. pH'ın PVP-PAA interpolimer kompleksi oluşumu üzerine etkisi, (kullanılan polimer konsantrasyonu 1.0 mg/mL, %25 aseton, PAA 250.000 Mw ve PVP 360.000 Mw)	67
Şekil 6.9. PVP molekül ağırlığının (Mw) IPC (PVP-PAA) partikül büyüklüğü (PAA molekül ağırlığı 250.000 Mw) üzerindeki etkisi. Tüm çözeltiler %25 aseton oranında hazırlanmışlar. .	69
Şekil 6.10. PVP molekül ağırlığının (Mw) IPC (PVP-PAA) partikül büyüklüğü (PAA molekül ağırlığı 8.000 Mw) üzerindeki etkisi. Tüm çözeltiler %25 aseton oranında hazırlanmışlar.	69
Şekil 6.11. IPC (PAA-PVP) partikül büyüklüğüne konsantrasyonun etkisi. Tüm polimer konsantrasyonları hem PVP hem PAA 1:1 oranda olduğu, %25 aseton çözeltilerinde hazırlanmışlar, Kullanılan polimerlerin molekül ağırlıkları PAA için 250.000 g/mol, PVP için ise 360.000 g/mol'dür.....	70
Şekil 6.12. PVP-PAA nanojellerinin radyasyona bağlı oluşumu için önerilen şema.....	73
Şekil 6.13. Toplam absorplanan dozun IPC1 nanojellerinin ortalama boyutları üzerindeki etkisi. (PAA 250.000 g/mol ve PVP 360.000 g/mol, 0.5, 1.0, 1.5 ve 2.0 mg/mL, %25 aseton/su (v/v)).	76
Şekil 6.14. PAA 250.000 g/mol, 1.0 mg/mL, %25 aseton (A); PVP 360.000 g/mol, 1.0 mg/mL, %25 aseton (B); IPC1 (PAA-PVP) 1.0 mg/mL, %25 aseton (kırmızı), IPC NG (PVP-PAA) 1.0 mg/mL, %25 aseton, 5 kGy ışınlanmış (mavi) ve 10 kGy ışınlanmış (yeşil) (C).	77

Şekil 6.15. Toplam absorplanan dozun IPC2 nanojellerinin ortalama boyutu üzerindeki etkisi. (PAA 250.000 g/mol ve PVP 1.300.000 g/mol, 0.5, 1.0, 1.5 ve 2.0 mg/mL, %25 aseton/su (v/v)).	78
Şekil 6.17. Toplam absorplanan dozun IPC3 nanojellerinin ortalama boyutu üzerindeki etkisi. (PAA 8.000 g/mol ve PVP 10.000 g/mol, 0.5, 1.0, 1.5 ve 2.0 mg/mL, %25 aseton/su (v/v)).	80
Şekil 6.18. PVP 10.000 g/mol, 0.5 mg/mL, % 25 aseton (A); PAA 8.000 g/mol, 0.5 mg/mL, % 25 aseton (B), IPC3 (PAA-PVP) 0.5 mg/mL, % 25 aseton (kırmızı), IPC NG (PAA-PVP) 0.5 mg/mL, % 25 aseton, 5 kGy ışınlanmış (mavi), 10 kGy ışınlanmış (yeşil) (C).	81
Şekil 6.19. PAA-PVP IPC'nin 2 ve 3 boyutlu AFM görüntüleri (PAA 250.000 g/mol, PVP 1.300.000 g/mol, 2.0 mg/mL, %25 aseton ve pH=3.27).	86
Şekil 6.20. 5 kGy ışınlanmış PAA-PVP IPC nanojellerinin iki farklı büyütmede 5 ve 2 µm boyutlu AFM görüntüleri (PAA 250.000 g/mol, PVP 1.300.000 g/mol, 2.0 mg/mL, % 25 aseton ve pH=3.27).	87
Şekil 6.21. 2.0 mg/mL derişimde ve %25 asetonda hazırlanmış, ışınlanmamış (kırmızı) ve 5 kGy ışınlanmış (mavi) PAA-PVP IPC'lerinin DLS boyut dağılımları. (PAA 250.000 g/mol, PVP 1.300.000 g/mol, 2.0 mg/mL, % 25 aseton ve pH=3.27).	88
Şekil 6.22. 2.0 mg/mL derişimde ve %25 asetonda hazırlanmış PAA-PVP IPC'nin SEM görüntüleri (PAA 250.000 g/mol, PVP 1.300.000 g/mol).	88
Şekil 6.23. 5 kGy ışınlanmış PAA-PVP IPC nanojelinin SEM görüntüleri (PAA 250.000 g/mol, PVP 1.300.000 g/mol, 2.0 mg/mL, % 25 aseton ve pH=3.27).	90
Şekil 6.24. PAA-PVP IPC nanojelinin pH'a bağılı oluşumu ve davranışı için önerilen şema.	93
Şekil 6.25. PAA-PVP IPC nanojellerinin farklı pH'larda ortalama boyut ve zeta potansiyel değerleri (25 °C'de 24 saat boyunca şişmiştir).	93
Şekil 6.26. %25 (v/v) aseton/su sisteminde 5 kGy ışınlama ile elde edilen PAA-PVP IPC nanojellerinin farklı pH'larda DLS eğrileri	94
Şekil 6.27. PAA-PVP IPC'lerinin farklı pH'larda ortalama boyut ve zeta potansiyel değerleri (25°C'de 24 saat boyunca şişmiştir).	94
Şekil 6.28. PAA-PVP IPC'nin pH=11.09'da (mavi) DLS davranışı, ayrılmış PAA ve PVP bileşenlerine bağılı olarak çift tepe noktalarını gösterir. Kırmızı ve siyah pikler sırasıyla saf PVP ve PAA'nın DLS eğrileridir.	95
Şekil 6.29. PAA ve PVP'nin farklı sıcaklıklarda ortalama yumak çapı değerleri.	96

Şekil 6.30. PAA'nın farklı sıcaklık değerlerinde ortalama boyut ve pH'ı (250.000 g/mol, 2.0 mg/mL, %25 aseton)	97
Şekil 6.31. Farklı sıcaklık değerlerinde PAA'nın pH ve zeta potansiyeli (250.000 g/mol, 2.0 mg/mL, %25 aseton).	97
Şekil 6.32. PAA-PVP IPC nanojelinin farklı sıcaklıklarda ortalama boyut ve zeta potansiyel değerleri	98
Şekil 6.33. IPC ve IPC nanolelinin hidrodinamik çaplarının sıcaklığa bağımlılığı.	98
Şekil 6.34. %25 (v/v) aseton/su ortamında 5 kGy γ -ışınlaması ile elde edilen PAA-PVP IPC nanojelinin boyut dağılımı üzerine sıcaklığın etkisi (B) PAA-PVP IPC nanojelinin 25 °C'de ve 80 °C'den 25 °C'ye soğutulduktan sonraki dağılım eğrileri.	99
Şekil 6.36. NaCl (mol/L) konsantrasyonunun PAA-PVP IPC nanojellerinin ortalama boyutu üzerindeki etkisi. (IPC nanojeli 25°C'de, 24 saat boyunca NaCl çözeltisinde bekletilmiştir)... ..	102
Şekil 6.37. İyonik şiddetin PAA-PVP IPC nanojelin üzerindeki etkisi. (%25 aseton ortamında 5 kGy ışınlanmış 2.0 mg/mL IPC nanojeli 25°C'de 24 saat boyunca NaCl çözeltilerinde bekletilmiştir)	102
Şekil 6.38. İyonik şiddetin PAA-PVP IPC üzerindeki etkisi. (2.0 mg/mL derişimde, %25 aseton ortamında hazırlanan IPC 25°C'de 24 saat boyunca NaCl çözeltilerinde bekletilmiştir)	103
Şekil 6.39. 5 kGy ışınlama ile elde edilen PAA-PVP IPC nanojellerinin, çeşitli süreler boyunca oda sıcaklığında depolandıktan sonra %25 (v/v) aseton/su sistemindeki stabilitesi.	104
Şekil 6.40. BSA'nın farklı derişimlerdeki boyut dağılımı.	107
Şekil 6.41. BSA'nın 2.0 mg/mL (A) ve 20.0 mg/mL (B) derişimindeki zeta potansiyel dağılım değerleri.	108
Şekil 6.42. Farklı başlangıç konsantrasyonlarına sahip BSA'nın (PAA-PVP) IPC nanojeline yükleme kapasitesi.	111
Şekil 6.43. BSA yüklenmemiş (A), 2.0 (B) ve 20.0 (C) mg/mL BSA yüklenmiş PAA-PVP IPC nanojelin zeta potansiyel dağılım değerleri.	113
Şekil 6.44. 5 kGy ışınlanmış PAA-PVP IPC nanojeli (A) (2.0 mg/mL, % 25 aseton pH=3.27, 5 kGy ışınlanmış, ortalama boyut 45 nm) ve saf BSA'nın (B) 2 ve 3 boyutlu AFM görüntüleri.	116

Şekil 6.45. PAA-PVP nanojeli ve BSA yüklenmiş PAA-PVP IPC nanojelinin (2.0 mg/mL, % 25 aseton, pH=3.27, 5 kGy ışınlanmış) DLS boyut dağılımları (BSA yüklendikten sonra ortamın pH'ı 4.96, BSA'nın pH'ı 6.92).	117
Şekil 6.46. BSA yüklenmiş PAA-PVP IPC nanojelinin (2.0 mg/mL, % 25 aseton pH=3.27 5kGy ışınlanmış) 2 ve 3 boyutlu AFM görüntüleri (ortalama boyut 102 nm).	117
Şekil 6.47. BSA ve kurkumin yüklenmiş PAA-PVP IPC nanojelinin (2.0 mg/mL, % 25 aseton, pH=3.29, 5kGy ışınlanmış) DLS boyut dağılımları.	118
Şekil 6.48. BSA ve kurkumin yüklenmiş PAA-PVP IPC nanojelinin (2.0 mg/mL, % 25 aseton, pH=3.29, 5 kGy ışınlanmış) 2 ve 3 boyutlu AFM görüntüleri (ortalama boyut 135 nm).	118
Şekil 6.49. kurkumin yüklenmiş PAA-PVP IPC nanojelinin (2.0 mg/mL, % 25 aseton, pH=3.29 5 kGy ışınlanmış) DLS boyut dağılımları.	119
Şekil 6.50. kurkumin yüklenmiş PAA-PVP IPC nanojelinin (2.0 mg/mL, % 25 aseton, pH=3.29 5 kGy ışınlanmış) 2 ve 3 boyutlu AFM görüntüsü (ortalama boyut 90 nm).	119
Şekil 6.51. 1, 3, 5 ve 7 mg/mL başlangıç derişimindeki kurkuminin 5 kGy ışınlama ile elde edilmiş IPC nanojele tutunma yüzdeleri ve mg nanojele µg olarak tutunan ilaç miktarı.	121
Şekil 6.52. 1, 3, 5 ve 7 mg/mL başlangıç derişimindeki kurkuminin 5 kGy ışınlama ile elde edilmiş IPC nanojele BSA varlığında tutunma yüzdeleri ve mg nanojele µg olarak tutunan ilaç miktarı.	122
Şekil 6.53. %1 tween-80 ile pH 3.0, 5.5 ve 7.4 değerlerinde PBS ortamında zamanla NG-KK sisteminden % kümülatif salınan ilaç miktarı.	125
Şekil 6.54. %1 tween-80 ile pH 3.0, 5.5 ve 7.4 değerlerinde PBS ortamında NG-BSA-KK sisteminden zamanla % kümülatif salınan ilaç miktarı.	127
Şekil 6.55. NG-KK sistemi için ilaç salım kinetik profilleri; Sıfırıncı Derece (A) Birinci derece (B).....	130
Şekil 6.56. NG-KK sistemi için ilaç salım kinetik eğrileri; Higuchi (A), Hixson-Crowell (B).....	131
Şekil 6.57. NG-KK sistemi için Korsmeyer-Peppas ilaç salım kinetik profili.	132
Şekil 6.58. NG-BSA-KK sistemi için ilaç salım kinetik profilleri; Sıfırıncı Derece (A), Birinci derece (B).	134
Şekil 6.59. NG-BSA-KK sistemi için ilaç salım kinetik eğrileri; Higuchi (A), Hixson-Crowell (B).....	135
Şekil 6.60. NG-BSA-KK sistemi için Korsmeyer-Peppas ilaç salım kinetik profili.	136

Şekil 6.61. Sulu ortamda PVIm'un yapısal formülü.	138
Şekil 6.62. PVIm'un (46.000 M _v) sulu çözeltilerinin farklı derişimlerdeki pH ve iletkenlik değerleri.	139
Şekil 6.63. PAA' in (250.000 Mw) sulu çözeltilerinin farklı derişimlerdeki pH ve iletkenlik değerleri.	139
Şekil 6.64. (PAA-PVIm) IPC'lerin 1:1 stokiyometrik oranda sulu çözeltilerinin farklı derişimlerdeki pH ve iletkenlik değerleri.	140
Şekil 6.65. %0, %10, %15, %20, %25, %30 ve %40 (v/v) hacim oranına sahip su/aseton çözeltilerindeki 0.1mg/mL PVIm'ın dinamik ışık saçılması tekniği ile ölçülen yumaklarının boyut dağılımı. (PVIm'ın 0.1 mg/mL sulu çözeltisinin pH değeri 7.27).	142
Şekil 6.66. Aseton konsantrasyonunun, PVIm, PAA ve PAA-PVIm IPC'nin yumak boyutuna, aseton / su karışımlarının çözünürlük parametreleri (δ) ile olan etkisi.	143
Şekil 6.67. IPC (PAA-PVIm) (mavi) ve IPC (PVIm-PAA) (turuncu) nanopartiküllerin oluşumuna etkisi. Kullanılan polimerlerin molekül ağırlığı PAA 250.000 Mw ve PVIm 46.000 M _v tüm çözeltiler %25 aseton/su karışımında hazırlanmıştır.	150
Şekil 6.68. IPC (PVIm-PAA) (mavi) ve IPC (PAA-PVIm) (turuncu) nanopartiküllerin oluşumuna etkisi. Kullanılan PAA 8.000 Mw, PVIm 46.000 M _v tüm çözeltiler %25 aseton/su karışımında hazırlanmıştır.	153
Şekil 6. 69. pH'ın PAA-PVIm interpolimer kompleksi oluşumu üzerinde etkisi. 1:1 stokiyometrik oranda (kullanılan polimer konsantrasyonu 0.1 mg/mL %25 aseton, PAA 250.000 Mw ve PVIm 46.000 M _v)	161
Şekil 6.70. IPC (PAA-PVIm) partikül büyüklüğüne polielektrolit konsantrasyonun etkisi. ...	165
Şekil 6.71. PAA molekül ağırlığının (Mw) IPC (PAA-PVIm) partikül büyüklüğü üzerindeki etkisi. Tüm çözeltiler % 25 aseton oranında hazırlanmıştır.	167
Şekil 6.72. (PAA-PVIm) IPC nanojellerinin radyasyona bağlı oluşumu için önerilen şema...	170
Şekil 6.73. PVIm 46,000 M _v 0.3 mg/mL, %25 aseton (A), PAA 250,000 Mw 0.3 mg/mL, %25 aseton (B), IPC (PAA-PVIm) 0.3 mg/mL %25 aseton (kırmızı), IPC NG (PAA- PVIm) 0.3 mg / mL %25 aseton 3kGy ışınlanmış (mavi) (C).....	173
Şekil 6.74. (PAA-PVIm) IPC'lerinin 3 ve 5 kGy ışınladıktan sonra oluşan IPC nanojelleri ve makrojel çokeltileri.....	180

Şekil 6.75. PAA-PVIm IPC'nin (IPC2) 2 ve 3 boyutlu AFM görüntüsü (PAA 250.000 Mw, PVIm 46.000 Mv, 0.3 mg/mL, %25 aseton ve pH=5.01).	182
Şekil 6.76. 0.3 mg/mL %25 aseton içinde ışınlanmamış ve 3 kGy ışınlanmış IPC (PAA-PVIm)'lerinin DLS boyut dağılımları. (PAA 250.000 Mw, PVIm 46.000 Mv 0.3 mg/mL ve pH=5.01).	182
Şekil 6.77. (PAA-PVIm) IPC nanojelinin (NG2) 2 ve 3 boyutlu AFM görüntüleri (PAA 250.000 Mw, PVIm 46.000 Mv 0.3 mg/mL, %25 aseton, pH=5.01 ve 3 kGy ışınlanmış) ortalama boyut 71 nm.	183
Şekil 6.78. 3 kGy ışınlanarak elde edilen (PAA-PVIm) IPC nanojelinin (PAA 250.000 Mw, PVIm 46.000 Mv, 0.3 mg/mL ve pH=5.01) SEM görüntüleri.	185
Şekil 6.79. Farklı ortamlarda (PAA-PVIm) IPC ve IPC nanojellerinin davranışı.	187
Şekil 6.80. PAA-PVIm IPC nanojellerinin (PAA 250.000 Mw, PVIm 46.000 Mv, 0.3 mg/mL ve pH=5.01 3 kGy ışınlanmış) farklı pH'larda ortalama çap ve zeta potansiyel değerleri (25°C'de 24 saat şişmiştir).	188
Şekil 6.81. (PAA-PVIm) IPC nanojelinin farklı pH'lardaki boyut dağılımı.	188
Şekil 6.82. (PAA-PVIm) IPC'lerinin farklı pH'lardaki boyut dağılımı	189
Şekil 6.83. NaCl (mol L ⁻¹) konsantrasyonunun PAA-PVIm IPC nanojellerinin ortalama boyutu üzerindeki etkisi. (IPC nanojeli 25°C'de 24 saat boyunca NaCl çözeltisinde bekletilmiştir)... ..	190
Şekil 6.84. İyonik şiddetin (PAA-PVIm) IPC nanojelin üzerindeki etkisi. (%25 aseton ortamında 3 kGy ışınlanmış 0.3 mg/mL IPC nanojeli 25°C'de 24 saat boyunca NaCl çözeltisinde bekletilmiştir)	191
Şekil 6.85. İyonik şiddetin (PAA-PVIm) IPC üzerindeki etkisi. (0.3 mg/mL %25 aseton ortamında hazırlanan IPC 25°C'de 24 saat boyunca NaCl çözeltisinde bekletilmiştir)	191
Şekil 6.86. PAA ve PVIm yumaklarının farklı sıcaklık değerlerinde ortalama çap değerleri.	193
Şekil 6.87. IPC ve IPC nanojelinin hidrodinamik çapının sıcaklığa bağımlılığı.	194
Şekil 6.88. 3 kGy'de γ-ışınlanması ile elde edilen %25 (v/v) aseton/su oranına sahip PAA-PVIm IPC nanojelinin boyut dağılımının üzerinde sıcaklığın etkisi (A) PAA-PVIm IPC nanojeli 25 °C'de, ve (B) 80 °C'den 25 °C'ye soğutulduktan sonra	195
Şekil 6.89. %25 (v/v) aseton/su oranına sahip PAA-PVIm IPC'nin boyut dağılımının üzerinde sıcaklığın etkisi (A) PAA-PVIm IPC'si 25°C'de ve (B) 80°C'den 25°C'ye soğutulduktan sonra	196

Şekil 6.90. 3 kGy ışınlama ile elde edilen (PAA-PVIm) IPC nanojellerinin, çeşitli süreler boyunca oda sıcaklığında depolandıktan sonra % 25 (v/v) aseton / su sistemindeki stabilitesi.	197
Şekil 6.91. Farklı başlangıç konsantrasyonlarındaki BSA'nin (PAA-PVIm) IPC nanojeline yükleme kapasitesi.....	201
Şekil 6.92. 20 mg/mL BSA çözeltisinde yükleme yapıldıktan sonra (PAA-PVIm) IPC nanojelinin (0.3 mg/mL, % 25 aseton pH=5.01 3kGy ışınlanmış) DLS boyut dağılımı (A) ve zeta potansiyel değerleri (B)	203
Şekil 6.93. (PAA-PVIm) IPC nanojeli (A) (0.3 mg/mL, % 25 aseton pH=5.27, 3 kGy ışınlanmış Ortalama boyut 71 nm) ve saf BSA'nin (B) 2 ve 3 boyutlu AFM görüntüleri.	205
Şekil 6.94. BSA yüklenmiş (PAA-PVIm) IPC nanojelinin (0.3 mg/mL, % 25 aseton pH=5.01 3kGy ışınlanmış), DLS boyut dağılımları. (BSA yüklendikten sonara ortamın pH'sı 6.76), BSA'nın pH'sı 7.34.	206
Şekil 6.95. BSA yüklenmiş (PAA-PVIm) IPC nanojelinin (0.3 mg/mL, % 25 aseton pH=5.01 3kGy ışınlanmış) 2 ve 3 boyutlu AFM görüntüsü. (Ortalama boyut 91 nm)	206
Şekil 6.96. BSA ve kurkumin yüklenmiş (PAA-PVIm) IPC nanojelinin (0.3 mg/mL, % 25 aseton, pH=5.01 3kGy ışınlanmış), DLS boyut dağılımları.	207
Şekil 6.97. BSA ve kurkumin yüklenmiş (PAA-PVIm) IPC nanojelinin (0.3 mg/mL, % 25 aseton pH=5.01 3kGy ışınlanmış) 2 ve 3 boyutlu AFM görüntüleri. (Ortalama boyut 268 nm).	207
Şekil 6.98. Kurkumin yüklenmiş (PAA-PVIm) IPC nanojelinin (0.3 mg/mL, % 25 aseton, pH=5.01 3kGy ışınlanmış), DLS boyut dağılımları.	208
Şekil 6.99. Kurkumin yüklenmiş (PAA-PVIm) IPC nanojelinin (0.3 mg/mL, % 25 aseton pH=5.01 3kGy ışınlanmış) 2 ve 3 boyutlu AFM görüntüleri. (Ortalama boyut 231 nm)	208
Şekil 6.100. 1, 3, 5 ve 7 mg/mL başlangıç derişimindeki kurkuminin 3 kGy ışınlama ile elde edilmiş IPC (PAA-PVIm) nanojele tutunma ilaç yüzdeleri ve mg polimere µg olarak tutunan ilaç miktarı.....	210
Şekil 6.101. 1, 3, 5 ve 7 mg/mL başlangıç derişimindeki kurkuminin 3 kGy ışınlama ile elde edilmiş IPC (PAA-PVIm) nanojele BSA varlığında tutunma ilaç yüzdeleri ve mg polimere µg olarak tutunan ilaç miktarı.	211
Şekil 6.102. %1 tween-80 ile pH 3.0, 5.5 ve 7.4 değerlerinde PBS ortamında zamanla NG(PAA-PVIm)-KK sisteminden % kümülatif salınan ilaç miktarı.	213

Şekil 6.103. % 1 tween-80 ile pH 3.0, 5.5 ve 7.4 değerlerinde PBS ortamında zamanla NG (PAA-PVIm)-BSA-KK sisteminden % kümülatif salınan ilaç miktarı.	214
Şekil 6.104. NG-KK sistemi için ilaç salım kinetik profilleri; Sıfırıncı Derece (A), Birinci derece (B).	217
Şekil 6.105. NG-KK sistemi için ilaç salım kinetik eğrileri; Higuchi (A), Hixson-Crowell (B)	218
Şekil 6.106. NG-KK sistemi için Korsmeyer-Peppas ilaç salım kinetik profili.....	219
Şekil 6.107. NG-BSA-KK sistemi için ilaç salım kinetik profilleri; Sıfırıncı Derece (A), Birinci derece (B).	221
Şekil 6.108. NG-BSA-KK sistemi için ilaç salım kinetik eğrileri; Higuchi (A), Hixson-Crowell (B).	222
Şekil 6.109. NG-BSA-KK sistemi için Korsmeyer-Peppas ilaç salım kinetik profili.....	223

ÇİZELGELER

Çizelge 1. PAA ve PVP için farklı derişimlerde, pH, ortalama boyut, zeta potansiyel ve PDI değerleri (kullanılan polimer derişimleri 0.5, 1.0, 1.5 ve 2.0 mg/mL) PAA1=250.000 g/mol, PAA2 = 8.000 g/mol, PVP1 = 1.300.000 g/mol, PVP2 = 360.000 g/mol ve PVP3=10.000 g/mol.	64
Çizelge 2. pH 3-4.5 aralığında oluşan kararlı (PAA-PVP) IPC'ler için, ortalama boyut, zeta potansiyel ve PDI değerleri.	67
Çizelge 3. Karışım oranının (PAA-PVP) IPC'lerinin üzerinde etkisi (pH, ortalama boyut, zeta potansiyel ve PDI değerleri). Kullanılan polimer konsantrasyonu 1.0 mg/mL, %25 aseton (v/v), PAA 250.000 g/mol ve PVP 360.000 g/mol.	71
Çizelge 4. %25 aseton/su karışımında gama ışınları kullanılarak IPC1 çözeltilerinden (0.5, 1.0, 1.5 ve 2 mg/mL) sentezlenen IPC ve IPC nanojelleri için ortalama boyut, zeta potansiyel, pH ve PDI değerleri. (PAA 250.000 g/mol ve PVP 360.000 g/mol).	76
Çizelge 5. %25 aseton/su karışımında gama ışınları kullanılarak (0.5, 1.0, 1.5 ve 2 mg/mL) IPC2 çözeltilerinden sentezlenen IPC ve IPC nanojelleri için ortalama boyut, zeta potansiyel, pH ve PDI değerleri. (PAA 250.000 g/mol ve PVP 1.300.000 g/mol).	78
Çizelge 6. %25 (v/v) aseton/su karışımında gama ışınları kullanılarak IPC3 çözeltilerinden (0.5, 1.0, 1.5 ve 2 mg/mL) sentezlenen IPC ve IPC nanojelleri için ortalama boyut, zeta potansiyel, pH ve PDI değerleri. (PAA 8.000 g/mol ve PVP 10.000 g/mol).	80
Çizelge 7. %25 (v/v) aseton/su karışımında gama ışınları kullanılarak IPC4 çözeltilerinden (0.5, 1.0, 1.5 ve 2 mg/mL) sentezlenen IPC ve IPC nanojelleri için ortalama boyut, zeta potansiyel, pH ve PDI değerleri (PAA 250.000 g/mol ve PVP 10.000 g/mol).	82
Çizelge 8. %25 (v/v) aseton-su karışımında gama ışınları kullanılarak IPC5 çözeltilerinden (0.5, 1.0, 1.5 ve 2 mg/mL) sentezlenen IPC ve IPC nanojelleri için ortalama boyut, zeta potansiyel, pH ve PDI değerleri (PAA 8.000 g/mol ve PVP 360.000 g/mol).	82
Çizelge 9. %25 (v/v) aseton/su karışımında gama ışınları kullanılarak IPC6 çözeltilerinden (0.5, 1.0, 1.5 ve 2 mg/mL) sentezlenen IPC ve IPC nanojelleri için ortalama boyut, zeta potansiyel, pH ve PDI değerleri. (PAA 8.000 g/mol ve PVP 1.300.000 g/mol).	83

Çizelge 10. pH 3.0-4.5 aralığında oluşan PAA-PVP IPC'leri için, ışınlanmadan önce ve ışınlanmadan sonra, ortalama boyut, zeta potansiyel ve PDI değerleri. Kullanılan polimer konsantrasyonu: 1.0 mg/mL, %25 aseton (v/v), PAA 250.000 g/mol ve PVP 360.000 g/mol. .84	84
Çizelge 11. Karışım oranı etkisini kullanarak oluşan PAA-PVP IPC'lerinin ışınlanmadan önce ve ışınlanmadan sonra, pH, ortalama boyut, zeta potansiyel ve PDI değerleri. Kullanılan polimer konsantrasyonu: 1.0 mg/mL, %25 aseton (v/v), PAA 250.000 g/mol ve PVP 360.000 g/mol. .85	85
Çizelge 12. Farklı başlangıç konsantrasyonlarına sahip BSA'nin ortalama boyut, zeta potansiyeli, pH ve PDI değerleri.106	106
Çizelge 13. Farklı başlangıç konsantrasyonlarına sahip BSA'nin PAA-PVP IPC nanojeline yüklendikten sonra ortalama boyut, zeta potansiyeli, pH ve PDI değerleri. (PAA 250.000, g/mol PVP 1.300.000 g/mol, 2.0 mg/mL, % 25 aseton ve pH=3.27, 5 kGy ışınlanmış).109	109
Çizelge 14. NG-KK için sıfırıncı derece, birinci derece, Higuchi, Hixson-Crowell ve Korsmeyer – Peppas denklemlerinin uygulanmasından elde edilen çözünme hızı sabitleri ve R ² değerleri.133	133
Çizelge 15. NG-BSA-KK için sıfırıncı derece, birinci derece, Higuchi, Hixson-Crowell ve Korsmeyer – Peppas denklemlerinin uygulanmasından elde edilen çözünme hızı sabitleri ve R ² değerleri.137	137
Çizelge 16. PAA ve PVIm için farklı derişimlerde, pH, ortalama çap, zeta potansiyel ve PDI değerleri, kullanılan derişimler (0.03, 0.05, 0.07, 0.1, 0.3, 0.5, 0.7 ve 1.0 mg/mL) PAA1 = 250.000 Mw, PAA2 = 8.000 Mw, PVIm = 46.000 Mv %25 aseton oranında144	144
Çizelge 17. Minörden majöre (PAA-PVIm) ekleme sırasından oluşan IPC_NP'leri (pH, ortalama çap, zeta potansiyel ve PDI değerleri). Kulolanılan PAA 250.000 Mw, PVIm 46.000 Mv, tüm polimer çözeltileri %25 aseton ortamında hazırlanmış.151	151
Çizelge 18. Majörden minöre (PVIm-PAA) ekleme sırasından oluşan IPC_NP'leri üzerindeki etkisi (pH, ortalama çap, zeta potansiyel ve PDI değerleri). Kulolanılan PAA 250.000 Mw, PVIm 46.000 Mv. tüm polimer çözeltileri %25 aseton ortamında hazırlanmış.....152	152
Çizelge 19. Majörden minöre ekleme sırasından Oluşan (PVIm-PAA) IPC'lerinin üzerinde etkisi (pH, ortalama çap, zeta potansiyel ve PDI değerleri). Kulolanılan PAA 8.000, Mw PVIm 46.000 Mv.....154	154

Çizelge 20. Minörden majöre ekleme sırasından oluşan (PAA-PVIm) IPC'lerinin üzerinde etkisi (pH, ortalama ζ potansiyel ve PDI değerleri). Kulolanılan PAA 8.000 Mw, PVIm 46.000 Mw.....	155
Çizelge 21. Karışım oranının (minörden majöre) (PAA-PVIm) IPC'lerinin üzerinde etkisi (ortalama ζ potansiyel ve PDI değerleri). Kullanılan polimer konsantrasyonu 0.1 mg/ml % 25 aseton, PAA 250.000 ve PVIm 46.000 Mw.....	158
Çizelge 22. Karışım oranının (majörden minöre) (PVIm-PAA) IPC'lerinin üzerinde etkisi (ortalama ζ potansiyel ve PDI değerleri). Kullanılan polimer konsantrasyonu 0.1 mg/ml % 25 aseton, PAA 250.000 ve PVIm 46.000 Mw.....	159
Çizelge 23. pH 3.54 - 6.07 aralığında oluşan kararlı (PAA-PVIm) IPC'leri için, ortalama ζ potansiyel ve PDI değerleri.....	162
Çizelge 24. Ekleme sırasının etkisini kullanarak oluşan (PAA-PVIm) IPC'lerinin ışınlanmadan önce ve ışınlanmadan sonra pH, ortalama ζ potansiyel ve PDI değerleri. Kullanılan PAA 250.000 Mw, PVIm 46.000 Mw.....	172
Çizelge 25. Ekleme sırasının etkisini kullanarak oluşan (PVIm-PAA) IPC'lerinin ışınlanmadan önce ve ışınlanmadan sonra pH, ortalama ζ potansiyel ve PDI değerleri. Kullanılan PAA 250.000 Mw, PVIm 46.000 Mw.....	174
Çizelge 26. Ekleme sırasının etkisini kullanarak oluşan (PVIm-PAA) IPC'lerinin ışınlanmadan önce ve ışınlanmadan sonra pH, ortalama ζ potansiyel ve PDI değerleri. Kullanılan PAA 8.000 Mw, PVIm 46.000 Mw.....	175
Çizelge 27. Ekleme sırasının etkisini kullanarak oluşan (PAA-PVIm) IPC'lerinin ışınlanmadan önce ve ışınlanmadan sonra pH, ortalama ζ potansiyel ve PDI değerleri. Kullanılan PAA 8.000 Mw, PVIm 46.000 Mw.....	176
Çizelge 28. pH 3.54-6.7 aralığında oluşan (PAA-PVIm) IPC'leri için, ışınlanmadan önce ve ışınlanmadan sonra, ortalama ζ potansiyel ve PDI değerleri. Kullanılan polimer konsantrasyonu 0.1 mg/ml, % 25 aseton, PAA 250.000 ve PVIm 46.000 Mw.	177
Çizelge 29. Karışım oranının etkisini kullanarak oluşan (PVIm- PAA) IPC'lerinin ışınlanmadan önce ve ışınlanmadan sonra, ortalama ζ potansiyel ve PDI değerleri. Kullanılan polimer konsantrasyonu 0.1 mg/ml, % 25 aseton, PAA 250.000 ve PVIm 46.000 Mw	178

Çizelge 30. Farklı başlangıç konsantrasyonlarına (2.0, 4.0, 6.0, 8.0, 10, 15 ve 20 mg / mL) sahip BSA'nin (PAA-PVIm) IPC nanojeline yüklendikten sonra ortalama ζ ap, zeta potansiyeli, pH ve PDI değerleri.....	202
Çizelge 31. Sıfırıncı derece, birinci derece, Higuchi, Hixson-Crowell ve Korsmeyer – Peppas denklemlerinin uygulanmasından elde edilen NG-KK için çözünme hızı sabitleri ve R ² değerleri.	216
Çizelge 32. Sıfırıncı derece, birinci derece, Higuchi, Hixson-Crowell ve Korsmeyer – Peppas denklemlerinin uygulanmasından elde edilen NG-BSA-KK için çözünme hızı sabitleri ve R ² değerleri.....	220

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

γ	Gama
ζ	Zeta potansiyele
μ	Mikro
n	Salım üssü
K_m	Kinetik sabiti
K_H	Higuchi sabiti
K_0	Sıfır dereceli salım sabitidir
K_1	Birinci dereceden salım sabitidir
K_{HC}	Hixson-Crowell hız sabitidir
R_2	Korelasyon Katsayıları

Kısaltmalar

IPC	İnterpolimer Kompleks
PAA	Poli(akrilik asit)
PVP	Poli(N-vinil prolidon)
PVIm	Poli(N-vinil imidazol)
DLS	Dinamik Işık Saçılması
AFM	Atomik Kuvvet Mikroskopisi
SEM	Taramalı Elektron Mikroskopisi
RES	Retikülo Endotelyal Sistem
FDA	Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi (Food and Drug Administration)

EPR	Gelişmiş Geçirgenlik ve Alıkoyma
THF	Tetrahidrofur
PDI	Polidispersite indeksi
PBS	Fosfat Tampon Çözeltisi
BSA	Bovin Serum Albumin
KK	Kurkumin
NG	Nanojel
AKÇS	Aşağı Kritik Çözelti Sıcaklığı
PE	Polielektrolitler
PEC	Polielektrolit Kompleks
DS	Dekstransulfat
HMCS	Yüksek Molekül Ağırlıklı Kitosan
LMCS	Düşük Molekül Ağırlıklı Kitosan
NaAlg	Sodium Aljinat
IC	Iota karragenan
ATRP	Atom Transfer Radikal Polimerizasyonu
PVA	Poli(vinil alkol)
Rg	Jirasyon yarıçapı
LET	Lineer Enerji Transfer
DOX	Doksorubisin HCl
PMH	Promethazine Hidroklorür
F-SWCNT	Fonksiyonelleştirilmiş Tek Duvarlı Karbon Nanotüpler
TEM	Geçirimli Elektron Mikroskopisi
HPC	Hidroksi-Propilselüloz

1. GİRİŞ

Kanser veya nörolojik hastalıklar gibi birkaç önemli patolojinin nedenlerinin anlaşılmasındaki muazzam ilerlemeye rağmen, tedavilerinin etkinliği, terapötik moleküllerin gerekli konsantrasyon ve zamansal modülasyon ile etki bölgesine etki etmedeki zorlukları ile sınırlıdır. Hedefe ulaşmadaki zorlukların nedenleri, terapötik molekülün içsel sınırlamaları (zayıf çözünürlük, kimyasal kararsızlık) ve/veya ilacın hedef bölgeye ulaşmak için aşması gereken biyolojik engellerle ilgili olabilir. Yukarıdaki sınırlamaların bazılarının üstesinden gelebilecek hedefe özgü nanotaşıyıcıların mevcudiyeti, mevcut terapötik stratejileri geliştirmek için önemli bir fırsatı sunmaktadır [1]. İlaç nano-taşıyıcılarının arzu edilen işlevleri şunlardır: (i) ilacın bozulmadan veya inaktivasyondan korunması; (ii) hedef bölgede tercihli birikim; (iii) ilacın bir iç veya dış uyarının hareketiyle tetiklenmesi veya serbest bırakılmasının tetiklenmesi; (iv) çoklu aktif maddelerin birlikte verilmesi ve (v) invaziv olmayan analizler ve biyo-görüntüleme yaklaşımları ile izleme. Aynı nanotaşıyıcı ile birçok işlevi gerçekleştirmek tercih edilir ancak nanotaşıyıcının karmaşıklığını aşırı bir şekilde arttırmadan başarılmalıdır, toksikolojik profilini ve endüstriyel ölçeklendirme olasılığını olumsuz yönde etkiler. Taşıyıcı ayrıca toksik olmayan bozunma ürünlerine indirgenmeli veya insan tahliye sistemi yoluyla ortadan kaldırılmalı, görevini tamamladıktan sonra dokularda ve bypass organlarında birikmemelidir. Tüm bu gereksinimlerin doğrulanması hem in vitro hem de in vivo olarak birkaç doğru ve kesin biyolojik değerlendirme gerektirir. Bodo ve arkadaşlarına göre, 2016 yılında FDA onaylı nano ilaçların sayısı yaklaşık 50 idi ve 77 ürün klinik denemeler altındaydı [2,3]. FDA onaylı materyallerin çoğu, polimerik, lipozomal ve nanokristal formülasyonlardır; miseller, protein bazlı nanopartiküller (NP) ve çeşitli inorganik ve metalik partiküller halen klinik deney aşamasındadır. Bir nanotaşıyıcı ne kadar çok uygulamada test edilirse, malzeme özelliklerine olan güven düzeyi o kadar yüksek olur ve biyolojik güvenliğini ve terapötik etkinliğini değerlendirmek için yapılan işlem o kadar hızlı ve uygun maliyetli olur.

Nanojeller, sulu ortamda çözünmeden, su tutma kapasitesi yüksek, çapraz bağlı şişebilen polimer ağlar tarafından oluşturulan nano ölçekli boyut aralığında üç boyutlu hidrojel malzemelerdir, Nanojeller, çeşitli doğal polimerlerden, sentetik polimerlerden veya bunların bir kombinasyonundan oluşabilir. Boyut, yük, gözeneklilik, amfifilik, yumuşaklık ve bozunabilirlik

gibi özellikleri nanojellerin kimyasal bileşimi değiştirilerek ayarlanabilir. İlaç salımı sistemlerinde çeşitli nano taşıyıcılar arasında nanojeller, iyi biyouyumlulukları, yüksek yükleme kapasiteleri ve çevresel duyarlılıkları (örneğin, pH, sıcaklık, iyonik kuvvet ve çözücü), nedeniyle kontrollü salım sistemlerinin formülasyonunda çok önemli bir rola sahiptirler. İlaç salım sistemlerinde işlevsellik ve boyutların büyüklüğünün kontrolü son derece önemlidir, çünkü biyoyararlanımları afinite üzerindeki büyüklük ve ilaç yüküne bağlıdır.

Yumuşak nanoparçacıkların tasarımı ve sentezi biyomedikal uygulamalarda büyük dikkat çekmektedir. Nano boyutta hidrojel partikülleri olan polimerik nanojeller, özellikle ilaç ve aşı salımında, biyosensörler, adsorbanlar, kontrast maddeleri vb. gibi birçok biyomedikal uygulamalarda, biyomolekülleri fiziksel veya kimyasal bir şekilde tutma yeteneklerinden dolayı özellikle şu noktalarda öne çıkmaktadırlar [4]:

1. Yüksek sıvı alım kabiliyeti, bozulmaya karşı yüksek direnç, nano veya mikrometre ölçeğinde ayarlanabilir boyut ile birlikte kontrol edilebilir kimyasal ve fiziksel yapılar, biyolojik konjugasyon için geniş yüzey alanı ve yüksek kan dolaşım süreleri gibi hidrojellerin ve nanomalzemelerin yararlı özelliklerini bir araya getirir. Bu özelliklerden dolayı, biyomoleküllerin kapsüllenmesi için kullanılabilirler ve istenen alanlara, tümör dokusu vb, aktif veya pasif olarak hedeflenebilirler. Nanojeller her yönüyle nanotıpta kullanılacak mükemmel adaylardır.

2. Nanojelin büyüklüğü ve işlevselliği, belirli ilaç dağıtım uygulamaları için kontrol edilmesi gereken iki önemli özelliktir. İşlevsellik, hali hazırda oluşturulmuş nanojellerin kimyasal modifikasyonu ile veya spesifik fonksiyonelliği taşıyan polimerler kullanılarak hazırlanabilir. Fonksiyonel gruplar, nanojellere uyaranlara duyarlı özellikler kazandırmak için kullanılır. Bu yapılar pH, sıcaklık, elektromanyetik alan, ışık v.b. farklılıklara yanıt verebilir. Biyoaktif türlerin hedef bölgelere kontrollü salımı için oldukça önemlidir.

3. Hedeflenen ilaç dağıtımı, büyüklüğe bağlı olan pasif hedefleme veya arttırılmış geçirgenlik ve tutma EPR (Enhanced permeability and retention) etkisi ile korunabilir.

4. Ayrıca pH ya da sıcaklığa duyarlı polimerler, ilacı ya da hücre içi veya doku ortamındaki hedefleme ilacı ya da geni yönlendirebilir.

Nanojelleri sentezlemek için iki ana yaklaşım, kullanılan polimerlerin fiziksel ve kimyasal çapraz bağlanmasına dayanır. Nanojellerin içindeki fiziksel çapraz bağlanma, iyonik, hidrofobik ve hidrojen bağlanma etkileşimleri tarafından gerçekleştirilebilir. Polimerlerin kimyasal çapraz bağlanması, çapraz bağlama ajanları veya serbest radikal kaynaklı çapraz bağlama kullanılarak elde edilebilir. Nanojeller hazırlamak için çeşitli yöntemler önerilmektedir; ters mini/mikro emülsiyon, dispersiyon polimerizasyonu vb. Bununla birlikte, monomerlerin, organik çözücülerin ve sürfaktanların kullanılması, bu prosedürleri biyotıpta kullanılan nanojellerin potansiyel uygulamalarını kısıtlamaktadır. Son çalışmalar, interpolimer komplekslerinin, fiziksel veya kimyasal çapraz bağlanma yoluyla nanojel üretmek için öncü olarak da kullanılabileceğini göstermiştir. Böylece monomerlerin başlatıcıların ve sürfaktanların kullanımından kaçınmak mümkün olmaktadır. Interpolimer kompleksleri (IPC'ler) tipik olarak, polielektrolit birleşimi, Van der Waals etkileşimleri, iyon-dipol etkileşimleri, hidrojen bağı, hidrofobik etkiler gibi nedenlerle oluşan farklı polimer zincirleri üzerindeki fonksiyonel gruplar arasında kurulan kovalent olmayan birleşme kompleksleridir. Amfifilik nanojeller, uygun polimer çiftlerinin seçilmesiyle hazırlanabilir. Bununla birlikte, öncül IPC'ler ve sonuçta elde edilen nanojeller üzerinde bir boyut kontrolüne sahip olmak için parametrelerin uygun bir şekilde kontrol edilmesi (ekleme sırası, karışım oranı, pH, konsantrasyon, molekül ağırlığı, yük yoğunluğu, iyonik şiddet, sıcaklık ve çöktürücü oranı) gerekmektedir. IPC'lerin gama ışınları ile ışınlanması, kompleksleşmiş polimerler arasında kalıcı çapraz bağlarla intramoleküler çapraz bağlanmayı kolaylaştırır ve kolay bir şekilde elde edilebilir. İyonlaştırıcı radyasyonun kullanılması nanojelleri katkı maddelerini, örneğin toksik başlatıcıları veya çapraz bağlayıcıları gereksiz kılar; bu da biyomedikal uygulamalar için birincil öneme sahiptir. Poli(vinil pirrolidon) (PVP) ve poli(akrilik asit) (PAA) nanojel sentezinde en çok kullanılan polimerlerdir PAA ve PVP arasındaki interpolimer kompleksler, pH'a duyarlı PAA'nın avantajlarını bir araya getirdiği gerekçesiyle toksik olmayan PVP hem biyouyumlu hem de yüksek derecede hidrofilik olduğu gerekçesiyle farklı gruplar tarafından ayrıntılı olarak araştırılmıştır [5]. Ayrıca Henke ve arkadaşları PAA ve PVP arasındaki interpolimer komplekslerden yola çıkarak bu IPC'lerin agregasyon ve çözülme davranışlarını netleştiren PVP-PAA hidrojen bağlı kompleksleri hakkında bir makale yayınlamışlardır [6]. Başka bir çalışmada ise PVP'nin sulu çözeltisi varlığında akrilik asitin polimerizasyonu ile, PVP'i yönlendirici polimer olarak kullanarak, PVP-g-PAA IPC nanojelleri sentezlenmiştir [7,8,9,10]. Sözü geçen çalışmalarda toplam absorblanan

dozu, PVP molekül ağırlığını, pH ve AA besleme konsantrasyonunu kontrol ederek, PVP varlığında AA'in Gama ışınları ile polimerizasyonu yoluyla 80 ila 120 nm arasında hidrodinamik ortalama çaplara sahip PVP-g-PAA IPC nanojeller elde edilmiştir. PAA-PVP nanojelleri ile ilgili bazı yeni çalışmalar ve bunların ilaç taşıyıcı sistemler olarak kullanılması, PAA-PVP yapısının pH duyarlılığı ve biyouyumlu özelliği nedeniyle avantajlı olduğunu desteklemektedir [11,12].

PVP yerine poli(vinilimidazol) (PVI_m) kullanıldığı PAA-PVI_m, interpolielektrolit kompleksi hakkında fazla çalışma bulunmamaktadır. PVI_m hidrofilik zayıf bir polibaz, biyouyumlu ve pH'a duyarlıdır. Bu çalışmanın amacı, PAA-PVP ve PAA-PVI_m çiftlerinin IPC'lerinden yola çıkarak radyasyona bağlı çapraz bağlanma yoluyla nanojellerinin hazırlanması için basit bir strateji sunmaktır. Bu basit yaklaşım, bu ikili polimerlerden yapılan nanojellerin hazırlanmasında PAA-PVP ve PAA-PVI_m blok kopolimerlerinin kullanılmasının önlenmesine yardımcı olacaktır. Bu çalışmanın ilk bölümünde, ilgili IPC yapılarının farklı parçacık boyutunda PAA-PVP ve PAA-PVI_m IPC oluşumunu etkileyen faktörler (ekleme sırası, karışım oranı, pH, konsantrasyon, molekül ağırlığı, yük yoğunluğu, iyonik şiddet, sıcaklık ve aseton oranı) üzerine kapsamlı bir yaklaşım sunuyoruz. PAA-PVP ve PAA-PVI_m bazlı IPC nanojellerin, IPC'lerinin radyasyonla intramoleküler çapraz bağlanması yoluyla sentezlerinin parametrik çalışmasını öne sürmekteyiz.

Bu tez çalışması kapsamında, PAA-PVP ve PAA-PVI_m interpolimer komplekslerin oluşumunu ve boyutlarını etkileyen faktörler detaylı olarak Dinamik Işık Saçılması (DLS) ile incelenmiştir ve bu faktörlerden yola çıkarak IPC'lerin boyut kontrolü yapılmıştır daha sonra gama ışınları kullanılarak IPC nanojelleri sentezlenmiştir. Boyut kontrolü sağlandıktan sonra ışınlanarak elde edilen IPC nanojeller, Dinamik Işık Saçılması (DLS), Atomik Kuvvet Mikroskopi (AFM) ve Taramalı Elektron Mikroskopi (SEM), kullanılarak karakterize edilmiştir. İlaç taşıyıcı sistem olarak kullanılmak üzere tasarlanan IPC nanojellere BSA varlığında ve BSA'sız Kurkumin isimli kanser ilacı yüklenmiş ve farklı pH'larda salım çalışmaları yapılmıştır.

2. İNTERPOLİMER KOMPLEKSLERİ

İnterpolimer kompleksleri, bileşenleri arasında özel etkileşimlerin olduğu bir tür polimer karışımlarıdır. Elektrostatik, dipol-dipol etkileşimler, hidrojen bağları, yük aktarımı gibi ikincil bağlanma kuvvetlerinin sebep olduğu, iki ya da ikiden fazla farklı makromolekül zincirinin birleşmesiyle oluşan bileşikler, genellikle “İnterpolimer kompleksler” olarak adlandırılır [13]. İnterpolimer kompleksler, karışımı oluşturan bileşiklerden tamamen farklı fiziksel, kimyasal ve fonksiyonel özellikteki yeni tür polimerik malzemelerin kullanım alanlarının bulunmasını sağlayabilmektedir. Polimerlerin kompleksleşme ve karışabilirliklerini artırmak için en iyi yöntem, her bir polimerin fonksiyonel gruplarının birbiriyle etkileşimini sağlamaktır. Fonksiyonel gruplar arasındaki etkileşim (elektrostatik, hidrojen bağı, v.b.), karışabilirlik için itici güç sağlar. Karışabilirlik için gerekli serbest enerji ise $\Delta G_m \leq \Delta H_m - T\Delta S_m$ (Burada ‘m’ karışımın oluşumundaki karşılıklı hal değişimini ifade etmektedir ve diğer semboller her zamanki anlamlarında kullanılmaktadır) ile belirlenir. Karışabilirliğin gözlenebilmesi için ΔH_m sıfır veya negatif olmalıdır. ΔH_m ’in negatif değerde olabilmesi için polimerler arasında bir etkileşim olması gerekir [14].

2.1. İnterpolimer komplekslerin sınıflandırılması

İnterpolimer kompleksler, genel olarak çeşitli makromoleküllerin birleşmesiyle oluşur ve baskın etkileşim türüne bağlı olarak dört ana gruba ayrılırlar.

1. Hidrojen bağlı kompleksler
2. Polielektrolit kompleksler
3. Stereo kompleksler
4. Yük transfer kompleksleri

2.1.1. Hidrojen bağlı kompleksler

Sulu çözelti içindeki polimerler arasında ikincil etkileşimler interpolimer kompleks (IPC) oluşumuna yol açar. Hidrojen bağı hem doğal hem de sentetik makromoleküllerin etkileşimlerinde göz önünde bulundurulması gereken en önemli faktörlerden biridir. Hidrojen

bağı kompleksleri, proton veren bir substrat (genellikle bir poliasit) ile proton alıcı gruplara sahip bir polimer genellikle bir polibaz arasında gerçekleşmektedir [15]. Kararlı interpolimerik yapılara yol açan kompleksleşme, ayrılmamış karboksil gruplarının varlığını destekleyecek belirli pH değerlerinin altında poliasitin ayrışma derecesine bağlıdır. Böyle bir kompleksleşme segmentinin minimum uzunluğunu, polimerlerin kimyasal yapısı belirler, örneğin poli(N-vinilpirolidon) -poli(akrilik asit) (PVP-PAA), poli(etilen oksit) -poli(akrilik asit) (PEO-PAA) için sırasıyla 13 ile 40 protonlanmış karboksil grubunun gerektiği gösterilmiştir [16]. Poli(karboksilik asitler) ve iyonik olmayan proton-kabul eden polimerler (Lewis polibazlar) arasındaki hidrojen-bağı etkileşimi ile oluşan kompleksleşmeler dikkat çekmektedir. Bu alandaki araştırma ilgisi, hidrojen-bağı interpolimer komplekslerinin (IPC'ler) çeşitli alanlarda potansiyel uygulamaları ile ilaç salım formülasyonları, biyomateryaller, yüzey aktif maddeler, emülgatörler, membran ve ayırma teknolojisi gibi birçok uygulama alanları nedeniyle önemli bir araştırma konusu haline gelmişlerdir. Poli(karboksilik asitler) iyonik olmayan polimerler ile sulu çözeltilerde karıştırıldığında, genellikle çökeltilerin oluşumu ile birlikte bir faz ayrılması gözlemlenmektedir. Bu çökeltiler aslında interpolimer kompleksleri (IPC'ler) veya polimer-polimer kompleksleri olarak adlandırılan yeni polimerik bileşiklerdir. Poli(karboksilik asitler) 'in iyonik olmayan polimerler ile karışımlarında çökelme ilk kez 1959 yılında Smith ve arkadaşları tarafından, suda çözünür iki polimer poli(akrilik asit) (PAA) ve poli(etilen oksit) in suda çözünmeyen IPC'leri oluşturması ile gözlenmiştir. Bu çökeltiler ayrılmış, kurutulmuş ve fizikokimyasal özellikleri, farklı sıcaklıklarda mekanik özelliklerin incelenmesi ve polimer oranları, X-ışını desenleri ve ısı stabilite değerlendirmesi dahil olmak üzere bir dizi teknikle incelenmiştir. Çökeltilerin özelliklerinin, polimerlerin eter ve karboksil grupları arasında hidrojen bağlanmasından kaynaklandığı sonucuna varılmıştır. Komplekslerin sadece PAA ve (PEO) arasında değil, aynı zamanda poli(vinil eterler), selüloz eterleri ve çok çeşitli hidroksil-gibi iyonik olmayan grup taşıyan diğer polimerler tarafından da oluşturulabileceği belirtilmiştir [17]. Daha sonra Bailey ve arkadaşları (PAA) ve (PEO) arasındaki etkileşimin eter oksijenler ve karboksil grupları arasındaki 1:1 stokiometride hidrojen bağı yoluyla gerçekleştiğini gösterdiler. Etkileşim düşük pH'da ($\text{pH} < 3.8$) faz ayrımı ile sonuçlanırken, daha yüksek pH'da ise polimerlerin sulu çözeltide birlikte bulunduğunu gösterdiler. 4-4.5'ten daha yüksek pH değerlerinde, poliasit zincirindeki iyonlaşmış grupların (karboksilat grupları) artmasından dolayı kompleks oluşumunun gerçekleşmediğini açıkladılar [18]. PAA ve PEO arasında oluşan

komplekslerin yapılarını açıklığa kavuşturmak için birçok çalışma yapılmıştır. Dahası, bu tür polimerik kompleksler yakın zamanda pH duyarlı ilaç salım sistemlerinin geliştirilmesi için önerilmiştir [19].

İnterpolimer kompleksleri hazırlamak için en yaygın kullanılan polikarboksilik asitler PAA ve PMAA olarak bilinir. Bu poliasitler, suda çözünür iyonik olmayan polimerlerle kompleksler oluşturabilir. Suda çözünen iyonik olmayan polimerler Nurkeeva ve arkadaşları tarafından şu şekilde sınıflandırılmıştır [20].

1. Poli(vinil pirolidon), poli(vinil kaprolaktam) gibi laktam grupları içeren polimerler
2. Ana zincirde eter grupları içeren polimerler poli(etilen oksit), poli(propilen oksit) veya yan gruplarda eter grupları içeren polimerler; poli(vinil metil eter)
3. Poliakrilamid (PAAM), poli(N-izopropilakrilamid) (PNIPAAM), poli(N, N-dimetil akrilamid) gibi akrilik tipi polimerler
4. Poli(vinil alkol), poli(2-hidroksietilakrilat), poli(etilenglikol vinil eter) ve poli(dietilenglikol vinil eter) gibi polimerik alkoller
5. Poli(etiloksazolin) ve poli(N-asetiliminoetilen) gibi diğer sentetik polimerler
6. Suda çözünür iyonik olmayan selüloz eterleri gibi polisakkaritler (örneğin, hidroksietilselüloz, hidroksipropilselüloz, metilselüloz, hidroksipropilmetilselüloz).

İyonik olmayan polimerlerin proton kabul eden grupları ve iyonlaşmamış poli-karboksilik grupları arasında hidrojen bağı oluştuğundan, kompleks oluşumu aynı zamanda poli(karboksilik asit) iyonizasyon derecesine ve dolayısıyla çevresel pH'a bağlıdır. Bir kural olarak, kompleksler zayıf veya kuvvetli asidik ortamlarda oluşturulur ve pH'daki artış üzerine ayrışır. IPC'nin çökmeye başladığı pH değerinin kritik pH değeri (pH kritik) olarak adlandırılır [21]. Kritik pH'ın, belirli bir polimer-polimer sistemi için spesifik bir değer olduğu bulunmuştur. Bu değer her iki polimerin yapısına, moleküler ağırlıklarına ve konsantrasyonlarına ve çözeltide bulunabilecek çeşitli küçük moleküllerin ve iyonların varlığına bağlıdır [22,23,24,25,26]. Etkileşen polimerlerin moleküler ağırlıklarında ve hidrofobikliğinde ve ayrıca çözeltilerdeki konsantrasyonlarında bir artış, daha yüksek kritik pH değerlerine yol açar. Hidrojen bağı IPC'leri, etkileşimli polimerlerin ortak bir çözücü içinde karıştırılması ve ayrıca kalıp (matris)

polimerizasyonu ile hazırlanabilir. kalıp polimerizasyonu, bir monomerin, tamamlayıcı makromoleküllerin varlığında polimerizasyonu olarak tanımlanır [27,28]. Örneğin, Baranovsky ve arkadaşları, poli(etilen glikol) (PEG) ve poli (N-vinil pirrolidon) (PVP) varlığında metakrilik asidin polimerizasyonu yoluyla IPC oluşumunu rapor etmişlerdir [29].

Çalışmaların çoğu, sulu ortamda IPC oluşumunu bildirmesine rağmen, bazı organik çözücülerde polimer komplekslerinin varlığına ilişkin yayınlar vardır [30,31]. Çözücünün doğası kompleksleşmede önemli bir rol oynar ve IPC yalnızca polimer-polimer etkileşimleri polimer-çözücü etkileşimlerinden daha güçlü olduğunda meydana gelebilir.

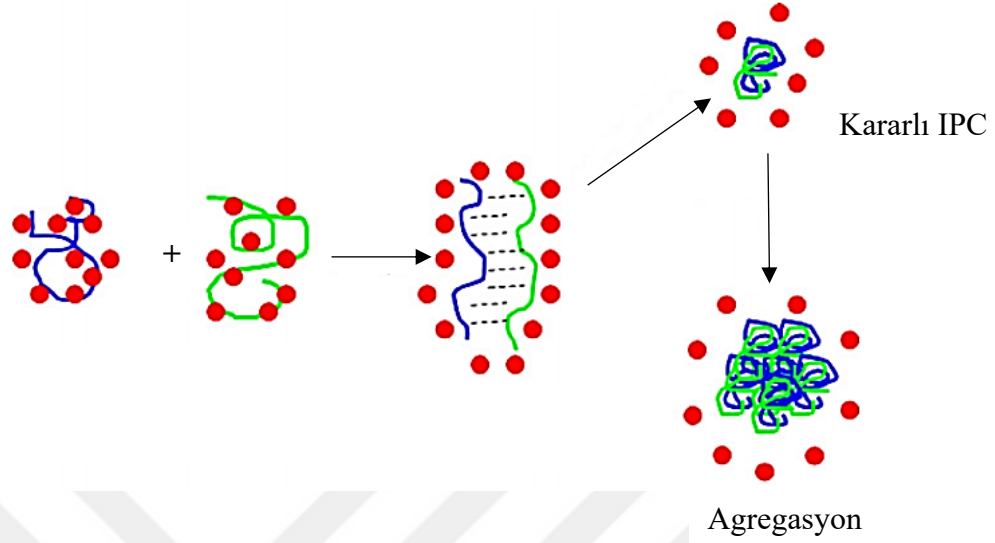
Hidrojen bağı yoluyla IPC oluşumunun termodinamik yönleri bir dizi çalışmada dikkate alınmıştır. Termodinamik parametreler potansiyometrik titrasyon ve doğrudan kalorimetrik ölçümlerle belirlenmiştir. PMAA'nın PVP ile karışımı entalpisinin su içinde pozitif (+5.8 kJ / mol), ancak N, N-dimetilformamide negatif (-1.0 kJ / mol) olduğu bulunmuştur. Pozitif entalpiler, PAA'nın suda poli-N-izopropil akrilamid (+160 kJ / mol) ile kompleksleşmesi için Bokias ve arkadaşları tarafından da bildirilmiştir. PAA ve poliakrilamid tarafından oluşturulan komplekslerde bu değerler negatiftir (-75 kJ / mol). Her ne kadar farklı yazarlar tarafından farklı polimer-polimer çözücü sistemleri için bildirilen termodinamik parametrelerin büyüklüğünde bazı tutarsızlıklar olsa da pozitif entalpi değerleri, IPC'nin kararlılığında hidrofobik etkilerin önemli rolü olduğunu gösterir [32,33,34,35,36,37]. Çözeltilerdeki interpolimer kompleksini etkileyen en önemli faktörlerden biri ortam sıcaklığıdır. Hidrojen bağları daha yüksek sıcaklıklarda ayrılmaya başlar ve hidrofobik etkilerin IPC kararlılığına katkısı güçlenir. Bu nedenle, IPC'nin kararlılığı büyük ölçüde hidrojen bağının katkısı ile hidrofobik etkiler arasındaki hassas dengeye bağlıdır. Düşük kritik çözelti sıcaklığına sahip polimerler tarafından oluşturulan IPC oldukça kararlıdır ve ısıtma üzerine daha büyük agregatlar oluşturur. Bunlar, PNIPAAM, HPC veya poli(vinil metil eter) ile PAA komplekslerini içerir (Staikos ve diğerleri, 1997; Khutoryanskiy ve diğerleri, 2004a; Dubolazov ve diğerleri, 2004). Diğer yandan, hidrofobik etkilerin IPC'nin kararlılığına katkısı daha az önemli olduğunda, kompleksler yüksek sıcaklıklarda ayrışırlar. Bu durum poliakrilamid ve HEC'li PAA kompleksleri için gözlenmektedir (Staikos ve diğerleri, 1997; Khutoryanskiy ve diğerleri, 2004a; Dubolazov ve diğerleri, 2004).

Katı halde, hidrojen bağı IPC'leri, ana polimerlerden tamamen farklı olan mekanik ve termal özellikleri sergiler. Amorf PAA ve yarı kristalin PEO arasında bir kompleksleşme, tamamen amorf IPC oluşumu ile sonuçlanır [17]. PAA-PEO kompleksleri için çekme dayanımı ve nihai uzamalar, sadece PEO'dan orta derecede düşüktür. Polimerler IPC içinde tamamen karışabilir ve tek camsı geçiş sıcaklıkları sergiler [38]. Poli(karboksilik asitler) ve PAAM, polimerik alkoller veya polisakaritler tarafından oluşturulan katı kompleksler, 80-150 °C'de ısıtma üzerine kısmen çapraz bağlanabilir [39,40,41]. Bu kısmen çapraz bağlanmış malzemeler sulu ortama maruz kalmaları üzerine hidrojel oluştururlar.

Hidrojen bağı IPC'lerin birkaç teknik uygulaması önerilmiştir. Bunlar arasında iyon iletken malzemeler [42]. Toprak erozyonunun önlenmesi için reaktifler [43] ve topraktaki radyoaktif elementlerin yakalanması [44] metal şelatlayıcı malzemeler [45] emülgatörler [46,47] ve polimerik membranlar [48] sayılabilir. IPC'nin çoğu, yaygın olarak farmasötik olarak kullanılan, suda çözünür polimerler tarafından oluşturulduğundan yardımcı maddeler, dozaj formları tasarımında polimerik komplekslerin uygulanmasında büyük bir potansiyel vardır.

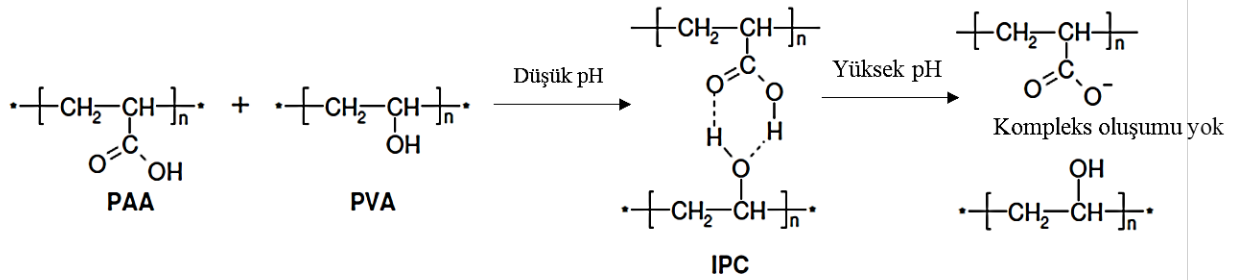
2.1.1.1. Hidrojen bağı komplekslerinin oluşumu

Hidrojen bağı, poli(karboksilik asitler) ve iyonik olmayan polimerler arasındaki interpolimer etkileşimleri için ana itici güçtür. Tek bir hidrojen bağının enerjisi nispeten düşüktür (2-167 kJ/mol) ve uzunluğu 1.2-3.0 °Å aralığındadır [49]. Bununla birlikte, iki makromolekül (kooperatif olay) arasında eşzamanlı sayıda intermoleküler hidrojen bağı oluşumu meydana geldiğinde, etkileşimin gücü çok önemlidir. Etkileşimde işbirliği, IPC'nin, tekli hidrojen bağlarıyla birleşen küçük moleküller ile karşılaştırıldığında, yeterince kararlı bir merdiven tipi yapısı sağlar. Çoğu durumda, bu merdiven tipi yapılar, çözücü moleküllerle yüzey temasını azaltmak için oluşumlarından hemen sonra sıkıştırılmaya başlar ve kompakt IPC partikülleri daha fazla birikmeye devam eder (Şekil 2.1).



Şekil 2.1. Hidrojen bağı IPC oluşumunun şeması (daireler çözücü molekülleridir) [15].

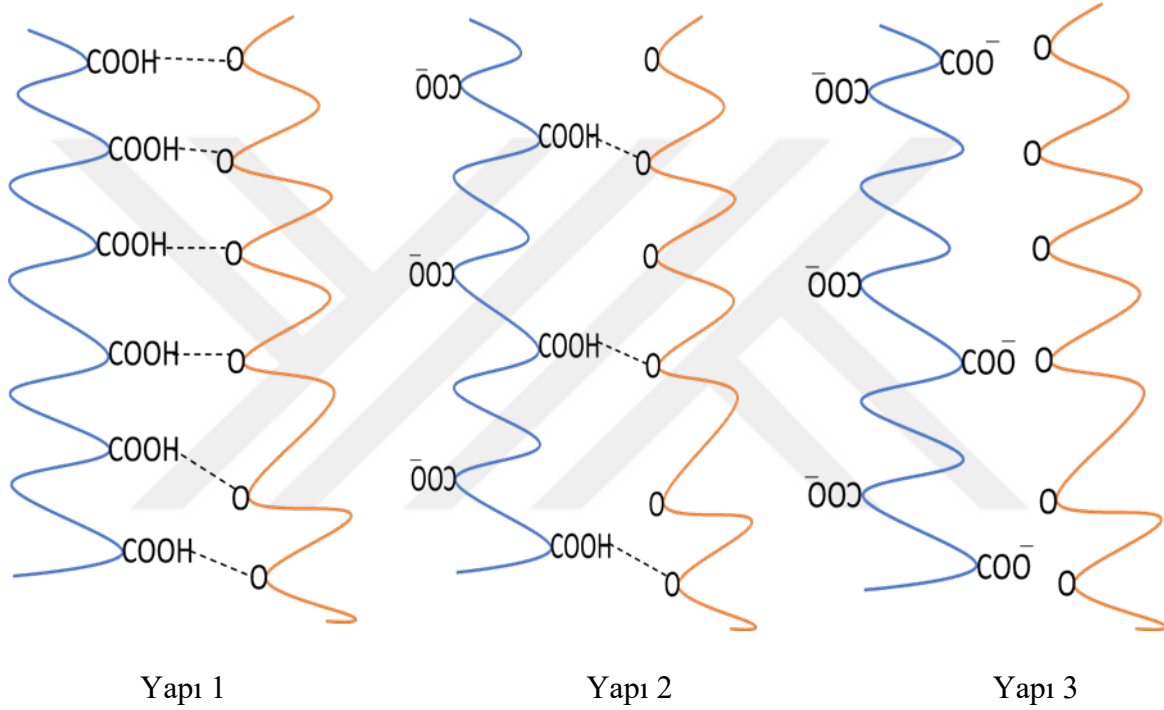
Tüm poli(karboksilik asitler), iyonlaşması pH'a bağlı olan zayıf polielektrolitlerdir. Düşük pH'da iyonize olmamış formda bulunurlar ve yüksek pH'da karboksilik gruplar tamamen iyonlaşabilir. Sadece iyonlaşmamış karboksilik gruplar, proton kabul eden iyonik olmayan polimerlerle hidrojen bağları oluşturabilir. Bu nedenle, çözünmeyen IPC'ler, asidik koşullar altında oluşturulabilir ve pH'daki artış üzerine ayrışabilir:



Şekil 2.2. PAA'nın pH'a bağlı olarak PVA ile hidrojen bağı komplekslerin oluşumu

Sulu çözeltilerde PAA, PMAA ve PSMA gibi poli(karboksilik asitler), Ikawa ve arkadaşları tarafından yoğun bir şekilde çalışılmıştır. IPC veriminin, kritik pH değerinin altında ciddi bir şekilde arttığını göstermişlerdir. Kritik pH'ın poli(karboksilik asit) 'in yapısına bağlı olduğu ve ayrışma sabitinde (pKa) artışla arttığı gösterilmiştir. IPC'nin bileşimi ve yapısının da pH'a bağımlı olduğu belli bir seviyede iyonlaşmamış karboksilik grupların varlığı, PAA ve PEO'un

hidrojen bağ yapması yoluyla kararlı IPC oluşturmak için gereklidir. Şekil 2.3' pH $< \text{pH}_{\text{krit}}$ 'te (Yapı 1) 1: 1 molar stokiyometri ile kararlı bir IPC oluşturulurken, pH $> \text{pH}_{\text{krit}}$ (Yapı 2) biraz daha yüksek pH'da 1: 1 stokiyometriden sapma gözlenir. pH yüksek olduğunda ve karboksilik gruplar tamamen iyonize olduğunda, IPC oluşmaz (Yapı 3): Yukarıda tartışılan çalışmalara göre kritik pH stokiyometri ve yapı olasılıklarını belirleyen, hidrojen bağı IPC'lerin temel bir özelliği olduğu sonucuna varılabilir [15].

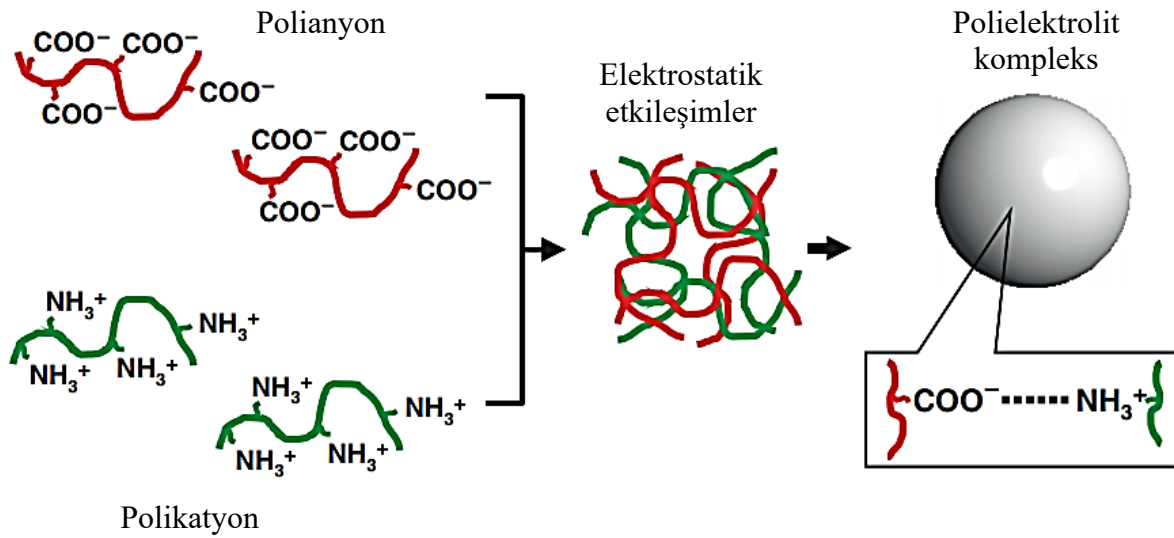


Şekil 2.3. Farklı pH değerlerinde PAA/PEO hidrojen bağı komplekslerin yapısı.

2.1.2. Polielektrolit kompleksler

Polielektrolitler (PE) ileri teknolojilerdeki ve moleküler biyolojideki büyük önemlerinden dolayı son yıllarda bilimsel araştırmaların en ilgi çekici konularından birisi olmuşlardır. Bir PE, tekrar eden birimlerinin pozitif veya negatif yüklü bir polimerik zincir oluşturan herhangi bir iyonlaştırıcı çözücüye (örneğin su) eklendikten sonra yüksek derecede yüklü bir polimerik moleküle dönüşen herhangi bir makromolekül olarak tanımlanır. Yüklenecek bir durumda PE'ler normal makromoleküller gibi davranır, ancak iyonik grupların küçük bir ayrışması varsa özelliklerinde bazı ciddi değişiklikler olabilir. İyonik grupların kısmi veya tam ayrışması nedeniyle, elektrostatik etkileşimler ortaya çıkabilir ve polimer davranışının sapmalarına yol

açabilir. Özellikleri viskozite, çözünürlük, pH, iyonlaşma sabiti, iyonik kuvvet, difüzyon katsayısı gibi özellikler yeni iyonik gruplar ortaya çıkarsa değişebilir. Çözücünün iyonik gücü büyük ölçüde PE davranışını etkiler. Çözücüdeki düşük iyonik kuvvet, PE'ler molekül içindeki itme kuvvetleri nedeniyle açılmış bir forma doğru meyillidir. Çözücüdeki iyonik kuvvet artışı durumunda PE'ler daha büzülme eğiliminde olacaktır. Bu özel davranışları nedeniyle, PE'ler çeşitli farmasötik ve biyomedikal uygulamalarda önemli bir yere sahiptir, çünkü polielektrolit kompleks (PEC) dispersiyonları için farklı derecelerde boyutlar, kararlılık, viskozite veya morfoloji olabilir.



Şekil 2.4. Elektrostatik (Coulomb) etkileşimler yoluyla karşıt yüklü polielektrolitlerden oluşan Polielektrolit kompleks nanoparçacıklarının oluşumu.

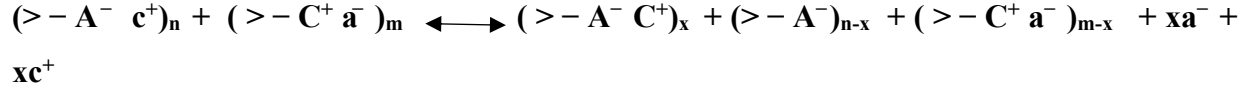
Polielektrolit kompleksleri (PEC), zıt yüklü polielektrolitlerin çözelti içinde birleşmesiyle oluşan üç boyutlu makromoleküler yapılardır. Polielektrolit kompleksleri, proteinlerin/enzimlerin immobilizasyonu, ilaçların depolanması ve salıverilmesi ve antikor-antijen bağlanması ve üretimde uygulanabilirliği nedeniyle birçok biyolojik fonksiyonla ilgisi nedeniyle uzun bir süredir temel araştırmalara konu olmuştur. Kolloidal dispersiyonların pıhtılaşması, polimerlerin izolasyonu ve ayrılması ve dispersiyonlu partiküllerin flokülasyonu gibi prosesler yine polielektrolitlerin davranışları ile açıklanabilir. Son yıllarda, interpolielektrolit komplekslerin

(IPEC), ince filmler ve nanoparçacıklar gibi nano yapıları malzemelerin hazırlanmasında kovalent bağ bazlı stratejiye basit ve düşük maliyetli bir alternatif olarak ortaya çıkmıştır.

Polielektrolit kompleksleri (PEC), aynı zamanda, karşıt yüklü polielektrolitlerin herhangi bir kimyasal kovalent çapraz bağlayıcı olmadan çözelti içerisinde karıştırılmasıyla eşzamanlı olarak oluşturulur. İki polielektrolit polimer arasındaki ana etkileşimler, güçlü ancak geri dönüşümlü elektrostatik ve dipol dipol birleşiminin yanı sıra hidrojen ve hidrofobik bağları da içerir. Kimyasal olarak çapraz bağlanmış komplekslerin aksine, PEC genellikle yüksek biyouyumluluk, mükemmel biyobozunurluk, düşük toksisiteye sahiplerdir. Genel olarak PEC oluşumu, koloidal boyut aralığındaki boyutlarla optik olarak homojen ve kararlı nanodispersiyon oluşumu ile sonuçlanır [50]. Kimyasal çapraz bağlama maddelerinin önlenmesi, ilgili reaktiflerin olası toksisitesini ve diğer istenmeyen etkilerini azaltır [51]. PEC'ler, farklı teknolojik ve bilimsel alanlarda; tıp, ilaç, biyoteknoloji, doku mühendisliği, biyomalzemeler ve biyomedikal kozmetikler vb. [52]. Çok çeşitli uygulamalara izin veren, farklı yapı ve özelliklerde oluşturulabilir PEC'ler biyobozunur, biyouyumlu ve toksik olmadıkları için, farmasötik ve biyomedikal araştırmalara büyük ilgi duyulan bir konu olmuştur [53].

2.1.2.1. Polielektrolit komplekslerin (PEC) oluşum mekanizması

Polikasyonların ve polianyonların çözeltilerinin karıştırılması, karşı iyonların salınması altında kendiliğinden interpolimer komplekslerinin oluşmasına yol açar. Kompleks oluşumu poliasitler ve polibazlar arasında olabileceği gibi bunların nötrale metal ve halojenürlü tuzları arasında da gerçekleşebilir. Serbest polielektrolit zincirleri için, düşük mol kütleli karşıt iyonlar, özellikle karşı iyon yoğunlaşması nedeniyle, yüksek yük yoğunlukları durumunda, az çok makro iyonların yakınında lokalize durumundalar. Kompleks oluşumunun itici gücü, esas olarak düşük molekül ağırlıklı karşı iyonların serbest kalmasından dolayı entropi kazancıdır. Bununla birlikte, hidrojen bağı veya hidrofobik etkileşimler de bu durumda ek bir rol oynayabilir. Olaya Enerji açısından bakıldığında, PEC'lerin oluşumu, PE zincirlerinin elastik enerji katkıları nedeniyle, polimer zincirlerinin çok daha kompakt PEC yapılarına geçişleri sırasında gerekli konformasyonel adaptasyonlarını engellediğinden, PEC oluşumu endotermik bir süreç olarak kabul edilebilir. polielektrolit kompleks oluşum reaksiyonu aşağıdaki denklemle tanımlanabilir [54].



Burada A^- ve C^+ PE'in yüklü gruplarını, a^- , c^+ karşı iyonları, n ve m ise çözeltideki anyonik ve kationik grup sayılarını, n/m veya $n/m=x$ molar karışma oranını temsil etmektedir. $\theta = x/n$, $n < m$ veya $\theta = x/m$ $m < n$, burada θ dönüşüm derecesinin göstermektedir. Dönüşüm derecesi, verimlilikteki bileşenlerin iyonik bölgelerinin zıt yüklü PE'ler tarafından tamamen bağlı olup olmadığını veya düşük mol kütleli karşı iyonların kısmen kompleks içinde kalıp kalmadığını belirler. Diğer bir karakteristik nicelik, herhangi bir karıştırma oranında PEC yapılarının genel bileşimidir. İyonik bağlanmanın stokiyometrisi 1:1 olsa bile, ana bileşen fazla bağlanarak PEC partiküllerinin aşırı yüklenmesine yol açabilir [54].

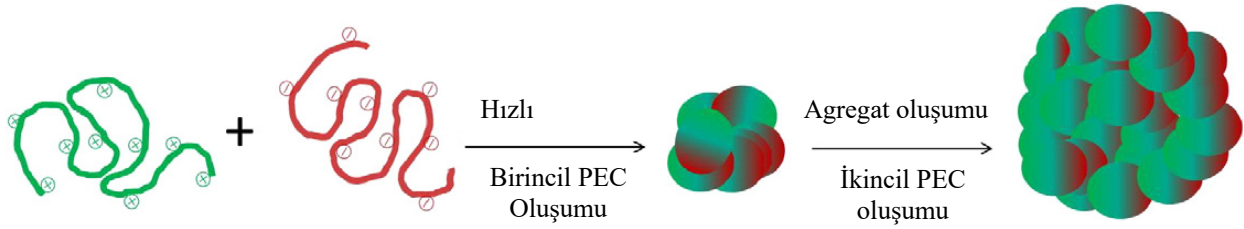
Termodinamik bakış açısından, burada iki tür yaklaşımdan bahsedilmelidir, yani PEC oluşumunda faz ayrımını yöneten kompleks koaservasyon kavramı ve PEC kararlılığı, öncelikle bileşenlerin asit (K_a) ve baz kuvveti (K_b) tarafından belirlenir. Kompleks koaservasyon kavramı, orijinal olarak tek fazlı bir polimer çözücü sisteminin, polimer zincirlerinin desolvasyonu ve agregasyonu nedeniyle polimer bakımından zengin bir jel fazına ve düşük polimer konsantrasyonuna sahip bir sol faza enerjiyle yönlendirilen faz ayrımına dayanır. Bu kavram, özellikle oldukça düşük K_a ve K_b 'ye sahip nisbeten nötr PE'ler arasında PEC çökeltme olayının kantitatif bir yorumu için başarıyla kullanılmıştır. Esas olarak Kabanov tarafından desteklenen diğer yaklaşım, diğer etkileşim türlerini (hidrofobik ve H-bağları) ihmal ederek poliyonlar arasındaki kulombik (Coulombic) etkileşim kuvvetlerinin hesaplanmasına dayanmaktadır. Bu yöntemle, kompleks oluşumunun dengeleri belirlenebilir, bu da polianyon-polikasyon sistemlerinin “zayıf” ve “güçlü” iyon bölgelerine göre sınıflandırılmasına yol açar. Bununla birlikte, kullanılan basitleştirici varsayımlar, herhangi bir PE kombinasyonu için bu denge sabitinin sayısal bir tahminine izin vermez [54].

Kinetik olarak, polielektrolit kompleks oluşumu üç aşamaya ayrılabilir [55].

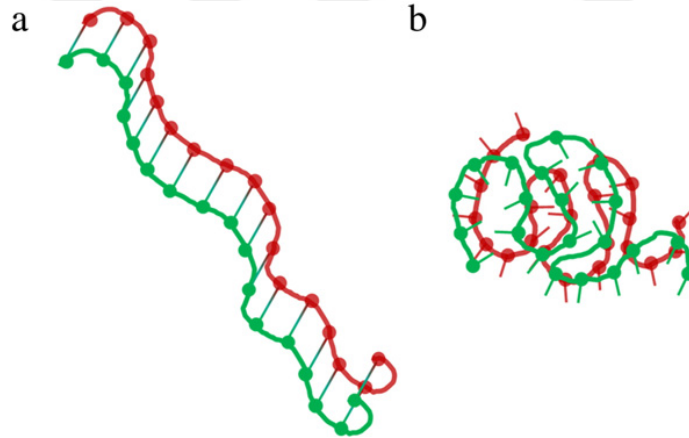
1. Elektrostatik kuvvetler nedeniyle anında oluşan “birincil kompleks oluşumu”.
2. Kompleksin içindeki yeni bağların oluşabileceği ve zincir düzenlemesinin yapılabileceği “kompleksin içindeki oluşum süreci”.

3. Hidrofobik etkileşimlerden dolayı komplekslerin agregatlarının oluştuğu “İnterkompleks toplama işlemi”.

İlk adım çok hızlıdır, diğer ikisi ise difüzyon sürecidir ve hız belirleyici olabilir. Polikasyon ve polianyon çözeltilerinin karışımı genellikle PEC "partiküllerinin" polimodal boyut dağılımı ile sonuçlanır. Bu parçacıklar, Şekil 2.5'de gösterildiği gibi daha büyük yapılar oluşturmak üzere toplanabilir. Bu toplanma süresi, ısıtılarak ve karıştırılarak azaltılabilir. Toplanan PEC'ler, net yüzey yükü taşıdıklarından ve birbirlerini ittiklerinden kararlıdırlar [56].



Şekil 2.5. Polikasyonların ve polianyonların karıştırılması sırasında polielektrolit kompleks parçacık oluşumunu ve ardından agregatların oluşumunu gösteren şematik reaksiyon [56].



Şekil 2.6. İki tip polielektrolit kompleks yapısı (a) “merdiven” modelinin ve (b) “çırpılmış yumurta” modelinin şematik gösterimi [57].

Çözünebilir PEC’ ler üzerine geniş kapsamlı ve sistematik çalışmalar, Kabanov ve Tsuchida tarafından yapılmıştır [58,59,60,61]. Uygun tuz koşullarında, zayıf iyonik gruplara sahip poliyonlar arasında PEC oluşumunu ve stokiyometrik olmayan sistemlerde farklı molekül ağırlıklarının çözünebilir kompleksler oluşturabildiğini göstermişlerdir. Bu tip PEC’ ler merdiven modeline göre yapılanmış olup, hidrofilik tek sıralı ve hidrofobik çift sıralı

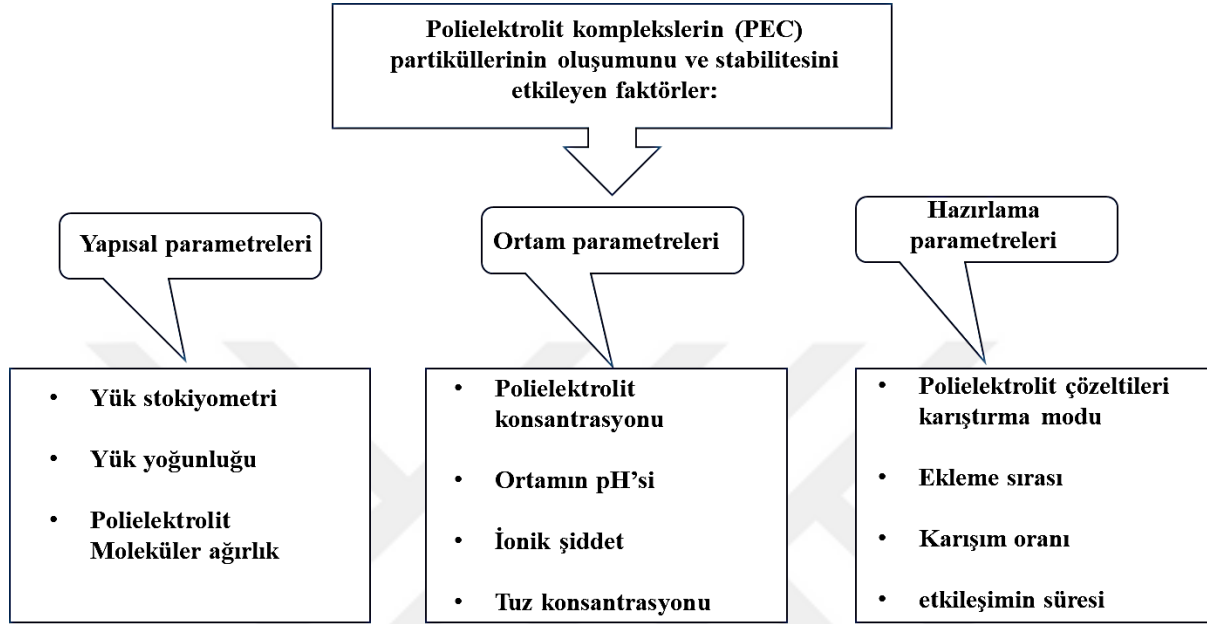
segmentlerden oluşmaktadır. Ağırlıklı olarak, karboksilik gruplar içeren polianyonlar çeşitli polikasyon kombinasyonlarında kullanılmaktadır. Az miktarda tuzun varlığı çevrilme ve değişim proseslerine yardımcı olmakta ve reaksiyonu termodinamik olarak denge konumuna yaklaştırmaktadır, bu da kısa zincirli bileşenlerin diğer uzun zincirler arasında muntazam bir şekilde dağılmasını sağlamaktadır. Akışı durdurma ölçümleri PEC oluşumunun 5 mikrosaniyeden daha az bir sürede oluştuğunu, neredeyse poliyon kümelerinin difüzyon ile çarpışmalarına eşdeğer olduğunu göstermektedir [62]. Daha sonra eklenen tuz öncelikle elektrolit tarafından yüklerinin perdelenmesi sonucu PEC'lerin büzülmesi ile sonuçlanmaktadır. Kritik bir tuz konsantrasyonu aşıldığı zaman, kısa zincirlerin dış protonasyonu gerçekleşmekte ve çözeltide tamamen kompleksleşmiş çökeltiler ve saf PE zincirleri bulunmaktadır [63,64]. Daha yüksek tuz konsantrasyonlarında çökelek tekrar çözünür ve iki bileşen de serbest PE zincirleri olarak çözeltide bulunur. Benzer etkiler pH değişimi ile de gözlemlenebilmektedir. [65]. Düşük iyon şiddetlerinde PEC'ler yüksek kararlılık göstermekte, poliyon değişimlerinde ve daha yüksek iyon şiddetlerinde yer değiştirme reaksiyonlarında yer almaktadırlar. Özellikle, yüksek molekül ağırlıklı veya yüksek iyonik şiddete sahip bileşenler eklenmesi yer değiştirme reaksiyonları vermektedir [66,67].

2.1.2.2. Polielektrolit komplekslerin (PEC) partiküllerinin oluşumunu ve kararlılığını etkileyen faktörler:

2.1.2.2.1. Ekleme sırası

Polielektrolitlerin birbirleriyle karıştırılma sırası, PEC oluşum işleminin başlangıcında hangi poliyonun fazla olduğunu belirleyecektir. Non-stokiyometrik PEC partiküllerinin hazırlanmasında, örneğin $[n^+ / r^-] = 2'$ de, polikasyona, polianyon eklenirse, komplekslerde her zaman bir pozitif yükün aşırı olduğunu ve itici olduğunu fark etmek çok önemlidir. Aralarındaki kuvvetler kolloidal stabilitenin korunmasına yardımcı olur. Bununla birlikte, eğer aynı polimer karışımı polianyona polikasyon eklenmesiyle (fazla) hazırlanırsa, ilk PEC'ler negatif yükü polikasyon ilavesinin yarısı boyunca nötr bir değere ulaşacaktır. Sonuç olarak, polielektrolitler ekleme sırayla karıştırıldığında nötr parçacıklar toplanabilir. Bu nedenle, eksiklikteki

polielektrolitlerin yapısına bağılı olarak farklı çekirdeklenme dinamikleriyle sonuçlanan fazlalığa eklenmesi önerilmektedir [68].



Şekil 2.7. PEC'lerin oluşumunu ve stabilitesini etkileyen çeşitli faktörlerin gösterimi [69].

Dautzenberg ve arkadaşları, polielektrolitlerin karışım sırasının sadece ortaya çıkan nanopartiküllerin boyutunu 2 kat büyüklükte bir değişikliğe neden olduğunu değil, aynı zamanda muhtemelen bu polimerlerin farklı bir paketlenmesinden dolayı bu komplekslerin NaCl'ye karşı kararlılığını etkilediğini gözlemlediler. Literatürdeki diğer çalışmalar, komplekslerin son morfolojisi üzerinde ya güçlü bir bağımlılık ya da neredeyse ihmal edilebilir bir etki bulmakta oldukça farklı sonuçlar göstermiştir. Çalışmalar arasındaki farklılıklar, diğer değişkenlerin (örneğin molekül ağırlığı ve poliyon gücü) etkilerine atfedilmeli ve bu nedenle PEC oluşum etkileri ayrı ayrı değerlendirilmelidir. [70].

2.1.2.2.2. pH'ın etkisi

Biyomedikal açıdan bakıldığında, polielektrolitler sırasıyla fizyolojik pH'da kısmi veya tam iyonlaşmaya maruz kalsalar da zayıf veya güçlü olarak sınıflandırılabilirler. Sonuç olarak, güçlü polielektrolitlerin aksine, zayıf polimerlerin yüklenme yoğunluğu, farklı dokularda ve

organellerde bulunan pH'a güçlü bir şekilde bağlı olacaktır. Bu pH aralığındaki varyasyonlar polielektrolit bağlanma ve PEC partikül kararlılığında değer kaybı veya kazanımında (yani molekül başına yükler) önemli değişikliklere yol açabilir. PEC komplekslerinin pH'ye duyarlı davranışının iyi bir örneği, farklı pH'larda güçlü bir poli(allilamin) (PAH) ve zayıf poli(akrilik asit) (PAA) polielektrolitlerden oluşan bir sistem üzerindeki çalışmalarda ortaya konmuştur. Han ve arkadaşları, düşük pH'da (2.0-2.5), PAA nerdeyse hiç veya az miktarda iyonlaşır böylece düşük yük yoğunluğunun bir sonucu olarak daha şişmiş ve gevşek kompleksler oluşur. Bununla birlikte, daha yüksek pH'da (3.5-5.5) PAA zincirleri daha fazla iyonlaşır ve böylece elektrostatik çapraz bağların sayısındaki bir artıştan PAH ile daha fazla kompleksler oluşur. Zayıf poliiyonlar bu nedenle 'deprotonasyon derecelerini' ve yük yoğunluğunu biyolojik pH'daki değişikliklerle değiştirebilir [71].

Reaksiyon ortamının pH değerinin yanı sıra poliasit çözeltisinin pH değeri, PEC oluşum mekanizması ve bağlanma türünün ayrıca ortaya çıkan PEC yapısının sağlamlığını ve kararlılığını etkileyen önemli bir parametredir. Polibaz çözeltisinin protonasyon derecesi, PEC oluşum reaksiyonunda yer alan anyonik fonksiyonel grupların protonasyon derecesi ile birlikte pH değerine bağlıdır. Bu etki birçok grup tarafından geniş çapta incelenmektedir. Bu çalışmaların sonuçları, hem katyonik hem de anyonik grupların en verimli şekilde etkileşime girebilmesi için optimum bir pH değerinin olması gerektiğini göstermiştir. Bu çalışmaların bazıları aşağıda anlatılmıştır. Fukuda ve Kikuchi, sodyum dekstranülfat (DS) ve kitosan'dan oluşan PEC'lerin antikoagülan aktivitesi üzerine yaptıkları çalışmada, reaksiyon ortamının pH'sının ortaya çıkan PEC'lerin özelliklerini güçlü bir şekilde etkilediğini gözlemlediler. PEC yapısındaki nitrojen/kükürt mol oranının ortamın pH'ına bağlı olduğu tespit edilmiştir. İki tür PEC yapısı oluşturulmuştur. Biri daha düşük pH koşullarında ortaya çıkan PEC yapısıdır. -OSO₃⁻ ve -NH₃⁺ arasındaki bağlantı noktalarının sayısı, azot miktarına göre -OSO₃⁻ gruplarının protonlanması incelendiğinde, düşük pH'a ortamında elde edilen PEC'de daha az bulunmaktadır. Düşük ve yüksek pH'da hazırlanan PEC'lerin özellikleri de farklıdır. Yüksek pH ortamında elde edilen PEC'ler kanın pıhtılaşmasını bastırırken, daha düşük pH'da hazırlananlar onu güçlendirir [72]. Müller ve arkadaşları, pH kombinasyonunun $n^-/n^+ = 1.5$ molar karışım oranında zayıf polielektrolitler poli(etilenimin) (PEI) ve poli(akrilik asit) (PAA) içeren PEC sisteminin partikül büyüklüğü üzerindeki etkisini araştırmıştır. PAA çözeltisinin sabit pH değerinde PEI çözeltisinin

pH değerinin (10, 8, 5, 7 ve 4) azalması ile partikül boyutu 400 nm'den 160 nm'ye düşmüştür. Düşük pH'da yüksek yüklü PEI/PAA parçacıkları elektrostatik çekim nedeniyle daha yüksek pH'ta oluşturulan düşük yüklü parçacıklara kıyasla karşılıklı elektrostatik itme nedeniyle daha düşük pıhtılaşma eğilimine sahip olabilir [68].

2.1.2.2.3. Polielektrolit konsantrasyonunun etkisi

Polielektrolit çözeltilerinin konsantrasyonundaki artış, fonksiyonel grupların miktarında da bir artışa neden olur, böylece iyonik etkileşimlerinin ve PEC oluşumunun kararlılığını artırır. Müller ve arkadaşları, birincil PEC'nin sekonder PEC partiküllerine, kısa menzilli dispersiyon etkileşimlerinden dolayı toplanma modeline dayanarak, polielektrolit konsantrasyonunun artırılmasının, benzer yüklü birincil PEC partikülleri arasında ve dolayısıyla bunların artan çekimlerinde elektrostatik itmenin azalmasına neden olduğunu ileri sürmüştür. Ayrıca, polielektrolit konsantrasyonundaki bir artış, hacim başına çok sayıda birincil PEC partikülüyle de sonuçlanabilir. Her ikisi de daha büyük ikincil PEC parçacıklarına yol açabilir. Bazı polielektrolit konsantrasyon değerlerinin aşılması da çökelmeye neden olabilir. Polikasyonlarla olan aljinat komplekslerinin dayanıklılık ve kararlılığı, kimyasal bileşim, ardışık yapı ve polikasyon ile aljinatın büyüklüğü gibi parametrelere bağlıdır [68]. Aljinatın derişiminin artışı yük yoğunluğunun artmasına ve böylece polikasyonun bağlanma kapasitesini arttır [73,74]. Smitha ve arkadaşları, etkileşimlerin tipini ve polielektrolit derişiminin kitosan-PAA kompleks membranlarının özellikleri üzerindeki etkisini incelemişlerdir. PAA derişimindeki artış, PAA'nın kenetleme etkisi nedeniyle kitosan zincirlerinin daha yakın bir paketlenmesini oluşturarak PEC'deki iyonik çapraz bağlanmada bir artışa neden olmuştur. Ayrıca, kitosan derişimindeki artış, iyonik çapraz bağlanmada bir artışa neden olarak, membranın gerilme mukavemetinde bir artışa ve kopma uzamasında azalmayla sonuçlanmıştır. Başka bir polimer zinciri ile elektrostatik etkileşimlere sahip olan polimer zincirleri, iyonik etkileşimler nedeniyle hareketlilikte bir kısıtlama ve dolayısıyla gerilme mukavemetinde bir artış ve kopma uzamasında bir azalma yaşadığı için bu sonuçlar şaşırtıcı değildir [75].

2.1.2.2.4. Polielektrolit molekül ağırlıklarının etkisi

Polielektrolitlerin mol kütlesi, birbirleriyle etkileşen fonksiyonel grupların miktarını etkiler. Molekül ağırlığı etkisi, boncuk ve jel yapılarının yüzeyinde oluşan polielektrolit kompleksleri ile diğer polielektrolitin önceden var olan jel ve boncuk yapısına difüzyonu ile bunlarda oluşan polielektrolit kompleksleri için farklıdır. Bu yapılara difüzyon işlemi, daha yüksek molekül ağırlığına sahip oldukları zaman çok sınırlıdır, bu nedenle çekirdek kısımda PEC yapısının oluşumu, düşük molekül ağırlığına sahip durumundan daha zordur. Bu etki birçok araştırmacı tarafından incelenmiştir. Bunlardan bazıları aşağıda özetlenmiştir. Kitosan-sodyum dekstransulfat (DS) komplekslerinin detaylandırılması Schatz ve arkadaşları tarafından araştırılmıştır. Kitosanın zincir uzunluğunun komplekslerin boyutlarını etkileyen önemli parametrelerden biri olduğu, en büyük partiküllere yol açan yüksek moleküler ağırlıklı kitosan olduğu bulunmuştur. Kitosanın mol kütlesi ile PEC'lerin hidrodinamik çaplarının varyasyonları, polielektrolit kompleksli bölümlerin nötr ve daha sonra hidrofobik bloklarının ayrılması yoluyla bir partikül oluşumu mekanizması ile tutarlıdır. Diğer taraftan, DS'nin molar kütlesinin artmasıyla, farklı asetilasyon derecelerine (DA) sahip tüm kitosan numuneleri için partiküllerin ortalama boyutu azalmıştır. En yüksek mol kütleli kitosan ile elde edilen partiküller için, kitosan DA'sı ne olursa olsun, DS 5000 eklendiğinde boyutlarda bir azalma görülmüştür. DS 5000 ilave edildiğinde, polianyon ile iyonik kümeleme partikül boyutlarında bir azalma ile sonuçlanmıştır. Bu azalma, iki düşük mol kütleli kitosan ile daha az ölçüdeydi, bu da bu komplekslerin daha kompakt ve tek biçimli bir yapıya sahip olduğunu düşündürür. Küçük ve hareketli olan bu polimer zincirleri, yük eşleşmesini ve etkileşimlerin kapsamını iyileştirmek için gerekli olan konformasyonel adaptasyonu elde etme konusunda daha iyi bir yeteneğe sahiptir. DA'nın artması üzerine, parçacıkların boyutları artmıştır, bu da parçacık boyutlarının, partnerin iyon eşleşmesini sağlama yeteneği ile doğrudan ilişkili olabileceğini düşündürmektedir [76].

Karakane ve arkadaşları, daha yüksek molekül ağırlıklı PAA kullanımının su/etil alkol karışımlarına karşı daha yüksek ayırma faktörüne sahip daha ince bir membran oluşumuna yol açtığını bildirmiştir. Bu, muhtemelen elektrostatik etkileşimlerdeki artıştan dolayı oluşan membranın daha homojen ve deliksiz bir yapıya sahip olduğunu düşündürmektedir. Polimerler ne kadar düşük molekül ağırlığına sahipse, elde edilen membran o kadar fazla zincir ucu grubuna sahiptir ve bu da membranın serbest hacminde karşılık gelen bir artışa yol açmaktadır [77]. Polk

ve arkadaşları, kitosan-aljinat mikro kapsüllerinde düşük molekül ağırlıklı kitosan kullanıldığında elde edilen mikro kapsüllerin mekanik özelliklerinde bir iyileşme gözlemlemişlerdir. Kitosanın molekül ağırlığındaki azalmayla zincirler arası etkileşimlerin artması sonucu spiral yapıların oluşumunun önlediğini, böylece mevcut amino gruplarının aljinat zincirindeki $-\text{COO}^-$ grupları ile etkileşime girebileceğini öne sürmektedir [78]. Yan ve arkadaşları tarafından tutarlı aljinat-kitosan PEC filmleri hazırlanmış ve kitosan molekül ağırlığının PEC oluşumuna etkisi araştırılmıştır. Düşük molekül ağırlıklı kitosan ile hazırlanan filmler, yüksek molekül ağırlıklı kitosan ile hazırlanan filmlere göre iki kat daha ince ve şeffaf, ayrıca su buharına karşı %55 daha az geçirgendir. Buradan düşük molekül ağırlıklı kitosan NaAlg ile daha iyi reaksiyona girdiği sonucuna varılabilir. Aljinat ve yüksek molekül ağırlıklı kitosan (HMCS) çözeltilerinin karıştırılması, heterojen filmlere yol açan jel benzeri, kümelenmiş koaservatların bir süspansiyonunu oluşturmuştur. Elde edilen bu filmler pürüzlü, dalgalı ve yoğun çizgili bir yüzeyi sahiptir. Diğer yandan, düşük molekül ağırlığına sahip kitosan (LMCS), aljinat ile ince, lifli koaservatların sütlü bir süspansiyonunu oluşturmuştur. Elde edilen filmler, ince dağılmış çizgilere sahip daha pürüzsüz yüzeylere sahiptir. LMCS-NaAlg filminin diğer filmlere kıyasla nispeten daha düzgün ve daha ince bir faz dağılımına sahip olmasıdır [79]. Kitosanın aljinat boncuklarına bağlanması, Gaserod ve arkadaşları tarafından kantitatif olarak incelenmiştir, Kitosanın bağlanmasının, kitosan molekül ağırlığını azaltarak belirgin şekilde arttığını gözlemlemişlerdir. pH 5 ila 6 arasında, 20000'in altında ortalama moleküler ağırlığa sahip kitosanlar, yüksek ortalama molekül ağırlığına sahip kitosanolardan daha yüksek oranlarda ve daha büyük ölçüde aljinat boncuklarına bağlanabilir. Molekül ağırlığı ortalama 17000 olan kitosanolarda, asetil gruplarının varlığı, bağlanmada önemli bir azalmaya yol açmıştır, bu da kitosanın etkin bağlanması için daha düşük bir molekül ağırlığı sınırının var olduğunu öne sürerek, bağlanmada belirgin bir azalma yaratmıştır [80].

2.1.2.2.5. İyonik şiddet etkisi

Reaksiyonun gerçekleştiği ortamın iyonik kuvveti, sulu ortamdaki polielektrolitlerin zincir yapısını etkilediğinden, aynı zamanda polielektrolit kompleks oluşum reaksiyonunu da etkiler. İyonik gücün etkisi pek çok çalışmada incelenmiştir. Dautzenberg ve arkadaşlarının incelediği çalışmada çözeltinin iyonik gücü arttıkça PEC'lerin hem boyutunda hem de polidispersitesinde

önemli bir azalma gözlenmiştir. Aslında, tuzun mevcudiyeti, zıt yüklü polielektrolitler arasındaki bağlanma gücünü zayıflatır ve değişim süreçleri ve konformasyonel adaptasyon yoluyla yük telafisini destekler, yani polielektrolit kompleks oluşumu termodinamik dengeye daha yakın koşullarda gerçekleşir [81]. Hugerth ve arkadaşları, iyonik kuvvete göre değişen çözücülerde oligokitosan ve iota karragenan arasındaki kompleks oluşumunu araştırmışlardır. Bununla birlikte, iyonik kuvvet arttığında, uygun pozisyonadaki karragenanları bağlamak için daha az kitosan gerekli olduğunu gözlemlemişlerdir. Tuzun eklenmesi, makro iyon yüklerinin taranması nedeniyle polisakkarit zincirlerinin hidrofobik karakterinde artışa neden olmuştur [82]. Reaksiyon ortamının iyonik gücünün ayrıca Bartkowiak ve Hunkeler tarafından karboksimetil selüloz (CMC) ile reaksiyona giren oligokitosan zincirlerinin moleküler boyutunu da etkilediği bulunmuştur. Artan iyonik kuvvetle birlikte, CMC ile kompleks oluşturan kitosan moleküler boyutunun daha yüksek değerlere doğru sürekli kayması gözlenmiştir. Tuz konsantrasyonunun artmasıyla polianyon yumak boyutunun küçüldüğünün gözlemlenebildiği tarama etkisi, polianyon zincirleri arasında daha büyük mesafelere yol açar ve sonuç olarak tercihen daha büyük oligokatyon zincirleri kompleks oluşumuna katılır. pH'ın düşürülmesi yoluyla oligokatyon protonasyon derecesinin artırılması, kompleksleşme reaksiyonunda yer almak için daha kısa oligomerik zincirlere doğru net bir kaymaya neden olur, bu da daha yoğun ve daha az geçirgen bir alttan kesilmiş membranın oluşum ile sonuçlanır [83]. Düşük molekül ağırlıklı iyonların eklenmesi, çözeltideki polielektrolitlerin yapısını değiştirir. Aljinatta olduğu gibi özellikle daha uzun zincirler, uzunlamasına yapılardan daha kompakt sarmal yapılara dönüşür. Bu nedenle, düşük molekül ağırlıklı oligokitosan zincirleri aljinat zincir ağına kolayca nüfuz edebilir ve daha az kalın ve az yoğunluğa sahip membranlar oluşturabilir. Nötr olmayan koşullar için, tuz artışı nedeniyle makro iyonlardaki yük bastırma, kompleksleşme derecesini azaltır. Genel olarak, kitosan'ın düşük mol kütleli kısmı, tuzsuz bir sistemde membran oluşumunda rol oynamaktadır [83]. Oligomerler ile yapılan karışımlarda en uzun zincirlere tercihli bağlanmanın gerçekleştiği, oligomer karışımları arasında bir dizi interpolimer reaksiyonu meydana gelmiştir. [84]. Bununla birlikte, bu sonuç öncelikle H-bağı kompleksleştirme sistemlerine dayanmaktadır. Tuzsuz çözeltilerdeki polielektrolitler durumunda, çözelti özelliklerini ve aynı zamanda kompleks oluşum mekanizmalarını güçlü bir şekilde etkileyen moleküller içi ve arası elektrostatik etkileşimler meydana gelir. Saf suda kapsül oluşumu esnasında, kitosan'ın düşük molekül ağırlıklı kısmı seçici olarak membrana dahil edilir. Artan polikatyon protonasyon

derecesi ile pH'ın düşürülmesi yoluyla daha kısa oligomerik zincirlere doğru açık bir kayma gözlenir. Bu, daha yoğun ve daha ince membranlara ve sonuç olarak mekanik dayanım açısından daha az kararlı kapsüllere neden olacaktır. Polielektrolitlerin iyonik gücü, PEC'lerin son büyüklüğü üzerinde büyük etkiye sahiptir. İyonik kuvvetteki bir artış, ortalama çapta, zincir esnekliğindeki artışla ilişkili olabilecek bir azalmaya neden olur [85]. Kompleks, sadece iki polielektrolitin pKa aralığı civarında pH değerlerinde meydana gelebilir. Kompleksleme sırasında, polielektrolitler koaservasyon yapabilir veya daha fazla veya daha az kompakt bir hidrojel oluşturabilir. Bununla birlikte, eğer iyonik kuvvet çok kuvvetli ise çökelme oluşabilir [86].

2.1.2.2.6. Yük yoğunluğu etkisi

Dautzenberg ve arkadaşları, yük yoğunluğunun etkisini akrilamidin katyonik ve anyonik kopolimerlerini kullanan PEC özellikleri üzerinde etkisini incelediler. Polielektrolit bileşenlerinin eşit yük yoğunluğu için, PE parçacıkların kompakt bir yapı oluşturduğunu, oysa polielektrolit bileşenlerin kuvvetli şekilde sapan yük yoğunluğuna sahip sistemlerde gevşek bir yapı oluşturduğunu gözlemlediler [87]. Shovsky ve arkadaşları, katyonik bir metakriloksietil trimetilamonyum (METAC) ve anyonik poli(stiren sülfonat) (PSS) ile tartışmalı bulguları bildirmişlerdir. Azalan yük yoğunluğu ile 20 nm civarında hidrodinamik yarıçaplarda ve 1:1 stokiyometri için bile kararlılığın artmasıyla çözünür PEC'lerin elde edilmesinin mümkün olduğunu açıkladılar [88]. Viskozimetrik titrasyon çalışmalarında Lee ve arkadaşları kitosan ve aljinatın maksimum karışım oranının (R_{max}) aynı pH'da asetilasyon derecesinin azalmasıyla arttığını gözlemlediler. Bunun nedeni, kitosana N-asetil grupları eklendikçe kompleks oluşumuna katılabilen serbest amin gruplarının sayısının azalmasıdır [89]. Berth ve arkadaşları, kitosan ile poli(stiren sülfonat) kompleksleri için oluşturulmuş PEC'ler üzerinde zıt yapıların olduğu gibi ayrıca deasetilasyon derecesinin de önemli bir etkisi olduğunu öne sürmüştür. Bu, bileşenlerin birbirine göre yük mesafelerinin bir etkisi olabilir (eşleşme veya uyumsuzluk) [90].

2.1.2.2.7. Polielektrolit kompleks oluşumunu etkileyen diğer parametreler

Bu parametrelerden bazıları, sıcaklıkla birlikte bazı durumlarda, polielektrolitlerin karışım oranı ve konformasyonel özellikleridir. Polielektrolitlerin karışım oranları, reaksiyon ortamında

bulunan her iki polielektrolitin de tam olarak reaksiyona girip girmediği (biri ortamda bırakılırsa) ve polielektrolit kompleks oluşumunun tam tepkimesi için gerekli miktarın karşılanıp karşılanmadığını belirler. Polielektrolitlerin yapısal özellikleri, PEC oluşumunu farklı bir şekilde etkiler. Bu parametre, polielektrolit zincirindeki yüklü gruplarda hem stabiliteyi hem de sonuçta ortaya çıkan PEC yapısının özelliklerini etkileyen herhangi bir uyumsuzluk olup olmadığını belirler. Bartkowiak ve arkadaşları tarafından hazırlanan oligokitosan ve iota karragenan (IC) kapsülleri daha düşük sıcaklıklarda inkübasyon sırasında kapsül zarının daha yavaş büyüdüğü gözlemlendiler. Oligokitosan zincirlerinin difüzyonu, jelleşme işlemi sırasında oluşan karragenan sarmal agregatları tarafından geciktirilmiş gibi görünmektedir. Ayrıca sıcaklığı geçiş noktasının altına düşürerek (22°C), üretilen membranlar daha yoğun ve daha yüksek çapraz bağlanma yoğunluğuna sahiptir. Kapsül oluşumu sırasında kitosan molekül ağırlığına göre çok seçici bağlanma gerçekleşir. Spesifik olarak, daha düşük bir sıcaklıkta, daha kısa oligokitosan zincirleri tercihen membran oluşumunda yer alır ve daha kompakt bir PEC ile sonuçlanır [91]. Hugerth ve arkadaşları tarafından, Karragenan ailesinin konformasyonel özellikleri kitosan ile reaksiyonlarındaki etkisi araştırılmıştır. Çalışmalarının sonuçları, kitosan ile karragenanların etkileşiminin, karragenanın konformasyonundan etkilendiğini ve özellikle merdiven tipi PEC yapıları için sapmaların tespit edildiğini göstermişlerdir. Kappa-karragenan (KC) numunesi sarmal-sarmal kümelenmiş halde mevcut olduğunda, kitosan ile etkileşim, kitosana göre bir'in altında bir yük oranına sahip PEC'ler üretir, böylece fazladan negatif yüke sahip kompleksler üretmenin bir yolunu sağlar. İyonik kuvvette, yumak-sarmal geçişini indüklemeyen ılımlı bir artış, muhtemelen hidrofobik etkilerden dolayı, yük oranı bir'den daha az olan kompleksler ile sonuçlanır [92]. Zıt yüklü polielektrolitlerin belirli bir kalınlıkta PEC membranları oluşturma yeteneği göz önüne alındığında zincir uzaması ve esnekliğinin de önemli olduğu Gaserod ve arkadaşları tarafından gösterilmiştir [80]. Kitosan, çözeltide sert bir yumak olarak bulunur ve geniş bir jirasyon yarıçapına sahiptir, bu da membrandan yayılma kabiliyetini engelleyecek ve polianyonlarla meydana gelen etkileşimlerin olasılığını artıracaktır. Bu etki ince membranların oluşumunu destekler. Bu nedenle zincir esnekliği, polianyonun zardaki yayılımının ve dolayısıyla zar kalınlığının belirlenmesinde rol oynamış olabilir. PEC kabuğundaki zıt yüklü polimerler arasındaki daha fazla sayıda etkileşimin, kabuğun mekanik mukavemetini artıracak olan, PEC katmanında daha yoğun bir bağlantılı zincir ağının oluşumunu teşvik etmesi muhtemeldir. Anyonik grupların polimer omurgası üzerindeki dağılımı, tekrarlayan her birimde

negatif yüklü fonksiyonel grup taşımayan polimerler için, yüklerin eşleşmesi veya uyuşmaması durumunda önemlidir [93].

2.1.3. Stereo kompleksler

Stereo kompleksleri, izotaktik ve sindiyotaktik polimer çiftlerinin genellikle van der Waals kuvvetlerinin etkileşimi sonucunda gerçekleşir. Stereo kompleksleri yüksek derecede düzenli karakteristik yapısal özellikler göstermektedir. Stereo komplekslerinin oluşumunda kullanılan analitik yöntemler kompleks çözeltilerinin hidrodinamik davranışını ve elde edilen ürünün fiziko-kimyasal özelliklerini belirlemek için diğer kompleks tiplerinde kullanılan metotlarla aynıdır. Polar organik solventlerde kompleks oluşumu çökelti ile sonuçlanır ve bileşimi ([izotaktik]/[sindiyotaktik] birimlerinin mol oranı) ([izo-PMMA]/[sindiyotaktik-PMMA]) yaklaşık 1/2 kadardır. Aksine apolar solventlerde kompleks oluşumu jel ile sonuçlanır ancak bileşim yine 1/2'dir [94,95].

2.1.4. Yük transfer kompleksleri

Yük transfer kompleksleri, belirli bir stokiometri ile elektron verici ve elektron alıcı polimerler tarafından oluşturulan iki bileşenli sistemlerdir [96,97,98]. Yük transfer komplekslerinin etkileşimlerini araştırılması için en yaygın olarak kullanılan fiziksel yöntemlerden biri, UV-Görünür bölgeleri içeren spektroskopisidir. İlk olarak, elektron verici ve alıcı birimlerinin enerji seviyeleri arasındaki fark, ortaya çıkan kompleksin elektronik özelliklerini belirler. İkincisi, her molekülün düzlemselliğinin yük transferini arttırması beklenir. Yük transfer kompleksleri oluşumu üzerinde çok fazla sayıda çalışma yapılmamıştır. Bunun nedeni, ikincil bağ güçlerinin her birinin katkısının birbirinden çok net bir şekilde ayırt edilememesi, sentetik polimerlerin çoğunlukla rasgele molekül ağırlığına sahip olmaları, taktisite, zincir dizilimi, ikincil yapı göstermesi ve biyopolimerlerde çok fazla fonksiyonel grup bulunması nedeniyle yapıdaki her bir bağ karakterizasyon sırasında açıklanamamaktadır. Polimer kompleksleşmesinde, yük transfer kompleksi nitrofitalik asitten elde edilen electron akseptör poliester, aril imino dietanol'den hazırlanan elektron donörü polimerler ile mükemmel bir karışabilirlik ve kompleksleşme sergilemiştir. Sonuç olarak elde edilen bileşenin termal özelliği araştırıldığında tek bir camsı geçiş sıcaklığı göstermiştir [99].

3. NANOJELLER

Suda çözünmeyen ancak suda şişebilen, kovalent olarak çapraz bağlanmış hidrofilik polimer yapıları olarak anlaşılan hidrojellerin tarihçesi, 1960 yılında Wichterle ve Lim'in Nature'da "Biyolojik kullanım için hidrofilik jeller" üzerine araştırmalarını yayınladıklarında başladı [100]. Nano ve mikrojel kavramını anlamak için öncelikle analogları, makroskopik jeller dikkate alınmalıdır. Makroskopik jeller üç boyutlu ağ yapılarını şişmiş halde kalıcı çapraz bağların varlığında koruyarak bir çözücü içinde büyük ölçüde şişebilen spesifik bir polimer sınıfıdır. 1935 yılında Staudinger ve Husemann, divinil benzen mikrojel parçacıkları hazırlayarak polimer teknolojisine yeni bir konsept getirdi. Bununla birlikte, mikrojel terimi, ilk kez 1949'da SBR lastiklerinin emülsiyonları üzerinde çalışan Baker tarafından kullanılmıştır ve bu çapraz bağlanmış yapıların, polimer molekülünün yeni bir formunu oluşturan intramoleküler olarak çapraz bağlanmış makromoleküller olduğunu kabul etmiştir. Önceleri mikrojel terimi hem nano hem de mikroskobik ölçekte jeller için kullanılmıştır. Genel bir tanım, nanojeller olarak yapılabilir ve mikrojeller, nanoskobik ya da mikroskobik ölçekte boyutları olan makroskopik jellerin karşılığıdır. Bu parçacıklar için kabul edilen tanım, bir nanojelin ya da bir mikrojinin tüm zincirlerinin birbirine bağlandığı, dahili olarak çapraz bağlanmış makromoleküller olduklarıdır. [101]. Flory, jelleşme reaksiyon sürecinin sadece küçük bir bölümünün bu reaksiyonların istenmeyen etkileri konusunda intramoleküler olması gerektiği iddiasında bulunmuştur [102]. Son bilgiler, molekül içi reaksiyonların (çapraz bağların), makrojelasyon (yani hidrojel, makroskopik jel) veya mikrojelasyon ile sonuçlanmasında büyük öneme sahip olduğunu göstermektedir. Bu nedenle bu reaksiyonlar, mikrojellerin uygulama çeşitliliği nedeniyle polimer kimyası, eczacılık ve malzeme biliminde çok büyük önem kazanmıştır. Nano ve mikrojeller, doğrusal, dendrimer ve dallanmış yapılardan farklı özel bir makromolekül şekli olarak sınıflandırılır ve intramoleküler çapraz bağlara sahip kalıcı bir ağ yapısına sahip yumaklaşmış bir makromolekül olarak düşünülebilir. Kovalent olarak bağlı olduklarından lineer polimerlerden farklı özelliklere sahiptirler. Makroskobik jeller gibi su veya vücut sıvısında şişebilirler. Baker tarafından Mark-Houwink denklemindeki molekül ağırlık katsayısının düşük ($<0,5$) ve bazı durumlarda sıfıra yakın olmasına rağmen, çok büyük boyutlara sahip olmasına ve düşük çözelti viskozitesine sahip olduğu fark edilmiştir. Bu, mikrojellerin çözelti ortamında çözünmüş polimer tanecikleri yerine Einstein küreleri gibi davrandığını göstermektedir [103]. Bu özelliklere ek

olarak, nano ve mikrojeller dış etkenlere tepki göstermek için kompleks morfoloji kazanmaya çalışmaktadır. Çekirdek kabuğu yapısı, anizotropik, çok katmanlı ve akıllı nano ve mikrojeller bunların bazı örnekleridir [104]. Nanojellerin özelliklerini doğrudan yönlendiren ana etkenlerden biri şişme kabiliyetleridir. Çözelti pH'ı, sıcaklık, iyonik kuvvet ve kullanılan çapraz bağlayıcı miktarına bağlı olarak şişme derecesi sentezlenen nanojellerin uygulama alanlarını doğrudan etkileyebilmektedir. Nanojellerin şişmesini ayrıca şu faktörler etkilemektedir: a) Çapraz bağlanma miktarındaki artış hidrofilik polimerden elde edilen nanojellerin şişmesini azaltır. b) pH değerindeki artış zayıf polibaz zincirlerinden oluşan bir nanojelin çökmesine ve zayıf bir poliasitten oluşan nanojellerin şişmesine neden olur. c) İyonik kuvvetteki artış polielektrolit nanojellerin şişmesini azaltır. d) Aşağı kritik çözelti sıcaklığı (AKÇS) davranışı sergileyen polimerlerden oluşan nanojeller, AKÇS'nin üzerindeki sıcaklıklarda büzülme göstermektedir [105].

3.1. Nanojellerin Sentez Yöntemleri

Nanojellerin sentez yöntemleri genellikle iki ana gruba ayrılmaktadır. İlk grup, sentez için başlangıç malzemelerinin monomerler veya monomer karışımları olduğu çapraz bağlanma polimerizasyonunu kapsar. İkinci grup için substrat bir polimerdir ve intramoleküler çapraz bağlanma ile nanojel oluşumu elde edilir. Nanojellerin sentez yöntemleri aşağıda listelenmiştir [101].

I. Monomerlerin çapraz bağlanma ile polimerizasyonu

1. Çözeltide
 - Serbest radikal polimerizasyonu
 - Anyonik polimerizasyon
2. Emülsiyon Polimerizasyonu
 - Makroemülsiyon
 - Microemülsiyon
 - Ters emülsiyon
 - Sürfaktansız emülsiyon polimerizasyonu
3. Yığın halinde Çapraz Bağlama Polimerizasyonu

4. Klasik olmayan başlatıcılarla polimerizasyon

II. Polimer zincirlerinin intramoleküler çapraz bağlanması ile

1. Kimyasal intramoleküler çapraz bağlama
2. Radyasyon başlatıcılı intramoleküler çapraz bağlama

3.1.1. Çapraz Bağlanma Polimerizasyon

Polimerizasyon serbest radikal polimerizasyonu veya anyonik polimerizasyon olabileceği bir monomer veya monomer karışımından başlar. Büyüme adımında büyümekte olan zincirin aktif kısmı, monomer, kendi zincirindeki aktif grup veya diğer bir zincirdeki aktif grup ile etkileşime girebilir. İkinci durum polimerik zincirlerde dallanmaya neden olacak ve belirli bir noktadan sonra, jelleşme başlayacak ve sonunda üç boyutlu bir ağ yapısı elde edilecektir (moleküller arası çapraz bağlama). Diğer olasılık büyüyen zincirin kendi zinciri üzerinde reaktif bir grup ile reaksiyona girmesi ile intramoleküler bir çapraz bağlama olarak sınıflandırılabilir. Doğrusal zincir bir yumak haline gelecektir ve ideal bir durumda bu işlemin gerçekleştiği yerde nihai ürün, şekillerinin yüksek miktarda çapraz bağlarla sabitlendiği ayrı, kalıcı yumaklar içeren bir çözelti olacaktır. Sentez parametrelerine bağlı olarak, bu yumakların boyutları değişebilir ve bunlar mikrojeller veya nanojeller olarak tanımlanabilir.

Bu reaksiyonlar genellikle çözelti içinde gerçekleştirildiğinden, bu işlemi iki bölüme ayırabiliriz: a) çözeltilerde serbest radikal polimerizasyonu, b) çözeltilerde anyonik polimerizasyon.

3.1.1.1. Serbest Radikal Polimerizasyonu

Çözeltilerde serbest-radikal çapraz bağlama polimerizasyonu, emülsiyon bazlı tekniklerden daha az yaygın olarak kullanılmasına rağmen, hem jelleşme teorileri hem de deneysel çalışmalar alanlarında oldukça ilgi çekici bir konudur. Bu, mikrojellerin hazırlanmasında muhtemelen en basit yöntem olması, geniş bir uygulama yelpazesine sahip olması, çok yönlü olması ve yüzey aktif maddelerin kullanılmasını gerektirmemesi sonucu ortaya çıkmaktadır. Öte yandan çözelti içindeki polimerizasyonun çapraz bağlanarak mikrojel oluşumunda reaksiyon parametrelerinin çok dikkatle seçimi gerekir. Genel olarak ürünlerin boyutunun daha az hassas bir şekilde kontrol edilmesini sağlar ve emülsiyon polimerizasyonundan daha geniş boyut dağılımında mikrojeller

verir. Serbest radikal polimerizasyonuyla çapraz bağlanma, basitliği farklı monomerlere ve ortamlara uygulanabilirliği ve yüzey aktif maddelere bağımlı olmaması nedeniyle tercih edilebilir. Ancak bu yöntemin bazı sakıncaları vardır. Büyüme basamağı sırasında moleküller içi ve moleküller arası çapraz bağlanma arasında bir rekabet olduğundan, sentez parametreleri özellikle çapraz bağlanma için dikkatlice kontrol edilmelidir. Bu rekabeti kontrol altında tutmanın bir yolu, düşük konsantrasyonlarda çalışmaktır. Düşük konsantrasyonlarda, büyüyen zincirler ayrılır ve büyüyen zincirdeki aktif grup ile diğer zincirdeki grup arasındaki etkileşimin olasılığı azalır. Çeşitli nano veya mikrojellerin hazırlanmasında klasik radikal polimerizasyonu kullanılmıştır [106]. Bununla birlikte boyut, homojenlik, PDI, molekül ağırlığı yapısal özellikleri kontrol etmek için kontrollü polimerizasyon yöntemleri kullanılmıştır. Delaître ve arkadaşları, sıcaklığa duyarlı mikrojel çekirdek ve kovalent olarak bağlanmış kabuki sistemini sulu dispersiyon içinde basit bir nitroksit başlatıcılı kontrollü serbest radikal polimerizasyonu yoluyla sentezledi [107]. Nano veya mikrojeller hazırlamak için bir başka çok yönlü yöntem atom transferi radikal polimerizasyonudur (ATRP). Yu ve arkadaşları, dimetakrilatların ATRP'sinde ağların ve yapısal heterojenliğin gelişimini incelediler ve ATRP mikrojellerinin geleneksel serbest radikal polimerizasyonu tarafından hazırlanan mikrojellerle karşılaştırıldığında daha homojen olduğunu, daha dar boyut dağılımlarına sahip olduğunu bildirdiler. Ayrıca ATRP ürünlerinin çapraz bağlanma derecesinin ve yapısal heterojenliğin derecesinin dönüşümle arttığını bulmuşlardır [108]. Tek tip bir ağın oluşumu nedeniyle sentezlenen ATRP-nanojellerin, geleneksel serbest-radikal polimerizasyonu ile hazırlanan nanojellerle karşılaştırıldığında daha yüksek şişme oranlarına, daha iyi kolloidal stabiliteye ve kontrollü bozunmaya sahip olduğu sonucuna varmışlardır. İyi tanımlanmış biyobozunur fonksiyonel nanojeller (ATRP-nanojeller) hazırlamak için ters miniemülsiyon ve disülfid-tiyol değişimi esaslı atom transfer radikal polimerizasyonu (ATRP) kullandılar [109,110].

3.1.1.2. Anyonik Polimerizasyon

Diğer yöntemlerin çoğundan farklı olarak anyonik polimerizasyonda, reaktif türler radikaller yerine iyonlardır. Zincir büyümesine katılan karbonhidratlar, su, alkol gibi diğer türlerle hızla reaksiyona girebildiğinden, bu durum bazen sıkıntılı olabilir. Bu nedenle, bu olasılıklardan kaçınmak için çok saf sistemlerde çalışmak gerekir. Ek olarak, bazı yan reaksiyonları ortadan kaldırmak için polimerizasyon düşük sıcaklıklarda gerçekleştirilmelidir. Bununla birlikte

Anyonik polimerizasyon neredeyse monodispers bir yapıya sahip olan nano veya mikrojellerin sentezine izin verdiği için avantajlı bir yöntemdir. Bu teknikle sentezlenen nano veya mikrojeller, bazı uygulamalar için büyük bir avantaj sunmaktadır. Anyonik polimerizasyon tekniği (teorik olarak) sonsuz uzun ömürlü aktif merkezlerin oluşumu nedeniyle, çoğunlukla blok kopolimerlere dayanan yapısal mikrojellerin sentezinde özellikle yararlıdır [101].

3.1.1.3. Emülsiyon Polimerizasyonu

Serbest radikal emülsiyon polimerizasyonunun mekanizması için klasik teori, 1940'larda Smith-Ewart-Harkins tarafından önerilmiştir. Emülsiyon polimerizasyonunda, sistem bir monomer ve bir sürfaktan oluşmuş bir emülsiyondur. Yüzey aktif madde genellikle kolloidal sistemi stabilize etmek için gereklidir aksi takdirde polimerizasyonun erken evresi sırasında çekirdeklenmiş lateks partikülleri arayüzey serbest enerjisini azaltmak için önemli oranda pıhtılaşmaya maruz kalabilir. En yaygın emülsiyon polimerizasyon tipi içinde monomer damlacıklarının (hidrofobik) sürekli bir su fazında yüzey aktif madde ile emülsifiye edildiği bir suda-yağ emülsiyonudur. Emülsiyon polimerizasyonu üç kategoriye ayrılabilir: miniemülsiyon, mikroemülsiyon ve farklı parçacık çekirdeklenme ve büyüme mekanizmaları ve kinetiği gösteren klasik (geleneksel) emülsiyon polimerizasyonu. Geleneksel emülsiyon polimerizasyonunda emülsifiye edilmiş monomer damlacıkları ($\sim 10^4$ nm) sıvı faz içinde miseller halinde dağıtılır. Bununla birlikte küçük yüzey alanlarından dolayı partikül çekirdeklenmesine katkıda bulunmazlar. Misel içindeki monomerlerin tüketiminden sonra, aktif misel damlacıklarındaki serbest radikal polimerizasyonu yoluyla metastabil (kinetik olarak stabil) polimer partikülleri üretilir. Miniemülsiyonlarda, lateks partikülleri tipik olarak 100 ila 500 nm boyutunda hazırlanır. Mikroemülsiyonlar kendiliğinden su ve monomer karışımlarından büyük miktarda yüzey aktif madde içerir (yaklaşık yüzde 20). Bu yüksek miktarda yüzey aktif madde, sistemin çapı 100 nm'den küçük miseller içeren, termodinamik olarak stabil, şeffaf tek fazlı olmasına neden olur. Bu misellerin aşırı büyük bir yağ-su arayüzey alanı vardır ($\sim 10^5$ m² dm⁻³). Dolayısıyla, bu teknik kullanılarak, diğer emülsiyon polimerizasyon teknikleriyle elde edilemeyen neredeyse monodispers nano veya mikrojeller sentezlenebilir. Bununla birlikte, yüzey aktif maddenin yüksek miktarlarda varlığı ciddi bir problem olabilir çünkü yüzey aktif maddenin tamamen uzaklaştırılması saf sistemler için yapılmalıdır. Biyomedikal alanda kullanılması amaçlanan partiküller için bu büyük bir dezavantajdır. Sürfaktan içermeyen

emülsiyon işlemi bu sorun için bir çözüm olabilir, ancak bu yöntem yalnızca birkaç monomer ile sınırlıdır. Genel olarak, emülsiyon polimerizasyonu, mikrojelleşme problemini çözer çünkü çapraz bağlama reaksiyonları, yüzey aktif madde ile ayrılan tek misellerde tamamlanır. Ayrıca, çok fazla parametre olduğundan (monomerler, komonomerler, başlatıcılar, yüzey aktif maddeler, vb.) polimerizasyon işlemini optimize etmek ve partikül büyüklüğü, polidispersite ve mimari gibi özellikleri nano veya mikro ölçeğe kontrol etmek mümkündür. [111,112,113,114]. Emülsiyon polimerizasyonu üzerine en yaygın çalışmalar, N-izopropilakrilamid (NIPAM) monomeri ile yapılmıştır. Li ve arkadaşları, NIPAM ve N, N'-metilenbisakrilamidin fotokimyasal emülsiyon polimerizasyonu ile yüzey aktif madde içermeyen (sabunsuz) sıcaklığa duyarlı partikül çapları <100 nm polimerik jeller sentezlediler [115]. Wu ve arkadaşları emülsiyon polimerizasyonu ile boyutları 50 ile 200 nm arasında olan sıcaklığa duyarlı poli (izopropilakrilamid / akrilamid) nanojeller sentezlemişlerdir [116]. Ters Emülsiyon polimerizasyon sentezlerinin çoğu, sürekli sıvı fazın su veya sulu çözelti olduğu sistemlerde gerçekleştirilir ve monomerler ve polimerler nispeten hidrofobik karakterdedir. Elbette, bu durumu tersine çevirmek ve hidrofilik monomerleri organik, hidrofobik sıvı fazda polimerize etmek mümkündür. Akrilamid durumunda, ters emülsiyon polimerizasyonunda mikrojel oluşum mekanizması ve kinetiği yoğun bir şekilde çalışılmıştır [117].

3.1.1.4. Yığın içinde Serbest Radikal Polimerizasyonu

Diğer yöntemlerle karşılaştırıldığında çok uygulanabilir bir yöntem değildir çünkü sistem makro jelleşmeyle sona ermektedir. Mikrojellerin elde edilmesine özen gösterilmeli ve sistem makrojelleşmeye gitmeden durdurulmalıdır.

3.1.1.5. Klasik Olmayan Başlatıcılarla Polimerizasyon

Genel olarak nano veya mikrojellerin sentezi için kimyasal başlatıcılar zincir reaksiyonlarını başlatmak için kullanılır. Sistemin saflığı bazı uygulamalarda son derece önemlidir ve bu başlatıcıların son üründe bulunması büyük bir sorun olacaktır. Alternatif teknikler, fotopolimerizasyon, ultrason kaynaklı polimerizasyon veya radyasyon kaynaklı polimerizasyon yöntemleri bu problem için bir çözüm olabilir. Bu yöntemler bazı yararlar sağlasa da, çözülmesi gereken başka bir problem vardır, sistem bazen kanserojen olabilen kalıntı monomerleri

içerebilir. Sonuç olarak, oldukça saf nano veya mikrojeller elde etmek için monomer içermeyen teknikler dikkate alınmalıdır.

3.1.2. Polimerlerin İntramoleküler Çapraz Bağlanması

Çoğu araştırma çalışması ve uygulamasında mikrojeller monomerlerden temel substratlar olarak başlayan polimerizasyon işlemlerine dayanan prosedürler kullanılarak sentezlenir. Ancak bu mümkün olan tek yol değildir. Diğer tekniklerden farklı olarak bu yöntemler bir monomer veya bir monomer karışımı yerine bir polimerden başlamaktadır bu nedenle bu yöntemlere alternatif olarak "monomer içermeyen teknikler" denir. Burada istenen ürünün sentezi için uygun polimeri (uygun yapı, moleküler ağırlık, vb.) seçerek ürünün özellikleri kolayca kontrol edilebilir. Öte yandan, monomerden başlayan yöntemlerde sentez adımı pratik olmayabilir ve bazı durumlarda imkânsız hale gelebilir. Başlangıç malzemesi polimer ise bu durumu çözebilir.

3.1.2.1. Kimyasal Zincir-içi Çapraz Bağlanma

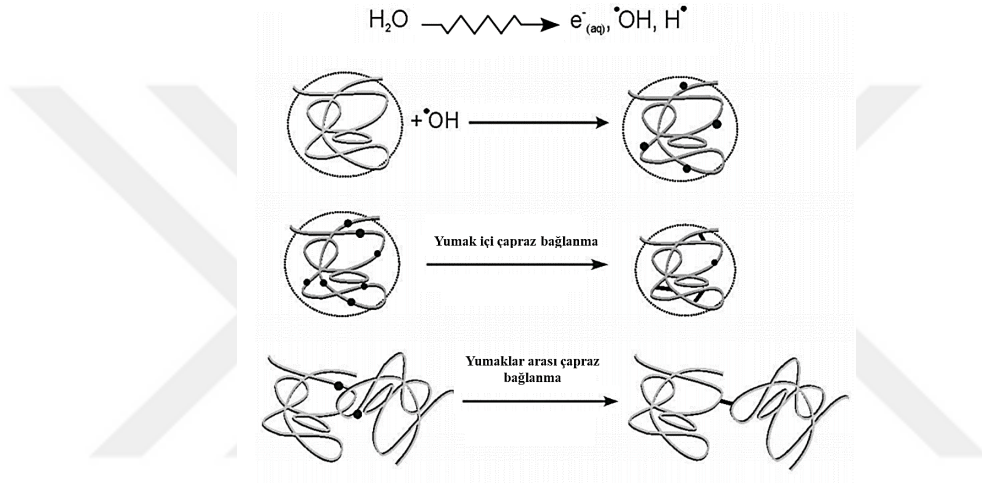
Bu yöntem diğer klasik yöntemlerle başlangıç basamağıyla aynıdır, başlatma işlemi anlamında diğer klasik tekniklere benzer. Bununla birlikte substrat bir başlatıcı tarafından çapraz bağlama reaksiyonuna girebilen reaktif grupları içeren önceden oluşturulmuş bir lineer veya dallanmış polimer olmalıdır veya intramoleküler rekombinasyon ile sonuçlanacak olan bifonksiyonel polimerlerle reaksiyona girmek için uygun bir çapraz bağlama ajanı kullanılmalıdır [101].

3.1.2.2. Radyasyonla İntramoleküler Çapraz Bağlama

Polimer zincirlerinin molekül içi çapraz bağlanması yoluyla nano/mikrojellerin sentezi, iyonlaştırıcı radyasyonla da başlatılabilir. Bu yöntemin temel avantajı, herhangi bir monomer, başlatıcı, çapraz bağlayıcı veya başka herhangi bir katkı maddesi içermeyen, saf bir polimer/çözücü sisteminde gerçekleştirilebilmesidir. Bu nedenle biyomedikal kullanım için yüksek saflıktaki ürünlerin sentezinde özellikle uygun görünmektedir. Bu teknikte başlangıç basamağı iyonlaştırıcı radyasyonla tetiklenir, başlangıç basamağı, kobalt-60 veya sezyum-137 gibi bazı kararsız radyoaktif atomların çekirdeğinden yayılan gama ışınları veya hızlandırıcılar tarafından üretilen hızlı elektronlar gibi iyonlaştırıcı radyasyonla gerçekleştirilir. Bu yöntemin

diğer yöntemlerden tek farkı başlangıç adımıdır. Bu yöntem yığın, emülsiyon veya çözelti ortamında kullanılabilir. Bununla birlikte burada bahsedilen yöntem bir polimer zinciri üzerindeki iyonlaştırıcı radyasyonun etkisinin çoğunlukla ‘dolaylı’ olduğu, bir polimer çözeltisinin ısıtılmasından ibarettir. Bu radyasyon enerjisinin çoğunlukla çözücü molekülleri tarafından emildiği ve bunun sonucunda reaktif türlerin ortaya çıktığı anlamına gelir. Genel olarak radikal olan bu türler başlangıç aşamasını başlatır. Çözücü genellikle su veya sulu bir sistemdir ve bu durumda, çapraz bağlama polimerizasyonunu başlatan radikaller esas olarak hidroksil radikalleridir. Bölüm 3.2, sulu sistemlerin radyasyon kimyası kavramlarını daha ayrıntılı olarak ele almaktadır. Bu çok yönlü yöntem, 1998'de Ulanski, Janik ve Rosiak tarafından polimerik nanojellerin radyasyonla oluşumuyla ilgili ilk raporun ardından yapılan son çalışmalarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Raporlarında makrojelleşmenin önlenmesi ve tamamen intramoleküler olarak çapraz bağlanmış mikrojeller elde etme gereksinimlerini vurguladılar. Polimer zincirleri birbirinden iyi ayrıldığında ve çok sayıda radikal tek bir zincir üzerinde üretildiğinde koşullar yerine getirilir. İntramoleküler çapraz bağlamanın ilk koşulu düşük konsantrasyonlarda çalışmaktır. 1960’larda Dieu, poli(vinil alkol) çözeltilerinin Gama radyasyonu ile çapraz bağlanması üzerinde çalışmıştır ve intramoleküler çapraz bağlamanın çok düşük konsantrasyonlarda baskın olduğunu, oysa yüksek konsantrasyonlarda moleküller arası çapraz bağlamanın sistemin jelleşmesine yol açtığını gözlemlemiştir. [118]. Bu durum diğer bazı çalışmalar tarafından da desteklenmektedir [119,120,121]. Öte yandan, her bir zincir için yüksek radikal sayısı, ancak hızlandırıcılar tarafından üretilen yüksek doz hızlarına sahip hızlı elektronlarla elde edilebilir. Bu gibi avantajlardan dolayı radyasyona bağlı çapraz bağlama ile nanojellerin sentezinde artış gözlenmiştir. Polimerik nanojellerin radyasyonla oluşumuyla ilgili ilk raporda, Ulanski ve arkadaşları, suda çözünür, biyouyumlu, çapraz bağlama tipi bir polimer olan poli(vinil alkol) (PVA) ile çalışmışlardır. [122]. Daha sonra başka bir suda çözünür polimer olan poli(vinil pirolidon) (PVP) üzerinde çalıştılar ve önceki sonuçlarını desteklediler. Seyreltik PVP çözeltilerinin ısıtılmasından sonra, polimer çözeltilerinin jirasyon yarıçapı (R_g) değerlerinde önemli bir azalma olduğu ve ortalama molekül ağırlıklarında kayda değer bir değişiklik olmadığı gözlemlendi. Bu olay, molekül içi çapraz bağlanma işleminden kaynaklanan polimer yumağının büzülmesine ilişkin net bir kanıttır [123]. Polielektrolit bir polimer olan poli(akrilik asit) (PAA) üzerinde çalışmalar yapılmıştır. Ulanski ve arkadaşları pulse radyolizini kullanarak PAA nanojelleri elde ettiler ve reaksiyon sırasındaki süreçlerin rekabetini tartıştılar:

moleküller içi ve moleküller arası çapraz bağlanma, intra ve moleküller arası orantısızlık ve zincir kesilmesi gibi reaksiyonların üzerinde durdular ve doğrudan polimer yumağının büyüklüğünün bir ölçüsü olan içsel viskozitedeki önemli düşüş ana işlemin intramoleküler rekombinasyon olduğunu gösterdiler [124]. Daha önce tartışıldığı gibi, bu sistemlerde yumaklar içi ve yumaklar arası çapraz bağlanma arasında bir rekabet vardır. Şekil 3.1, çapraz bağlama reaksiyonları sırasında bu yolları gösterilir.



Şekil 3.1. Radyasyonla başlatılan moleküller arası ve moleküller içi çapraz bağlamanın şematik gösterimi.

3.2. Sulu Sistemlerin Radyasyon Kimyası

İyonlaştırıcı radyasyon ile bir çözeltide polimerlerin ışınlanması, polimer zincirleri arası ve zincir içi çapraz bağlanmaya, zincir kesilmesine ve polimerlerin kimyasal işlevselliğinin değişmesine neden olur. Konsantre hidrofilik polimerlerin sulu ortamda moleküller arası çapraz bağlanması makrojel adı verilen makroskopik ağların oluşumuna yol açarken, moleküller içi çapraz bağlanma nanojeller olarak bilinen küçük polimerik parçacıkların oluşumuna yol açar. İyonlaştırıcı radyasyon kullanarak nanojel sentezi, birçok avantaj ve nihai ürünün kolayca kontrol edilmesini sağladığından yukarıda açıklanan diğer geleneksel teknikler arasında en başarılı yöntem olarak kabul edilebilir. Bununla birlikte, süreç üzerinde kontrol sahibi olmak için, radyasyonun kimyasal etkileri hakkındaki teorik bilgiler güçlendirilmelidir. Nanojel

sentezinin çoğu sulu sistemlerde gerçekleştirildiğinden, suyun radyolizinin genel kavramlarını ve daha sonra reaktif türlerin polimerik çözünenlere etkilerini anlamak çok önemlidir.

Bu tez çalışmasında, IPC nanojellerin sentezinde, yüksek enerjili ışınlar başlatıcı olarak kullanılmıştır. Yüksek enerjili ışınların başlatıcı olarak kullanılması, katkı maddelerin kullanılmamasını ve daha temiz materyaller elde edilmesini ve çapraz-bağlanma derecesinin kontrolünü sağlamaktadır. Aynı zamanda sıcaklığa bağımlılığı ortadan kaldırdığı için daha çok tercih edilmektedir. IPC nanojeller sulu ortamda ^{60}Co -gama (γ) ışınları kullanılarak sentezlendiği için bu kısımda sulu sistemlerin radyasyon kimyası ile ilgili kısa bilgi verilecektir.

İlk olarak 1901'de Curie ve Debierne tarafından hidrojen ve oksijen gazlarının radyum tuzları içeren çözeltilerde sürekli olarak oluştuğu fark edilmiştir ve 1914'te Debierne suyun ışınlanmasının H ve OH radikallerinin oluşumuyla sonuçlandığını açıklamıştır. İyonlaştırıcı radyasyonun önemli ve ayırt edici bir özelliği emiliminin seçici olmayan bir şekilde olmasıdır böylece moleküller ortamdaki nispi bolluklarına göre iyonize edilir. Bu nedenle, seyreltik çözeltiler için çözücünün radyasyon kimyasının bilgisi önemlidir. Birincil reaktif türler ağırlıklı olarak çözücü içinde oluşturulur ve daha sonra çözünenlerde ikincil kimyasal etkiler yaratır bu olguya 'dolaylı etki' denir. Öte yandan, reaktif radikallerin serbestçe hareket edemediği durumlarda doğrudan etkiler baskındır (örn, çözünen konsantrasyonunun 0,1 M'dan yüksek olması durumunda veya yığın malzemelerde) [125]. İyonlaştırıcı radyasyonun su üzerindeki etkisi, birçok deneysel ve teorik çalışmanın konusu olmuştur. Suyu olan ilgi göreceli basitliğinden ve biyolojik ve ekolojik öneminden kaynaklanmaktadır.

1960'lı yıllarda serbest radikallerin (esas olarak $\text{H}^\bullet$ veya çözülmüş elektron ve $^\bullet\text{OH}$ gibi türler) su ve sulu çözeltilerin radyasyona bağlı reaksiyonlarında en önemli ara maddeler olarak kabul edilmesine rağmen, diğer radyoliz ürünleri hidrojen ve hidrojen peroksit ayrıca bir rol oynamaktadır.

Bu teorilere göre iyonlaştırıcı radyasyonun sudaki etkisinin atomik hidrojen ve OH radikallerinin oluşması ile sonuçlandığı sonucuna varılmıştır [126]:



Bu radikaller aşağıdaki gibi üretilir. Sudan geçen yüksek enerjili foton, yoluna veya izine yakın bulunan moleküllerin iyonlaşmasını sağlar:



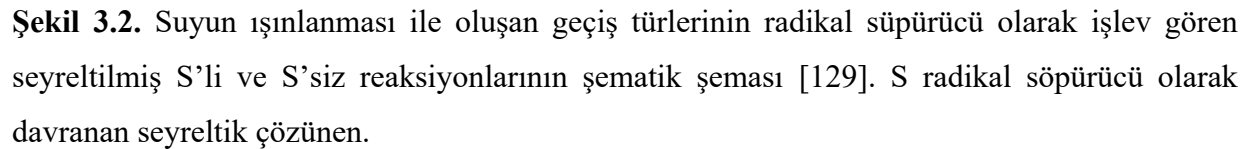
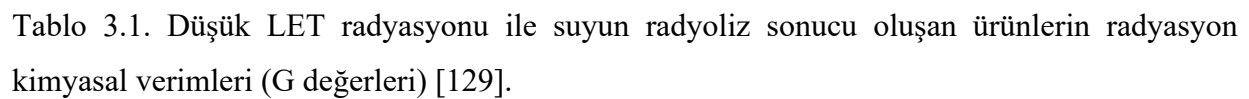
Oluşan ikincil elektronlar, yakındaki diğer birkaç su molekülünü iyonize etmek için yeterli enerjiye sahiptir. Bu şekilde üretilen iyon kümelerine spur denir [127].

Bu ilk yaklaşımlardan sonra, suyun radyasyon kimyasında büyük bir ilerleme kaydedilmiştir ve sonuç olarak radyoliz ürünleri, reaksiyon mekanizmaları ve sudaki reaksiyonların kinetiği üzerinde durulmuştur.

Mevcut bilgi durumu aşağıdaki tepkimelerle özetlenebilir (olayların zaman skalası gösterilmiştir);



Reaksiyon 3.4 de bir elektronik geçiş zaman çizelgesinde su moleküllerinin iyonlaşması ve elektronik uyarma reaksiyonları verilmiştir. Pozitif radikal iyonu H_2O^{*+} 'nın 10^{-14} s içinde hidroksil radikal ve hidronyum iyonunu oluşturur. ^{60}Co -gama ışınları ve hızlı elektronlar gibi düşük LET (lineer enerji transfer) radyasyonu için ilk iyonlaşma olayından yaklaşık 10^{-12} saniye sonra, H_2O^* 'nun ayrışma ürünleri ile birlikte e_{aq}^- , OH ve H_3O^+ türleri spur lar içinde birikir. Daha sonra bu ürünler rastgele dağılmaya başlar sonuçta bunların bir kısmı birbiriyle karşılaşır ve moleküler ve ikincil radikal ürünler oluşturmak için reaksiyona girer, Geriye kalanlar sıvı içerisine kaçar ve radikal süpürücü gibi davranarak çözünen ile reaksiyona girmek için homojen


$$\text{H}_2\text{O} \xrightarrow{\text{radiation}} \text{e}^-_{\text{aq}}, \text{H}^\bullet, \text{}^\bullet\text{OH}, \text{H}_2, \text{H}_2\text{O}_2, \text{H}_3\text{O}^+ \quad (3.8)$$


G değerleri ($\mu\text{mol. J}^{-1}$)

e^-_{aq}	0.28	$H^\bullet$	0.062
$OH^\bullet$	0.28	H_2	0.047
H_3O^+	0.28	H_2O_2	0.073

Burada radyasyon kimyasal verimleri $\mu\text{mol J}^{-1}$ ile ifade edilir. Ek olarak, ayrıca molekül/100 eV olarak da ifade edilebilir. Dönüşüm faktörü:

$$1 \text{ molekül} / 100 \text{ eV} = 1.036 \times 10^{-7} \text{ mol J}^{-1} \text{ (veya } 0.1036 \mu\text{mol J}^{-1}\text{)}$$

Tablo 3.1'de gösterildiği gibi ana birincil radikaller güçlü bir indirgeyici (standart indirgeme potansiyeli $E^0 = -2.78 \text{ V}$) olan hidrate elektron (e^-_{aq}) ve güçlü yükseltgen olan hidroksil radikaldır ($^\bullet OH$). (nötral çözeltide, $E^0(^\bullet OH/OH^-) = 1.90 \text{ V}$ ve asidik çözeltide $E^0(H^+, ^\bullet OH / H_2O) = 2.72 \text{ V}$) [129]. Hidrojen atomu ($^\bullet H$) nötral veya alkali çözeltide önemli bir tür değildir, ancak asidik çözeltide ($\text{pH} < 3$) Eş. 3.10 'deki reaksiyona bağlı olarak ana indirgeyici ($E^0(H^+/H^\bullet) = -2.31 \text{ V}$) olmaktadır [125].



Suyun radyolizinde sistem önce yaklaşık olarak eşit miktarda indirgen ($e^-_{aq} + H^\bullet$) ve yükseltgen ($^\bullet OH$) türler üretir, ancak genel olarak tamamen indirgen veya tamamen yükseltgen koşullara sahip olmak istenir. Bu serbest radikallerden başlayarak ilgilenilen türlerin üretilmesi için uygun koşulları seçmek çok önemlidir. Bu radikal ürünlerin oranlarını değiştiren çözücüler kullanılarak yapılabilir.

Hidroksil radikallerinden (yükseltgen koşullar) kaynaklanan kimyasal etkiler, hidrojen atomları (ve çözülmüş elektronlar) için bir süpürücü olarak görev yapan ve aynı zamanda daha fazla hidroksil radikalleri üreten hidrojen peroksit ilavesiyle artırılabilir [130].



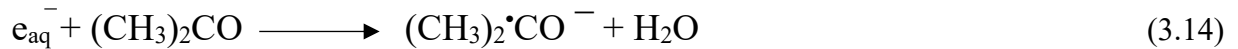
Dahası, e^-_{aq} 'nu $^\bullet OH$ radikaline dönüştürmek için çok pratik ve sık kullanılan bir yöntem sulu çözeltiyi N_2O ($[N_2O] \sim 25 \text{ mmol dm}^{-3}$) ile doyurmaktır [131].



Reaksiyon 3.12 için $k = 8.7 \times 10^9 \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$ ve bunu takiben reaksiyon 3.13'ten beri, bu sistemde e_{aq}^- yarılama ömrü $\sim 3 \text{ ns}$ olacaktır. $G(H) \sim 0.1 [G(e_{aq}^-) + G(\bullet OH)]$ olduğundan, H'nin N_2O ile herhangi bir reaksiyona katkısı $\bullet OH$ reaksiyonlarından daha az önemlidir ($k = 2.1 \times 10^{-6} \text{ dm}^3 \text{ mol}^{-1} \text{ s}^{-1}$) [132].

3.2.1. Aseton Etkisi

Bu tez çalışmasında, PAA-PVP ve PAA-PVIm IPC nanojel sentezleri esnasında çözücü olarak su/aseton karışımı kullanılmıştır. Bu nedenle asetonun radyoliz ürünleri ve reaksiyonlarına dikkat edilmelidir. 1965 yılında Riesz, $\mu\text{mol/L}$ 'den fazla olmamak üzere, 2,5-heksandioksan, izopropil alkol, hidroksiaseton, hidrojen peroksit ve hidrojen gibi sulu havasız aseton çözeltilerinin radyoliz ürünlerini tanımlamıştır [133]. Önceki bir çalışmada, hız sabitleri puls radyoliziyle tespiti sağlanmış ve sonuçlar, denklem 3.14'te görüldüğü gibi asetonun hidrate elektronlar için mükemmel bir süpürücü olduğu doğrulanmıştır. Bu denklem için reaksiyon sabiti, $5,9 \times 10^9 \text{ M}^{-1} \text{ s}^{-1}$ olarak bulunmuştur [134]. Çapraz bağlanma reaksiyonları yükseltgeme koşulları altında gerçekleştiğinden indirgen türlerin en başta e_{aq}^- 'nin sistemden uzaklaşmaları gerekmektedir. Aseton varlığı Eş. 3.14'de görüldüğü gibi e_{aq}^- 'nin uzaklaştırılması üzerinde olumlu bir etkiye sahiptir. Asetonun hidrate elektron ile reaksiyonundan sonra, α -hidroksialkil radikal anyonlar oluşur. Bu radikal anyonlar, çözeltinin pH'ına bağlı olarak alkoksi radikalleri oluşturmak üzere reaksiyona girebilir, Eş. 3.15 ve yükseltgenme reaksiyonlarına katkıda bulunur.



3.3. NANOJELLERİN UYGULAMA ALANLARI

Nanojeller makroskopik jellere kıyasla çok daha düşük viskoziteye, çok yüksek yüzey alanına, hızlı ortam tepkisine (yani sıcaklık ve pH duyarlılığına) sahip olmasından dolayı birçok alanda kullanımı mümkün olmaktadır:

1. Kimyasal ve biyolojik sensörler [135,136].
2. Kaplamalar [137,138].
3. Su arıtma cihazları [139,140]
4. Süper absorbanlar [141,142].
5. Polimerik ilaçlar [143,144].
6. İlaç ve aşı taşıyıcı sistemleri [145,146].
7. Nanocihazlar [147].
8. Nanoreaktörler [148,149].
9. Kontrast maddeleri [150,151].

Nano- ve mikrojeller son zamanlarda biyomedikal alanlarda sıklıkla kullanılmaya başlanmıştır. Nanoteknolojinin tıpla bütünleştiği hastalıkların teşhisinde ve benzeri görülmemiş hassasiyet ve etkinlikle amaçlanan tedavisinde nano boyuttaki yapıların kullanıldığı, nanotıp diye adlandırılan alana artan bir ilgi vardır [152]. İlaç dağıtım sistemleri olarak kullanılabilecek çeşitli ürünler vardır. Bunların küçük boyut, biyouyumluluk, biyobozunurluk, yüksek yükleme kapasitesi ve uzun süreli dolaşım özelliklerine sahip olması gerekir. Bu ürünler, polimer-protein konjugatları [153], dendrimerler [154], polimerik miseller [155], polimerik veziküller [156], nanoküreler [157], ve nanojeller [158,159] diye sınıflandırılırlar.

4. İLAÇ SALIMI

Son yıllarda nanoteknoloji, biyoaktif maddelerin ortama özgü ve/veya zaman kontrollü teslimatında uygun bir yöntem sunduğu için ilaç dağıtım sistemlerinde geniş çapta uygulanmıştır. Nano ölçekli boyut, bu dağıtım sistemlerine özellikle hidrofobik ilaçların çözünürlüğünün artırılması, tümörlerde ilaç birikiminin artırılması, terapötik maddelerin kimyasal/enzimatik bozunmaya karşı kararlılıklarının artırılması ve sitotoksik yan etkilerin azaltılması konusunda birçok avantaj sağlar. Polimerik misel, lipozom, nanojel ve benzeri pek çok çeşitli nano-ölçekli dağıtım sistemleri bildirilmiştir [160,161]. Hidrojel bulunduğundan beri, özellikle farmasötik ve biyomedikal alanlarda, uygulamalarını genişletmek için sayısız çaba ve çalışma gösterilmiştir. Jeller katı ve sıvıların özelliklerini birleştiren yumuşak bir malzeme olarak kabul edilebilir. Biyouyumlulukları yüksek su içeriğine ve düşük yüzey gerilimine bağlanırken, gözenekli olmaları yüksek yükleme kapasitesine katkıda bulunur ve şişme özelliği kontrollü salımı mümkün kılar. Nanojel, nanometre boyutuna sahip hidrojel partiküllerinden oluşur, bu nedenle yukarıda belirtilen hidrojel ve nanoparçacık özelliklerine sahiptir. Malzemesine bağlı olarak, nanopartiküller genellikle lipid nanopartikülleri, inorganik nanopartikülleri ve polimer nanopartikülleri içerir. Yapılan araştırmalar nanojelin mükemmel ilaç yükleme kapasitesi, yüksek kararlılığı, biyolojik tutarlılığı ve çeşitli çevresel uyaranlara (örneğin iyonik kuvvet, pH ve sıcaklık gibi) cevap vermesi nedeniyle ideal bir ilaç taşıyıcısı olduğunu göstermektedir. [162,163].

Farmasötik ve biyoteknolojik alanlarda ilacın etki göstereceği yapıya taşınması ana sorunlardan birisidir. Bu nedenle ilaç taşıyıcı sistemler her zaman araştırmacıların ilgi odağı olmuştur ve spesifik ilaç taşıyıcı sistemler geliştirilmiştir. Nanoteknolojiler vücutta istenen bölgelere moleküller sunabilen yenilikçi stratejilerle mevcut tedavilerde devrim yapma potansiyeline sahiptir ve böylece ilaçların terapötik endeksini geliştirir. Nanopartiküllerin (NP) kullanımı, suda çözünmeyen ilaçların biyolojik olarak kullanılabilirliğini, fizyolojik engelleri geçmelerine izin vererek artırabilir ve ayrıca çok miktarda kargo taşıyabilirler.

Polimer matriksten ilacın salımını kontrol eden fiziksel kapsülleme yaklaşımı, 1964'te Folkman ve Long tarafından yapılan seminal çalışmadan kaynaklanmıştır. Hidrofobik küçük moleküllerin silikon tüp çeperinden kontrollü bir oranda dağılabildiklerini bildirdiler. Bu yaklaşım yeni bir çağ başlatmış ve ilk polimerik yavaş salım sistemleri 1976'da Langer ve Folkman tarafından

sentezlenmiştir. Şimdiye kadar, FDA tarafından onaylanan ya da klinik araştırmalarda bulunan neredeyse tüm nanoparçacık ilaç dağıtım sistemleri polimerlere ya da lipozomlara dayanıyor [164].

Nano boyutlu polimer-ilac konjugatlarını kullanarak spesifik hedefleme günümüzde özel bir öneme sahiptir. Belirli hedefleme için kullanılan iki yöntem vardır. Birincisi nanoparçacık birikiminin büyüklüğüne bağlı yapılan pasif hedefleme olarak bilinir. Nanopartiküller pasif tümör hedeflemesi için ilaç dağıtım aracı olarak kullanıldığında, Geliştirilmiş Geçirgenlik ve Tutma (EPR) etkisi nedeniyle kolayca tümör dokusuna girebilirler [165]. Normal doku damarlarının sıkı endotel hücreleri tarafından kaplandığını, dolayısıyla ilaç yüklü nanopartiküllerin kaçmasını önlediğini gösterirken tümör doku damarlarının, tümör arası boşlukta nanoparçacıkların tercihli birikimini mümkün kılan, sızıntılı ve aşırı geçirgen olduğunu göstermektedir.

Genel olarak, nanopartiküllerin tümör dokularında birikmesi, nanopartiküllerin büyüklüğü, yüzey özellikleri ve dolaşım yarı ömrü ve tümörün anjiyogenez derecesi gibi çeşitli faktörlere bağlıdır [166]. 10 ile 100 nm arasında boyuta sahip nanopartiküllerin tümör tedavisinde en uygun olacağı tahmin edilmektedir [166]. Ancak EPR etkisi yoluyla pasif hedeflemenin bağımsız katkılarını araştırmak için dikkatli bir analiz yapılması gerekir. İkinci yol ligand-reseptör bağlanması ile tümöre aktif hedefleme ve içsel (pH) veya dışsal (termal hedefleme) etkileriyle etki-yanıt hedefleme ile ulaşmaktır.

Başka bir çalışmada, Mouslmani ve arkadaşları, değişik pH'da kurkumin için Poli(allil amin hidroklorür) PAH nanokapsüllerini sentezlemişlerdir. Amaç PAH bazlı nanokapsüllerde kurkumin (KK) kapsüllemek ve farklı pH'larda salımını incelemektir; KK ile ilişkili PAH, dipotasyum fosfat ile çapraz bağlanır ve sonuç olarak, dipotasyum fosfatın konsantrasyonuna bağlı olarak 100-1000 nm boyutunda hiyerarşik olarak sıralanmış nanokapsül (NC) yapıları oluşturmak için SiO₂ nanoparçacıklarını birleştirir [167].

Başka bir çalışmada ise poli(alil amin hidroklorür) (PAH) / sodyum poli(4-stiren sülfonat) (PSS) çok tabakalı ve PAH-g-PEG, BSA NP'lerinin çeşitli ortamlarda stabilitesini arttırmak ve pH'a bağlı yükleme ve bırakma özelliklerini sürdürmek için BSA NP'lerin yüzeyinde başarıyla adsorbe edilmiştir. NP'lerin yüzeyindeki daha yüksek PEG yoğunluğu, BSA NP'lerinin daha iyi

stabilitesine neden olmuştur. Pozitif yüklü dokсорubisin (DOX) elektrostatik etkileşimi ile NP'lere yüklenmiştir ve DOX salınım davranışı farklı pH'da incelenmiştir [168].

Bir başka örnek Sankar ve arkadaşları tarafından pH duyarlı poliamfolit VIm-co-AA nanojelleri karbon nanotüplerin eklenmesi promethazine hidroklorür (PMH) salım davranışlarını incelemek amacıyla sentezlenmiştir. Özetle, fonksiyonelleştirilmiş tek duvarlı karbon nanotüpler (f-SWCNT)'leri kullanarak poliamfolit nanojellerin (PANG) hazırlanmasını başarılı bir şekilde göstermişlerdir. Hazırlanan PANG'ler mükemmel şişme özellikleri göstermiştir. Polimer zincirindeki VIm ait azot atomu, karboksilik grubu, f-SWCNT'ler ve yüklü iyonların varlığı birden fazla etkileşime bağlı olarak güçlü bağlanma, polimorfit nanojellerin fizikokimyasal özelliklerinde önemli gelişmelere neden olmuştur. Tüm spektroskopik çalışmalar, SWCNT'lerin nanogel sistemindeki işlevselliğini ve çoklu etkileşimlerini doğrulamıştır. Poliamfolit nanojel üzerindeki HR-TEM deneyi, ortalama 35 nm çapında nanojel partikül oluşumunu açıkça göstermiştir. İlaç yükleme ve bırakma çalışmaları, ilaç dağıtımında potansiyel kullanımını gösteren, nanojellerin pH'a duyarlı davranışını açıkça göstermektedir. [169].

Poli (N-vinil pirolidon) (PVP) biouyumlu ve biobozunur olduğu için birçok çalışmada ilaç taşıyıcı olarak kullanılmıştır bunlardan bazıları aşağıda özetlenmiştir. A. Abd El-Rehim ve arkadaşları, PVP varlığında AA monomerini kullanarak (kalıp polimerizasyonu) farklı doz, monomer derişimlerinde ve farklı PVP molekül ağırlığında iyonlaştırıcı radyasyon kullanarak PVP-g-AA kopolimerleri başarılı bir şekilde sentezlemişler ve daha sonra bu kopolimerleri ilaç taşıyıcı bir sistem olarak Pilocarpinin salımı için kullanmışlardır [170].

Başka bir PVP çalışmasında, Picone ve arkadaşları, tarafından Alzheimer Hastalığı için yeni bir tedavinin geliştirilmesinde bir araç olarak beyine insülin verecek bir nanojel sistemi (NG) tasarlanmış ve sentezlenmiştir. İyonlaştırıcı radyasyonla üretilen karboksil fonksiyonlu bir poli(N-vinil pirolidon) nanojel sistemi, karakterizasyonu için uygun olan insülin veya flüoresan moleküllerin kovalent eklenmesi için substrat olarak seçilmiştir. NG'ye (NG-In) konjuge edilmiş insülin, proteazın bozulması ile korunur ve immünofloresan ölçümleriyle gösterildiği gibi insülin alıcısına bağlanabilir. Son olarak, NG-In'in Kan Beyin Bariyeri (BBB) boyunca verimli bir şekilde taşınması potansiyeli gösterilmiştir. Hep birlikte bu sonuçlar, sentezlenen NG-In'in, biyotıpta insülin iletimi için uygun bir araç sistemi ve nörodejeneratif hastalıklar için yeni tedaviler geliştirmek için çok umut verici bir araç olduğunu göstermektedir [171].

PAA, antikanser ilaçların verilmesinde yaygın olarak kullanılmasından dolayı nispeten popülerdir bu da biouyumlu ve pH duyarlı olduğundan kaynaklanır. Chen ve arkadaşları, HPC'yi çapraz bağlanmış hidroksi-propilselüloz-poli (akrilik asit) (HPC-PAA) nanopartiküllerinden uzaklaştırmak suretiyle yeni bir içi boş, çekirdek gözenekli kabuk yapısı PAA nanojeli sentezlediler. Nanojellerin içi boş bir yapıya sahip olduğunu ve çevresel pH değişikliklerine duyarlı olduğunu kanıtladılar. İçi boş nanojeller, şaşırtıcı derecede hem proteinlere hem de ortak ilaç taşıyıcılardan en az 10 kat daha yüksek bir yükleme kabiliyeti gösterdiler [172].



5. DENEYSEL ÇALIŞMALAR

5.1. Kimyasallar

Poli(vinil pirolidon) (BASF, $M_w = 1,300,000$ ve $360,000$ g/mol), K10 $M_w = 10,000$ g/mol (Sigma-Aldrich), poli(akrilik asit) (Aldrich, $M_w=250,000$ g/mol) ve poli(akrilik asit sodyum tuzu) (PAANa) (Aldrich, $M_w=8,000$ g/mol) ilgili firmalardan temin edilmiştir. PAA ($M_w = 8,000$ g/mol), PAANa tuzundan aşağıdaki prosedürle elde edilmiştir: 5.0 g PAANa, 20.0 mL suda HCl ilavesiyle pH 0.5'e kadar asitlendirildi. Asitlenen çözeltiye THF eklendi ve çözelti 12 saat karıştırıldı. Çökelmiş NaCl süzülerek uzaklaştırıldı ve polimer oda sıcaklığında kurumaya bırakıldı. N-vinilimidazol (%99), Fluka'dan satın alınmış ve polimerin sentezinde kullanılmıştır. Azobisisobütironitril (AIBN) Merck'den satın alınmış ve etanol içinde kristallendikten sonra başlatıcı olarak kullanılmıştır.

Çözücüler; aseton, etanol, HCl ve tetrahidrofuran (THF), Sigma-Aldrich'ten temin edilmiştir ve HPLC saflık derecesindedir. Tüm deneylerde $0.055 \mu S$ iletkenliği olan deiyonize su kullanılmıştır.

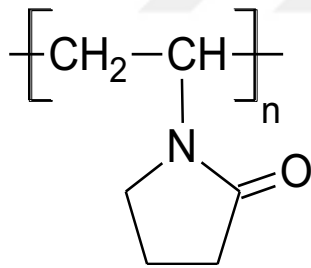
İlaç salım çalışmalarında kullanılmak üzere, kurkumin (saflık $\geq \% 95$) ve sığır serum albümini (BSA) ($M_w=66,7$ kDa) Sigma-Aldrich firmasından satın alınmıştır. İlaç salım çalışmaları fosfat tampon çözeltisinde (PBS) yapılmıştır. PBS ilaç salımının normal fizyolojik pH'ta (7.4) olmasını sağlamıştır. PBS tabletleri Sigma firmasından alınmış 1 tablet 100 ml deiyonize suda çözünerek hazırlanmıştır.

pH 211 Microprocessor pH-metre cihazı, 25 ± 1 °C'de kullanıldı. Kalibrasyonu ölçümlerden önce pH 4.0, pH 7.0 ve pH 10.0 tampon çözeltileri ile yapıldı. İletkenlik ölçümleri, 25 °C'de Hanna MC226 iletkenlik ölçer ile gerçekleştirildi.

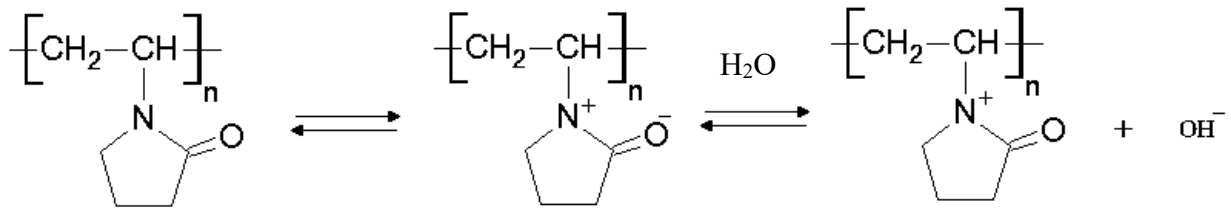
5.2. Kullanılan Polimerlerin, BSA'nın ve kurkuminin kimyasal yapıları ve özellikleri.

Poli(vinil pirolidon) PVP

Nanojel hazırlamak için seçtiğimiz PVP polimeri antijenik olmaması, biyouyumlu, biyobozunur özelliğe ve düşük toksisiteye sahip olması nedeniyle FDA tarafından onaylanan sentetik polimerlerden biridir. Fizyolojik olarak inaktif olan (toksikitesi yok ya da çok az) PVP ilk olarak ikinci dünya savaşı esnasında Almanya'da hastalara kan yokluğunda plazma artırıcı olarak verilmiştir. Alman askerlerinde kanın %50'si yerine PVP nin tuz çözeltisi uygulanmıştır. Bu özellikleriyle farmasötiklerde, biyotıpta, yiyecek ve içeceklerde, kozmetikte ve daha birçok alanda uygulamaları mevcuttur. PVP zwitteriyonik yapıda olması nedeniyle polar gruplarla elektrostatik etkileşimi sağlamaktadır; Ayrıca sahip olduğu polar laktam grupları sayesinde hidrojen bağı yapma kapasitesi yüksektir. PVP tüm bu özellikleriyle suda ve polar çözücülerde çözünebilir [173].



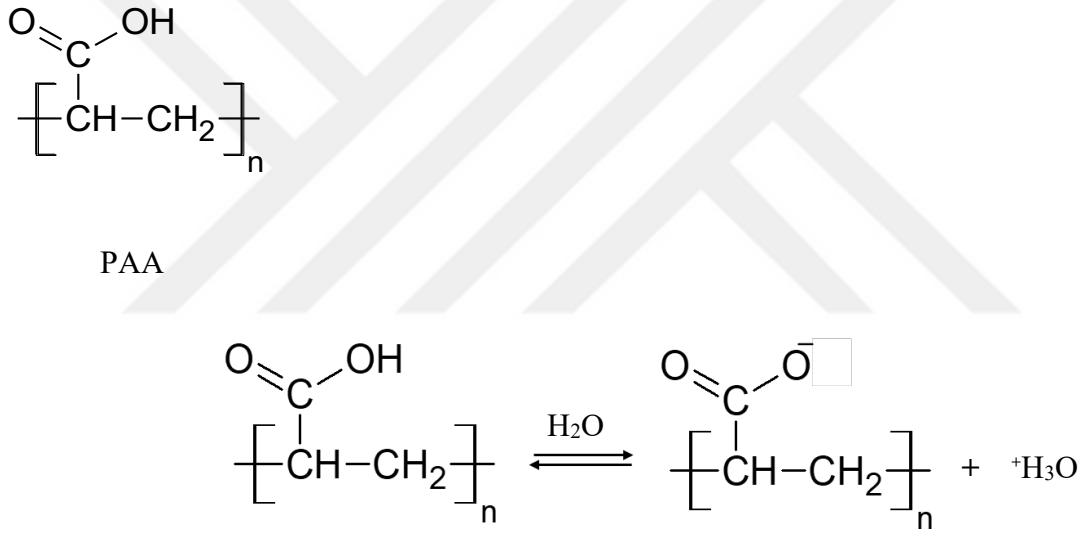
PVP



Şekil 5.1. PVP'nin, pirolidon halkasında keto-enol totomerizmi.

Poli(akrilik asit) PAA

Poli(akrilik asit) biyouyumlu hidrofilik bir polimerdir ve kolay bir şekilde serbest karboksilik grupları ile kimyasal olarak modifiye edilebilir Carbomer, Carbopol gibi ticari isimlerle de anılır. Polimer zincirlerinde bulunan çok miktardaki karboksilik grupları sebebiyle çok kuvvetli hidrofilik özellik gösterir ve kuvvetli hidrojen bağı etkileşimi proton alan polimerler ile oluşturulabilir. Molekül zincirlerindeki karboksilik gruplarının çoğunluğu nötr pH da ki sulu çözeltide protonize haldedir. pKa değeri 4.5 civarındadır. Bu yüzden PAA anyonik polielektrolit türü sayılabilir [174].

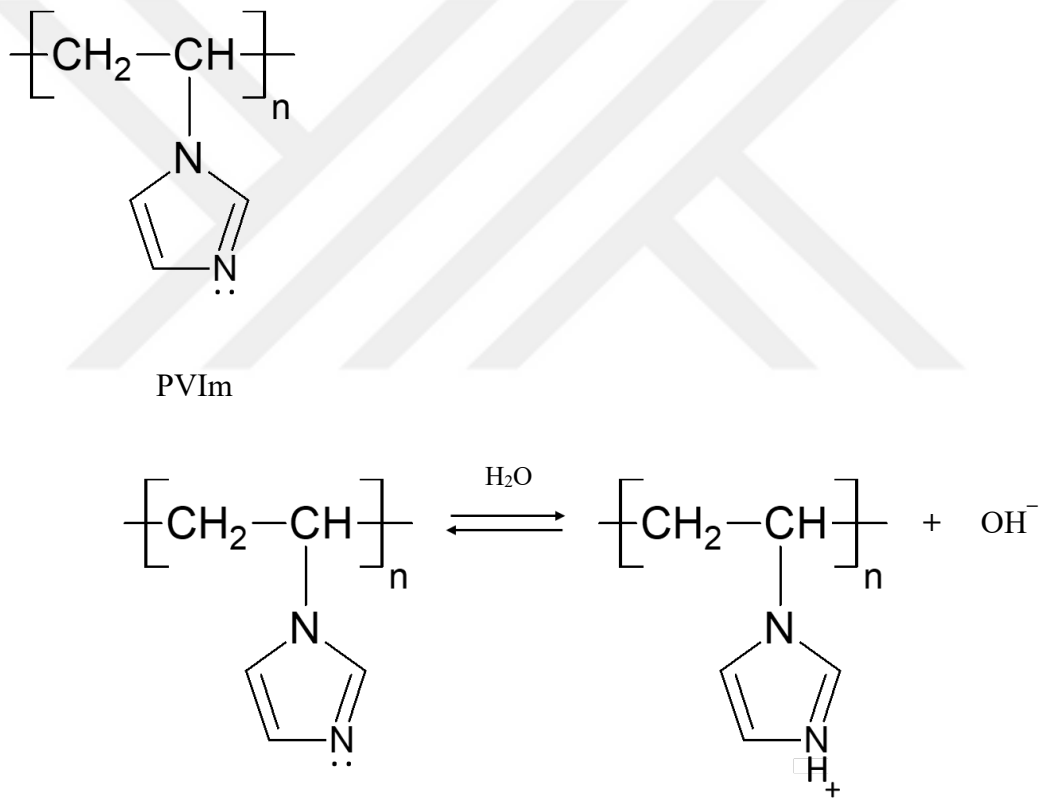


Şekil 5.2. Sulu ortamda PAA'nın yapısal formülü.

Poli(N-vinilimidazol)

İmidazol halkaları içeren polimerler biyolojik uyumlulukları ve antimikrobiyal aktiviteleri nedeniyle biyomedikal uygulamalarda potansiyel kullanım alanına sahiptirler. İmidazol en önemli heterosiklik aromatik bileşiklerden biridir ve amino asit, nükleik asitler ve proteinler gibi birincil biyomakromoleküllerde ve ayrıca birçok farmasötik ve agrokimyasal bileşikte çok önemli bir rol oynar. Homo veya kopolimerleri yakıt hücreleri, metal iyon çıkarması, membran, gen taşıması, iyonik sıvı, ve katalizörler gibi birçok potansiyel uygulamaya sahiptir [175]. Poli(N-vinilimidazol) (PVIIm) tipik zayıf bir polibaz olarak pH 'a bağlı protonasyon yoluyla su içinde polikasyon oluşturur. PVIIm iki aktif merkeze sahiptir. Biri piridin halkasındaki N atomu üzerinde

bulunan elektron çiftidir, bu merkez elektron verici özelliğe sahiptir. Diğer heterosiklik yapıdaki doymamış sistemdir. Bu merkez de elektron çekici özelliktedir. [176]. Polimerin teknik özellikleri ve biyolojik aktivitesi esas olarak asit-baz özelliği tarafından belirlenir [177]. PVIm ile yapılan çalışmalar su veya alkol çözeltilerindeki polielektrolit davranış, polimer kataliz reaksiyonları, metal katyonları yanı sıra boya moleküller ile kompleksleşme, anti korozyon özelliği ve negatif veya pozitif yükleri ile katı yüzey üzerine adsorbsiyonu gibi çok geniş alanları kapsar. Aynı zamanda, biyolojik aktif makromoleküllerde model olarak, ilaç taşıyıcılarda ve soğutma ortamlarında kullanılmaktadır [178].

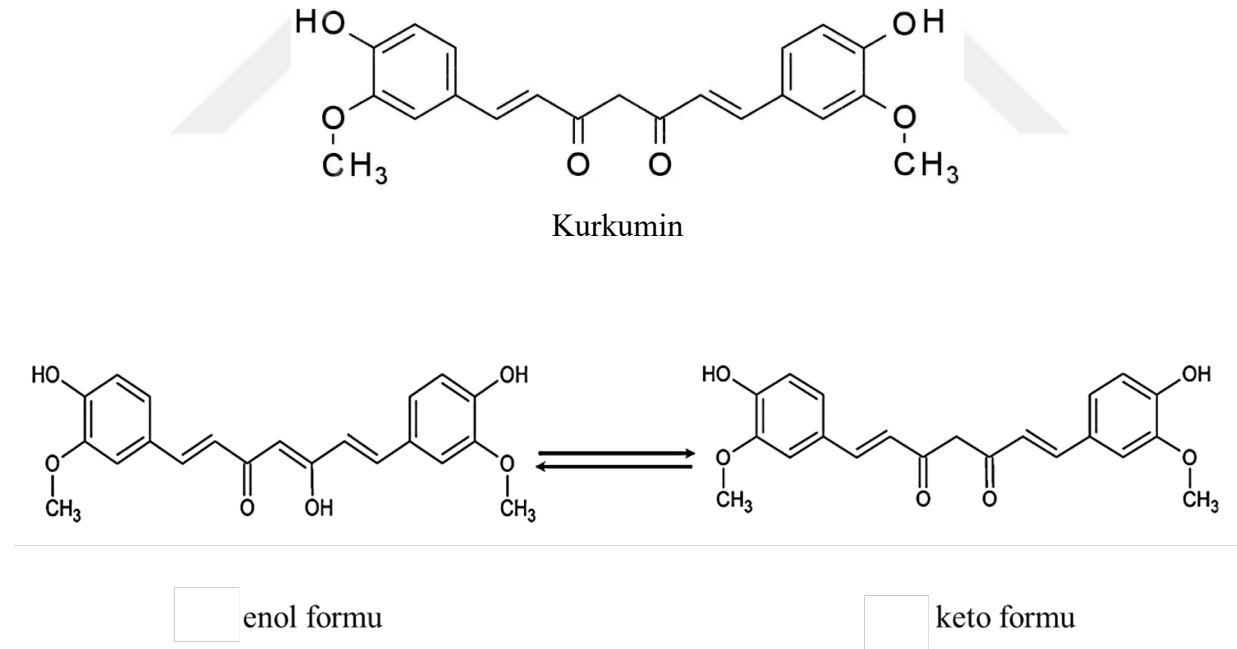


Şekil 5.3. Sulu ortamda PVIm'un yapısal formülü.

Kurkumin

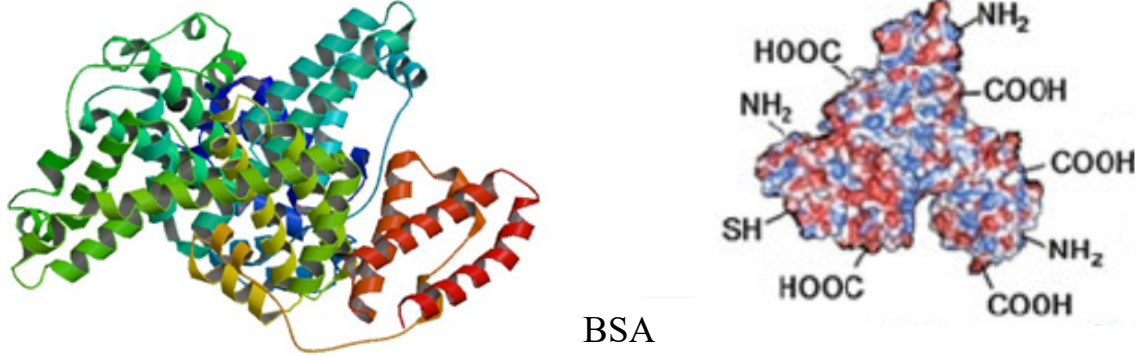
Kurkumin, *Curcuma longa* bitkisinin köksapı olan zerdeçaldan üretilen hidrofobik bir polifenoldür. Asidik ve nötr çözeltilerde baskın bir keto formuna ve alkali ortamlarda kararlı bir enol formuna sahip olan, keto-enol tautomerizm sergileyen, bir doymamış-ketondur [179]. Doğal bir antioksidandır ve hem klinik öncesi hem de klinik çalışmalarda anti-enflamatuar, antioksidan,

anti-mikrobiyal, anti-kanser ve anti-Alzheimer gibi birçok farmakolojik aktivite göstermiştir. Ayrıca, kurkumin hepatoprotektif, nefroprotektif, kardiyoprotektif, nöroprotektif, hipoglisemik, antiromatik ve antidiyabetik aktivitelere de sahiptir ve ayrıca trombozu baskılamakta ve miyokard enfarktüsüne karşı korumaktadır. Özellikle kurkumin bir antikanser ajanı olarak etkinlik göstermiştir ancak suda oldukça düşük çözünürlüğü nedeni ile kullanımı engellenmiştir. Bu nedenle, bu sınırlamanın üstesinden gelmek için birçok teknoloji geliştirilmiş ve uygulanmıştır, lipozomlar, polimerik nanopartiküller ve miseller, konjugatlar, peptid taşıyıcıları, katı dispersiyonlar, lipid nanopartiküller ve emülsiyonlar dahil olmak üzere, kurkumin için nano-boyutlu dağıtım sistemlerinin tasarımı ve geliştirilmesi üzerine bir çok çalışma yapılmaktadır. Kanser hücre çizgileri ve in vivo modellerin yanı sıra güncel insan klinik deneyleri kullanılarak kurkumin nanoformülasyonlarının etkinlik çalışmaları da devam etmektedir [180,181].



Şekil 5.5. Kirkuminin kimyasal yapısı.

Sığır Serum Albümin (BSA)



Şekil 5.6. Sığır Serum Albümin'in şematik görünümü

Sığır serum albümini (BSA) 66 kDa molekül ağırlığında suda çözünür bir proteindir ve kan plazmasında (40–50 mg/mL) en bol bulunan proteindir. BSA yaklaşık 583 amino asit kalıntısından oluşan ve karbonhidrat içermeyen tek bir polipeptit zinciridir. pH 5-7'de 17 zincir içi disülfür köprüsü ve 1 sülfhidril grubu bulunur [182]. BSA'nın izoelektrik noktası (IEP) pH 4.5-5.0 civarında olduğu için BSA adsorpsiyonunu etkiler bu nedenle protein nötr pH'da negatif ve asidik koşullar altında pozitif olarak yüklenir. Değişken yüzey yükü yoğunluğuna sahip olması BSA'nın yüklü yüzeylerde adsorpsiyonunu etkiler [183]. BSA'nın adsorpsiyonu tamamen pH'a bağlı bir olaydır. Bu çalışmada BSA'nın bu özelliğinden faydalanıp IPC nanojellerine adsorpsiyonunu gerçekleştirdik.

5.3. İnterpolimer Kompleks Nanojellerinin Hazırlanması

Nanojellerin parçacık boyutu özellikle biyomedikal alandaki uygulamaları için oldukça önemlidir. Bu çalışmada IPC nanojellerinin parçacık boyutunu kontrol etmek için yeni bir yaklaşım önerilmiştir. Sulu PAA, PVP ve PVI'm çözeltilerinin çözelti termodinamiğini kontrol etmek polimer yumak boyutlarının kontrol edilebilmesini sağlar. Polimer yumakları, elde edilecek IPC nanojellerinin başlangıç noktası olduğundan, bu kontrol aynı zamanda IPC nanojellerin boyut kontrolünü de mümkün kılmaktadır. Bu çalışmada poly(vinyl piroolidon), poli(akrilik asit) ve poli(N-vinil imidazol) polimerlerinin su/aseton ortamında farklı

konsantrasyonlarda seyreltik çözeltileri hazırlanıp, polimer yumaklarının ve oluşan IPC'lerin farklı koşullarda (ekleme sırası, karışım oranı, pH, konsantrasyon, moleköl ağırlığı, yük yoğunluğu, iyonik şiddet, sıcaklık ve aseton oranı) boyutları Dinamik Işık Saçılması (DLS) tekniği ile incelenmiştir. PVP ve PVIm çözeltileri PAA çözeltileri ile etkileştirilip interpolimer kompleksleri hazırlanmıştır. Hazırlanan interpolimer kompleks (IPC) örneklerinin Dinamik Işık Saçılması (DLS) ile boyut dağılımı ve kompleks kararlılıkları analiz edilmiştir. İkinci aşamada hazırlanan interpolimer kompleksleri radyasyona maruz bırakılarak çapraz bağlanmış ve interpolimer kompleks nanojelleri elde edilmiştir. Zincir-içi çapraz bağlanma gerçekleştiği için nanojel boyutları, kendilerini oluşturan IPC yumak boyutundan daha küçük olmuştur. IPC nanojellerinin hazırlanmasında radyasyonla başlatılan çapraz bağlanma yöntemi, herhangi bir monomer, başlatıcı, çapraz-bağlayıcı ajan ya da diğer katkı maddelerinin kullanım gerekliliğinin ortadan kaldırılması sayesinde daha temiz materyaller elde edilmesine ve çapraz bağlanma derecesinin kontrolüne olanak sağladığı için tercih edilmiştir. Ayrıca ışınlamanın sulu ortamda yapılması suyun radyoliz ürünlerinin etkisi ile nisbeten düşük dozlarda gerçekleştirilmiş olacaktır.

Farklı koşullarda IPC'lerin (PAA-PVP ve PAA-PVIm) su/aseton çözeltileri hazırlanmış, 6'şar mL alınıp küçük cam şişelere konmuştur. Kauçuk kapaklarla kapatılmış ve 5 dakika boyunca N₂O gazı geçirildikten sonra şişeler parafilmlemlenmiştir. 0,022 kGy/saat doz hızına sahip ⁶⁰Co gama kaynağına konmuş, 3, 5 ve 10 kGy ışınlanmıştır.

5.4. IPC ve IPC Nanojellerin Karakterizasyonu

5.4.1. Dinamik Işık Saçılması (DLS)

PAA, PVP, PVIm IPC ve IPC nanojellerinin su ve su-aseton çözeltilerinin hidrodinamik boyutlarını belirlemek için Zetasizer Nano ZS (Malvern Instruments Ltd., UK) kullanılmıştır. Partiköl büyüklüğü yoğunluğa dayalı hesaplanan bir değer olan Z-Ortalama ile ifade edilmiştir. Polidispersity Index (PDI) değerleri de partiköl boyut dağılımını değerlendirmek için belirlenmiştir. Zeta potansiyel ölçümleri lazer Doppler velosimetrisi ve Faz Analizi Işık Saçılımı (PALS) kombinasyonu ile yapılmıştır. Her bir çözelti kılcal hücrelerde en az iki kez ölçülmüş ve her ölçümün 3 işlem ortalaması alınmıştır.

5.4.2. Atomik Kuvvet Mikroskopisi (AFM)

IPC ve IPC nanojellerinin, BSA adsorplanmış (NG-BSA), kurkumin yüklenmiş (NG-KK), ve BSA ile kurkumin adsorplanmış (NG-BSA-KK) hallerinin kuru halde AFM görüntülerini elde etmek için Veeco Multimode™ V taramalı mikroskop (Veeco Metrology LLC, Santa Barbara, CA) kullanılmıştır. Analizler f_0 değeri 70-92 kHz olan Si tiplerle (Veeco, MPP-11100-140), tıklama (tapping) yöntemiyle oda sıcaklığında yapılmıştır. Örnekler mika yüzey üzerine 20 µL damlatılıp oda sıcaklığında kurutulmuştur. Yüzeyin farklı noktalarından görüntüler alınmıştır.

5.4.3. Taramalı Elektron Mikroskopisi (SEM)

IPC ve IPC nanojellerinin, partiküllerinin boyutları taramalı elektron mikroskobu (ESEM, FEI Quanta 200 FEG, FEI Company) ile analiz edilmiştir. IPC ve IPC nanojellerinin çözeltileri mika yüzey üzerine damlatılmış kuruduktan sonra yüksek vakum altında ve 5kV hızlanma voltajında geri saçmalı elektron tekniği (FEI Quanta 200 FEG) ile analiz edilmiştir.

5.5. IPC Nanojellerine Protein ve İlaç Yükleme ve Salım Çalışmaları

5.5.1. BSA'nın adsorpsiyonu

Model protein BSA'nın IPC nanojellerine yüklenmesi 1:1 hacim oranında farklı BSA derişimlerinde (2, 4, 6, 8,10,12,15 ve 20 mg/ml) yapılmıştır. Adsorbsiyon BSA'nın kendi çözelti pH'sında gerçekleşmiştir. BSA'nın IPC nanojellerine yüklenmesi için bir gün beklenmiş ve daha sonra 4 °C'de 14000 rpm hızla 30 dakika boyunca santrifüj edilmiştir. Çöken BSA yüklü IPC nanojeller ve yüklenmemiş BSA içeren çözelti birbirinden ayrılmıştır. Tutunan BSA miktarı Lüminesans Spektroskopisi yöntemi kullanılarak hesaplanmıştır.

5.5.2. Kurkumin Yükleme

IPC nanojellerine kurkumin yüklemesi, 1mL IPC nanojel çözeltisine (2 ve 0.5 mg/mL) damla damla 100 µL aseton içinde kurkumin çözeltisi (1, 3, 5 ve 7 mg/mL) eklenerek gerçekleştirildi. Aynı işlem BSA tutunmuş IPC nanojellerine de yapıldı. Daha sonra 25 °C'de rotatöre konmuş ve 1 gün boyunca ilaç yüklemesi yapılmıştır. Rotatörden alınan çözeltiler 4 °C'de 14000 rpm

hızla 30 dakika boyunca santrifüj edildikten sonra çöken ilaç yüklü nanojeller ve yüklenmemiş ilaç içeren çözelti birbirinden ayrılmıştır. Nanojeller salım çalışmaları, çözelti kısmında tutunan ilaç miktarının Lüminesans Spektroskopi yöntemi ile saptanması için +4 °C’de saklanmıştır. Yüklenen ilaç yüzdesi ve miktarı Eş. 5.1 ve 5.2’deki gibi hesaplanmıştır.

Yükleme verimliliği (LE)

$$LE (\%) = 100 \times (\text{Başlangıç ilaç miktarı} - \text{Yüklenmemiş ilaç miktarı}) / \text{Başlangıç ilaç miktarı}$$

Eş. 5.1

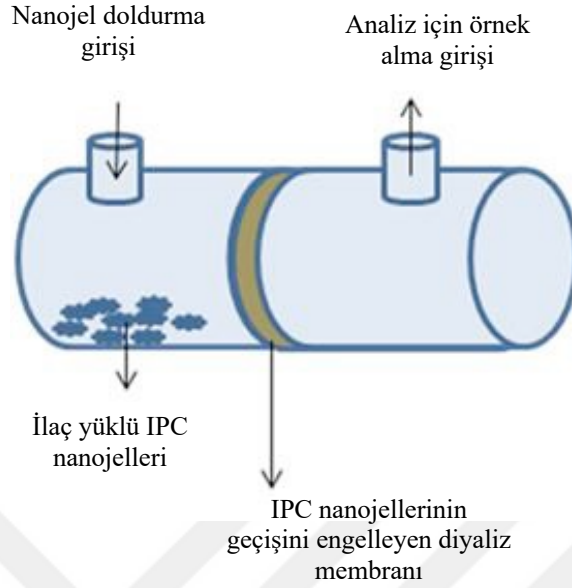
Yükleme kapasitesi (LC)

$$LC (\%) = 100 \times (\text{Başlangıç ilaç miktarı} - \text{Yüklenmemiş ilaç miktarı}) / \text{Kullanılan nanojel miktarı}$$

Eş. 5.2

5.5.3. İlaç Salımı

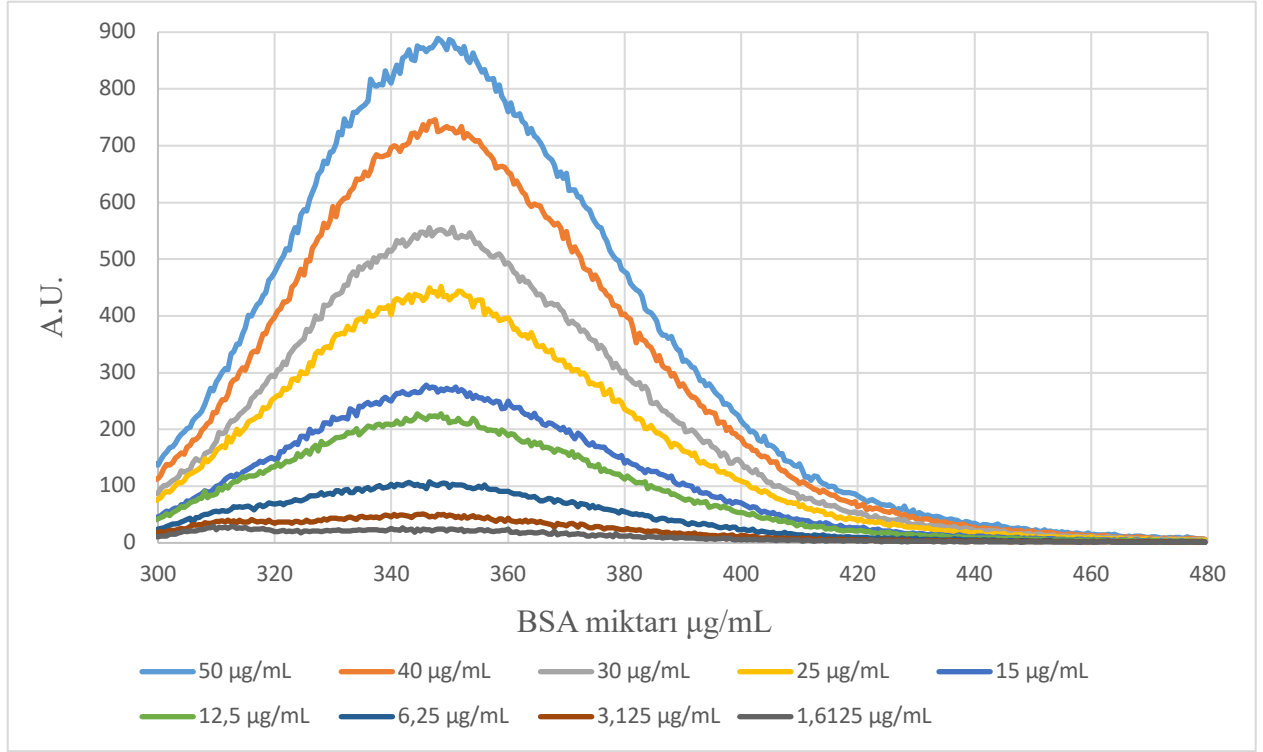
İlaç salım çalışmaları için ilaç yüklenmiş IPC nanojelleri 6 mL fosfat tamponu ile Şekil 5.7’de gösterilen ilaç salım hücresinin nanojel doldurma girişinden hücreye yerleştirilmiştir. Karşı hücreye de 6 mL aynı tampon çözeltisi konmuştur. İki hücre arasında sadece kurkuminin geçişine izin veren bir diyaliz membranı (12-14 kDa MWCO) yerleştirilmiştir. Belirli aralıklarla karşı hücreden 2 mL çözelti alınıp yerine 2 mL PBS eklenmiştir. İlaç salım çalışmaları pH 3, 5.5, ve 7.4 de ve vücut sıcaklığında (37°C) tekrarlanmış ve pH duyarlı IPC nanojel sistemlerinin salım davranışı incelenmiştir.



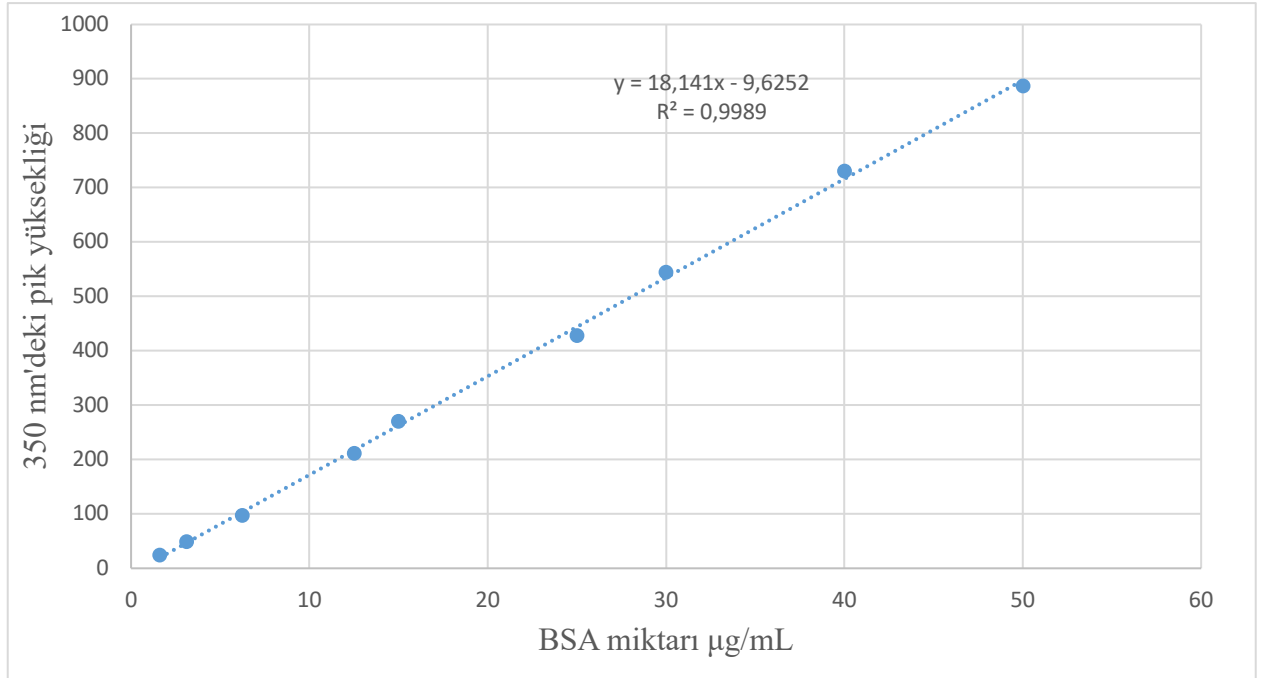
Şekil 5.7. İlaç Salım Hücresi.

5.5.4. Lüminesans Spektroskopisi

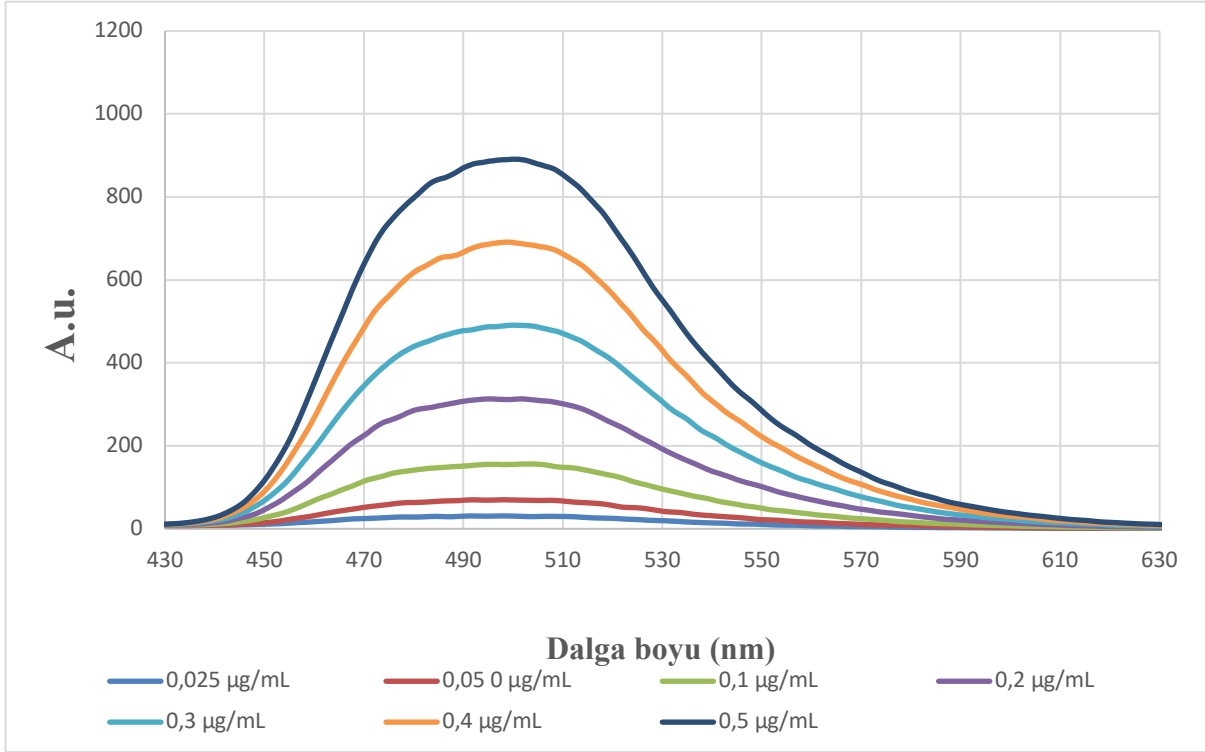
İlaç yükleme ve salım çalışmalarında nanojellere yüklenen ve salınan ilacın miktarını analiz etmek için Perkin Elmer LS55 model lüminesans spektrometresi ve FL Winlab yazılımı kullanılmıştır. Yüklenen ve salınan protein ve ilaç miktarını analiz edebilmek için BSA, ve kurkuminin (KK) belirli konsantrasyonlarda çözeltileri hazırlanmış ve daha sonra bu çözeltilerin Şekil 5.8 ve 5.10’de verilen lüminesans emisyon spektrumlarını kullanarak kalibrasyon eğrileri hazırlanmıştır. Bu spektrumlarda 350 ve 501 nm’deki pik şiddetlerine karşı çözelti derişimleri grafiğe geçirilmiş ve elde edilen kalibrasyon eğrileri Şekil 5.9, 5.11 da verilmiştir. Ölçümler BSA için uyarılma (excitation) dalgaboyu 280 nm ve yayılma (emission) dalgaboyu 350 ve kurkumin için uyarılma dalgaboyu 365 nm ve yayılma dalgaboyu 501 nm’de yapılmıştır. İlaç yükleme ve salım çalışmalarında tekrar sayısı $n=3$ ’tür.



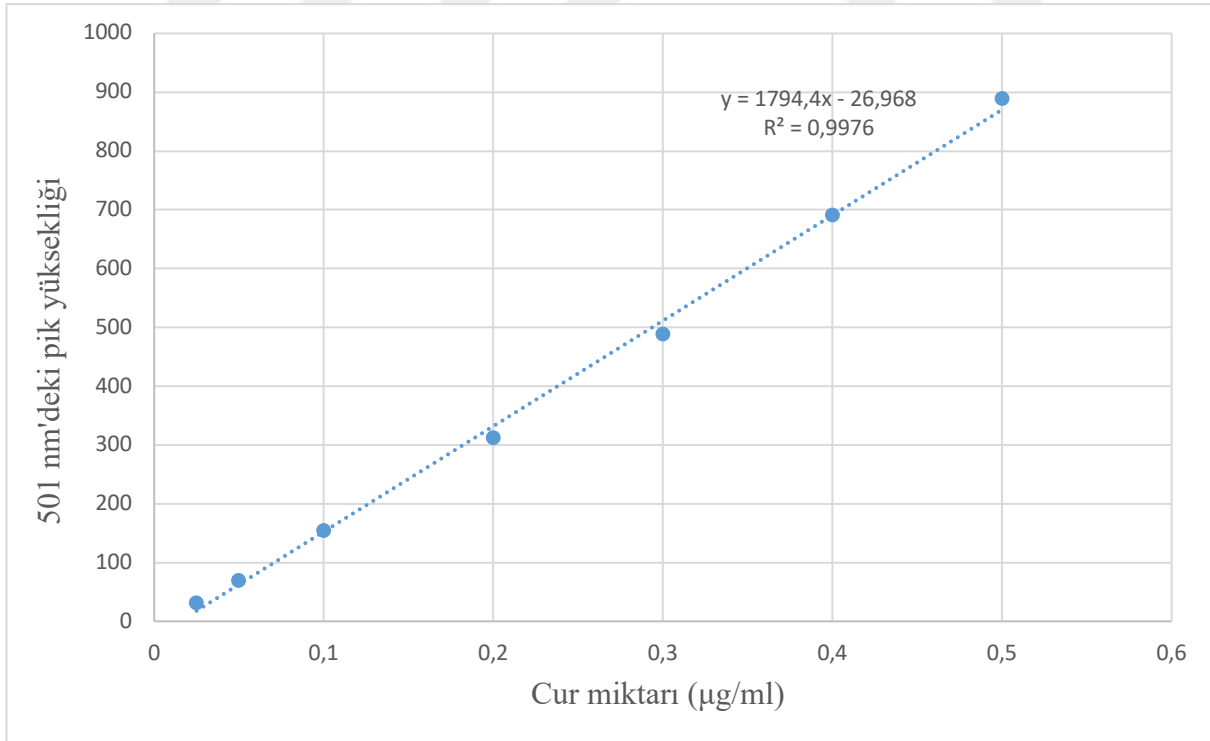
Şekil 5.8. Farklı derişimlere sahip BSA çözeltilerin lüminesans spektrumları.



Şekil 5.9. Farklı derişimlerdeki BSA çözeltilerinin lüminesans spektrumları kullanılarak hazırlanmış kalibrasyon eğrisi.



Şekil 5.10. Farklı derişimlere sahip kurkumin çözeltilerinin lüminesans spektrumları.



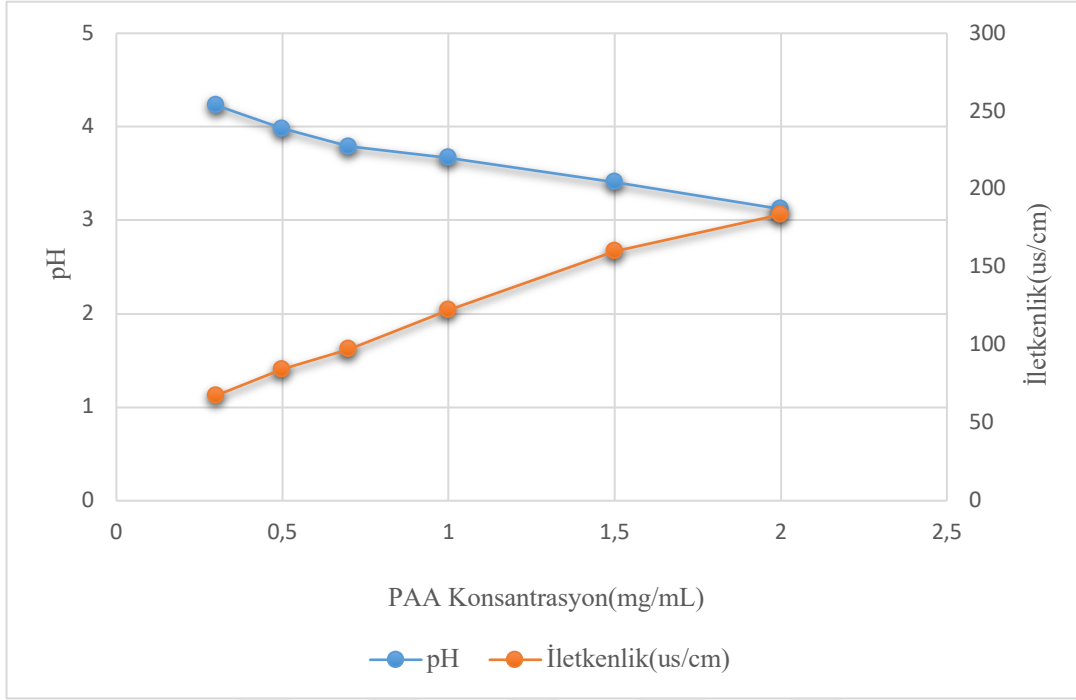
Şekil 5.11. Farklı derişimlerdeki kurkumin çözeltilerinin lüminesans spektrumları kullanılarak hazırlanmış kalibrasyon eğrisi.

6. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

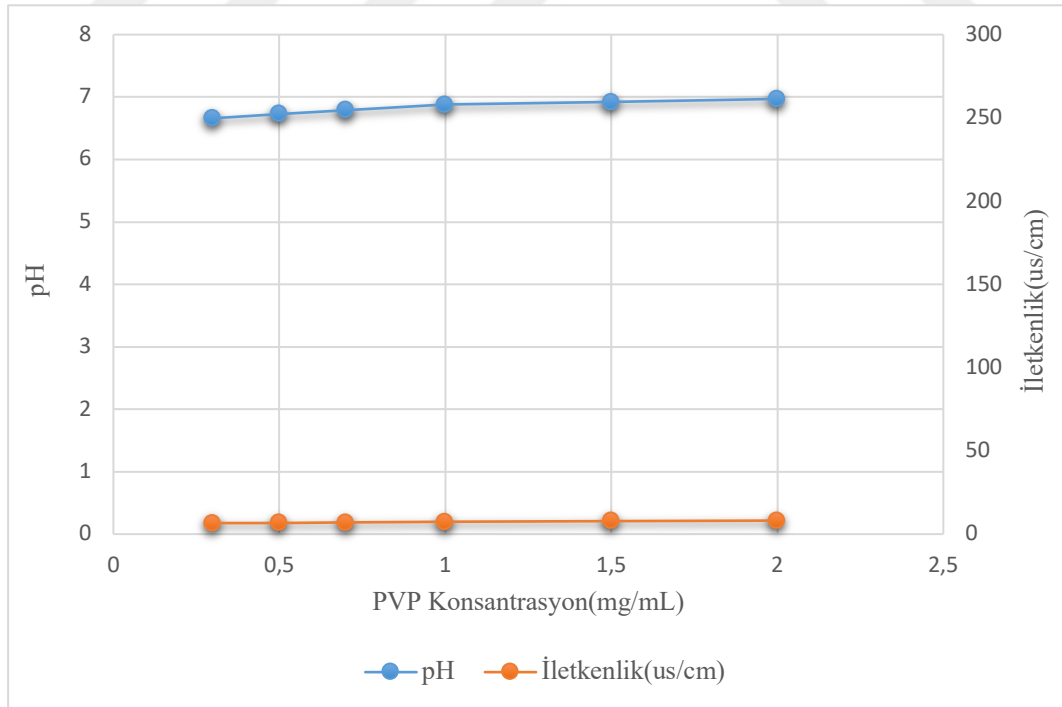
6.1. Poli(akrilik asit)-poli(N-vinil pirolidon) (PAA-PVP) nanojellerin interpolimer komplekslerinden (IPC) radyasyona bağlı çapraz bağlanma yöntemi ile hazırlanması

6.1.1. Polimer konsantrasyonunun pH ve iletkenlik üzerindeki etkisi

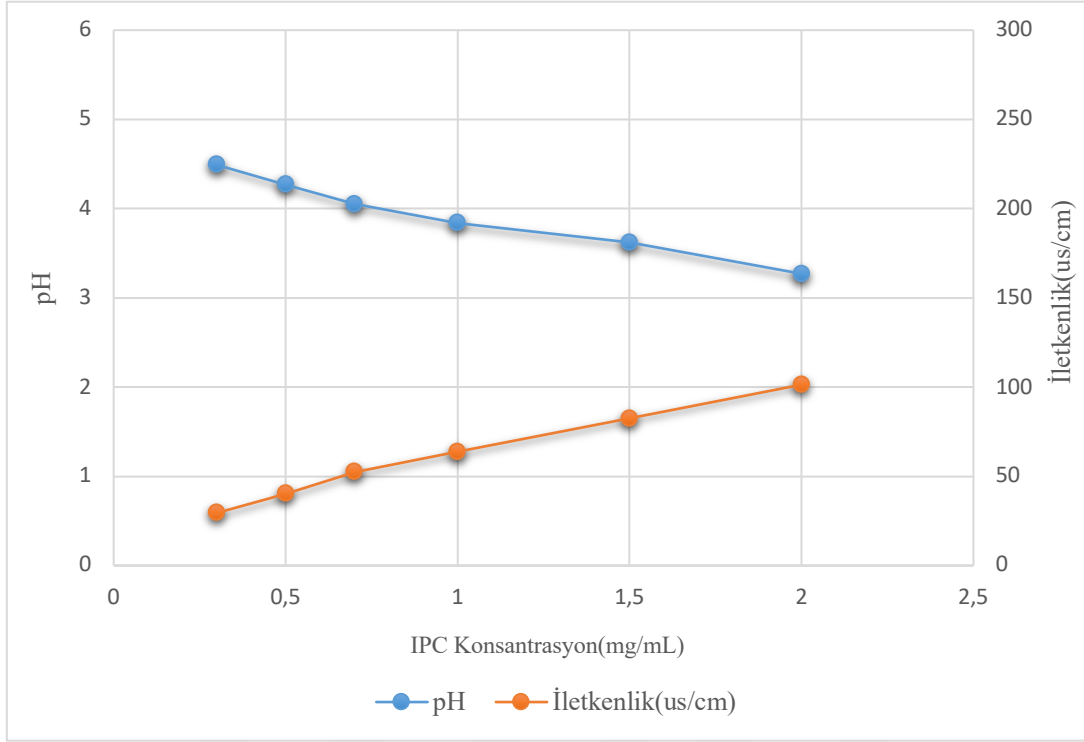
Bu çalışmada kullanılan iki polimer arasında interpolimer kompleksleri oluşturulmadan önce, kendi çözelti özellikleri, polimer konsantrasyonunun bir fonksiyonu olarak pH ve iletkenlikteki değişimler açısından incelenmiştir. Şekil 6.1, 2 ve 3'te PAA, PVP ve (PAA-PVP) IPC'lerinin pH ve iletkenliğini, polimer konsantrasyonuna karşılık gelen çözeltilerinin değişimi gösterilmektedir. PAA oda sıcaklığında su içinde çözündüğünde, tekrarlanan PAA birimlerinin karboksilat (COO^-) ve (H^+) gruplarına ayrıldığı iyi bilinmektedir. PAA çözeltilerinin pH'sı, konsantrasyona bağlı olarak değişmektedir, derişim artkça H^+ miktarının artması ila ortam daha fazla asidik olur ve pH değeri düşer (Şekil6.1). Bununla birlikte, PAA konsantrasyonu 0.3 ila 2.0 mg/mL arasında arttırıldığında, PAA çözeltisinin iletkenliğinin 36 ila 201 $\mu\text{S}/\text{cm}$ arasında değiştiğı tespit edilmiştir ki bu artan karboksilat grupları ve karşıt iyonların varlığıyla açıklanabilir. Öte yandan, PVP'nin pH ve iletkenliği, iyonik olmayan davranışından dolayı Şekil 6.2'de gösterildiğı gibi konsantrasyonundaki artışla hissedilir bir değişim göstermemektedir. Eş konsantrasyonlu (1:1) PAA ve PVP karışımlarından farklı konsantrasyonlarda elde edilen (PAA-PVP) IPC'lerin davranışı, Şekil 6.3'te gösterilmektedir. IPC, biraz daha yüksek pH değeri sergilerken, PAA'dan çok daha düşük iletkenlik göstermiştir. Bu durum PAA'nın karboksilik grubu ($-\text{COOH}$) ve PVP zincirinin karbonil oksijeni arasında hidrojen bağı oluşumu nedeniyle PAA'nın iyonlaşmasının baskılandığı ve bu nedenle de pH'da hafif bir artış olduğu şeklinde açıklanabilir. IPC oluşumu sırasında ($\text{COOH} \leftrightarrow \text{COO}^- \text{H}^+$) dengeye ulaşılır ve kompleks oluşumu nedeniyle H^+ ve COO^- konsantrasyonları azalır, bunun neticesinde iletkenlik değeri düşer ve PAA'ya kıyasla daha düşük iletkenlik değeri gözlenir [184].



Şekil 6.1. PAA' in (250.000 g/mol) sulu çözeltilerinin farklı konsantrasyonlardaki pH ve iletkenlik değerleri.



Şekil 6.2. PVP'nin (360.000 g/mol) sulu çözeltilerinin farklı konsantrasyonlardaki pH ve iletkenlik değerleri.



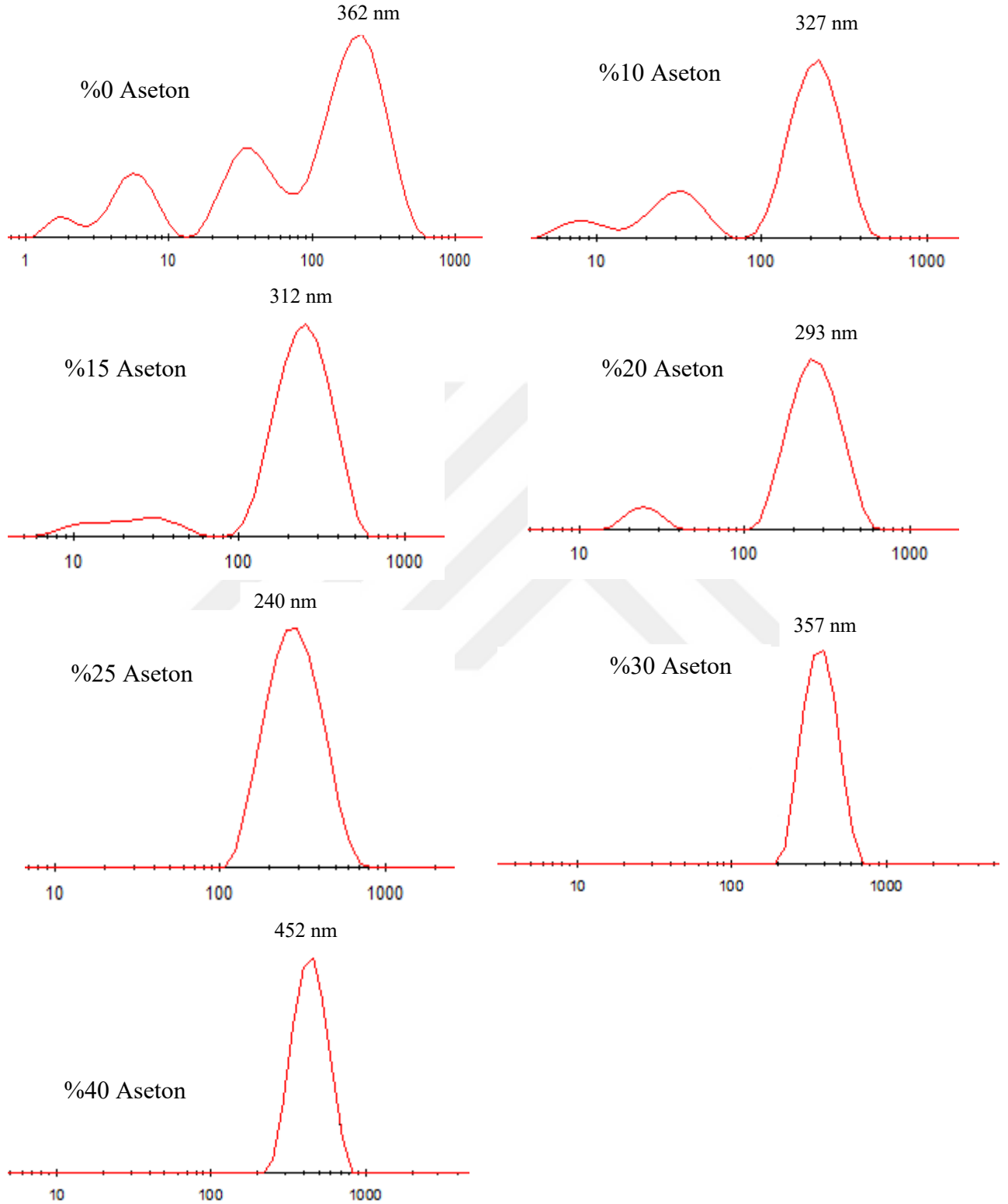
Şekil 6.3. (PAA-PVP) IPC'lerin 1:1 stokiyometrik oranda sulu çözeltilerinin farklı konsantrasyonlardaki (0.3, 0.5, 0.7 1.0, 1 .5 ve 2.0 mg/mL) pH ve iletkenlik değerleri.

6.1.2. Asetonun (PAA-PVP) IPC'lerin boyutuna etkisi

IPC ve daha sonraki nanojellerini hazırlamadan önce PAA ve PVP yumaklarının boyut ve boyut dağılımını kontrol etmek amacıyla her iki polimer için çözücü olmayan aseton kullanılmıştır. PAA ve PVP 10, 15, 20, 25, 30 ve %40 (v/v) organik çözücü hacim kesrine sahip aseton-su karışımlarında hazırlanmıştır. Her çözelti, DLS ile analizden önce gece boyunca sürekli olarak karıştırılmıştır. Çözücü karışımının çözünürlük parametresi aşağıdaki denkleme göre hesaplanmıştır.

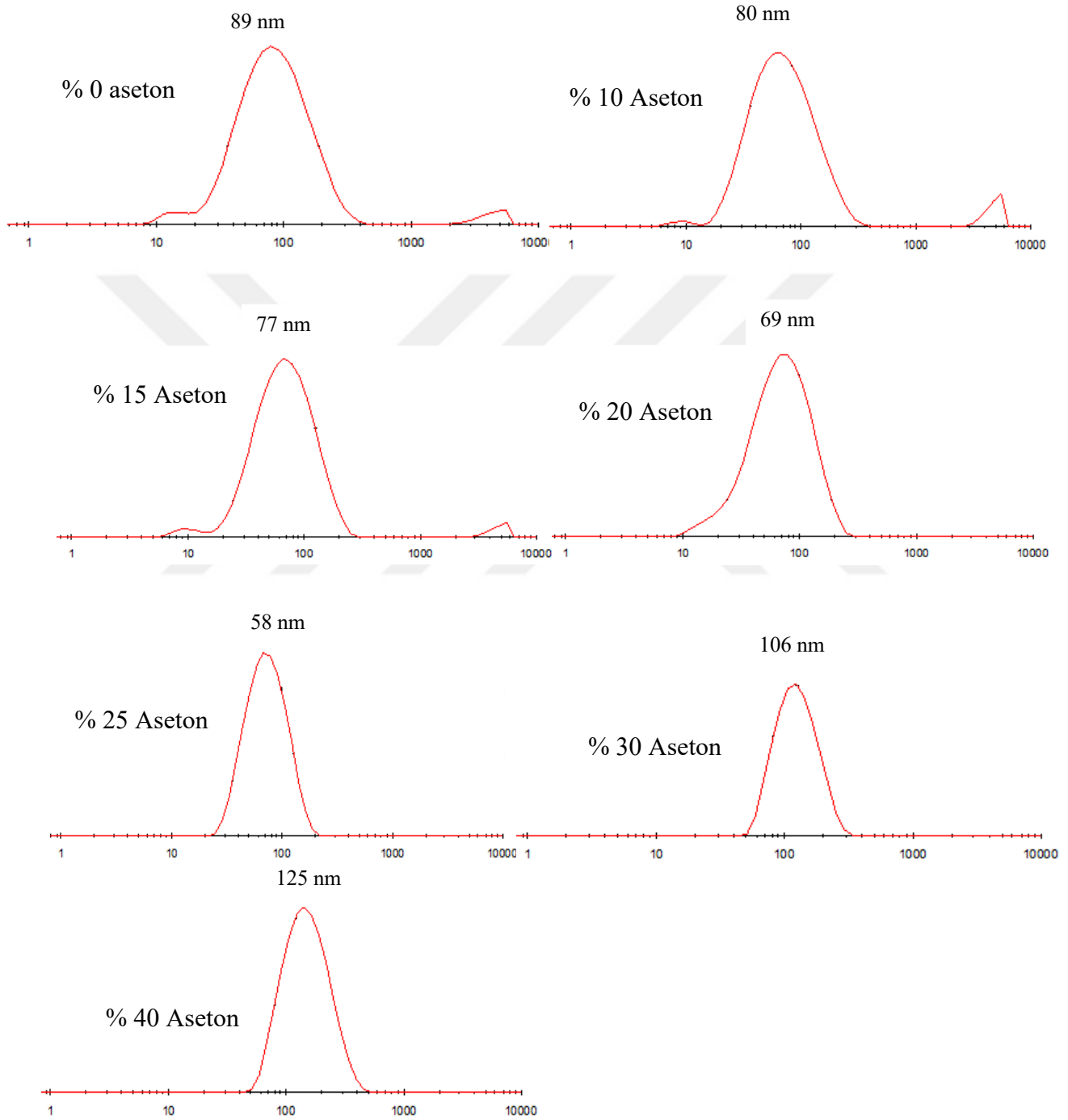
$$\delta_m = \sum (\chi_i \delta_i) \quad (6.1)$$

Burada χ_i , i bileşenin hacim fraksiyonu, δ_m ve δ_i sırasıyla çözücü karışımının ve i bileşenin çözünürlük parametreleridir. Çözünürlük parametreleri, sırasıyla su ve aseton için 47.9 ve 20.3 MPa^{1/2}'dir [185].

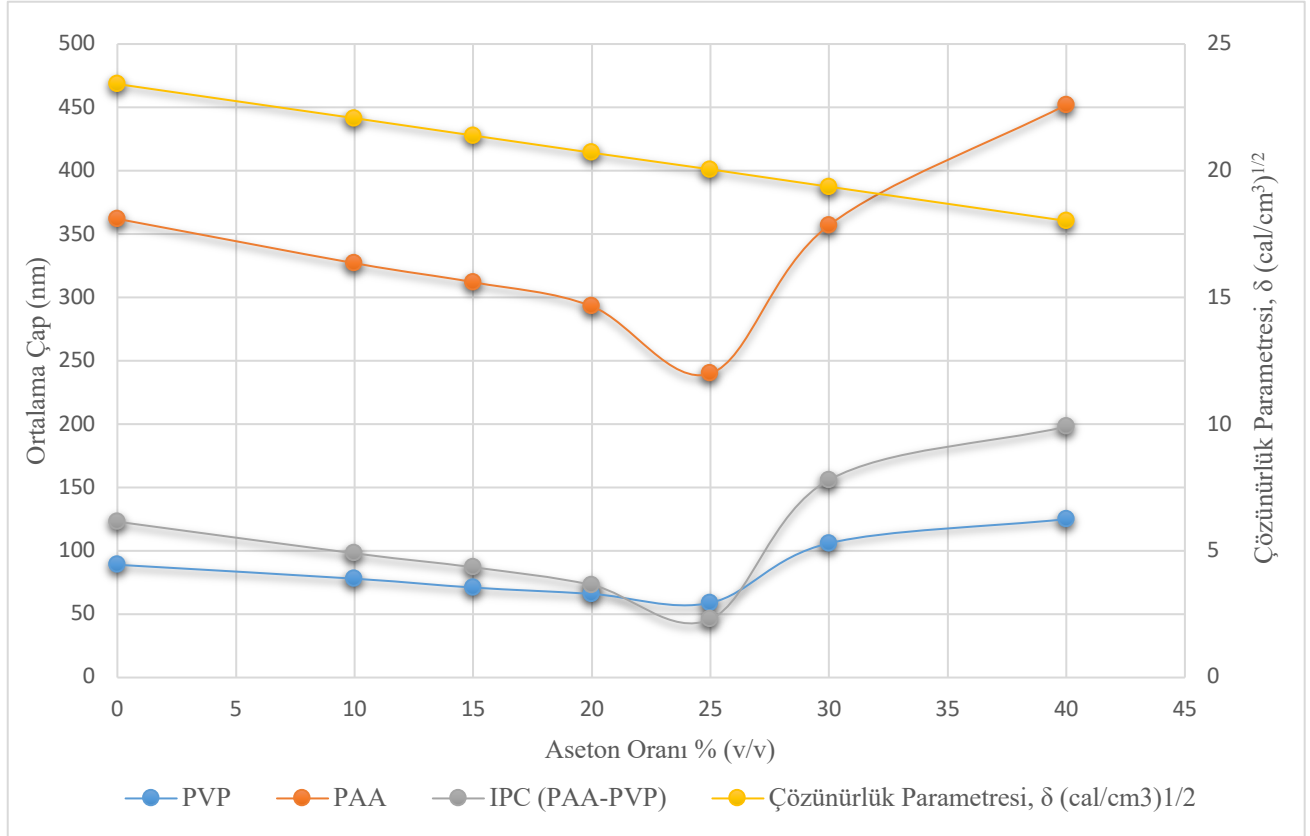


Şekil 6.4. %0, %10, %15, %20, %25, %30 ve %40 (v/v) hacim oranına sahip su ve su/aseton çözeltilerindeki 1.0 mg/mL PAA'nın dinamik ışık saçılması tekniği ile ölçülen yumaklarının

boyut dağılımı. (PAA'nın 1.0 mg/mL sulu çözeltisinin pH değeri 3.42'dir ve aseton varlığında pH önemszenmeyecek kadar az değişmiştir).



Şekil 6.5. %0, %10, %15, %20, %25, %30 ve %40 (v/v) hacim oranına sahip su ve su/aseton çözeltilerindeki 1.0 mg/mL PVP'nin dinamik ışık saçılması tekniği ile ölçülen yumaklarının boyut dağılımı. (PVP'nin 1.0 mg/mL sulu çözeltisinin pH değeri 6.27'dir).



Şekil 6.6. Aseton konsantrasyonunun, PVP, PAA ve PAA-PVP IPC'nin yumak boyutuna, aseton / su karışımlarının karşılık gelen çözünürlük parametreleri (δ) ile olan etkisi.

Bilindiği gibi bir çözücünün doğası, IPC'nin boyutunun kontrol edilmesinin yanı sıra oluşumunda önemli bir rol oynar, çünkü IPC yalnızca polimer-polimer etkileşimleri polimer-çözücü etkileşimlerinden daha güçlü hale geldiğinde oluşturulabilir [186]. Bu nedenle çözücü olmayan veya zayıf bir çözücü ilave edilerek polimer-çözücü etkileşiminin azaltılması, IPC oluşumunu kolaylaştırmanın bir yolu olarak düşünülebilir. Bu çalışmada aseton, PAA ve PVP için çözücü olmayan bir kimyasal ajan olduğundan polimer-çözücü etkileşimlerini daha zayıf hale getirmek amacıyla kullanılmıştır. Şekil 6.6 aseton konsantrasyonunun IPC'nin boyutuna etkisini göstermektedir. 1.0 mg/mL PAA ve PVP sulu çözeltileri aseton yokluğunda karıştırılarak, ortalama parçacık büyüklüğü 123 nm olan IPC oluşur. Oluşan IPC'nin boyutu, saf PAA'dan (362 nm) küçük ve PVP'den (89 nm) ise büyük bir ortalama boyut gösterdiğinden, azalan boyut, PAA ve PVP zincirleri arasında hidrojen bağlanması yoluyla IPC oluşumunu gösterir. PAA ve PVP çözeltilerini hazırlamak için ikili aseton ve su karışımı kullanıldığında, elde edilen IPC'ler, %25'e (v/v) kadar artan aseton konsantrasyonuyla daha küçük boyutlar

göstermiştir. Bunun nedeni, polimer yumağının daha zayıf bir çözücü ortamda (yani bu durumda çözücü aseton bakımından zengindir) artan polimer-polimer etkileşimleri nedeniyle büzülmesidir (Zayıf bir çözücüde, polimer zincirleri, polimer segmentleri ve çözücü arasındaki güçsüz etkileşim nedeniyle, daha güçlü olan polimer-polimer etkileşimlerine bağlı olarak kompakt bir küresel yapı benimser). Asetonun suya %10, %20 ve %25 (v/v) eklenmesi, ortalama IPC boyutunu 123 nm'den (aseton olmadan) 98, 73 ve 46 nm'ye sırasıyla düşürmüştür. Suyun içine aseton eklenmesiyle ortamın çözünürlük parametresindeki azalma, PAA ve PVP arasındaki interpolimer kompleksleşmesini kolaylaştıran polimer-çözücü etkileşimlerinin azalmasına neden olmuştur. Bu, artan polimer-polimer etkileşimlerine bağlı olarak polimer zincirlerinin büzülmesi neticesinde yumakların boyutunda bir azalmaya neden olur. Ayrıca, daha düşük dielektrik sabiti olan aseton eklenmesi ortamın dielektrik sabitinde bir azalmaya neden olabilir, bu da PAA zincirinde karboksilik asit gruplarının ayrışmasının zayıflamasına ve bunun sonucunda kompleksleşmenin lehine sonuçlanabilir. Çözücünün dielektrik sabitinin IPC oluşumu üzerindeki benzer etkisi diğer gruplar tarafından da gözlemlenmiştir [187,188]. Bununla birlikte, aseton miktarı %30 ve %40' a (v/v) yükseltildiğinde, ortalama polimer yumakları büyüklüğü ve IPC, Şekil 6.6'da görüldüğü gibi artmıştır. Bu, polimer yumaklarının nispeten yüksek hidrofobik ortamda topaklanmasından kaynaklanıyor olabilir. Elde edilen bu sonuçlara göre, asetonun IPC'lerin boyutları üzerindeki etkisi, radyasyona bağlı çapraz bağlama işlemi ile nanojellerin sentezinden önce IPC'nin boyut dağılımını kontrol etmek için uygun koşulları optimize etmemizi sağlar.

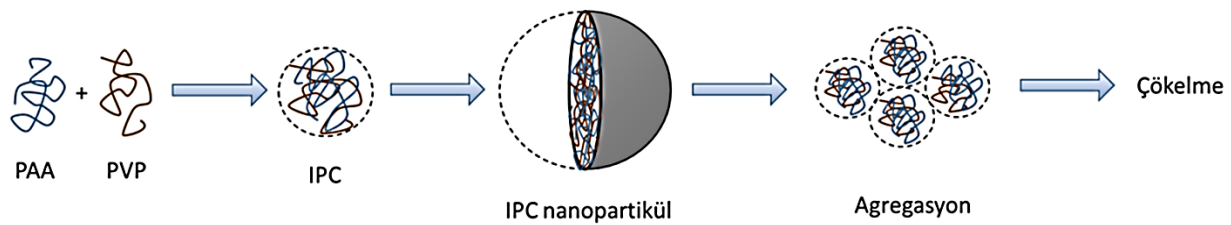
Çizelge 1. PAA ve PVP için farklı derişimlerde, pH, ortalama boyut, zeta potansiyel ve PDI değerleri (kullanılan polimer derişimleri 0.5, 1.0, 1.5 ve 2.0 mg/mL) PAA1=250.000 g/mol, PAA2 = 8.000 g/mol, PVP1 = 1.300.000 g/mol, PVP2 = 360.000 g/mol ve PVP3=10.000 g/mol.

	pH	Zeta Pot. (mV)	d (nm)	PDI
PAA1- 0.5	3.57	-22.4	193	0.283
PAA1- 1.0	3.42	-17.3	240	0.321
PAA1- 1.5	3.27	-11.1	256	0.278
PAA1- 2.0	3.12	-8.13	283	0.309
PAA2- 0.5	3.63	-24.5	191	0.290
PAA2- 1.0	3.49	-19.2	221	0.276
PAA2- 1.5	3.32	-14.9	243	0.311
PAA2- 2.0	3.21	-9.08	267	0.207
PVP1- 0.5	6.78	-2.79	54	0.285
PVP1- 1.0	6.51	-2.38	68	0.281
PVP1- 1.5	6.31	-2.33	75	0.289
PVP1- 2.0	6.22	-2.21	89	0.290
PVP2- 0.5	6.45	-3.51	51	0.278
PVP2- 1.0	6.27	-2.98	57	0.271
PVP2- 1.5	6.12	-2.67	69	0.257
PVP2- 2.0	5.97	-2.47	83	0.276
PVP3- 0.5	6.89	-4.46	261	0.317
PVP3- 1.0	6.68	-4.14	287	0.293
PVP3- 1.5	6.53	-3.91	299	0.278
PVP3- 2.0	6.35	-3.83	321	0.253

IPC'lerin oluşumunu daha iyi anlamak için önce hem PAA hem de PVP homopolimerleri için ayrıntılı bir DLS çalışması yapılmıştır. Çizelge 1'den, PAA ve PVP'nin konsantrasyona bağlı olarak yumak boyutlarında bir artış gözlenmiştir. Ayrıca, düşük molekül ağırlıklı PVP (10.000) için partikül boyutunda önemli bir artış gözlemlendi. Parçacık boyutu, 10,000 g/mol için 261 nm iken, sırasıyla 1,300,000 ve 360,000 g/mol için 54 ve 51 nm'ydı. PAA'nın moleküler ağırlığı, partikül boyutunda önemsiz bir fark yaratmıştır. Tüm PAA çözeltileri için, pH değerleri konsantrasyondaki azalma ile artmıştır. Bu, daha fazla negatif zeta potansiyel değerlerine yol açan PAA'nın karboksilik asit gruplarının ayrışmasıyla sonuçlanır, (0.5 mg/mL PAA1 için ZP = -22.4 mV, 2.0 mg/mL PAA1 için ZP = -8.13 mV).

6.1.3. PAA ve PVP interpolimer komplekslerinin oluşumu

Polimerler arasındaki ikincil etkileşimlerin sulu çözeltilerde interpolimer kompleks oluşumu ile sonuçlanabileceği iyi bilinmektedir. Sık gözlenen makromoleküler kompleks tiplerinden biri, kompleksin bir proton donörü (genellikle bir poliasit) ile bir proton alıcı polimer arasında meydana geldiği hidrojen bağı kompleksleridir. Poliasidin ayrışma derecesine bağlı olarak belirli bir pH aralığında kararlı bir IPC oluşumu meydana gelir [189]. PVP, poli(etilen oksit) veya poli(vinil alkol) gibi iyi bilinen H-bağ alıcı polimerler, PAA ile güçlü H-bağ oluşturabilir [190]. Şekil 6.7'de görüldüğü gibi PVP-PAA IPC nanopartiküllerinin oluşumu düşük konsantrasyon ve belirli pH değerlerinde gerçekleşir. Topaklanma işlemi makroskopik olarak, çözelti bulanıklığının ortaya çıkması ile kendini gösterir ve nispeten düşük pH ve yüksek konsantrasyon değerlerinde faz ayrılması ile sonuçlanır.



Şekil 6.7. IPC'lerin çok aşamalı oluşumunu gösteren diyagram.

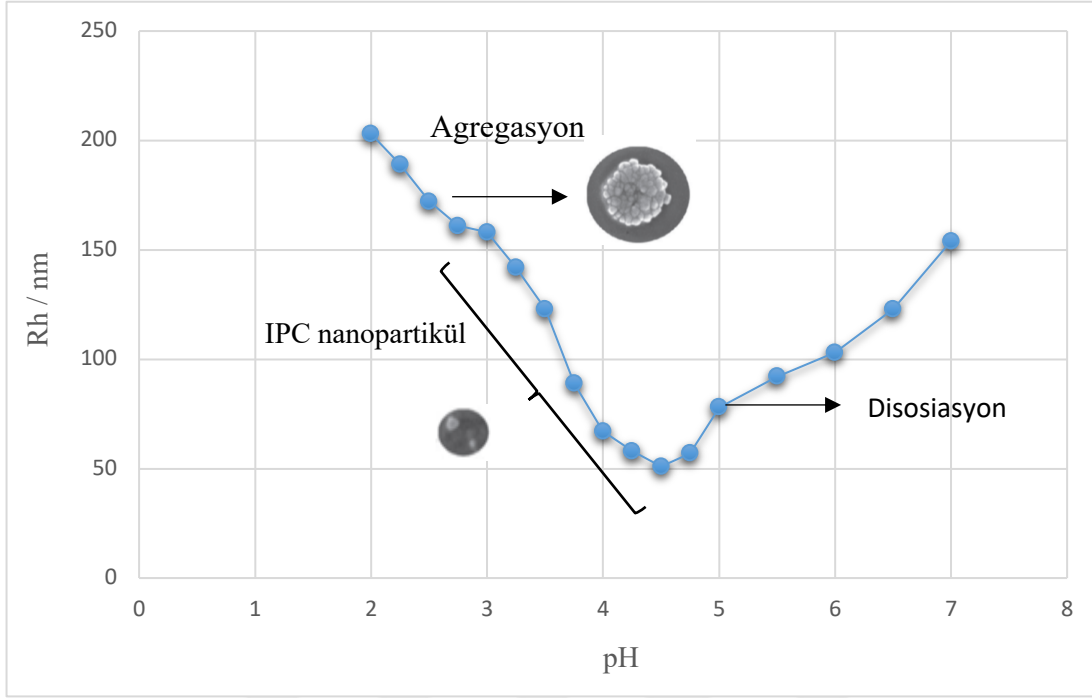
6.1.4. İnterpolimer komplekslerin oluşumunu ve boyutlarını etkileyen faktörler

- 1) pH
- 2) Molekül ağırlığı
- 3) Konsantrasyon
- 4) Karışım oranı

Tezin ilerleyen kısmında bu dört parametre ayrı ayrı ele alınmaktadır.

6.1.4.1. pH

IPC oluşumunda pH önemli faktörlerden biridir. Poliasitin karboksil gruplarının yeterli bir protonasyon seviyesinde kompleks oluşumu gerçekleşir [191]. PAA'nın pKa değerinin üstünde (4.75) PAA'nın karboksil grupları deprotonlanır ve dolayısıyla H-bağı oluşmaz. Öte yandan, PAA, PVP ile pH = 3.00 değerinin altında karıştırıldığında, önemli bir yapısal değişiklik meydana gelir. IPC'ler, polimer konsantrasyonları yüksek olduğunda, pH 3.0' ün altında birleşebilir ve çökebilir. Eğer pH 3.0'ın altında konsantrasyon düşükse Şekil 6.8'de görüldüğü gibi agregasyon gözlenir. Bir misel ve nanoparçacık oluşumu pH'a bağlı olarak, sadece düşük PVP ve PAA IPC derişimlerinde muhafaza edilir [192]. IPC'ler, PAA karboksil gruplarının sınırlı bir ayrışmasının olduğu düşük pH değerlerinde (2–3) toplanır. PAA ayrışması arttıkça, 4.75'in üzerindeki pH değerlerinde kompleks oluşumu gerçekleşmemiştir. Şekil 6.8'de bu durum görülmektedir; pH değeri artıkça partikül boyutlarında önemli ölçüde artış gözlenmiştir. pH'nın artması ile PAA ve PVP ayrışmış ve dolayısıyla DLS'de ölçülen değerler IPC oluşumuna değil, PAA ve PVP'ye karşılık gelen veriler şeklinde ortaya çıkmıştır. IPC partikül boyutlarının PAA ayrışma derecesinden etkilendiği pH 3.0 ve 4.5 arasında kararlı IPC'ler elde edilmiş ve bu değerler detaylı olarak çizelge 2'de verilmiştir. Bu gözlemler, Henke ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada sundukları bulguları ile çok yakın bir uyum içindedir [193].



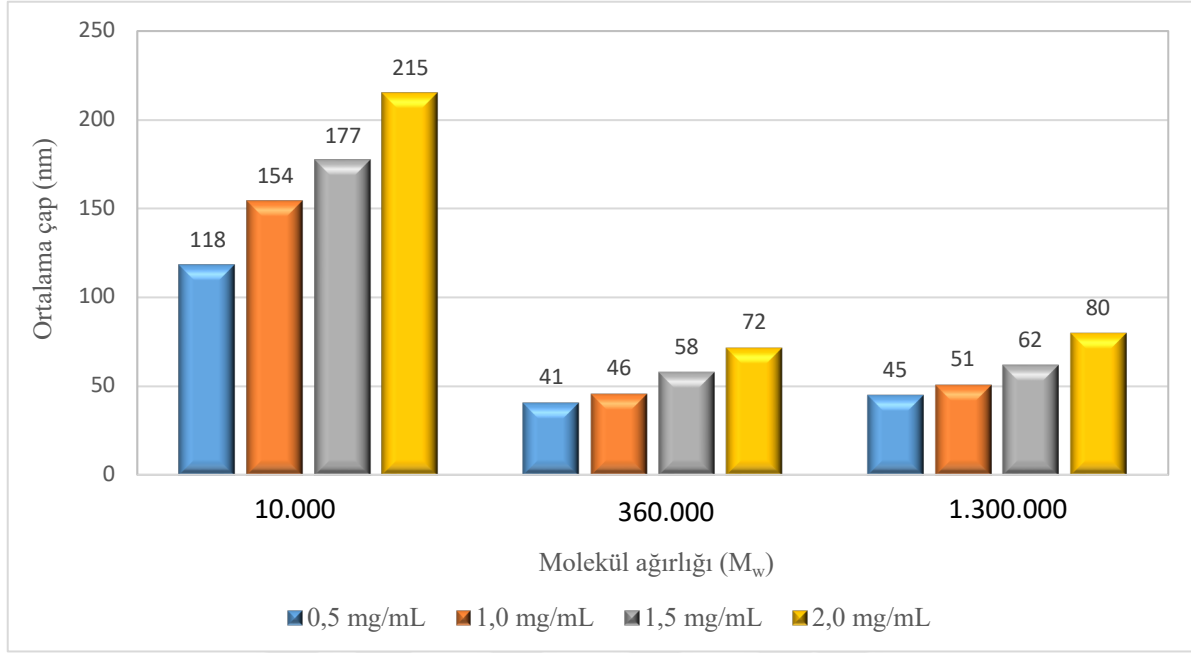
Şekil 6.8. pH'ın PVP-PAA interpolimer kompleksi oluşumu üzerine etkisi, (kullanılan polimer konsantrasyonu 1.0 mg/mL, %25 aseton, PAA 250.000 Mw ve PVP 360.000 Mw)

Çizelge 2. pH 3-4.5 aralığında oluşan kararlı (PAA-PVP) IPC'ler için, ortalama boyut, zeta potansiyel ve PDI değerleri.

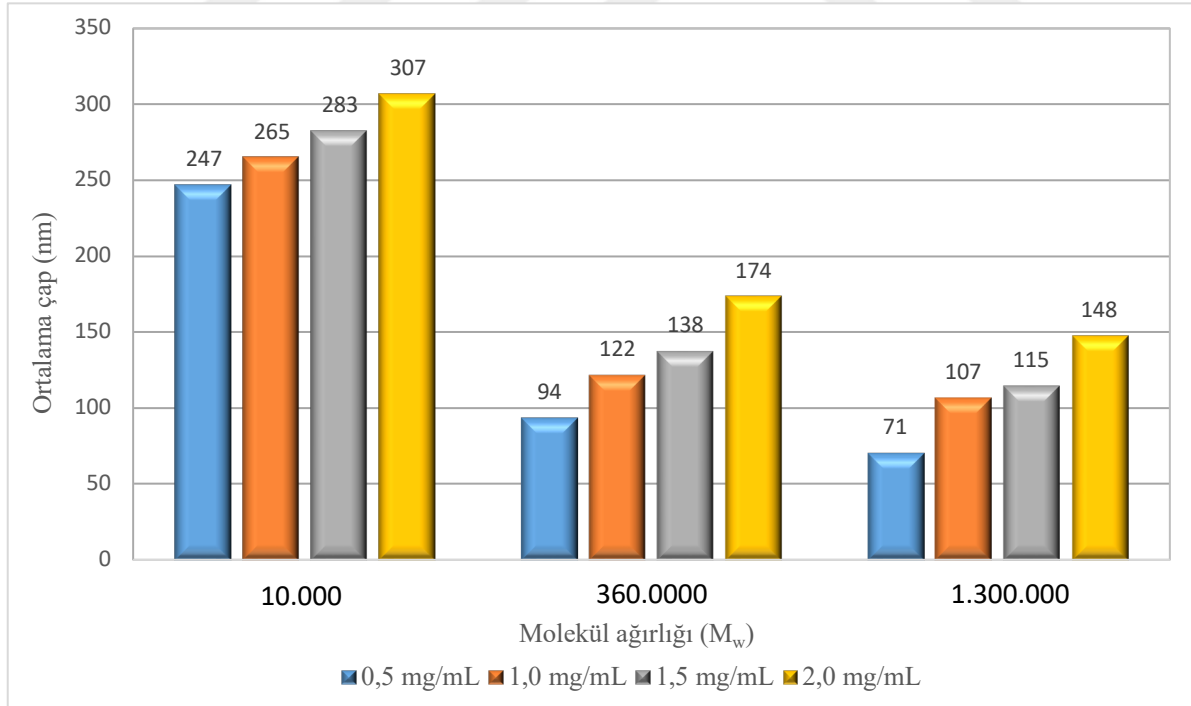
pH	d. (nm)	Zeta pot (Mv)	PDI
3.0	158	-7.4	0.289
3.25	142	-11.2	0.258
3.50	123	-14.7	0.243
3.75	89	-17.1	0.211
4.0	67	-21.9	0.232
4.25	58	-26.2	0.193
4.50	51	-28.3	0.221

6.1.4.2. Molekül ağırlığı

PAA ve PVP arasındaki kompleksleşme aynı zamanda her iki bileşenin molekül ağırlığına ve çözelti konsantrasyonuna da bağlıdır; burada kompleks oluşumu, belirli bir pH değeri altında kooperatif H-bağlanması yoluyla sağlanır. Başka bir deyişle, poliasit karboksil gruplarının yeterli protonasyon seviyesinde meydana gelir [191]. Şekil 6.9 ve 6.10, PVP ve PAA molekül ağırlığı ve konsantrasyonunun, PAA-PVP IPC'lerin partikül boyutuna olan etkisini göstermektedir. Molekül ağırlığının etkisini incelemek için, üç farklı molekül ağırlığına (10.000, 360.000, 1.300.000 g/mol) sahip PVP ve iki farklı molekül ağırlığında PAA (250.000 ve 8.000 g/mol) kullanılmıştır. IPC'lerin kompleksleşme davranışını daha iyi anlamak için hem PAA hem de PVP homopolimerleri ile ayrıntılı bir DLS çalışması yapılmıştır. Çizelge 1'den, PAA veya PVP'nin polimer yumakları arasında artan hidrojen bağları nedeniyle partikül büyüklüğünün konsantrasyondaki artışla arttığı görülebilir. Çizelge 1'de PAA'nın molekül ağırlığındaki değişimin tek başınayken partikül boyutunda çok önemli bir değişime neden olmadığı görülse de, PVP varlığında PAA'nın molekül ağırlığının IPC oluşumunda kayda değer bir etkisi vardır. PAA molekül ağırlığı 250.000 g/mol olduğunda, PVP ile daha yüksek miktarda H-bağı oluşturabilen daha uzun zincirlerin varlığı nedeniyle daha kompakt IPC partikülleri oluşmuştur. Buna karşılık $M_w = 8.000$ g/mol olan PAA için daha büyük partikül boyutlarına sahip PAA-PVP kompleksleri elde edilmiştir.



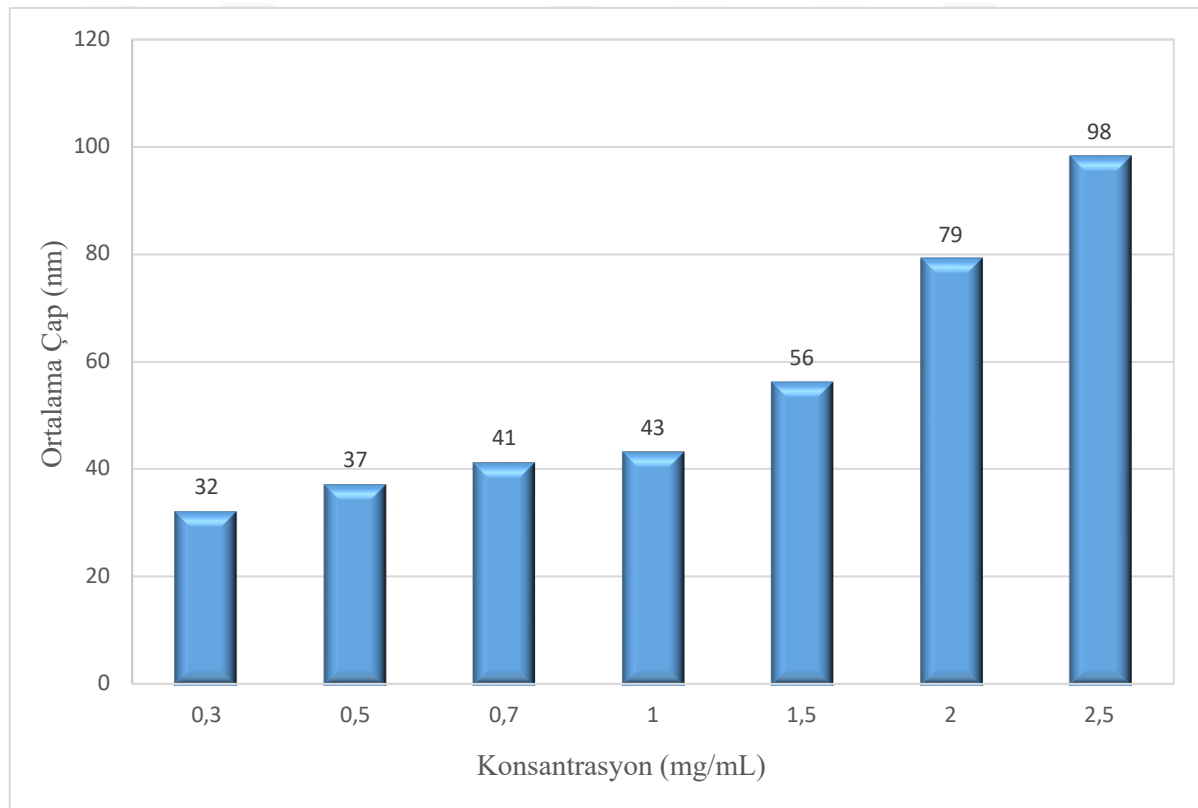
Şekil 6.9. PVP molekül ağırlığının (M_w) IPC (PVP-PAA) partikül büyüklüğü (PAA molekül ağırlığı 250.000 M_w) zerindeki etkisi. Tüm zeltiler %25 aseton oranında hazırlanmışlar.



Şekil 6.10. PVP molekül ağırlığının (M_w) IPC (PVP-PAA) partikül büyüklüğü (PAA molekül ağırlığı 8.000 M_w) zerindeki etkisi. Tüm zeltiler %25 aseton oranında hazırlanmışlar.

6.1.4.3. Konsantrasyon

Polimer konsantrasyonunun etkisi, IPC oluşumu için önemli bir parametredir. Şekil 6.11 'de, IPC'lerin boyutlarının PAA ve PVP konsantrasyonundaki artışla arttığı gösterilmiştir. PAA konsantrasyonu yükseldiğinde, çözeltinin pH'sı ve dolayısıyla PAA'nın ayrışma derecesi azalır. Bu nedenle partikül boyutunda bir artış ile sonuçlanan PVP ile kompleksleşme artar ve sonuç olarak IPC boyutlarında artış gözlenir. Şekil 6.11' de görüldüğü gibi konsantrasyon 0.3'ten 2.5 mg/mL'ye yükseltildiği zaman IPC boyutlarında artış gözlenmiştir.



Şekil 6.11. PAA-PVP IPC partikül büyüklüğüne konsantrasyonun etkisi. Tüm polimer konsantrasyonları hem PVP hem PAA 1:1 oranda olduğu, %25 aseton çözeltilerinde hazırlanmışlar, Kullanılan polimerlerin molekül ağırlıkları PAA için 250.000 g/mol, PVP için ise 360.000 g/mol'dür.

6.1.4.4. Karışım oranının etkisi

IPC oluşumunu etkileyen diğer bir parametre karışım oranının etkisidir. (PVP-PAA) IPC'leri üzerindeki karışım oranının etkisi, çizelge 3'te görüldüğü gibi PVP'nin miktarı arttıkça boyutlarda bir artış ve zeta potansiyel de bir düşüş olarak görülmektedir. Bu durum, PVP'nin miktarı fazla olduğunda, PAA yumaklarının daha fazla PVP ile kaplandığı ve oluşan IPC'lerin dış yüzeyleri çoğunlukla PVP ile kaplı olduğundan zeta potansiyel değerlerinin, PVP'nin değerlerine yakın bir değer olarak çıktığı şeklinde yorumlanabilir. Öte yandan PAA fazla eklendiği zaman, IPC'lerin boyut ve zeta potansiyel değerlerinde bir artış gözlenmiştir. PAA başlangıç yumak boyutları daha büyük olduğu için PAA miktarı arttıkça IPC'lerin boyutları, PVP'nin miktarının fazla olduğu duruma kıyasla daha büyük olmuştur. IPC'ler nanojellerin çıkış maddesi olduğu için karışım oranının etkisi dikkate alınarak, PVP veya PAA bakımından zengin IPC'lerden yola çıkıp farklı polimer bileşimlerinde nanojellerin elde edilmesi mümkündür.

Çizelge 3. Karışım oranının PAA-PVP IPC'lerinin üzerinde etkisi (pH, ortalama boyut, zeta potansiyel ve PDI değerleri). Kullanılan polimer konsantrasyonu 1.0 mg/mL, %25 aseton (v/v), PAA 250.000 g/mol ve PVP 360.000 g/mol.

%25 Aseton PAA/PVP (v/v)	pH	Zeta Pot. (mV)	d (nm)	PDI
(1:1) (PAA: PVP)	3.46	-27.3	73	0.249
(1:2) (PAA: PVP)	3.89	-23.4	87	0.270
(1:3) (PAA: PVP)	4.34	-16.2	99	0.291
(1:4) (PAA: PVP)	4.87	-11.3	116	0.207
(1:5) (PAA: PVP)	5.12	-7.2	127	0.269
(1:2) (PVP: PAA)	4.58	-22.3	103	0.259
(1:3) (PVP: PAA)	4.05	-25.3	115	0.198

(1:4) (PVP PAA)	3.23	-29.2	143	0.212
(1:5) (PVP PAA)	3.02	-33.4	157	0.312

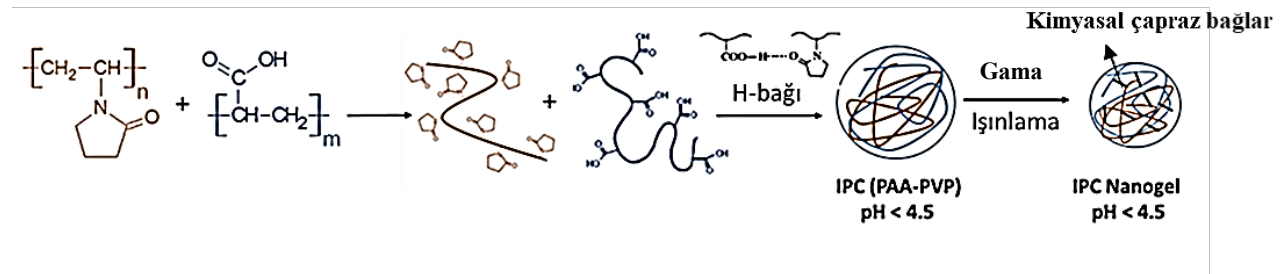
6.1.5. PVP-PAA IPC nanojellerin radyasyonla hazırlanması

6.1.5.1. PVP-PAA IPC'lerin Işınlanması

Nanojellerin parçacık boyutu özellikle biyomedikal alandaki uygulamaları için oldukça önemlidir. Bu nedenle bu çalışmada, IPC nanojellerinin parçacık boyutunu kontrol etmek için yeni bir yaklaşım önerilmiştir. Sulu PAA, PVP ve IPC çözeltilerinin çözelti termodinamiğini kontrol etmek IPC yumak boyutlarının kontrol edilebilmesini sağlar. IPC yumakları, elde edilecek IPC nanojellerinin başlangıç noktası olduğundan, bu kontrol aynı zamanda nanojellerin boyut kontrolünü de mümkün kılmaktadır. Bu çalışmada PAA ve PVP polimerlerinin su/aseton ortamında farklı molekül ağırlıklarında ve farklı derişimlerde seyreltik çözeltileri hazırlanıp, polimer yumaklarının farklı koşullarda (molekül ağırlığı, konsantrasyon, karışım oranları, pH ve sıcaklık) boyutları Dinamik Işık Saçılması (DLS) tekniği ile incelenmiştir. PVP çözeltileri PAA çözeltileri ile etkileştirilip interpolimer kompleksleri hazırlanmıştır. Hazırlanan IPC'ler, DLS ile boyut dağılımı ve kompleks kararlılıkları açısından analiz edilmiştir. İkinci aşamada hazırlanan IPC'ler, radyasyona maruz bırakılarak çapraz bağlanmış ve interpolimer kompleks nanojelleri elde edilmiştir. Zincir-içi çapraz bağlanma gerçekleştiği için nanojel boyutları, kendilerini oluşturan IPC yumak boyutundan daha küçük olmuştur. IPC nanojellerinin hazırlanmasında radyasyonla başlatılan çapraz bağlanma, yöntemi herhangi bir monomer, başlatıcı, çapraz-bağlayıcı ajan ya da diğer katkı maddelerinin kullanım gerekliliğinin ortadan kaldırılması sayesinde daha temiz materyaller elde edilmesine ve çapraz bağlanma derecesinin kontrolüne olanak sağladığı için tercih edilmiştir [194]. Ayrıca ışınlamanın sulu ortamda yapılması nedeniyle, radyasyonun doğrudan etkisi yanında suyun radyoliz ürünlerinin de (H_2O e^-_{aq} , $\text{H}^\bullet$, $\text{OH}^\bullet$, H^+ , H_2 , H_2O_2) etkisi ile nanojel sentezi nispeten düşük dozlarda gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada, IPC nanojel sentezi sırasında çözücü olarak aseton/su karışımı kullanılmıştır. Bu yüzden, asetonun da hidrate elektron için mükemmel bir süpürücü olduğunu dikkate alınmalıdır. Çapraz bağlanma reaksiyonları yükseltgeme şartlarında gerçekleştiği için indirgen türlerin, en

başta da hidrate elektronların, sistemden uzaklaşması gerekmektedir. Aseton varlığı hidrate elektronların uzaklaştırılmasına pozitif etkide bulunmaktadır [195].

Bu çalışmada ilk başta IPC'lerin boyutlarını etkileyen faktörler incelenerek IPC nanojelleri sentezlenmiştir. Bu faktörler sırası ile kullanılan polimerlerin molekül ağırlığı, konsantrasyon, pH ve karışım oranlarıdır. Daha sonra hazırlanan IPC nanojellerin, farklı ortamlarda (pH, sıcaklık ve iyonik şiddet) nasıl davranış gösterdikleri DLS ile incelenmiştir.

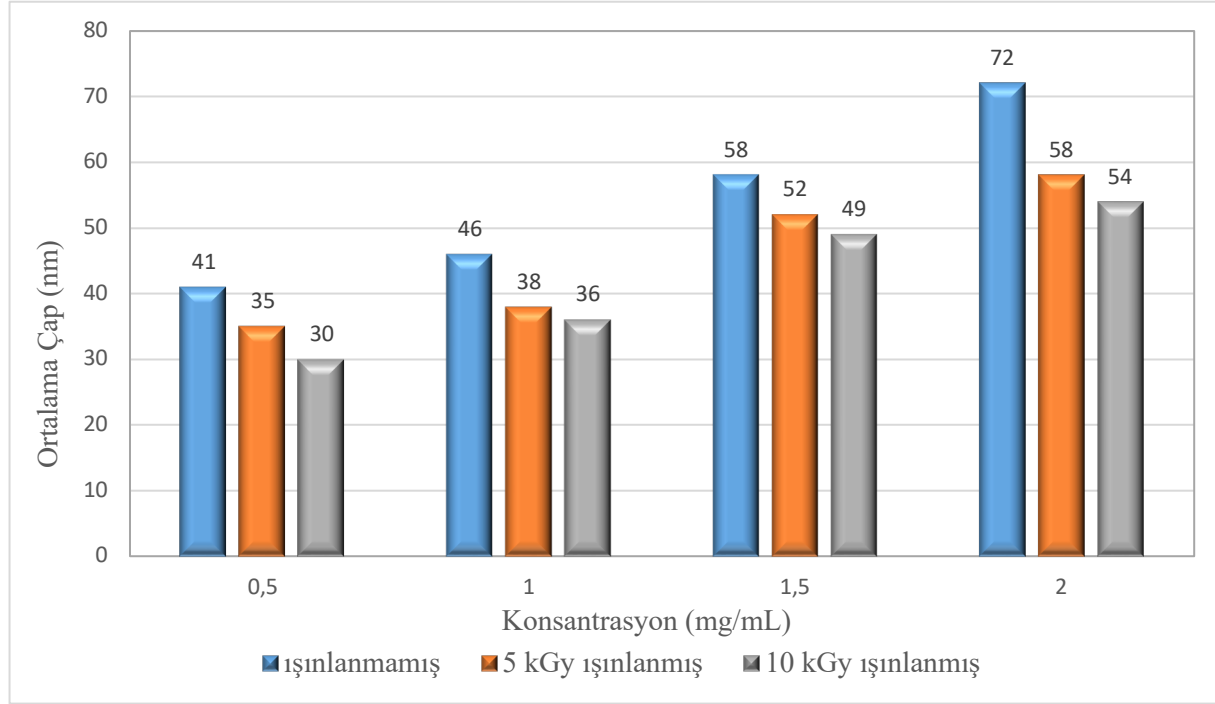


Şekil 6.12. PVP-PAA nanojellerinin radyasyona bağlı oluşumu için önerilen şema.

Bu çalışmanın ikinci kısmı, her iki polimerin derişimi, pH'sı, karışım oranı ve molekül ağırlığının yanı sıra IPC çözeltilerinin pH'nın bir fonksiyonu olarak PAA- PVP IPC yapılarından nanojellerin radyasyon yöntemi ile oluşumuyla ilgilidir. PAA-PVP IPC nanojellerini sentezlemek için genel bir şema Şekil 6.12'de sunulmaktadır. Suyun radyoliz ürünleri ($H_2O \rightarrow e^-_{aq}, H \cdot, OH \cdot, H^+, H_2, H_2O_2$) esas olarak oksidatif $OH \cdot$ ve indirgeyici e^-_{aq} türlerinden oluşur. Molekül içi çapraz bağlama koşulları, özellikle, ışınlama ortamı polimer zincirlerinden protonu ayıran OH radikalleri bakımından zengin olduğundan tercih edilir. Bu nedenle çözeltiler ışınlanmadan önce e^-_{aq} $OH \cdot$ radikallerine dönüştürmek için N_2O gazına maruz bırakılır ve böylece absorplanan doz miktarının PVP-PAA IPC nanojellerini sentezlemek için nispeten düşük (5 kGy ve 10 kGy) tutulması sağlanmıştır. İkili polimer komplekslerinden nanojel oluşumunun daha iyi anlaşılması ve kontrol edilmesi için, polimer moleküler ağırlığının etkisini, üç farklı molekül ağırlığına sahip PVP ve iki farklı molekül ağırlığına sahip PAA kullanarak ve komplekslerini, dört farklı konsantrasyondaki ilgili su-aseton çözeltilerden hazırlayarak, polimer molekül ağırlığının etkisini araştırdık. Nanojeller, gama ışımasıyla iki farklı dozda, yani 5 ve 10 kGy'de hazırlandı. Aşağıda sunulan bir dizi sonuç, pH'ın, konsantrasyonların, polimerlerin

molekül ağırlıklarının, karışım oranının ve absorplanan dozun hidrodinamik hacim (pik ortalama χ ap), PDI ve IPC'lerin zeta-potansiyel değerleri ve bunlara karşılık gelen nanojeller üzerindeki etkisini göstermektedir. Nanojel parçacık boyutları ışınlanmamış IPC'lerle karşılaştırıldığında, molekül içi χ apraz bağlanma nedeniyle yumak boyutlarında belirgin bir azalma gözlenmiştir. Ayrıca, daha homojen IPC nanojel oluşumu ile ışınlama sonrası PDI değerleri de azalmıştır. IPC1 (PAA 250.000 g/mol ve PVP 360.000 g/mol) (şekil 6.13, çizelge 4, şekil 6.14) ve IPC2 (PAA 250.000 g/mol ve PVP 1.300.000 g/mol) (şekil 6.15, çizelge 5, şekil 6.16) nanojeller, partikül boyutu 80 nm'nin altındaki kompakt IPC'lerden elde edildi. Bu nedenle radyasyona bağlı χ apraz bağlanma üzerine bu yumakların büzülmesi daha az olmuştur ve 30 ila 56 nm arasında büyüklüklerdeki nanojeller sentezlenmiştir. Öte yandan, PAA 8.000 g/mol ve PVP 10.000 g/mol'den oluşan IPC'lerden hazırlanan IPC3 (şekil 6.17, çizelge 6, şekil 6.18) nanojelleri için partikül boyutundaki azalma daha belirgindir. Bu durumda öncül IPC boyutları nispeten daha büyüktü ve bu da sistemin molekül içi χ apraz bağlanma yoluyla daha fazla büzülmeye izin verdiğini düşündürmektedir. 0.5m g/mL konsantrasyona sahip IPC3 numunesi göz önüne alındığında, 10 kGy ışınlamadan sonra PDI değerinin 0.234'ten 0.131'e düşmesi ile birlikte boyutu da 249 nm'den 108 nm'ye bir düşüş göstermiştir; ışınlamadan sonra düşük boyut dağılımı gösteren IPC'ler nanojel oluşumunun açık bir kanıtıdır. Ek olarak, absorplanan doz miktarının IPC nanojel boyutlarına sadece küçük bir katkı yaptığı görülmüştür. Örneğin IPC1, 72 nm (2 mg/mL) yumak boyutuna sahiptir ve karşılık gelen nanojelleri, sırasıyla 5 ve 10 kGy dozlarına ışınlama üzerine 58 ve 54 nm partikül boyutları vermiştir. Abd El-Rehim ve arkadaşları, PVP molekül ağırlığının PVP-g-PAA nanojellerinin partikül büyüklüğü üzerindeki etkisini araştırmışlardır. PVP varlığında AA'nın matriks polimerizasyonunu gerçekleştirildiği bu çalışmada, başlangıç PVP'nin molekül ağırlığı bilinmesine rağmen, sentezlenen PAA'nın molekül ağırlığı bilinmemektedir. Düşük molekül ağırlıklı PVP ($M_w = 8.000$ g/mol) ile mikron büyüklüğünde parçacıklar (1.2 μ m) elde edilirken, artan PVP molekül ağırlığı ile daha küçük jellerin elde edildiği gösterilmiştir [196]. Çalışmamızda, PAA 8.000 g/mol ve 10.000 g/mol PVP kullanılarak daha büyük IPC'ler elde edilirken, daha yüksek PVP molekül ağırlığında daha küçük IPC'ler elde edilmiştir (çizelge 6). IPC3 numunelerinin 249 ve 307 nm arasında partikül boyutlarına sahip olduğu görülebilir (IPC3 0.5 - 2.0). Aslında bu boyutlar tek bir zincir yumağının boyutlarından daha büyüktür ve bu nedenle buradaki homopolimer veya IPC yumaklarının birden çok zincirden oluştuğu düşünülmektedir. Bununla birlikte, bu numunelerin

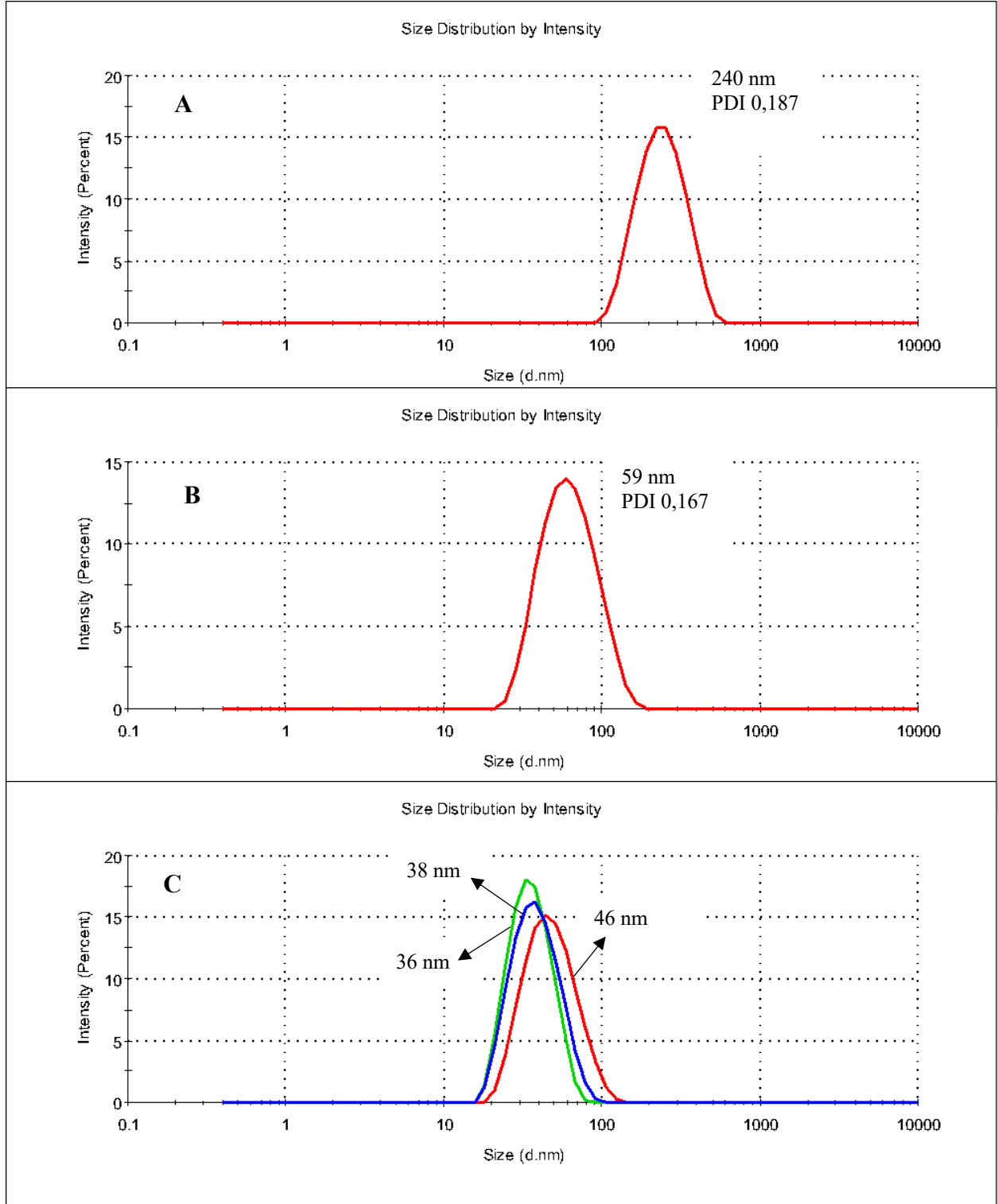
ışınlanmasından sonra boyutlarında önemli bir azalma görülmüştür ve parçacık büyüklüğü 108 nm'ye kadar düşen nanojeller elde edilmiştir. PVP ve PAA'nın düşük molekül ağırlıkları kullanıldığında, ayrı ayrı belirlenen her iki polimerin daha büyük başlangıç yumak boyutları nedeniyle daha büyük IPC'ler ve sonuç olarak daha büyük nanojeller elde edilmiştir (Çizelge 1). Bu olay, IPC boyutlarının molekül ağırlığındaki bir azalma ile arttığı ve bunlara karşılık gelen nanojellerin hem 5, hem de 10 kGy'lik dozlar için partikül boyutunda aynı eğilimi gösterdiği çizelge 4, 5, ve 6'deki IPC1'den IPC3'e kadar takip edebilir. Bu çalışmada yer alan dozlar, benzer çalışmalarda uygulanan dozlardan daha düşüktür. Dispenza ve arkadaşları yaptıkları çalışmalarda daha yüksek dozlar (40-80 kGy) kullanmışlardır [197]. Çizelge 4, 5, 6, 7, 8, 9'dan elde edilecek en önemli sonuçlar şu şekilde toparlanabilir; i) PVP-PAA IPC nanojelleri, 40-300 nm büyüklüğündeki ilgili IPC'lerden 30-250 nm büyüklüğünde hazırlanmıştır, ii) nanojellerin pH ve zeta potansiyeli belirli bir ürün için öncül IPC'lerinkiyle aynı kalır, iii) belirli bir PVP ve PAA moleküler ağırlığı çifti için nanojellerin boyutu polimerlerin konsantrasyonu ile artar, iv) 5 kGy'den 10 kGy'e dozun arttırılması üzerine nanojellerin boyutunda küçük bir azalma elde edilebilir. PAA ve PVP'nin hidrojen bağlı IPC'sinin topaklanma davranışı Henke ve arkadaşları tarafından incelenmiştir. Yüksek molekül ağırlıklı PVP ve oligomerik PAA arasındaki kompleksleşmenin topaklanma eğiliminde olduğunu gözlemlerken, yüksek molekül ağırlıklı PAA ve PVP ile hazırlanan IPC'ler daha iyi kolloidal kararlılık göstermişlerdir [198]. Bu çalışmada, PVP ve PAA'nın hem düşük hem de yüksek molekül ağırlıkları için PAA-PVP yapılarının IPC'leri için 3 haftaya kadar kolloidal kararlılık elde edilmiştir. IPC'lerin boyutu 3 haftaya kadar düzenli aralıklarla kontrol edilmiş ve topaklanma olmadığı tespit edildikten sonra nanogel sentezi güvenli bir şekilde gerçekleştirilmiştir. Gama kaynağının düşük doz hızı nedeniyle, 5 ve 10 kGy gibi düşük ışınlamalarda bile uzun ışınlama süreleri gerektiğinden bu kararlılık önemlidir.



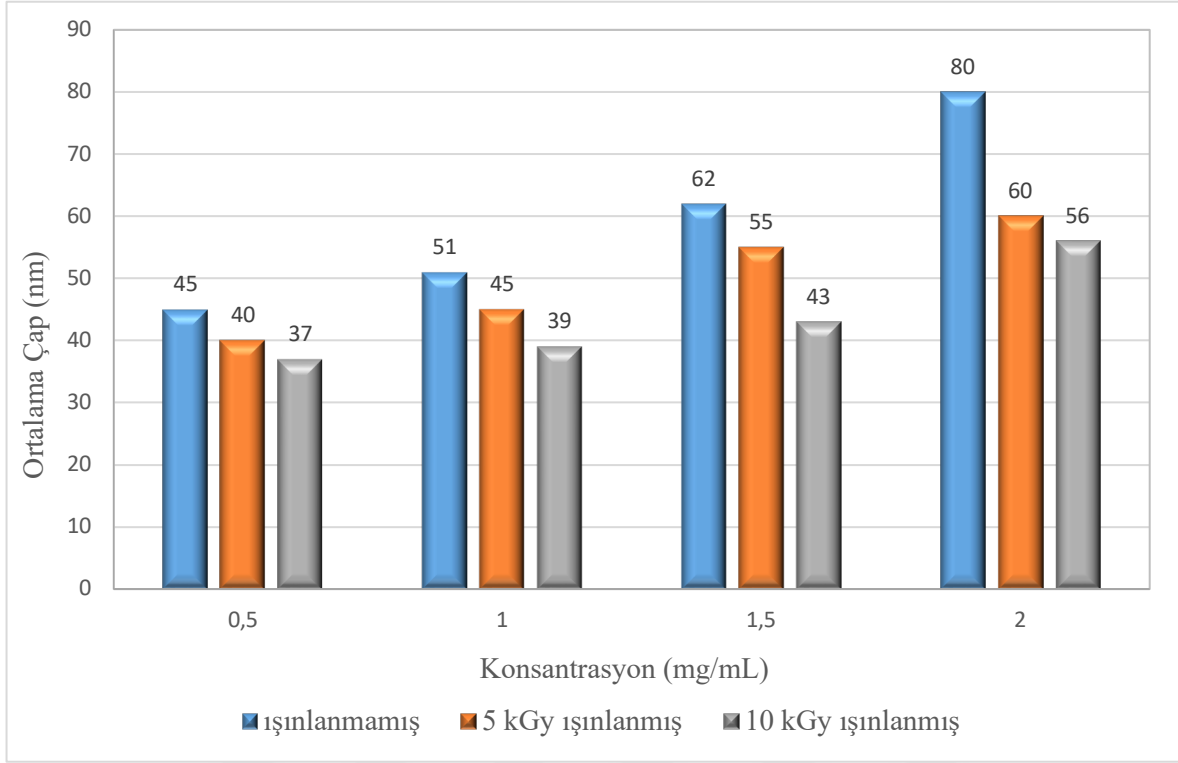
Şekil 6.13. Toplam absorplanan dozun IPC1 nanojellerinin ortalama boyutları üzerindeki etkisi. (PAA 250.000 g/mol ve PVP 360.000 g/mol, 0,5, 1,0, 1,5 ve 2,0 mg/mL, %25 aseton/su (v/v)).

Çizelge 4. %25 aseton/su karışımında gama ışınları kullanılarak IPC1 çözeltilerinden (0,5, 1,0, 1,5 ve 2 mg/mL) sentezlenen IPC ve IPC nanojelleri için ortalama boyut, zeta potansiyel, pH ve PDI değerleri. (PAA 250.000 g/mol ve PVP 360.000 g/mol).

Gama	Işınlanmamış				5kGy-ışınlanmış				10kGy-ışınlanmış			
%25 Aseton	pH	Zeta Pot. (mV)	d (nm)	PDI	pH	Zeta Pot. (mV)	d (nm)	PDI	pH	Zeta Pot. (mV)	d (nm)	PDI
0.5 mg/mL	3.61	-15.4	41	0.212	3.61	-15.4	35	0.125	3.61	-15.4	30	0.121
1.0 mg/mL	3.45	-17.6	46	0.201	3.45	-17.6	38	0.145	3.45	-17.6	36	0.131
1.5 mg/mL	3.35	-21.7	58	0.225	3.35	-21.7	51	0.140	3.35	-21.7	49	0.112
2.0 mg/ml	3.29	-27.4	72	0.234	3.29	-27.4	58	0.143	3.29	-27.4	54	0.101



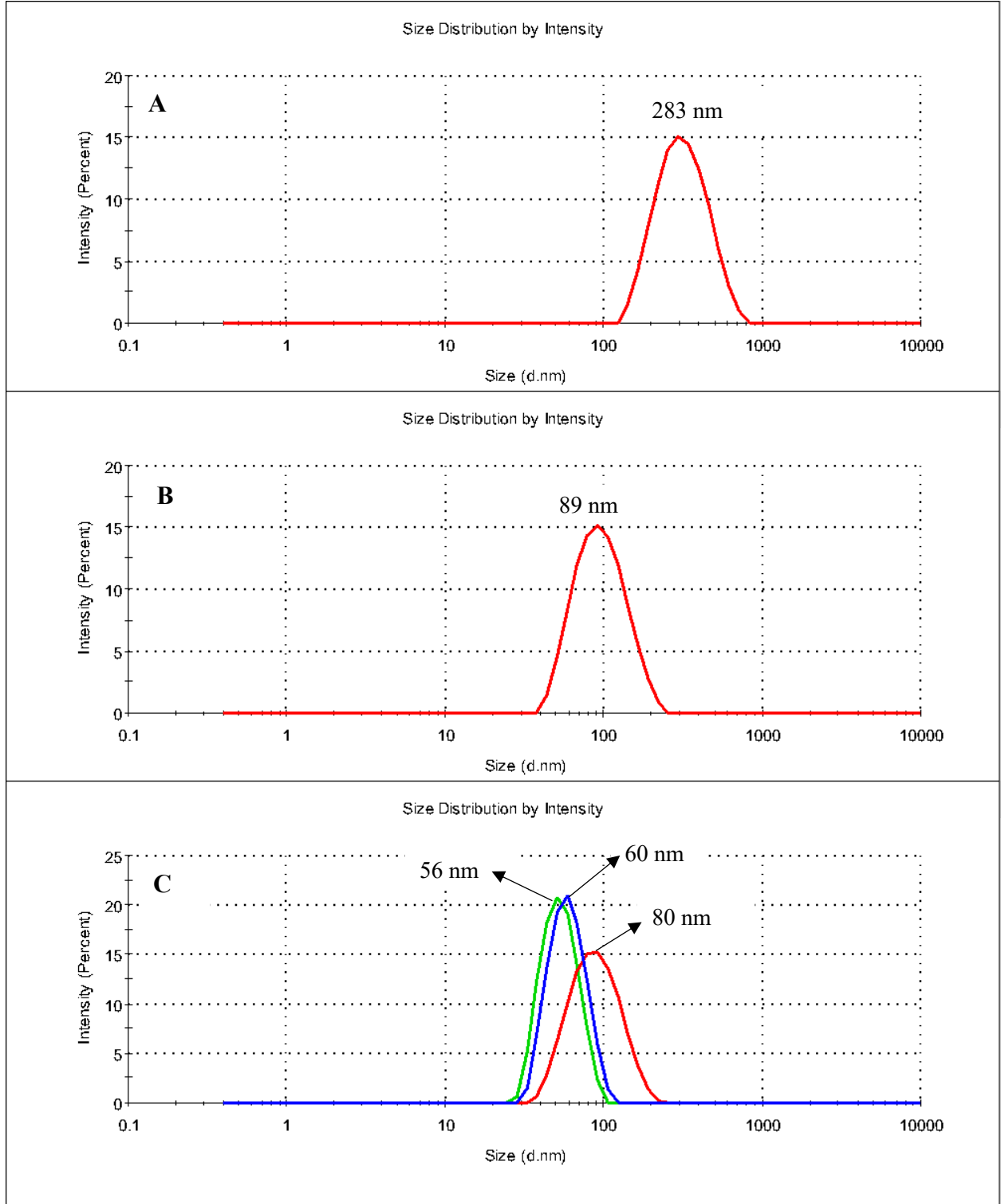
Şekil 6.14. PAA 250.000 g/mol, 1.0 mg/mL, %25 aseton (A); PVP 360.000 g/mol, 1.0 mg/mL, %25 aseton (B); IPC1 (PAA-PVP) 1.0 mg/mL, %25 aseton (kırmızı), IPC NG (PVP-PAA) 1.0 mg/mL, %25 aseton, 5 kGy ışınlanmış (mavi) ve 10 kGy ışınlanmış (yeşil) (C).



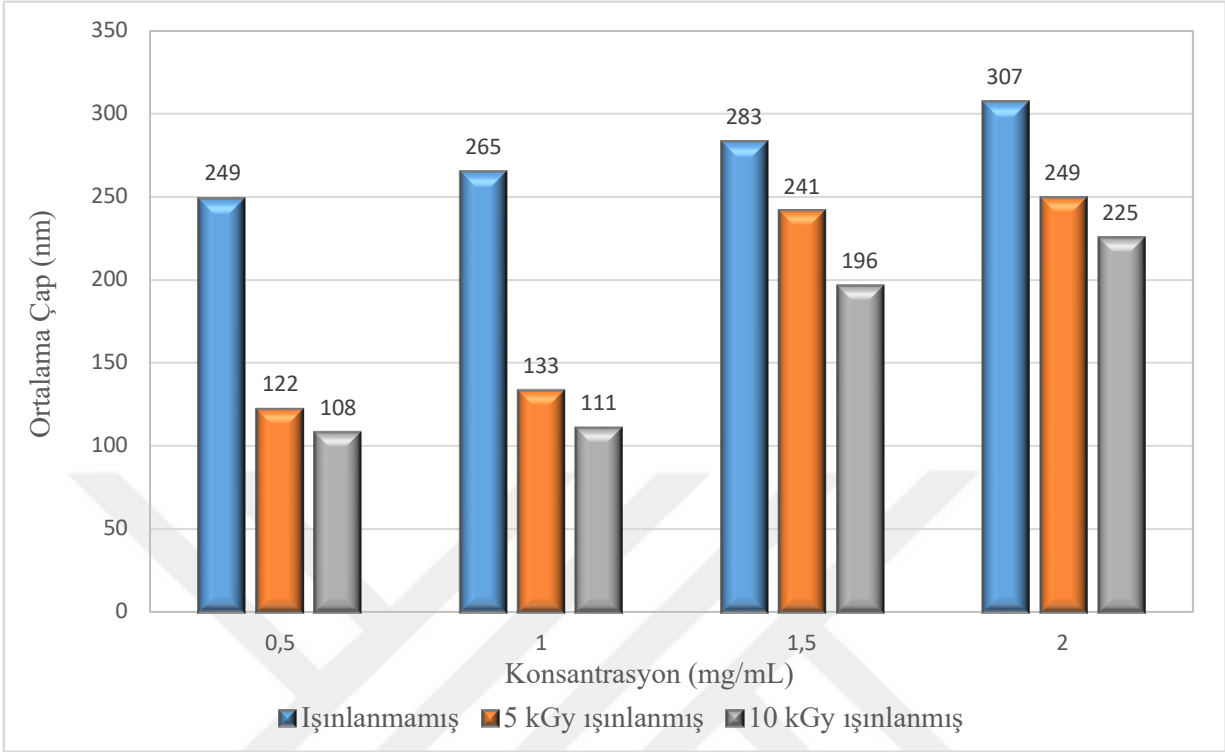
Şekil 6.15. Toplam absorplanan dozun IPC2 nanojellerinin ortalama boyutu üzerindeki etkisi. (PAA 250.000 g/mol ve PVP 1.300.000 g/mol, 0,5, 1,0, 1,5 ve 2,0 mg/mL, %25 aseton/su (v/v)).

Çizelge 5. %25 aseton/su karışımında gama ışınları kullanılarak (0,5, 1,0, 1,5 ve 2 mg/mL) IPC2 çözeltilerinden sentezlenen IPC ve IPC nanojelleri için ortalama boyut, zeta potansiyel, pH ve PDI değerleri. (PAA 250.000 g/mol ve PVP 1.300.000 g/mol).

Gamma	Işınlanmamış				5kGy-ışınlanmış				10kGy-ışınlanmış			
%25 Aseton	pH	Zeta Pot. (mV)	d (nm)	PDI	pH	Zeta Pot. (mV)	d (nm)	PDI	pH	Zeta Pot. (mV)	d (nm)	PDI
0.5 mg/mL	3.77	-16.5	45	0.189	3.77	-16.5	40	0.141	3.77	-16.5	37	0.119
1.0 mg/mL	3.66	-19.1	51	0.181	3.66	-19.1	45	0.131	3.66	-19.1	39	0.125
1.5 mg/mL	3.39	-23.2	62	0.211	3.39	-23.2	55	0.193	3.39	-23.2	43	0.105
2.0 mg/ml	3.27	-29.4	80	0.159	3.27	-29.4	60	0.082	3.27	-29.4	56	0.067



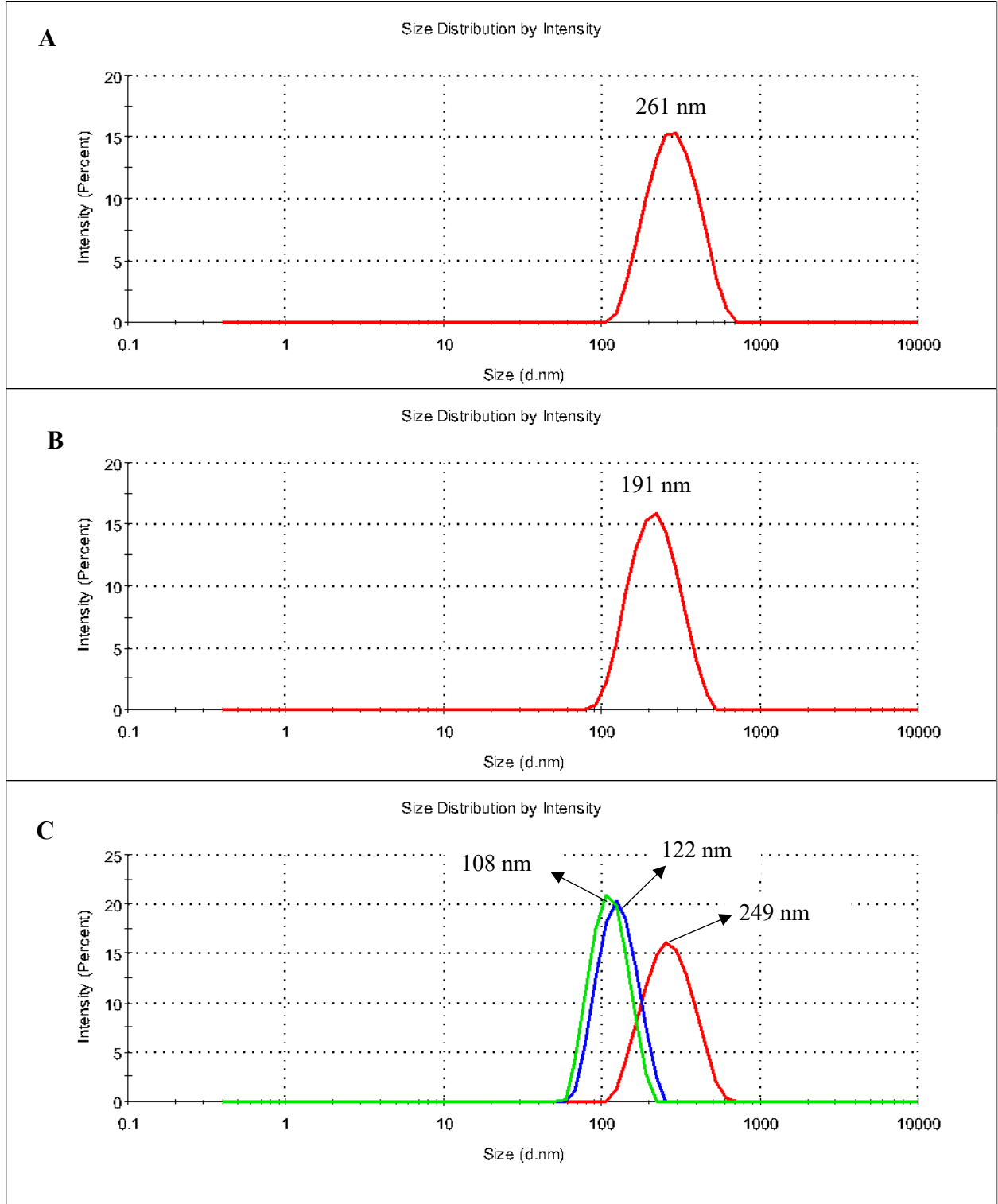
Şekil 6.16. PAA 250.000 g/mol, 2.0 mg/mL, % 25 aseton (A); PVP 1.300.000 g/mol, 2.0 mg/mL, % 25 aseton (B); IPC2 (PAA-PVP) 2.0 mg/mL, % 25 aseton (kırmızı), IPC NG (PAA-PVP) 2.0 mg/mL, % 25 aseton, 5 kGy ışınlanmış (mavi) ve 10 kGy ışınlanmış (yeşil) (C).



Şekil 6.17. Toplam absorplanan dozun IPC3 nanojellerinin ortalama boyutu üzerindeki etkisi. (PAA 8.000 g/mol ve PVP 10.000 g/mol, 0,5, 1,0, 1,5 ve 2,0 mg/mL, %25 aseton/su (v/v)).

Çizelge 6. %25 (v/v) aseton/su karışımında gama ışınları kullanılarak IPC3 çözeltilerinden (0,5, 1,0, 1,5 ve 2 mg/mL) sentezlenen IPC ve IPC nanojelleri için ortalama boyut, zeta potansiyel, pH ve PDI değerleri. (PAA 8.000 g/mol ve PVP 10.000 g/mol).

Gama	Işınlanmamış				5kGy-ışınlanmış				10kGy-ışınlanmış			
%25 Aseton	pH	Zeta Pot. (mV)	d (nm)	PDI	pH	Zeta Pot. (mV)	d (nm)	PDI	pH	Zeta Pot. (mV)	d (nm)	PDI
0.5 mg/mL	3.88	-12.3	249	0.234	3.88	-12.3	122	0.139	3.88	-12.3	108	0.131
1.0 mg/mL	3.65	-17.3	265	0.263	3.65	-17.3	133	0.155	3.65	-17.3	111	0.127
1.5 mg/mL	3.44	-22.1	283	0.232	3.44	-22.1	241	0.175	3.44	-22.1	196	0.133
2.0 mg/mL	3.32	-28.4	307	0.245	3.32	-28.4	249	0.163	3.32	-28.4	225	0.149



Şekil 6.18. PVP 10.000 g/mol, 0.5 mg/mL, % 25 aseton (A); PAA 8.000 g/mol, 0.5 mg/mL, % 25 aseton (B), IPC3 (PAA-PVP) 0.5 mg/mL, % 25 aseton (kırmızı), IPC NG (PAA-PVP) 0.5 mg/mL, % 25 aseton, 5 kGy ışınlanmış (mavi), 10 kGy ışınlanmış (yeşil) (C).

Çizelge 7. %25 (v/v) aseton/su karışımında gama ışınları kullanılarak IPC4 çözeltilerinden (0.5, 1.0, 1.5 ve 2 mg/mL) sentezlenen IPC ve IPC nanojelleri için ortalama boyut, zeta potansiyel, pH ve PDI değerleri (PAA 250.000 g/mol ve PVP 10.000 g/mol).

Gama	Işınlanmamış				5kGy -ışınlanmış				10kGy-ışınlanmış			
%25 Aseton	pH	Zeta Pot. (mV)	d (nm)	PDI	pH	Zeta Pot. (mV)	d (nm)	PDI	pH	Zeta Pot. (mV)	d (nm)	PDI
0.5 mg/mL	3.80	-19.5	118	0.227	3.73	-19.5	99	0.070	3.73	-19.5	87	0.065
1.0 mg/mL	3.57	-23.7	151	0.224	3.57	-23.7	122	0.067	3.57	-23.7	108	0.060
1.5 mg/mL	3.36	-27.2	177	0.196	3.36	-27.2	146	0.055	3.36	-27.2	132	0.048
2.0 mg/ml	3.19	-34.4	215	0.216	3.19	-34.4	177	0.033	3.19	-34.4	165	0.031

Çizelge 8. %25 (v/v) aseton-su karışımında gama ışınları kullanılarak IPC5 çözeltilerinden (0.5, 1.0, 1.5 ve 2 mg/mL) sentezlenen IPC ve IPC nanojelleri için ortalama boyut, zeta potansiyel, pH ve PDI değerleri (PAA 8.000 g/mol ve PVP 360.000 g/mol).

Gama	Işınlanmamış				5kGy-ışınlanmış				10kGy-ışınlanmış			
%25 Aseton	pH	Zeta Pot. (mV)	d (nm)	PDI	pH	Zeta Pot. (mV)	d (nm)	PDI	pH	Zeta Pot. (mV)	d (nm)	PDI
0.5 mg/mL	3.73	-14.4	94	0.212	3.73	-14.4	122	0.113	3.73	-14.4	131	0.113
1.0 mg/mL	3.60	-18	112	0.201	3.60	-18	148	0.103	3.60	-18	154	0.103
1.5 mg/mL	3.42	-20.7	138	0.175	3.42	-20.7	164	0.069	3.42	-20.7	175	0.069
2.0 mg/ml	3.28	-26.4	174	0.134	3.28	-26.4	196	0.086	3.28	-26.4	208	0.086

Çizelge 9. %25 (v/v) aseton/su karışımında gama ışınları kullanılarak IPC6 çözeltilerinden (0.5, 1.0, 1.5 ve 2 mg/mL) sentezlenen IPC ve IPC nanojelleri için ortalama boyut, zeta potansiyel, pH ve PDI değerleri. (PAA 8.000 g/mol ve PVP 1.300.000 g/mol).

Gama	Işınanmamış				5kGy-ışınlanmış				10kGy-ışınlanmış			
%25 Aseton	pH	Zeta Pot. (mV)	d (nm)	PDI	pH	Zeta Pot. (mV)	d (nm)	PDI	pH	Zeta Pot. (mV)	d (nm)	PDI
0.5 mg/mL	3.65	-17.5	71	0.289	3.65	-17.5	97	0.127	3.65	-17.5	105	0.127
1.0 mg/mL	3.51	-19.7	107	0.281	3.51	-19.7	134	0.155	3.51	-19.7	149	0.155
1.5 mg/mL	3.32	-22.2	115	0.211	3.32	-22.2	147	0.092	3.32	-22.2	163	0.092
2.0 mg/ml	3.21	-29.4	148	0.259	3.21	-29.4	180	0.031	3.21	-29.4	197	0.031

Çizelge 10. pH 3.0-4.5 aralığında oluşan PAA-PVP IPC'leri için, ışınlanmadan önce ve ışınlanmadan sonra, ortalama boyut, zeta potansiyel ve PDI değerleri. Kullanılan polimer konsantrasyonu: 1.0 mg/mL, %25 aseton (v/v), PAA 250.000 g/mol ve PVP 360.000 g/mol.

Gama	Işınlanmamış			5kGy-ışınlanmış			10kGy-ışınlanmış		
pH	d (nm)	Zeta Pot. (mV)	PDI	d (nm)	Zeta Pot. (mV)	PDI	d (nm)	Zeta Pot. (mV)	PDI
3.0	158	-7.4	0.289	138	-7.4	0.178	127	-7.4	0.124
3.25	142	-11.2	0.258	129	-11.2	0.193	120	-11.2	0.152
3.50	123	-14.7	0.243	107	-14.7	0.145	101	-14.7	0.123
3.75	89	-17.1	0.211	71	-17.1	0.102	65	-17.1	0.090
4.0	67	-21.9	0.232	61	-21.9	0.113	54	-21.9	0.100
4.25	58	-26.2	0.193	50	-26.2	0.120	46	-26.2	0.099
4.50	51	-28.3	0.221	45	-28.3	0.109	43	-28.3	0.102

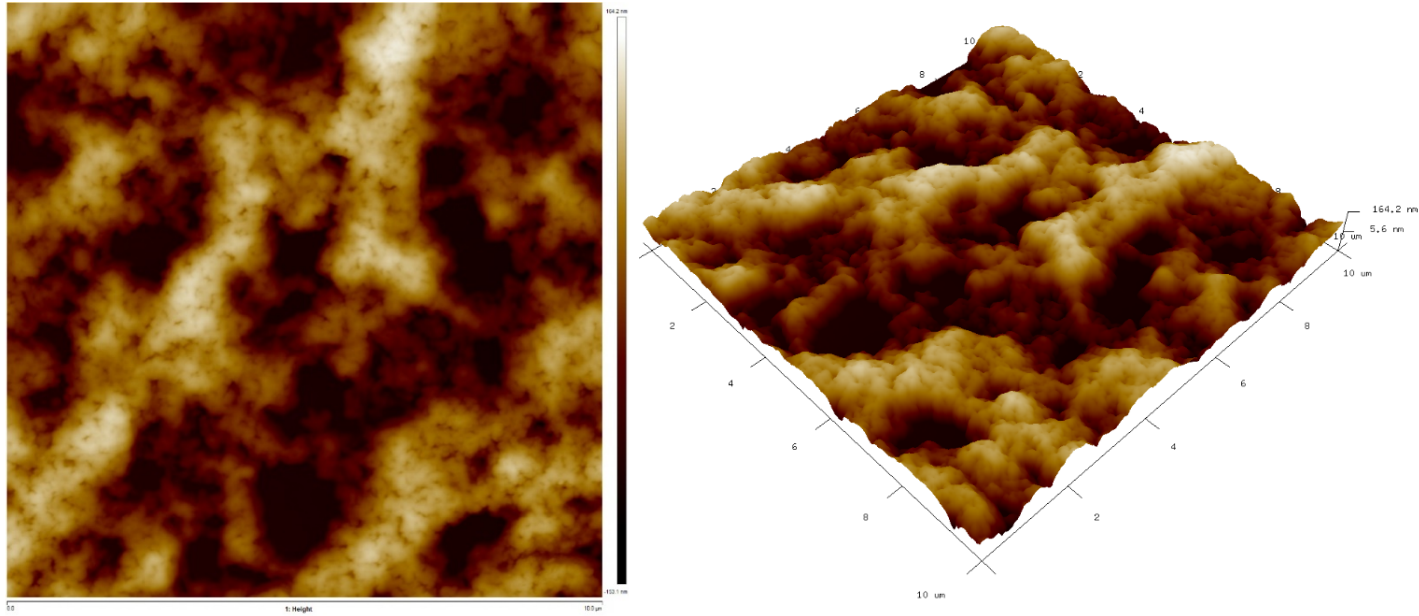
Çizelge 11. Karışım oranı etkisini kullanarak oluşan PAA-PVP IPC'lerinin ışınlanmadan önce ve ışınlanmadan sonra, pH, ortalama boyut, zeta potansiyel ve PDI değerleri. Kullanılan polimer konsantrasyonu: 1.0 mg/mL, %25 aseton (v/v), PAA 250.000 g/mol ve PVP 360.000 g/mol.

Gama	Işınlanmamış				5kGy-ışınlanmış				10kGy-ışınlanmış			
%25 Aseton PAA/PVP (v/v)	pH	Zeta Pot. (mV)	d (nm)	PDI	pH	Zeta Pot. (mV)	d (nm)	PDI	pH	Zeta Pot. (mV)	d (nm)	PDI
(1:1) (PAA:PVP)	3.46	-27.3	73	0.249	3.46	-27.3	64	0.173	3.46	-27.3	57	0.132
(1:2) (PAA:PVP)	3.89	-23.4	87	0.270	3.89	-23.4	73	0.158	3.89	-23.4	65	0.091
(1:3) (PAA:PVP)	4.34	-16.2	99	0.291	4.34	-16.2	85	0.134	4.34	-16.2	71	0.111
(1:4) (PAA:PVP)	4.87	-11.3	116	0.207	4.87	-11.3	102	0.139	4.87	-11.3	93	0.121
(1:5) (PAA:PVP)	5.12	-7.2	127	0.269	5.12	-7.2	111	0.167	5.12	-7.2	98	0.132
(1:2) (PVP:PAA)	4.58	-20.3	103	0.259	4.58	-20.3	94	0.158	4.58	-20.3	82	0.109
(1:3) (PVP:PAA)	4.05	-23.4	115	0.198	4.05	-23.4	105	0.101	4.05	-23.4	89	0.085
(1:4) (PVP:PAA)	3.23	-29.3	143	0.212	3.23	-29.3	132	0.131	3.23	-29.3	118	0.122
(1:5) (PVP:PAA)	3.02	-33.4	157	0.312	3.02	-33.4	134	0.249	3.02	-33.4	127	0.189

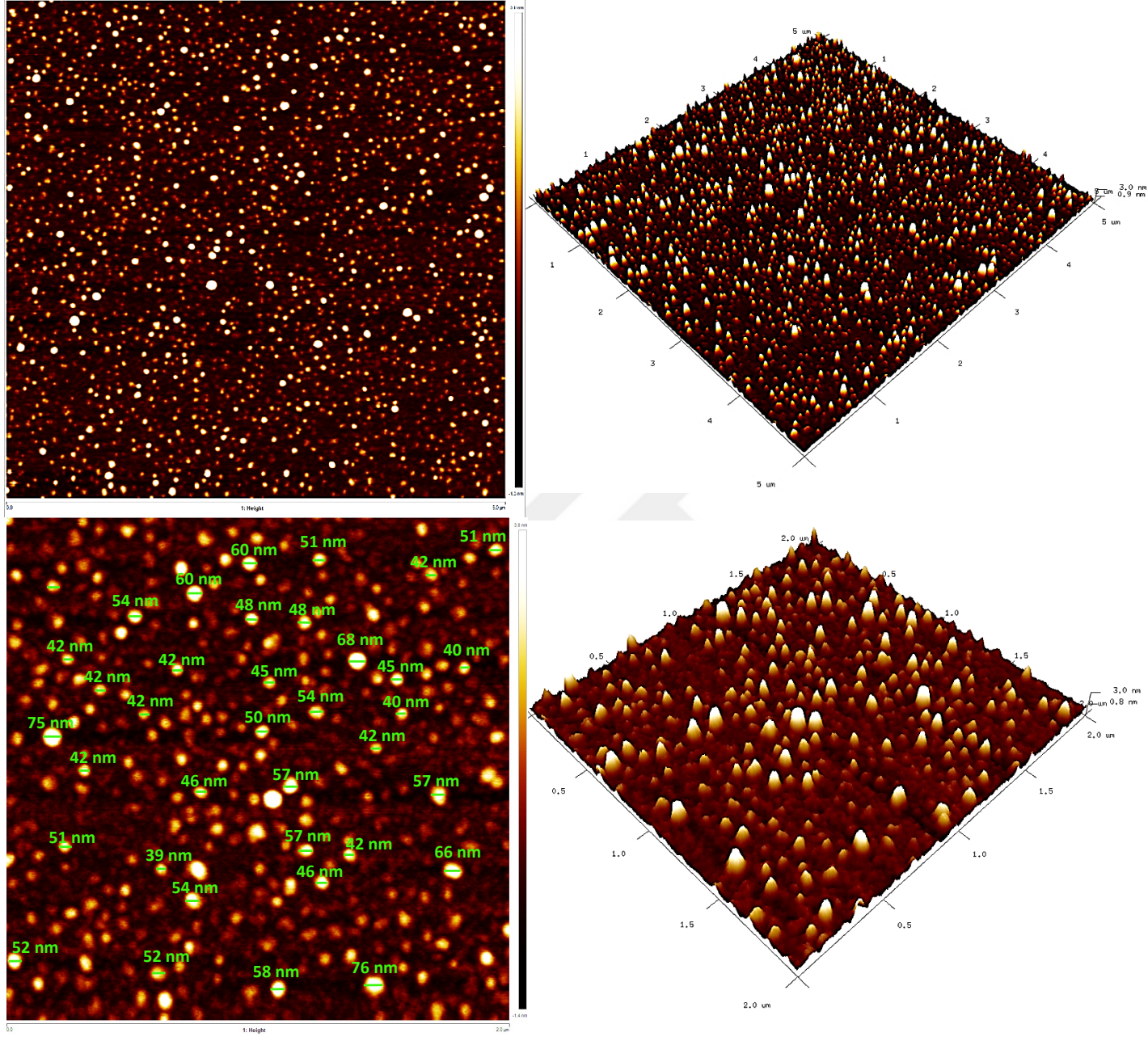
6.1.5.2. PAA-PVP IPC ve IPC nanojellerinin AFM ve SEM Analizleri

AFM analizi

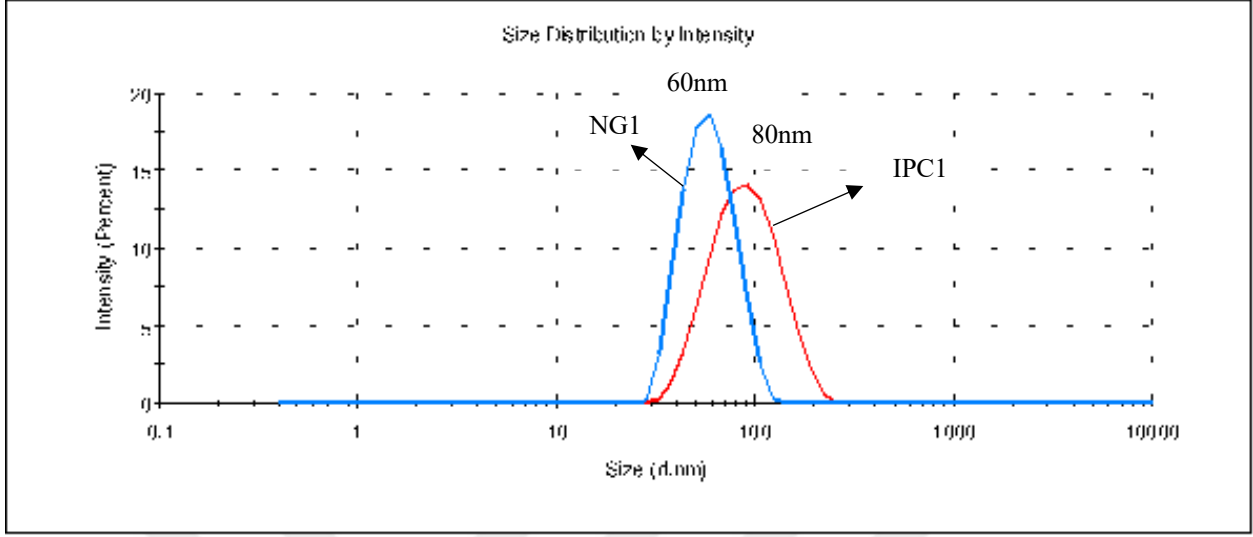
AFM ve SEM, nanojellerin morfolojisini araştırmak için gl araçlardır. IPC ve IPC nanojellerin nano ölçekli yapısı hakkında daha iyi fikir edinmek için, parçacık morfolojileri ve boyutları AFM ve SEM kullanılarak araştırılmıştır. şekil 6.19'da pH 3.27'de hazırlanan PAA-PVP IPC örneğine ait temsili AFM görüntüleri gösterilmiştir. IPC zltisi mika yüzeyine yayılıp kurutulduğuunda, ortaya çıkan düzensiz şekiller, şekil 6.19'da görülmektedir. Buna karşılık, şekil 6.20'de 5 m görüntüde nanojeller yoğun bir şekilde olmalarına rağmen agrege olmadan, çok homojen ve küresel şekilde görüntüler sergilemişlerdir. 5 ve 2 m görüntülerinde gösterilen mika yüzeyi üzerinde homojen küreler olarak biriktirilmifş PAA-PVP IPC nanojeller, IPC'lerden tamamen farklı davranış göstermiştir. DLS sonuçlarından şişmiş hali 60 nm olan PAA-PVP IPC nanojellerinin kuru hali AFM'den 45 nm olarak ölçülmüştür. 2 m görüntüde IPC nanojeller, düz mika yüzeyinde ortalama 45 nm çapında küresel beyaz lekeler olarak ayırt edilebilir. DLS ve AFM sonuçları arasındaki karşılaştırmadaki boyut farkı şişmiş ve kurumuş yapıardan kaynaklanmaktadır (DLS ile tespit edilen ortalama nanojel boyutu (şekil 6.21) 60 nm iken, AFM'de kurutulmuş halde ortalama boyut 45 nm'dir).



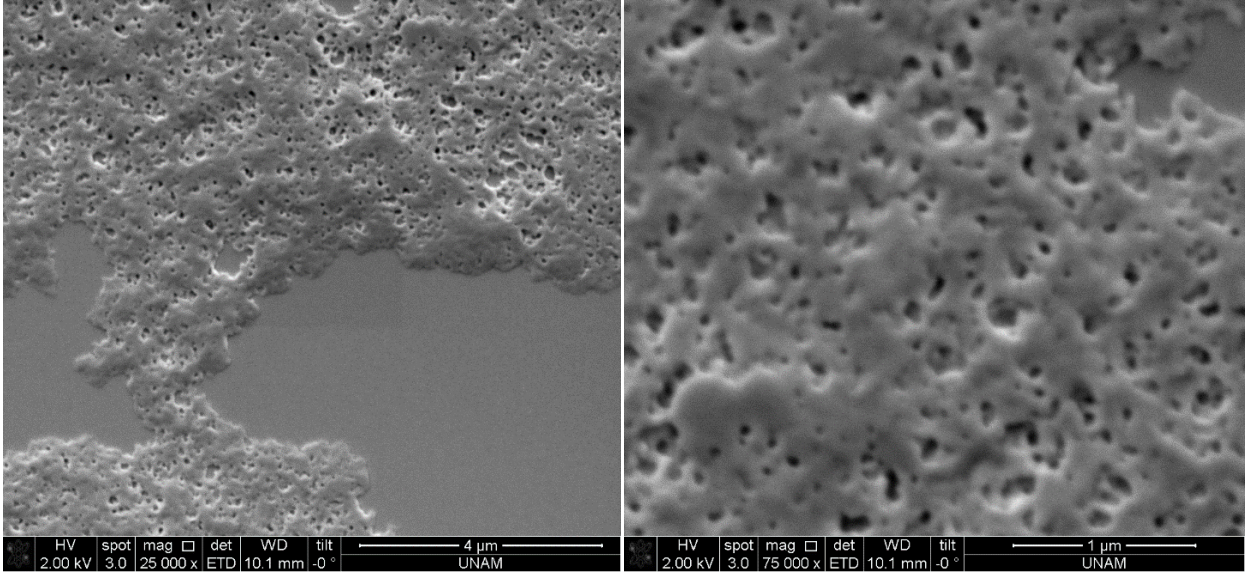
şekil 6.19. PAA-PVP IPC'nin 2 ve 3 boyutlu AFM görüntüleri (PAA 250.000 g/mol, PVP 1.300.000 g/mol, 2.0 mg/mL, %25 aseton ve pH=3.27).



Şekil 6.20. 5 kGy ışınlanmış PAA-PVP IPC nanojellerinin iki farklı büyütmeye 5 ve 2 μm boyutlu AFM görüntüleri (PAA 250.000 g/mol, PVP 1.300.000 g/mol, 2.0 mg/mL, % 25 aseton ve pH=3.27).

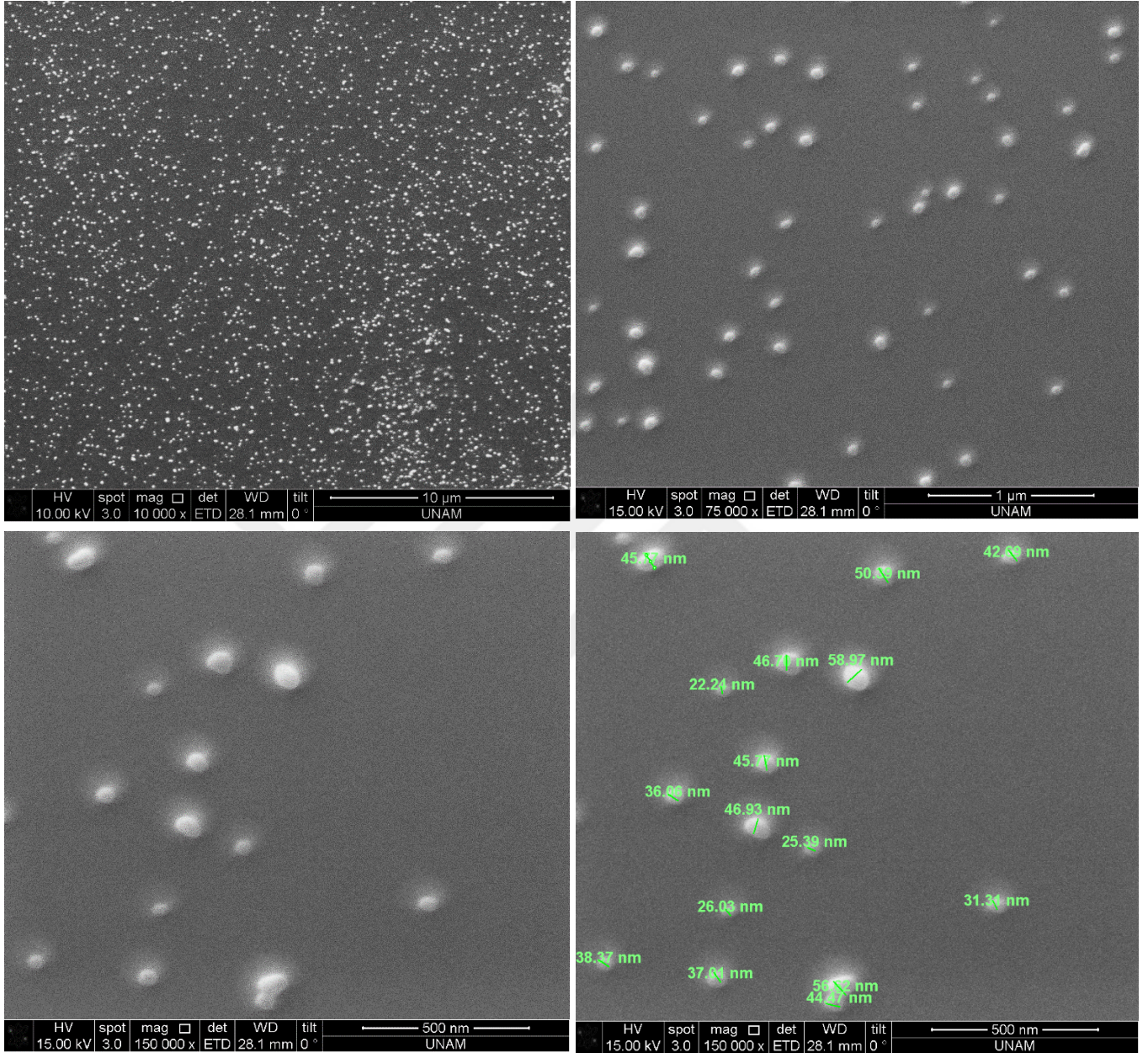


Şekil 6.21. 2.0 mg/mL derişimde ve %25 asetonda hazırlanmış, ışınlanmamış (kırmızı) ve 5 kGy ışınlanmış (mavi) PAA-PVP IPC'lerinin DLS boyut dağılımları. (PAA 250.000 g/mol, PVP 1.300.000 g/mol, 2.0 mg/mL, % 25 aseton ve pH=3.27).



Şekil 6.22. 2.0 mg/mL derişimde ve %25 asetonda hazırlanmış PAA-PVP IPC'nin SEM görüntüleri (PAA 250.000 g/mol, PVP 1.300.000 g/mol).

DLS ve AFM tekniklerine ek olarak PAA-PVP IPC ve IPC nanojellerinin karakterizasyonu için taramalı elektron mikroskopisi tekniği (SEM) de kullanılmıştır. IPC'ler aynı AFM'de görüldüğü gibi düzensiz bir yığın görüntüsü sergilemişlerdir (Şekil 6.22). Öte yandan, Şekil 6.23'te sunulan düşük büyütme değerindeki geniş görünüm (10,000 x), IPC nanojellerinin boyut olarak homojen olduklarını ve agrege olmadıklarını göstermektedir. Küresel nanojeller Şekil 6.23'te 75.000x büyütme oranında daha net bir şekilde gözlemlenebilir. SEM analizlerinden, PAA-PVP IPC nanojellerinin ortalama boyutu, DLS ve AFM ölçümleriyle de iyi bir uyum içinde olan 40 nm olarak hesaplanmıştır. SEM ölçümünde gözlenen daha küçük boyutlar, deney boyunca vakumda su kaybından ve nanojellerin büzülmesinden kaynaklanmaktadır.



Şekil 6.23. 5 kGy ışınlanmış PAA-PVP IPC nanojelinin SEM görüntüleri (PAA 250.000 g/mol, PVP 1.300.000 g/mol, 2.0 mg/mL, % 25 aseton ve pH=3.27).

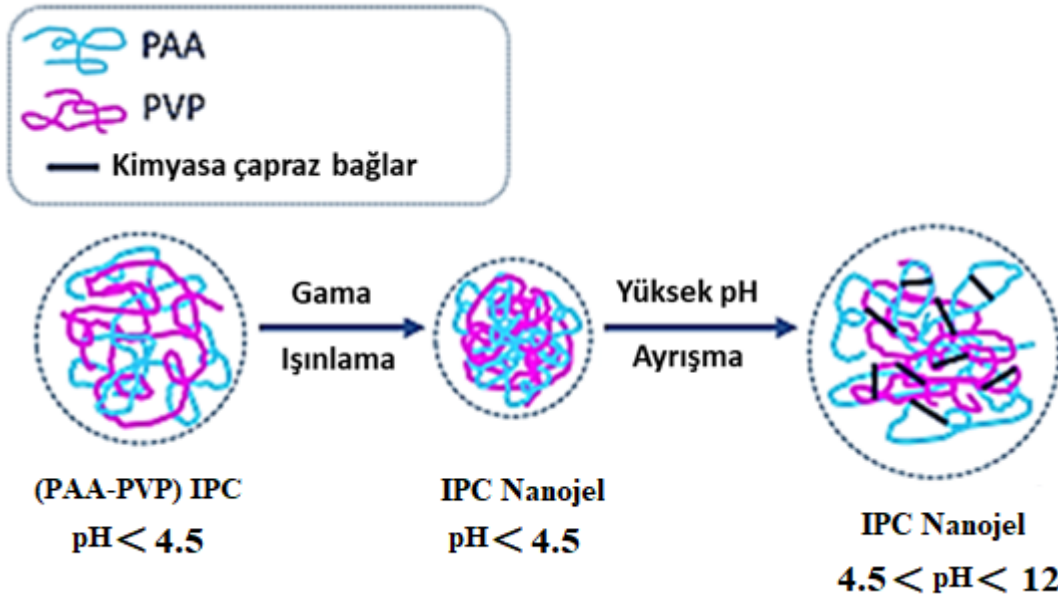
6.1.6. PAA-PVP Nanojellerinin şişmesini etkileyen faktörler

Akıllı malzemeler, pH, sıcaklık, iyonik kuvvet, ışık gibi dış uyaranlara yanıt verme özellikleri nedeniyle büyük ilgi görmüşlerdir [199]. pH'a, sıcaklık ve iyonik kuvvete duyarlı nanojeller umut verici akıllı malzemeler olarak kabul edilir ve özellikle sensör çalışmaları veya ilaç ya da gen benzeri ajanların kontrollü salımı [200] gibi alanlarda kullanılmaktadırlar. Genel olarak, bu nanojeller zayıf polielektrolitten oluşurlar. Suda zayıf polielektrolit zincirlerin konfigürasyonu, dış pH, sıcaklık ve iyonik kuvvet gibi değerleri tarafından açılacak veya daraltılacak şekilde belirlendiğinden, zayıf polielektrolit nanojelin boyutu, uyaranlara tepki sinyali olarak kabul edilebilecek farklı pH'da genişleyecek veya küçülecektir. Bu çalışmada IPC nanojellerinin pH, sıcaklık ve iyonik kuvvet duyarlılığı detaylı olarak incelenmiştir.

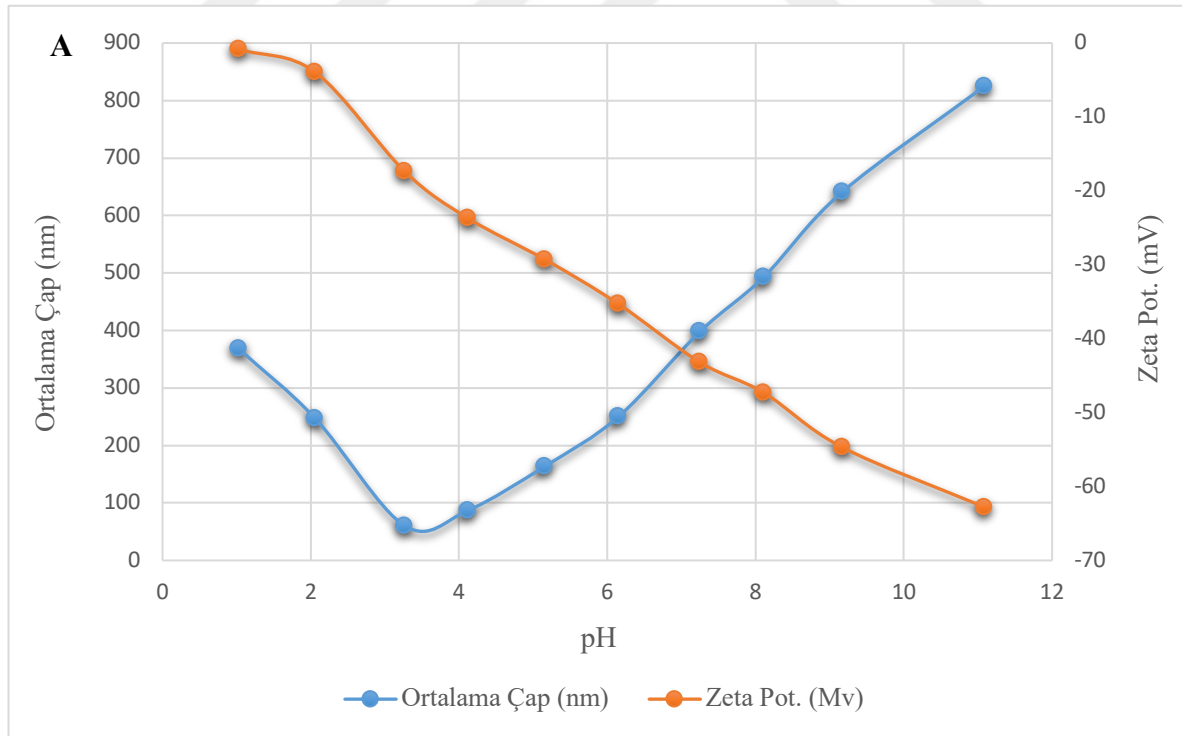
6.1.6.1. PAA-PVP IPC ve IPC Nanojellerine pH'ın Etkisi

Yukarıdaki kısımlarda IPC oluşumuna pH'nın etkisi detaylı olarak incelenmiştir, bu kısımda pH'nın IPC ve IPC nanojellerin davranışı üzerinde nasıl bir etki gösterdiği incelenecektir. Nanojellerin boyut ve yüzey yükünün kararlılığı ilaç salım uygulamaları için çok önemli olduğundan, pH değerinin IPC nanojellerinin boyutu ve yüzey yükü üzerindeki etkisi DLS tekniği ile araştırılmıştır. PAA-PVP IPC yapısında, PVP iyonik olmayan bir polimerdir ve IPC ve IPC nanojellerinin boyutunun pH bağımlılığı yalnızca pH'nın bir fonksiyonu olarak PAA'nın ayrışmasından kaynaklanır. Ortamın pH değeri PAA'nın pKa değerinden büyük olduğu zaman ($pH_{ort} > pKa$), PAA zincirleri üzerindeki karboksilik asit (COOH) grupları ayrışmaya başlar (PAA'nın pKa değeri 4.5'dir). pH arttıkça karboksilik gruplar daha fazla ayrışmaya uğrar ve bu da disosiyasyon olan AA gruplarının zincirler üzerinde giderek daha fazla miktarda negatif yük (COO^-) oluşturmaya yol açar. Şekil 6.25'te gösterildiği gibi itici kuvvetler nedeniyle bu durum, IPC yapısının açılmasına sebep olur. IPC yapısında PAA'nın tamamen ayrışması, pH = 11.09'un güçlü bazik koşulunda gözlenmiştir. Bu şekilde gösterilen parçalanmış IPC'nin iki ana DLS eğrisi, doğrudan PAA ve PVP'nin orijinal bireysel eğrilerine karşılık gelir. Buna karşılık, 5 kGy'de γ ışınlamasından elde edilen çapraz bağlı bir ürün olarak IPC nanojel, boyut ve yüzey yükünde mükemmel kararlılık göstermiştir. Şekil 6.27'de, herhangi bir parçalanma göstermeyen, tek modlu dağılımlarını daha yüksek pH'larda koruyan nanojellerin DLS eğrileri gösterilmektedir. IPC'lerin ve nanojellerin boyut ve zeta potansiyelindeki değişiklikler 1 ile 11

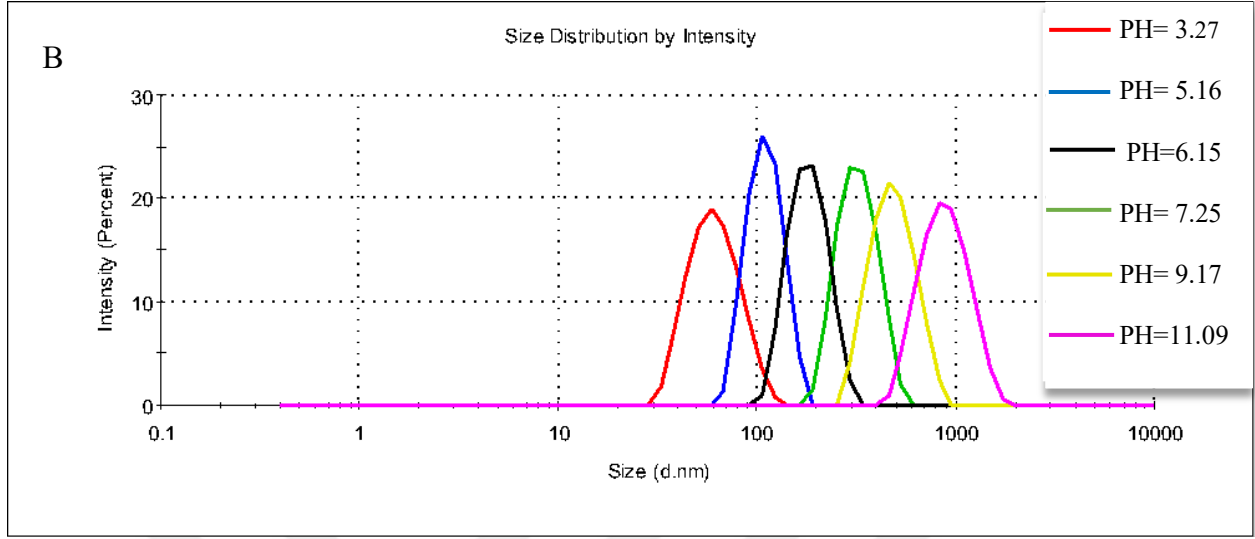
arasında değişen bir pH aralığında izlendi ve sonuçlar Şekil 6.25 ve 27'de gösterildi. IPC'nin davranışını sadece pH=4.54 olana kadar araştırmak mümkün oldu; bu pH değerinin üzerinde kompleksin gevşek yapısı, PAA kısımlarında negatif yük birikmesi nedeniyle güçlü itici kuvvetler tarafından bozulmaya başlandı. Şekil 6.27'de, IPC boyutunun en düşük pH'ta en yüksek olduğunu (bu da düşük pH'larda IPC'lerin topaklanması ile sonuçlanmaktadır) ve artan pH ile azaldığını göstermektedir. Komplekslerin zeta potansiyeli, pH=1.03 de -1.05 mV'a yani sifıra yakın bir değere düşmüştür. IPC'lerin ve IPC nanojellerinin boyut ve yük davranışları, 1 ila 4 pH aralığında karşılaştırılırsa, bunların tam olarak aynı şekilde davrandıklarını görebiliriz. Bununla birlikte, daha yüksek pH değerlerinde IPC'lerin yapısından PAA ve PVP'nin ayrılması nedeniyle, her iki özellik de güvenilir bir şekilde ölçülemedi. Nanojellerin davranışı, pH 1.03-11.09 aralığında incelendiğinde boyutta sürekli bir artış gözlenmiştir ve pH=11.09 'da yüzey yükü -62 mV'a kadar monoton bir artış (negatif yönde) sergilemiştir. IPC nanojellerinin boyutunun pH bağımlılığı PAA zincirlerinin ayrışma derecesi ile kontrol edilir. Daha yüksek pH'larda ayrışma ne kadar yüksek olursa, karboksilat iyonlarının zincirler üzerindeki elektrostatik itmesinden dolayı boyutları o kadar büyük olacaktır. Daha yüksek pH değerlerinde bile, IPC nanojellerinin farklı sayısal değerlere rağmen şekil ve boyut kararlılığı göstermesi dikkat çekicidir. Burada ayrıca, kararlı parçacıkların zeta potansiyellerinin -30 ve +30 mV arasında gözleendiğini belirtmek önemlidir. Bu çalışmada sentezlenen PAA-PVP nanojelleri için nötr pH değerleri etrafında negatif 30 mV kolayca elde edilebilir. Bu sonuçlara dayanarak, PAA-PVP'nin IPC nanojellerinin nispeten geniş bir pH aralığında biyomedikal uygulamalarda nano taşıyıcılar olarak güvenle kullanılabilmesini bekleyebiliriz.



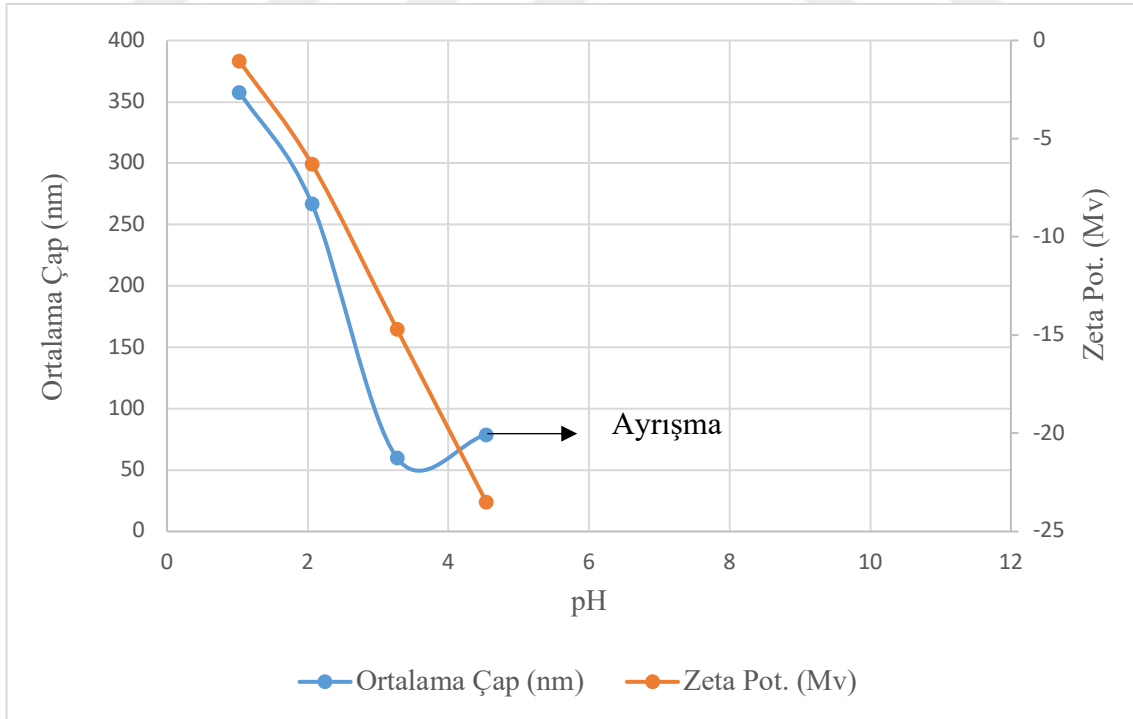
Şekil 6.24. PAA-PVP IPC nanojelinin pH'a bağlı oluşumu ve davranışı için önerilen şema.



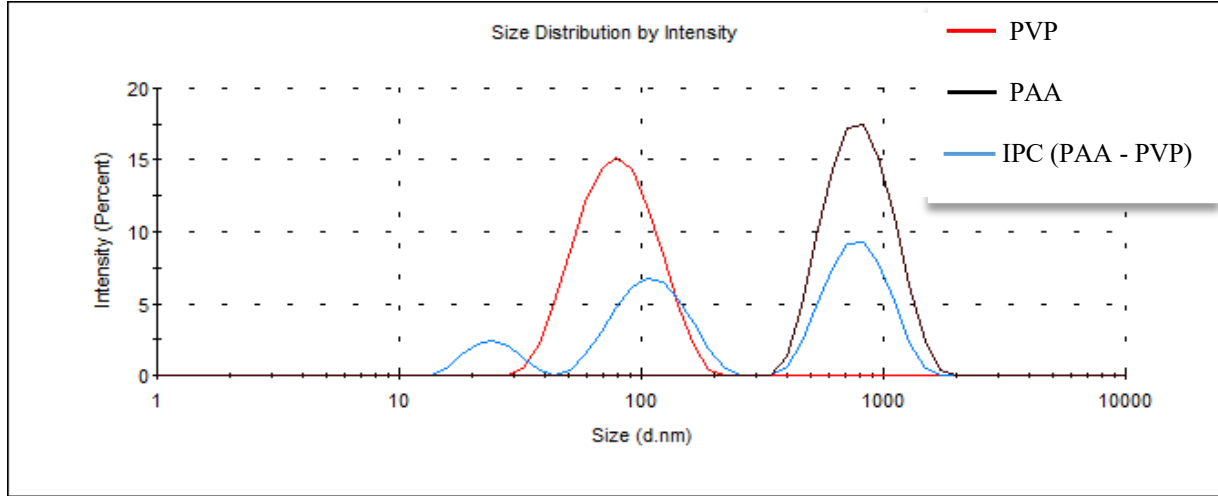
Şekil 6. 25. PAA-PVP IPC nanojellerinin farklı pH'larda ortalama boyut ve zeta potansiyel değerleri (25 °C'de 24 saat boyunca bekletilmiştir).



Şekil 6.26. %25 (v/v) aseton/su sisteminde 5 kGy ışınlama ile elde edilen PAA-PVP IPC nanojellerinin farklı pH'larda DLS eğrileri. (PAA 250.000 g/mol, PVP 1.300.000 g/mol, 2.0 mg/mL, % 25 aseton ve pH=3.27).



Şekil 6.27. PAA-PVP IPC'lerinin farklı pH'larda ortalama boyut ve zeta potansiyel değerleri (25°C'de 24 saat boyunca bekletilmiştir).

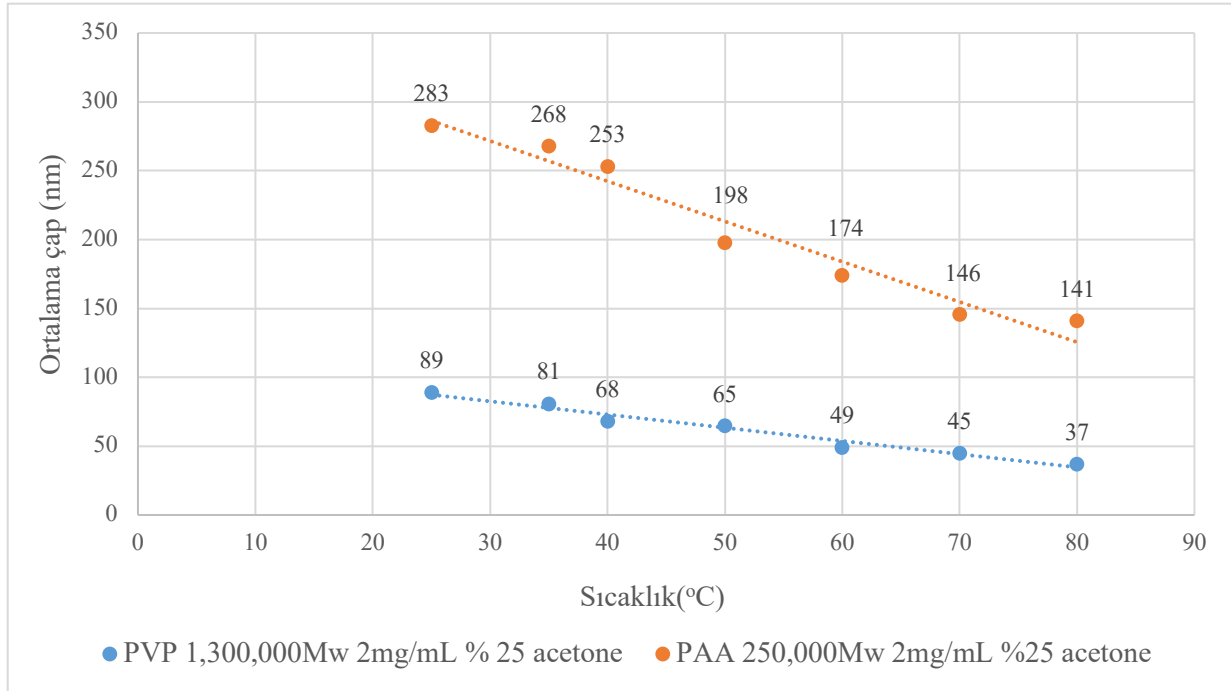


Şekil 6.28. PAA-PVP IPC'nin pH=11.09'da (mavi) DLS davranışı, ayrılmış PAA ve PVP bileşenlerine bağlı olarak çift tepe noktalarını gösterir. Kırmızı ve siyah pikler sırasıyla saf PVP ve PAA'nın DLS eğrileridir.

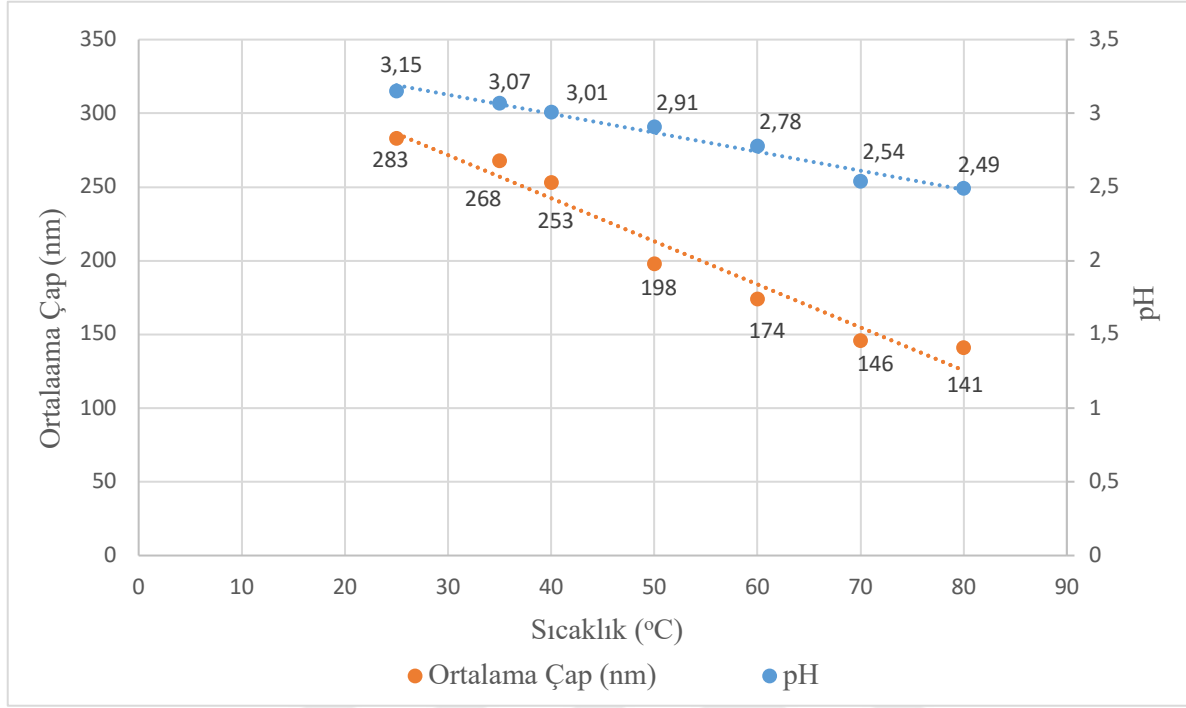
6.1.6.2. Sıcaklığın PAA-PVP IPC ve IPC Nanojellerine Etkisi

Radyasyona bağlı çapraz bağlama işlemi ile IPC'ler içinde moleküller arası kovalent bağ oluşumunun doğrulanması amacıyla PAA-PVP IPC nanojellerinin kararlılığı, nispeten yüksek sıcaklıklarda çalışılarak DLS ile kontrol edildi. Bu amaçla hem IPC hem de IPC nanojel çözeltileri 80 °C'ye ısıtıldı ve boyut ölçümleri yapıldı. IPC çözeltisi 80 °C'ye ısıtıldığında IPC'nin boyutunun 25 °C'de 80 nm'den, 43 nm'ye düştüğü gözlemlendi (Şekil 6.33). Diğer taraftan, 80 °C'deki IPC çözeltisi dengeye ulaştıktan sonra 25 °C'ye getirildiğinde, değişen zincir konfigürasyonları nedeniyle boyutun 132 nm'ye yükseldiği gözlemlenmiştir. IPC nanojelleri ise, 80 °C'ye ısıtıldıktan sonra yumak boyutunda büzülme göstermiş ve boyutları 31 nm'ye düşmüştür (Şekil 6.33). Hem IPC hem de IPC nanojellerinin yumak boyutundaki azalma büyük olasılıkla PAA ve PVP'nin termo-tepkisel davranışından kaynaklanmaktadır. Diğer taraftan asetonun varlığı sıcaklık arttıkça polimer yumaklarının daha fazla büzülmesine yardım edecektir çünkü asetonun suyun üç boyutlu yapısını bozduğu bilinmektedir, bu nedenle H-bağı ile bağlanmış polimer yumaklarını bozarak boyutlarında küçülmeye neden olur. Aseton varlığı aslında polimer-polimer etkileşimlerini artırmaktadır. Bu nanojellerin oda sıcaklığının üstünde büzülmesi, ilaç yüklü nanojellerin ısıtma-soğutma döngüleri ile ilaçların pulsatif dağıtımında

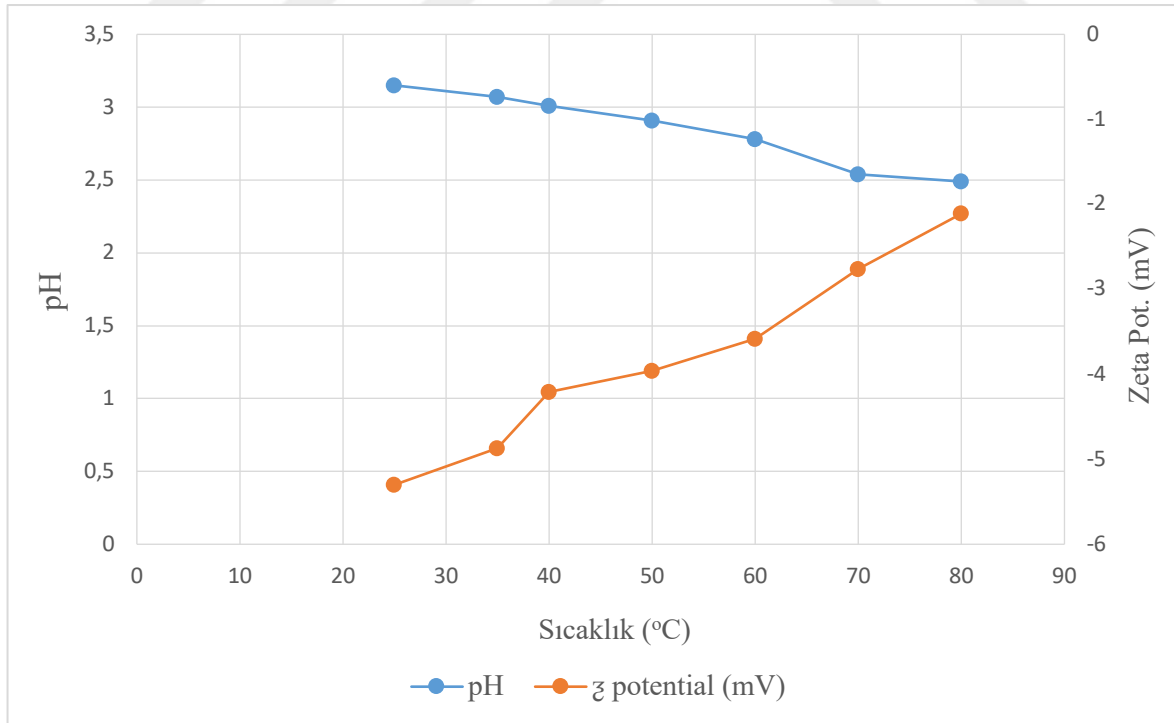
kullanılabilir. Oda sıcaklığına kadar soğutulduktan sonra nanojel, IPC durumunda olduğu gibi 25 ile 80 °C arasında tam sıcaklık geri döndürülebilirliği ile 61 nm orijinal boyutunu korur. Bu, IPC yumağı içinde radyasyona bağlı çapraz bağlamanın bir sonucu olarak kalıcı kovalent bağın kurulmasını teyit eder. Bu nedenle, PAA-PVP IPC'lerinden kararlı IPC nanojelinin hazırlanmasının, oda sıcaklığında 5 kGy'lik nispeten düşük bir dozda ışınlama ile elde edildiği sonucuna varılabilir.



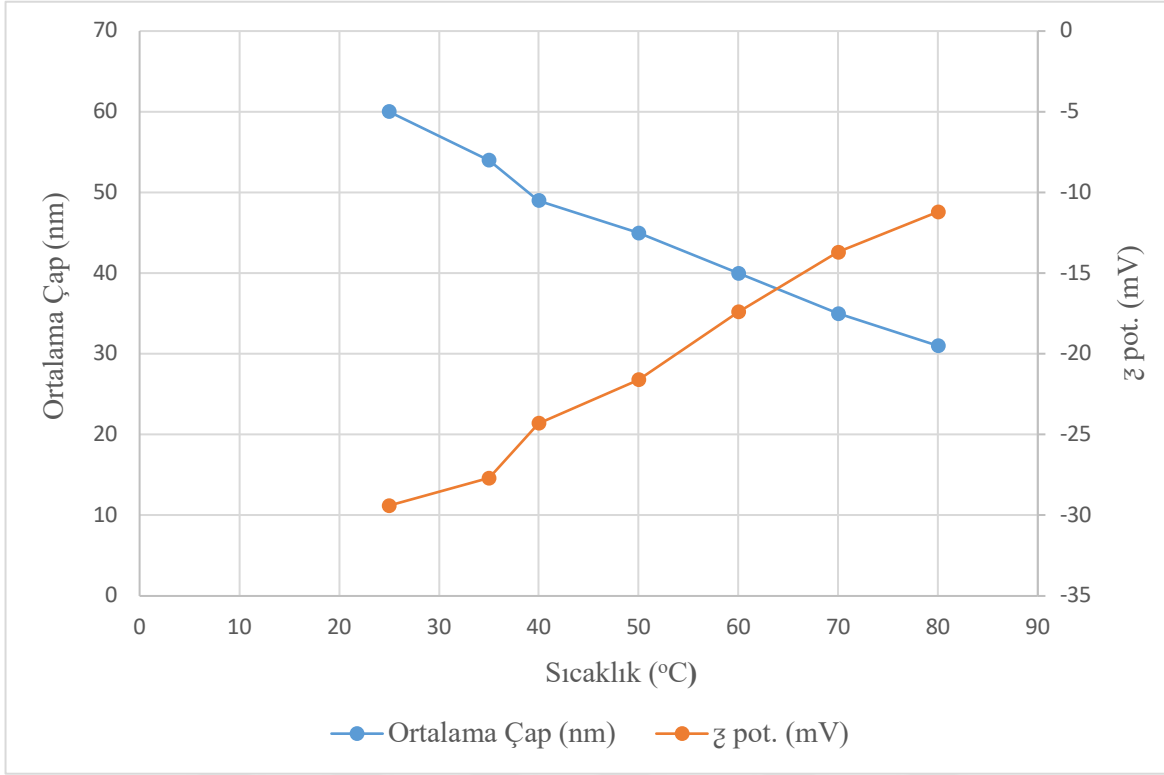
Şekil 6.29. PAA ve PVP'nin farklı sıcaklıklarda ortalama yumak çapı değerleri.



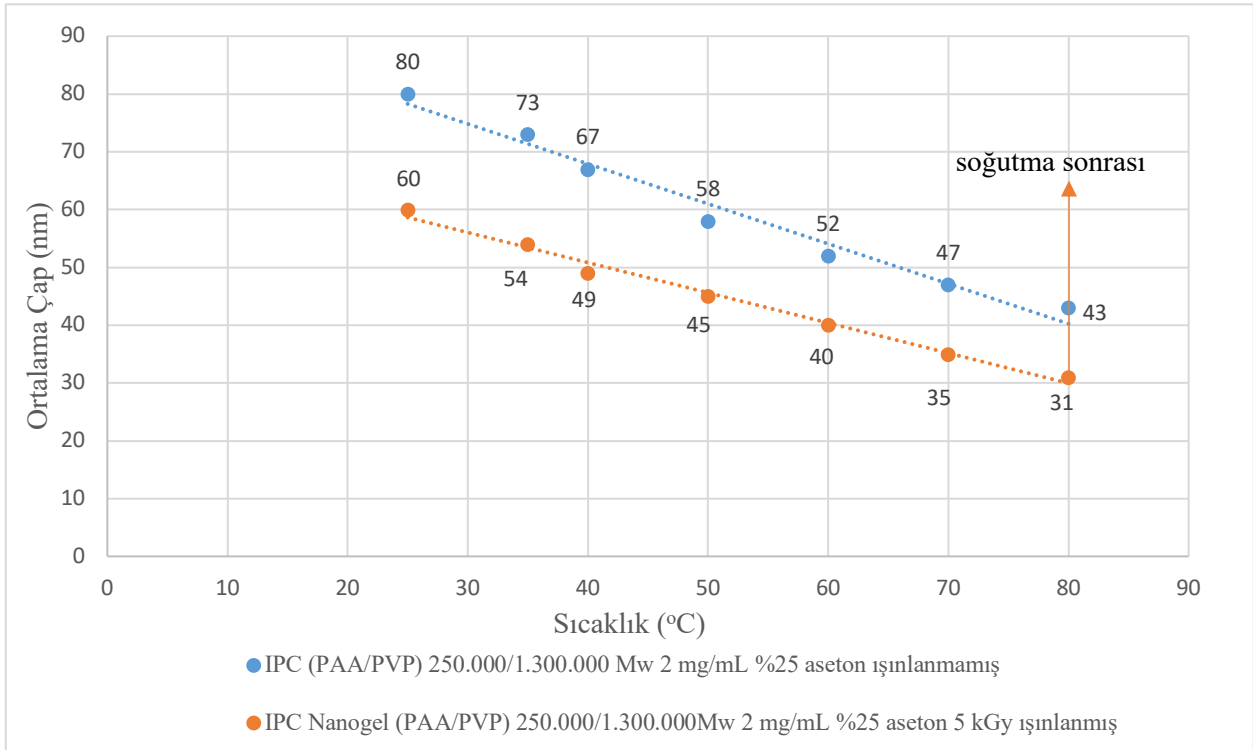
Şekil 6.30. PAA'nın farklı sıcaklık değerlerinde ortalama boyut ve pH'ı (250.000 g/mol, 2.0 mg/mL, %25 aseton)



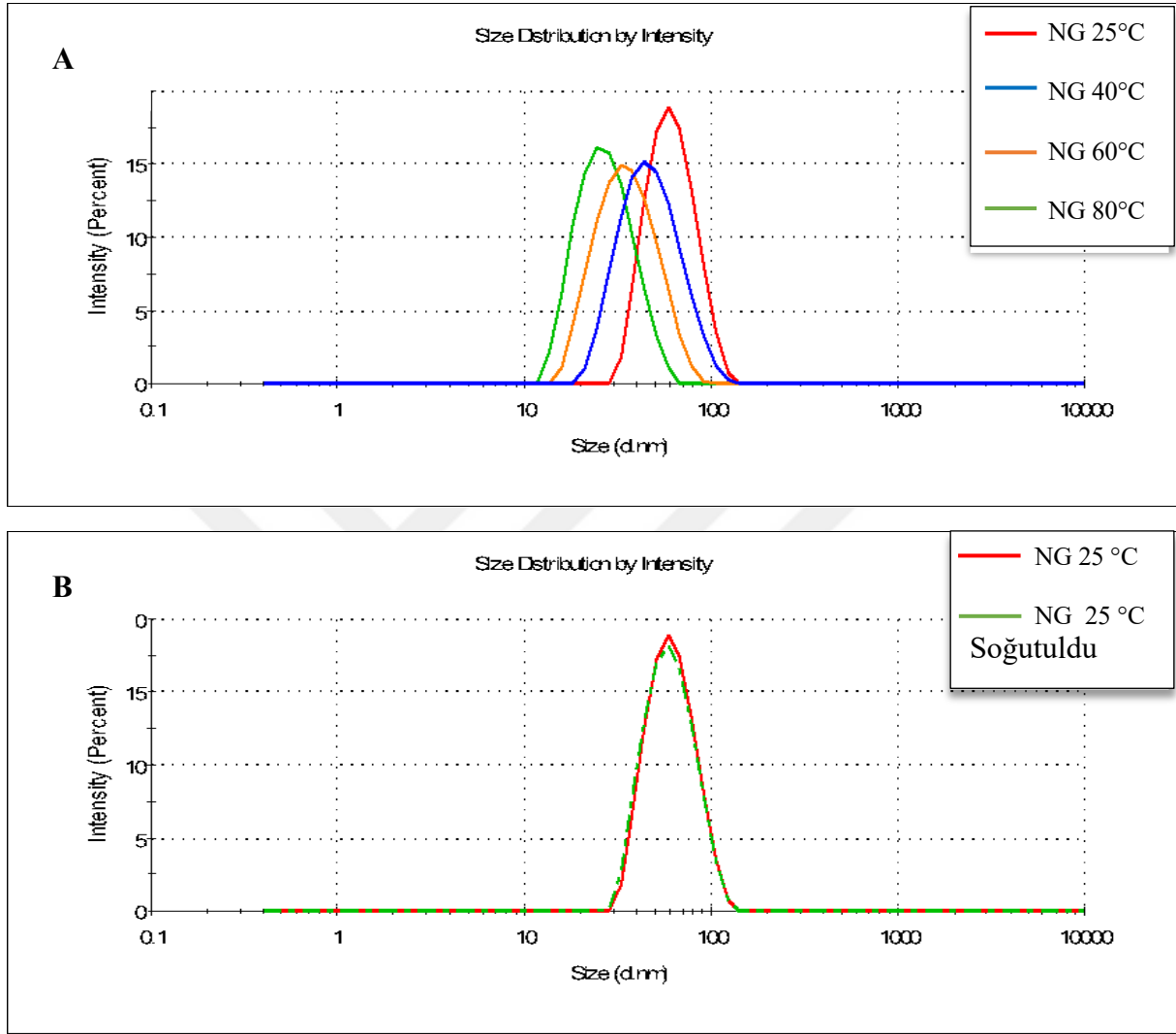
Şekil 6.31. Farklı sıcaklık değerlerinde PAA'nın pH ve zeta potansiyeli (250.000 g/mol, 2.0 mg/mL, %25 aseton).



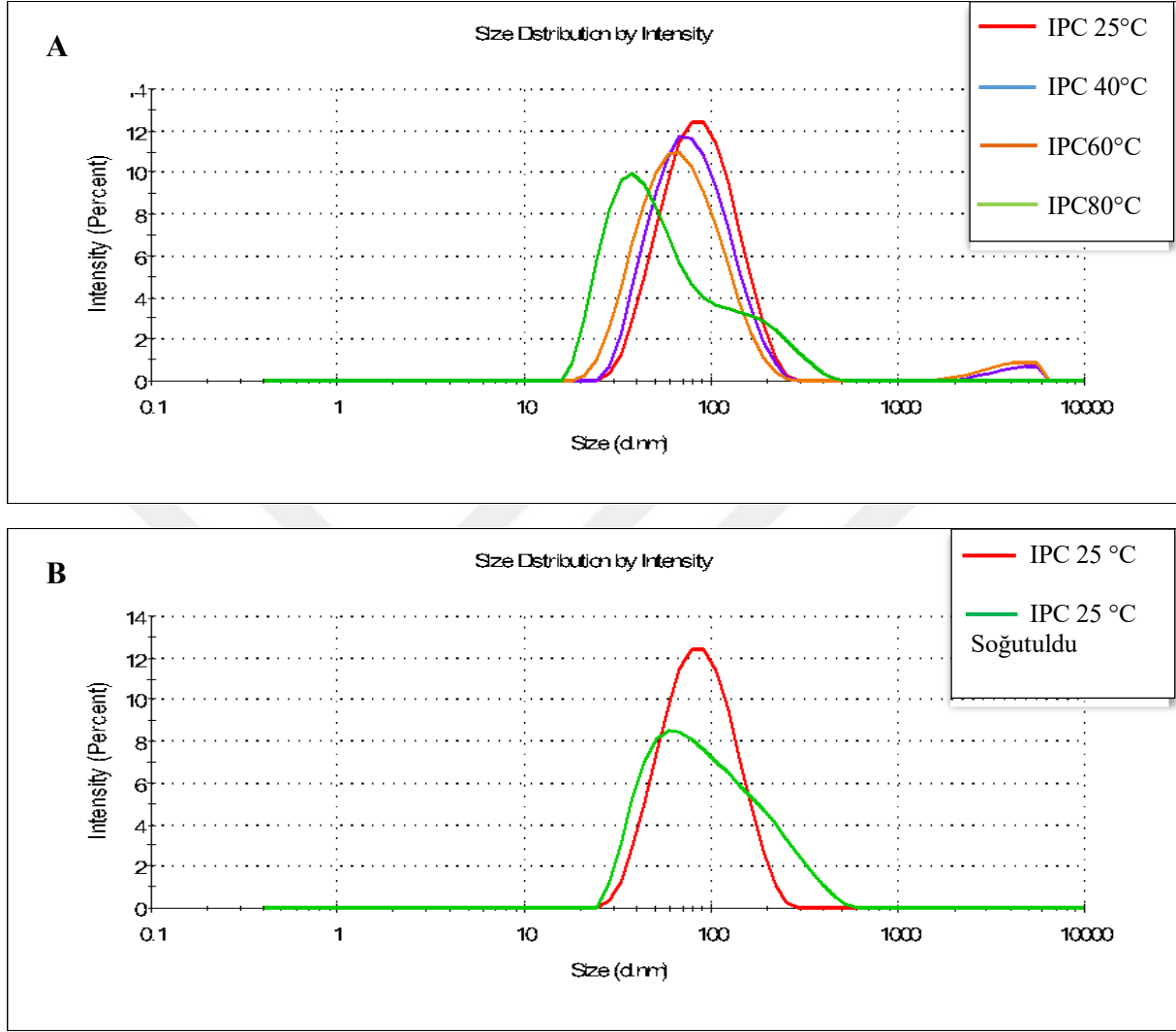
Şekil 6.32. PAA-PVP IPC nanojelinin farklı sıcaklıklarda ortalama boyut ve zeta potansiyel değerleri



Şekil 6.33. IPC ve IPC nanojelinin hidrodinamik çaplarının sıcaklığa bağımlılığı.



Şekil 6.34. %25 (v/v) aseton/su ortamında 5 kGy γ -ışınlaması ile elde edilen PAA-PVP IPC nanojelinin boyut dağılımı üzerine sıcaklığın etkisi (B) PAA-PVP IPC nanojelinin 25 °C’de ve 80 °C’den 25 °C’ye soğutulduktan sonraki dağılım eğrileri.

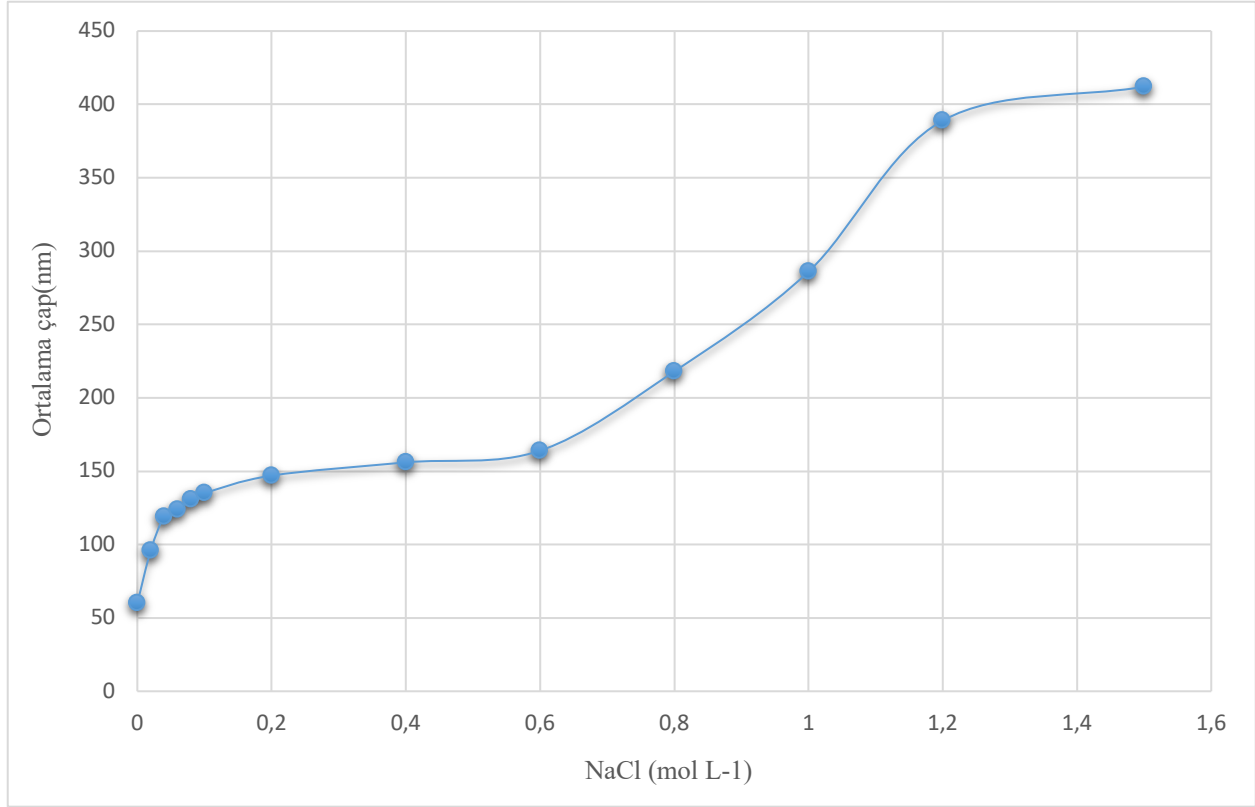


Şekil 6.35. %25 (v/v) aseton/su oranında hazırlanan PAA-PVP IPC'nin boyut dağılımı üzerine sıcaklığın etkisi (B) PAA-PVP IPC'si 25 °C'de ve 80 °C'den 25 °C'ye soğutulduktan sonraki davranışı.

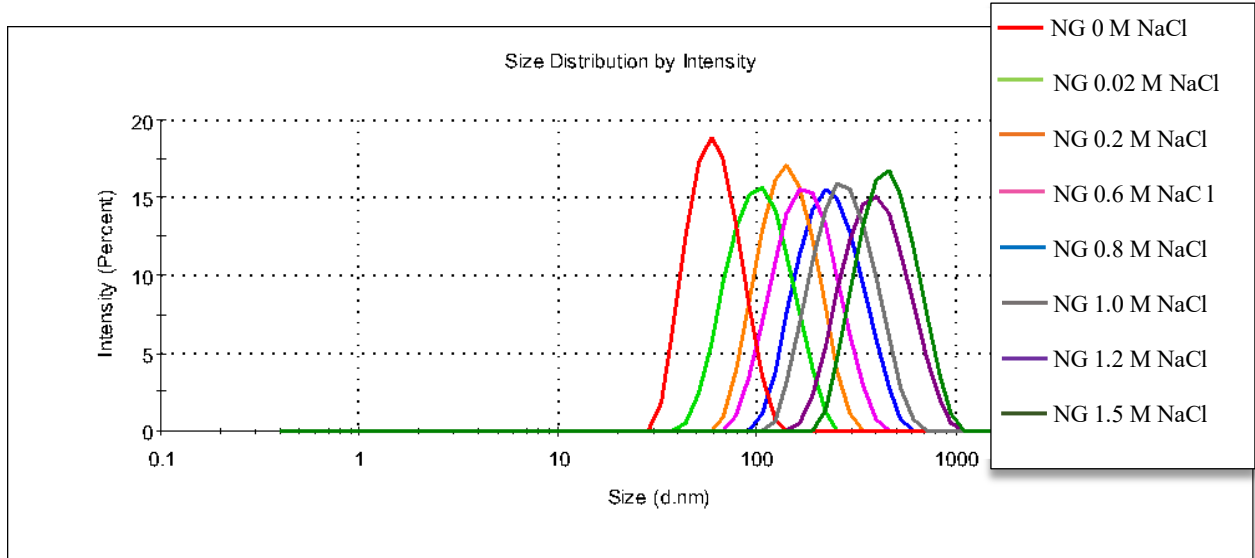
6.1.6.3. İyonik Şiddetin PAA-PVP IPC ve IPC Nanojellerine Etkisi

Aslında, sulu çözeltilerdeki poli(karboksilik asitler) ve iyonik olmayan polimerler arasındaki kompleksleşme üzerine inorganik tuzların etkisi, iki zıt etki ile ilişkilidir. Çözeltide inorganik tuzların mevcudiyeti, hidrojen bağı için elverişli olan poli(karboksilik asitlerin) karboksilik gruplarının iyonizasyonunu destekler. Öte yandan, inorganik tuzların varlığında makromoleküllerin çözünmesi azalır, bu da polimer-çözücü etkileşimlerini zayıflatır ve polimerler arasındaki makromoleküler etkileşimleri güçlendirir [201]. Bu etkilerden birinin

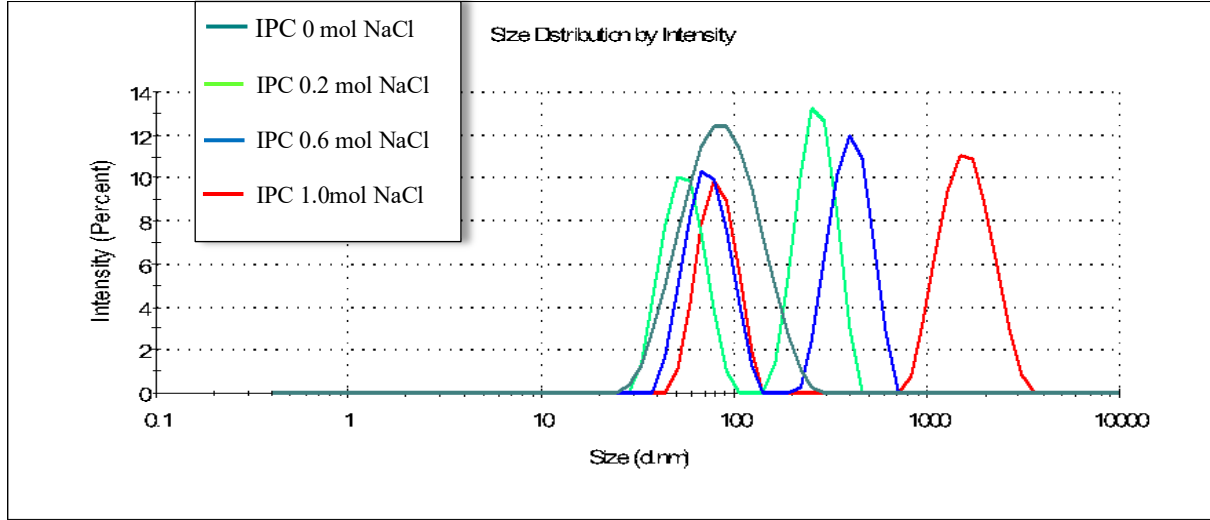
yaygınlığı, inorganik tuzların eklenmesi üzerine IPC'nin stabilizasyonuna veya kararsızlaşmasına yol açacaktır. PAA ve çeşitli iyonik olmayan polimerler arasındaki kompleksleşme üzerinde inorganik tuzların etkisi hala tartışmaya açıktır. İnorganik tuzların IPC'nin stabilitesi üzerindeki ters etkileri farklı yazarlar tarafından bildirilmiştir. Tuz ilavesi, oluşan kolloidal IPC nanopartiküllerin boyutunda önemli bir artışa yol açmıştır. Bu, anyonik PAA yan zincirleri üzerindeki yük tarama etkisi yaparak ya H-bağlarını kırar ve IPC'nin bozulmasına neden olur ya da hidrofobik-hidrofilik dengenin hidrofobik karakteri lehine değişmesi ile IPC'nin topaklaşmasına yol açar [202]. Bu çalışmada, 0.02-1.5 M NaCl çözeltilerinde 2 mg/mL %25 aseton oranına sahip PAA-PVP IPC ve IPC nanojelleri (5 kGy ışınlanmış) 25°C de 24 saat bekletilerek şişme kinetikleri DLS kullanılarak incelenmiştir. Şekil 6.36 ve 37 görüldüğü gibi IPC nanojellerinin boyutları tuz varlığında artmıştır. Tuzun varlığı iyon değişiminden dolayı PAA karboksilik gruplarının iyonizasyonuna yol açar H-bağları kırılarak kompleks oluşumu azalır; bu da IPC'lerin bozunmasına ve IPC nanojellerinin şişmesine neden olur. Nanojellerin farklı konsantrasyonlarda NaCl çözeltilerinde şişme oranı ile karakterize edilen iyonik güce tepkisi Şekil 6. 36 ve 37'de gösterilmiştir. NaCl konsantrasyonu 0.2 M'den az olduğunda, nanojelin şişme oranı daha azdır ve 96-135 nm aralığında bir şişme gözlenmiştir, bu da hazırlanan nanojellerin bu zayıf iyonik kuvvet koşullarında yüksek kararlılığına işaret etmektedir. 0.2'ten 1.5 M'a artan konsantrasyonla, şişme oranı sırasıyla 147 nm'den 412 nm'e yükselmiştir, NaCl konsantrasyonu 1.2 M'ı aştığında, nanojel 400 nm'nin üzerinde bir şişme oranı ile oldukça şişmiş ve şişme oranı iyonik şiddete daha az bağımlı hale gelmiştir. Şekil 6.38'de IPC nanojellerine kıyasla IPC'ler tuz varlığında tamamen ayrılmış vaziyette görülmektedirler, bu da IPC nanojellerinin yumağı içinde radyasyona bağlı çapraz bağlamanın bir sonucu olarak kalıcı kovalent bağların kurulduğunun bir kanıtıdır.



Şekil 6. 36. NaCl (mol/L) konsantrasyonunun PAA-PVP IPC nanojellerinin ortalama boyutu üzerindeki etkisi. (IPC nanojeli 25°C'de, 24 saat boyunca NaCl çözeltisinde bekletilmiştir)



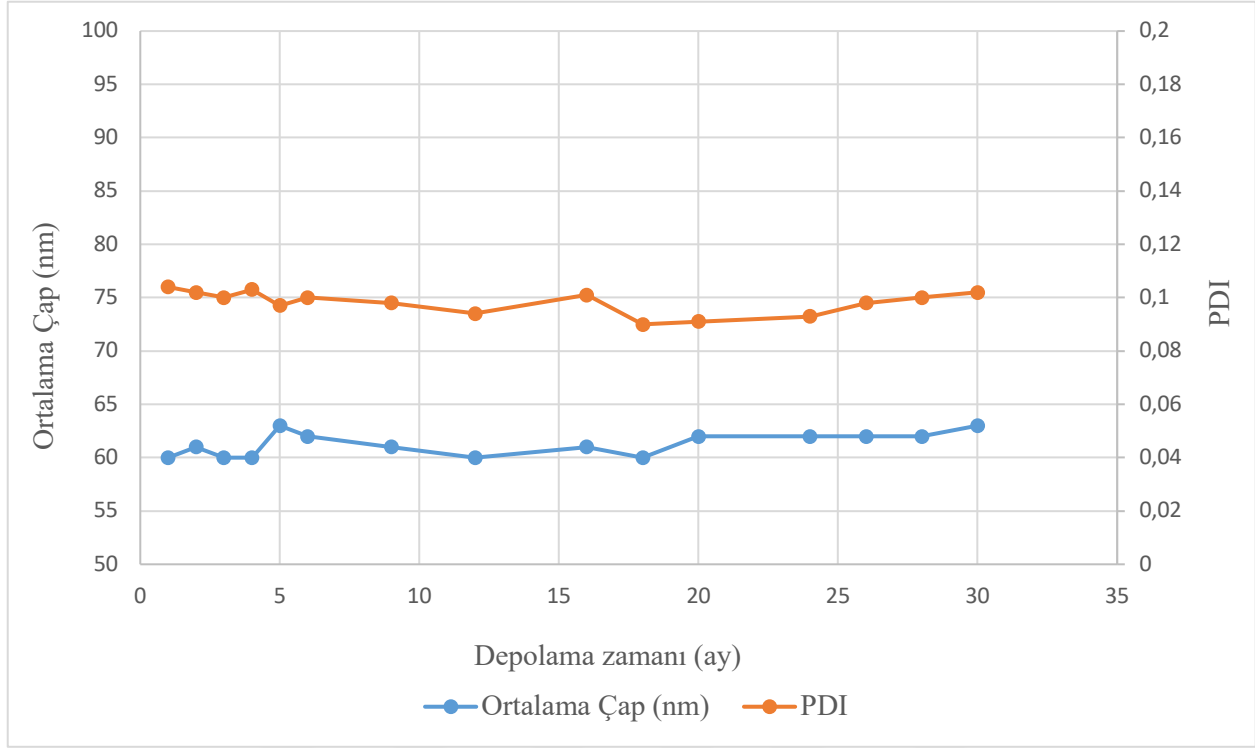
Şekil 6.37. İyonik şiddetin PAA-PVP IPC nanojelin üzerindeki etkisi. (%25 aseton ortamında 5 kGy řıñlanmıř 2.0 mg/mL IPC nanojeli 25°C'de 24 saat boyunca NaCl çözeltisinde bekletilmiştir)



Şekil 6.38. İyonik şiddetin PAA-PVP IPC üzerindeki etkisi. (2.0 mg/mL derişimde, %25 aseton ortamında hazırlanan IPC 25°C'de 24 saat boyunca NaCl çözeltilerinde bekletilmiştir)

6.1.7. IPC ve IPC nanojellerinin depolama kararlılığı

PAA-PVP IPC nanojellerini hazırladıktan sonra depolama kararlılığını araştırmak için, IPC nanojelleri çözeltiler içinde (3.30-4.0 pH aralığında) ortam sıcaklığında saklanmışlardır. Tez çalışması süresince partikül büyüklükleri 30 aylık bir süre boyunca ölçülmüştür. DLS ile ölçülen ortalama partikül boyutları, Şekil 6.39'da zamanın bir fonksiyonu olarak gösterilmektedir. IPC nanojelleri, 30 ay boyunca dar bir boyut dağılımı (düşük PDI) ile 60 nm civarında kararlılık gösterirken, IPC'lerin boyutu belirli bir zamandan sonra sürekli artma eğilimi göstermiştir. IPC'lerin boyutlarının zamanla artmasının, oluşan IPC'lerin topaklanma eğilimleri nedeniyle birikmesine bağlı olabileceği iddia edilebilir, ancak burada gözlemlenen, yapının yavaşça gevşemesini destekleyen yavaş ve kademeli bir artış olmuştur. Bu sonuçlar, 30 aylık saklama süresi boyunca, radyasyona bağlı çapraz bağlama ile oluşturulan kalıcı yumak-içi kovalent bağlar nedeniyle IPC nanojel boyutunun kararlılığını koruduğunu göstermiştir.



Şekil 6.39. 5 kGy ışınlama ile elde edilen PAA-PVP IPC nanojellerinin, çeşitli süreler boyunca oda sıcaklığında depolandıktan sonra %25 (v/v) aseton/su sistemindeki stabilitesi.

6.1.8. İlaç Salım Çalışmaları

6.1.8.1. BSA'nin Kontrollü adsorpsiyonu

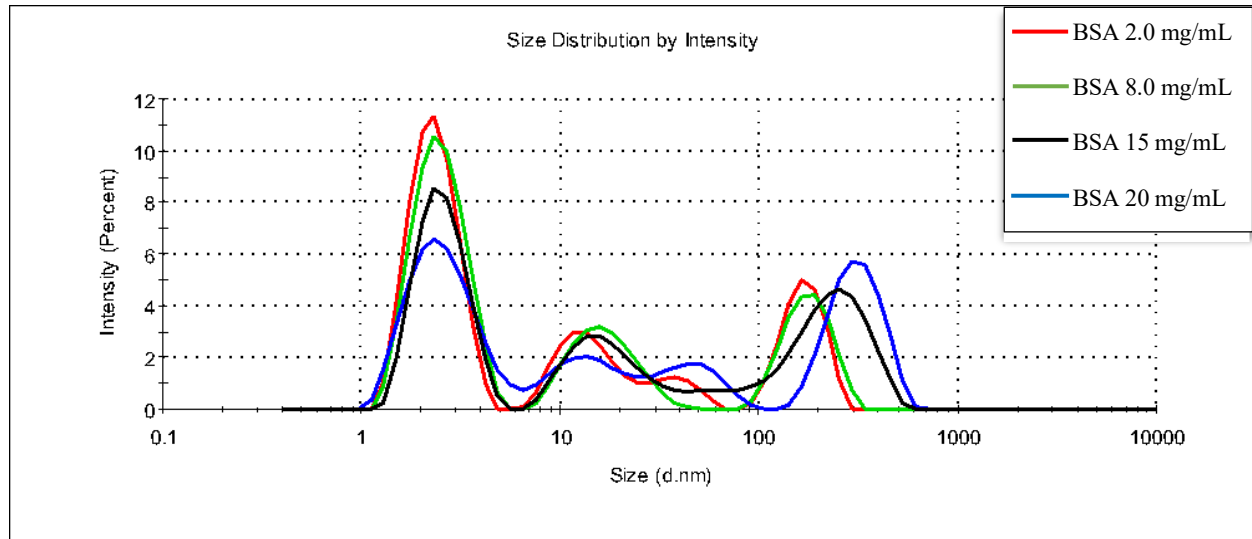
Nanopartiküller (NP'ler) ve plazma proteinleri arasındaki spesifik olmayan etkileşim, NP'lerin kanla temasından hemen sonra meydana gelir ve daha sonra orijinal NP'lerin yüzeyini kaplayarak yerini alan ve organların ve hücrelerin gerçekte gördüğü şey haline gelen protein korona oluşumuyla sonuçlanır. Bu durum, NP'lerin *in vivo* kaderini ve NP'lere biyolojik tepkileri değiştirir ve NP'ye dayalı ilaç verme sisteminin iki ana probleminin önemli bir nedenini oluşturur. Bununla birlikte, spesifik olmayan proteinlerin adsorpsiyonunda, kısa sirkülasyon süresi ve toksisite gibi büyük zorluklar hala mevcuttur ve NP'lerin pratik kullanımını sınırlamaktadır [203]. Peng ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, NP'ler etrafında oluşturulmuş albumin koronasının plazma proteinlerinin adsorpsiyonunu inhibe etmede, kompleman aktivasyonunu azaltmada ve nihayetinde kan dolaşım süresini uzatmada ve polimerik NP'lerin

toksitesini azaltmada başarılı uygulamasını göstermişlerdir [204]. Kandaki en bol protein olan albümin nanopartiküllerin vücuttan atılmasını daha hızlı hale getirir. Önceden oluşturulmuş albümin koronası NP'lerin etrafını kapladığında onların biyouyumluluğunu arttırmakla kalmaz, kan dolaşım sürelerini uzatarak doku ya da hücre etkileşim olasılığını arttırır, bu da NP'lere dayalı ilaç verme sistemini optimize etmek için çok yönlü bir strateji olma potansiyeline sahiptir. Biz de bu tez çalışmasında, sentezlediğimiz nanojellerimizi ilaç salımında kullanmak için önce yapılarına BSA adsorpsiyonunu sağladık. Curcuma longa'dan türetilen hidrofobik bir polifenol olan kurkumin, anti-kanser, antioksidan ve antienflamatuar etkiler gibi sağlığa yararlı özellikleri nedeniyle kapsamlı bir araştırma ilgisi kazanmıştır. Bununla birlikte kurkumin uygulamaları, suda zayıf çözünürlüğü ve düşük biyoyararlanımı nedeniyle sınırlıdır [205]. Bu nedenle, kurkumini korumak ve biyoyararlanımını arttırmak için ilaç taşıyıcı sistemlerin tasarımı ve optimizasyonu geniş çapta araştırılmıştır. Nanojeller, yüksek ilaç tutma verimlilikleri, yüksek stabiliteleri ve çevresel faktörlere duyarlılıkları nedeniyle umut verici bir dağıtım sistemi olarak kabul edilmişlerdir. Bu çalışmada, nano boyutta boyut kontrolü sağlanmış IPC nanojellere çıplak ve BSA varlığında kurkumin yüklemesi ve yükleme yapılmış nanojellerden kurkumin salım çalışmaları yapılmıştır. İlaç salım çalışmaları yapılmadan önce PAA-PVP IPC nanojellerine BSA adsorpsiyonu incelenmiştir. Çizelge 12'de saf BSA'nın farklı derişimlerde pH, boyut, zeta potansiyel ve PDI değerleri verilmiştir; görüldüğü gibi derişim arttıkça pH ve zeta potansiyel değerleri azalır (şekil 6.41'de BSA'nın en düşük ve en yüksek derişime ait zeta potansiyel dağılım değerleri verilmiştir). Bunun nedeni BSA'nın yapısında bulunan COOH gruplarının artması ve dolayısıyla ortamın daha fazla asidik olmasına bağlı olarak, pH ve zeta potansiyel değerlerinin (negatif değer olarak) azalmasıdır. Buna karşın çizelge 12 ve şekil 6.40 da verildiği gibi derişimin artması ile boyutlarda ve PDI değerlerinde artış gözlenmiştir; bu da BSA'nın agrege olması ile açıklanır, derişimin artması agregasyonun oluşumunu kolaylaştırır. BSA yüklemesinin optimizasyonu için, BSA'nın çeşitli başlangıç konsantrasyonlarında (2.0, 4.0, 6.0, 8.0, 10, 15, 18 ve 20 mg/mL) IPC nanojellerinde tutunma kapasitesini araştırdık. BSA'nın izoelektrik noktası (IEP) 4.9'dur. BSA'nın pH'ı 4.0, 5.0 ve 6.0 olduğunda sırasıyla pozitif, sıfır ve negatif yüklere sahiptir. Öte yandan, PAA-PVP IPC nanojellerinin yüzey yükü değişmez ve bu üç pH değerinde negatif yükler taşır. Sonuç olarak, BSA molekülleri ve IPC nanojelleri arasındaki elektrostatik etkileşim, sistemin pH'sı değiştirilerek denetlenebilir. Şekil 6.42'den, BSA yükleme kapasitesinin başlangıç konsantrasyonları ile arttığı ve 15 mg/mL'den daha büyük

bir BSA konsantrasyonuyla yüklemde belirgin bir artış gözlenmediği görülebilir, bu da IPC nanojellere BSA'nın yüklediğini ve belirli bir doygunluğa ulaşıldığını gösterir.

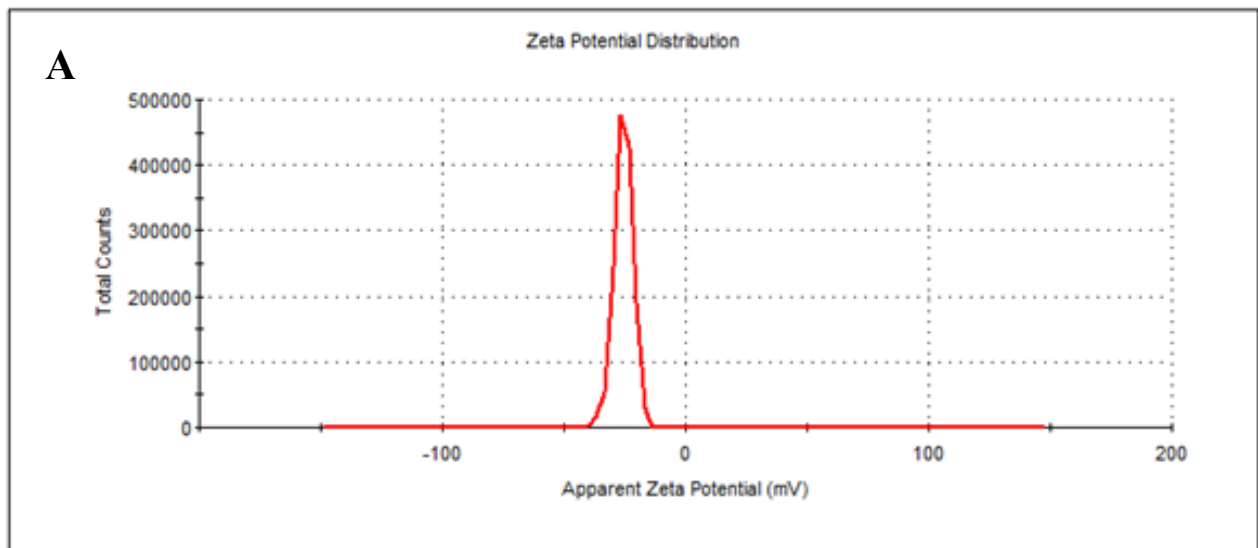
Çizelge 12. Farklı başlangıç konsantrasyonlarına sahip BSA'nın ortalama boyut, zeta potansiyeli, pH ve PDI değerleri.

BSA mg/mL	pH	Boyut	Zeta Pot.	PDI
2.0 mg/mL	7.34	74.3	-25.6	0.232
4.0 mg/mL	7.23	85.6	-24.3	0.278
6.0 mg/mL	7.11	90.5	-23.8	0.312
8.0 mg/mL	7.01	103.2	-22.3	0.341
10.0 mg/mL	6.89	115.2	-21.2	0.378
15.0 mg/mL	6.76	117.6	-19.3	0.389
18.0 mg/mL	6.51	121.7	-17.1	0.392
20.0 mg/mL	6.39	133.4	-16.0	0.420

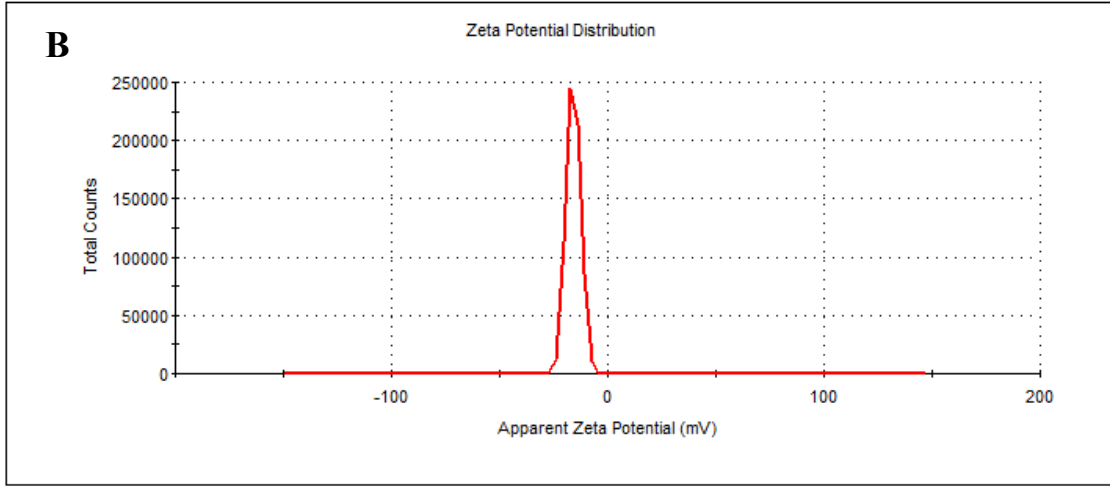


Şekil 6.40. BSA'nın farklı derişimlerdeki boyut dağılımı.

	Mean (mV)	Area (%)	St Dev (mV)
Zeta Potential (mV): -25,6	Peak 1: -25,6	100,0	3,85
Zeta Deviation (mV): 3,85	Peak 2: 0,00	0,0	0,00
Conductivity (mS/cm): 0,0933	Peak 3: 0,00	0,0	0,00
Result quality : Good			



	Mean (mV)	Area (%)	St Dev (mV)
Zeta Potential (mV): -16,0	Peak 1: -16,0	100,0	3,34
Zeta Deviation (mV): 3,34	Peak 2: 0,00	0,0	0,00
Conductivity (mS/cm): 0,252	Peak 3: 0,00	0,0	0,00
Result quality : Good			



Şekil 6.41. BSA'nin 2.0 mg/mL (A) ve 20.0 mg/mL (B) derişimindeki zeta potansiyel dağılım değerleri.

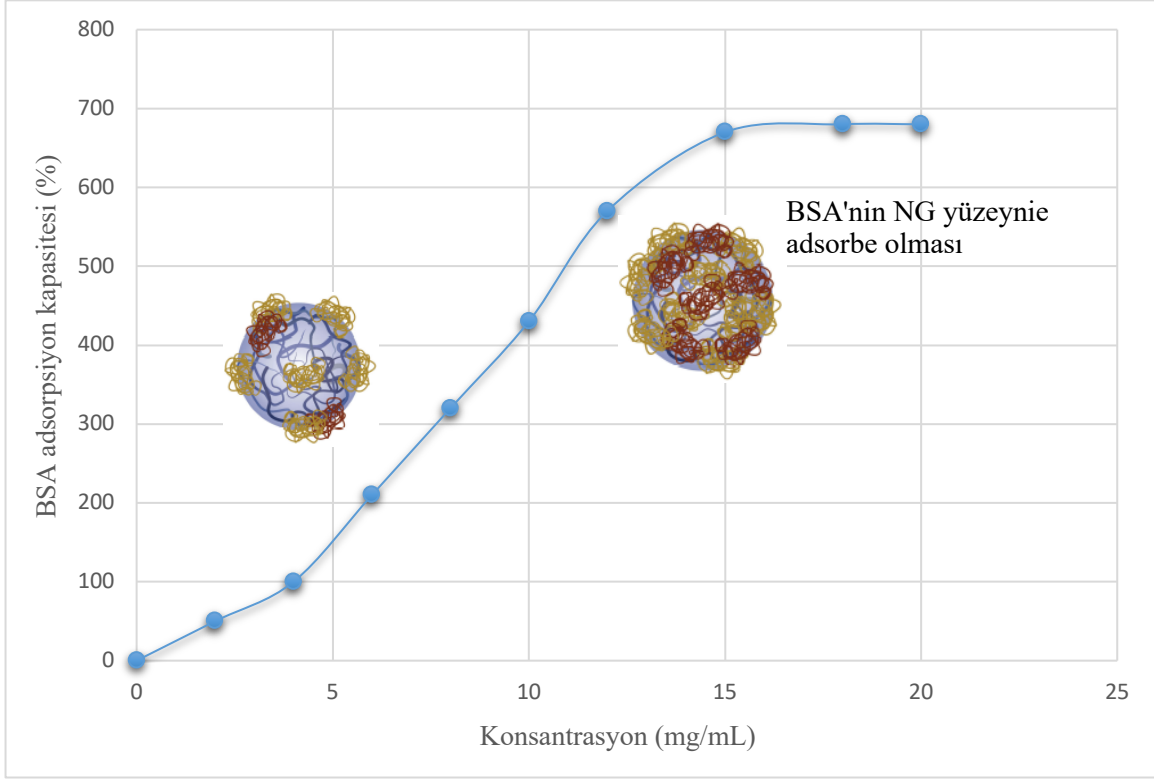
Çizelge 13'te farklı başlangıç konsantrasyonlarına ait BSA'nın, PAA-PVP IPC nanojeline yüklendikten sonraki ortalama boyut, zeta potansiyeli, pH ve PDI değerleri verilmiştir. Görüldüğü gibi BSA yüklendikten sonra nanojellerin boyutlarında ve PDI değerlerinde önemli bir artış gözlenmiştir. BSA adsorpsiyonu sonrası boyut dağılımındaki farklılıktan dolayı PDI değerleri artmıştır. BSA'nın derişiminin artması ve yüklenmesi ile pH ve zeta potansiyel değerleri azalmıştır. BSA'nın derişiminin artması ve COOH gruplarının çoğalması ortamın pH'sının azalmasına yol açar, bu da BSA yüklü nanojellerin zeta potansiyel değerlerinin düşmesine neden olur. Boyut değişikliği ile karşılaştırıldığında, zeta (ζ) potansiyel'deki değişiklik daha önemli ve karmaşıktı (Şekil 6.43). Daha yüksek negatif yüklü nanojel (NG) için, negatif ζ potansiyeli BSA adsorpsiyonundan sonra -29.4 mV'dan $\sim$ -8 mV'a (20 mg/mL BSA için) düşmüştür. Benzer sonuçlar, farklı nanosistemler için diğer gruplar tarafından da rapor edilmiştir [206,207]. Bu veriler, 15 ve 20 mg/mL BSA konsantrasyonunda, NG konsantrasyonu 2 mg/mL iken, BSA'nın NG'lerin hemen hemen tüm yüzeyini kapsayabileceğine ve dolayısıyla bu NG-BSA sisteminin ζ potansiyelinin yalnızca nanojel üzerinde bulunan proteinlerden kaynaklandığına işaret etmektedir.

Çizelge 13. Farklı başlangıç konsantrasyonlarına sahip BSA'nın PAA-PVP IPC nanojeline yüklendikten sonra ortalama boyut, zeta potansiyeli, pH ve PDI değerleri. (PAA 250,000 g/mol PVP 1,300,000 g/mol, 2.0 mg/mL, % 25 aseton ve pH=3.27, 5 kGy ışınlanmış).

NG-BSA mg/mL	pH	Boyut	Zeta Pot.	PDI
2.0 mg/mL NG	3.27	60 ± 13	-29.6 ± 6.60	0.107
2.0 NG-BSA	6.27	137 ± 21	-24.6 ± 5.59	0.189
4.0 NG-BSA	6.09	158 ± 19	-18.3 ± 6.43	0.198
6.0 NG-BSA	5.90	189 ± 23	-15.7 ± 7.32	0.211
8.0 NG-BSA	5.78	212 ± 27	-13.3 ± 5.43	0.245
10.0 NG-BSA	5.65	243 ± 32	-12.6 ± 6.53	0.285
15.0 NG-BSA	5.21	278 ± 29	-9.7 ± 6.33	0.321
20.0 NG-BSA	5.13	289 ± 41	-8.5 ± 6.29	0.343

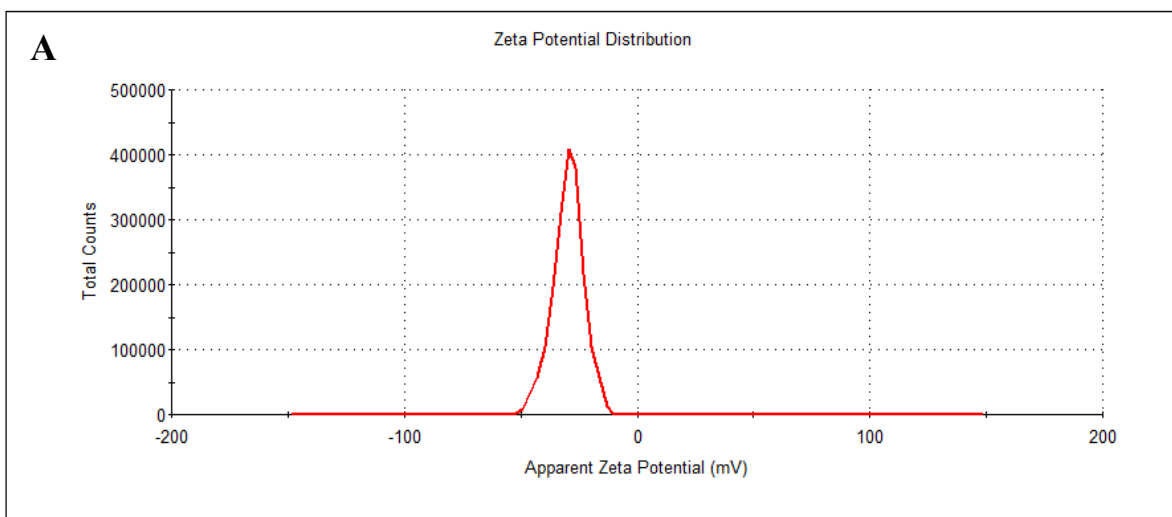
Şekil 6.42 ve çizelge 13'te PAA-PVP IPC nanojelleri için sunulan verilerden, nanojellerin şaşırtıcı derecede yüksek BSA yükleme kabiliyeti sergiledikleri görülmektedir. 1 mg nanojel yaklaşık 6.7 mg BSA yükleyebilir ve yükleme kapasitesi % 670'e ulaşır. Bu kapasite, BSA yüklü polisakkarit kolloidal partiküllerden [208] 8 kat, blok kopolimerler ile oluşturulmuş misellerden [209] 45 kat ve sıcaklık duyarlı poli(N-izopropilakrilamid) (PNIPAM) nanojellerinin kontrollü protein adsorpsiyonundan [210] 290 kat daha fazladır. Çizelge 13'te görülebileceği gibi, farklı derişimlerde BSA yüklenmiş IPC nanojelin boyut ve PDI değerlerinin, IPC nanojelininkinden çok daha yüksek olduğu bulunmuştur. Öte yandan, BSA yüklü nanojelin BSA'nın derişimi arttıkça pH ve zeta potansiyel değerleri azalmıştır, bu da IPC nanojellerde BSA makromoleküllerinin işgali nedeniyle nanojellerin muhtemelen iç ve yüzey kısmının BSA molekülleri ile kaplandığı anlamına gelir. Şekil 6.42'de görüldüğü gibi, IPC nanojellerine yüklenen en yüksek BSA miktarı, pH=5.21'de 6.7 mg/mg olarak tespit edilmiştir ve bu, maksimum BSA adsorpsiyonunun IEP (Isoelectric point), yakınında gerçekleştiğini göstermektedir. Bu davranış, IEP'nin yakınında, BSA'nın sıfır yüke yakın olup minimum çözünürlük gösterme eğiliminde olması ve IPC nanojelleri üzerinde agregatlara yol açmasıyla açıklanabilir. Bu nedenle, bu işlemin yükleme kapasitesinin hidrofobik etkileşimler tarafından belirlendiği söylenebilir. pH 5.21 ve üstü durumunda hem BSA hem de IPC nanojeli negatif yüklere sahiptir. Bu durumda, BSA'yı IPC nanojeli üzerine yüklemenin itici gücü sadece hidrofobik bir etkileşim haline gelir. Bu pH değerlerindeki (pH 5.21'in üstü) yükleme miktarı, BSA ve IPC nanojeli arasındaki elektrostatik itme nedeniyle pH 5.21 ve 5.13'ten daha azdır. Bununla birlikte, IPC nanojelleri, pH 5.65-6.27'da aralığında elektrostatik itmeye rağmen, olağan protein taşıyıcılara kıyasla hala dikkate değer ölçüde daha yüksek bir BSA yükleme kapasitesi sergiler. Bu nedenle, elektrostatik etkileşimin BSA adsorpsiyonu için temel itici güç olmadığı, ancak hidrofobik etkileşimlerin ise bu bağlanma sürecinin temel yürütücü kuvvetlerini oluşturduğu sonucuna varılabilir. pH 6.09 ve 6.27 olduğunda ilk iki konsantrasyonda (2.0 ve 4.0 mg/mL) yüklemenin az olmasına gelince, bu ortam pH'ında hidrofobik etkileşimin daha düşük konsantrasyonda nispeten zayıf olması ile açıklanabilir. Hidrofobik etkileşimin yanı sıra, IPC nanojellerinin iki farklı fonksiyonel bileşenini oluşturan hem PVP hem de PAA'nın, H-bağı etkileşimleri üzerinden BSA adsorpsiyonunu desteklediği düşünülmektedir. Öte yandan IPC nanojelleri, çözelti içinde dağılmış şişmiş çapraz bağlı ağlar yapısındadır ve nano boyutlu küresel matris de BSA'nın yakalanmasında ve tutulmasında önemli bir rol oynamalıdır. Yukarıdaki tartışmaya dayanarak,

farklı fonksiyonel gruplara sahip PAA-PVP IPC nanojellerinin yüksek yükleme kapasitesi ile doğrudan bir ilişkisi olduğu sonucuna varılabilir.

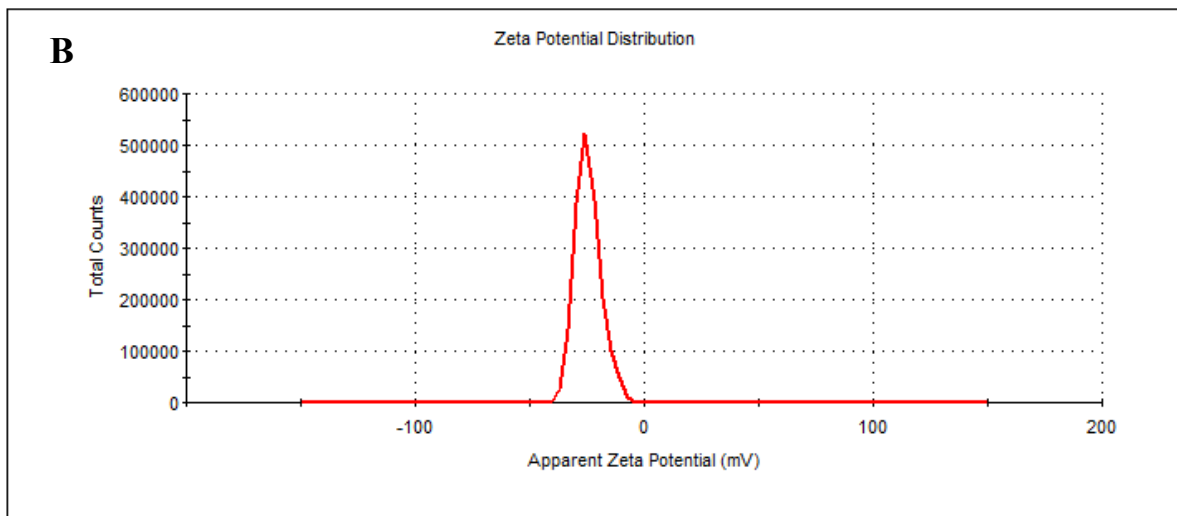


Şekil 6.42. Farklı başlangıç konsantrasyonlarına sahip BSA'nin PAA-PVP IPC nanojeline yükleme kapasitesi.

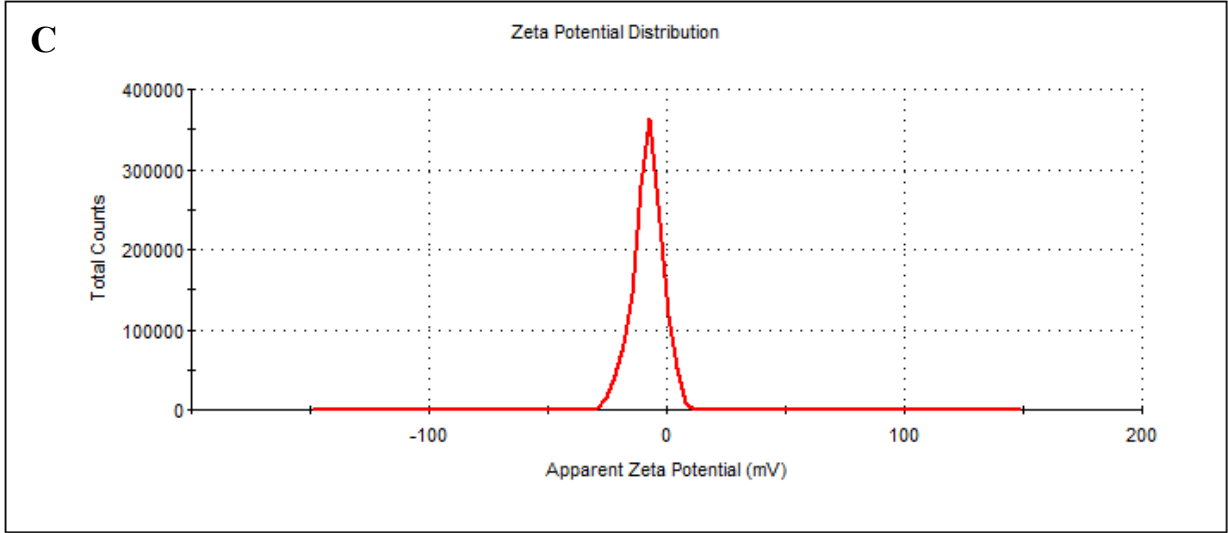
	Mean (mV)	Area (%)	St Dev (mV)
Zeta Potential (mV): -29,6	Peak 1: -29,6	100,0	6,60
Zeta Deviation (mV): 6,60	Peak 2: 0,00	0,0	0,00
Conductivity (mS/cm): 0,0372	Peak 3: 0,00	0,0	0,00
Result quality : Good			



	Mean (mV)	Area (%)	St Dev (mV)
Zeta Potential (mV): -24,6	Peak 1: -24,6	100,0	5,59
Zeta Deviation (mV): 5,59	Peak 2: 0,00	0,0	0,00
Conductivity (mS/cm): 0,100	Peak 3: 0,00	0,0	0,00
Result quality : Good			



	Mean (mV)	Area (%)	St Dev (mV)
Zeta Potential (mV): -8,05	Peak 1: -8,05	100,0	6,29
Zeta Deviation (mV): 6,29	Peak 2: 0,00	0,0	0,00
Conductivity (mS/cm): 0,0763	Peak 3: 0,00	0,0	0,00
Result quality : Good			



Şekil 6.43. BSA yüklenmemiş (A), 2.0 (B) ve 20.0 (C) mg/mL BSA yüklenmiş PAA-PVP IPC nanojelin zeta potansiyel dağılım değerleri.

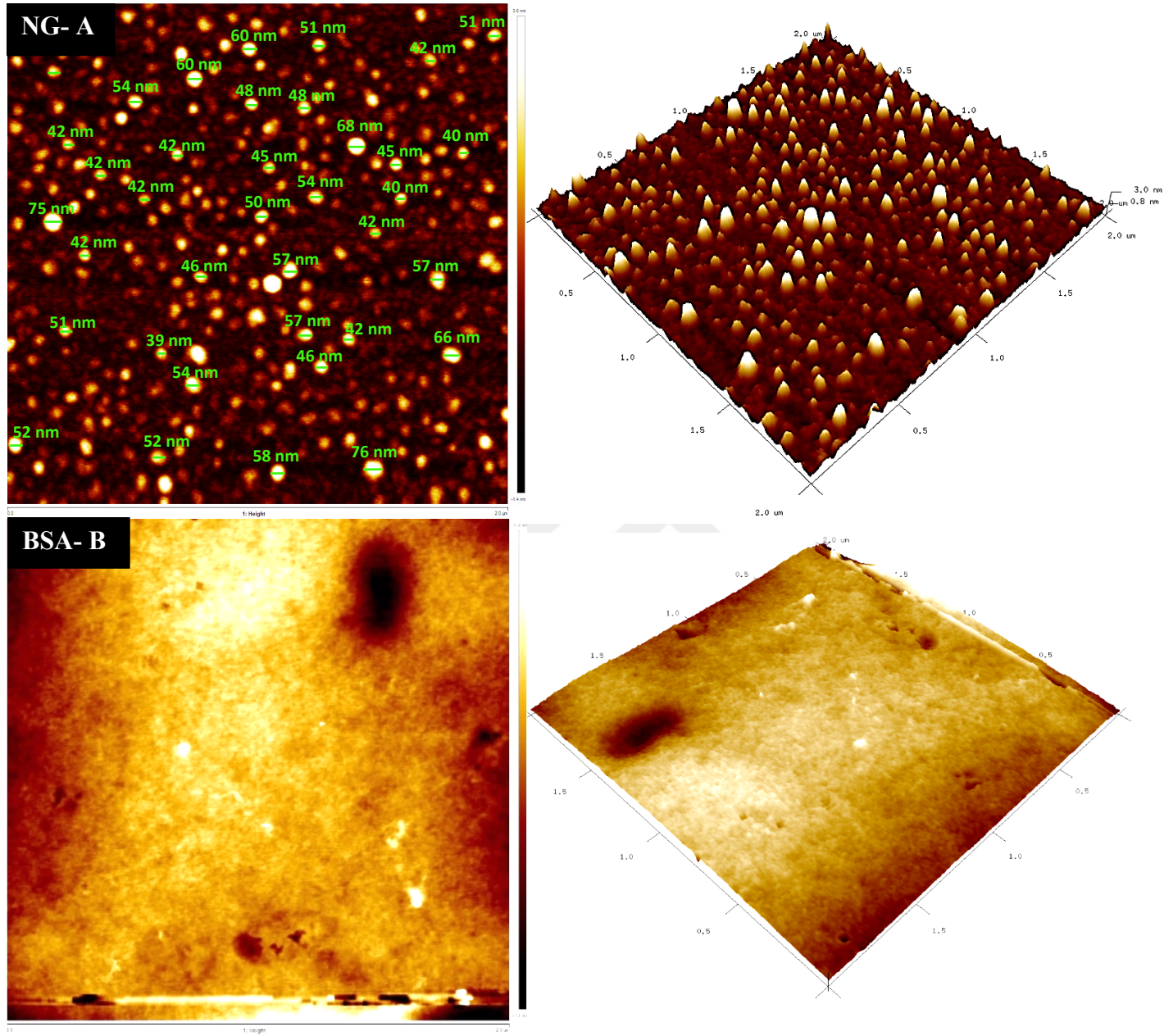
Şekil 6.43'te PAA-PVP IPC nanojeli, en düşük ve en yüksek BSA derişimine ait BSA yüklü PAA-PVP IPC nanojelinin zeta potansiyel dağılım değerleri verilmiştir. Çizelge 12 ve 13'ün verilerine dayanarak ve Şekil 6.43'te de görüldüğü gibi BSA'nın IPC nanojellerinin yüzeyine adsoplandığı açıkça anlaşılmaktadır. BSA'nın derişiminin artması COOH gruplarının miktarının artmasını sağlar ve bu da BSA'nın derişimine bağlı olarak yüklendiği IPC nanojelin zeta potansiyelinin düşmesine neden olur.

BSA'nın ve kurkuminin yüklenmesi, NG'lerin boyut ve ζ potansiyeline ek olarak, ayrıca morfolojisini de etkileyecektir. NG-BSA kompleksinin morfolojisini incelemek ve NG'ler ile serum proteini arasındaki etkileşimi daha da doğrulamak için AFM kullanılmıştır. Çıplak NG'ler küçük bir boyuta, küresel bir görünüme ve en önemlisi pürüzsüz bir yüzeye sahiptir (Şekil 6.44 A). Nanojellerin BSA ile etkileşiminden sonra protein moleküllerine gömülü oldukları bulunmuştur (Şekil 6.46). BSA yüklenmiş NG-BSA nanojelinin morfolojisi AFM analizi ile incelendiğinde, NG'leri çevreleyen bariz bir kaplama tabakası NG-BSA kompleksinin oluşumundan sonra açıkça görülmektedir. Ayrıca AFM analizi, NG-BSA nanojelinin küresel morfolojisini de doğrulamıştır (Şekil 6.46). Bu arada, iyi dağılmış orijinal NG'ler ile karşılaştırıldığında, tüm NG-BSA görünüşte kümelenmiş görünüyor olsa da bu birleşmeler, AFM tarafından incelenemeyecek olan gerçek kümelenmeler değildir, çünkü bu NG-BSA yapıları ayrıca süspansiyon durumunda iyi dağılmışlardır (PDI <0.2 Şekil 6.45). Şekil 6.46'da gözlemlenen NG-BSA'nın bu görünür sık istiflenmiş yapısının, AFM için örnek hazırlama sürecinde, özellikle de güçlü protein-protein etkileşimine bağlı olarak oluştuğu düşünülmektedir. Özetle, bu AFM görüntüleri nanojel ve protein etkileşimi için bir tür görselleştirilmiş ve sağlam kanıtlardır. Genel olarak, BSA'nın yüzeyde adsorbsiyonunun NG'lerin fizikokimyasal özellikleri üzerinde önemli etkileri vardır.

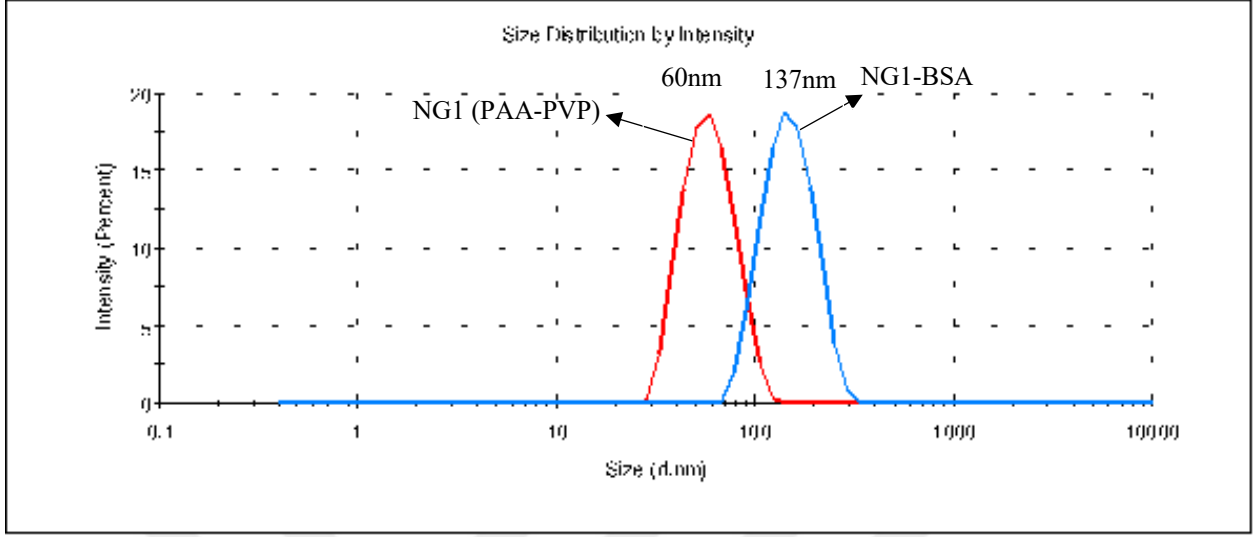
DLS, sulu süspansiyonlardaki yalnızca nanopartiküllerin boyutunu ve yüzey yükünü bildirir. Nano formülasyonların kuru haldeki partikül boyutuna ve morfolojisine erişmek için AFM kullanılmaktadır. AFM görüntüleri, ortalama partikül boyutu 45 nm olan PAA-PVP nanojel formülasyonunun pürüzsüz küresel şeklini göstermektedir (Şekil 6.44 A). Diğer yandan saf BSA çözeltisinin AFM görüntüleri mika yüzeyine düzensiz bir şekilde yayılmış bir BSA yığını göstermektedir (Şekil 6.44 B). Şekil 6.45'te BSA yüklenmiş PAA-PVP NG'nin DLS sonuçları görülmektedir. BSA yüklendikten sonra NG'nin ortalama boyut değeri 60 nm'den 137 nm'ye yüklenmiştir; bu da NG'lere BSA'nın yüklenmesinin bir kanıtıdır. Öte yandan AFM sonuçları ilginç bir şekilde, BSA kaplı NG'ler arasında agregasyon veya yapışma göstermemiştir. AFM'den gözlemlenen NG-BSA parçacıkların ortalama boyutu (102 nm), DLS yöntemiyle tespit edilenden daha küçük çıkmıştır. Bunun nedeni, AFM ölçümlerinin kuru haldeki örneklerle (mika yüzeyinde kurutulmuş nanoparçacıklara) ait olmasıdır.

BSA yüklü PAA-PVP nanojellerine kurkumin (KK) yüklendikten sonra DLS ve AFM analizleri ile boyut ve morfolojileri incelenmiştir. DLS analizlerinden elde edilen BSA ve kurkumin yüklü PAA-PVP NG'lerinin partikül boyutu (Şekil 6.47) verilmiştir, Çıplak NG'nin ortalama boyut değeri 60 nm iken BSA yüklendikten sonra 137 nm'ye yükselmiş, kurkumin yüklenmesi sonrası ise boyut artışı 174 nm'ye kadar çıkmıştır. Bu boyut artışı, yapıya kurkumin yüklenmesini doğrular. NG(PAA-PVP)-BSA-KK nanoparçacıklarının morfolojisi, AFM ile incelendiğinde, Kurkumin yüklenmesi öncesi NG-BSA küresel bir morfolojiye sahipken bu morfoloji, ilacın yüklenmesinden sonra da korunmuştur (Şekil 6.48). NG(PAA-PVP)-BSA-KK nanoparçacıkları için DLS'den ölçülen ortalama boyut değeri 174 nm'yken AFM'den elde edilen ortalama boyut değeri 135 nm civarında olmuştur. Bildiğimiz gibi, DLS, çözeltide şişmiş partiküller için veri sağlarken, AFM, kurutulmuş örneklerle ait görüntüleri göstermektedir.

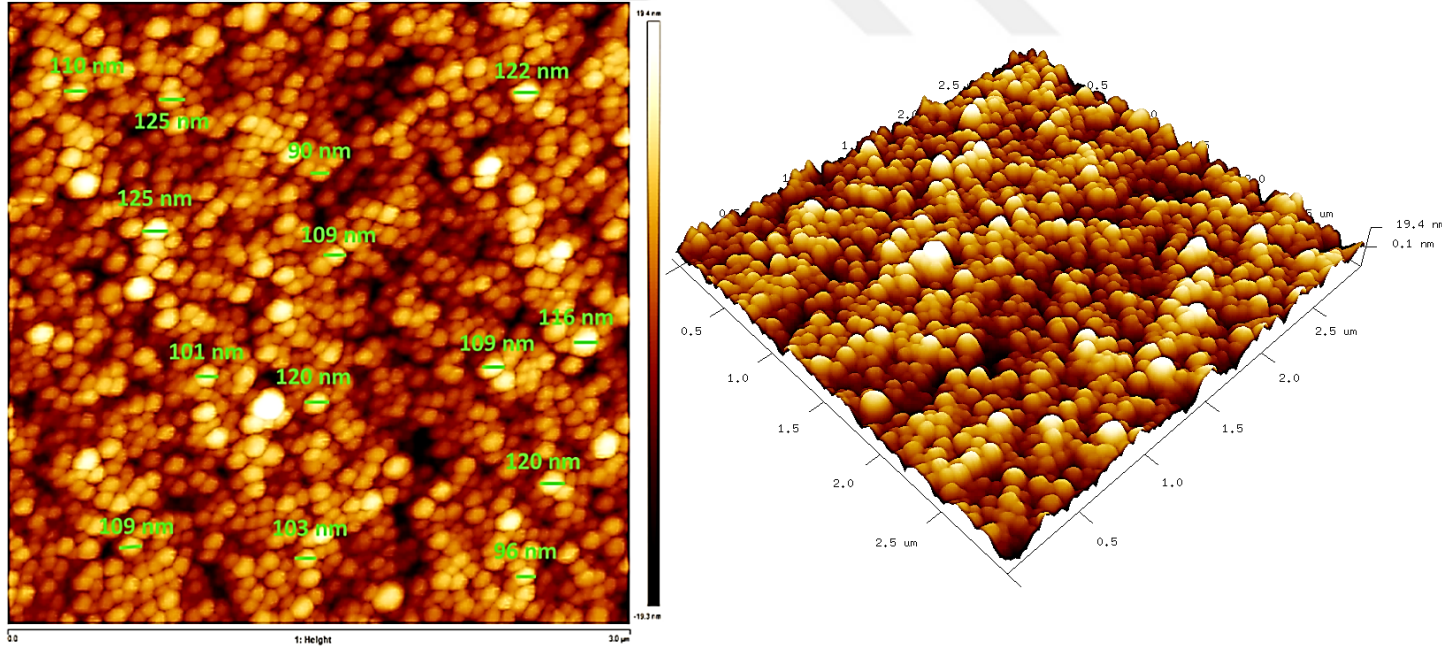
PAA-PVP nanojellerine BSA'sız kurkumin yüklenmesi sonrası DLS ve AMF sonuçları şekil 6.49 ve 50'de verilmiştir. DLS analizlerinden elde edilen NG(PAA-PVP)-KK nanoparçacıkları için ortalama boyut değerleri Şekil 6.49'da görüldüğü gibi 116 nm (çıplak NG'nin ortalama boyut değeri 60 nm) civarındadır, bu da NG'lere kurkumin yüklendiğini gösterir. NG(PAA-PVP)-KK nanoparçacıkları için AFM görüntüleri Şekil 6.50'de gösterilmektedir. Görüntülerden, ilaç yüklü NG'ler küresel morfoloji gösterdiği açıktır. Çıplak PAA-PVP nanojelleri ayrıca küresel morfoloji göstermiştir, ilaç yükleme sonrası PAA-PVP nanojellerinin morfolojisi değişmemiştir. AFM'den elde edilen NG(PAA-PVP)-KK nanoparçacıkları boyutu 90 nm civarındadır. AFM ve DLS analizi ile ölçülen nanojellerin partikül boyutu değerlerindeki değişiklikler, işlemedeki farklılıktan kaynaklanmaktadır. DLS'de analiz çözelti içinde yapılır ve elde edilen boyut hidrodinamik çaptır, AFM analizi ise kurutulmuş partiküller üzerinde yapılmaktadır.



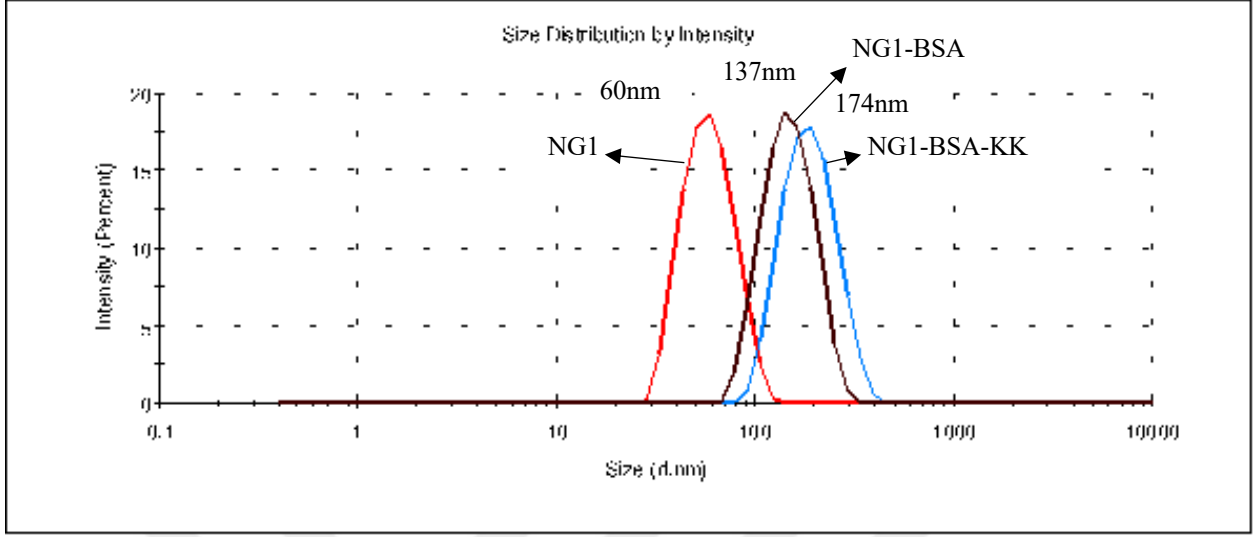
Şekil 6.44. 5 kGy ışınlanmış PAA-PVP IPC nanojeli (A) (2.0 mg/mL, % 25 aseton pH=3.27, 5 kGy ışınlanmış, ortalama boyut 45 nm) ve saf BSA'nin (B) 2 ve 3 boyutlu AFM görüntüleri.



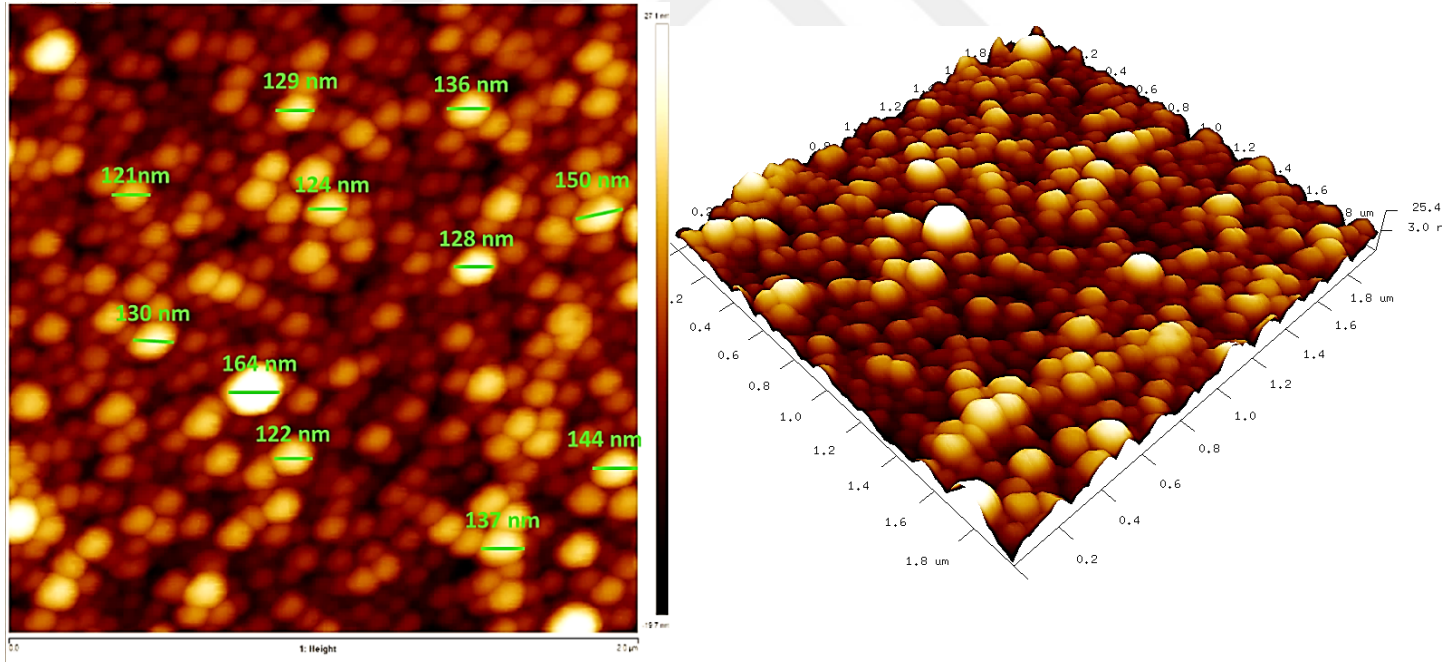
Şekil 6.45. PAA-PVP nanojeli ve BSA yüklenmiş PAA-PVP IPC nanojelinin (2.0 mg/mL, % 25 aseton, pH=3.27, 5 kGy ışınlanmış) DLS boyut dağılımları (BSA yüklendikten sonra ortamın pH'ı 4.96, BSA'nın pH'ı 6.92).



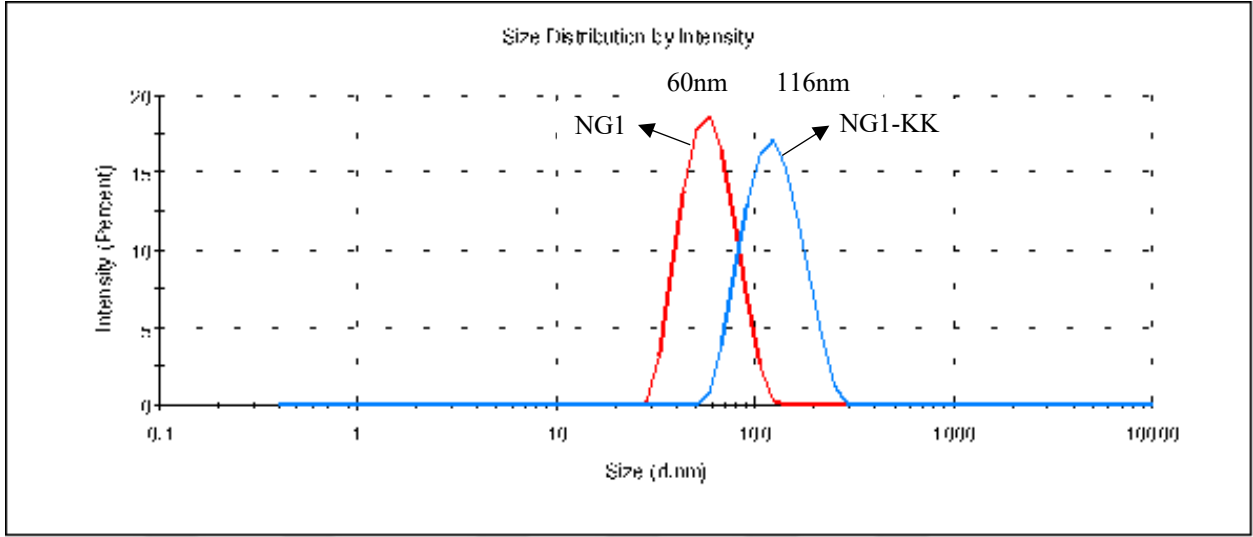
Şekil 6.46. BSA yüklenmiş PAA-PVP IPC nanojelinin (2.0 mg/mL, % 25 aseton pH=3.27 5kGy ışınlanmış) 2 ve 3 boyutlu AFM görüntüleri (ortalama boyut 102 nm).



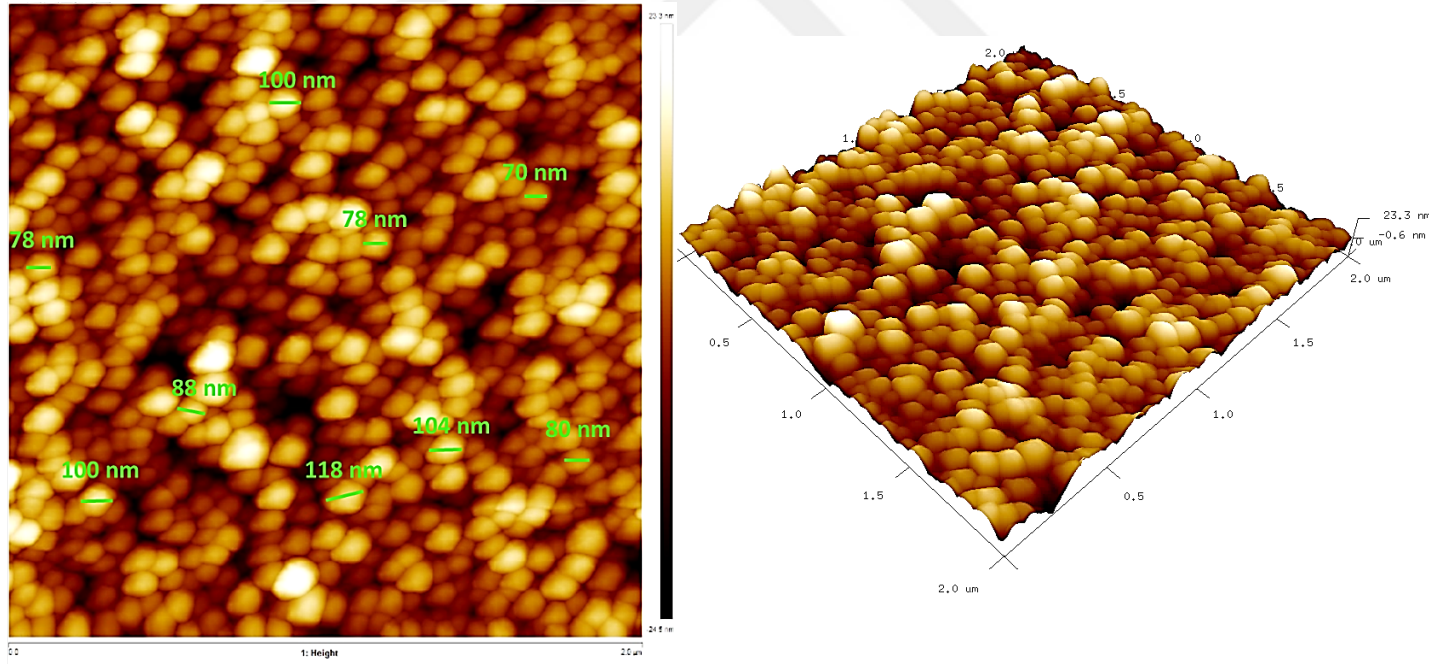
Şekil 6.47. BSA ve kurkumin yüklenmiş PAA-PVP IPC nanojelinin (2.0 mg/mL, % 25 aseton, pH=3.29, 5kGy ışınlanmış) DLS boyut dağılımları.



Şekil 6.48. BSA ve kurkumin yüklenmiş PAA-PVP IPC nanojelinin (2.0 mg/mL, % 25 aseton, pH=3.29, 5 kGy ışınlanmış) 2 ve 3 boyutlu AFM görüntüleri (ortalama boyut 135 nm).



Şekil 6.49. kurkumin yüklenmiş PAA-PVP IPC nanojelinin (2.0 mg/mL, % 25 aseton, pH=3.29 5 kGy ışınlanmış) DLS boyut dağılımları.



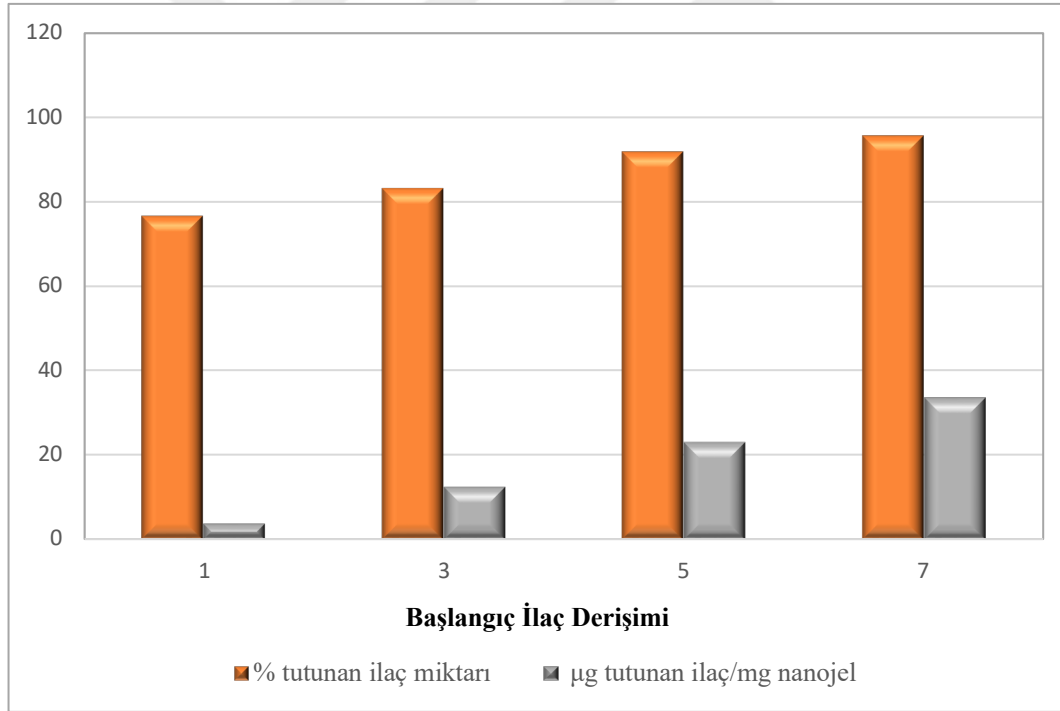
Şekil 6.50. kurkumin yüklenmiş PAA-PVP IPC nanojelinin (2.0 mg/mL, % 25 aseton, pH=3.29 5 kGy ışınlanmış) 2 ve 3 boyutlu AFM görüntüsü (ortalama boyut 90 nm).

6.1.8.2. Kurkuminin BSA'sız ve BSA varlığında PAA-PVP IPC nanojellerine yüklenmesi

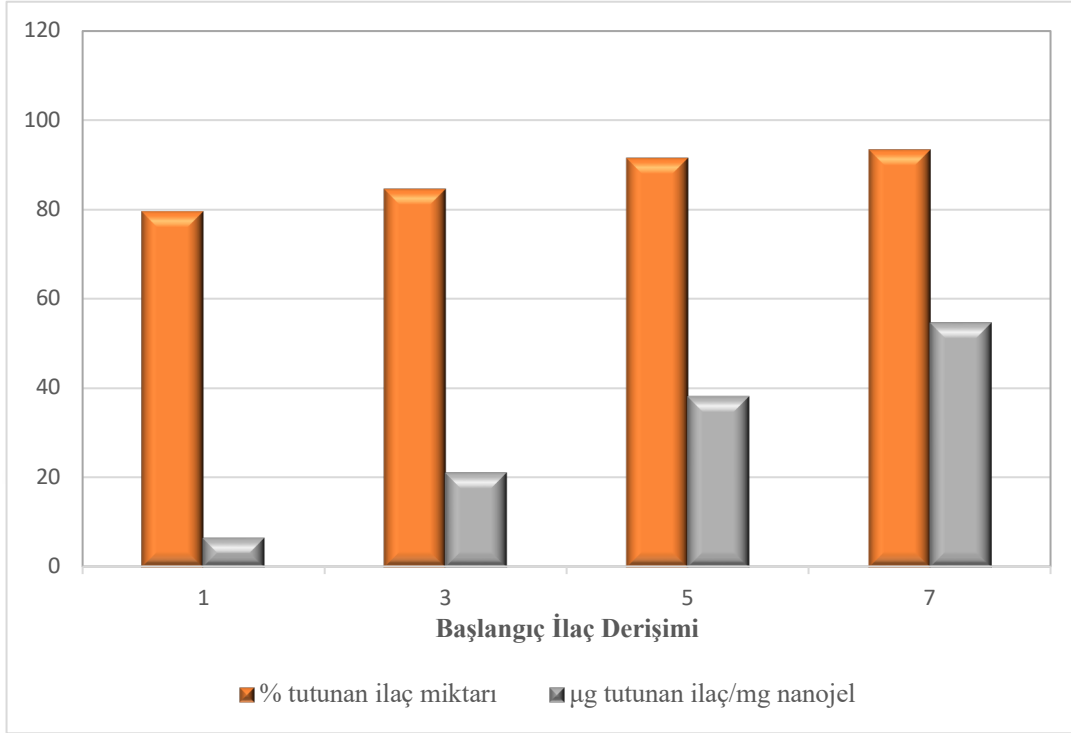
Kurkumin, farklı kanser hücrelerine karşı antikanser aktivitesi olan hidrofobik bir polifenoldür [211]. Kurkuminin terapötik etkinliği, bozulma ve metabolizmadan korunma yoluyla biyoyararlanımı artırılarak geliştirilebilir. Bu çalışmada, kurkumin yüklenmesi için PAA-PVP nanojelleri geliştirilmiş ve kullanılmıştır. Yükleme sırasında kurkumin, çapraz bağlı polimer ağının içinde tutulur. Kurkumin ve PAA-PVP nanojeli arasında güçlü moleküller arası hidrojen bağı etkileşimleri bulunur. PAA, yapısında reaksiyona girmemiş COOH grupları vardır bu karboksil grupları, kurkuminin OH gruplarıyla etkileşime girer ve nanojel içinde kurkumin yüklenmesini kolaylaştırır. Serbest kurkumin suda çözünmez. Kurkuminin nanojel içinde kapsüllenmesi çözünürlüğünü artırır. DLS analizlerinden çıplak nanojeller 60 nm civarında çap gösterir iken, kurkumin yüklenmesi nanojellerin boyutunu (116 nm) artırır. Çıplak ve kurkumin yüklü nanojellerin boyutlarındaki büyük farklılık, kurkuminin yüklenmesinden kaynaklanmaktadır. Nanopartiküllerin kan dolaşimleri sırasında yaşam sürelerini belirleyen bir diğer önemli faktör de yüzey özellikleridir. Makrofaj yakalanmasından kaçmak için bir nanoparçacık hidrofilik bir yüzeye sahip olmalıdır [212]. Pozitif yüzey yüküne ve hidrofobik yüzeye sahip nanopartiküller, protein adsorpsiyonunu ve retiküloendotelyal temizlenmeyi destekler [213]. Bu nedenle, negatif yüzey yükleri taşıyan hidrofilik polimerlerden hazırlanan nanopartiküller, kanser hücrelerine başarılı ilaç dağıtımı için uygun adaylar olarak kabul edilmektedir [214]. Çıplak PAA-PVP nanojelleri -29.4 ± 6.60 mV negatif zeta potansiyeli sergilemiştir. Kurkumin yüklü PAA-PVP nanojelleri, -31 ± 5.21 mV'lik bir zeta potansiyeli göstermiştir. Bu durum, kurkumin ve nanojeller arasında etkileşim olduğunu gösterir. Kurkumin yükendikten sonra nanojelin yüzey yükü koloidal stabilite aralığındadır. Parçacık boyutu vücuttaki nanoparçacıkların dağılımını yönetirken; zetapotansiyel, sistemdeki kararlılıklarını belirler. Kararlı bir nano-süspansiyon için, nanoparçacıkların zeta potansiyeli ideal olarak ± 30 mV'den fazla olmalıdır [215].

PVP-PAA IPC nanojelline kurkumin yüklenmesi, 1.0 mL NG çözeltisine (2 mg/mL) damla damla 100 μ L kurkumin çözeltisi (1, 3, 5 ve 7 mg/mL) eklenerek gerçekleştirilmiştir. Daha sonra çözelti, 25 °C'de rotatöre konmuş ve 1 gün boyunca ilaç yüklemesi yapılmıştır. Rotatörden alınan çözelti 4 °C'de 14000 rpm hızla 30 dakika boyunca santrifüj edildikten sonra çöken ilaç yüklü nanojeller ve yüklenmemiş ilaç içeren çözelti birbirinden ayrılmıştır. Yüklenen ilaç yüzdesi ve

miktari deneysel çalışmalar kısmında Eş. 5.1 ve 5.2’de verilen eşitlikle hesaplanmıştır. Şekil 6.51 ve 52’de başlangıç derişimlerine karşılık gelen %tutunma ve μg tutunan ilaç miktarı/mg polimer değerleri verilmiştir. Kurkuminin PAA-PVP NG’lerine yüklenemesi, NG’nin kendi pH’ında (pH 3.50) gerçekleşmiştir. Daha düşük pH’ta yükleme kurkuminin stabilitesi için ek bir avantajdır [216]. Şekil 6.51 ve 52’de PAA-PVP NG’lerinin BSA’sız ve BSA varlığında kurkumin yüklenmesi görülmektedir, NG-KK ve NG-BSA-KK sistemleri için yükleme verimliliği, tüm ilaç konsantrasyonlarında yüksek çıkmıştır. Diğer yandan NG-BSA-KK sisteminde yükleme kapasitesi mg nanojel başına NG-KK sisteminden daha yüksek olduğu görülmüştür. BSA’nin adsorpsiyonu kurkuminin yükleme kapasitesin artırmıştır, bu da kurkumin ve BSA’nın yoğun H-bağı yaptığından kaynaklanmaktadır.



Şekil 6.51. 1, 3, 5 ve 7 mg/mL başlangıç derişimindeki kurkuminin 5 kGy ışınlama ile elde edilmiş IPC nanojele tutunma yüzdeleri ve mg nanojele μg olarak tutunan ilaç miktarı.



Şekil 6.52. 1, 3, 5 ve 7 mg/mL başlangıç derişimindeki kurkuminin 5 kGy ışınlama ile elde edilmiş IPC nanojele BSA varlığında tutunma yüzdeleri ve mg nanojele µg olarak tutunan ilaç miktarı.

Çalışmanın bu kısmında BSA'lı ve BSA'sız PAA-PVP nanojellerine kurkumin adsorpsiyonu ve salınması çalışmasının sonuçları verilmiş ve tartışılmıştır.

6.1.8.3. Kurkuminin BSA'sız ve BSA varlığında salımı

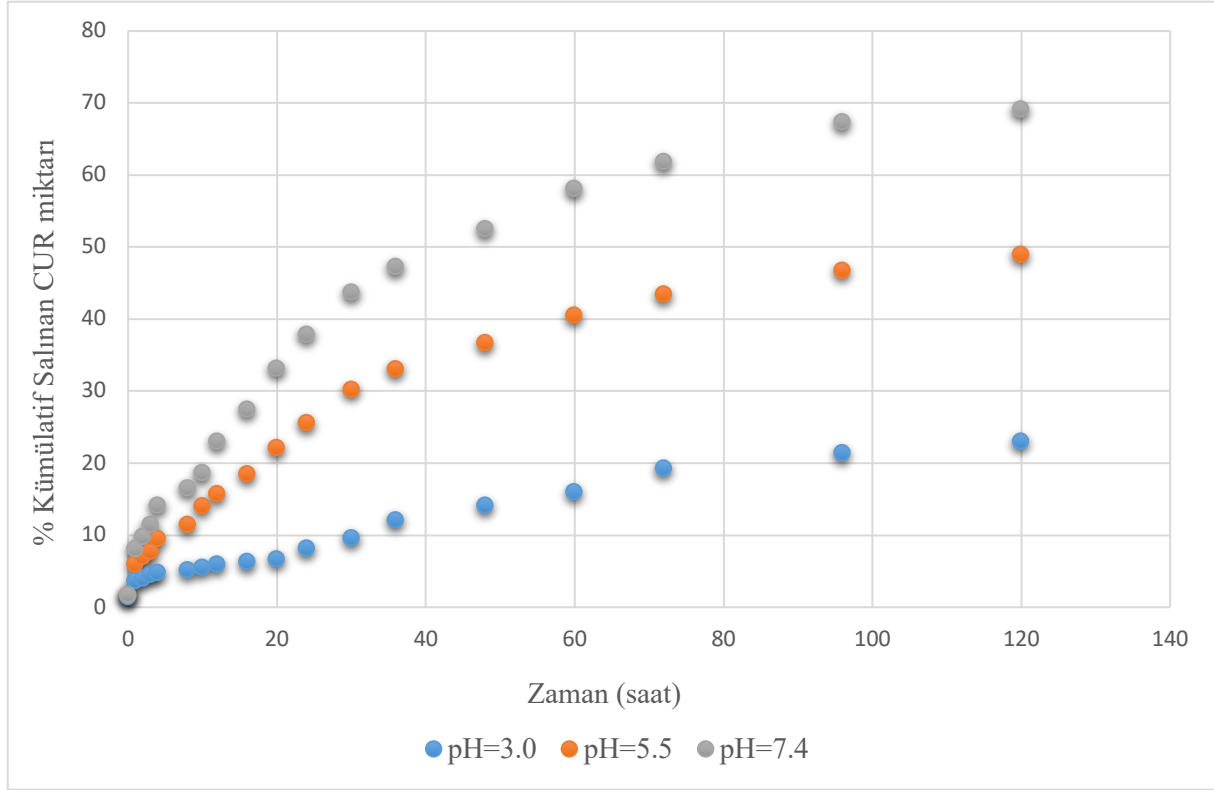
6.1.8.3.1. NG(PAA-PVP)/KK sistemi

PAA-PVP IPC nanojeli ile 3 farklı pH'da (3.0, 5.5 ve 7.4) %1 Tween-80'li PBS ortamında 37°C'de salım çalışmaları yapılmıştır. IPC nanojellerine kurkumin yüklenmesi, 1.0 mL IPC nanojel çözeltisine (2.0 mg/mL) damla damla 100 µL kurkumin çözeltisi (1, 3, 5 ve 7 mg/mL) eklenerek gerçekleştirilmiştir. Aynı işlem BSA tutunmuş IPC nanojellerine de yapılmıştır. Daha sonra çözeltiler 25 °C'de rotatöre konmuş ve 1 gün boyunca ilaç yüklemesi yapılmıştır. Rotatörden alınan çözeltiler 4 °C'de 14.000 rpm hızla 30 dakika boyunca santrifüj edildikten sonra çöken ilaç yüklü nanojeller ve yüklenmemiş ilaç içeren çözelti birbirinden ayrılmıştır. İlaç

salım çalışmaları için ilaç yüklenmiş IPC nanojelleri 6.0 mL fosfat tamponu ile Şekil 5.7’de gösterilen ilaç salım hücresinin nanojel doldurma girişinden hücreye yerleştirilmiştir. Karşı hücreye de 6 mL aynı tampon çözeltisi konmuştur. İki hücre arasında sadece kurkuminin geçişine izin veren bir diyaliz membranı (12-14 kDa MWCO) yerleştirilmiştir. Belirli aralıklarla karşı hücreden 2.0 mL çözelti alınıp yerine 2.0 mL PBS eklenmiştir.

Kurkumin'in üç önemli foksiyonel grubu vardır: iki fenolik grup, iki fenil halkası arasında üç çift bağ ve keto-enol tautomerizmi. Aromatik gruplar hidrofobiklik ve doymamış bağlar esneklik sağlar. Tautomerik yapılar, kurkumin molekülünün hidrofobikliğini ve polaritesini etkiler. Kurkuminin tüm bu ayrıcalıklı özellikleri, sulu bir ortamda BSA gibi çeşitli biyomakromoleküllerle bağlanabilmesini sağlar. Ayrıca, H-bağı, hidrofobiklik ve elektrostatik etkileşimler, kurkuminin NG'lere bağlanmasını artırır. Kurkuminin maksimum yükleme verimliliği, H-bağı ve hidrofobik etkileşimlerin bir sonucu olarak ortaya çıkar. Bu çalışmada hidrofobik ilaç moleküllerinin adsorpsiyonu için tamamen hidrofilik yapıda olan yeni bir nanotaşıyıcı türünü başarıyla tasarladık. Kurkumin gibi hidrofobik ilaç molekülleri yüzeye kolayca emilmez. Bu sorunu çözmek için, albümin molekülünde bulunan farklı ilaç bağlama bölgeleri yardımıyla kayda değer miktarda ilaç, nanojel matrisinde tutulabildiğinden albümine dayalı ilaç yükleme/salım sistemleri hazırladık. BSA, IPC nanojellerinin hem içine difüzlenerak hem de NG'lerin yüzeyinde bir kabuk oluşturarak, ilaç yüklü nanotaşıyıcının kararlılığını ve biyoyumluluğunu arttırmaktadır. BSA kabuğunun hidrofilik çekirdeğin etrafını kaplaması, nanotaşıyıcının stabilitesini ve biyoyumluluğunu iyileştir. Şekil 6.53'te görüldüğü gibi, formülasyonlardan kurkuminin başlangıçtaki salımı tüm pH değerlerinde, nanojellerin yüzeyinde biriken veya zayıf şekilde bağlanmış kurkumin moleküllerinin bir patlama salımı olarak kabul edilmektedir. Şekil 6.53'te görüldüğü gibi pH 3.0'te çok az ilaç salımı (%23), 120 saatlik bir kontrollü salım aşamısında gerçekleşmiştir. pH 3.0'te, PAA'nın karboksik grupları tamamen protene olup PVP'nin karbonil grupları ile güçlü H-bağları oluşturarak NG'nin çok sıkı bir yapı almasına sebep olduğundan kurkumin salımını engellenmiştir. Diğer yandan kurkumin molekülleri, PAA'nın protonlanmış karboksilik grupları ve PVP'nin karbonil grupları ile H-bağı yaparak bu pH değerinde salımın az gerçekleşmesine neden olmuştur. Öte yandan, pH 5.5'te 4 saatlik bir patlama salımından sonra, 5 gün boyunca %49'luk kontrollü bir salım gerçekleştiği görülmektedir. pH 5.5'te salım pH 3.0 göre daha fazla olmuştur. Bu, PAA'nın karboksilik gruplarının nispeten deprotene olmasından ve COO^- grupları arasındaki itmenin bir sonucu

olarak nanojelin şişmesi ve kurkumin moleküllerinin salınması ile açıklanabilir. Ama bu pH değerinde, salım hala çok fazla gerçekleşmemiştir bunun nedeni kurkumin moleküllerinin pH 5.5'te PAA'nın deprotone olmamış karboksilik grupları ve PVP'nin karbonil grupları ile oluşturduğu H-bağlarına atfedilebilir. Şekil 6.53'te görüldüğü gibi pH 7.4'te ilk 4 saatlik bir patlama salımından sonra 5 gün boyunca %69'luk bir kontrollü salım gerçekleşmiştir. Kurkumin, pH 7.4'te PAA-PVP IPC nanojelinden diğer iki pH'a kıyasla hızlıca salınmıştır. Böylesine yüksek bir pH değerinde, PAA'nın karboksilik grupları tamamen deprotone olur, bu da PAA ve PVP arasındaki H-bağı etkileşimlerinin yok olmasına sebep olarak IPC nanojel yumağının kompakt bir şekilde birleştirilmesini engeller ve COO^- gruplarının artmasından dolayı IPC nanojelin şişmesine neden olur. Böylece, kurkumin şişen nanojel yapısından daha kolay ve hızla salınabilir. Kurkumin PAA'nın pKa değerinin altındaki pH'larda, PAA'ya bağlanabildiği için daha yavaş salınır. PAA'nın pKa değerinin üstündeki pH'larda ise, karboksilik gruplar karboksilat gruplarına dönüştürüldüğü için, kurkuminin PAA'a bağlanması azalır, bu da salım hızını artırır. Asidik ortamlarda kurkuminin keto formu baskın olduğu için bağlanma kabiliyeti daha fazladır, bazik ortamlarda kurkuminin enollenmiş formu baskın olduğundan, bağlanması çok daha azalır bu da salım lehine olur ve daha hızlı salımı destekler. Kurkuminin salımı, esas olarak IPC-NG ağlarının daralmasına ve genişlemesine bağlıdır. IPC-NG ağının daralması ve genişlemesi, yukarıda tartışıldığı gibi IPC-NG'lerin pH duyarlılığı temelinde açıklanabilmektedir.



Şekil 6.53. %1 Tween-80 ile pH 3.0, 5.5 ve 7.4 değerlerinde PBS ortamında zamanla NG-KK sisteminden % kümülatif salınan ilaç miktarı.

6.1.8.3.2. NG(PAA-PVP) / BSA-KK sistemi

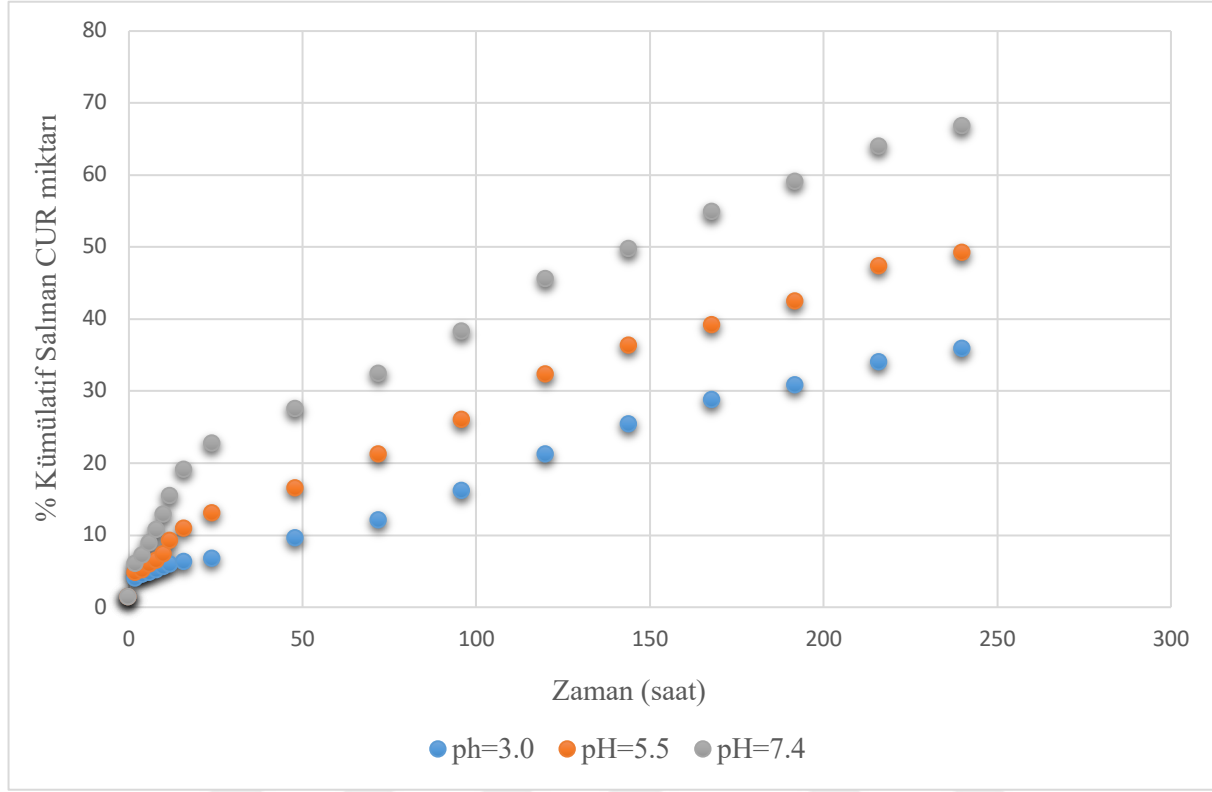
NG'lerin yapısına BSA adsorpsiyonu, yüklü ilacın salım profilini değiştirebilir. Şekil 6.54'te gösterildiği gibi, ilk patlama salımı ve ayrıca NG-BSA-KK'nın her bir zaman noktasında kümülatif olarak salınan miktar, NG-KK'den önemli ölçüde daha düşüktür. Bu ilginç bulgu, yüklü KK'nın NG'lerden salınmasının BSA varlığında önemli ölçüde yavaşladığını göstermektedir. Bu durum, kurkumin, protein (BSA) ve nanojeller arasındaki etkileşimlerle oluşturulan kompozit koloidal nanopartiküllerin kompakt yapısına atfedilebilir. BSA'nın NG yüzeyine adsorpsiyonunun, kısmen hidrojen bağlarının, hidrofobik etki ve/veya van der Waals kuvvetlerinin oluşumuna bağlı olarak partikül yapısını bir ölçüde stabilize edebileceği varsayılmaktadır. Artan kararlılık, kurkuminin NG-BSA yapısından daha yavaş salınmasının nedenlerinden biri olabilecek bu da NG'lerin bozulmasını yavaşlatıp ilaç salımını geciktirecektir. Bu ilginç durumun bir başka nedeni de BSA koronasının kurkuminin ortama nüfuzunu

sınırlayarak fiziksel bir bariyer görevi görebilmesidir. Bilindiği kadarıyla, ilk patlama salımı ilaç yüklü pek çok NP sistemi için yüksektir ve verimli ilaç dağıtımı için önemli bir sorun haline gelmektedir [217-218]. Bu çalışmada, Şekil 6.53'ten NG-KK'lerin ilk patlama salımının çok düşük olduğunu görebiliriz. Ayrıca, NG-BSA-KK'nın ilk patlama salımı önemli ölçüde daha düşüktür, bu da NG'ler etrafında BSA oluşumunun ilk patlama salımını azaltmak için etkili bir strateji olabileceğini düşündürür.

Yaklaşık 10 gün sonra kurkuminin %67'si kontrollü olarak bazik pH'ta salınmıştır. Bazik pH'ta asidik pH'a (3.0) kıyasla artan kurkumin salımı, PAA-PVP IPC nanojelleri ile BSA kompleksi arasındaki etkileşimlerin azalmasından kaynaklanmaktadır. Daha yüksek pH'ta (pH 7.4) artık PAA birimleri ve BSA'da bulunan karboksilik grupları deprotonlanır (COO^-) ve komşu negatif yükler arasındaki itici kuvvetler nedeniyle NG şişer ve daha fazla miktarda kurkuminin salımı gerçekleşir.

pH 5.5 salım profilinde Şekil 6.54'te görüldüğü gibi yaklaşık %50 kontrollü ilaç salımı gerçekleşmiştir, bu pH'ta COOH grupları kısmen disosiyasyon olur (PAA'nın pK_a değerinin üzerinde olduğu için) ve pH 7.4 gibi şişmeyi destekler bu da ilacın difüzyonunu hızlı bir şekilde gerçekleştirir.

NG-BSA-KK sisteminin ilaç salım çalışmalarının sonuçları, NG-KK sistemi ile kıyaslandığında asidik pH'ta (BSA'nın izoelektrik noktasının altında), BSA pozitif yüke sahip olduğu için ve arasındaki itmelerden dolayı pH 3'te daha fazla ilaç salımı görülmüştür. NG-KK sisteminde pH 3'te %22 ve NG-BSA-KK sistemi için aynı pH'da %35 ilaç salınmıştır.



Şekil 6.54. %1 Tween-80 ile pH 3.0, 5.5 ve 7.4 değerlerinde PBS ortamında NG-BSA-KK sisteminden zamanla % kümülatif salınan ilaç miktarı.

6.1.8.4. Kurkuminin Salım Kinetiklerinin İncelenmesi

İlaç salım mekanizmasını ve ilaç salım kinetiğini detaylı incelemek amacıyla matematiksel modellemeler kullanılmıştır. Matematiksel modeller, ilaç salımının fiziksel parametrelerinin belirlenmesine yardımcı olarak salım kinetiğinin tespitinde önemli bir role sahiptirler. İlaç salım sistemlerinin mekanizmalarını ortaya çıkarmak için birkaç model geliştirilmiştir. Hangi modelin uygun olup olmadığına elde edilen eğrilerin korelasyon katsayıları ile (R^2) karar verilir. Korelasyon katsayısı en yüksek olan model, ilaç salım kinetiğine en uygun model olarak kabul edilir. Salım kinetiğinin belirlenmesinde en çok kullanılan matematiksel modeller, sıfırıncı dereceden salım, birinci dereceden salım, Higuchi modeli, Hixson-Crowell modeli ve Korsmeyer-Peppas model salımlardır [219, 220]. NG-KK ve NG-BSA-KK sistemlerinden gerçekleşen salım sonuçları sıfırıncı derece, birinci derece, Higuchi, Hixson-Crowell ve Korsmeyer-Peppas modelleri ile analiz edilmiştir.

Sıfırıncı derece modeli: Sıfırıncı dereceli kinetik için, salım hızı çözünen türlerin konsantrasyonundan bağımsızdır ve parçalanma olmaması nedeniyle yavaş salım elde edilir [221]. Belirli dozlarda ilacın yavaşça salımı Denklem 6.1 ile ifade edilebilmektedir.

$$Q_t = Q_0 + K_0 t \quad (6.1)$$

Burada Q_t , t zamanında çözünen ilaç miktarı, Q_0 başlangıçta çözeltide bulunan ilaç miktarı ve K_0 sıfır dereceli salım sabitidir (konsantrasyon/zaman). Salım verileri, sıfırıncı dereceli denkleme, yani elde edilen kümülatif ilaç miktarlarının zamana karşı grafiğinin çizilmesi ile salım profili oluşturulmaktadır.

Birinci derece modeli : İlaç salım çalışmalarına uygulanması ilk olarak 1967 yılında Gibaldi ve Feldman tarafından Noyes-Whitney denklemini aşağıdaki biçimde uyarlayarak önerilmiştir [222]:

$$\log Q_t = \log Q_0 + K_1 t \quad 2.303 \quad 6.2$$

Burada Q_t , t anında salınan ilaç miktarı, Q_0 çözeltideki ilacın başlangıç miktarı ve K_1 birinci dereceden salım sabitidir. Salım hızının çözünen türlerin konsantrasyonuna bağlı olduğu sistemler birinci dereceden kinetiği takip eder. Bu durumda salınan ilaç miktarı zamanla azalır. Zamana karşı kümülatif ilaç konsantrasyonu yüzdelerinin logaritma değerleri çizilerek elde edilir.

Higuchi modeli: Bir matris sisteminden ilaç salımını tanımlamayı amaçlayan bir matematiksel modelin ilk örneği, 1961'de Higuchi tarafından önerilmiştir. Yarı katı matrislere dahil edilen suda çözünür ve düşük çözünürlüğe sahip ilaçların salımını incelemek için birkaç teorik model geliştirdi [223]. Zamanın kareköküne karşı salınan kümülatif ilaç miktarı yüzdesi çizildiğinde doğrusal bir artış vermelidir. Bu modele uyan salımların difüzyon kontrollü olduğu söylenir. Higuchi modeli, çözünmeyen matristen ilaç salımını, Fickian difüzyonuna dayalı olarak zamanın karekökü olarak tanımlar.

$$Q_t = K_H t^{1/2} \quad 6.3$$

Burada Q_t , t zamanında salınan ilaç miktarı ve K_H , Higuchi modeli için salım hızı sabitidir.

Hixson-Crowell modeli: Hixson ve Crowell (1931), parçacıkların yüzey alanının hacimlerinin küp köküyle orantılı olduğunu kabul ederek, t zamanında salınan ilaç miktarını tanımlayacak bir denklem türetmiştir. Yüzey alanının hacimlerinin küp kökü ile orantılı olduğunu belirleyerek;

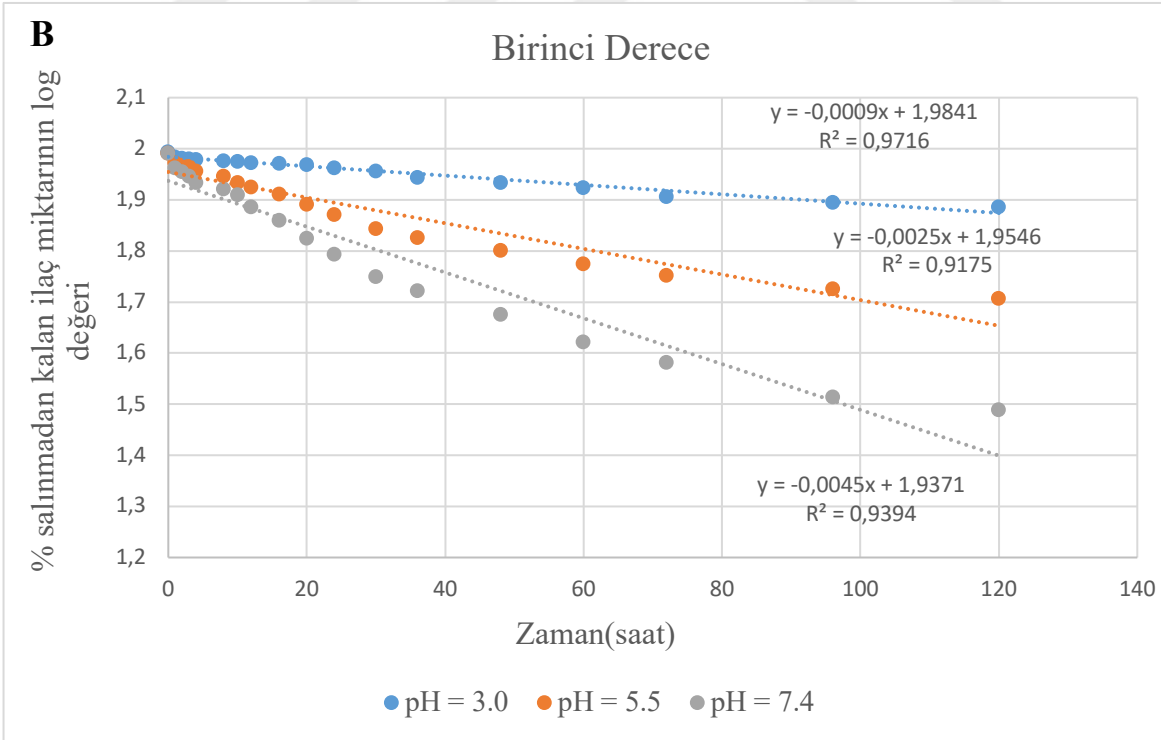
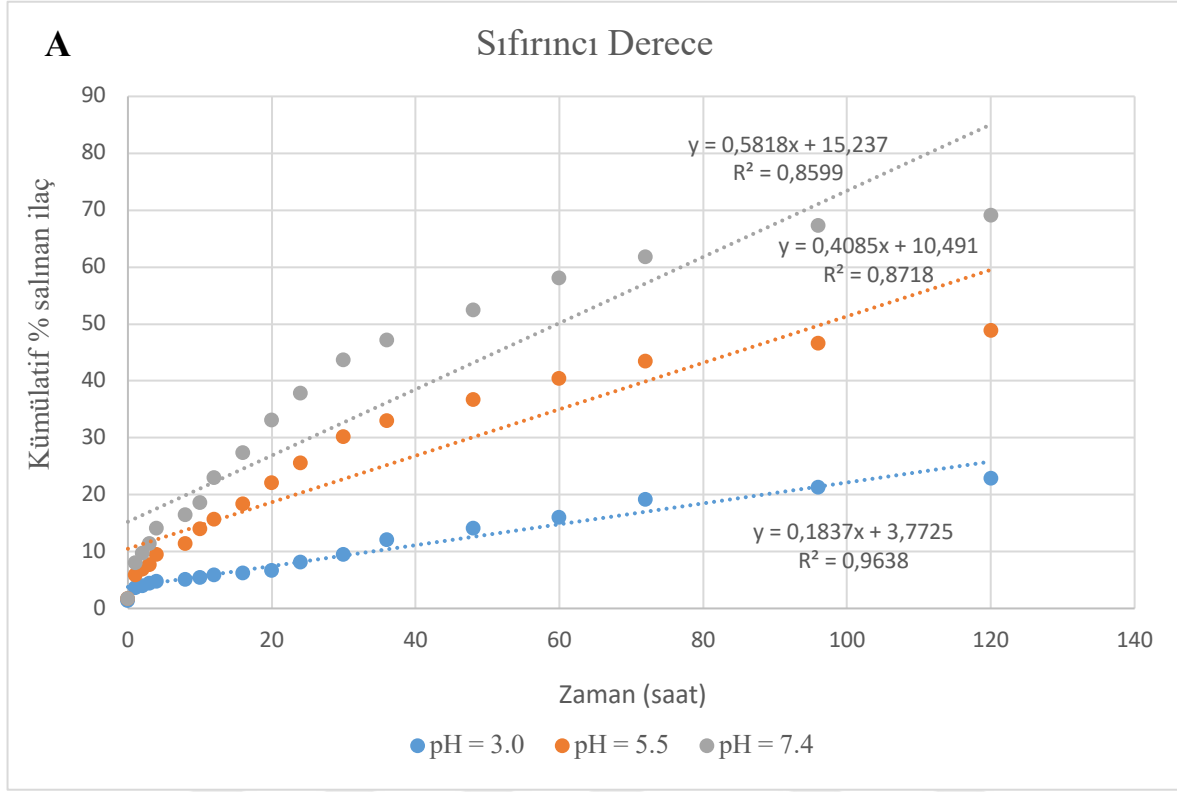
$$Q_0^{1/3} - Q_t^{1/3} = K_{HC}t \quad 6.4$$

Burada Q_t , t zamanında salınan ilaç miktarı, Q_0 ilacın başlangıç miktarı ve K_{HC} yüzey-hacim ilişkisini oluşturan hız sabitidir. Bu salım profilini takip eden farmasötik dozaj formları, partiküllerin veya tabletlerin yüzey alanında ve çapında değişim oluşan sistemlerden gerçekleşen salımı ifade etmektedir [224]. Bu modele göre salım verileri, zamanın bir fonksiyonu olarak matraste geriye kalan % ilaç miktarının küp kökünün zamana karşı grafiğinin çizilmesi ile ilaç salım profili elde edilmektedir.

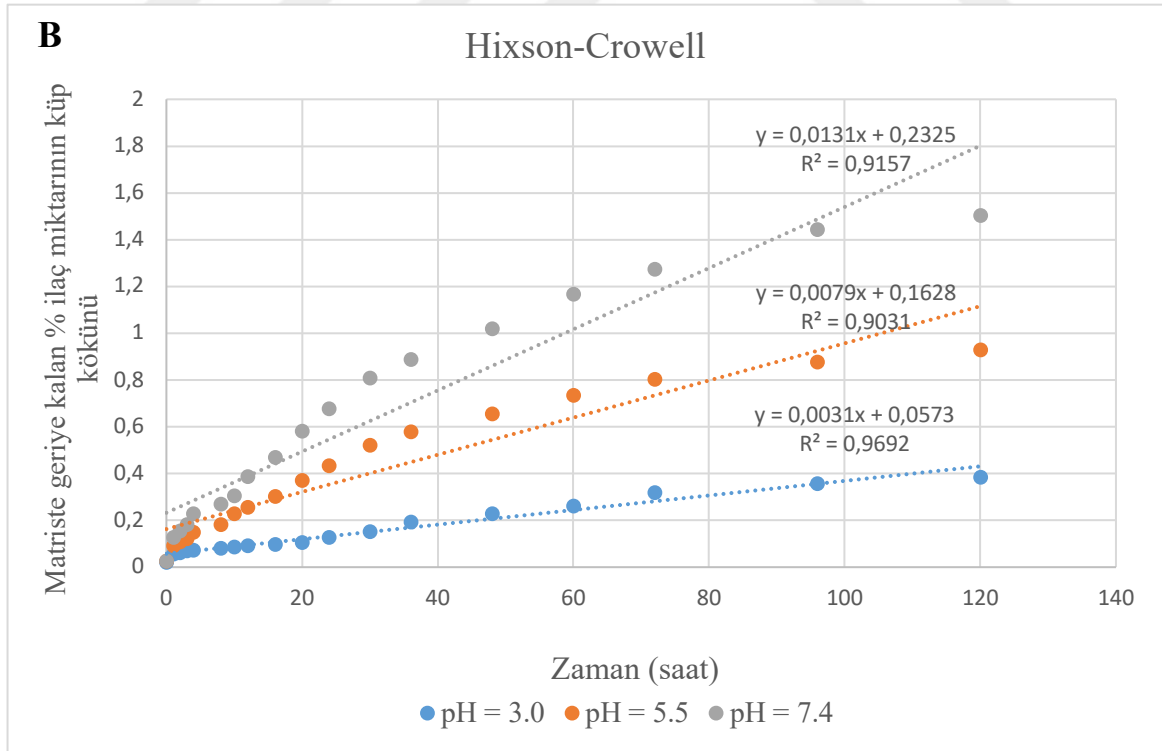
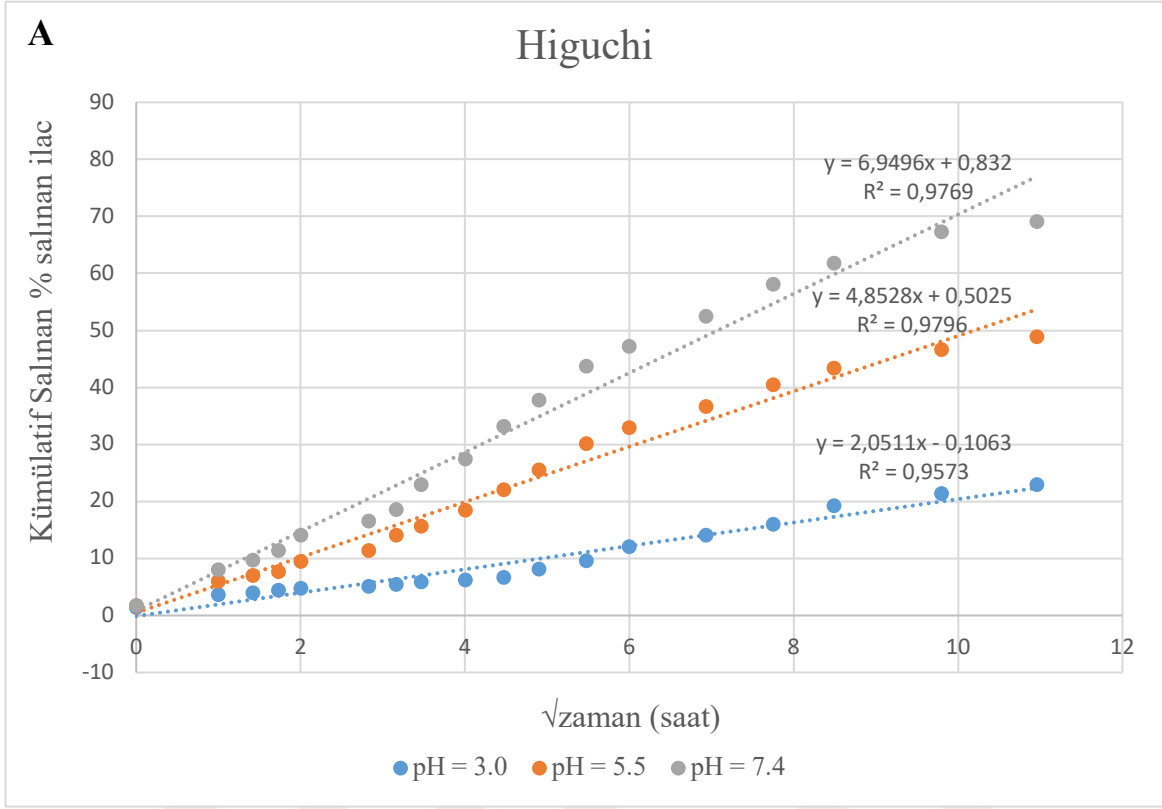
Korsmeyer-Peppas modeli: Korsmeyer ve arkadaşları, polimerik sistemlerden ilaç salınımını ifade eden bir denklem oluşturmuşlardır. İlaç salım mekanizması, salım verilerinin ilk %60'ı dahil olmak üzere Korsmeyer ve Peppas modeli ile temsil edilebilir.

$$M_t/M_\infty = Kt^n \quad 6.5$$

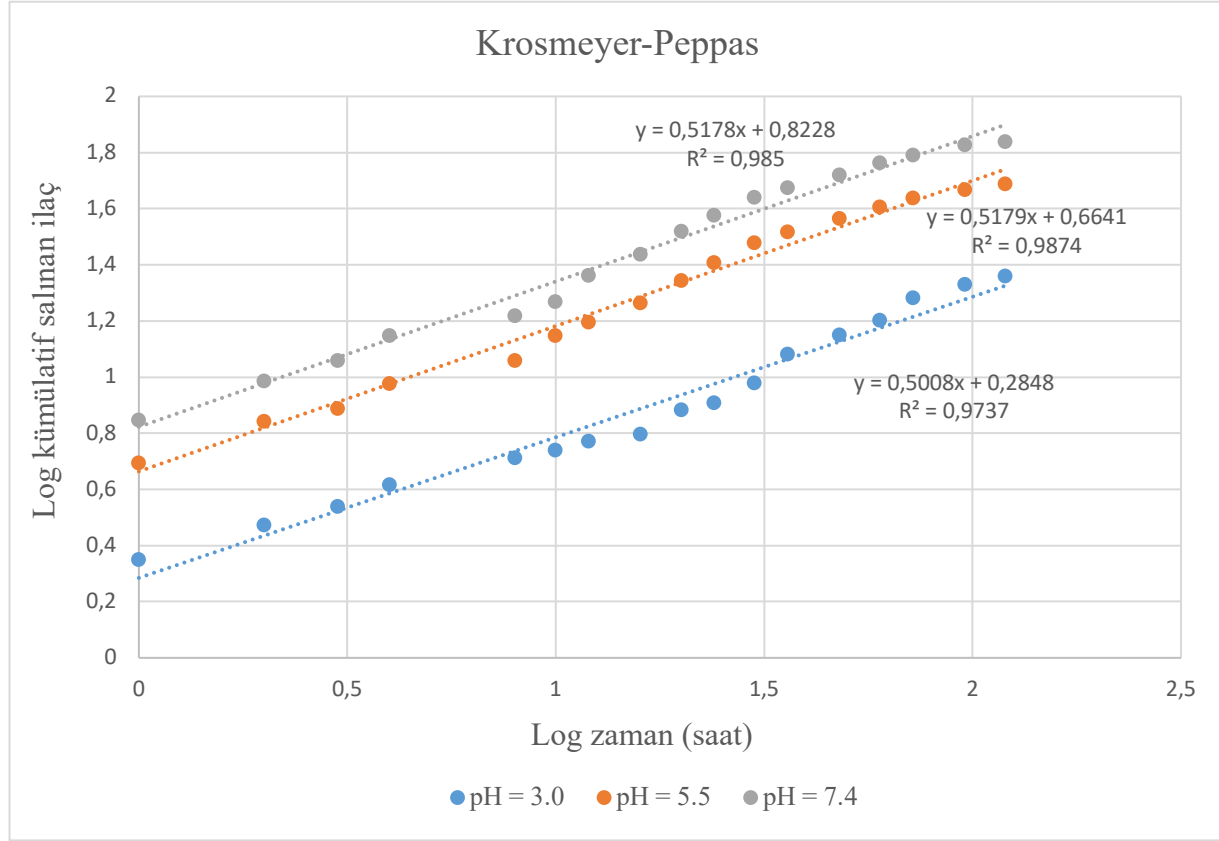
Burada M_t/M_∞ t zamanında salınan ilacın fraksiyonu, K hız sabiti ve n salım üssüdür. n değeri, farklı salım mekanizmalarını karakterize etmek için kullanılır, yani Fickian difüzyon için $n = 0.5$ ve Fickian olmayan bir modeli izleyen kütle transferi için ise n, 0.5 ile 1.0 arasında daha yüksek değerler alır veya $n=1.0$ olur [225]. Korsmeyer–Peppas modelinde ilaç salım profilini elde etmek için log kümülatif ilaç salım yüzdesi ile log zamana karşı grafiği çizilmektedir.



Şekil 6.55. NG-KK sistemi için ilaç salım kinetik profilleri; Sıfırıncı Derece (A) Birinci derece (B)



Şekil 6.56. NG-KK sistemi için ilaç salım kinetik eğrileri; Higuchi (A), Hixson-Crowell (B)

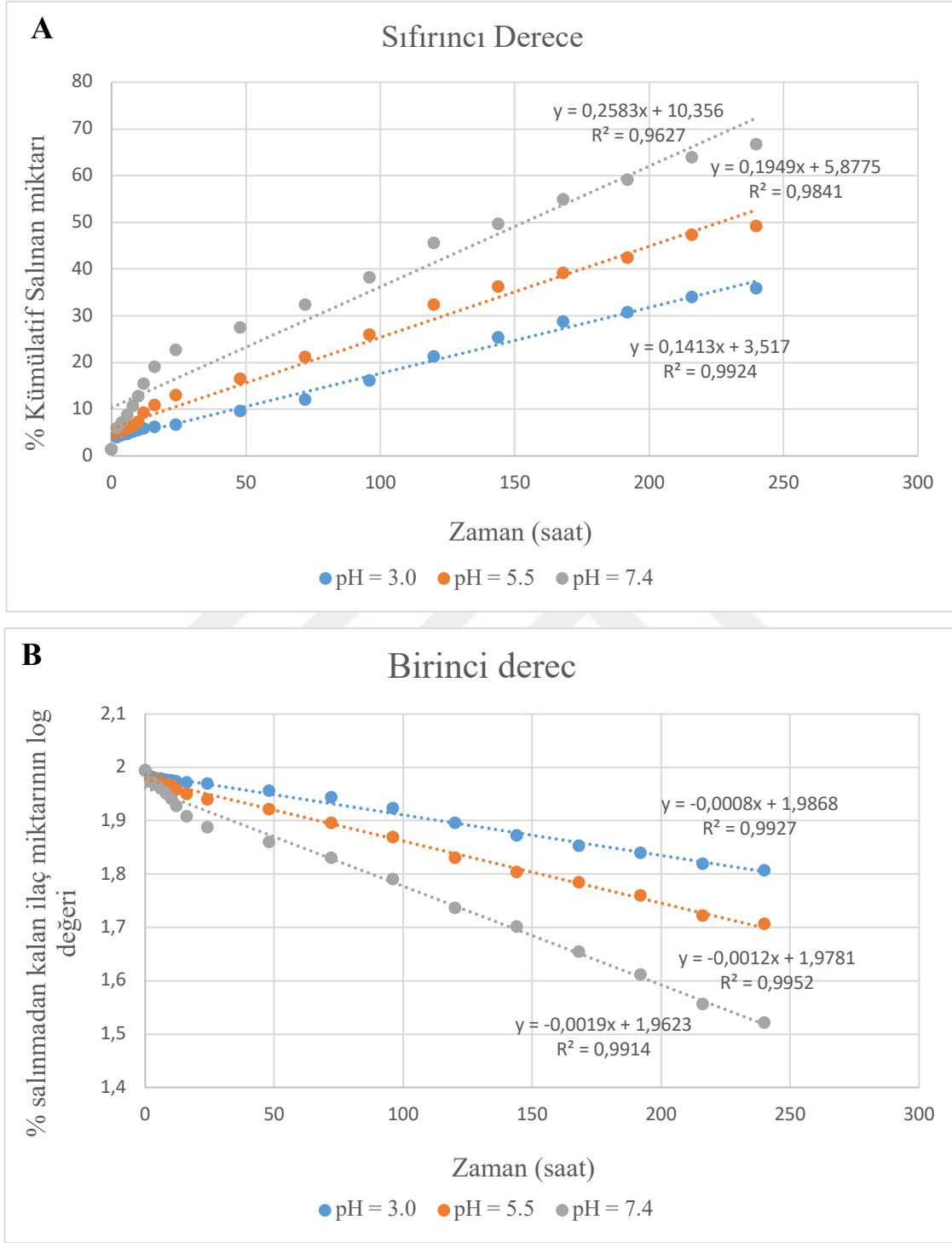


Şekil 6.57. NG-KK sistemi için Korsmeyer-Peppas ilaç salım kinetik profili.

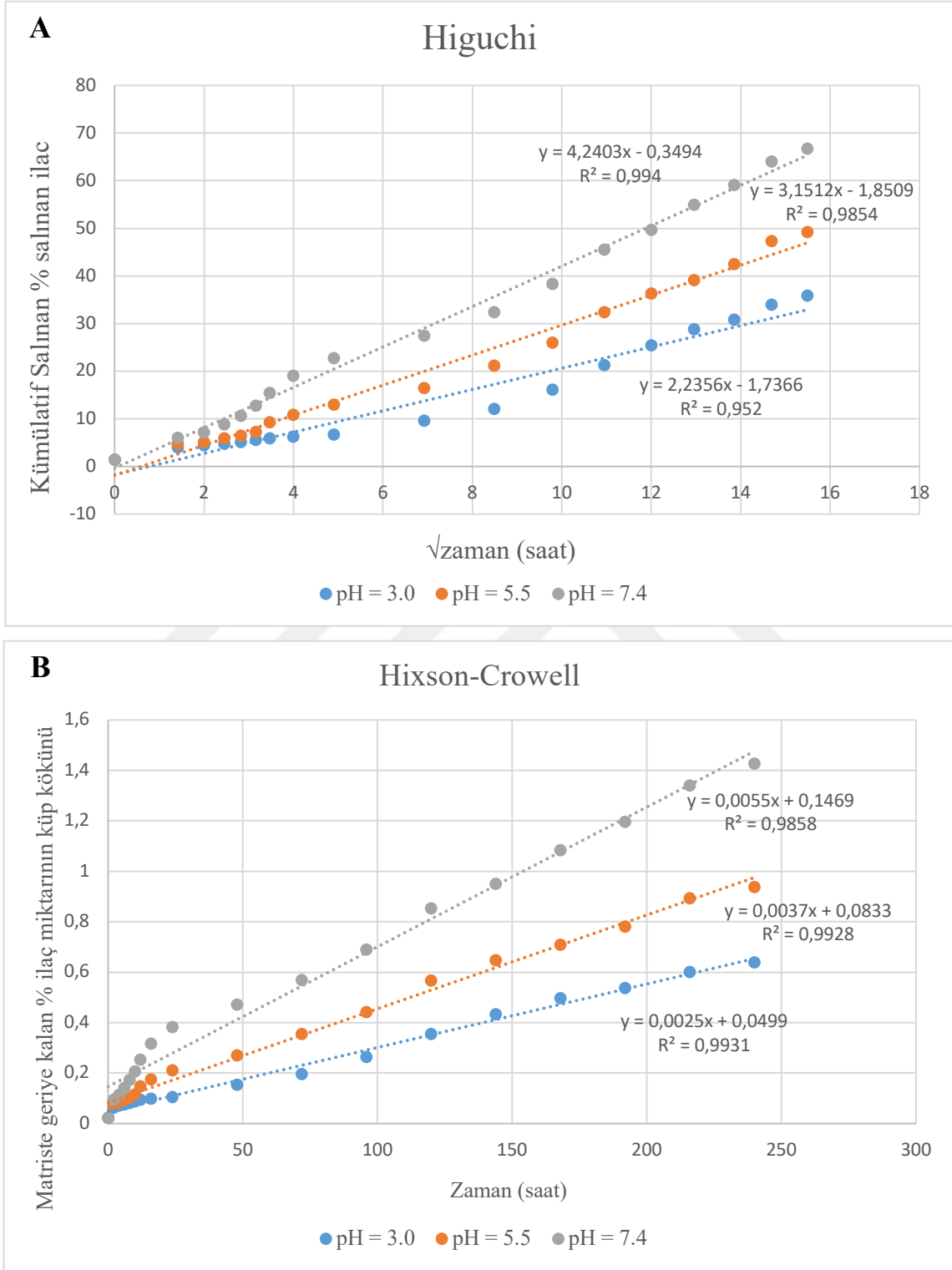
NG(PAA-PVP)-KK sistemi için sıfırıncı mertebeden, birinci mertebeden, Higuchi, Hixson-Crowell ve Korsmeyer-Peppas kinetik modellerine ait karşılaştırmalı salım profilleri Çizelge 14'te özetlenmiştir. Korsmeyer-Peppas modeline göre kinetik hesaplamalardan elde edilen salım kuvveti (n) parametreleri incelendiğinde, pH 3.0-7.4 aralığında PAA-PVP nanojellerinin yapısına ait ilaç salım kuvvetinin $0,45 < n < 0,89$ aralığında olduğu ve dolayısıyla bu yapıların Fickian yasasına uymayan ilaç salımı yaptığı belirlenmiştir. Bu sonuç salımın difüzyon kontrollü olduğunu göstermektedir. Özetlemek gerekirse, PAA-PVP IPC nanojeline farklı konsantrasyonlarda kurkumin yüklendi ve salım çalışmaları yapıldı. Yüklenen ilaç miktarındaki artış kurkuminin salımını hızlandırmış ve salım kinetiği incelendiğinde Korsmeyer-Peppas modeli ile uyumlu olarak difüzyon kontrollü salımın gerçekleştiği görülmüştür.

Çizelge 14. NG-KK için sıfırıncı derece, birinci derece, Higuchi, Hixson-Crowell ve Korsmeyer – Peppas denklemlerinin uygulanmasından elde edilen çözünme hızı sabitleri ve R^2 değerleri.

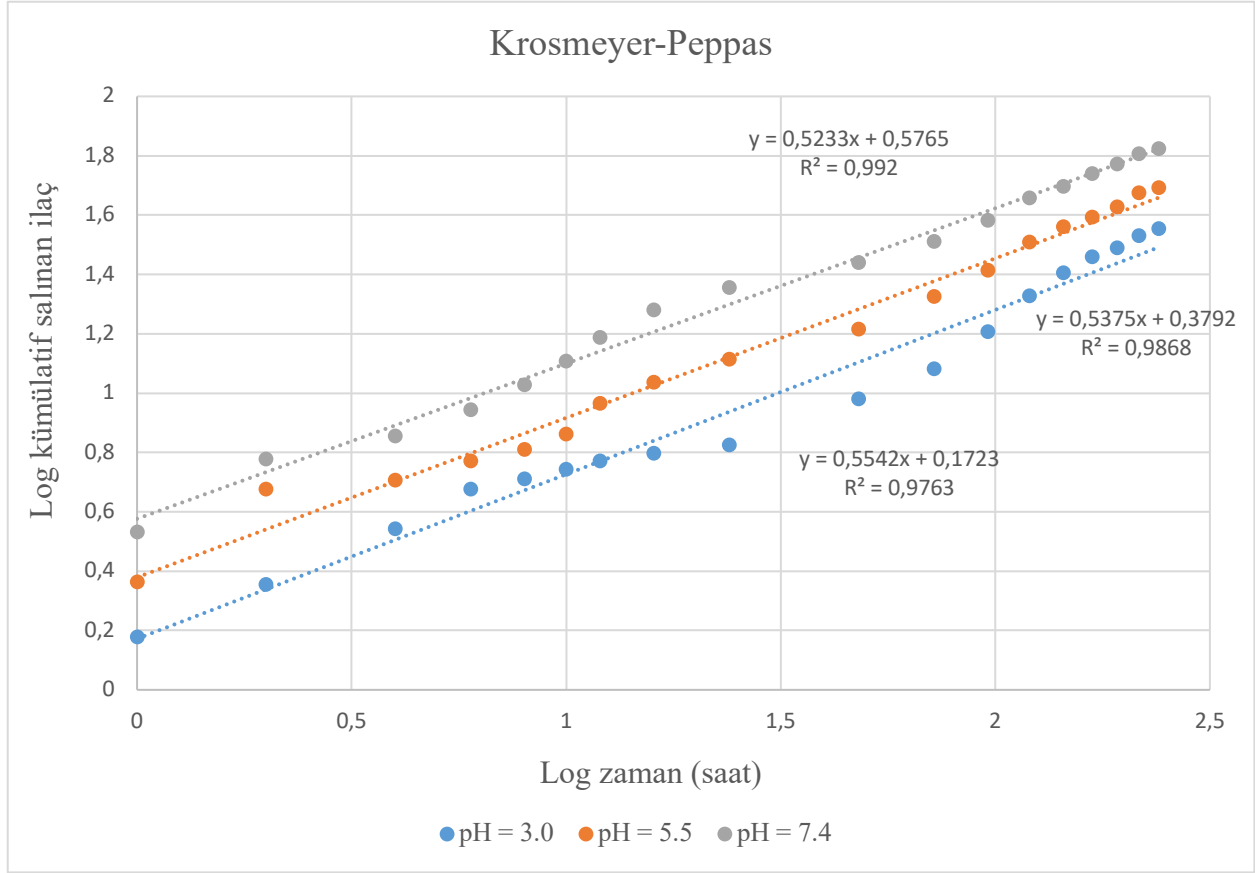
Kinetik Model	Parametreler	NG-KK pH = 3.0	NG-KK pH = 5.5	NG-KK pH = 7.4
Sıfırıncı derece	K_0	0,2388	0,5618	0,8044
	R^2	0,9297	0,8841	0,8779
Birinci derece	K	0,00195	0,00108	3,90794
	R^2	0,9394	0,9175	0,9716
Higuchi	K_H	2,0511	4,8528	6,9496
	R^2	0,9573	0,9796	0,9769
Hixson- Crowell	K	0,0031	0,0079	0,0131
	R^2	0,9692	0,9031	0,9157
Korsmeyer - Peppas	K	1,2133	1,9738	2,2113
	R^2	0,9737	0,9874	0,9850
	n	0,5008	0,5179	0,5178



Şekil 6.58. NG-BSA-KK sistemi için ilaç salım kinetik profilleri; Sıfırıncı Derece (A), Birinci derece (B)



Şekil 6.59. NG-BSA-KK sistemi için ilaç salım kinetik eğrileri; Higuchi (A), Hixson-Crowell (B)



Şekil 6.60. NG-BSA-KK sistemi için Korsmeyer-Peppas ilaç salım kinetik profili.

NG(PAA-PVP)-BSA-KK sistemi için sıfırıncı derece, birinci derece, Higuchi, Hixson-Crowell ve Korsmeyer-Peppas kinetik modellerine ait karşılaştırmalı tüm değerlendirmeler çizelge 15'te görülmektedir. Kurkumin salım modelinin (R^2 değerlerine bakılarak), en iyi birinci mertebeden ve Hixson-Crowell kinetiğini takip ettiği ve Korsmeyer-Peppas modelinden n değeri $0,45 < n < 0,89$ arasında olduğu için salım mekanizmasının Fickian olmayan difüzyon kontrollü olduğu bulunmuştur.

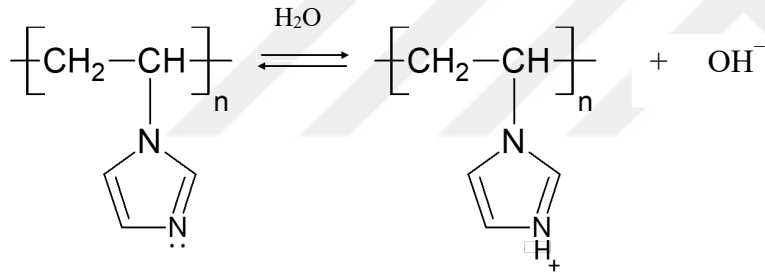
Çizelge 15. NG-BSA-KK için sıfırıncı derece, birinci derece, Higuchi, Hixson-Crowell ve Korsmeyer – Peppas denklemlerinin uygulanmasından elde edilen çözünme hızı sabitleri ve R^2 değerleri.

Kinetik Model	Parametreler	NG-BSA-KK pH = 3.0	NG-BSA-KK pH = 5.5	NG-BSA-KK pH = 7.4
Sıfırıncı derece	K_0	0,1631	0,2314	0,3225
	R^2	0,9777	0,9676	0,9461
Birinci derece	K	8,25011	5,21059	3,47372
	R^2	0,9914	0,9952	0,9927
Higuchi	K_H	2,2356	3,1512	4,240
	R^2	0,9520	0,9854	0,9940
Hixson- Crowell	K	0,0025	0,0037	0,0055
	R^2	0,9931	0,9928	0,9858
Korsmeyer - Peppas	K	2,2324	3,5232	3,7832
	R^2	0,9763	0,9868	0,9920
	n	0,5542	0,5375	0,5233

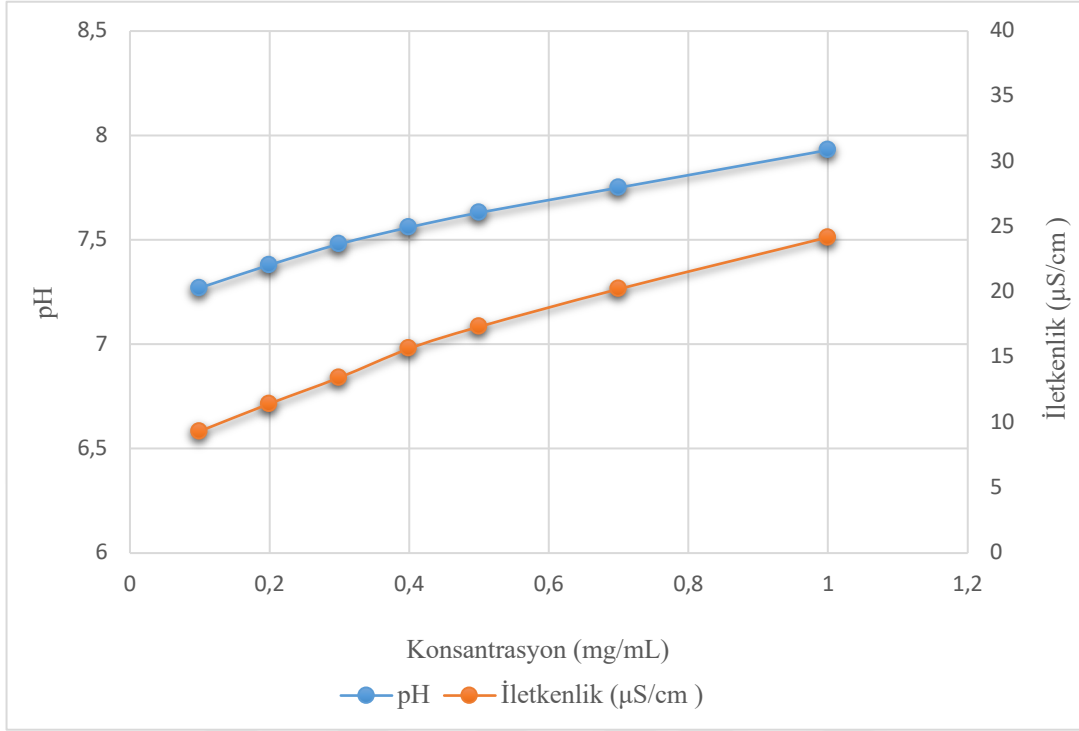
6.2. Poli(akrilik asit)-poli(N-vinil imidazol) (PAA-PVIm) nanojellerin interpolimer komplekslerinden (IPC) radyasyona bağı çapraz bağlanma yöntemi ile hazırlanması

6.2.1.Kullanılan Polimerlerin konsantrasyonu ile pH ve iletkenliği arasındaki ilişki

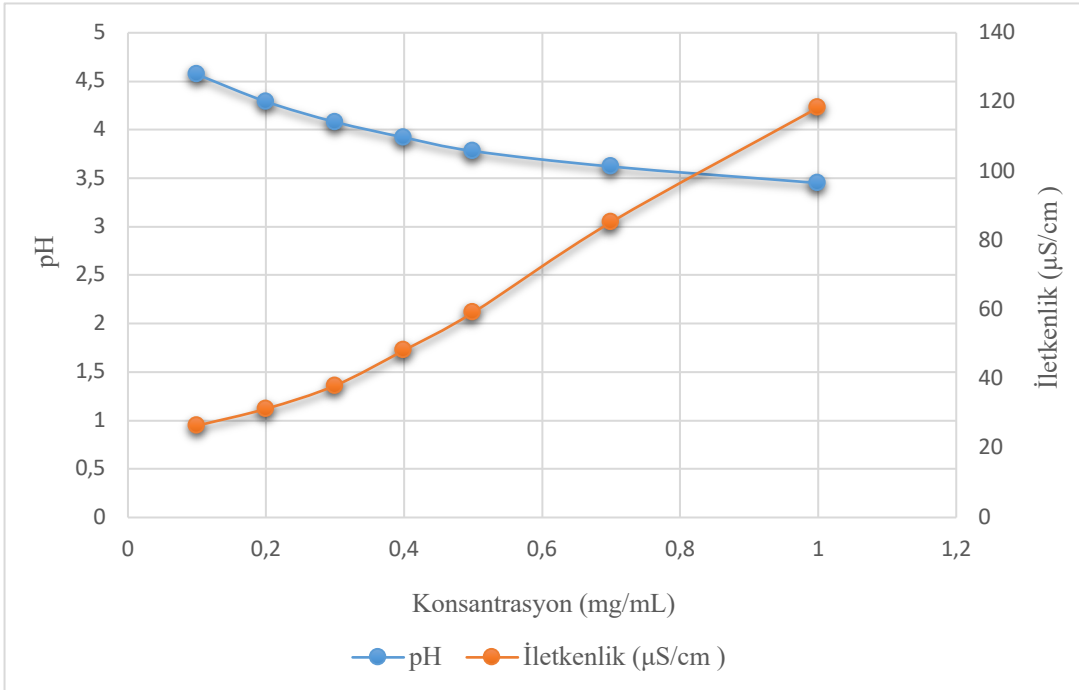
Bu bölümde kullanılan poli(akrilik asit) (PAA) ve poli(vinilimidazol)'un (PVIm) ilk bölümde olduğu gibi interpolimer kompleks oluşumu öncesi her iki polimerin de saf çözeltilerinin pH ve iletkenlik değerleri incelenmiştir. Şekil 6.62'de görüldüğü gibi derişime bağı olarak pH ve iletkenlik değerleri artmaktadır bunun nedeni PVIm zayıf bir polibaz olarak suda çözüldüğü zaman şekil 6.61'de görüldüğü gibi az da olsa protonlanmaktadır. Derişim arttıkça PVIm birimlerinin bir miktar daha fazla protonlanması ile ortamdaki (PVIm-NH⁺) ve OH⁻ iyonları artar bu da pH ve iletkenliğin artmasına neden olur.



Şekil 6.61. Sulu ortamda PVIm'un yapısal formülü.

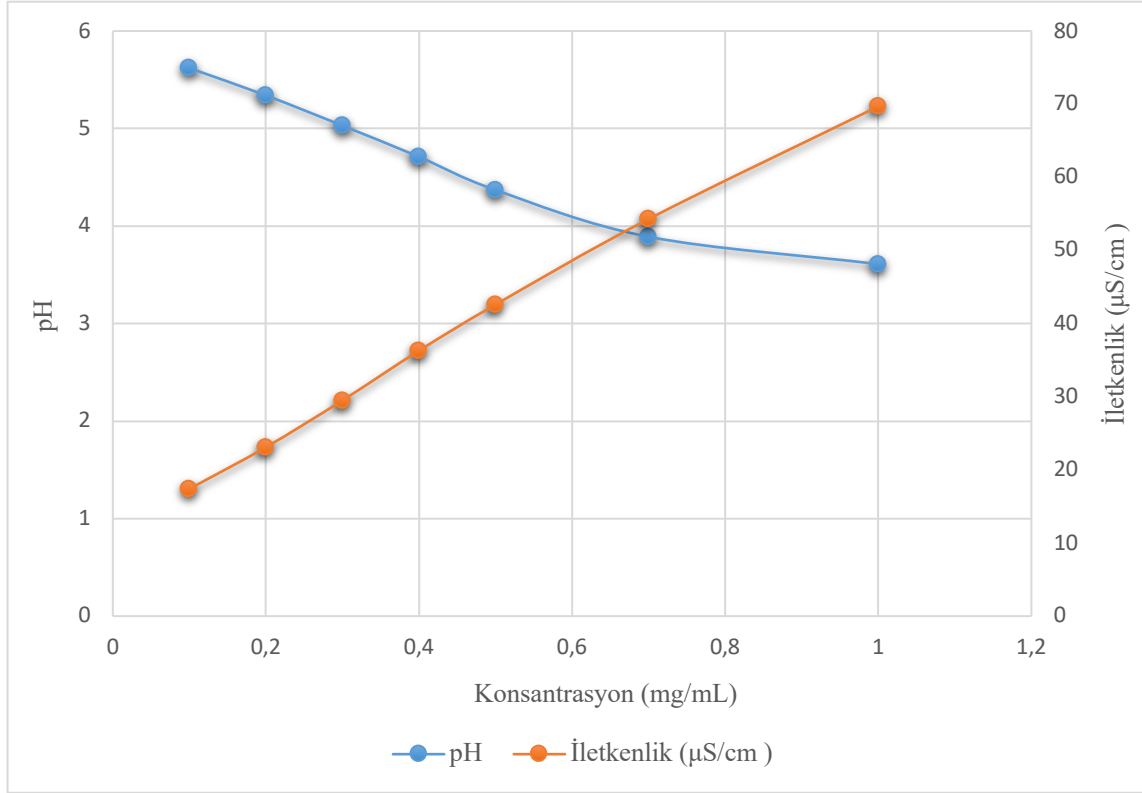


Şekil 6.62. PVI'm'un (46.000 M_v) sulu çözeltilerinin farklı derişimlerdeki pH ve iletkenlik değeri.



Şekil 6. 63. PAA' in (250.000 g/mol) sulu çözeltilerinin farklı derişimlerdeki pH ve iletkenlik değeri.

Şekil 6.3'te görüldüğü gibi PAA'nin derişimi arttıkça ortamın pH değerleri düşmekte ve iletkenlik değerleri artmaktadır. Bunun nedeni PAA derişimi arttığı zaman ($\text{PAA-COOH} \leftrightarrow \text{PAA-COO}^- + \text{H}^+$) reaksiyonu sonucu ortamdaki H^+ ve PAA-COO^- iyonları artar bu da pH'ın düşmesine ve iletkenliğin artmasına neden olur.



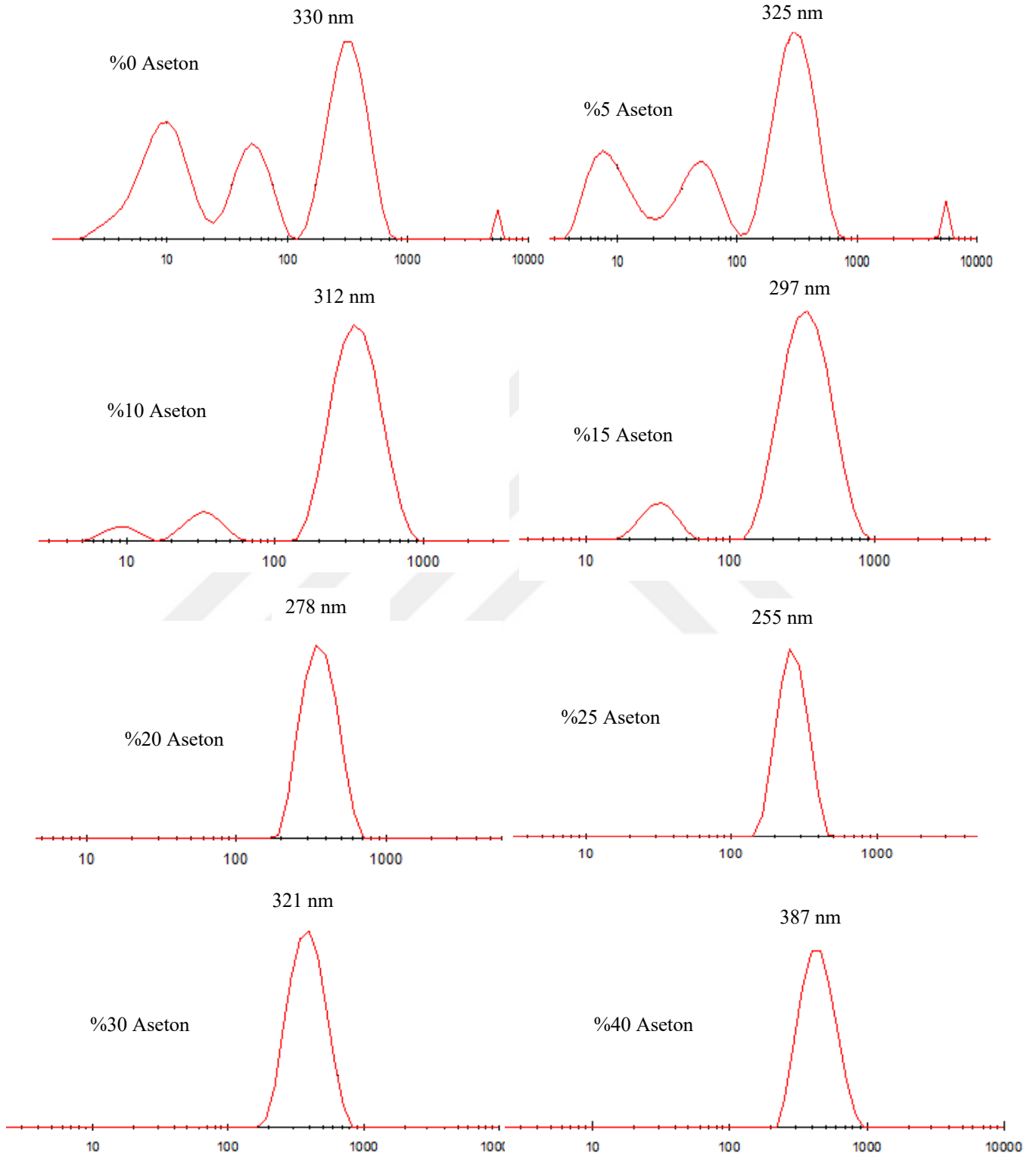
Şekil 6.64. (PAA-PVIm) IPC'lerin 1:1 stokiyometrik oranda sulu çözeltilerinin farklı derişimlerdeki pH ve iletkenlik değerleri.

Poli(akrilik asit) ve poli(vinilimidazol)'un karışımı sırasında IPC oluşumu ile H^+ ve COO^- konsantrasyonu düşer, bu nedenle iletkenlik azalır IPC'lerin (şekil 6.64) iletkenlik değerleri Şekil 6.62 ve 6.63'te görüldüğü gibi PVIm'a karşı daha yüksek ve PAA karşı daha düşüktür bunun nedeni IPC oluşumu esnasında PVIm birimleri protonlanır ve PAA birimleri ile elektrostatik etkileşimler kurar ($\text{PVIm-NH}^+\text{-OOC-PAA}$) bu da sistemin karışıt iyonlarının (H^+ ve COO^-) düşmesini sağlar ve dolaylı olarak iletkenlik azalır. Sistemin pH'sı PAA karşı daha yüksek ve PVIm'a karşı düşüktür bu da PAA'nin zayıf bir poliasit ve PVIm'un zayıf bir polibaz olmasından kaynaklanır.

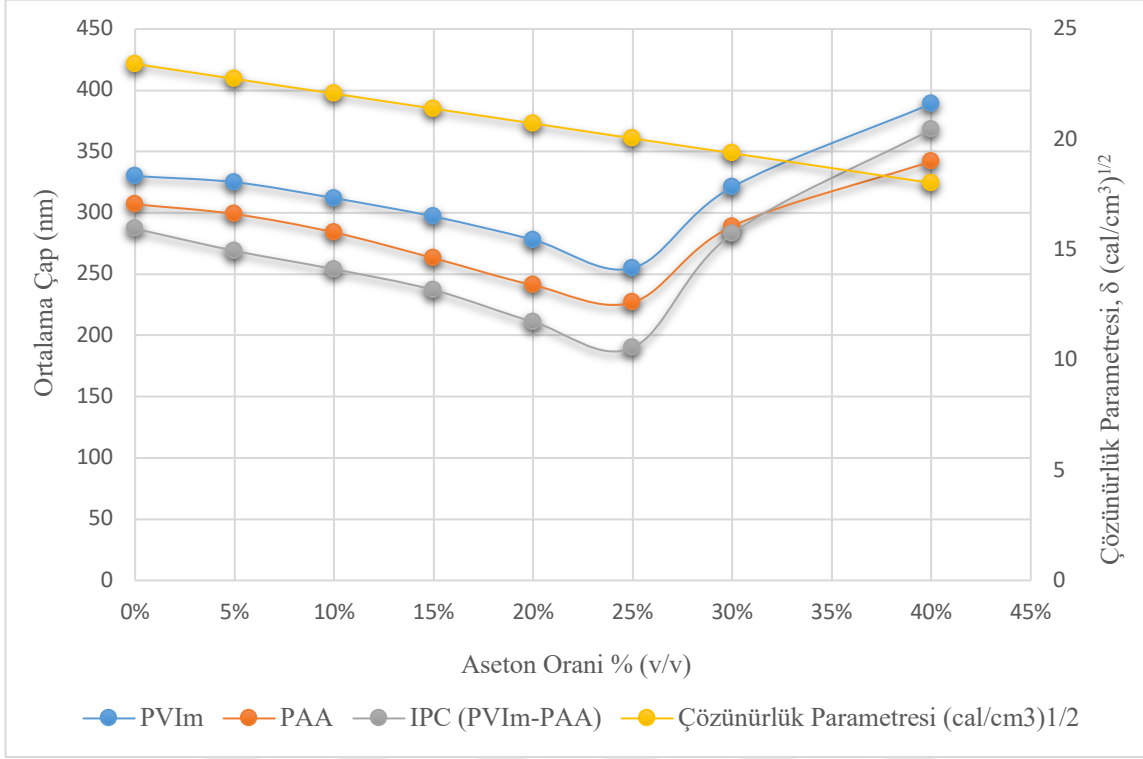
6.2.2. Asetonun PAA-PVIm IPC'lerin boyutuna etkisi

IPC hazırlamadan önce PAA ve PVIm yumaklarının boyut ve boyut dağılımını kontrol etmek amacıyla her iki polimer için çözücü olmayan aseton kullanılmıştır. PAA ve PVIm 5, 10, 15, 20, 25, 30 ve %40 (v/v) aseton hacim kesrine sahip aseton-su karışımlarında hazırlanmıştır. Her çözelti DLS ile analizden önce gece boyunca sürekli olarak karıştırılmıştır. Çözücü karışımının çözünürlük parametresi PAA-PVP bölümünde ayrıntılı olarak hesaplanmıştır.

Bir önceki bölümde PAA'nın su ve su-aseton ortamında yumaklarının boyut dağılımı incelenmiştir. Şekil 6.5'ten görüldüğü gibi PVIm için sulu ortamda tek bir boyut dağılımı elde edilememiştir. Bunun yanı sıra boyut dağılımı da geniştir. Polimer yumaklarının çözelti ortamındaki boyut büyüklüğü ve kararlılığı, yumakların kendi aralarındaki ve yumaklar ile çözücü molekülleri arasındaki etkileşimlerine bağlıdır. Bu etkileşimler, polimerin ve çözücünün türüne göre hidrojen bağı, elektrostatik, hidrofobik etkileşim, sterik stabilizasyon ve Van der Waals kuvvetleri gibi etkileşimlerdir. Çözücü içerisindeki polimer yumakları hareket halindeyken çarpışır ve devamında etkileşirlerse yumaklar birleşir ve çökerler. Partiküllerin agregasyonunu önlemek için ortama basit bir elektrolit veya etkileşimleri engelleyecek organik bir çözücü eklenmelidir [226]. PVIm'nin 0-40% aseton(v/v) oranındaki sulu çözeltilerde polimer-çözücü etkileşimini minimuma indirmek için itici güç makromolekül ve aseton arasındaki hidrojen bağları ve hidrofobik etkileşimlere atfedilir. Dolayısıyla PAA'nın O-H grupları ve asetonun C=O grupları arasında oluşan H-bağı, PAA'nın C=O grupları ve suyun O-H grupları arasındaki H-bağından daha güçlüdür ve aseton miktarı arttıkça poli(akrilik asit) zincirleri arasındaki hidrofobik etkileşimler de artmaktadır [227]. Bu da asetonun eklenmesi ile daha kararlı ve monodispers yumakların elde edilmesinin bir kanıtıdır. Poli (N-vinilimidazol), poli(akrilik asit) gibi hidrofilik bir polimerdir. Aseton miktarı artıkça PVIm zincirleri arasındaki hidrofobik etkileşimler artar ve şekil 6.5'de görüldüğü gibi daha dar ve monodispers yumaklar elde edilmiştir.



Şekil 6. 65. %0, %10, %15, %20, %25, %30 ve %40 (v/v) hacim oranına sahip su/aseton çözeltilerindeki 0.1mg/mL PVIm'un dinamik ışık saçılması tekniği ile ölçülen yumaklarının boyut dağılımı. (PVIm'lun 0.1 mg/mL sulu çözeltisinin pH değeri 7.27).



Şekil 6.66. Aseton konsantrasyonunun, PVIm, PAA ve PAA-PVIm IPC'nin yumak boyutuna, aseton / su karışımlarının çözünürlük parametreleri (δ) ile olan etkisi.

Çalışmanın bu bölümünde, aseton PAA ve PVIm için çözücü olmayan bir madde olduğundan polimer çözeltilerini daha zayıf hale getirmek için kullanılmıştır. Şekil 6.66'da, aseton konsantrasyonunun IPC'nin boyutuna etkisini gösterilmektedir. 0.1 mg / mL PAA ve PVIm sulu çözeltileri karıştırılarak, ortalama parçacık büyüklüğü 287 nm olan IPC aseton yokluğunda oluşur. IPC, saf PAA (307 nm) ve PVIm (330 nm) 'den daha küçük bir ortalama boyut gösterdiğinden, küçülmüş boyut, PAA ve PVIm zincirleri arasında elektrostatik bağlanması yoluyla IPC oluşumunu ve hacımsal daralmayı gösterir. PAA ve PVIm çözeltileri hazırlamak için aseton ve su karışımı kullanıldığında, elde edilen IPC'ler, % 25'e (v/v) kadar artan aseton konsantrasyonuyla daha küçük boyutlar göstermiştir. Bunun nedeni, polimer yumağının daha zayıf bir çözücü ortamda (yani bu durumda aseton bakımından zenginleşen bir çözelti) büzülmesidir. Asetonun suya % 10, 20 ve % 25 (v / v) eklenmesi, ortalama IPC boyutunu 287 nm'den (aseton olmadan) 254, 211 ve 190 nm'ye sırasıyla düşürmüştür. Suyun içine aseton eklenmesiyle ortamın çözünürlük parametresindeki azalma, PAA ve PVIm arasındaki interolimer kompleksleşmesini kolaylaştıran polimer-çözücü etkileşimlerinin azalmasına neden

olmuştur. Bununla birlikte, aseton miktarı % 30 ve %40' a (v/v) yükseltildiğinde, ortalama polimer yumakları büyüklüğü ve IPC, Şekil 6.66'da görüldüğü gibi artmıştır. Bu, polimerlerin nispeten yüksek hidrofobik ortamda topaklanmasından kaynaklanıyor olabilir.

Çizelge 16. PAA ve PVIm için farklı derişimlerde, pH, ortalama çap, zeta potansiyel ve PDI değerleri, kullanılan derişimler (0.03, 0.05, 0.07, 0.1, 0.3, 0.5, 0.7 ve 1.0 mg/mL) PAA1 = 250.000 Mw, PAA2 = 8.000 Mw, PVIm = 46.000 Mv %25 aseton oranında

	pH	Zeta Pot. (mV)	d (nm)	PDI
PAA1- 0.03	4.95	-32.4	155	0.243
PAA1- 0.05	4.73	-29.3	169	0.321
PAA1- 0.07	4.58	-27.8	182	0.248
PAA1- 0.1	4.27	-25.3	193	0.219
PAA1- 0.3	4.12	-23.2	211	0.210
PAA1- 0.5	3.89	-21,1	235	0.278
PAA1- 0.7	3.67	-19,3	244	0.234
PAA1- 1.0	3.47	-18.9	265	0.287
PAA2- 0.03	5.23	-35.5	147	0.260
PAA2- 0.05	4.92	-33.2	153	0.296
PAA2- 0.07	4.71	-31.9	167	0.211
PAA2- 0.1	4.54	-29.8	182	0.277
PAA2- 0.3	4.24	-27.2	197	0.234
PAA2- 0.5	4.03	-25.4	214	0.311
PAA2- 0.7	3.78	-22.6	229	0.256
PAA2- 1.0	3.54	-20.3	254	0.239
PVIm- 0.03	7.11	+ 11.3	189	0.295
PVIm- 0.05	7.17	+ 13.2	205	0.251
PVIm- 0.07	7.21	+ 16. 9	227	0.249
PVIm- 0.1	7.27	+ 19.3	255	0.278

PVIm- 0.3	7.48	+ 21.4	280	0.232
PVIm- 0.5	7.63	+25.5	313	0.321
PVIm- 0.7	7.75	+ 28.9	348	0.289
PVIm- 1.0	7.93	+32.1	423	0.311

PAA ve PVIm arasındaki IPC'lerin davranışını daha iyi anlamak için önce hem PAA hem de PVIm homopolimerleri için ayrıntılı bir DLS çalışması yapılmıştır. Çizelge 16'da görüldüğü gibi, PAA ve PVIm'ın konsantrasyona bağlı olarak boyutlarında artış gözlenmiştir. PAA'nın molekül ağırlığının, partikül boyutunda önemsiz bir fark yarattığı görülmüştür. Swift ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, 16.5 kDa'dan küçük mol kütleli PAA'ların pH'a duyarlı bir konformasyonel değişiklik sergilemediğini gösterdiler. Düşük mol kütleli PAA'ların (16.5 kDa'nın altında) konformasyonel bir geçişe uğramadığını ve uzun bir konformasyonda (çubuk şeklinde) kaldıklarını, ancak büyük mol kütleli (16.5 kDa'nın üstünde) polimerlerin, pH'a bağlı bir konformasyonel değişiklik sergilediğini ifade etmişlerdir. Bu davranışın açıklamasında, PAA'nın yapısındaki hidrojen bağlarının kritik bir rol oynadığını söylemek mümkündür. Kısa zincirlerin hidrojen bağı yapma olasılığı daha düşüktür ve kritik bir molekül ağırlığının üzerinde asidik çözeltide hidrojen bağı olasılığı, zincirlerin deprotone olduğu bazik pH'daki şişmiş durumdan çok daha yüksektir ve bu bağlar yoluyla polimer yumaklarının konformasyonel bir değişim geçireceğini söylemek yanlış olmayacaktır. Düşük pH'da, PAA kompakt (ancak tamamen çökmemiş) bir küresel konformasyon sergiler. Bununla birlikte, pH arttıkça iyonlaşma meydana gelir ve polimer tamamen çözücü molekülleriyle sarılmış bir açık yumak konformasyonuna genişler [228]. Bu çalışmada kullandığımız 8 ve 250 kDa molekül ağırlığına sahip PAA'ların (Çizelge 1'de sırasıyla PAA1 ve PAA2 olarak kodlanmıştır) boyutları, yukarıda bahsedilen mantıkla uyumlu bir değişim sergilemiştir. Çizelgeden görülebileceği gibi, çalışılan tüm pH değerlerinde, 8 kDa ve 250 kDa molekül kütlelerine sahip PAA örnekleri, hemen hemen aynı boyut sergilemektedirler. 250 kDa mol kütlelerine sahip PAA zincirleri yumaklaşma davranışı sergilemekte ve çalışılan pH aralığında hala deprotone olmamış karboksilik asit gruplarına sahip olduklarından (PAA'nın pKa değeri 4.75'dir), zincir için hidrojen bağları yoluyla bu polimer yumakları büzüşebilmektedirler. Oysa, düşük molekül kütleli PAA örneği (PAA2), yukarıda tartışıldığı gibi, çubuk konformasyonuna sahiptir, yumaklaşma eğilimi göstermez ve dolayısıyla, 250 kDa molekül kütlelerine sahip örneklerle kıyaslandığında, boyutu

kendinden beklenenden daha fazla bulunmuştur. Çizelge 16'da ayrıca derişimin boyuta olan etkisi de görülebilmektedir. Görüldüğü üzere, derişim artışı ile hem 8 kDa hem de 250 kDa molekül kütlelerine sahip PAA örneklerinin boyutları artmaktadır. Artan derişim ile, zincirler arası hidrojen bağları ile farklı polimer zincirlerinin bir araya gelme olasılığı artacağından, boyut da artmaktadır. Burada dikkat çekilmesi gereken bir husus, derişim ile düşük mol kütleli PAA örneğinin boyutunun arttığıdır. Bu durum, bu kısa zincirlerin zincir içi hidrojen bağı yapamıyor olsalar da, zincirler arası hidrojen bağı yapmaya elverişli olduklarını düşündürmektedir. Derişimin artmasıyla düşen pH neticesinde, karboksilik asit grupları daha fazla protene olacağından, zeta potansiyel değeri de düşmüştür (yapıda daha az negatif yük bulunmaktadır).

PVIm çözeltileri için, pH değerleri konsantrasyondaki artışla ile artmıştır (derişime bağılı olarak 7.11'den 7.93 yükselmiştir). Bu durum neticesinde, PVIm birimlerinin protonlanması artmıştı ve dolayısıyla yapıda daha fazla pozitif yük oluşacağından zeta potansiyel değerleri de artış sergilemiştir. Örneğin, zeta potansiyel değerleri 0.03 mg/mL derişimde +11.1'ken, derişimin 1.0 mg/mL'ye yükselmesiyle +32.1 olmuştur. Artan derişimle birlikte birbirlerine yaklaşan PVIm zincirleri, zincirler arası hidrojen bağları yoluyla bir araya gelmiş ve bu durum DLS analizinde boyutta artışla kendini göstermiştir.

6.2.3. PAA ve PVIm interpolimer komplekslerinin oluşumu

Poli(N-vinilimidazol) tipik zayıf bir polibaz olarak pH-bağımlı protonasyon yoluyla su içinde polikasyon verir. Kompleks oluşumu PAA (poliasit) ve PVIm (polibaz) arasında oluşmaktadır. PAA'nın, karboksilik grubu bir proton kaybettiğinde temel durumda negatif bir yük sunan zayıf bir polielektrolittir. Bu karboksilat grupları, kimyasal reaksiyonlar yoluyla ayarlanabilir ve çok işlevli nano ölçekli yapılara yol açan kararlı polielektrolit kompleksleri (PEC'ler) oluşturmak için polikasyonlar (PVIm) ve metal iyonları ile etkileşime girebilir. Polielektrolit esaslı IPC nanopartikülleri, genellikle bir seyreltilmiş polielektrolit çözeltisinin, karıştırılarak karşıt yüklü polielektroliti içeren diğer seyreltilmiş çözeltiye eklenmesiyle oluşturulur. PVIm çözeltisi aşağıda (eşitlik 1, 2 ve 3) görüldüğü gibi PAA çözeltisine eklendiğinde PVIm birimleri protonlanır ve PAA birimleri ile (NH^+/COO^-) belirli pH aralığında kompleks oluşumuna neden olur. PVIm'un protonlanmamış birimleri bir proton alıcı olarak PAA'nın karboksilik grupları

(NH:/COOH) ile H-bağı'da yapabilirler. PVIm ve PAA arasındaki bu etkileşimler sonucu daha kompakt IPC'ler oluşmaktadır.

- 1) $\text{PAA-COOH} \leftrightarrow \text{PAA-COO}^- + \text{H}^+$ poli(akrilik asit) çözeltisi
- 2) $\text{PVIm-N:} \leftrightarrow \text{PVIm-NH}^+$ poli(vinilimidazol) çözeltisi
- 3) $\text{PVIm-N:} + \text{PAA-COOH} \rightarrow \text{PVIm-NH}^+ \text{ } ^-\text{OOC-PAA}$, $\text{PVIm-N:...HOOC-PAA}$ kompleks oluşumu

6.2.4. PAA ve PVIm interpolimer komplekslerinin oluşumunu ve boyutlarını etkileyen faktörler

Polielektrolit kompleksleri (IPC), zıt yüklü polielektrolitlerin sulu bir ortamda karıştırılmasıyla oluşur. Zıt yüklü polimerler arasındaki güçlü elektrostatik etkileşimler, karşı iyonların ortama ayrışması nedeniyle entropi kazanır ve IPC oluşumunu yönlendirir [229]. Hidrojen bağı veya hidrofobik etkileşimler gibi diğer kuvvetler de IPC oluşumunda önemli roller oynar [229]. Kendiliğinden birleşen PAA-PVIm interpolimer kompleksi (IPC) nanoparçacıkları, polimerler arasında elektrostatik ve H-bağı oluşumu ile hazırlanır. Polielektrolitlerden nanopartikül oluşturulması sırasında, özellikle polielektrolitlerin molekül ağırlığı, konsantrasyonu ve yük yoğunluğu, (sulu) ortamın pH'ı ve iyonik gücü veya her iki polielektrolitin nispi oranı ve karıştırma sırası gibi çeşitli faktörlerin optimize edilmesi gerekir [230, 231]. Bu parametreler normalde birbirine bağlıdır ve paralel olarak optimize edilmelidir. Genellikle, kararlı kolloidal IPC partikülleri yüksek seyreltme ve düşük iyonik güçte hazırlanır [232]. Çalışmanın bu kısmında IPC (PAA-PVIm) nanojellerinin çıkış maddesi olan PAA-PVIm IPC'lerinin partikül boyutlarını etkileyen faktörler detaylı olarak incelenmiştir. Şu faktörler göz önüne alınmıştır:

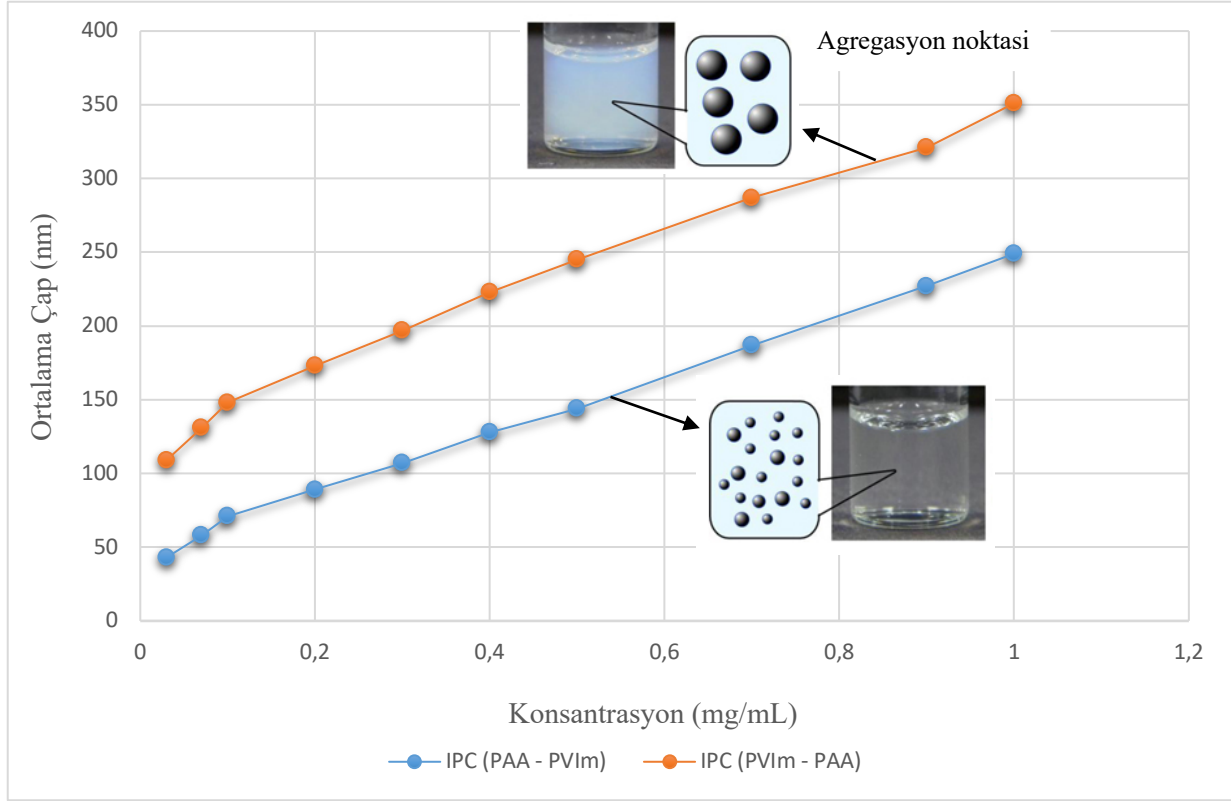
- 1) Ekleme sırası ve Karışım oranının etkisi
- 2) pH
- 3) Polielektrolit derişimi
- 4) Polielektrolit molekül ağırlığı

6.2.4.1. Ekleme sırası ve Karışım oranının etkisi

Ekleme sırası

IPC oluşum işleminde, poliiyonların yük yoğunlukları birbirinden farklı olduğundan ekleme sırası, boyut dağılımını etkileyen en önemli faktörlerden biridir. Daha önceki çalışmalarda, polielektrolit çözeltilerinin birbiriyle karıştırılmasında, ekleme sırasının önemli bir deneysel parametre olduğu gösterilmiştir [233, 234]. Prensipte farklı boyut ve yüzey yükü elde etmek için yük yoğunluğu, $n^-/n^+ = 1$, $n^-/n^+ < 1$ veya $n^-/n^+ > 1$ olabilir. Stokiyometrik olmayan karıştırma oranları, yük yoğunluğu açısından azınlık bileşenini çoğunluk bileşenine ekleyerek veya bunun tersi şekilde deneysel olarak elde edilebilir. Genelde yüzey yükünü ve boyutu, konsantrasyon ve molekül ağırlığı belirler. Örneğin yük yoğunluğunun az olduğu polianiyon (PA) çözeltisini, yük yoğunluğu çok olan polikatiyon (PK) çözeltisine (yani "minörden majöre") veya yük yoğunluğu çok olan polikatiyon çözeltisini, az yük yoğunluğundaki PA çözeltisine ("majörden minöre") ekleme protokolü izlenebilir. Müller ve arkadaşları, PEI/PAA'nin IPC sistemi için, stokiyometrik oranda minörden majöre eklemeye daha küçük partikül boyutları ve majörden minöre daha büyük partikül boyutları elde etmişlerdir. Yüzey yük yoğunluğuna bağlı olarak, IPC'ler yarı kararlı veya kararlı olabilir [235]. Yarı kararlı IPC'ler durumunda, yapıları, yoğunlukları ve boyutları, bileşenlerin (majörden minöre veya minörden majöre) eklenme sırasına bağlıdır [236]. Sergei ve arkadaşları yaptıkları çalışmada anyonik IPC'lerin özellikleri üzerindeki minörden majöre ve majörden minöre karıştırma prosedürlerinin etkisinin bir karşılaştırmasını göstermişlerdir ve majörden minöre ekleme sırasında daha yüksek Rg'ye sahip IPC-NP'ler elde etmişlerdir. Aynı eğilim poli(etilen imin)/poli(akrilik asit) ve diethylaminoethyl chitosan/hyaluronic acid komplekslerinde de gözlenmiştir [234, 237]. Şekil 6.7 görüldüğü gibi ekleme sırası, oluşan IPC'lerin boyutunda oldukça belirgin bir etkiye sahiptir. PAA-PVIm IPC'leri hazırlanırken, PAA'ya (yük bakımından zengin), PVIm (yük yoğunluğu az) eklendiği zaman daha küçük ve kompakt IPC'ler elde edilmiştir (minörden majöre). Ancak, PVIm-PAA IPC hazırlanırken yani PVIm'a (azınlık), PAA (çoğunluk) (majörden minöre) eklendiği zaman çok daha büyük IPC'ler elde edilmiştir. Bizim yaptığımız çalışmanın sonuçlarının yukarıda bahsi geçen çalışmalarla bir uyum içerisinde olduğu görülmektedir. Bu bulgulara dayanarak, çoğunluktan azınlığa eklenme senaryosuna kıyasla azınlıktan çoğunluğa karıştırılan PAA/PVIm parçacıkları için daha kompakt bir yapı öneriyoruz. Bu açıklama hala spekülatiftir. Ancak, Şekil

6.67'de ve çizelge 17 ve 18'deki verilere dayanarak, gözlemlenen ikincil IPC parçacıklarının yani majörden minöre PVIm/PAA birincil parçacıkların kümeleri olduğu IPC oluşumundan kaynaklanabilir, bu durumda her iki senaryo (minörden majöre ve majörden minöre) mantıklı hale getirilebilir. İkincil IPC'ler genelde yüzey yükü nötüre yakın birincil IPC'lerden oluşmaktadır. Birinci senaryo için, azınlıktan çoğunluğa, anyonik PAA/PVIm ya da anyonik PVIm/PAA ikincil IPC parçacıkları, ilgili benzer yüklü PAA bileşeni tarafından "elektrosterik olarak" stabilize edilir. Bu, çoğunluktan azınlığa senaryosu için geçerli değildir; burada kritik 1:1 stokiyometriyi aştıktan hemen sonra ilgili fazlalık zıt yüklü PAA veya PVIm bileşeni, ikincil partikülleri daha düşük yapısal yoğunluğa sahip kolloidal ağlara toplanabilir. Her iki senaryo için de önerilen IPC yapılarının dengede olmadığı ve yerel ve kinetik faktörlerin önemli bir rol oynadığı iyi bilinmektedir. Küçükten büyüğe PAA-PVIm senaryo, yük işareti asla tersine çevrilmediği için daha "dengelenmiş" karalı IPC yapıları ile sonuçlanabilirken, büyükten küçüğe (PVIm-PAA) senaryo, "dengesiz" kararsız ve daha gevşek IPC yapıları ile sonuçlanabilir, Şekil 6.67 de görüldüğü gibi majörden minöre PVIm-PAA karıştırma prosedürüyle elde edilen PVIm-PAA IPC NP'leri için yoğunluk, minörden majöre PAA-PVIm karıştırma prosedüründen daha yüksekti. Majörden minöre prosedürüyle elde edilen birincil PVIm-PAA nanoparçacıklarının daha yüksek yoğunluğu, ekleme sırasında karışım oranının stokiyometrik koşuldan geçmesi gerçeğine bağlanabilir. Özellikle büyükten küçüğe (PVIm-PAA) senaryonun başlangıcında, minör bileşen fazladır. Ana bileşenin daha fazla eklenmesiyle stokiyometrik koşula ulaşılır. Eklemenin sonunda, ana bileşen sonuçta fazla olur. Bu stokiyometrik oran, en yüksek IPC yoğunluğuna karşılık gelir; bu nedenle, IPC NP'ler, büyükten küçüğe (PVIm-PAA) ekleme sırasına göre küçükten büyüğe (PAA-PVIm) senaryo tarafından elde edildiğinde daha yoğun olmalıdır. Ekleme sırasının etkileri, polielektrolitler titre edilirken belirginleşir. Örneğin, Dautzenberg ve ark. polielektrolitlerin karıştırılma sırasının, sadece 2 kat boyut değişikliğine neden olarak ortaya çıkan nanopartiküllerin boyutunu etkilemekle kalmayıp, aynı zamanda muhtemelen polimerlerin farklı paketlenmesinden dolayı bu komplekslerin NaCl'ye karşı stabilitesini de etkilediğini gözlemlediler [238]. Literatürdeki diğer çalışmalarda, komplekslerin son morfolojisi üzerinde ya güçlü bir bağımlılık ya da neredeyse ihmal edilebilir bir etki bularak oldukça farklı sonuçlar rapor edilmiştir. Çalışmalar arasındaki tutarsızlıklar diğer değişkenlerin (örneğin molekül ağırlığı, ortamın pH'sı, konsantrasyon ve poliyon gücü) etkilerine atfedilmeli ve bu nedenle her durum ayrı ayrı değerlendirilmelidir [234, 239].



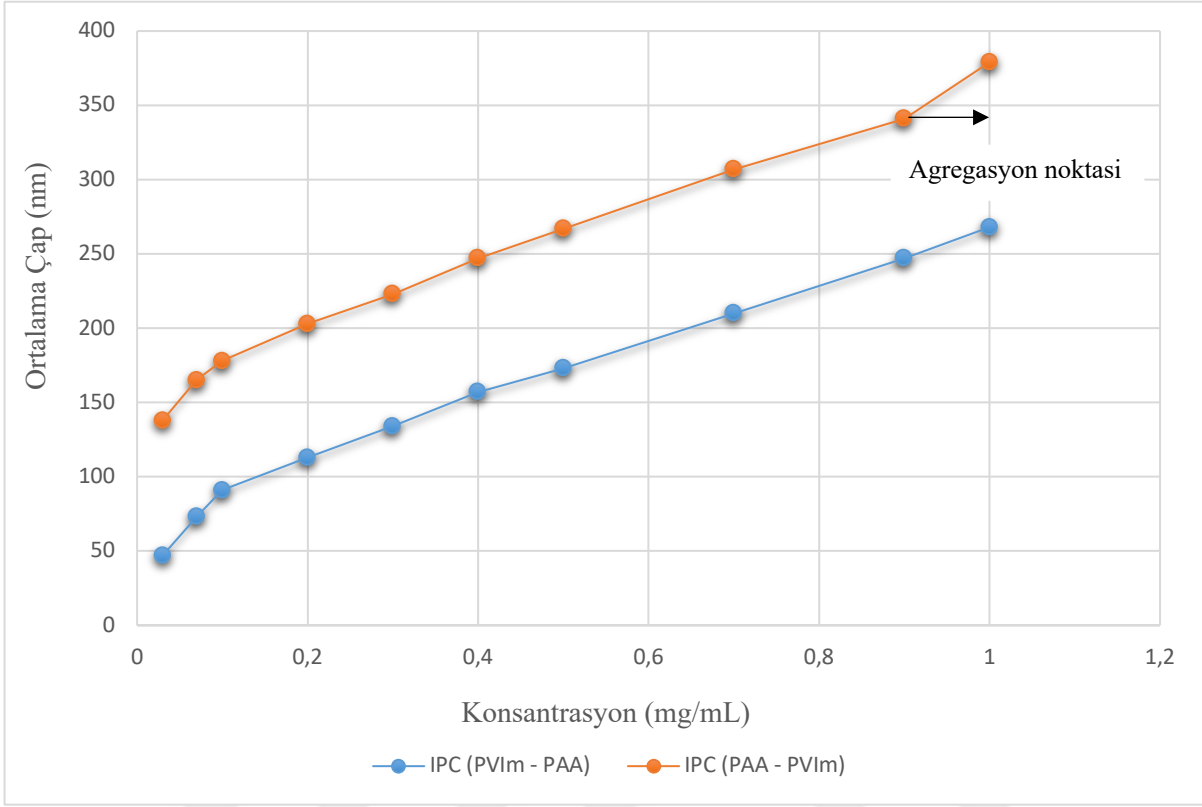
Şekil 6.67. IPC (PAA-PVIIm) (mavi) ve IPC (PVIIm-PAA) (turuncu) nanopartiküllerin oluşumuna etkisi. Kullanılan polimerlerin molekül ağırlığı PAA 250.000 Mw ve PVIIm 46.000 Mw tüm çözeltiler %25 aseton/su karışımında hazırlanmıştır.

Çizelge 17. Minörden majöre (PAA-PVIm) ekleme sırasından oluşan IPC NP'leri (pH, ortalama çap, zeta potansiyel ve PDI değerleri). Kulolanılan PAA 250.000 Mw, PVIm 46.000 Mw, tüm polimer çözeltileri %25 aseton ortamında hazırlanmış.

IPC (PAA-PVIm)	pH	Zeta pot (Mv)	d. (nm)	PDI
0.03 mg/mL	5.93	-12,4 ± 3,14	43 ± 18	0,158
0.07 mg/mL	5.77	-15,3 ± 2,43	58 ± 21	0,186
0.1 mg/mL	5.49	-20,1 ± 2,45	71 ± 24	0,150
0.2 mg/mL	5.23	-24,9 ± 3,78	89 ± 27	0,147
0.3 mg/mL	5.01	-27,5 ± 4,23	107 ± 35	0,131
0.4 mg/mL	4.89	-29,8 ± 4,67	128 ± 44	0,138
0.5 mg/mL	4.63	-32,2 ± 5,16	144 ± 39	0,121
0.7 mg/mL	4.49	-35,7 ± 4,71	187± 47	0,181
0.9 mg/mL	4.28	-37,1 ± 5,38	227 ± 53	0,198
1.0 mg/mL	4.11	-41,9 ± 5,43	249 ± 59	0,211

Çizelge 18. Majörden minöre (PVIm-PAA) ekleme sırasından oluşan IPC NP'leri üzerindeki etkisi (pH, ortalama çap, zeta potansiyel ve PDI değerleri). Kulolanılan PAA 250.000 Mw, PVIm 46.000 Mw. tüm polimer çözeltileri %25 aseton ortamında hazırlanmış.

IPC (PVIm- PAA)	pH	Zeta pot (Mv)	d. (nm)	PDI
0.03 mg/mL	5.97	-21.2 ± 4,56	127 ± 24	0,135
0.07 mg/mL	5.78	-23.5 ± 5,24	131 ± 29	0,128
0.1 mg/mL	5.59	-25.7 ± 4,12	148 ± 41	0,137
0.2 mg/mL	5.41	-28.9 ± 5,17	173 ± 43	0,143
0.3 mg/mL	5.23	-31.6 ± 5,75	197 ± 48	0,156
0.4 mg/mL	5.02	-34.8 ± 4,78	223 ± 54	0,145
0.5 mg/mL	4.79	-37.2 ± 5,90	245 ± 59	0,185
0.7 mg/mL	4.61	-39.8 ± 6,21	287 ± 65	0,209
0.9 mg/mL	4.45	-43.2± 6,24	321 ± 83	0,278
1.0 mg/mL	4.27	-47.3 ± 6,43	351 ± 97	0.293



Şekil 6. 68. IPC (PVIIm-PAA) (mavi) ve IPC (PAA-PVIIm) (turuncu) nanopartiküllerin oluşumuna etkisi. Kullanılan PAA 8.000 Mw, PVIIm 46.000 Mw tüm çözeltiler %25 aseton/su karışımında hazırlanmıştır.

Çizelge 19. Majörden minöre ekleme sırasında Oluşan (PVIIm-PAA) IPC’lerinin üzerinde etkisi (pH, ortalama çap, zeta potansiyel ve PDI değerleri). Kulolanılan PAA 8.000, Mw PVIIm 46.000 Mv

IPC (PVIIm -PAA)	pH	Zeta pot (Mv)	d. (nm)	PDI
0.03 mg/mL	5.89	-9.4 ± 4,12	47 ± 21	0,165
0.07 mg/mL	5.65	-12.3 ± 4,23	73 ± 24	0,145
0.1 mg/mL	5.44	-15.1 ± 5,45	91 ± 31	0,154
0.2 mg/mL	5.23	-17.9 ± 4,78	113 ± 37	0,161
0.3 mg/mL	5.04	-23.5 ± 5,23	134 ± 33	0,172
0.4 mg/mL	4.87	-27.5 ± 5,81	157 ± 42	0,164
0.5 mg/mL	4.66	-31.2 ± 5,10	173 ± 43	0,189
0.7 mg/mL	4.43	-35.2 ± 5,78	210 ± 59	0,198
0.9 mg/mL	4.28	-38.7 ± 6,23	247 ± 68	0,214
1.0 mg/mL	4.09	-41.9 ± 6,90	268 ± 77	0,234

Çizelge 20. Minörden majöre ekleme sırasından oluşan (PAA-PVIm) IPC'lerinin üzerinde etkisi (pH, ortalama çap, zeta potansiyel ve PDI değerleri). Kulolanılan PAA 8.000 Mw, PVIm 46.000 Mw

IPC (PAA -PVIm)	pH	Zeta pot (Mv)	d. (nm)	PDI
0.03 mg/mL	5.95	-14.3 ± 2,14	138 ± 29	0,228
0.07 mg/mL	5.78	-18.8 ± 4,23	165 ± 43	0,216
0.1 mg/mL	5.50	-21.1 ± 3,45	178 ± 46	0,190
0.2 mg/mL	5.32	-23.9 ± 4,55	203 ± 42	0,177
0.3 mg/mL	5.18	-25.7 ± 4,29	223 ± 49	0,179
0.4 mg/mL	5.04	-28.8 ± 5,41	247 ± 47	0,186
0.5 mg/mL	4.84	-31.1 ± 5,16	267 ± 52	0,195
0.7 mg/mL	4.63	-34.9 ± 6,54	307 ± 67	0,246
0.9 mg/mL	4.46	39.9 ± 5,11	341 ± 81	0,237
1.0 mg/mL	4.17	-43.9 ± 6,48	379 ± 93	0,250

Karışım oranının etkisi

Ekleme sırasının bir fonksiyonun olarak aslında karışım oranı karıştırılan polielektrolitlerdeki pozitif ve negatif yüklerin oranıdır. Karışım oranı sadece IPC partiküllerinin nihai boyutunu ve yükünü etkilemekle kalmaz, aynı zamanda biyolojik aktivitelerini de etkiler. Polielektrolitlerin iyonlaşma derecesinin pH'a bağlı olduğu ve bu nedenle "etkili" karışım oranının, farklı pH değerlerinde aynı poliyon karışımı için değişeceği belirtilmelidir [236]. Stokiyometrik olmayan karıştırma oranları, koloidal IPC parçacıklarına fazladan poliyonun stabilize edici bir kabuğunu vermek için gereklidir. Bu temelde pH, iyonik şiddet ve poliyon yapısı gibi diğer değişkenler sabit tutulduğu sürece, IPC parçacıklarının mutlak değeri ve potansiyelindeki değişimler, karışım oranlarındaki değişikliklerden tahmin edilebilir. Çok sayıda IPC partikül sisteminin karıştırma oranına güçlü bağımlılığı göz önüne alındığında, IPC partikül davranışının tutarlı ve temsili sonuçlarını çıkarmak için bir dizi oranı değerlendirmek her zaman gereklidir. Stokiyometrik olmayan IPC partiküllerinin hazırlanması için yük yoğunluğunun, örneğin $[n^{-}/n^{+}] = 2$ 'de, polianyon polikatyona eklenirse, komplekslerde her zaman fazla pozitif yük ve itici kuvvetlerin bulunduğunu fark etmek çok önemlidir ve aralarındaki kuvvetler koloidal stabilitenin korunmasına yardımcı olur. Bununla birlikte, aynı polimer karışımı, polianyona polikasyon (fazla) ilavesiyle hazırlanırsa, ilk IPC'lerin negatif yükü, polikasyon ilavesiyle yarı yolda nötr bir değere ulaşacaktır. Sonuç olarak, polielektrolitler yanlış sırada karıştırılırsa nötr parçacıklar topaklanabilir. Bu nedenle, eksik olan poliiyonun fazla olana eklendiği ve bunun da polielektrolitlerin doğasına bağlı olarak farklı çekirdeklenme dinamikleri ile sonuçlandığı ileri sürülmektedir [240]. Müller ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada, minörden majöre ve majörden minöre karışım oranına bağlı olarak ekleme sırasında dramatik bir fark olduğunu gözlemlediler. İlk durum için (minörden majöre), 1:1 stokiyometri noktasının (mutlaka $n^{-}/n^{+} = 1$ 'de olması gerekmez) aşılmaması gerektiğinden, eklenmiş polielektrolitin daha dengeli bir şekilde tüketilmesini önermişler. İkinci durum için (majörden minöre), eklenen polielektrolit tüketimi, 1:1 noktasının aşılması gerektiğinden denge dışı bir durum olduğunu açıklamışlardır. Benzer eğilimler, kitosan/dekstran sülfat sistemi için Schatz [234,241] ve Delair [240] tarafından da bulunmuştur. Ek olarak, iki ekleme sırası, n^{-}/n^{+} karıştırma oranına bağlı olarak biraz farklı sıfır yük noktaları ortaya çıkarır. Bu, beherde PAA ile başlayarak, sıfır yük telafi etmek için daha az PVI'm'a ihtiyaç duyulurken, PVI'm ile başlarken, sıfır yük telafi etmek için daha fazla PAA'ye ihtiyaç duyulduğu anlamına gelir. Muhtemelen, bu bulgu, boyut etkilerinden görüldüğü gibi,

ekleme sırasının PVIm/PAA dispersiyonlarının iç yapısı üzerindeki etkisine ilişkin sonuçlarla uyumlu olarak görülebilir. Çoğunluğun azınlık bileşenine eklenmesi durumunda bulunan gevşek PVIm/PAA parçacıkları, ters ekleme sırası ile oluşturulanlara kıyasla farklı boyutlarda en dıştaki polielektrolit kabuklarına sahip olabilir. Karışım oranları, pH'a bakılmaksızın çözeltideki asidik ve bazik birimlerinin fraksiyonu veya yüzdesi ile gösterilir. PAA-PVIm IPC nanoparçacıklarının parçacık boyutu ve boyut dağılımı, belirli konsantrasyonda PAA çözeltisine PVIm eklenmesiyle ve PVIm çözeltisine PAA eklenmesiyle hazırlandı, DLS ile belirlendi ve sonuçlar görüntülendi. PAA ve PVIm karışımlarından IPC partiküllerinin oluşumunu farklı karışım oranlarında detaylı olarak inceledik. İlk olarak, kompleksin mutlak yükünün aşırı poliyonunki olduğunu gözlemledik. İkinci olarak, nanoparçacıkların boyutu ve yükü farklı oranlar aralığında geniş bir dağılım göstermiştir. Örneğin farklı karışım oranlarında (n^- / n^+) (PAA-PVIm) PAA çözeltisine PVIm çözeltisi eklendiği zaman, $n^- / n^+ = 0.2$ 'den 1.4 'e (kararlı IPC'ler aralığı) kadar çıktığında ilk başta boyutta biraz küçülme daha sonra PVIm fazla eklendiğinde IPC boyutlarında artma ve yüzey yükünde negatif değerlerden nötre doğru bir değişim gözlemledik. Yük oranı $n^- / n^+ = 1.4$ (234 ± 47) den 1.6 ulaştığında hızlı bir boyut artışı gerçekleşti $n^- / n^+ = 1.6$ (899 ± 171) daha sonra yük oranı $n^- / n^+ = 1.6$ 'den 2.2'e kadar boyut artışı devam etti, yük oranı $n^- / n^+ = 2.2$ 'deki (1306 ± 293) yüksek boyut artışının nedeni nötrallığe yakın karışım oranlarında kararsız komplekslerin oluşması ve topaklanmadır (Çizelge 21). PAA ve PVIm'dan farklı yük oranlarında elde edilen IPC'lerin zeta potansiyel sonuçlarına göre, ortamda fazladan bulunan PVIm miktarı arttıkça, IPC yapılarında pozitif yüzey yük derecesi artmıştır. Bu sonuçlara göre PAA reaksiyon sırasında fazladan bulunan PVIm ile kaplanmıştır ve daha sonra, PVIm'ın ($n^- / n^+ = 2.4$) çok fazlalığında, bu polimerin fazlasının çözelti içinde kompleksleşmeden serbest kaldığı bulunmuştur. PVIm'u titrant olarak kullanıldığı zaman Çizelge 21, PVIm ortamda fazladan bulunan PAA ile kaplanır ve PAA kaplı ve PVIm çekirdekli IPC'ler oluşturulur. Bu literatürdeki diğer örneklerle karşılaştırıldığında, karıştırma oranı diğer IPC partikülleri için zeta potansiyeli üzerinde aynı etkiye sahipken, boyutundaki etkisi tutarlı değildir ve diğer değişkenlerden (örneğin poliyonların moleküler ağırlığı, yük yoğunluğu ve poliyonların derişimi) etkileniyor gibi görünmektedir. Çizelge 21 ve 22'de karışım oranı ve ekleme sırasına bağlı olarak elde edilen tüm sonuçlarda tek pik görülmüştür.

Çizelge 21. Karışım oranının (minörden majöre) (PAA-PVIm) IPC'lerinin üzerinde etkisi (ortalama çap, zeta potansiyel ve PDI değerleri). Kullanılan polimer konsantrasyonu 0.1 mg/ml % 25 aseton, PAA 250.000 ve PVIm 46.000 Mv

PAA-PVIm (n ⁻ / n ⁺)	d. (nm)	Zeta pot (Mv)	PDI
0.2	102 ± 33	-25,3 ± 3,85	0,279
0.4	71 ± 31	-23,3 ± 4,45	0,160
0.6	84 ± 37	-20,3 ± 5,32	0,248
0.8	87 ± 42	-18,6 ± 3,91	0,241
1.0	105 ± 39	-15,5 ± 5,18	0,215
1.2	156 ± 55	-13,3 ± 6,57	0,172
1.4	234 ± 47	-8,6 ± 5,48	0,210
1.6	899 ± 171	-6,1 ± 3,94	0, 250
1.8	965 ± 189	-4,5 ± 4,81	0,243
2.0	1211 ± 182	-2,7 ± 5,18	0,238
2.2	1306 ± 293	2,6 ± 4,28	0,470
2.4	754 ± 281	6,8 ± 4,06	0,424
2.8	515 ± 246	9,8 ± 5,29	0,383
3.2	467 ± 269	10,7 ± 4,02	0,391

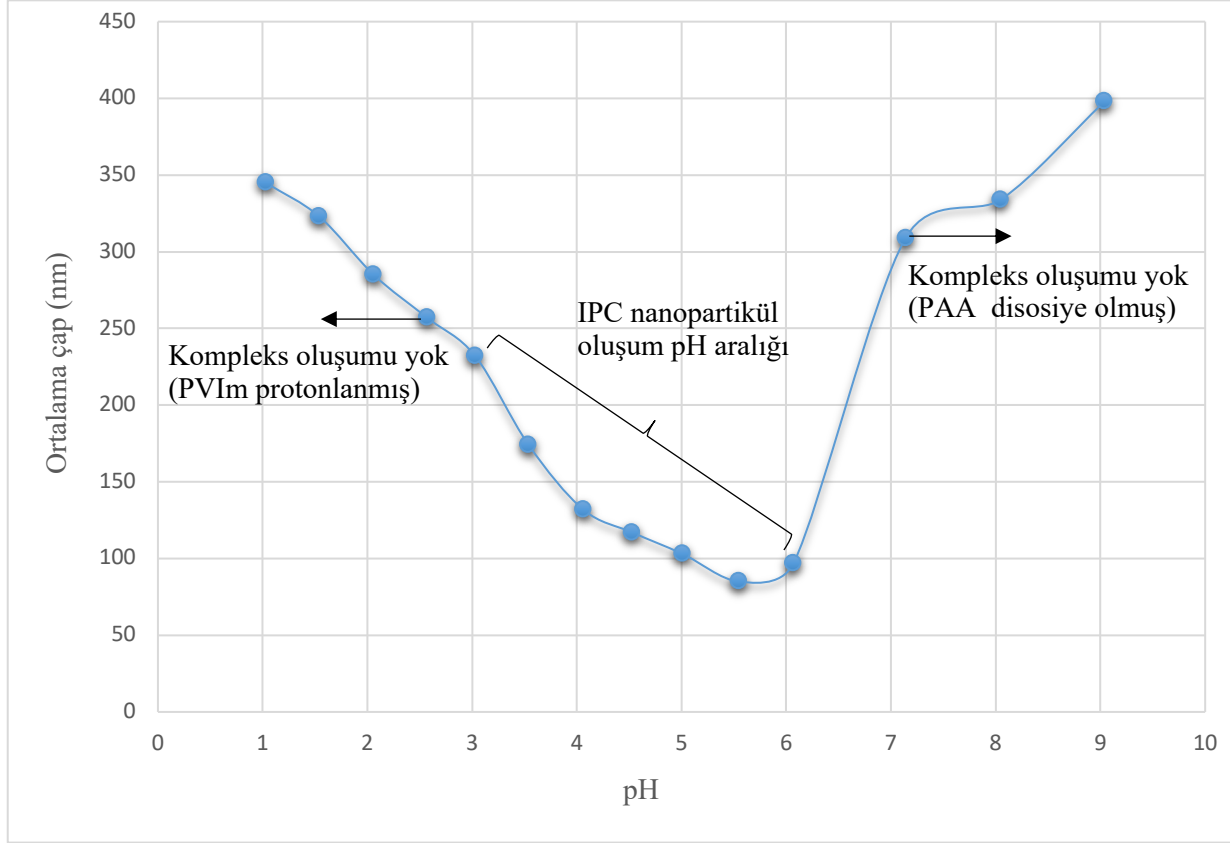
Çizelge 22. Karışım oranının (majörden minöre) (PVIIm-PAA) IPC'lerinin üzerinde etkisi (ortalama ϕ , zeta potansiyel ve PDI değerleri). Kullanılan polimer konsantasyonu 0.1 mg/ml % 25 aseton, PAA 250.000 ve PVIIm 46.000 Mv

PVIIm-PAA (n^- / n^+)	d. (nm)	Zeta pot (Mv)	PDI
0.2	441 $\pm$ 72	13,3 $\pm$ 4,11	0,287
0.4	766 $\pm$ 119	10,2 $\pm$ 3,56	0,338
0.6	962 $\pm$ 150	4,2 $\pm$ 5,21	0,260
0.8	257 $\pm$ 54	-3,8 $\pm$ 4,25	0,184
1.0	200 $\pm$ 43	-7,5 $\pm$ 3,25	0,160
1.2	182 $\pm$ 63	-13,2 $\pm$ 7,04	0,149
1.4	166 $\pm$ 56	-18,6 $\pm$ 6,04	0,216
1.6	157 $\pm$ 47	-20,1 $\pm$ 7,79	0,194
1.8	149 $\pm$ 43	-21,2 $\pm$ 5,43	0,143
2.0	137 $\pm$ 51	-23,5 $\pm$ 5,12	0,138
2.2	122 $\pm$ 37	-25,2 $\pm$ 6,32	0,127
2.4	115 $\pm$ 39	-26,4 $\pm$ 5,54	0,142
2.8	110 $\pm$ 44	-29,2 $\pm$ 7,09	0,167
3.2	103 $\pm$ 32	-32,9 $\pm$ 7,12	0,152

6.2.4.2. pH

Biyomedikal bakış açısından, polielektrolitler, fizyolojik pH'da sırasıyla kısmi veya tam iyonizasyona uğrasalar da zayıf veya güçlü olarak sınıflandırılabilir. Sonuç olarak, güçlü polielektrolitlerin aksine, zayıf poliyonların yük yoğunluğu, farklı doku ve organellerde (4.5-7.4) ortam pH'ına güçlü bir şekilde bağlı olacaktır [242]. pH aralığındaki değişimler, polielektrolit bağlanmasında ve değerlik kaybından veya kazanımından (yani zincir başına yükler) IPC partikül stabilitesinde önemli değişikliklere yol açabilir. Polielektrolit komplekslerinin pH'a duyarlı davranışına iyi bir örnek şekil 6. 69 'da verilmiştir. Düşük pH'larda (1.03-2.57), PAA hemen hemen tamamen protonlanmış vaziyettedir, böylece düşük yük yoğunluğunun bir sonucu olarak protonlanmış artı yüklü PVIm ile gevşek kompleksler oluşur ya da hiç kompleks oluşumu gözlenmez. Bununla birlikte, daha yüksek pH'da (3.05-6.07) PAA zincirleri iyonize olur ve bu nedenle elektrostatik etkileşim sonucu artı yüklü PVIm ile kararlı kompleksler oluşur. Benzer şekilde, iki zıt yüklü polielektrolitin kendiliğinden birleşmesi için seçilen pH, yük yoğunluklarını ve dolayısıyla ortaya çıkan nanoparçacıkların nihai özelliklerini etkileyebilir. Müller ve arkadaşları PEI ve PAA arasındaki IPC oluşumu üzerinde pH etkisini araştırdıkları çalışmada çözelti karışımlarında molar karışım oranını sabit tutarak pH etkisini incelemişlerdir. PAA için tek bir pH değeri ve PEI için dört farklı pH değeri kullanılmıştır, PAA pH = 4 çözeltisi, PEI çözeltisi ile pH = (10, 8.5, 7 ve 4) yüksek pH'dan düşük pH'a doğru karıştırıldığında PAA'nın pH'sı sabit tutulduğu için PEI birimleri daha fazla protonlanır bu da daha fazla kompleks oluşumuna ve daha kompakt yapılara neden olur. pH 10 dan pH 4'e doğru azalan değerleriyle partikül boyutlarında 400'den 160 nm'ye bir azalma elde edilmiştir. Bu eğilim, PEI'nin kademeli olarak yüklenmesiyle açıklanabilir, bu da oldukça gergin bir konformasyona neden olur. Ayrıca interpolimer kompleks hem PEI hem de PAA yük yoğunluğunun daha baskın olduğu pH = 4/10 edildiğinden boyut düşüşü daha fazla görülmüştür [234]. Feng vd, farklı oranlarda (yani karışım oranları) karboksimetil selüloz (CMC) ve poli(vinilamin) (PVAm)'den IPC partikül hazırlama sırasında pH'ın etkisini incelediler [243]. Yazarlar, sırasıyla asidik pH'da pozitif ve bazik pH'da negatif IPC'lerin oluştuğunu karıştırma oranının ve pH'nın bir etkisi olarak gözlemlediler. Bu sonuç, daha yüksek pH değerlerinde polimerlerin daha yüksek (de)protonasyonu ile tutarlıdır. Bununla birlikte, daha düşük CMC (zayıf polielektrolit) içerikleri, PVAm üzerinde CMC'nin daha yüksek pH duyarlılığından beklendiği gibi, IPC parçacık yükünde daha az belirgin değişikliklere yol açtı. Boyut açısından, pH'daki bir birim artış 10/20 oranında (CMC/PVAm)

boyutta 4 kat artışa yol açsa da, IPC partikül boyutu, izoelektrik noktalarının üzerindeki pH'daki değişikliklere karşı çok hassas olmadığını açıkladılar.



Şekil 6. 69. pH'ın PAA-PVIm interpolimer kompleksi oluşumu üzerinde etkisi. 1:1 stokiyometrik oranda (kullanılan polimer konsantrasyonu 0.1 mg/mL %25 aseton, PAA 250.000 Mw ve PVIm 46.000 Mv)

Çizelge 23. pH 3.54 - 6.07 aralığında oluşan kararlı (PAA-PVIm) IPC'leri için, ortalama çap, zeta potansiyel ve PDI değerleri

pH	d. (nm)	Zeta pot (Mv)	PDI
1.03	345 ± 95	33,4 ± 6,23	0,334
1.54	323 ± 91	28,6 ± 7,21	0,311
2.06	285 ± 89	21,3 ± 7,39	0,298
2.57	257 ± 77	15,9 ± 5,32	0,302
3.05	232 ± 61	9,7 ± 6,11	0,289
3.54	174 ± 57	-11,3 ± 4,57	0,284
4.06	132 ± 46	-18,4 ± 5,21	0,234
4.53	117 ± 42	-25,5 ± 3,89	0,210
5.01	103 ± 37	-29,7 ± 4,33	0,243
5.55	85 ± 35	-33 ± 5,34	0,231
6.07	97 ± 48	-37,2 ± 6,42	0,229
7.14	309 ± 77	-42,6 ± 7,22	0,321
8.05	334 ± 89	-48,3 ± 6,33	0,343
9.04	398 ± 109	-51,9 ± 7,19	0,367

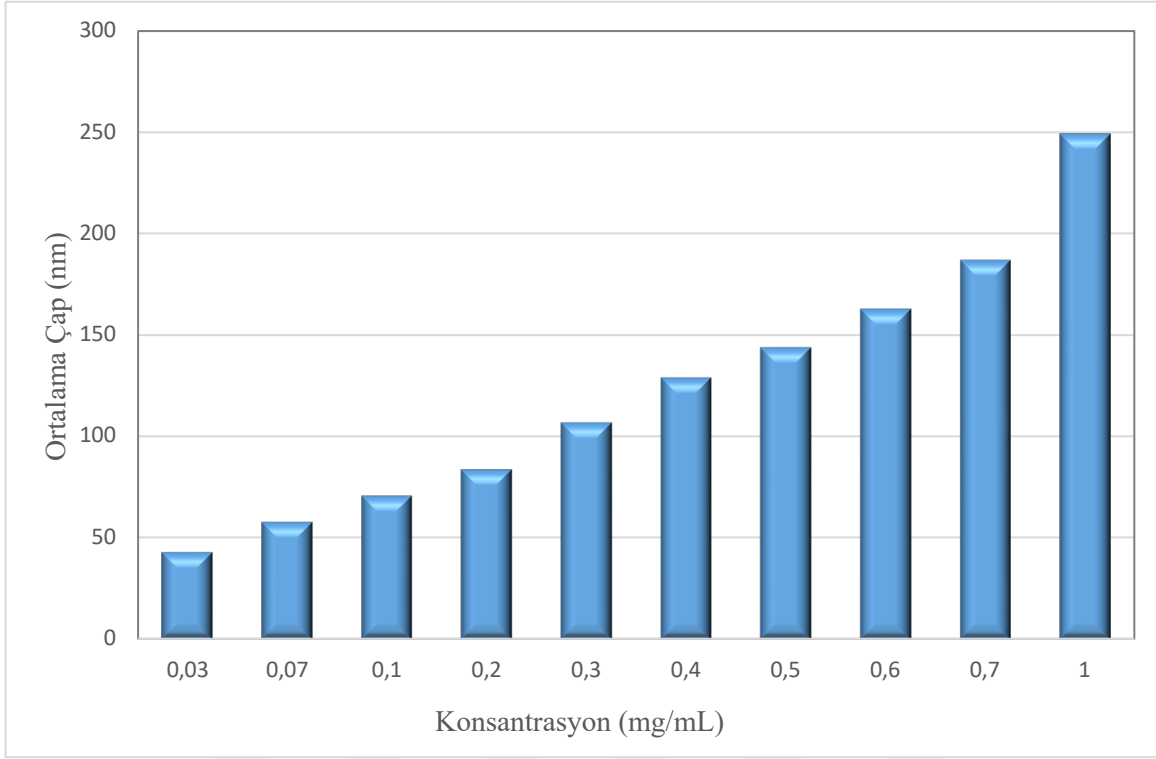
IPC nanopartiküllerin oluşumu için, pH çok önemlidir; pH 3.05 altındaki pH'larda PVIm ve PAA birimlerinin protonlanmasından dolayı IPC oluşumu gözlenmez. pH (1.03-3.05) değerlerinde PAA ve PVIm (PAA-COOH ve PVIm-NH⁺) yapılarındadırlar. pH 3.54 ve 6.07 arasında IPC

nanopartikülleri oluşmaktadır bunun nedeni bu pH aralığında elektrostatik etkilerin baskın olmasıdır. Polimerlerin pH 7.0 ve üstü pH'larda karıştırılması, optik olarak berrak çözeltilerle sonuçlandı. Bu pH'larda, yetersiz imidazol protonasyonu, PVIm ile PAA zincirleri arasında minimum etkileşim ile sonuçlanmıştır. Çizelge 23'te görüldüğü gibi pH 1.03-3.05 arasındaki pH'larda hem PAA hem de PVIm protonlanmış yapıları için kompleks oluşumu gerçekleşmemiştir. Burada boyut dağılımı PAA ve PVIm polimerlerine aittir ve zeta potansiyel değerleri ise PVIm protonlanmasından dolayı artı değerlerdedir. pH değerleri arttıkça protonlanma derecesi düşer bu da zeta potansiyelin artı olarak düşmesine ve boyutlarında azalmasına yol açar. PVIm tam protonladığı zaman artı yüklerin birbirini itmesinden dolayı PVIm zincirleri açılır bu da boyutların artmasına neden olur. pH 3.54-6.07 aralığındaki pH değerleri PAA ve PVIm zincirleri arasındaki elektrostatik etkileşimlerin ve H-bağının en yüksek olan pH aralığı ve IPC oluşumunun gerçekleştiği bölgedir. Bu pH aralığındaki oluşan IPC'lerin boyutları pH'nın artması ile azalmış ve zeta potansiyel değerleri pH'nın artması ile negatif değer olarak artmıştır. pH 7.14 – 9.04 aralığındaki pH değerleri PAA'nın tamamen disosiyasyonu ve PVIm'in yetersiz protonlanmasından dolayı IPC oluşmamıştır ve boyut dağılımı PAA ve PVIm polimerlerine aittir ve zeta potansiyel değerleri PAA'nın zeta potansiyel değerleridir.

6.2.4.3. Polielektrolit derişimi

Genellikle IPC partiküllerinin oluşumu sırasında, başlangıç polielektrolitlerinin yüksek konsantrasyonları, zayıf kolloidal stabiliteye sahip mikron boyutlu komplekslerin oluşumuna yol açar [233,244]. Sonuç olarak, dağılmış IPC nanoparçacıklarının sadece kritik bir konsantrasyonun altındaki polielektrolit karışımlarında oluşabileceği, bunun üzerinde sistemin topaklandığı veya çökelediği (yaklaşık <1 mg/mL) genelleştirilebilir [239]. IPC partikül hazırlama sırasındaki konsantrasyon kısıtlamaları, bu komplekslerin konsantre dispersiyonlarını hazırlamak gerektiğinde bir sınırlama olabilir. Çözelti bileşenlerinin konsantrasyonundaki bir artışın daha büyük IPC parçacıklarının oluşumunu desteklemesi bekleniyordu, Şekil 6.71'de, IPC partikül boyutunun polielektrolit derişimine bağımlılığı, PAA / PVIm'un IPC'sı için DLS partikül boyutu olarak verilmiştir. Bu seride $M_v = 46.000$ PVIm ve $M_w = 250.000$ g/mol PAA kullanılmıştır. Polielektrolit derişimi varyasyonu, $d(nm) = 43-249$ nm arasında tanımlanmış çaplara sahip PAA/PVIm IPC parçacıkları üretilebilir. Genel olarak, IPC partikül boyutu polielektrolit derişimi ile artar. Bununla birlikte, derişimin artmasıyla, IPC dispersiyonları, sayım

hızındaki ilgili düşüşten görülebileceği gibi, kararsızlığa meyillidir. Artan polielektrolit derişimi ile artan IPC parçacık boyutunun bir açıklaması olarak, elektrostatik erişimin bir ölçüsü olan Debye uzunluğunun (elektrolitlerde, Debye uzunluğu bir çözeltideki yük taşıyıcının net elektrostatik etkisinin ne kadar devam ettiğinin bir ölçüsüdür) bir etkisini varsayıyoruz. Wandrey tarafından belirtildiği gibi sadece artan tuz değil, aynı zamanda polielektrolit konsantrasyonu da bir polielektrolit sisteminin Debye uzunluğunu azaltır [245]. Bu nedenle, kısa menzilli dağıtıcı etkileşimler nedeniyle birincil IPC'in ikincil IPC parçacıklarına toplanması modeline dayanarak, artan Polielektrolit derişimi, benzer yüklü birincil IPC parçacıkları arasında azalmış elektrostatik itme ve dolayısıyla yüksek dağılma çekimleri ile sonuçlandığı ileri sürülebilir. Ayrıca, Polielektrolit derişimi 'deki bir artış, hacim başına daha fazla sayıda birincil IPC partikülü ile sonuçlanabilir. Her ikisi de daha büyük ikincil IPC partikül boyutlarına yol açabilir, ancak belirli Polielektrolit derişimi değerlerinin aşılması da çökmeye neden olabilir. Birincil IPC'ler ideal olarak yalnızca bir veya uzun menzilli elektrostatik etkileşimlerle bir arada tutulan birkaç polikasyon/polianyon çiftinden oluştuğu önerilir. Tüm IPC oluşum sürecinin atermal olduğu iddia edildiğinden, meydana gelen polikasyon/polianyon eşleşmesinin itici gücünün, ilgili karşı iyonlar ana polielektrolit omurgalarından serbest bırakıldığında entropi kazancı olduğu iddia edilmektedir. Oysa herhangi bir IPC dispersiyonunda bulunan son parçacıklar olan ikincil parçacıklar, kısa menzilli dispersif etkileşimlerle bir arada tutulan yaklaşık 100 birincil IPC parçacığından oluşur. Bu süreç sırasında hiçbir entropi kazancı beklenmediğinden, bu ikinci sürecin hafif entalpik olup olmadığı tahmin edilebilir [245, 246]. Bu çalışmada, PAA/PVIm'dan elde edilen IPC partiküllerinin boyutu, polielektrolit konsantrasyonunun bir fonksiyonu olarak incelenmiştir. Şekil 6.70'de gösterildiği gibi, kullanılan polimerlerin molekül ağırlığına bakılmaksızın polimer konsantrasyonu ve IPC boyutu arasında hemen hemen doğrusal bir korelasyon bulundu. Burada gözlemlendiği gibi, IPC parçacıklarının boyutu, poliiyon büyüklüğü ve konsantrasyonunun bir kombinasyonu ile ince bir şekilde ayarlanabilir.

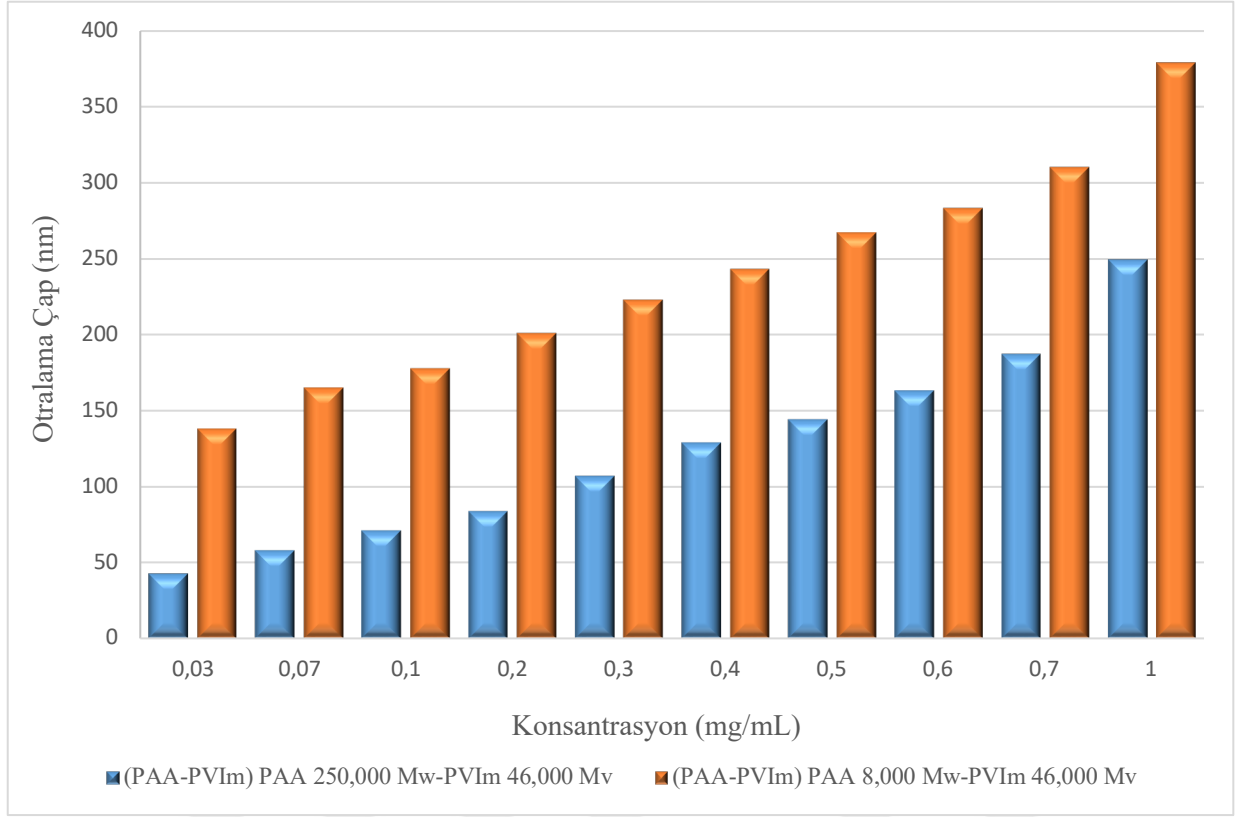


Şekil 6.70. IPC (PAA-PVIm) partikül büyüklüğüne polielektrolit konsantrasyonunun etkisi.

6.2.4.4. Polielektrolit molekül ağırlığı

Poliyonların diğer yüklü türlere bağlanma özellikleri, polielektrolitin yapısındaki yüklü grupların yoğunluğuna ve sayısına güçlü bir bağımlılık gösterir. Polielektrolit bağlamanın elektrostatik doğasının bir sonucu olarak, daha yüksek yük yoğunluklarına sahip polimerler, yüklü substratlar için daha güçlü bir istek gösterir. Yük yoğunluğunu arttırmanın en basit yolu, belirli bir derişim için polielektrolitin molekül ağırlığını arttırmaktır. Polimerlerin çözelti içindeki kısmen dolaşık yapısı göz önüne alındığında [242], daha yüksek molekül ağırlık, daha büyük polielektrolit çekirdeklerine yol açar. IPC partiküllerinin stabilitesinin, polimer zinciri başına yüklü grupların sayısından etkilendiği ve bir "üst kritik büyüklükte " poliiyonun, stabil kompleksler oluşturabileceği gösterilmiştir. [247]. Bununla birlikte, IPC partiküllerinin koloidal stabilitesi için genellikle poliiyonların molekül ağırlığında önemli bir farklılık gereklidir [248,249]. Müller ve arkadaşlarının yaptıkları PEI-PAA çalışmasında farklı pH'lerde hem PEI hem PAA'nın farklı molekül ağırlıkları incelenmiştir. Yalnızca pH = 7/7 (PEI ve PAA'nın pH-7 anlamına gelir), $n^-/n^+ = 0.6$ kombinasyonu için ve yalnızca PEI durumunda, artan M_w üzerine

$d(nm) = 120$ nm'den (PEI-1.300) $d(nm) = 380$ nm'ye (PEI-750.000) önemli bir parçacık boyutu büyümesi elde edilmiştir. $pH = 10/4$ ve $n-/n+ = 0.6$ partikülleri için, doğrudan bir açıklamalarının olmadığını ve partikül boyutları PEI'nin M_w 'sine önemli bir bağımlılık göstermediğini açıkladılar. Muhtemelen, $pH = 10/4$ 'te PEI'nin daha kompakt durumunda, oluşturulan PEI/PAA partikülleri M_w varyasyonuna o kadar duyarlı değildir. Ayrıca, ne $pH = 10/4$ ne de $pH = 7/7$ için, artan PAA'nın M_w 'si ile partikül boyutunda önemli bir genişleme elde edilmemiştir. $pH = 10/4$ için artan PAA'nın M_w 'si ile partikül boyutunda daha çok bir azalma elde edildiklerini açıklamışlardır. Çalışmanın bu kısmında Şekil 6. 71 görüldüğü gibi PAA-PVIm IPC'leri için PAA'nın iki farklı molekül ağırlığını kullandık, oluşan IPC'ler PAA 250.000 g/mol olduğu zaman daha kompakt ve boyut olarak daha küçüktür, ama PAA 8.000 g/mol olduğunda daha büyük IPC'ler oluşmuştur. Bölüm 6.1.2'te açıklandığı gibi düşük mol kütleli PAA'lar konformasyonel olarak bir geçişe uğramadıkları ve uzanmış zincirler halinde (çubuk şekli) kaldıkları için ancak büyük mol kütleli PAA'lar pH'a bağlı bir konformasyonel değişiklik sergilemekteler. Müller ve arkadaşlarının da yaptıkları çalışmada daha yüksek PAA molekül ağırlığında daha küçük boyutlar elde edilmiştir [234]. Çizelge 1'den PAA'nın her iki molekül ağırlığı için DLS boyut dağılımları yakın olduğu için IPC'lerin boyutları PAA'nın molekül ağırlığının çıkış boyutundan kaynaklanmadığı ve daha çok PAA'nın düşük molekül ağırlığında konformasyonu ve muhtemelen konsantrasyona bağlı olarak entropisi daha baskın olduğu için primer IPC'ler birleşerek sekönder IPC'ler elde edilmiştir. PAA moleküler ağırlığı 250.000 g/mol olduğunda, PVIm ile daha yüksek miktarda elektrostatik ve H-bağı etkileşimler oluşturabilen daha uzun zincirlerin varlığı nedeniyle daha kompakt IPC partikülleri oluşmuştur.



Şekil 6. 71. PAA molekül ağırlığının (Mw) IPC (PAA-PVIm) partikül büyüklüğü üzerindeki etkisi. Tüm çözeltiler % 25 aseton oranında hazırlanmıştır.

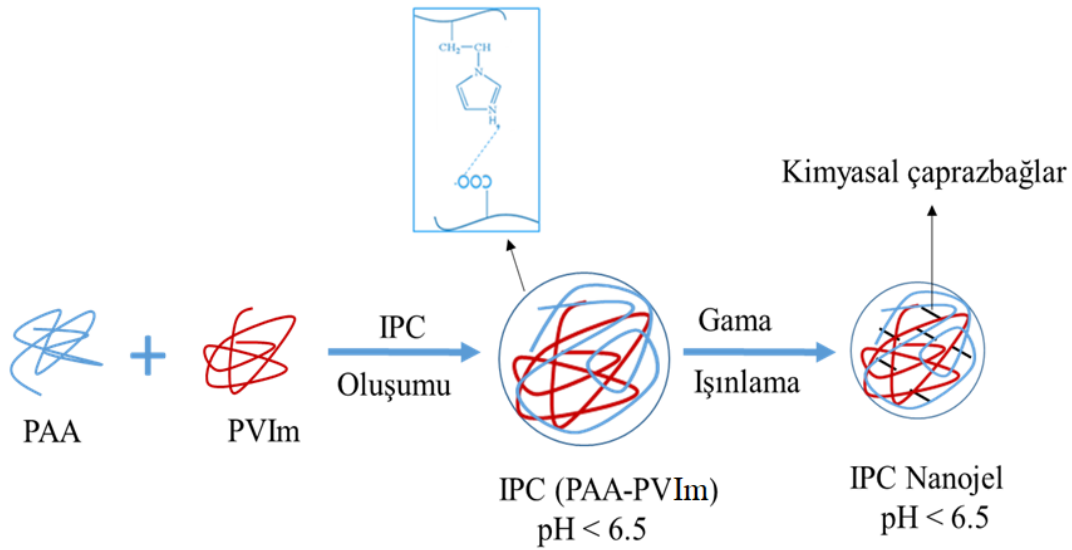
6.2.5. (PAA - PVIm) IPC nanojellerin radyasyonla hazırlanması

6.2.5.1. (PAA-PVIm) IPC'lerin Işınlanması

Klasik çapraz bağlama yöntemleri ile mikro veya nanojellerin sentezlenmesi, başlatıcıların, monomerlerin ve çapraz bağlama maddelerinin ve çoğu zaman yüzey aktif maddeler olarak diğer yardımcı bileşiklerin varlığını gerektirir. nanojellerin radyasyon tekniği ile sentezlenmesi, çapraz bağlama ajanlarının, başlatıcıların veya katalizörlerin ve potansiyel olarak zararlı veya toksik olan diğer katkı maddelerinin uygulanmasını gerektirmediğinden diğer kimyasal yöntemlere kıyasla önemli avantajlara sahiptir. Genellikle, tek substratlar polimer ve sudur. Biyomalzeme olarak kullanılması amaçlanan ürünlerin sentezinde bu özelliğin büyük önemi vardır. Radyasyonla indüklenen nanojel sentezinin bir diğer avantajı, aynı dozda ışınlama ile istenen ürün özelliklerine ve steriliteye ulaşılabilmesi koşuluyla nanojel aynı anda sentezleme ve sterilize etme mümkündür [250]. IPC nanojellerinin hazırlanmasında aseton/su sisteminde PAA ve PVIm arasındaki interpolimer kompleksinin hazırlanmasıyla başlandı ve ardından kompleks içinde dolaşık polimer zincirlerinin radyasyonla indüklenen çapraz bağlanması izlendi. PAA'nın COO^- ve COOH grupları, elektrostatik ve hidrojen bağı etkileşimi yoluyla PVIm'ın N: ve NH^+ gruplarıyla interpolimer birleşimini oluşturur ve bu da PAA-PVIm IPC oluşumuna yol açar. Bu kompleksler, nispeten güçlü elektrostatik ve hidrojen bağlarının yanı sıra hidrofobik etkileşimler ile de karakterize edilir. Bu IPC'lerin sulu çözeltileri, molekül içi çapraz bağları indüklemek için gama ışınlarıyla ışınladı. Tipik olarak, seyreltik bir polimer çözeltisi gama radyasyonuna maruz kaldığında, radyasyon enerjisinin çoğu çözücü tarafından, burada su tarafından emilir. Bu nedenle, suyun diğer radyoliz ürünleri ile birlikte hidroksil radikalleri ($\cdot\text{OH}$) ve hidratlı elektronlar ($e^- (\text{aq})$) üreten suyun radyolizi gerçekleşir. Çözeltiler N_2O ile doyuruldukça, hidratlanmış elektronlar ($e^- (\text{aq})$) tamamen oksidatif bir ortam sağlayan ek $\cdot\text{OH}$ radikallerine dönüştürülür. Aseton eklenerek, hidrate elektronlar ($e^- (\text{aq})$) ayrıca oksitleyici radikallere ($(\text{CH}_3)_2\text{C}\cdot\text{OH}$) dönüştürülür [251]. Bu iki mekanizma, ortamdaki $\cdot\text{OH}$ radikallerinin konsantrasyonunu zenginleştirir, böylece karbon merkezli makroradikaller üreten oksitleyici koşullar altında IPC yapısındaki PAA veya PVIm zincirlerinden hidrojen atomlarının soyutlanmasının etkinliğini artırır. Sonunda makroradikaller, radyasyon kaynaklı çapraz bağlama işleminin bir sonucu olarak nanojellerin oluşumu ile PAA-PVIm kompleksinde bir ağ yapısı oluşturmak için molekül içi kovalent bağlar oluşturmak üzere birbirleriyle birleşir.

Radyasyona bağılı molekül içi çapraz bağlamaya dayalı bu yöntemin uygulanması, substratlar olarak tek sentetik polimerlerle sınırlı değildir. Aynı yaklaşımı kullanarak, birbirleriyle hidrojen bağları yoluyla bağlanabilen tamamlayıcı makromoleküller arasında oluşturulan interpolimer komplekslerini (IPC'ler) çapraz bağlamak mümkündür. IPC'ler, örneğin ilaç dağıtımı için umut verici materyaller ve ayrıca proteinler veya DNA gibi bazı karmaşık biyolojik molekülleri taklit edebilen modeller olarak kabul edilir. Doğaları gereği, bu tür kompleksler tersine çevrilebilir. Poliasit içeren bir karboksilat grubu ve bir hidrojen alıcısı olan başka bir polimerden oluşan IPC'ler, yalnızca belirli kritik değerin altındaki pH'da kararlıdır. Bu pH'nın üzerinde, bireysel makromoleküllere ayrışır. Kritik pH'nın altındaki oluşan IPC'leri radyasyon kullanılarak bu tür komplekslerin çapraz bağlanmasıyla, bu yapılar kovalent bağlarla kalıcı olarak sabitlenebilir ve böylece herhangi bir pH'ta kararlı olabilirler [252]. IPC nanojellerinin boyutunu etkileyen deneysel faktörleri göz önünde bulundurarak, kararlı, boyut kontrollü nanojelleri kolay ve tekrarlanabilir bir şekilde elde etmek için tüm önemli parametreleri araştıran sistematik bir çalışma yapılmıştır. Bu aşamada farklı IPC (PAA-PVIm) yapılarından nanojel sentezi hedeflenmiştir. Nanojel sentezi için boyut kararlılığı sağlanmış, agrege olmayan ve monomodal boyut dağılımı sergileyen IPC çözeltilerinden yola çıkılmıştır. IPC oluşumunu etkileyen parametrelerden yola çıkarak (ekleme sırası, pH, molekül ağırlığı, konsantrasyon ve karışım oranı) elde edilen monomodel IPC içeren çözeltiler gama ışınları ile ışınlanmıştır. Bölüm 6.2'de anlatılan IPC örneklerinden yumaklar arası etkileşimin en aza indirilmesi için ışınlamalar %25 aseton içerisinde gerçekleştirilmiştir. Nanojeller, oldukça düşük doz değeri (3 kGy) kullanarak sentezlenmiştir. Öncelikle, IPC nanojellerinin boyutlarındaki değişiklikleri araştırmak için dinamik ışık saçılımı (DLS) analizi yapılmıştır. Çizelge 24, 25, 26 ve 27'de görüldüğü gibi Ekleme sırasının bir sonucu olarak IPC çözeltilerinden gama ışınlaması ile elde edilen nanojellerin boyutları, zincir-içi çapraz bağlanma gerçekleştiği için nanojel boyutları, kendilerini oluşturan IPC yumak boyutundan daha küçük olmuştur. İkili polimer komplekslerinden nanojel oluşumunun daha iyi anlaşılması ve kontrol edilmesi için, polimer konsantrasyonunun etkisini, ekleme sırası ile hazırlanan IPC'lerin iki farklı molekül ağırlığına sahip PAA ve tek molekül ağırlığına sahip PVIm kullanarak ve komplekslerini, 10 farklı konsantrasyondaki ilgili su-aseton çözeltilerden hazırlayarak, ekleme sırasının etkisini araştırdık. Nanojeller, gama ışımasıyla tek dozda, yani 3 kGy'de hazırlanmıştır. Aşağıda sunulan sonuçlar (Çizelge 8, 9, 10 ve 11) konsantrasyonların, pH'nın, absorplanan dozun, yumak boyutların, PDI ve IPC'lerin zeta-

potansiyel değerleri ve bunlara karşılık gelen nanojeller üzerindeki etkisini göstermektedir. Nanojel parçacık boyutları ışınlanmamış IPC'lerle karşılaştırıldığında, molekül içi çapraz bağlanma nedeniyle yumak boyutlarında belirgin bir azalma gözlenmiştir. Ayrıca, daha homojen IPC nanojel oluşumu ile ışınlama sonrası PDI değerleri de azalmıştır. Işınlamalar çok düşük dozda gerçekleştiği için ışınlanan IPC'lerin nanojel oluşumu sonrası pH ve zeta potansiyel değerleri değişmemiştir bu da IPC'lerin yapısının bozulmadığını ve aynı zamanda yüzey yükünün radyasyondan etkilenmediğini göstermektedir.



Şekil 6.72. (PAA-PVIm) IPC nanojellerinin radyasyona bağlı oluşumu için önerilen şema.

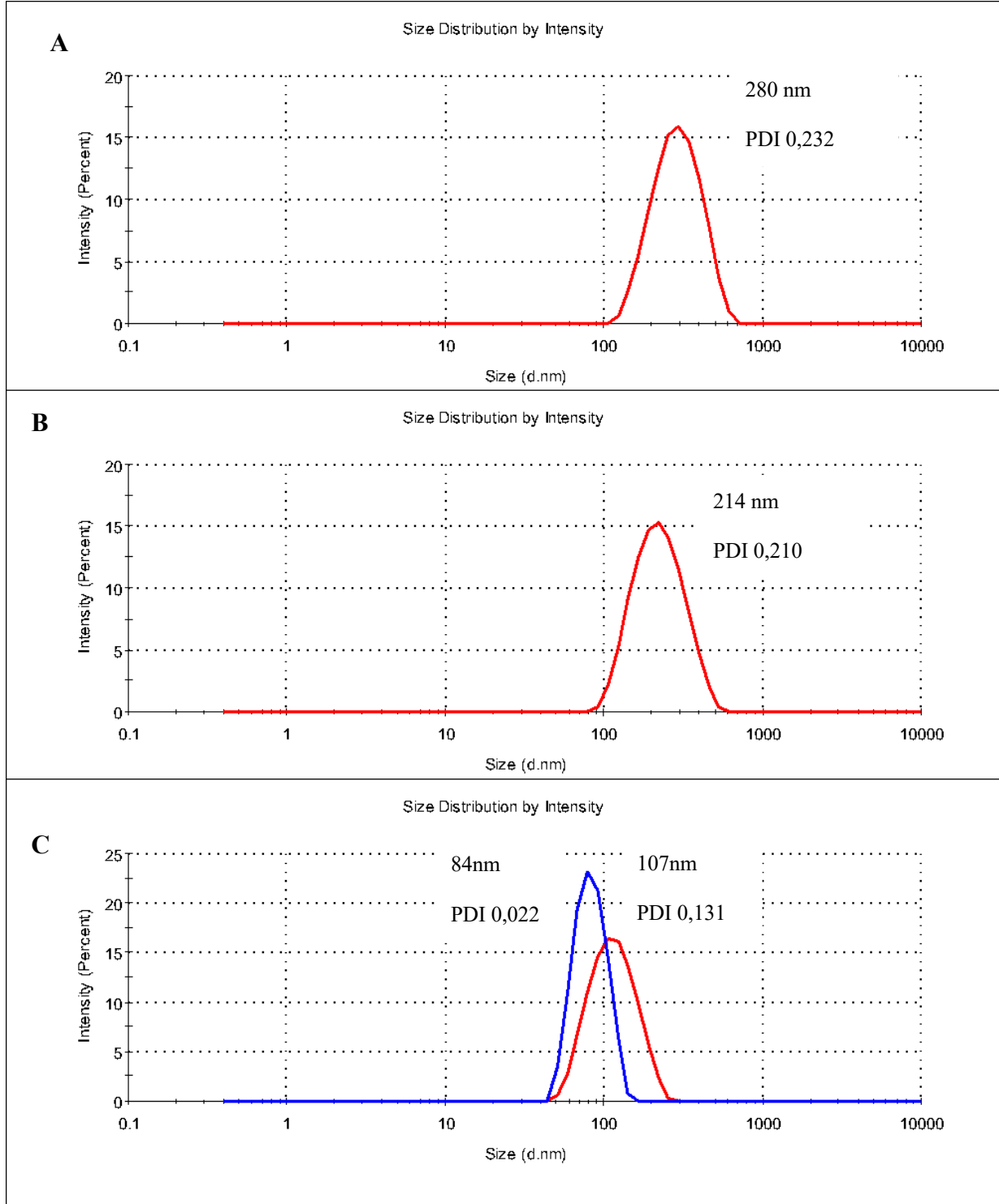
Radyasyon kullanarak molekül içi çapraz bağlama ile nanojel sentezi için substratlar olarak uygun uyarılara duyarlı polimerler grubu da pH'a duyarlı bileşiklere genişletildi. PAA bir polielektrolittir ve nanojelleri sentezleme olasılığı pH'a güçlü bir şekilde bağlıdır. Karboksilik gruplar protonlandığında, düşük pH'da PAA nanojel sentezinin mümkün olduğu gösterilmiştir. Daha yüksek pH'da kulombik kuvvetler çok güçlüdür ve ana reaksiyon zincirlerin kesilmesidir [253]. Nötr ve alkali pH'ta ve PAA'nın ortalama pKa'sının üzerinde bozunma açıkça baskındır, çünkü protosuz karboksilat grupları negatif bir yüke ve zincirler arasında etki eden itici Coulomb kuvvetlerine sahiptir. segmentler intramoleküler çapraz bağlamayı inhibe eder sadece düşük pH'da çapraz bağlama zincir kesilmesine baskındır [254]. Bu çalışmada PAA ve PVIm'dan oluşan IPC'ler geniş bir pH aralığında oluşduktan sonra ışınlanmış ve farklı pH'lara

sahip kararlı IPC nanojelleri elde edilmiştir. Ghorbanzadeh ve arkadaşları, PAA ve poli(akrilamid) PAAm'in sulu çözeltilerinde IPC oluşumunu gerçekleştirmişler. Oluşan IPC'ler çok yüksek PDI değeri göstermiş ve sonra 4 farklı doz (1, 3, 5 ve 7 kGy) kullanarak gama ışınları ile ışınlamışlar. Sonuç olarak, PAAm ve PAA'den oluşan IPC'lerin farklı dozlar (1, 3, 5 ve 7 kGy) altında ışınlama yoluyla nanojele dönüştürüldüğünü göstermişler. Işınlanan IPC'lerin boyutu 446-930 nm aralığında yumaklar içi ve yumaklar arası çapraz bağlanmadan kaynaklandığını açıklamışlar. 3 kGy'ye kadar ışınlanan IPClerin PDI değerleri ve boyut dağılımları azalmıştır ancak daha yüksek dozlar boyut ve boyut dağılımını artırmıştır [255]. Matusiak ve arkadaşları, PAA'nın seyreltik çözeltileri üzerinde iyonlaştırıcı radyasyonun etkisini incelemişler. İki tip ışınlama, hızlandırıcı electron (e-beam) ışını ve ⁶⁰Co gama kaynağı, doz hızının yumaklar içi ve yumaklar arası rekombinasyon etkisini analiz etmek için kullanılmıştır. Polimer konsantrasyonunun ve dozun etkisi analiz edilmiştir. Hızlı elektronlarla ışınlama, nanojel oluşumu ile sonuçlanırken, düşük doz oranlı gama ışınlaması konsantrasyona bağlı olarak mikrojel sentezi ile sonuçlanmıştır [256]. Çizelge 24 ve 25'de ekleme sırasının etkisini kullanarak farklı konsantrasyonlarda hazırlanan IPC nanojelleri görülmektedir, ekleme sırası polielektrolit IPC'lerini hazırlamada en önemli faktörlerden biridir ve oluşan IPC 'lerin kararlılığında etkilemektedir. (PAA – PVIm) IPC'leri % 25 aseton oranında 3 kGy ışınladığımızda zincir içi çapraz bağlama nedeni ile boyutlarda küçülme ve PDI değerleri de nerdeyse iki kattan daha azalmıştır bu da oluşan IPC'lerin çok daha homojen olduğunun bir kanıtıdır. PAA-PVP IPC'lerinin aksine PAA-PVIm IPC'leri daha kararlıdır, IPC'lerin boyutları ışınlanmadan önce düzenli aralıklarla kontrol edildi ve agregasyon olmadığı tespit edildikten sonra nanojel sentezi güvenli bir şekilde gerçekleşmiştir.

Çizelge 24. Ekleme sırasının etkisini kullanarak oluşan (PAA-PVIm) IPC'lerinin ışınlanmadan önce ve ışınlanmadan sonra pH, ortalama çap, zeta potansiyel ve PDI değerleri. Kullanılan PAA 250.000 Mw, PVIm 46.000 Mw.

Gama	Işınlanmamış				3 kGy Işınlanmış			
IPC (PAA-PVIm)	pH	Zeta Pot. (mV)	d (nm)	PDI	pH	Zeta Pot. (mV)	d (nm)	PDI
0.03 mg/mL	5.93	-12,4 ± 3,14	43 ± 18	0,158	5.93	-12,4 ± 3,14	31 ± 13	0.092
0.07 mg/mL	5.77	-15,3 ± 2,43	58 ± 21	0,186	5.77	-15,3 ± 2,43	47 ± 17	0.084
0.1 mg/mL	5.49	-20,1 ± 2,45	71 ± 24	0,150	5.49	-20,1 ± 2,45	63 ± 18	0.094
0.2 mg/mL	5,23	-24,9 ± 3,78	89 ± 27	0,147	5,23	-24,9 ± 3,78	76 ± 21	0.086
0.3 mg/mL	5.01	-27,5 ± 4,23	107 ± 35	0,131	5.01	-27,5 ± 4,23	84 ± 25	0.022
0.4 mg/mL	4.89	-29,8 ± 4,67	128 ± 44	0,138	4.89	-29,8 ± 4,67	103 ± 26	0.082
0.5 mg/mL	4.63	-32,2 ± 5,16	144 ± 39	0,121	4.63	-32,2 ± 5,16	129 ± 27	0.078
0.7 mg/mL	4.49	-35,7 ± 4,78	187 ± 47	0,181	4.49	-35,7 ± 4,78	165 ± 30	0.071
0.9 mg/mL	4.28	-37,1 ± 5,78	227 ± 53	0,198	4.28	-37,1 ± 5,78	203 ± 34	0.094
1.0 mg/mL	4.11	-41,9 ± 5,43	249 ± 59	0,211	4.11	-41,9 ± 5,43	222 ± 35	0.096

Şekil 6.73'te PVIm'in ortalama boyutu 280 nm, PAA'nın 214 nm ve oluşan IPC'nin boyutu 107 nm dir. IPC'nin PDI değeri PAA ve PVIm dan daha düşüktür, ışınlamadan sonra elde edilen IPC nanojellerinin boyutları ve PDI değerleri görüldüğü gibi küçülmüş ve daha daha dar ve homojen nanojeller elde edilmiştir. Nanojellerin boyutunun, zincir içi çapraz bağların oluşumundan dolayı öncü IPC yumak boyutlarının boyutundan daha küçük olduğu bulunmuştur. Böylece, çift amfifilik, asit ve baz özelliklere sahip PAA ve PVIm'dan çok işlevli poliamfolit nanojellerin hazırlamanın kolay ve basit bir yolu detaylandırılmıştır.



Şekil 6.73. PVIm 46.000 Mw 0.3 mg/mL, %25 aseton **(A)**, PAA 250.000 Mw 0.3 mg/mL, %25 aseton **(B)**, IPC (PAA-PVIm) 0.3 mg/mL %25 aseton (kırmızı), IPC NG (PAA- PVIm) 0.3 mg / mL %25 aseton 3kGy ışınlanmış (mavi) **(C)**.

Çizelge 25. Ekleme sırasının etkisini kullanarak oluşan (PVIm-PAA) IPC'lerinin ışınlanmadan önce ve ışınlanmadan sonra pH, ortalama çap, zeta potansiyel ve PDI değerleri. Kullanılan PAA 250.000 Mw, PVIm 46.000 Mw.

Gama	Işınlanmamış				3 kGy Işınlanmış			
IPC (PVIm-PAA)	pH	Zeta Pot. (mV)	d (nm)	PDI	pH	Zeta Pot. (mV)	d (nm)	PDI
0.03 mg/mL	5.97	-21.2 ± 4,56	127 ± 24	0,135	5.97	-21.2 ± 4,56	104 ± 16	0.058
0.07 mg/mL	5.78	-23.5 ± 5,24	131 ± 29	0,128	5.78	-23.5 ± 5,24	114 ± 24	0.037
0.1 mg/mL	5.59	-25.7 ± 4,12	148 ± 41	0,137	5.59	-25.7 ± 4,12	127 ± 28	0.090
0.2 mg/mL	5.41	-28.9 ± 5,17	173 ± 43	0,143	5.41	-28.9 ± 5,17	157 ± 27	0.043
0.3 mg/mL	5.23	-31.6 ± 5,75	197 ± 48	0,156	5.23	-31.6 ± 5,75	173 ± 31	0.071
0.4 mg/mL	5.02	-34.8 ± 4,78	223 ± 54	0,145	5.02	-34.8 ± 4,78	187 ± 33	0.087
0.5 mg/mL	4.79	-37.2 ± 5,90	245 ± 59	0,185	4.79	-37.2 ± 5,90	216 ± 37	0.091
0.7 mg/mL	4.61	-39.8 ± 6,21	287 ± 65	0,209	4.61	-39.8 ± 6,21	255 ± 45	0.095
0.9 mg/mL	4.45	-43.2 ± 6,24	321 ± 83	0,278	4.45	-43.2 ± 6,24	291 ± 66	0.101
1.0 mg/mL	-	-	-	-	-	-	-	-

Çizelge 26. Ekleme sırasının etkisini kullanarak oluşan (PVIIm-PAA) IPC'lerinin ışınlanmadan önce ve ışınlanmadan sonra pH, ortalama çap, zeta potansiyel ve PDI değerleri. Kullanılan PAA 8.000 Mw, PVIIm 46.000 Mw.

Gamma	Işınlanmamış				3 kGy Işınlanmış			
IPC (PVIIm-PAA)	pH	Zeta Pot. (mV)	d (nm)	PDI	pH	Zeta Pot. (mV)	d (nm)	PDI
0.03 mg/mL	5.89	-9,4 ± 4,12	47 ± 21	0,165	5.89	-9,4 ± 4,12	34 ± 13	0.048
0.07 mg/mL	5.65	-12,3 ± 4,23	73 ± 24	0,145	5.65	-12,3 ± 4,23	57 ± 17	0.084
0.1 mg/mL	5.44	-15,1 ± 5,45	91 ± 31	0,154	5.44	-15,1 ± 5,45	79 ± 21	0.094
0.2 mg/mL	5.23	-17,9 ± 4,78	113 ± 37	0,161	5.23	-17,9 ± 4,78	98 ± 27	0.088
0.3 mg/mL	5.04	-23,5 ± 5,23	134 ± 33	0,172	5.04	-23,5 ± 5,23	115 ± 29	0.071
0.4 mg/mL	4,87	-27,5 ± 5,81	157 ± 42	0,164	4,87	-27,5 ± 5,81	139 ± 37	0.098
0.5 mg/mL	4.66	-31,2 ± 5,10	173 ± 43	0,189	4.66	-31,2 ± 5,10	153 ± 36	0.115
0.7 mg/mL	4.43	-35,2 ± 5,78	210 ± 59	0,198	4.43	-35,2 ± 5,78	195 ± 44	0.107
0.9 mg/mL	4.28	-38,7 ± 6,23	247 ± 68	0,214	4.28	-38,7 ± 6,23	234 ± 47	0.112
1.0 mg/mL	4.09	-41,9 ± 6,90	268 ± 77	0,234	4.09	-41,9 ± 6,90	252 ± 51	0.123

Çizelge 27. Ekleme sırasının etkisini kullanarak oluşan (PAA-PVIm) IPC'lerinin ışınlanmadan önce ve ışınlanmadan sonra pH, ortalama çap, zeta potansiyel ve PDI değerleri. Kullanılan PAA 8.000 Mw, PVIm 46.000 Mv.

Gama	Işınlanmamış				3 kGy Işınlanmış			
IPC (PAA- PVIm)	pH	Zeta Pot. (mV)	d (nm)	PDI	pH	Zeta Pot. (mV)	d (nm)	PDI
0.03 mg/mL	5.95	-14,3 ± 2,14	138 ± 29	0,228	5.95	-14,3 ± 2,14	121 ± 19	0.086
0.07 mg/mL	5.78	-18,8 ± 4,23	165 ± 43	0,216	5.78	-18,8 ± 4,23	147 ± 22	0.082
0.1 mg/mL	5.50	-21,1 ± 3,45	178 ± 46	0,190	5.50	-21,1 ± 3,45	163 ± 25	0.095
0.2 mg/mL	5.32	-23,9 ± 4,55	203 ± 42	0,177	5.32	-23,9 ± 4,55	187 ± 29	0.067
0.3 mg/mL	5.18	-25,7 ± 4,29	223 ± 49	0,179	5.18	-25,7 ± 4,29	206 ± 33	0.077
0.4 mg/mL	5.04	-28,8 ± 5,41	247 ± 47	0,186	5.04	-28,8 ± 5,41	228 ± 35	0.092
0.5 mg/mL	4.84	-31,1 ± 5,16	267 ± 52	0,195	4.84	-31,1 ± 5,16	249 ± 39	0.110
0.7 mg/mL	4.63	-34,9 ± 6,54	307 ± 67	0,246	4.63	-34,9 ± 6,54	287 ± 47	0.113
0.9 mg/mL	-	-	-	-	-	-	-	-
1.0 mg/mL	-	-	-	-	-	-	-	-

Çizelge 28. pH 3.54-6.7 aralığında oluşan (PAA-PVIm) IPC'leri için, ışınlanmadan önce ve ışınlanmadan sonra, ortalama ζ ap, zeta potansiyel ve PDI değerleri. Kullanılan polimer konsantrasyonu 0.1 mg/ml, % 25 aseton, PAA 250.000 ve PVIm 46.000 Mv.

IPC (PAA-PVIm)	Işınlanmamış			3 kGy Işınlanmış		
pH	d (nm)	Zeta Pot. (mV)	PDI	Zeta Pot. (mV)	d (nm)	PDI
3.54	174 ± 57	-18,3 ± 4,57	0,284	-19,3 ± 5,57	137 ± 43	0.135
4.06	132 ± 46	-22,4 ± 5,21	0,234	-21,1 ± 5,25	118 ± 33	0.094
4.53	117 ± 42	-25,5 ± 3,89	0,210	-27,5 ± 3,67	98 ± 31	0.096
5.01	103 ± 37	-30,7 ± 4,33	0,243	-29,6 ± 4,75	87 ± 29	0.127
5.55	85 ± 35	-33,0 ± 5,34	0,231	-35,3 ± 5,34	71 ± 26	0.125
6.07	97 ± 48	-37,2 ± 6,42	0,229	-36,7 ± 5,78	83 ± 30	0.123

İki zıt yüklü polielektrolitin kendiliğinden birleşmesi için seçilen pH, yük yoğunluklarını ve dolayısıyla ortaya çıkan nanoparçacıkların nihai özelliklerini etkileyebilir. Çizelge 28'den pH 3.54-6.7 aralığında oluşan (PAA-PVIm) IPC'leri ışınladıktan sonra yumak içi çapraz bağlanma nedeni ile boyutlarda ve PDI değerlerinde azalma görülmüştür, dolayısıyla öncü IPC'lere karşılık daha dar ve homojen nanojeller elde edilmiştir. IPC 'ler ışınladıktan sonra zeta potansiyel değerleri negatif değer olarak hafif azalıp ve artmıştır bunun nedeni pH ayarlamalarında kullanılan HCl ve NaOH çözeltilerindeki serbest iyonlardan kaynaklandığı düşünülmektedir.

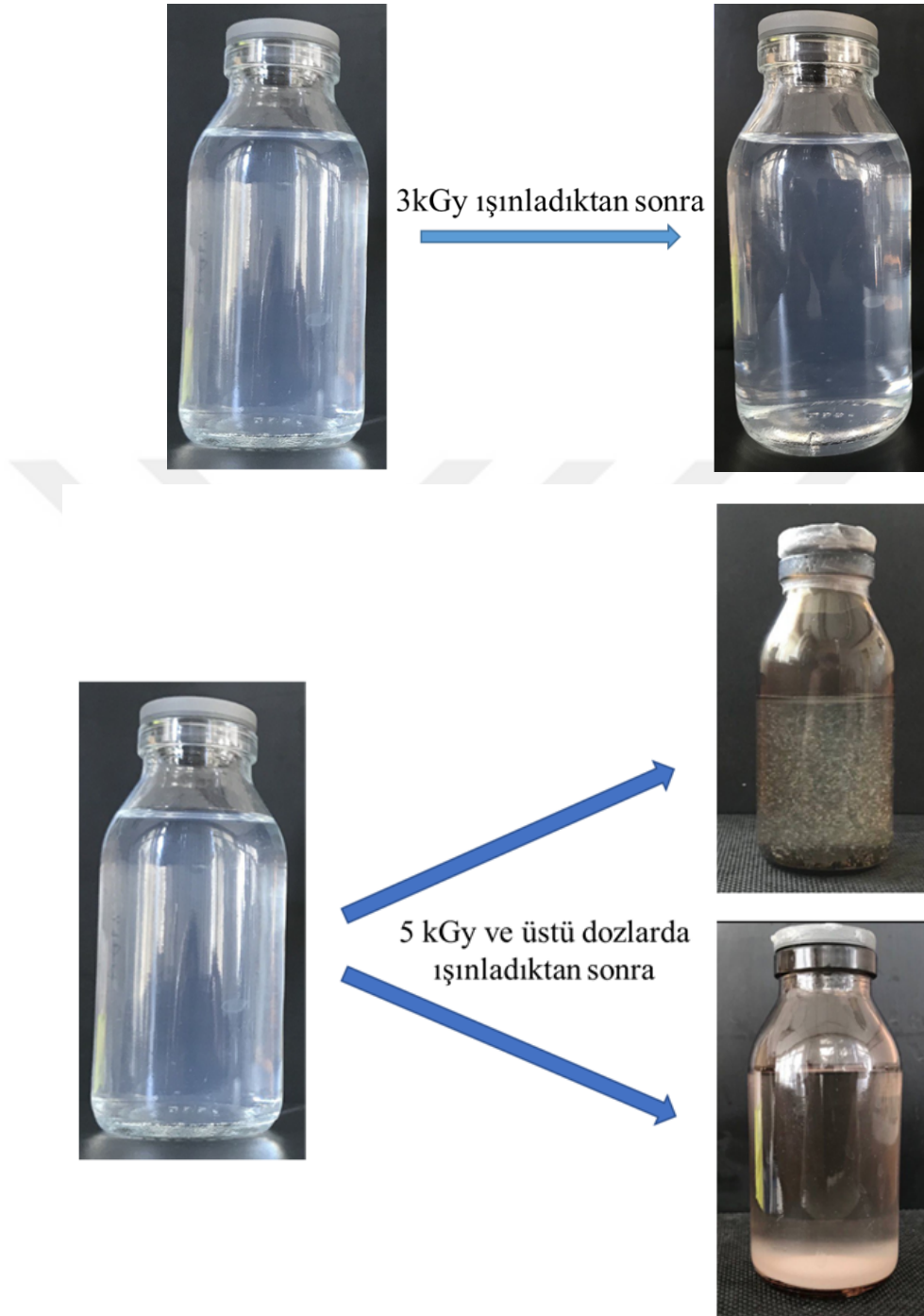
Çizelge 29. Karışım oranının etkisini kullanarak oluşan (PVIIm- PAA) IPC'lerinin ışınlanmadan önce ve ışınlanmadan sonra, ortalama çap, zeta potansiyel ve PDI değerleri. Kullanılan polimer konsantrasyonu 0.1 mg/ml, % 25 aseton, PAA 250.000 ve PVIIm 46.000 Mv.

Gama	Işınlanmamış			3 kGy Işınlanmış		
PVIIm-PAA	d (nm)	Zeta Pot. (mV)	PDI	d (nm)	Zeta Pot. (mV)	PDI
0.8	257 ± 54	-3.84 ± 4.25	0,184	237 ± 21	-3.84 ± 4.25	0.121
1.0	200 ± 43	-7.54 ± 3.25	0,160	189 ± 19	-7.54 ± 3.25	0.113
1.2	182 ± 63	-13.2 ± 7.04	0,149	168 ± 23	-13.2 ± 7.04	0.098
1.4	166 ± 56	-18.6 ± 6.04	0,216	151 ± 27	-18.6 ± 6.04	0.132
1.6	157 ± 47	-20.1 ± 7.79	0,194	139 ± 25	-20.1 ± 7.79	0.124
1.8	149 ± 43	-21.20 ± 5.43	0,143	131 ± 27	-21.20 ± 5.43	0.085
2.0	137 ± 51	-23.54 ± 5.12	0,138	123 ± 31	-23.54 ± 5.12	0.069
2.2	122 ± 37	-25.21 ± 6.32	0,127	109 ± 28	-25.21 ± 6.32	0.084
2.4	115 ± 39	-26.43 ± 5.54	0,142	93 ± 24	-26.43 ± 5.54	0.091
2.8	110 ± 44	-29.32 ± 7.09	0,167	89 ± 23	-29.32 ± 7.09	0.106
3.2	103 ± 32	-32.29 ± 7.12	0,152	77 ± 27	-32.29 ± 7.12	0.100

Karıştırma oranı, IPC partiküllerinin oluşumunda önemli bir faktördür ve partiküllerin boyut ve yüzey yükünü etkiler dolayısıyla karışım oranı etkisini kullanarak öncü IPC'lerden yola çıkarak farklı boyut, kompozisyon ve yüzey yüküne sahip IPC nanojelleri elde etmek mümkündür. Temel olarak pH, iyonik kuvvet ve poliyon yapısı gibi diğer değişkenler sabit tutulduğu sürece,

IPC parçacıklarının mutlak değeri ve zeta potansiyelindeki değişimler, karışım oranlarındaki değişikliklerden tahmin edilebilir. Stokiyometrik olmayan karıştırma oranları, koloidal IPC parçacıklarına aşırı miktarda poliiyonun stabilize edici bir kabuğunu vermek için gereklidir. Çizelge 29’de görüldüğü gibi karışım oranının etkisini kullanan farklı boyut ve yüzey yüküne sahip (PVI_m-PAA) nanojeller elde edilmiştir. Işınlanmadan sonra öncü IPC’lerden elde edilen nanojellerin ortalama boyut değerleri ve PDI’larında azalma görülmüştür. PDI değerlerinin azalması daha homojen nanojeller elde edildiğini gösterir, homojen nanojeller terapötik etkinliğini artırılmaktadır. karışım oranı 0.8’den 3.2’ye doğru PAA’nın miktarı artmaktadır bu da zeta potansiyel değerlerinin artmasına yol açmıştır zeta potansiyel değeri ne kadar yüksek olursa partiküller birbirini daha da iteceğinden süspansiyon içinde kararlılık sağlanmaktadır. PVI_m-PAA karışım oranını kullanarak sentezlenen IPC nanojelleri PAA’dan zengin nanojellerdir.

Çalışmanın bu kısmında, PAA-PVI_m nanojellerini sentezlemek amacıyla öncelikle PAA-PVI_m IPC’lerinin seyreltik çözeltileri üzerinde iyonlaştırıcı radyasyonun doz etkisi incelenmiştir. ⁶⁰Co gama kaynağı ile gerçekleştirilen ışınlamalarda literatürde raporlanan aksine 5 kGy üstü ışınlamalarda yumak-içi çapraz bağlanma yerine yumaklar-arası çapraz bağlanmanın baskın olduğu ve sonuçta makrojelleşmenin gerçekleştiği görülmüştür. Bunun sebebinin oldukça düşük doz hızı (0.022 kGy/h) nedeniyle 5 kGy üstü ışınlamaların 20 günden uzun sürmesi ve bu esnada IPC nanojellerinin arasında etkileşimin artması ve eşzamanlı ışınlama ile makrojelleşmenin olduğu düşünülmektedir. Şekil 6.74’te görüldüğü gibi aynı IPC konsantrasyonunda (0.5 mg/mL) dozun bu parametre üzerindeki etkisi incelendiğinde IPC’ler 3 kGy ışınlama dozunda nanojel oluşumu ile sonuçlanırken, 5 kGy ve üzeri dozlar gama ışınlaması makrojel sentezi ile sonuçlanmıştır. IPC konsantrasyonunu ve dozu ayarlayarak, nanojellerin boyutları kontrol edilebilir.

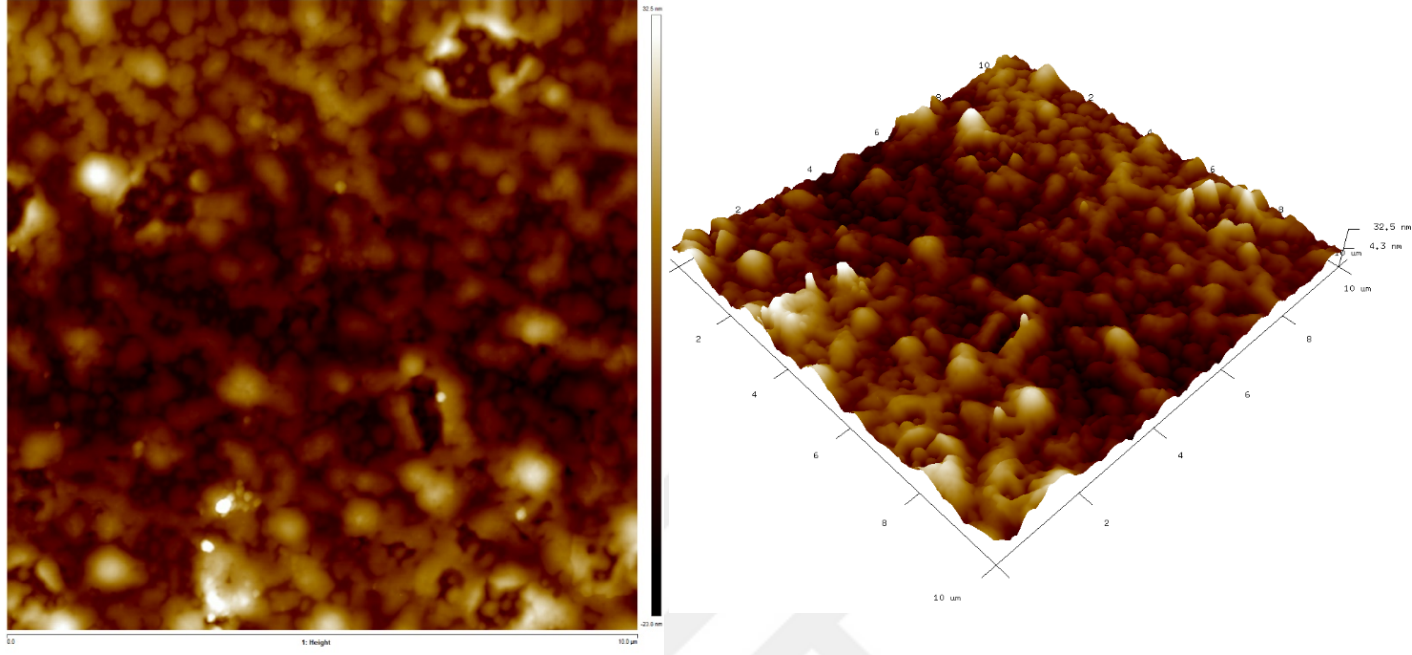


Şekil 6.74. (PAA-PVIm) IPC'lerinin 3 ve 5 kGy ışınladıktan sonra oluşan IPC nanojelleri ve makrojel çökeltileri.

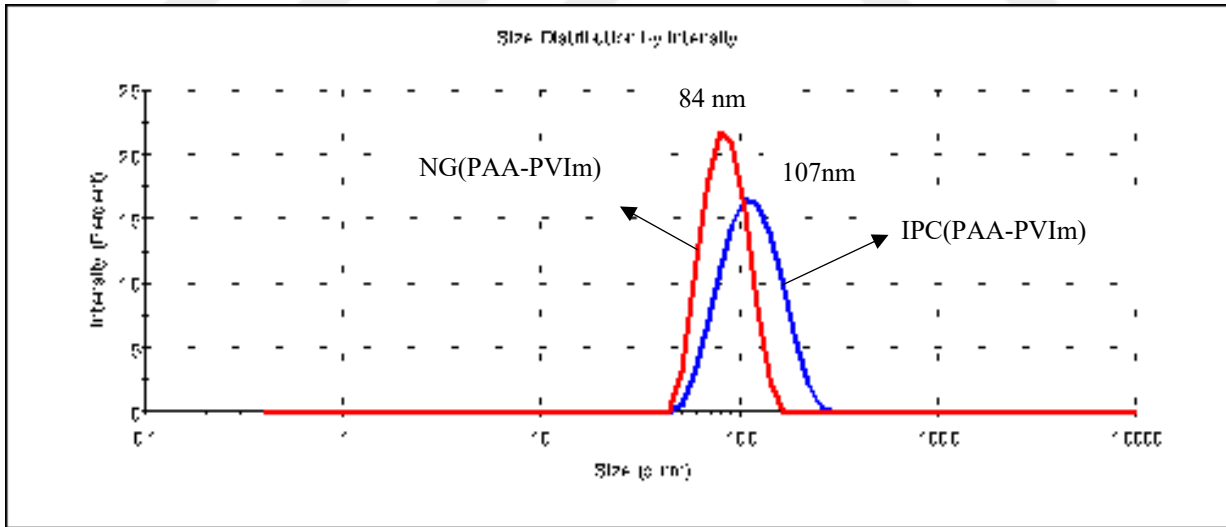
6.2.5.2. PAA-PVIm IPC ve IPC nanojellerinin AFM ve SEM Analizleri

AFM Analizi

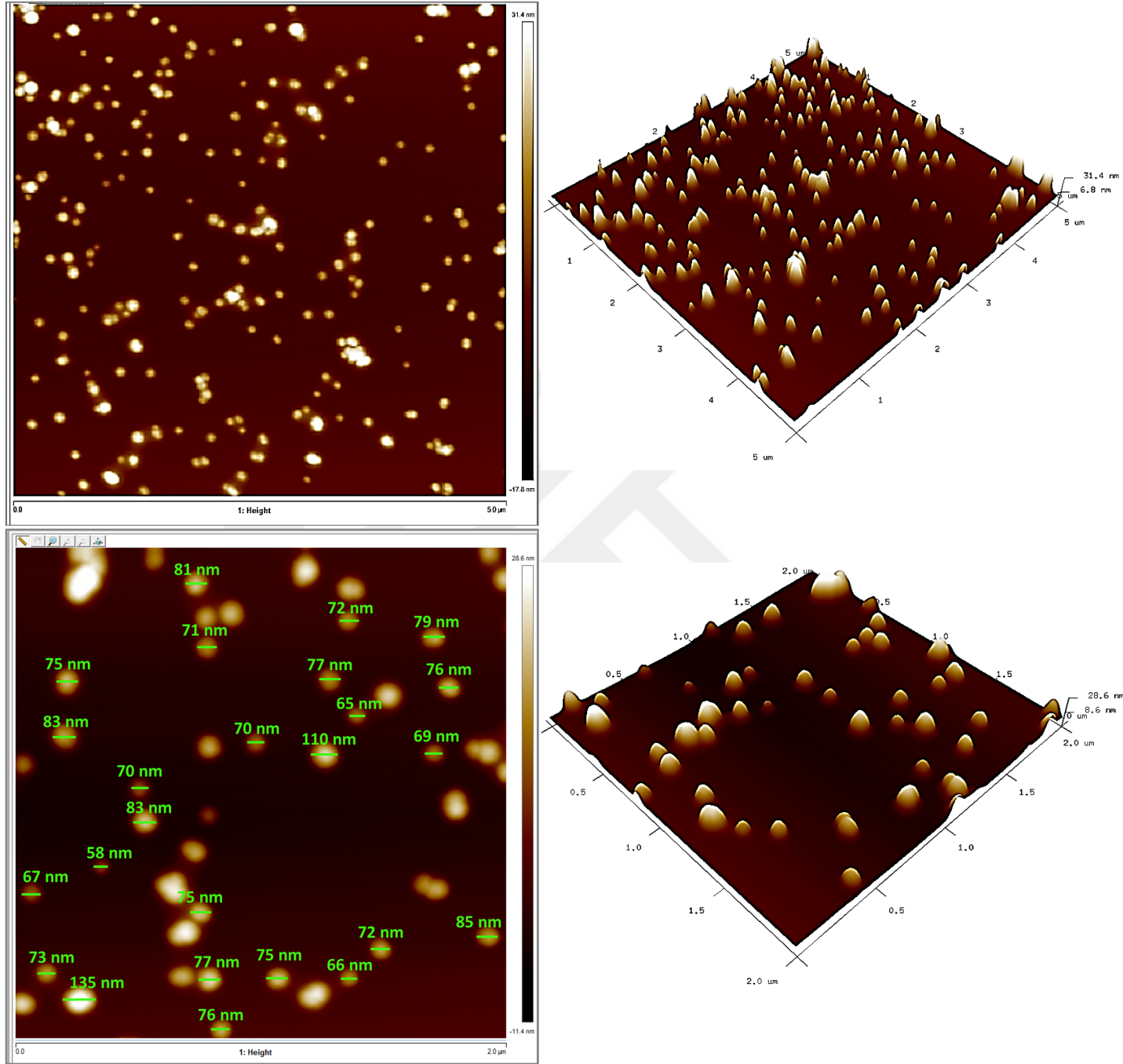
PAA-PVIm IPC ve IPC nanojellerinin nano yapısı DLS yöntemine ek olarak partikül morfolojileri ve boyutlarını tespit etmek amacıyla AFM ve SEM analizleri ile de incelenmiştir. Şekil 6.75 ve 77’de, pH 5.01’de hazırlanan PAA-PVIm IPC ve IPC nanojellerinin temsili AFM mikrografları verilmiştir. IPC çözeltisi mika yüzeyine yayılıp kurutulduğunda ortaya çıkan düzensiz kümeler Şekil 6.15’te görülmektedir. Öte yandan, Şekil 6.77’de 5 ve 2 μm boyutlarındaki görüntülerde, mika yüzeyi üzerinde farklı küreler olarak biriken PAA-PVIm IPC nanojelleri, IPC’lerden tamamen farklı bir görünüş sergilemektedir. PAA-PVIm IPC nanojelleri direk sentez ortamından alınmış ve mika üzerine seyreltik bir şekilde dağıtılarak kurutulmuş ve daha sonra görüntüleri alınmıştır. Şekil 6.76’da 5 μm ’lik geniş bir alan taramasına ait görüntüde, tek tek nanojellerin görüntülendiği bölgelere ek olarak bazı bölgelerde 5-6 nanojelin yapıştığı alanlar da net olarak görünmektedir. Nanojellerin yapıştığı bölgelerin örnek hazırlama işleminden kaynaklandığı düşünülmektedir. Çünkü aynı nanojellerin hem SEM hem de DLS analiz sonuçlarında, çok homejen boyut dağılımı sergilediği görülmüştür. AFM sonuçlarından şekil 77’de görüldüğü IPC nanojeller için ortalama boyut 71 nm olarak ölçülmüştür. Aynı nanojellerin ortalma boyut değerleri DLS analizi ile yaklaşık 84 nm olarak bulunmuştur (şekil 6.76). DLS ve AFM sonuçları arasındaki boyut farkı şişmiş ve kurumuş yapılardan kaynaklanmaktadır.



Şekil 6.75. PAA-PVIm IPC'nin (IPC2) 2 ve 3 boyutlu AFM görüntüsü (PAA 250.000 Mw, PVIm 46.000 Mw, 0.3 mg/mL, %25 aseton ve pH=5.01).



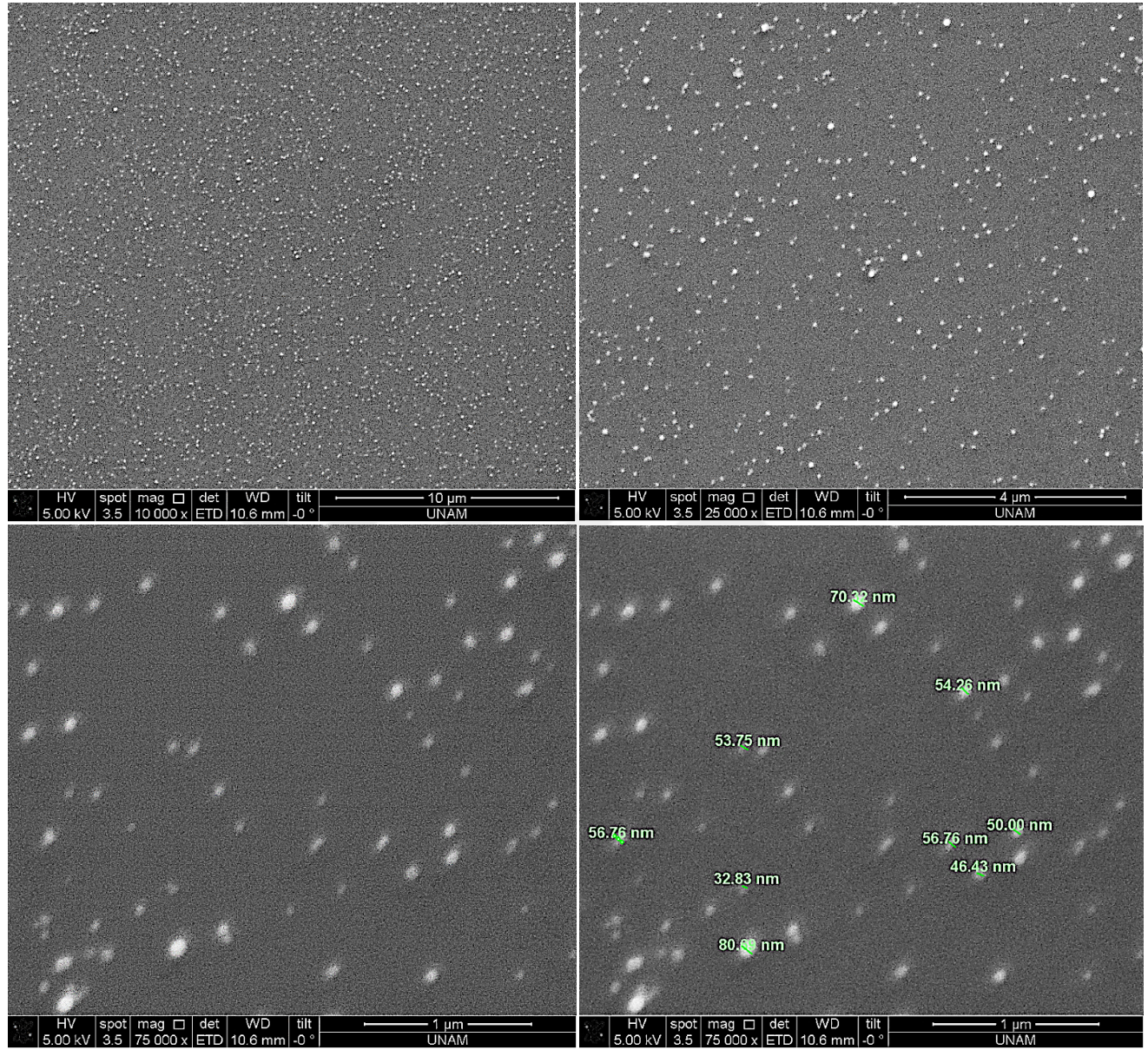
Şekil 6.76. 0.3 mg/mL %25 aseton içinde ışınlanmamış ve 3 kGy ışınlanmış IPC (PAA-PVIm)'lerinin DLS boyut dağılımları. (PAA 250.000 Mw, PVIm 46.000 Mw 0.3 mg/mL ve pH=5.01).



Şekil 6.77. (PAA-PVIm) IPC nanojelinin (NG2) 2 ve 3 boyutlu AFM görüntüleri (PAA 250.000 Mw, PVIm 46.000 Mw 0.3 mg/mL, %25 aseton, pH=5.01 ve 3 kGy ışınlanmış) ortalama boyut 71 nm.

SEM Analizi

Yukarıda açıklanan tekniklerle elde edilen sonuçları desteklemek için, gama ışınları ile ışınlanmış IPC (PAA-PVIm) çözeltilerinden elde edilen nanojellerin fiziksel görünümünü araştırmak için taramalı elektron mikroskobu (SEM) tekniği kullanılmıştır. Şekil 6.18’de, daha geniş görünümde (10.000x), nanojellerin çok yoğun olmalarına rağmen, homojen dağıldıkları ve agregre olmadıkları görülmektedir. Şekil 6.78, 75.000x büyütmede nanojellerin küresel, simetrik ve çoğunlukla aynı boyuta sahip olduğunu göstermektedir. Böylece SEM görüntüleri IPC nanojellerinin küresel morfolojisini doğrulamıştır. Şekil 6.78’in detaylı incelenmesi ile nanojellerin ortalama boyutu yaklaşık olarak 56 nm bulunmuştur. Bu sonuç AFM ve DLS ölçümleri ile de uyumludur. SEM analizlerinden elde edilen daha küçük boyutlar, deney aşamasında nanojellerin vakumda su kaybına uğramasından ve büzülmesinden kaynaklanmıştır. DLS analizinde gözlemlenen yaklaşık 84 nm’lik daha büyük boyutlar, nanojellerin sulu ortamdaki şişmiş doğasından kaynaklanmaktadır. He ve arkadaşları, yaptıkları bir çalışmada, 200 nm’den küçük nanoparçacıkların tümör dokularda, büyük olanlara kıyasla daha verimli bir şekilde dağıldığını göstermişlerdir [257]. Dolayısıyla boyutları 100 nm altında kalan nanojellerin ilaç taşıyıcı sistemlerde büyük potansiyel sergiledikleri düşünülmektedir.



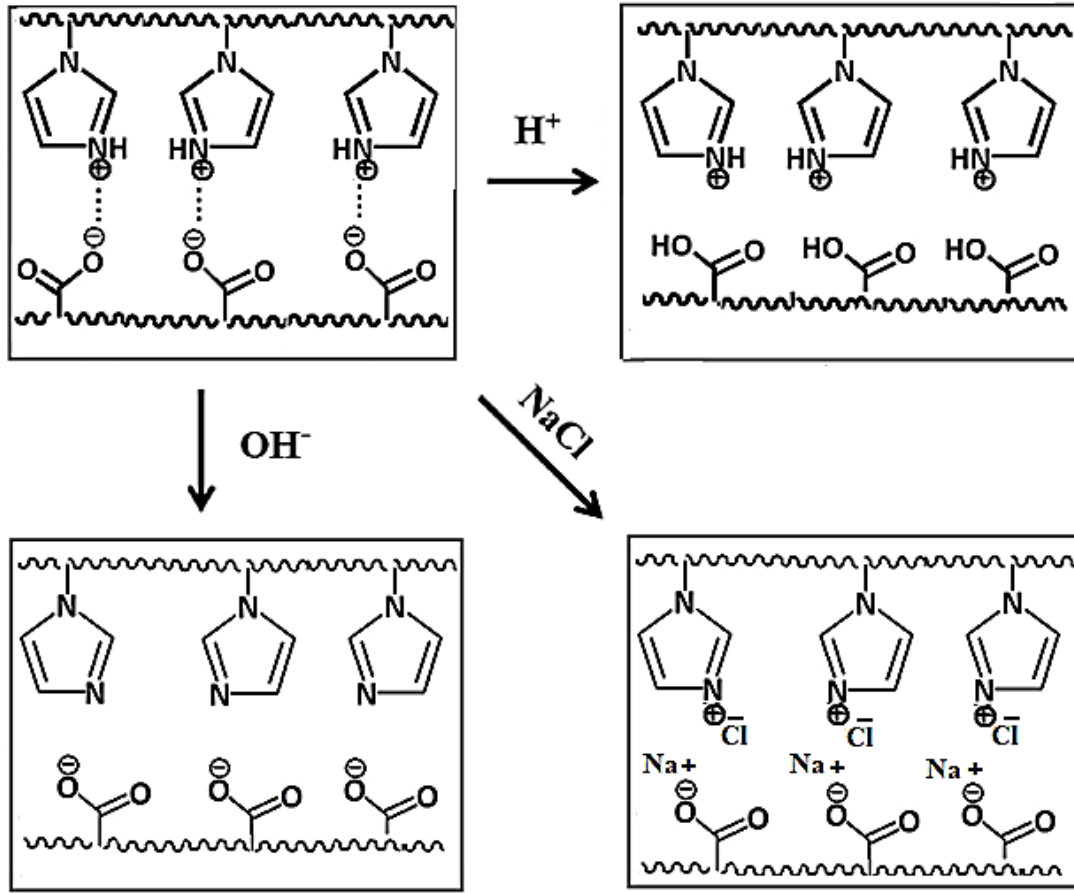
Şekil 6.78. 3 kGy ışımlanarak elde edilen (PAA-PVIm) IPC nanojellinin (PAA 250.000 Mw, PVIm 46.000 Mw, 0.3 mg/mL ve pH=5.01) SEM görüntüleri.

6.2.6. (PAA-PVIm) IPC nanojellerinin şişmelerini etkileyen faktörler

6.2.6.1. (PAA-PVIm) IPC ve IPC nanojellerine pH'ın Etkisi

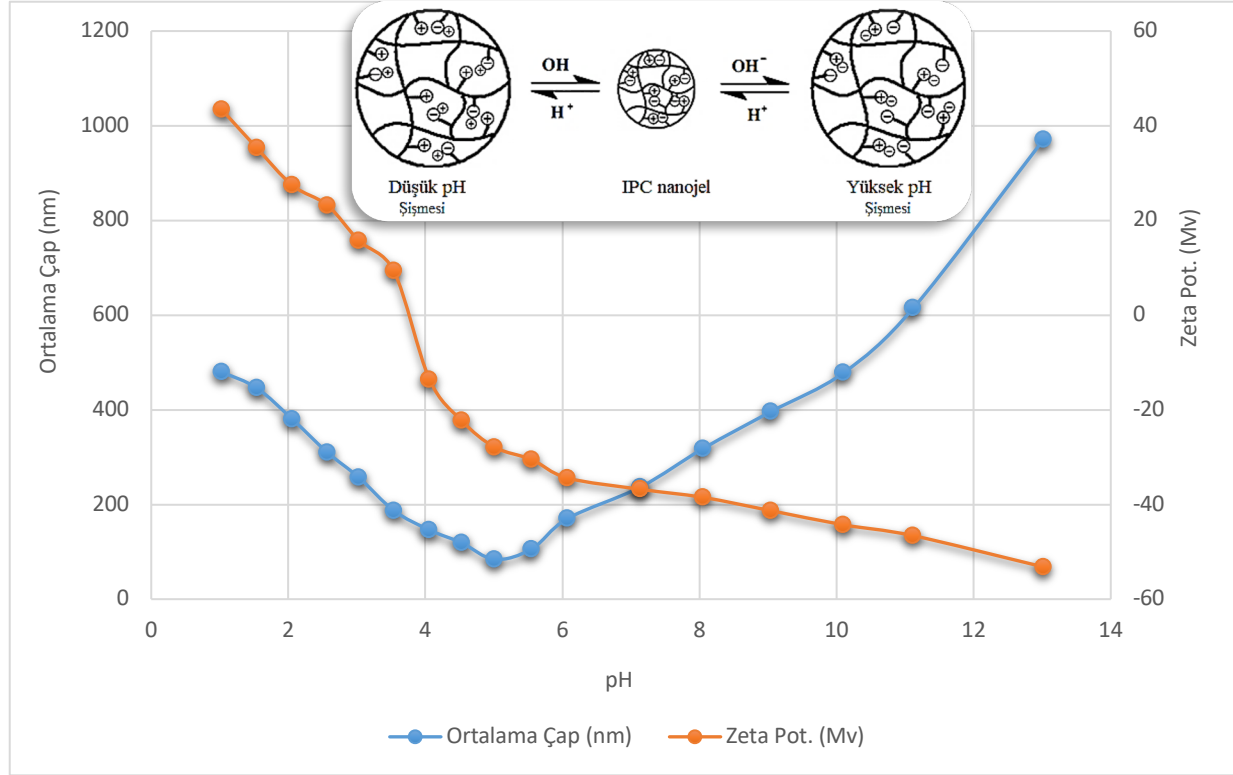
Polielektrolit nanojeller, pozitif ve negatif yüklü iyonların ikisini birlikte taşıyan, suda şişebilen iyonik makromolekülerin ağ yapılarıdır. Bu şekildeki polimerik ağ yapılar, pH ve tuz derişimi gibi çevresel koşullardaki değişimlere, fiziksel özelliklerini hızlı bir şekilde değiştirerek cevap verirler. Bu özel moleküler yapılarından dolayı polielektrolit nanojeller, ilaç taşıyıcı ve kimyasal sensor gibi uygulamalarda kullanılmaktadırlar. Polielektrolit nanojellerin en önemli özelliklerinden bir tanesi, elektrostatik etkileşim yoluyla hem anyonik hem de katyonik ilaçların taşınmasında kullanılabilmesidir [258]. Sudaki zayıf polielektrolit zincirinin konfigürasyonu, dış pH değeri tarafından genişletilecek veya daraltılacak şekilde belirlendiğinden, zayıf polielektrolitlerden oluşan IPC nanojelin boyutu, farklı pH değerlerinde genişleyecek veya küçülecektir. Bu da tepkinin bir karşılığı olarak pH uyarılarına bir yanıt sinyali olarak kabul edilebilir. Bununla birlikte, polianyon veya sadece polikasyon içeren nanojeller tek bir pH aralığına duyarlıdır, bu da uygulamasının belirli bir pH aralığında sınırlandırıldığı anlamına gelir. PAA-PVP IPC nanojelleri bunun bir örneğidir. Öte yandan, anyonik ve katyonik grupların birleştirilmesinden oluşan nanojeller, ikili pH duyarlılığı gibi bir davranış sergileyerek daha fazla çeşitlilik gösterecek ve daha geniş bir pH aralığında daha yüksek çalışma esnekliğini ortaya çıkaracaktır. Yapı açısından bakıldığında, hem anyonik hem de katyonik üniteler içeren ve poliamfolit (PA) nanojel ve polielektrolit kompleks (IPC) nanojel olarak basitçe açıklanabilen başlıca iki nanojel sınıfı vardır. PA nanojelinde, zıt yüklü gruplar bir polimer zincirinde bir arada bulunurken, IPC nanojelinde bir zincir üzerinde yalnızca bir tür yüklü grup, pozitif veya negatif olarak sunulur. Bu nedenle, anyonik ve katyonik gruplar arasındaki elektrostatik etkileşim, PA nanojelinde zincirler arası veya zincir içi formda bulunurken, IPC nanojelinde yalnızca zincirler arası etkileşim oluşur, bu da pH tepki davranışlarını ayırt etmeye yol açar. PA durumunda, çoğu, en çok izoelektrik noktasında (IEP) şişer ve ardından pH, IEP'den ayrıldığında genişler [259]. Sonuç olarak, reaksiyon koşulundaki hafif değişiklik, yük dengesini ve ardından pH tepki davranışını değiştirecektir. Bu çalışmada, IPC nanojellerini farklı parametrelerden yola çıkarak sentezledik ardından ikili pH tepkisi, iyonik şiddet tepkisi ve sıcaklık gibi çeşitli özelliklerini araştırdık. Katyonik PVIm'ı ve anyonik PAA ile farklı parametreler kullanarak oluşan IPC'leri ile, bir dizi pH'a duyarlı IPC nanojeli elde ettik. Beklendiği gibi, bu nanojeller ikili olarak pH'a

duyarlıydılar, şekil 6. 80’de görüldüğü gibi PAA-PVIm IPC nanojeli pH 5.01 ortamında kararlıdır ve daha sonra asidik veya bazık koşullarda şişmeleri için tetiklenebilirler.

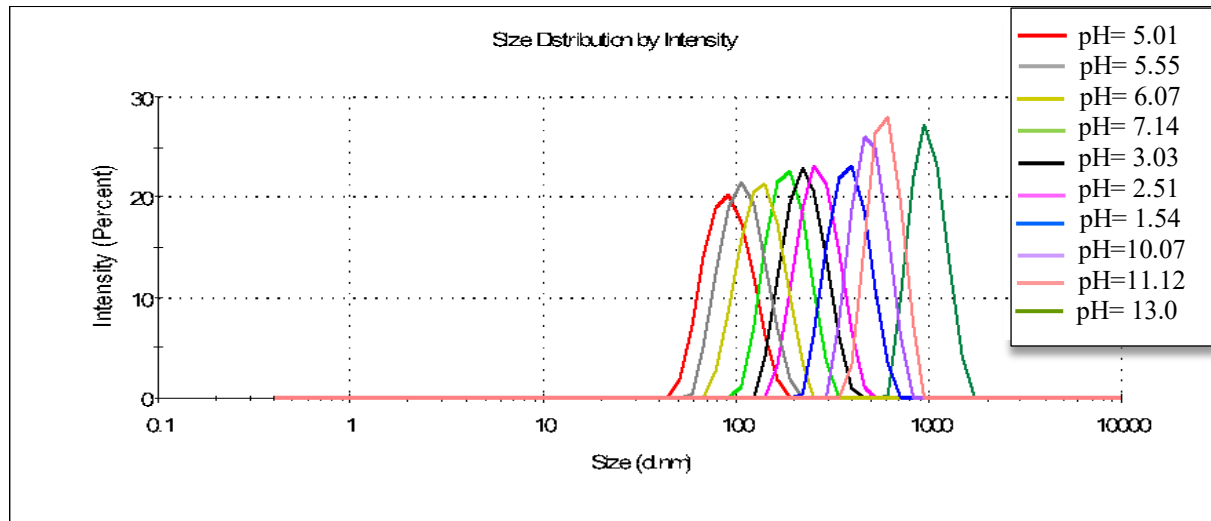


Şekil 6.79. Farklı ortamlarda (PAA-PVIm) IPC ve IPC nanojellerinin davranışı.

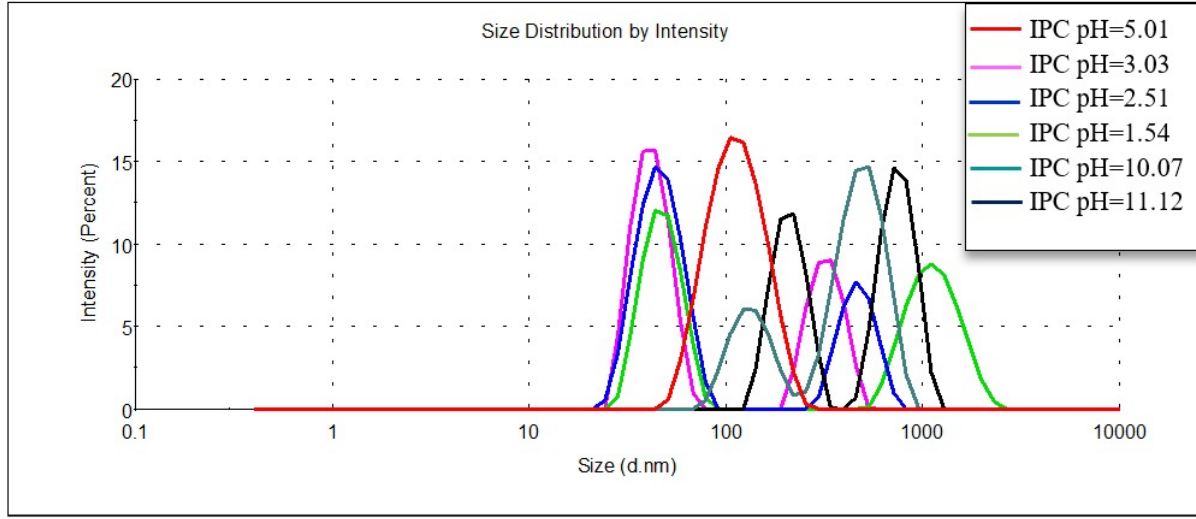
Şekil 6. 80, 81 ve 82’de PAA-PVIm IPC ve IPC nanojellerinin farklı pH’larda davranışları görülmektedir. Nanojeller düşük ve yüksek pH’larda mükemmel şişme özelliği sergilediler, düşük pH’larda (pH 5.01’in altındaki) PAA ve PVIm birimleri protonlanır ve protonlanan birimlerin arasındaki IPC oluşumu azalır dolayısıyla PVIm-NH⁺ miktarı arttıkça itme kuvvetleri nanojellerin şişmesine ve IPClerin yapısının dağılmasına yola açar. Yüksek pH değerlerinde (pH 5.01 değerinin üstünde) PAA birimleri disosiyeye olur (PAA-COO⁻) dolayısıyla IPC oluşumu azalır ve PAA-COO⁻ arasındaki itme kuvvetlerin artması ile IPC nanojelleri (Şekil 6. 81) şişmiş ve IPC’lerin (Şekil 82) yapısı bozulmuştur.



Şekil 6.80. PAA-PVIm IPC nanojellerinin (PAA 250.000 Mw, PVIm 46.000 Mw, 0.3 mg/mL ve pH=5.01 3 kGy ışınlanmış) farklı pH’larda ortalama çap ve zeta potansiyel değerleri (25°C’de 24 saat şişmiştir).



Şekil 6.81. (PAA-PVIm) IPC nanojelinin farklı pH’lardaki boyut dağılımı.

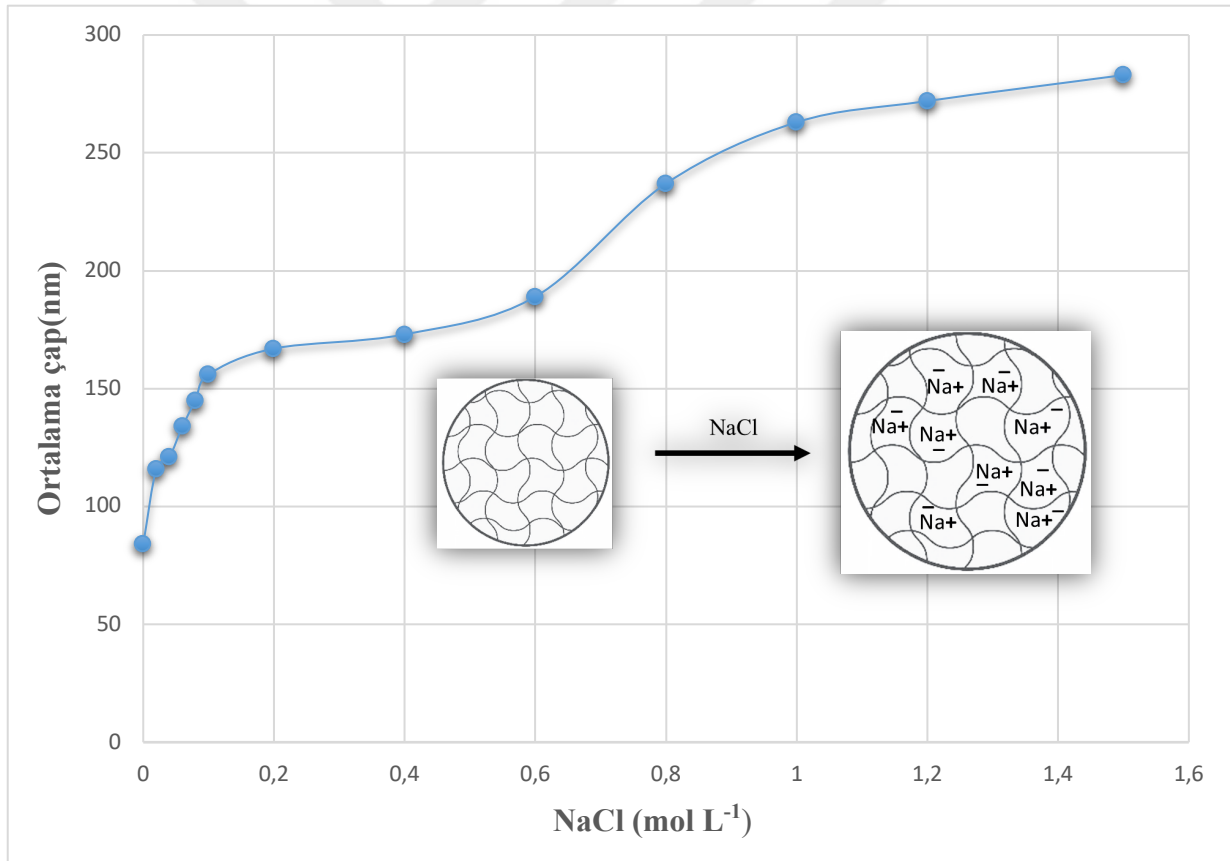


Şekil 6.82. (PAA-PVIm) IPC'lerinin farklı pH'lardaki boyut dağılımı

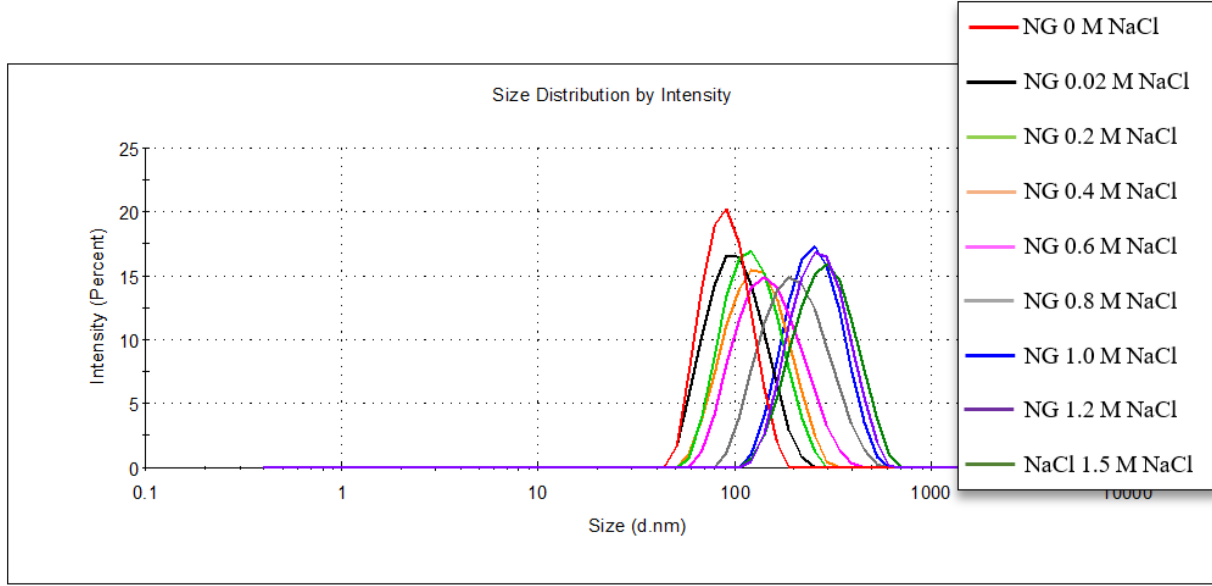
6.2.6.2. İyonik şiddetin PAA-PVIm IPC ve IPC Nanojellerine Etkisi

İnsan vücudunda sıcaklık, pH ve iyonik şiddet, ilaç salımını etkileyen önemli faktörlerdir. Fizyolojik elektrolitler ayrıca şişmeye neden olabilir ve biyolojik ortamlarda IPC partiküllerinin işlevselliğini ve stabilitesini bozabilir. Tuza dayanıklı partiküller gerekliyse, birleştirilmiş polielektrolit zincirleri, daha zayıf elektrostatik kuvvetler tuzla tarandıktan sonra bile kompleksi bir arada tutmak için kovalent olarak çapraz bağlanabilir [260]. Bununla birlikte, küçük elektrolitlerle IPC partiküllerinin şişmesi, artan geçirgenliğinin bir sonucu olarak kompleksin içindeki hapsedilmiş ilaçları serbest bırakmak için kullanılabilir [261]. Çalışmanın bu kısmında tuzun etkisini incelemek üzere 0.02-1.5 M NaCl çözeltilerinde 0.3 mg/mL %25 aseton oranına sahip (PAA-PVIm) IPC ve IPC nanojelleri (3 kGy ışınlanmış) 25°C de 24 saat bekletilerek şişme davranışları DLS kullanılarak incelenmiştir. Şekil 6. 83 ve 84'te görüldüğü gibi IPC nanojellerinin boyutları tuz varlığında artmıştır. Tuzun varlığı PAA karboksilik gruplarının iyon değişimin den dolayı iyonizasyonuna yol açar. PAA birimleri ($\text{PAA-COO}^-\text{Na}^+$) ve PVIm birimleri ($\text{PVIm-NH}^+\text{Cl}^-$) tuz varlığında polielektrolitlerin tuz formlarına dönüşür, bu da IPC oluşumu engeller dolayısıyla IPC'lerin yapısı şekil 6. 85'te görüldüğü gibi bozulur ve IPC nanojellerin (şekil 6. 84) de daha fazla şişmesine yol açar. PAA-PVIm IPC ve IPC nanojellerinin farklı konsantrasyonlarda NaCl çözeltilerinde şişme oranı ile karakterize edilen iyonik güce tepkisi Şekil 6.83, 84 ve 85'te gösterilmiştir. Şekil 6.83'te IPC nanojellerinde eğrinin üç farklı

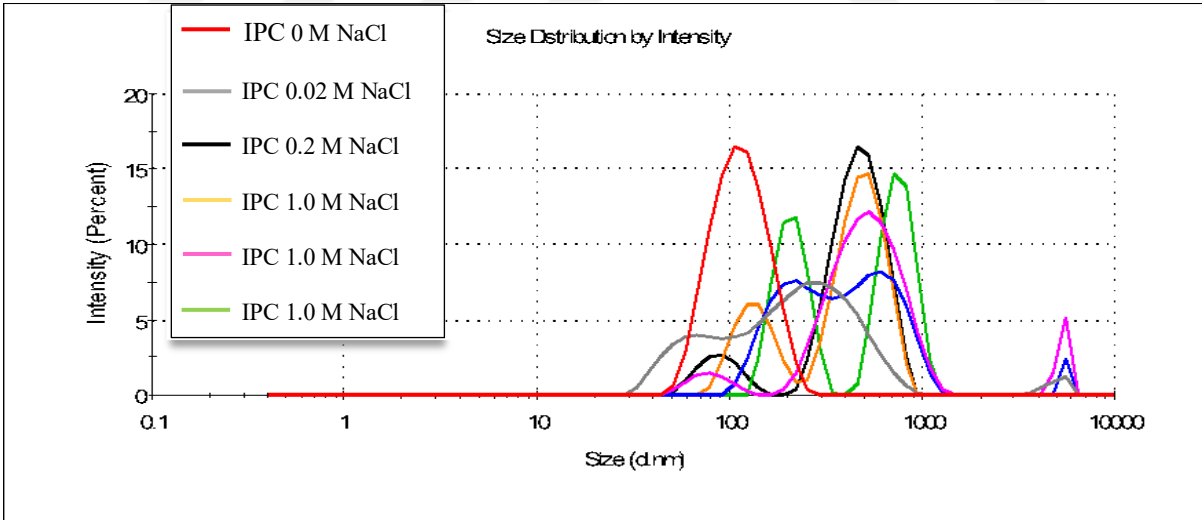
bölgesi netleştirilebilir. Birinci bölge NaCl Konsantrasyonu 0.1 M'den az olduğunda, nanojelin şişme oranı nispeten azdır ve 116-156 nm aralığında bir boyut gözlenmiştir, bu da nanojellerin bu zayıf iyonik kuvvet koşullarında yüksek kararlılığına işaret ediyor. İkinci bölge 0,1 den 0,8 M'ye karşılık gelir ve burada artan konsantrasyonla, şişme nedeniyle boyut sırasıyla 156 nm den 237 nm ye yükselmiştir. Üçüncü bölge ise 0.8-1,5 M'ye arasındadır, NaCl konsantrasyonu 0.8 M'yi aştığında, nanojel 263 nm'nin üzerinde bir boyut ile oldukça şişmiş ve şişme oranı iyonik şiddete daha az bağımlı hale gelmiştir. Şekil 6. 85'de IPC nanojellerine kıyasla IPC'ler tuz varlığında tamamen ayrılmış vaziyette görülmektedirler bu da IPC nanojellerinin yumağı içinde radyasyona bağlı çapraz bağlamanın bir sonucu olarak kalıcı kovalent bağın kurulmasının bir kanıtıdır.



Şekil 6.83. NaCl (mol L⁻¹) konsantrasyonunun PAA-PVIm IPC nanojellerinin ortalama boyutu üzerindeki etkisi. (IPC nanojeli 25°C'de 24 saat boyunca NaCl çözeltisinde bekletilmiştir).



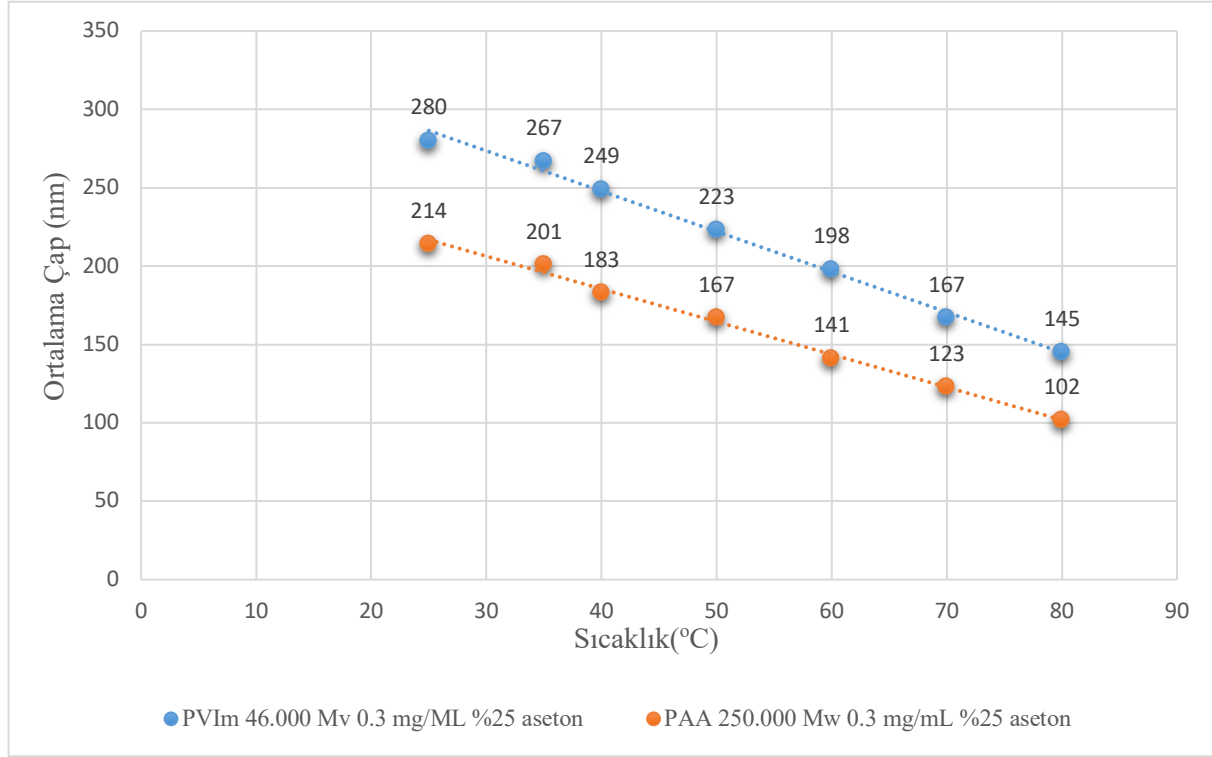
Şekil 6.84. İyonik şiddetin (PAA-PVIm) IPC nanojelin üzerindeki etkisi. (%25 aseton ortamında 3 kGy ışımlanmış 0.3 mg/mL IPC nanojeli 25°C'de 24 saat boyunca NaCl çözeltilerinde bekletilmiştir).



Şekil 6.85. İyonik şiddetin (PAA-PVIm) IPC üzerindeki etkisi. (0.3 mg/mL %25 aseton ortamında hazırlanan IPC 25°C'de 24 saat boyunca NaCl çözeltilerinde bekletilmiştir).

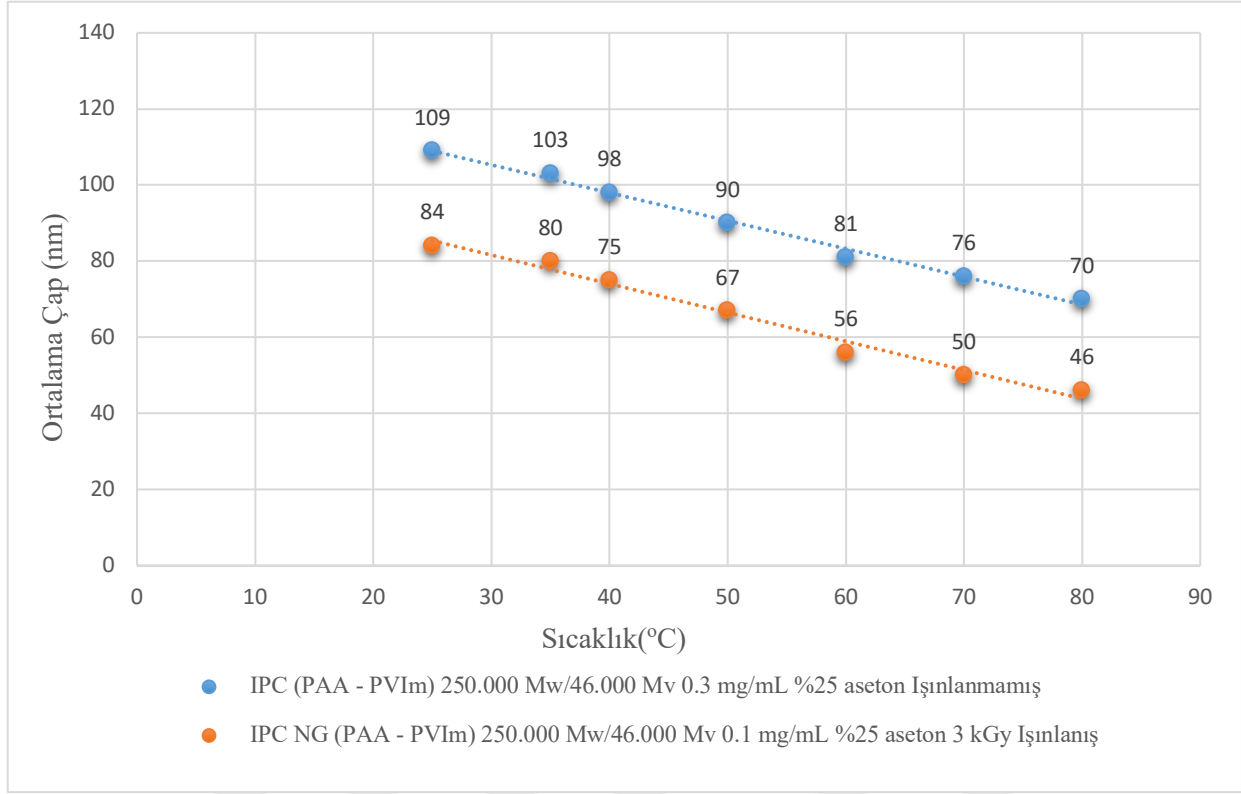
6.2.6.3. Sıcaklığın IPC ve IPC (PAA-PVIm) Nanojellerine Etkisi

IPC'ler içinde zincir içi radyasyona bağlı çapraz bağlama işlemi ile kovalent bağ oluşumunun doğrulanması için PAA-PVIm IPC nanojellerinin kararlılığı nispeten yüksek sıcaklıklarda çalışılarak DLS ile kontrol edilmiştir. Genel olarak sıcaklık arttığında partikül boyutunun azaldığı görülmüştür. Bu amaçla PAA, PVIm, ve IPC hem de IPC nanojel çözeltileri 80 °C'ye ısıtıldı ve boyut ölçümleri yapıldı. IPC çözeltisinin 80 °C'ye ısıtıldığında IPC'nin boyutunun 25 °C'de 109 nm'den 70 nm'ye düştüğü gözlemlendi (Şekil 6.87). Diğer taraftan, 80 ° C'deki IPC çözeltisi dengeye ulaştıktan sonra 25 °C'ye getirildiğinde, değişen zincir konfigürasyonları nedeniyle boyutun 152 nm'ye yükseldiği gözlenmiştir. Diğer taraftan, IPC nanojelleri, 80 ° C'ye ısıtıldıktan sonra 80 °C'de 46 nm'de yumak boyutunda büzülme göstermişlerdir (Şekil 6.88 A). Hem IPC hem de IPC nanojellerinin yumak boyutundaki azalma büyük olasılıkla PAA ve PVIm'ın hidrojen bağlarının azalması ve hidrofobik etkilerin artmasından kaynaklanmaktadır. Diğer taraftan asetonun varlığı sıcaklık arttıkça polimer yumaklarının daha fazla büzülmesine yardım edecektir çünkü asetonun suyun üç boyutlu yapısını bozduğu bilinmektedir, bu nedenle H-bağı ile bağlanmış polimer yumaklarını bozarak boyutlarında küçülmeye neden olur. Aseton varlığı aslında polimer-polimer etkileşimlerini artırmaktadır, Aslında, bu nanojellerin oda sıcaklığının üstünde büzülmesi, ilaç yüklü nanojellerin ısıtma-soğutma döngüleri ile ilaçların pulsatif dağıtımında kullanılabilir. Oda sıcaklığına kadar soğutulduktan sonra nanojel, IPC durumunda olduğu gibi 25 ila 80 ° C arasında sıcaklık geri döndürülebilirliği ile 61 nm orijinal boyutunu korur. Bu, IPC yumağı içinde radyasyona bağlı çapraz bağlamanın bir sonucu olarak kalıcı kovalent bağın kurulmasını teyit eder. Bu nedenle, PAA-PVIm IPC'lerinden kararlı IPC nanojelinin hazırlanmasının, oda sıcaklığında 3 kGy'lik nispeten düşük bir dozda ışınlama ile elde edildiği sonucuna tekrar varılabilir.

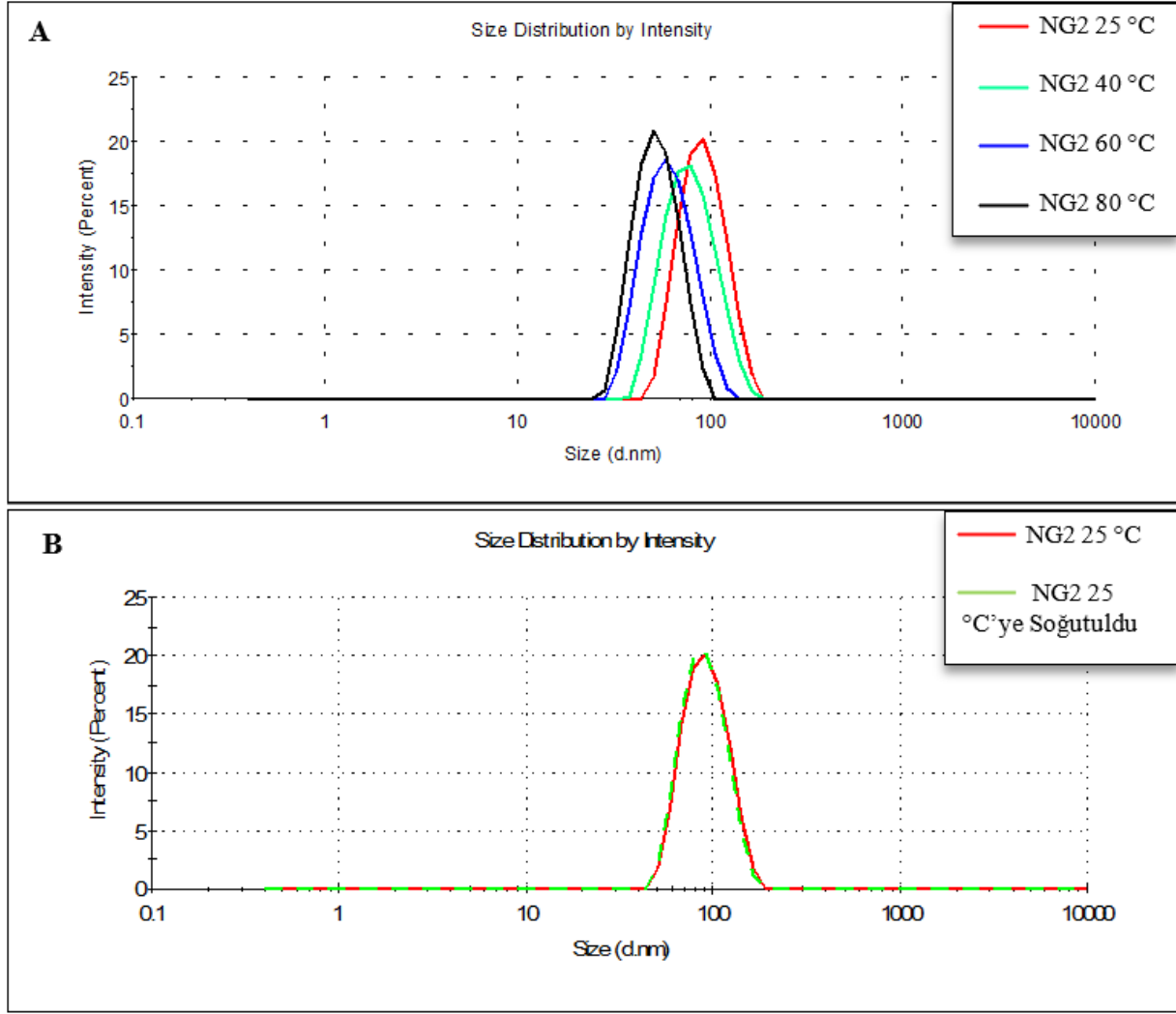


Şekil 6.86. PAA ve PVIm yumaklarının farklı sıcaklık değerlerinde ortalama çap değerleri.

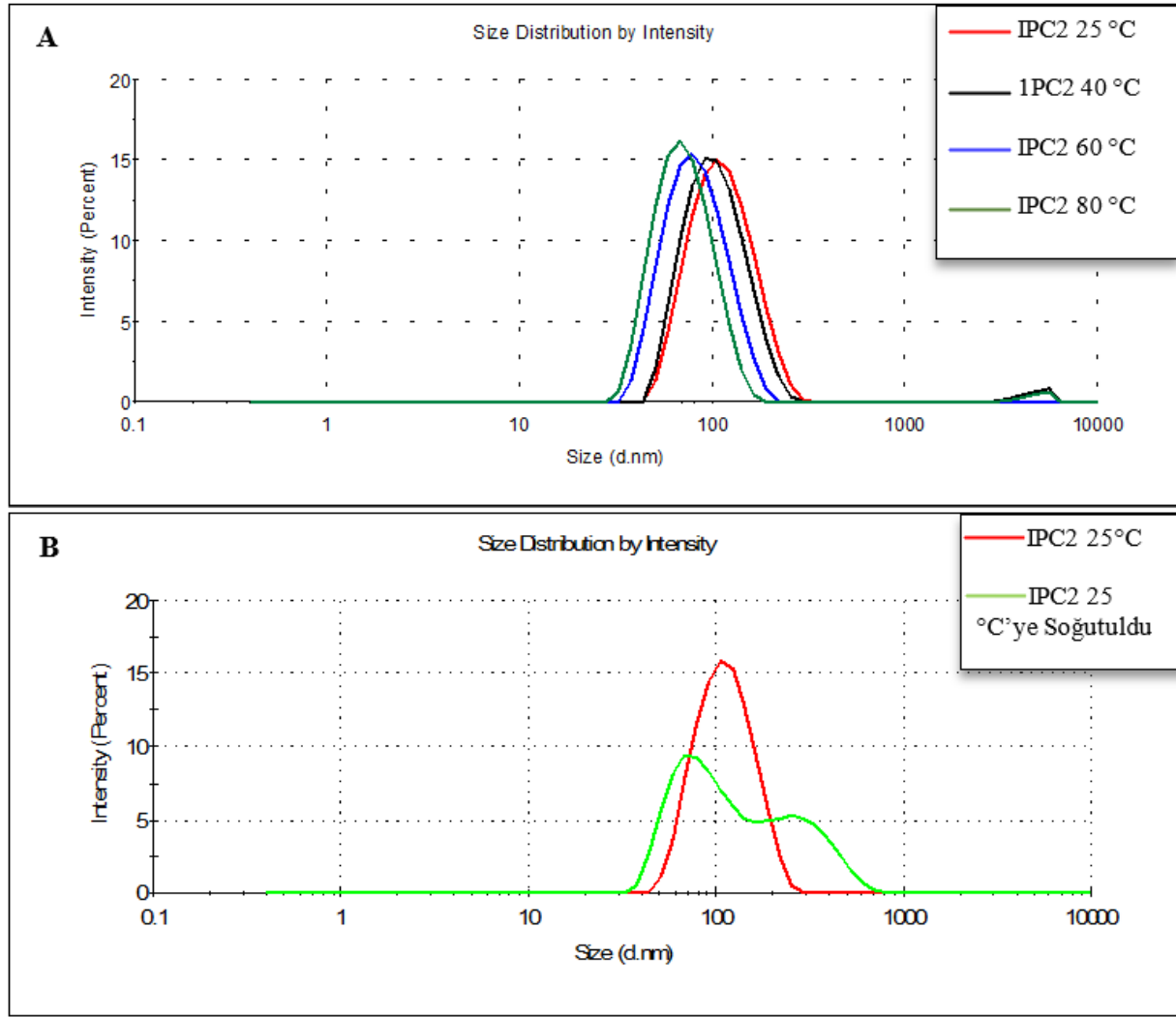
Şekil 6.86’te PAA ve PVIm’un farklı sıcaklık değerlerinde yumak boyutları verilmiştir. Sıcaklık 25’ten 80 C’ye yükseldikçe PAA ve PVIm’ın partikül boyutunun sırasıyla 214 nm’den 102 nm’ye ve 280 den 145 nm’ye düştüğü görülmektedir. Sıcaklık artışı PAA ve PVIm yumaklarındaki zincir içi ve zincirler arası H-bağlarının kırılması ve dolayısıyla PAA ve PVIm yumaklarının büzülmesine neden olur. Diğer taraftan yukarıda anlatıldığı gibi asetonun varlığı sıcaklık artıka polimer yumaklarının daha fazla büzülmesine yardım edecektir, bu iki olay sıcaklığın artışı ile polimer yumaklarının büzülmesine yol açmaktalar.



Şekil 6.87. IPC ve IPC nanojelinin hidrodinamik çapının sıcaklığa bağımlılığı.



Şekil 6.88. 3 kGy'de γ -ışınlanması ile elde edilen %25 (v/v) aseton/su oranına sahip PAA-PVIm IPC nanojelinin boyut dağılımının üzerinde sıcaklığın etkisi (A) PAA-PVIm IPC nanojeli 25 °C'de, ve (B) 80 °C'den 25 °C'ye soğutulduktan sonra

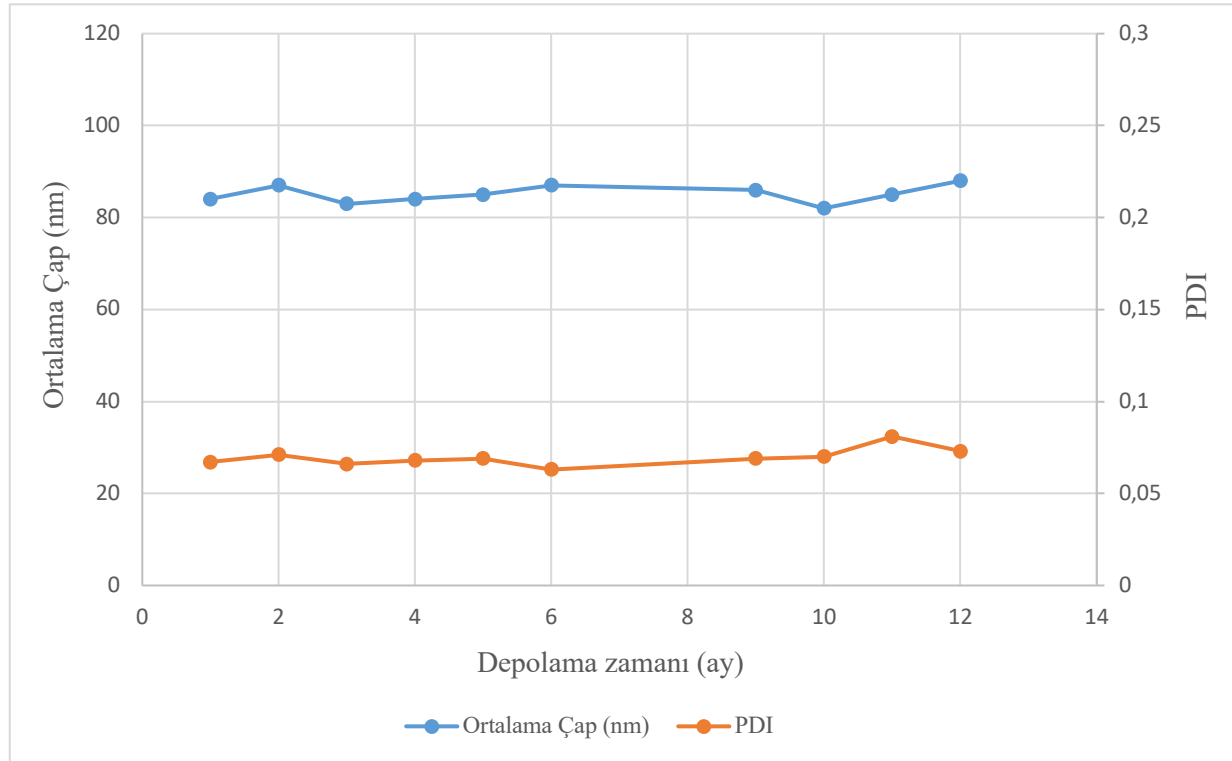


Şekil 6.89. %25 (v/v) aseton/su oranına sahip PAA-PVIm IPC'nin boyut dağılımının üzerinde sıcaklığın etkisi (A) PAA-PVIm IPC'si 25°C'de ve (B) 80°C'den 25°C'ye soğutulduktan sonra

6.2.7. PAA-PVIm IPC ve IPC nanojellerinin depolama kararlılığı

PAA-PVIm IPC nanojellerini hazırladıktan sonra depolama kararlılığını araştırmak için, IPC nanojelleri çözeltiler içinde (3.50-6.0 pH aralığında) ortam sıcaklığında saklanmışlardır. Tez çalışması süresince partikül büyüklükleri 12 aylık bir süre boyunca ölçülmüştür. DLS ile ölçülen ortalama partikül boyutları, Şekil 6.90'da zamanın bir fonksiyonu olarak çizilmiştir. IPC nanojelleri, 12 ay boyunca dar bir boyut dağılımı (düşük PDI) ile 84 nm civarında kararlılık gösterirken, IPC'lerin boyutu belirli bir zamandan sonra sürekli artma eğilimi göstermiştir. IPC

Partikülleri, 3.5 ila 6.0 pH aralığında stabildi ve aynı ortamda 27 günlük depolamadan sonra stabilitesini kaybetti. IPC parçacıklarının boyutlarının zamanla artmasının, öncelikle oluşan IPC'lerin topaklanma nedeniyle birikmesine bağlı olabileceği iddia edilebilir, ancak burada gözlemlenen, yapının yavaşça gevşetilmesini destekleyen yavaş ve kademeli bir artış olmuştur. Bu sonuçlar, 12 aylık saklama süresinin, radyasyona bağlı çapraz bağlama ile oluşturulan kalıcı yumak-içi kovalent bağlar nedeniyle IPC nanojel boyutunun kararlılığını sağladığını göstermiştir.



Şekil 6.90. 3 kGy ışınlama ile elde edilen (PAA-PVIm) IPC nanojellerinin, çeşitli süreler boyunca oda sıcaklığında depolandıktan sonra % 25 (v/v) aseton / su sistemindeki stabilitesi.

6.2.8. İlaç Salım Çalışmaları

6.2.8.1. BSA'nin Kontrollü adsorpsiyonu

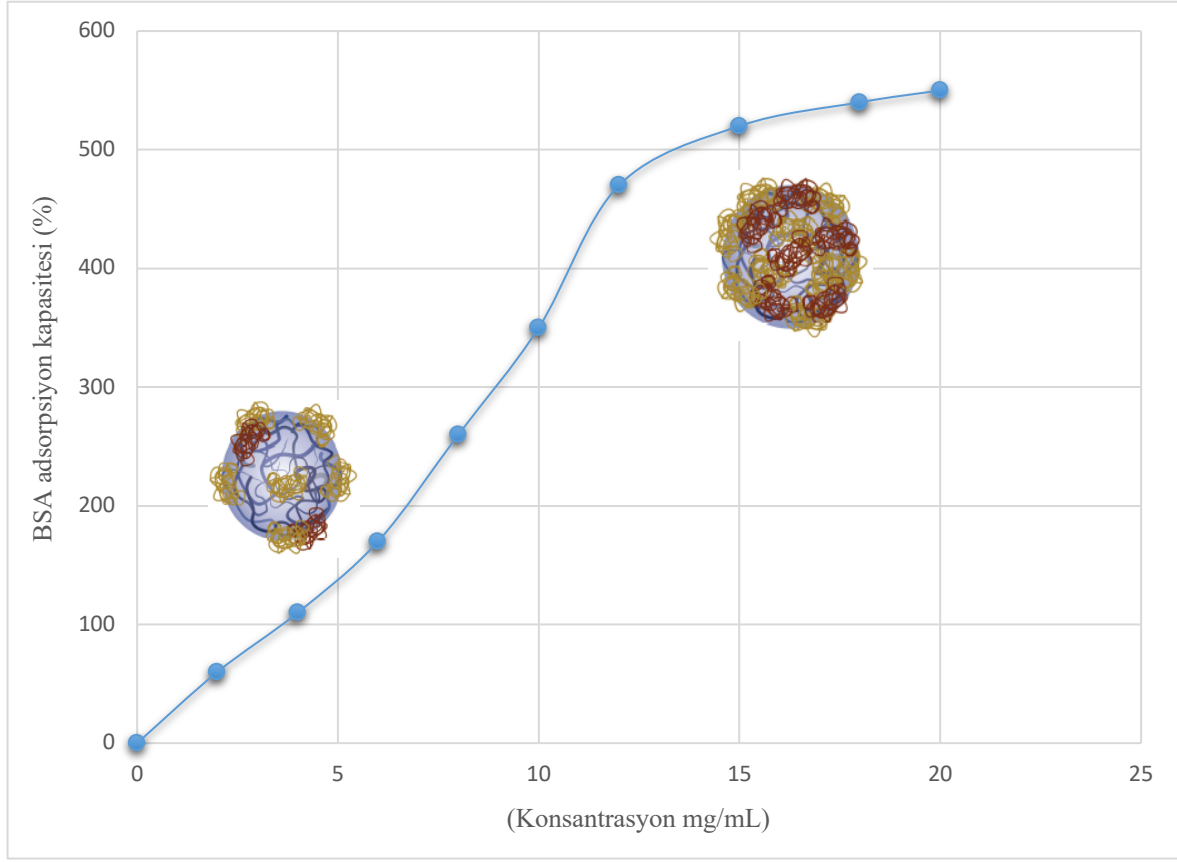
Tıbbi uygulamalarda, nanoparçacıkların yüzey yükü, hücrede birikimlerini önemli ölçüde etkiler. Partikül boyutu ve yüzey yüküne ek olarak partikül yapısında proteinlerin varlığı hücre adezyonu için önemli bir faktördür. Protein bazlı polimerik ilaç taşıyıcılar, biyouyumlulukları ve biyolojik olarak parçalanabilirlikleri nedeniyle ilaç dağıtım sistemlerine umut verici alternatiflerdir. Polimerik bazlı nanopartiküller (NP'ler) ilaç dağıtım sistemleri, biyouyumlulukları, biyobozunurlukları ve kontrollü salım özellikleri nedeniyle farmasötik ve biyomedikal alanlarda büyük potansiyeller göstermiştir. Bununla birlikte, NP'lerin taşıyıcı olarak ilaç salımları, nano-biyo arayüzlerinde biyomakromoleküllerle etkileşimleri nedeniyle oldukça sınırlıdır. NP'lerin, sözde protein koronasını oluşturan kan akışına girdikten sonra serum proteinleri tarafından hızla kaplanacağı iyi bilinmektedir. Protein adsorpsiyonu, bir yandan partikül boyutunda artışa ve NP'lerin yüzey özelliklerinde değişikliklere yol açabilir. Daha da önemlisi, NP'lerin biyolojik etkilerini önemli ölçüde etkileyerek kan akışından hızlı bir şekilde temizlenmesine ve hedefleme kapasitesinin kaybolmasına neden olur. Öte yandan, protein adsorpsiyonu, ilişkili proteinlerin yapısını ve hatta biyolojik aktivitesini de değiştirebilir [262,263]. Bu çalışmada, BSA ile etkileşim üzerine IPC NG'lerin boyut, ζ potansiyeli ve morfolojisindeki değişiklikleri gösterdik. Protein adsorpsiyonunun NG'lerin in vitro çalışmalarının üzerindeki önemli etkisi göz önüne alındığında, bulgularımız NG'lere dayalı ilaç dağıtım sistemlerinin tasarımı, çalışması ve pratik uygulaması için oldukça anlamlıdır. NP'ler için koruyucu bir kaplama görevi gören önceden oluşturulmuş albümin korona, plazma proteinlerinin adsorpsiyonunu inhibe edebilir, dolaşım süresini uzatabilir ve toksisiteyi azaltabilir [264]. Şekil 6.91'den, BSA başlangıç konsantrasyonları ile yükleme kapasitesinin arttığı ve 20 mg/mL'den daha büyük bir BSA konsantrasyonu ile yüklemde belirgin bir artış gözlemlenmediği görülebilir, bu da PAA-PVIm nanojellerine BSA yüklediğini göstermektedir. Chen vd, yaptıkları bir çalışmada gözenekli PAA nanojellerine yüklenen BSA için en yüksek miktar pH 5.0'de meydana gelen 8.0 mg/mg'dir. maksimum BSA adsorpsiyonunun IEP (Isoelectric Point) yakınında gerçekleştiği diğer gözenekli malzemelerde bildirilen sonuçlara benzer. Bu davranış, IEP'nin yakınında, BSA'nın sıfır yüke yakın olması ve minimum çözünürlük gösterme eğiliminde olmasıyla açıklanabilir, bu da PAA nanojelleri üzerinde agregatlara yol

açar. Bu nedenle, bu işlemin yükleme kapasitesi hidrofobik etkileşimler tarafından belirlenir. Sistemin pH'sı 4.0'a düştüğünde, zıt yüklerin bir sonucu olarak BSA molekülleri ve PAA nanojelleri arasında elektrostatik çekim meydana gelir. Bu durumda hem elektrostatik hem de hidrofobik etkileşimler yükleme miktarını etkiler. pH 6.0 durumunda, hem BSA hem de PAA nanojel negatif yüklere sahiptir. Böylece, BSA'yı PAA nanojeli üzerine yüklemenin itici gücü sadece hidrofobik bir etkileşim haline gelir. Bu pH'daki yükleme miktarı, BSA ve PAA nanojel arasındaki elektrostatik itme nedeniyle pH 4.0'dan daha azdır. Chen ve arkadaşlarının açıkladığı 1mg PAA NG' i başına 8 mg BSA tutunmasının bir diğer etkeni PAA NG'indeki gözeneklerin çaplarının BSA moleküllerinin girebilmesi için uygun olmasıdır [263]. BSA için 3 kiritik pH değeri bulunmaktadır (BSA'nın, izoelektrik noktası (IEP) 4.9'dur [264]; bu nedenle, pH sırasıyla 4.0, 5.0 ve 6.0 olduğunda BSA pozitif, sıfır ve negatif yüklere sahiptir) ve bu pH değerlerinin her birinde BSA yükleme kapasitesi tamamen farklıdır, BSA'nın NP tutunması kullanılan nanopartikülün yüzey yüküne bağlıdır. Eğer kullanılan NP eksi yüke sahipse burada BSA tutunması hidrofobik etkileşimler ile karakterize edilir. Öte yandan, PAA-PVIm IPC nanojellerinin yüzey yükü değişmez ve bu üç pH değerinde negatif yükler taşır. Şekil 6.31 ve çizelge 12'te (PAA-PVIm) IPC nanojellerinin yüksek BSA yükleme kabiliyeti sergilediği bulunmuştur; yani 1 mg nanojel yaklaşık 5.5 mg BSA yükleyebilir ve yükleme kapasitesi % 550'e ulaşır. Çizelge 12'den, BSA yüklü IPC nanojellerinin PDI değerlerinin IPC nanojellinkinden daha yüksek olduğu, BSA yüklü IPC nanojellerinin boyutunun ise yine büyük olduğu bulunmuştur. Çizelge 30'dan, BSA yüklü nanojellerin BSA'nın derişimi arttıkça pH ve zeta potansiyel değerleri azalmıştır, bu da IPC nanojellerinde BSA makromoleküllerinin işgali nedeniyle nanojellerin muhtemelen iç ve yüzey kısmı BSA molekülleri ile kaplandığı anlamına gelir, Şekil 6.91'den IPC nanojellerine yüklenen en yüksek BSA miktarı, pH = 6.08'de meydana gelen 5.5 mg/mg'dir. Yukarıda açıklandığı gibi BSA'nın IEP noktasının üzerindeki pH değerlerinde BSA yükleme kapasitesi hidrofobik etkileşimler tarafından belirlenir. pH 6.08 ve üstü durumunda hem BSA hem de IPC nanojeli negatif yüklere sahiptir. Böylece, BSA'yı IPC nanojeli üzerine yüklemenin itici gücü sadece hidrofobik bir etkileşim haline gelir. Bu pH'daki yükleme miktarı, BSA ve IPC nanojeli arasındaki elektrostatik itme nedeniyle pH 6.17 ve 6.07'den daha azdır. Bununla birlikte, IPC nanojelleri, pH 6.76-6.23 aralığında elektrostatik itmeye rağmen, olağan protein taşıyıcılara kıyasla hala dikkate değer ölçüde daha yüksek bir BSA yükleme kapasitesi sergiler. Bu nedenle, elektrostatik etkileşimin BSA adsorpsiyonu için

temel itici güç olmadığı, ancak hidrofobik etkileşimin olduğu sonucuna varılır. pH 6.23 üzerindeki pH değerlerinde yüklemenin az olmasına gelince, bu ortam pH'sında hidrofobik etkileşimin daha düşük konsantrasyonda nispeten zayıf olduğu açıklanabilir. Hidrofobik etkileşimin yanı sıra, IPC nanojellerinin iki farklı fonksiyonel gruptan oluştuğu için PVIm ve PAA, PVIm tüm bu pH değerlerinde pozitif değerde bu nedenden dolayı adsorpsiyon işlemi üzerinde önemli etkilere sahip olduğu düşünülmektedir. Öte yandan, IPC nanojelleri, çözelti içinde dağılmış şişmiş çapraz bağlı ağlar oluşturur ve nano boyutlu küresel matris de BSA'nın yakalanmasında ve tutulmasında önemli bir rol oynamalıdır.

Bu çalışmada, Model protein BSA'nın IPC nanojellerine yüklenmesi yapılmıştır. PAA-PVIm NG'lerin etrafındaki BSA korona, NG'lerin oda sıcaklığında BSA çözeltisi (2, 4, 6, 8, 10, 12, 15 ve 20 mg/ml) ile inkübe edilmesiyle oluşturulmuştur. Adsorpsiyon BSA'nın kendi çözelti pH'sında gerçekleşmiştir. BSA'nın IPC nanojellerine yüklenmesi için bir gün beklenmiş ve daha sonra 4 °C'de 14000 rpm hızla 30 dakika boyunca santrifüj edilmiştir. Çöken BSA yüklü IPC nanojeller ve yüklenmemiş BSA içeren çözelti birbirinden ayrılmıştır. Tutunan BSA miktarı Lüminesans Spektroskopisi (Ex: 280 nm; Em: 350 nm) yöntemi kullanılarak hesaplanmıştır. Yükleme kapasitesi (LC) Eş. 5.2 kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

$$LC (\%) = 100 \times (\text{Başlangıç ilaç miktarı} - \text{Yüklenmemiş ilaç miktarı}) / \text{Kullanılan nanojel miktarı}$$

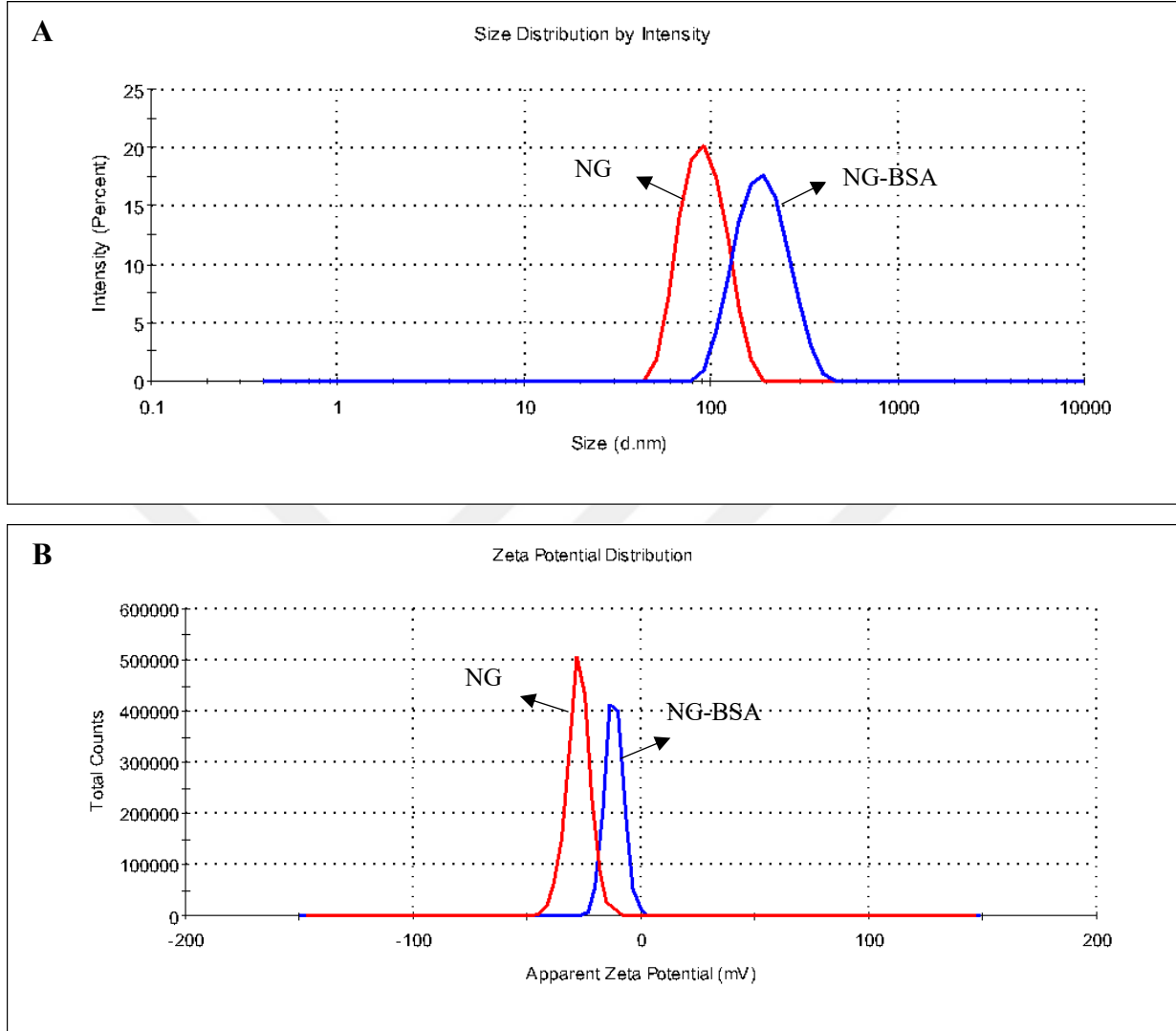


Şekil 6.91. Farklı başlangıç konsantrasyonlarındaki BSA'nin (PAA-PVIm) IPC nanojeline yükleme kapasitesi.

Çizelge 30. Farklı başlangıç konsantrasyonlarına (2.0, 4.0, 6.0, 8.0, 10, 15 ve 20 mg / mL) sahip BSA'nin (PAA-PVIm) IPC nanojeline yüklendikten sonra ortalama çap, zeta potansiyeli, pH ve PDI değerleri.

NG-BSA	pH	Boyut (nm)	Zeta.Pot (mV)	PDI
0.3mg/mL NG	5.01	84 ± 11	-27,4 ± 5.24	0.067
2.0 NG-BSA	6.76	109 ± 65	-24.2 ± 4.65	0.110
4.0 NG-BSA	6.65	118 ± 61	-21.4 ± 5.43	0.123
6.0 NG-BSA	6.43	122 ± 79	-19.2 ± 5.77	0.145
8.0 NG-BSA	6.37	139 ± 75	-17.8 ± 6.11	0.156
10.0 NG-BSA	6.23	153 ± 91	-15.9 ± 6.23	0.161
15.0 NG-BSA	6.17	161 ± 87	-13.5 ± 6,43	0.178
20.0 NG-BSA	6.08	173 ± 100	-11.9 ± 4.04	0.198

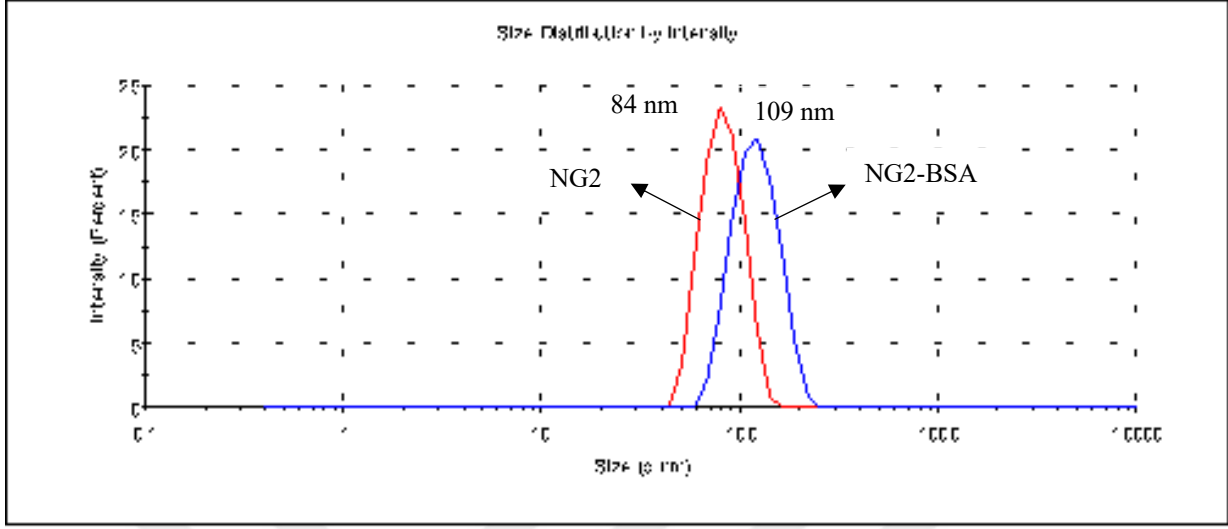
Şekil 6.92’de 20 mg/mL BSA çözeltisinde yükleme yapıldıktan sonra (PAA-PVIm) IPC nanojelinin boyut dağılımı ve zeta potansiyel değeri görülmektedir. Görüldüğü gibi 20 mg/mL BSA çözeltisinde yükleme yapıldıktan sonra PAA-PVIm IPC nanojelinin boyutu 84 ± 11’den 173 ± 100 nm’ye ve PDI değeri 0.067’den 0.198 yükselmiştir, zeta potansiyel değeri ise -27.4 ± 5.24’ten -11.9 ± 4.04’te negatif değer olarak azalmıştır. Tüm bu verilere dayanarak PAA-PVIm nanojelleri mükemmel BSA yükleme kapasitesine sahip olduğu sonucuna varılmaktadır. pH 6.08’da, nanojel iç kısmında az bir miktar BSA’nın yanı sıra, çoğu BSA, PAA-PVIm nanojellerinin yüzeyinde yer alır, BSA tutunması BSA ve PAA-PVIm nanojelleri arasındaki hidrofobik etkileşime ve PAA-PVIm nanojellerinin BSA yakalama etkisine atfedilir.



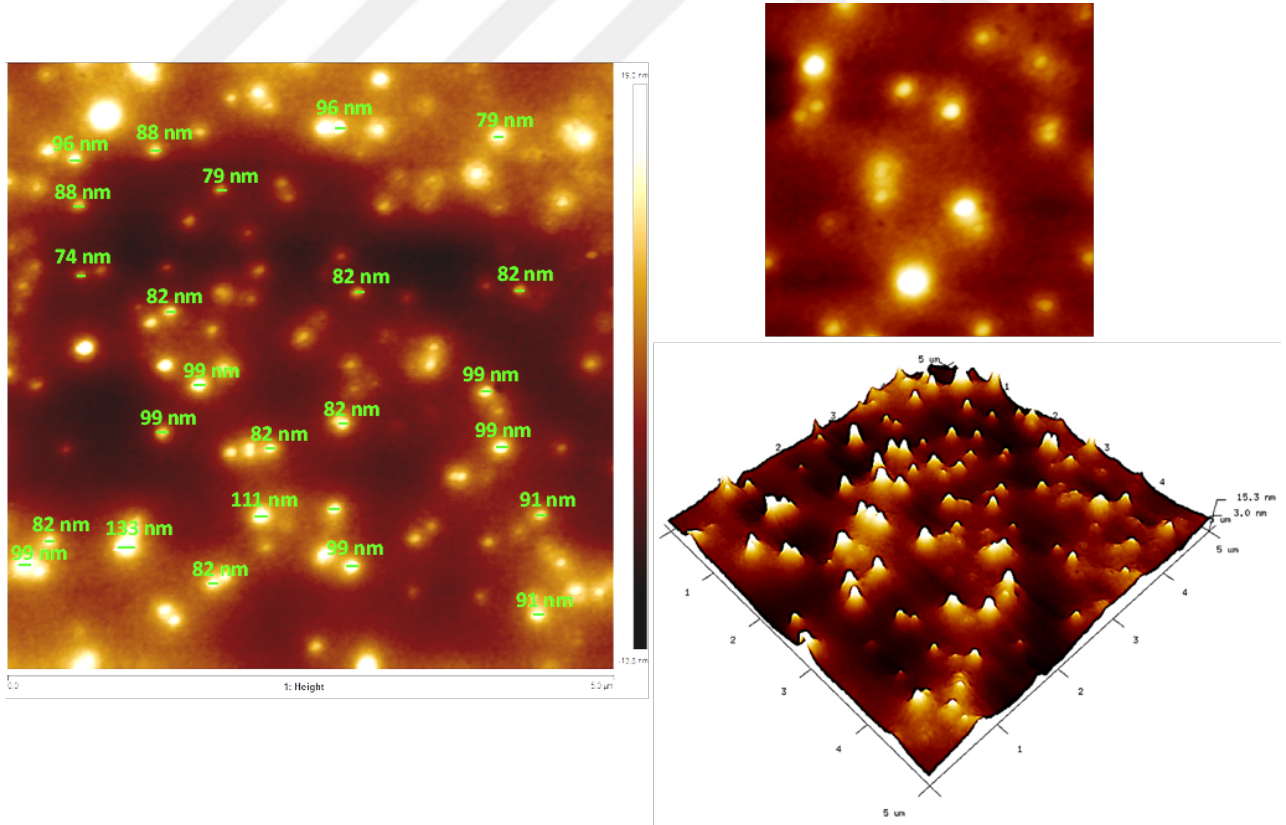
Şekil 6.92. 20 mg/mL BSA çözeltisinde yükleme yapıldıktan sonra (PAA-PVIm) IPC nanojelinin (0.3 mg/mL, % 25 aseton pH=5.01 3kGy ışınlanmış) DLS boyut dağılımı (A) ve zeta potansiyel değerleri (B).

IPC (PAA-PVIm) NG'leri ile BSA ve kurkumin arasındaki etkileşimi doğrulamak için AFM kullanılmıştır. PAA-PVIm nanojellerinin boyut ve ζ potansiyeline ek olarak, BSA ve kurkuminin yüklenmesi IPC NG'lerin morfolojisini de etkilemiştir. Çıplak NG'ler küçük bir boyuta, küresel bir görünüme ve en önemlisi düzgün bir yüzeye sahiptir (Şekil 6.93 A). Öte yandan saf BSA'nın AFM görüntüsü düzensiz ve belirgin değildi (Şekil 6.93 B). Nanojellerin BSA ile etkileşiminden sonra protein moleküllerinin NG'lerin etrafını kabuk gibi çevrelediği görüldü. BSA yüklenmiş NG-BSA nanojelinin morfolojisi AFM analizi ile incelendiğinde NG'leri çevreleyen bariz bir

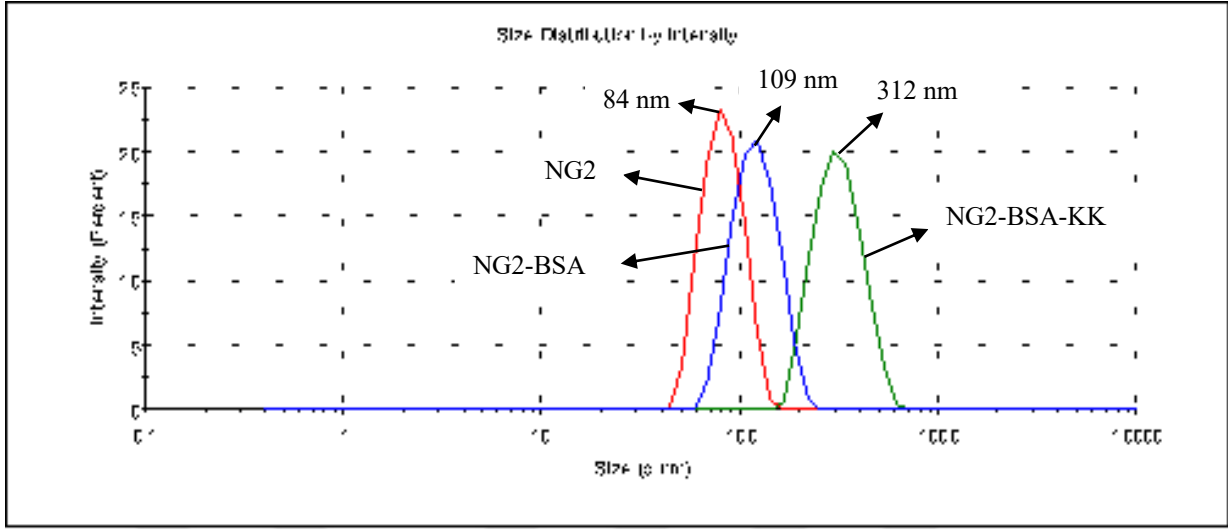
kaplama tabakası NG-BSA kompleksinin oluşumundan sonra açıkça görülebilir ve AFM analizi, NG-BSA nanojelinin küresel morfolojisini doğrular (Şekil 6.95). AFM sonuçlarından çıplak NG'lerin ortalama boyut değeri 71 nm iken BSA yüklendikten sonra 91 nm'ye yükselmiştir bu da nanojellere BSA yüklendiğini gösterir. BSA yüklenmiş (PAA-PVIm) IPC nanojelinin DLS ortalama boyut değeri 109 nm (Şekil 6. 94) aynı NG'nin AFM ortalama boyut değeri 91 nm bulunmuştur (Şekil 6.95). AFM'den elde edilen partikül boyutu, AFM görüntüleme için kurutma işlemi sırasında BSA yüklenmiş NG'lerin büzülmesinden dolayı, DLS'den (Şekil 6. 94) elde edilen ölçümlerden boyut olarak küçük çıkmıştır. DLS tarafından ölçülen BSA ve kurkumin yüklü PAA-PVIm NG'lerinin partikül boyutu (Şekil 6.96) verilmiştir, Çıplak NG'in ortalama boyut değeri 84 nm BSA yüklendikten sonra 109 nm'ye yükselmiştir, kurkuminin yüklenmesinden sonra boyut 312 nm'ye kadar artmıştır bu da çok fazla kurkumin yüklenmesini gösterir. AFM (Şekil 6.97) NG-BSA-KK görüntüleri, küresel morfoloji ile beraber ortalama boyutun 268 nm civarında olduğunu göstermektedir. AFM görüntülerinden, NG'lerin küresel morfolojiye ile pürüzlü bir yüzeye sahip olduğu da açıktır bu da NG'lerin yüzeyindeki BSA'ların varlığından kaynaklandığı düşünülmektedir. ayrıca DLS'den ölçülen ortalama boyut değeri 312 nm iken AFM'den elde edilen ortalama boyut değeri 268 nm civarında olduğu görülmüştür bu da AFM ölçümleri sırasında NG-BSA-KK'nin kurutma işlemi esnasında kurkumin yüklenmiş NG-BSA'ların büzülmesinden kaynaklanmaktadır. DLS analizlerinden elde edilen NG-KK için ortalama boyut değerleri Şekil 6.98'te görüldüğü gibi 264 nm (çıplak NG ortalama boyut değeri 84 nm) civarındadır bu da NG'lere mükemmel derece de kurkumin yüklendiğini gösterir. Öte yandan AFM'den elde edilen ortalama boyut değerleri 231 nm olarak ölçülmüştür. Şekil 6.99 görüldüğü gibi AFM görüntülerinden NG-KK'lerin küresel morfoloji ile birlikte pürüzsüz bir yüzeye sahip olduğu ayrıca kurkumin yüklendikten sonra NG'lerin şişmesi (kurkuminin NG içine dolduğu için) de açıktır. Şekil 6.99'daki NG-KK'lerin AFM'den elde edilen ortalama çapı 231 nm'dir ve DLS'den elde edilen boyuttan daha küçüktür. Bildiğimiz gibi DLS, çözeltide şişmiş partiküllerin verilerini sağlarken, AFM mika yüzeyine yayılmış ve kurutulmuş partiküllerin görüntülerini gösterir. Tüm DLS analizlerinden elde edilen sonuçların AFM sonuçları ile bir uyum içinde olduğu görülmektedir.



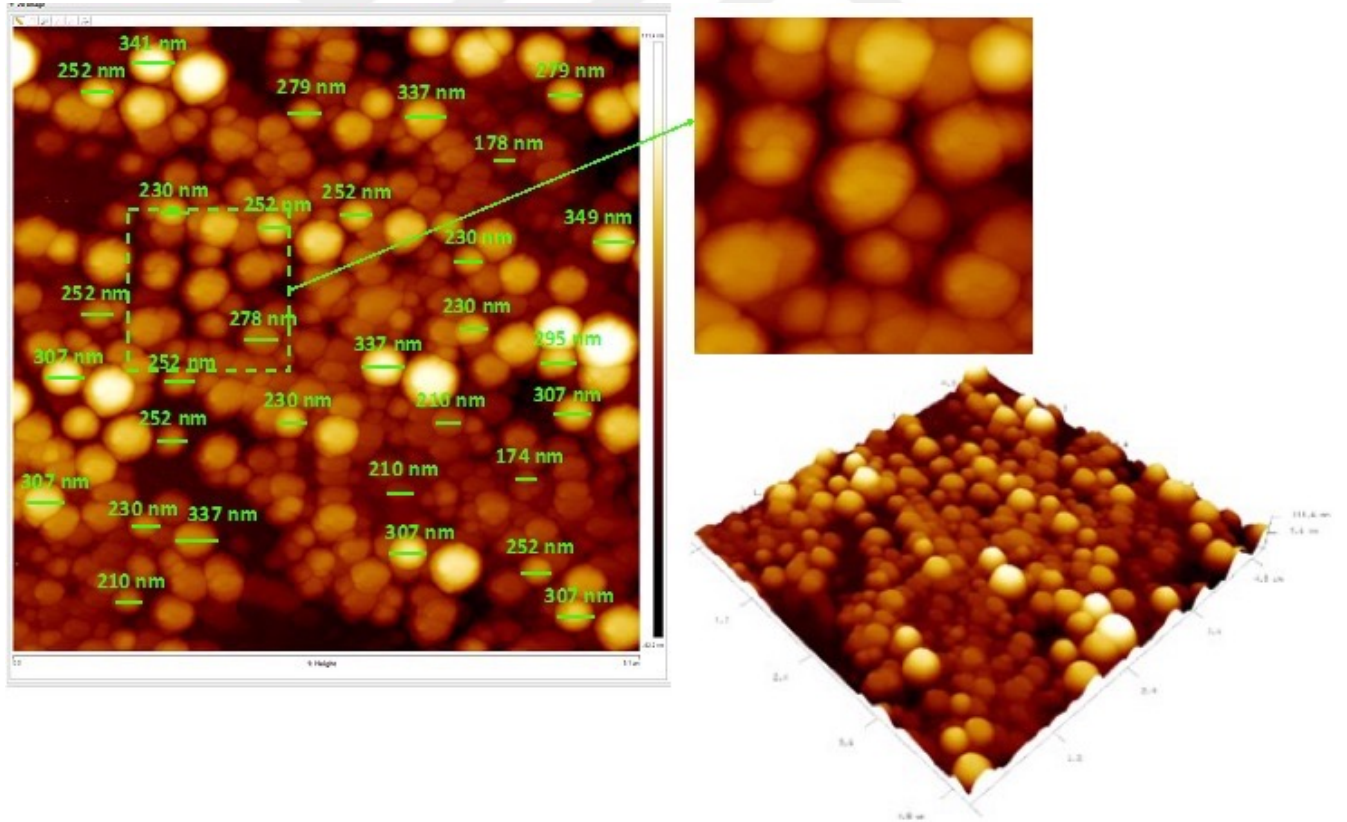
Şekil 6.94. BSA yüklenmiş (PAA-PVIm) IPC nanojelinin (0.3 mg/mL, % 25 aseton pH=5.01 3kGy ışınlanmış), DLS boyut dağılımları. (BSA yüklendikten sonra ortamın pH'sı 6.76), BSA'nın pH'sı 7.34.



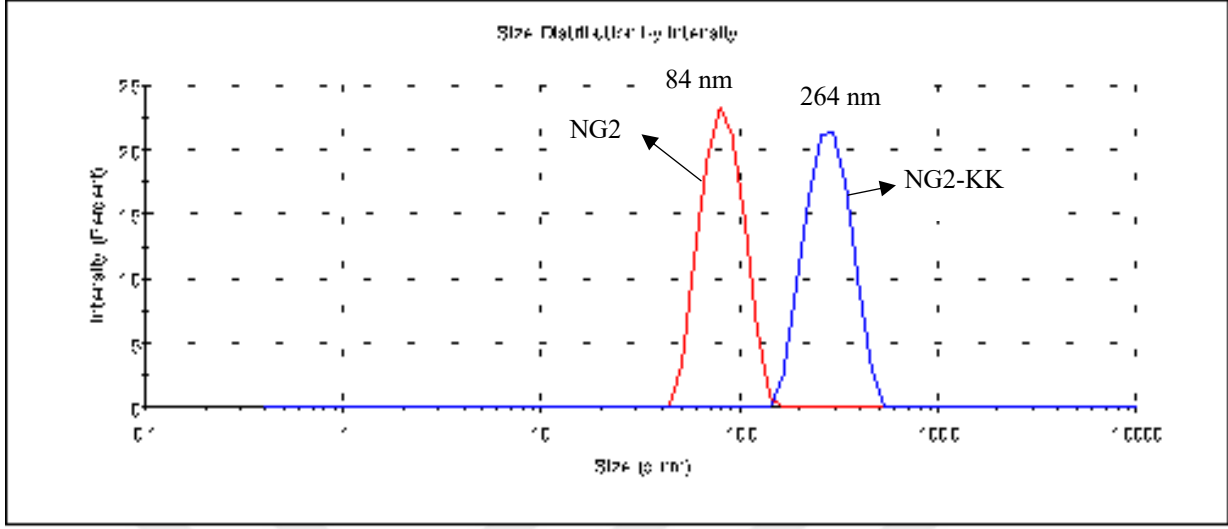
Şekil 6.95. BSA yüklenmiş (PAA-PVIm) IPC nanojelinin (0.3 mg/mL, % 25 aseton pH=5.01 3kGy ışınlanmış) 2 ve 3 boyutlu AFM görüntüsü (Ortalama boyut 91 nm).



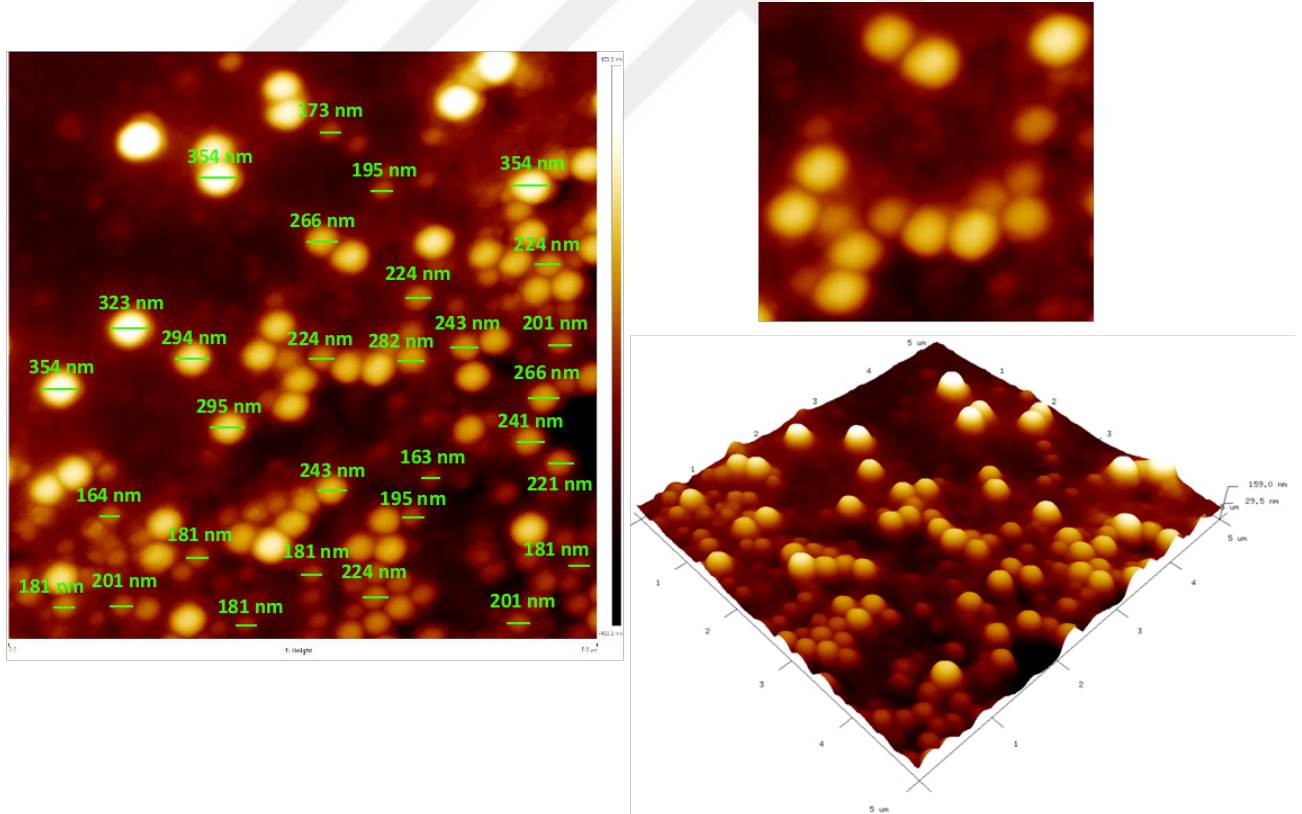
Şekil 6.96. BSA ve kurkumin yüklenmiş (PAA-PVIm) IPC nanojelinin (0.3 mg/mL, % 25 aseton, pH=5.01 3kGy ışınlanmış), DLS boyut dağılımları.



Şekil 6.97. BSA ve kurkumin yüklenmiş (PAA-PVIm) IPC nanojelinin (0.3 mg/mL, % 25 aseton pH=5.01 3kGy ışınlanmış) 2 ve 3 boyutlu AFM görüntüleri (Ortalama boyut 268 nm).



Şekil 6.98. Kurkumin yüklenmiş (PAA-PVIm) IPC nanojelinin (0.3 mg/mL, % 25 aseton, pH=5.01 3kGy ışınlanmış), DLS boyut dağılımları.



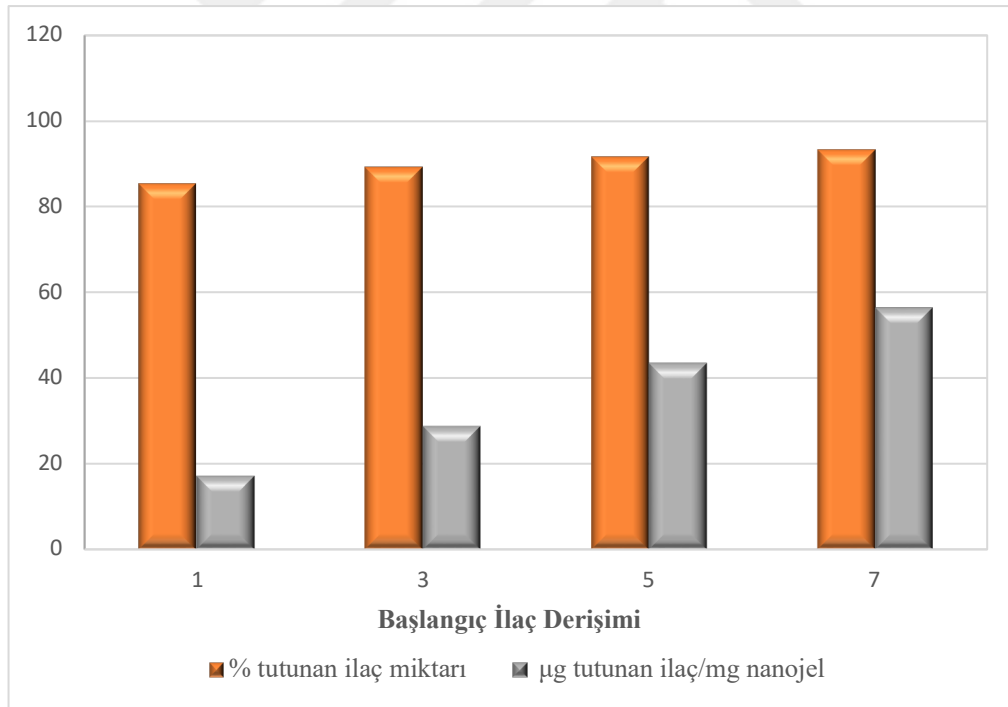
Şekil 6.99. Kurkumin yüklenmiş (PAA-PVIm) IPC nanojelinin (0.3 mg/mL, % 25 aseton pH=5.01 3kGy ışınlanmış) 2 ve 3 boyutlu AFM görüntüleri (Ortalama boyut 231 nm).

6.2.8.2. Kurkuminin BSA'sız ve BSA varlığında (PAA-PVIm) IPC nanojellerine yüklenmesi

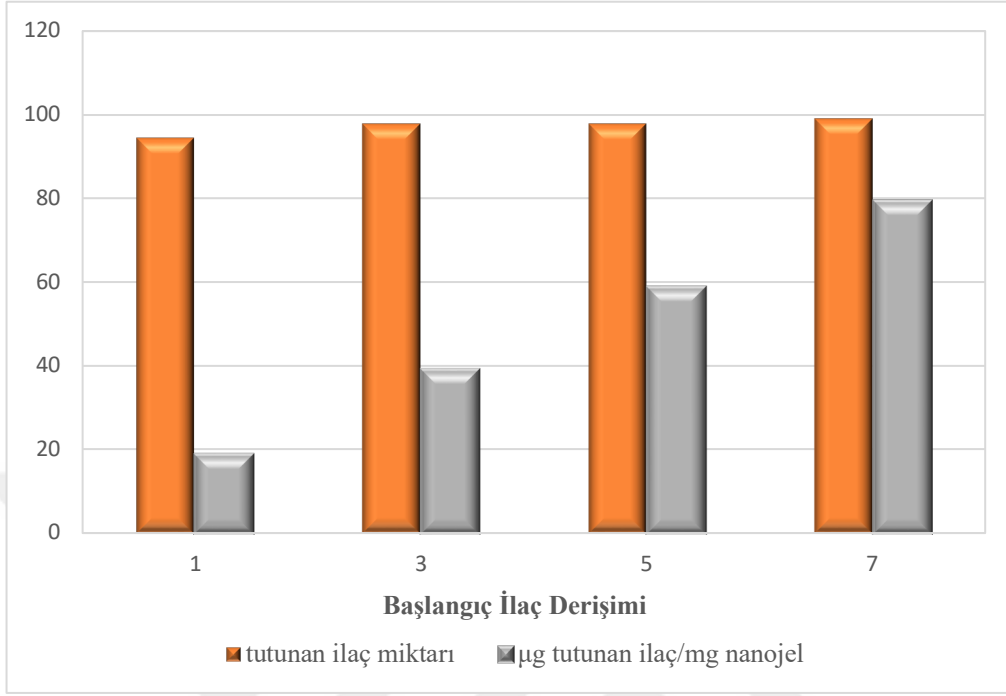
Hidrofobik ilaçların (kurkumin gibi) çözündürülmesi ve uygun ilaç dağıtım sistemlerinin geliştirilmesi, nanoteknolojinin temel amacıdır [265]. Antikanser potansiyeline ek olarak, kurkumin, antioksidan, anti-inflamatuar ve anti-mikrobiyal özelliklere sahiptir. Tüm bu özelliklerden bağımsız olarak, kurkumin, zayıf suda çözünürlüğü, stabilitesi ve hızlı metabolizması nedeniyle kanser tedavisinde yaygın olarak kullanılmamaktadır [266]. Bu sınırlamaların üstesinden gelmek için polimerik miseller, lipozomlar ve nanojeller, gibi farklı nanoformülasyonlar geliştirilmiştir [267]. Mevcut çalışmada, IPC nanojellerinin çıplak ve BSA varlığında kurkumin yüklenmesi ve kanser hücrelerine verilmesi için uygunluğu araştırılmaktadır. Her hangi bir bozulmayı önlemek için kurkumin, kullandığımız PAA-PVIm nanojelinin kendi pH'sında 5.01'de IPC nanojellere yüklendi. PAA ve PVIm'da bulunan COOH ve N: gruplar, kurkumin moleküllerindeki hidroksil grubu arasındaki hidrojen bağına dayanarak moleküller arası kompleksler oluşturabilir ve bu da yüksek ilaç yükleme verimliliği ile sonuçlanır. Kurkumin aseton (1, 3, 5 ve 7 mg/mL) içinde çözüldü ve 100 µL ilaç, 1500 µL (0.3 mg/mL) PAA-PVIm NG çözeltisine eklendi. Daha sonra 25 °C'de rotatöre konuldu ve 1 gün boyunca ilaç yüklemesi yapıldı. Rotatörden alınan çözeltiler 4 °C'de 14000 rpm hızla 30 dakika boyunca santrifüj edildikten sonra çöken ilaç yüklü nanojeller ve yüklenmemiş ilaç içeren çözelti birbirinden ayrılmıştır. Çöken ilaç yüklü nanojeller üç defa saf su ile yıkandıktan sonra kurutuldu ve daha sonra salım çalışmaları için kullanıldı. Kurkumin yüklü PAA-PVIm NG'leri, iki zıt yüklü polielektrolit polimer, yani PAA (negatif yüklü) ve PVIm (pozitif yüklü) arasındaki elektrostatik etkileşimden IPC oluşumundan sonra ışınlanarak hazırlanmıştır. Hazırlanan NG'lerin boyutu ve yüzey yükü, IPC oluşumunu etkileyen parametreleri değiştirilerek ayarlanabilir. Bu NG'ler iyi bir stabiliteye sahiptir ve herhangi bir stabilizatör gerektirmez. DLS sonuçlarından Çıplak NG 84 nm'lik bir boyut gösterirken, ilaç yüklemesinden sonra boyut 264 nm'ye yükselir. NG-KK nanoparçacıkları, ilaç yüklemesinden sonra zeta potansiyeli -27 mV'den -31 mV artmıştır. İlaç yüklü kompleksin negatif yüzey yükü, PAA'de bulunan karboksilik gruplarının deprotonasyonundan kaynaklanır. Literatürde pozitif yüklü veya hidrofobik yüzeylere sahip partiküllerin protein adsorpsiyonunu daha fazla desteklediği ve hızlı RES (Retikülo endotelyal Sistem) sistemi tarafından temizlenmesini kolaylaştırdığı bildirilmiştir. Dolayısıyla negatif zeta değerlerine sahip nanoparçacıklar, RES'ten kaçabilmeleri sayesinde, maksimum EPR (Gelişmiş

geçirgenlik ve tutma) etkisi elde etmek için maksimum sirkülasyon süresi sağlar. Nanoölçekli sistemler, partikül büyüklüğüne göre, vücut dokularına daha etkili bir biçimde nüfuz edebilmekte ve RES'ten (Retikülo endotelyal sistem) kaçabilmeleri sayesinde kanda daha uzun dolaşım zamanlarına erişilmesi mümkün olmaktadır (Yüksek biyoyararlanım) [268].

Şekil 6. 100 ve 101' PAA-PVIm NG'lerinin BSA'sız ve BSA varlığında kurkumin yüklenmesi görülmektedir, NG-KK ve NG-BSA-KK sistemleri için yükleme verimliliği, tüm ilaç konsantrasyonlarında çok yüksektir ancak NG-BSA-KK sisteminde yükleme kapasitesi mg nanojel başına NG-KK sisteminden daha yüksek çıkmıştır. BSA'nin yüklenmesi hem yükleme verimliliğini hem de yükleme kapasitesin artırmıştır, BSA'nin yapısında bulunan fonksiyonel gruplar COOH, NH₂ ve S-H gibi kurkuminin OH grupları ile H-bağı yaparak kurkumin tutunmasını artırmışlar.



Şekil 6.100. 1, 3, 5 ve 7 mg/mL başlangıç derişimindeki kurkuminin 3 kGy ışınlama ile elde edilmiş IPC (PAA-PVIm) nanojele tutunma ilaç yüzdeleri ve mg polimere µg olarak tutunan ilaç miktarı.



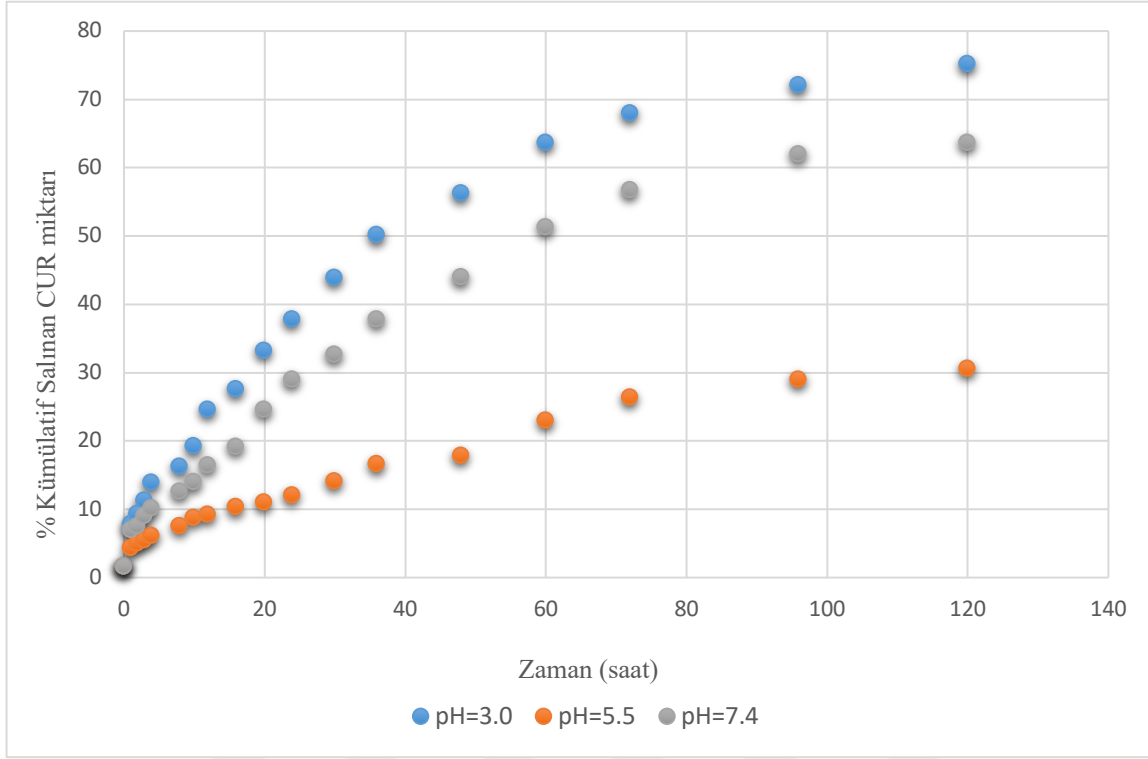
Şekil 6.101. 1, 3, 5 ve 7 mg/mL başlangıç derişimindeki kurkuminin 3 kGy ışınlama ile elde edilmiş IPC (PAA-PVIm) nanojele BSA varlığında tutunma ilaç yüzdeleri ve mg polimere µg olarak tutunan ilaç miktarı.

6.2.8.3. Kürküminin BSA'sız ve BSA varlığında salımı

6.2.8.3.1. NG(PAA-PVIm) /KK sistemi

Kanser hücreleri, zayıf kan damarı mimarisi nedeniyle metabolik son ürünlerin birikmesinden dolayı asidiktir, bu da nanopartiküllerden kurkuminin daha hızlı salınmasını destekleyebilir. Kurkumin, bir antikanser ajanı olarak geniş uygulama etkinliği göstermiştir, ancak sınırlayıcı bir faktör, terapötik ajan olarak kullanımını engelleyen aşırı derecede düşük suda çözünürlüğüdür. Bu nedenle, bu sınırlamayı aşmak için birçok nanotaşıyıcı geliştirilmiş ve uygulanmıştır. Bu çalışmada farklı boyut ve yüzey yüklerine sahip PAA-PVIm NG'leri hazırlanmış ve daha sonra ilaç salım çalışmaları için kullanılmıştır. Hazırladığımız NG'ler pH duyarlı nanotaşıyıcılar olduğu için salım çalışmaları üç farklı pH'da (3.0, 5.5 ve 7.4) %1 tween 80'li PBS ortamında 37°C'de yapılmıştır. Şekil 6.102'te kurkumin yüklü PAA-PVIm IPC nanojellerinin salım davranışları görülmektedir. Kurkuminin en çok salınımı pH 3'te gerçekleşmiştir. İlk 4 saatte bir patlama

salımı, ardından 120 saatlik bir süre boyunca kontrollü bir kurkumin salımı görülür. İlk patlama salımının nedeni, nanojellerin yüzeyinde adsorbe edilen kurkuminin verilmesi olabilir. Kurkuminin yaklaşık %75'si pH 3'te 120 saat içinde salınır. Asidik pH'ta (pH 3) PAA ve PVIm protonlanmasından dolayı PAA ve PVIm, sırasıyla PAA-COOH ve PVIm-NH⁺ yapısındadırlar bu da PAA ve PVIm arasındaki elektrostatik etkileşimin yok olmasına ve PVIm-NH⁺ birimlerinin arasındaki itmelerden NG'nin şişmesine ve dolayısıyla kurkuminin salımının pH 3'te kolay olmasına yol açar. Böylece, PAA-PVIm IPC nanojellerinin azaltılmış elektrostatik etkileşim ve nanoparçacıkların yırtılması (itme kuvvetlerden dolayı) nedeniyle kurkumin tümör bölgesinde serbest bırakılabilir. pH 7.4'te PAA'nın karboksilik grupları, karboksil anyonlarına dönüştürülür. İyonik forma dönüştürülen daha fazla sayıda karboksilik grup nedeniyle NG'lerdeki COO⁻ içeriği arttıkça ağların daha fazla genişlemesi gözlenir, bu da daha fazla iyonik itmenin geliştirilebileceğini gösterir. Dolayısıyla, kurkumin salımı da artar. Öte yandan, pH 5.5'da, PAA ve PVIm sırasıyla PAA-COO⁻ ve PVIm-NH⁺ vaziyette ve dolayısıyla elektrostatik etkileşimlerin en baskın olduğu pH sayılır, bu nedenle pH 5.5'da kurkumin salımı diğer pH'lara göre daha azdır. Diğer yandan pH 7.4'te pH 3'ten daha az salım yapılmıştır, bölüm 6.4'te anlatıldığı gibi pH 3'te PAA-PVIm NG'leri daha fazla şişme göstermiştir. Bununla birlikte, kurkuminin serbest bırakılması esas olarak IPC-NG ağlarının daralmasına ve genişlemesine bağlıdır. IPC-NG ağının daralması ve genişlemesi, yukarıda tartışıldığı gibi IPC-NG'lerin pH şişmesi temelinde açıklanabilir. Bu sonuçlar, PAA-PVIm NG'lerinin, kanser ilacı dağıtımında kurkumin benzeri hidrofobik ilaçlar için ideal bir taşıyıcı olarak kullanılabileceğini göstermektedir.

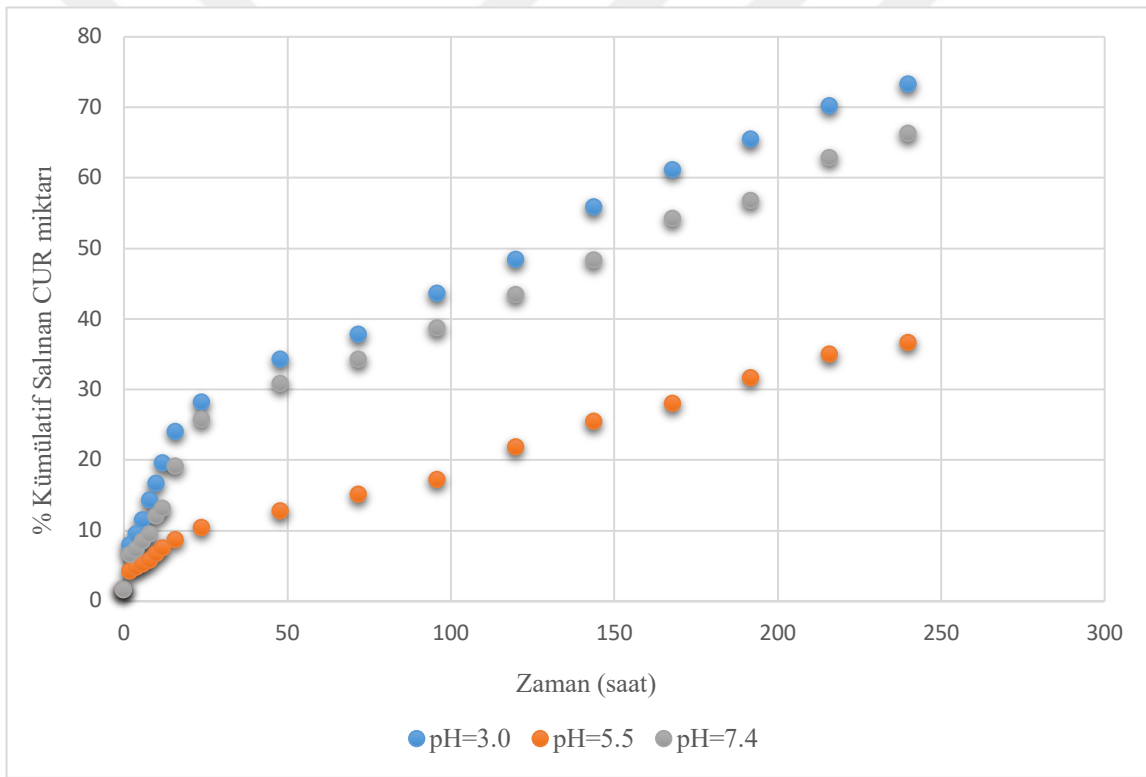


Şekil 6.102. %1 tween-80 ile pH 3.0, 5.5 ve 7.4 değerlerinde PBS ortamında zamanla NG(PAA-PVIm)-KK sisteminden % kümülatif salınan ilaç miktarı.

6.2.8.3.2. NG(PAA-PVIm) / BSA-KK sistemi

PAA-PVIm NG'lerinin yüzeyinde BSA adsorpsiyonu, yüklenen ilacın salım profilini değiştirebilir. Şekil 6.103'te görüldüğü gibi, NG-BSA-KK'nın her bir zaman aralığındaki kümülatif olarak salınan miktarın yanı sıra ilk patlama salımı, NG-KK'lerinkinden önemli ölçüde düşüktür. Bu ilginç bulgu, yüklü KK'nın NG'lerden salınmasının, BSA korona varlığında önemli ölçüde yavaşladığını gösterir. BSA'nın NG'ler üzerinde adsorpsiyonu, NG-BSA-KK nano mimarisinde (a) en aza indirilmiş ilk patlama salımını, (b) kontrollü ve ayarlanabilir ilaç salımını ve (c) aktif bileşenin korunmuş farmakolojik özelliklerini içeren birçok fayda sağlar. İlaç moleküllerinin salımının kontrol edilebildiği üç ana mekanizma vardır: erozyon, difüzyon ve şişmeyi takiben difüzyon [269]. Şekil 6.103'te serbest bırakmanın, özellikle pH 3.0 ve 7.4'te ilk serbest bırakma döneminden sonra, şişme kontrollü bir salım mekanizmasını takip ettiği görülmektedir. Şişme dengesinin sağlandığı bu başlangıç periyodundan sonra, salımı büyük olasılıkla difüzyon kontrollü bir mekanizma takip etmektedir. Başlangıç periyodunda salım, hidrasyon, ardından polimer zincir gevşemesi, suyun matrise girmesiyle gerçekleşir. Bu işlem

sırasında, ilacın yüzeyde ve yakınında bulunması nedeniyle yüksek salım oranları meydana gelmektedir. Jel yapısını oluşturduktan sonra salım, difüzyon mekanizması ile matris içerisinden çok daha yavaş bir salım hızı ile devam eder. Bununla birlikte, NG-BSA sisteminde ilaç salımı yavaştır, bu da yukarıda bahsedilen mekanizmayı doğrular. İlaç salım eğrisinden (Şekil 6.103) 10. günde NG-BSA sisteminden pH 3.0, 5.5 ve 7.4'te sırasıyla %73, %36 ve %66 kurkumin salımı olduğu görülmektedir. NG-BSA sisteminde ilacın daha da yavaş salınmasının bir başka nedeni BSA koronasının kurkuminin ortama nüfuzunu sınırlayarak fiziksel bir bariyer görevi görebilmesidir.



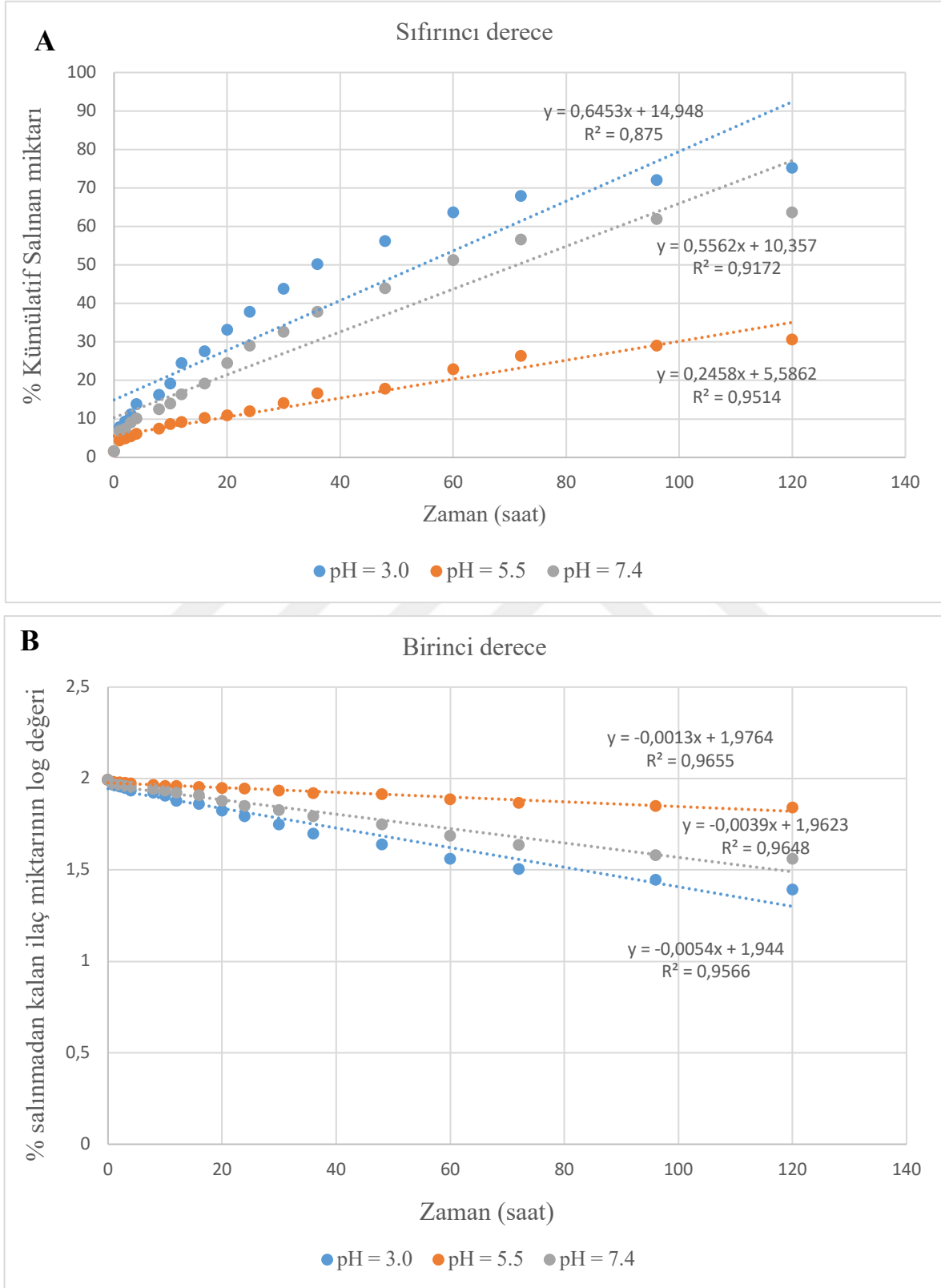
Şekil 6.103. % 1 tween-80 ile pH 3.0, 5.5 ve 7.4 değerlerinde PBS ortamında zamanla NG (PAA-PVIm)-BSA-KK sisteminden % kümülatif salınan ilaç miktarı.

6.2.8.4. Kurkuminin Salım Kinetiğinin İncelenmesi

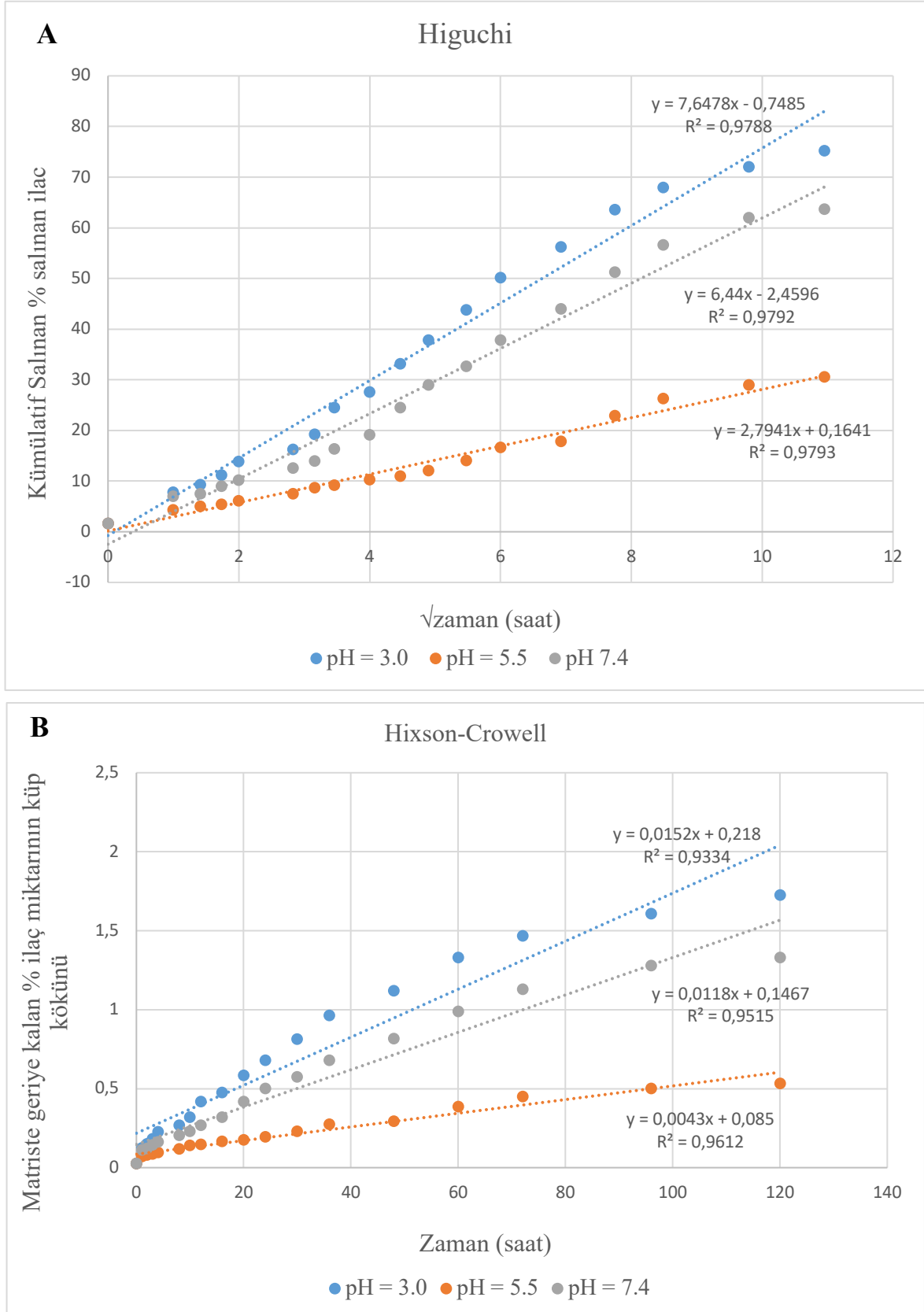
PAA-PVIm nanojellerinde kullandığımız, NG-KK ve NG-BSA-KK sistemlerinin in vitro salım özelliklerini ve salım kinetiğini anlamak için çözünme verilerine sıfırıncı mertebeden, birinci mertebeden, Higuchi, Hixson-Crowell ve Korsmeyer-Peppas modelleri olmak üzere beş farklı matematiksel model uygulanmıştır. Korsmeyer-Peppas denklemi kullanılarak ilaç salım verilerinden n ve R^2 değerleri elde edilir. Denklemdaki n değeri, ilaç dağıtım sistemlerinde difüzyon hakkında bilgi sağlar. 0,5'lik ' n ' değeri, salınan ilacın difüzyonunun Fickian difüzyonu ile uyumlu olduğunu gösterir. $0,45 < n < 0,89$ durumunda, ilaç salımı, anormal veya Fickian olmayan difüzyonla gerçekleşir; n değeri 0,89 veya daha büyük ise ilaç salımının durum II veya süper durum II mekanizmaları ile gerçekleştiği belirtilir [270]. Çizelge 13'den sıfır mertebeden, birinci mertebeden, Higuchi ve Hixson-Crowell kinetik hesaplamalardan elde edilen R^2 (doğrusallık katsayıları) değerleri karşılaştırıldığında pH (3.0-7.4) arasında gerçekleşen ilaç salımlarının Korsmeyer-Peppas modele ile uyumlu olduğu belirlenmiştir. Korsmeyer-Peppas modeline ait kinetik hesaplamalar sonucu, salım üsteli (n) değerleri incelendiğinde pH (3.0-7.4) aralığında NG(PAA-PVIm)-KK sistemine ait ilaç salım üsteli $0,45 < n < 0,89$ aralığında olduğu için PAA-PVIm nanojelinin Fick yasasına uymayan ilaç salımı yaptığı görülmüştür. Bu sonuçlar kurkuminin PAA-PVIm nanojelinden salınmasının difüzyon kontrollü olduğunu göstermektedir.

Çizelge 31. Sıfırıncı derece, birinci derece, Higuchi, Hixson-Crowell ve Korsmeyer – Peppas denklemlerinin uygulanmasından elde edilen NG-KK için çözünme hızı sabitleri ve R² değerleri.

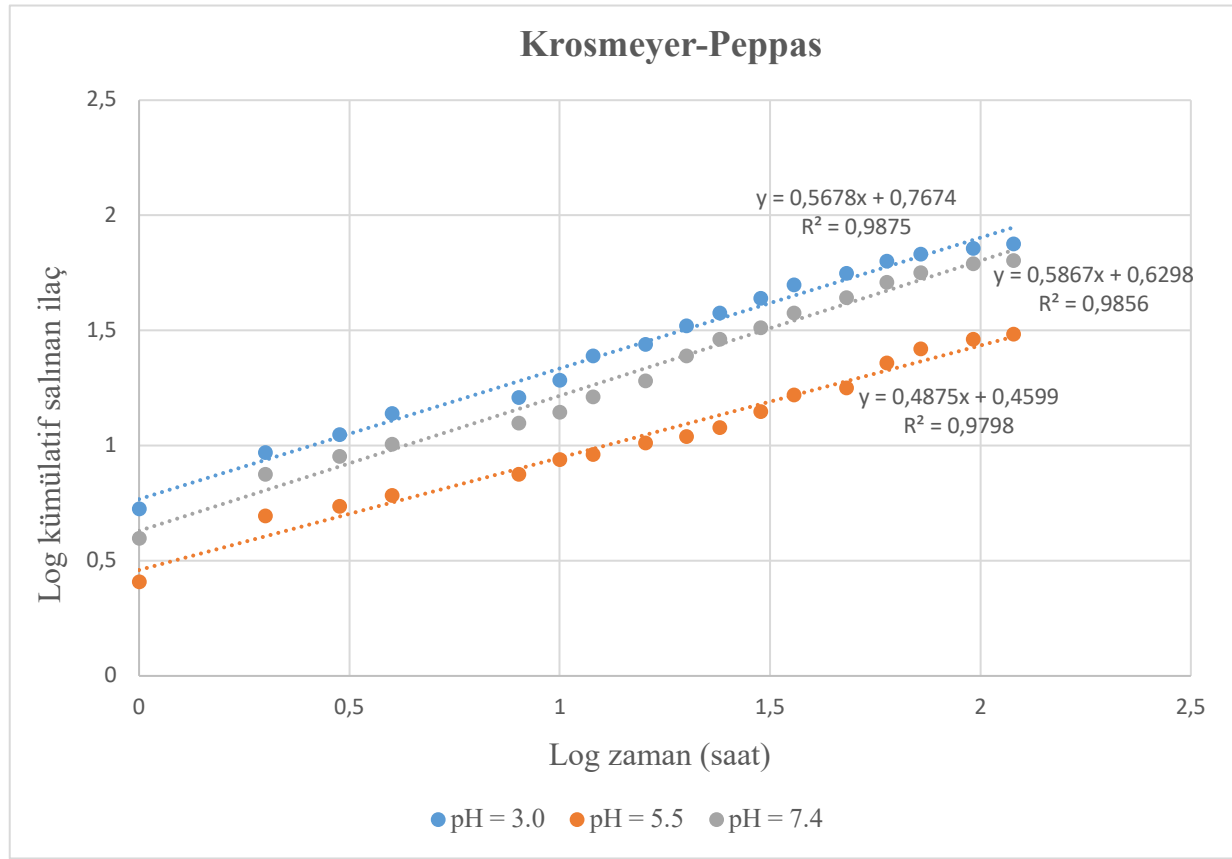
Kinetik Model	Parametreler	NG-KK pH = 3.0	NG-KK pH = 5.5	NG-KK pH = 7.4
Sıfırıncı derece	K ₀	0,6453	0,2458	0,5562
	R ²	0,8750	0,9514	0,9172
Birinci derece	K	0,0054	0,0013	0,0039
	R ²	0,9566	0,9655	0,9648
Higuchi	K _H	7,6478	2,7941	6,440
	R ²	0,9788	0,9793	0,9792
Hixson-Crowell	K	0,0152	0,0043	0,0118
	R ²	0,9334	0,9612	0,9515
Korsmeyer-Peppas	K	1,3132	1,2723	2,3111
	R ²	0,9875	0,9798	0,9856
	n	0,5678	0,4875	0,5867



Şekil 6.104. NG-KK sistemi için ilaç salım kinetik profilleri; Sıfırncı Derece (A), Birinci derece (B).



Şekil 6.105. NG-KK sistemi için ilaç salım kinetik eğrileri; Higuchi (A), Hixson-Crowell (B).

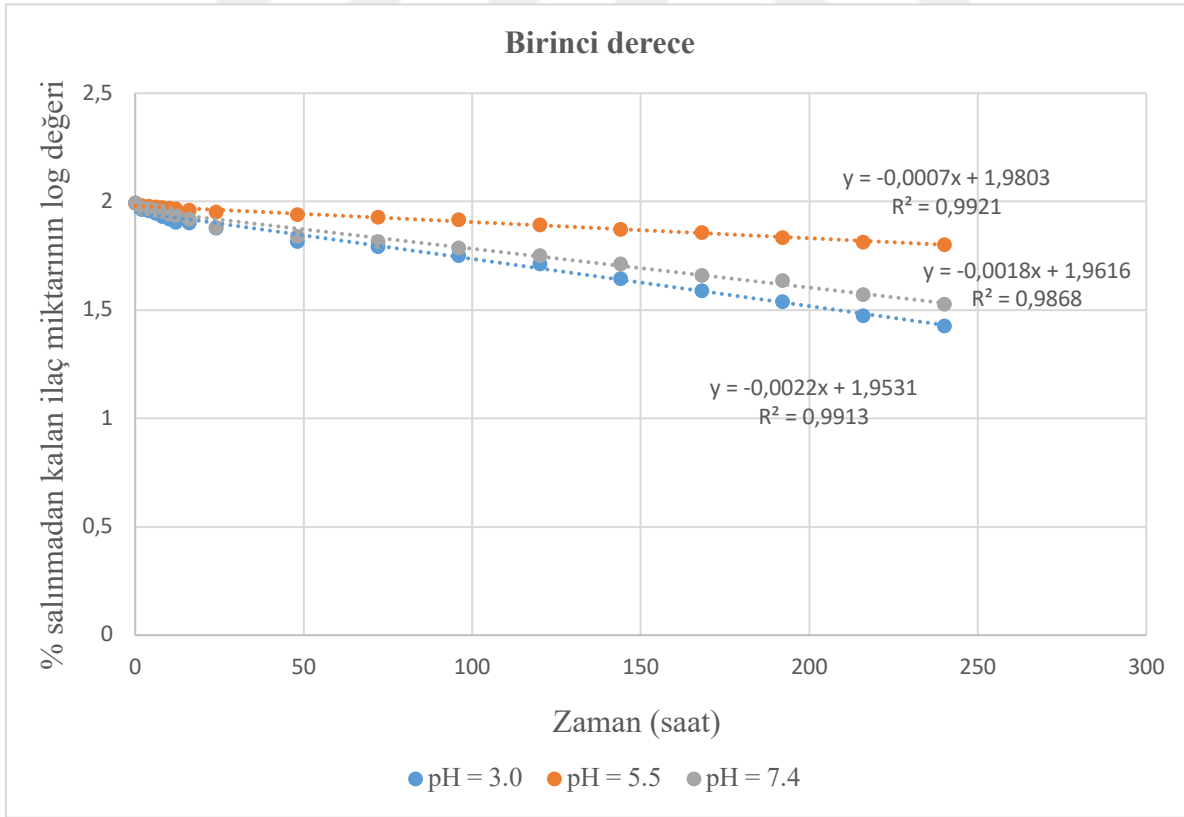
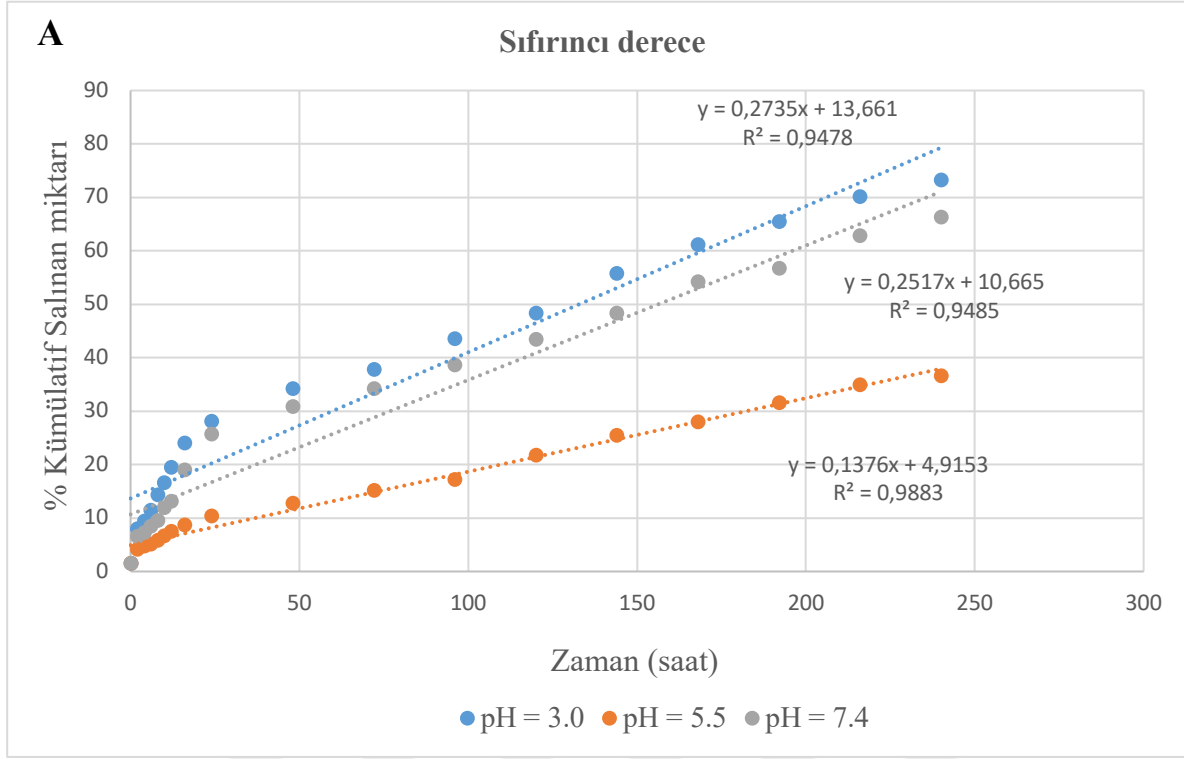


Şekil 6.106. NG-KK sistemi için Korsmeyer-Peppas ilaç salım kinetik profili.

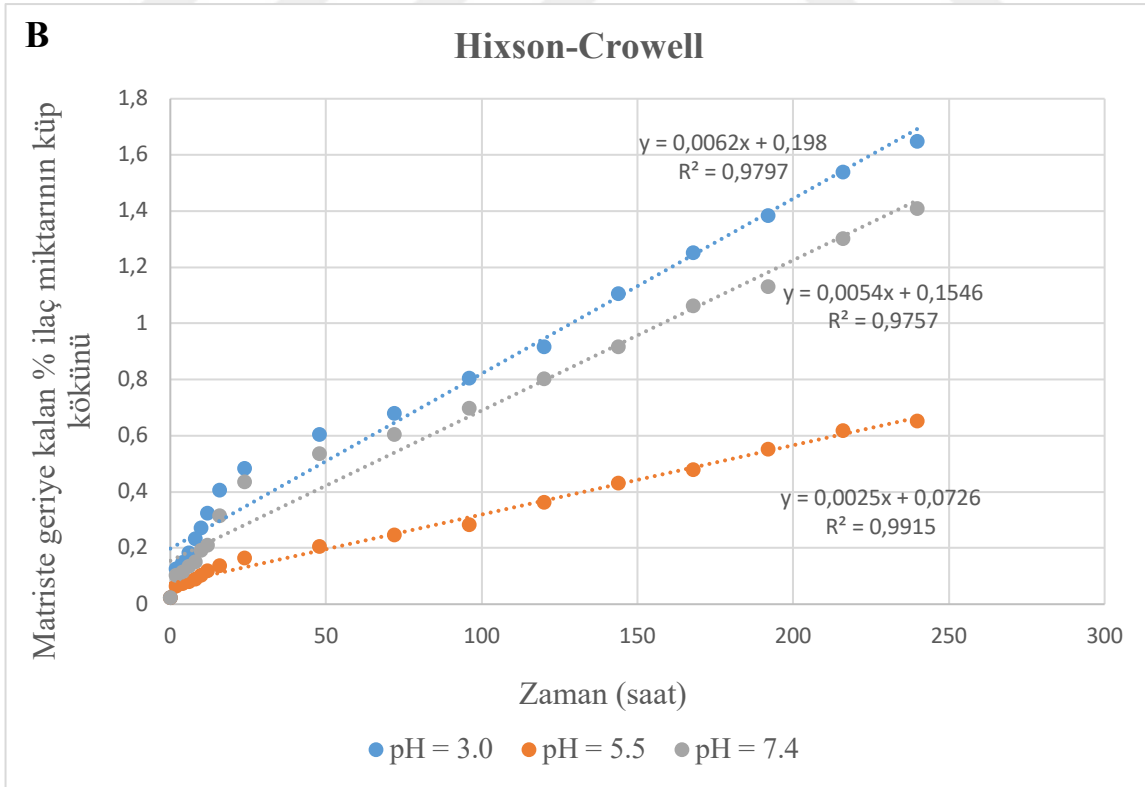
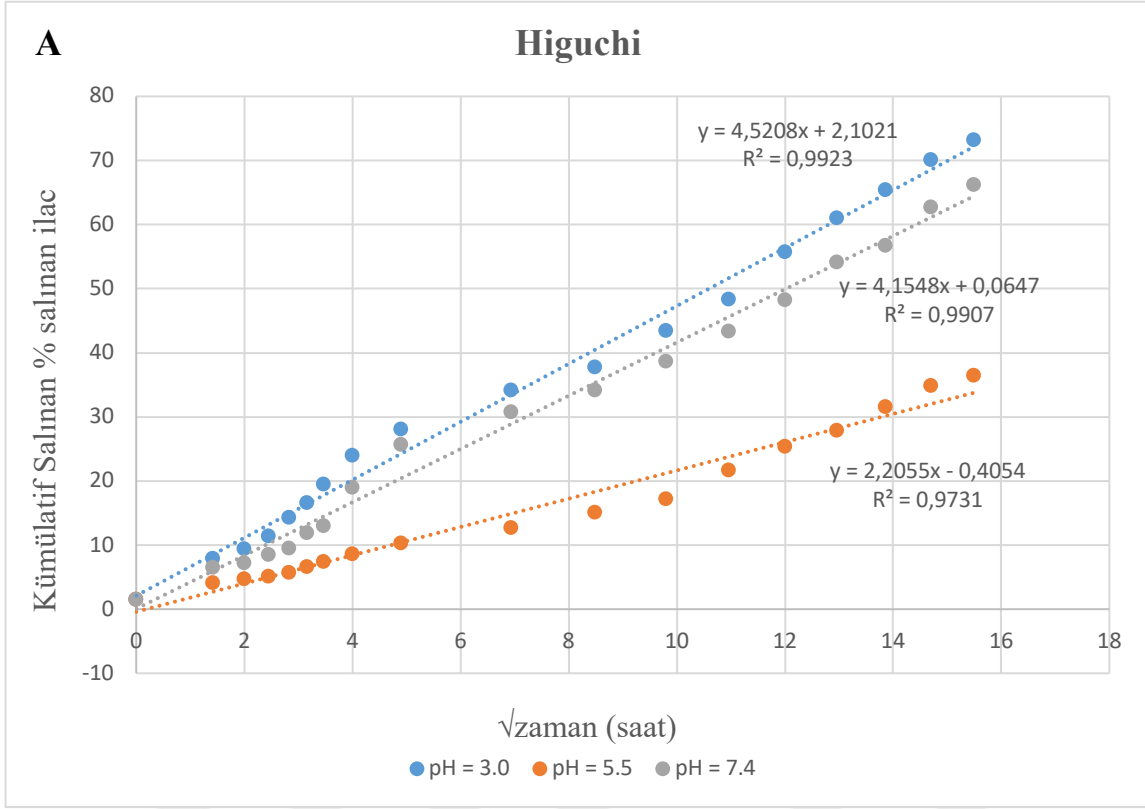
Çizelge 14’de NG(PAA-PVIm)-BSA-KK sistemi için sıfırıncı mertebeden, birinci mertebeden, Higuchi, Hixson-Crowell ve Korsmeyer-Peppas kinetik modellerine ait karşılaştırmalı salım profilleri görülmektedir. NG(PAA-PVIm)-BSA-KK sisteminin salım profilleri arasında en yüksek R^2 (doğrusallık Katsayısı) değerinin pH (3.0-7.4) arasında gerçekleşen ilaç salımlarının birinci mertebeden ve Higuchi kinetik modelde elde edildiği görülmüştür. Korsmeyer-Peppas modeline ait kinetik hesaplamalardan, Salım üsteli (n) değerleri pH (3.0-7.4) aralığında NG(PAA-PVIm)-BSA-KK sistemine ait $0,45 < n < 0,89$ arasında olduğu için NG(PAA-PVIm)-BSA-KK sisteminin Fick yasasına uymayan ilaç salımı yaptığı gerçekleşmiştir. Sonuç olarak kurkuminin NG(PAA-PVIm)-BSA sisteminden salımının birinci mertebeden ve Higuchi modeli ile uyumlu olduğu ve salınmasının difüzyon kontrollü olduğu bulunmuştur.

Çizelge 32. Sıfırıncı derece, birinci derece, Higuchi, Hixson-Crowell ve Korsmeyer – Peppas denklemlerinin uygulanmasından elde edilen NG-BSA-KK için çözünme hızı sabitleri ve R^2 değerleri.

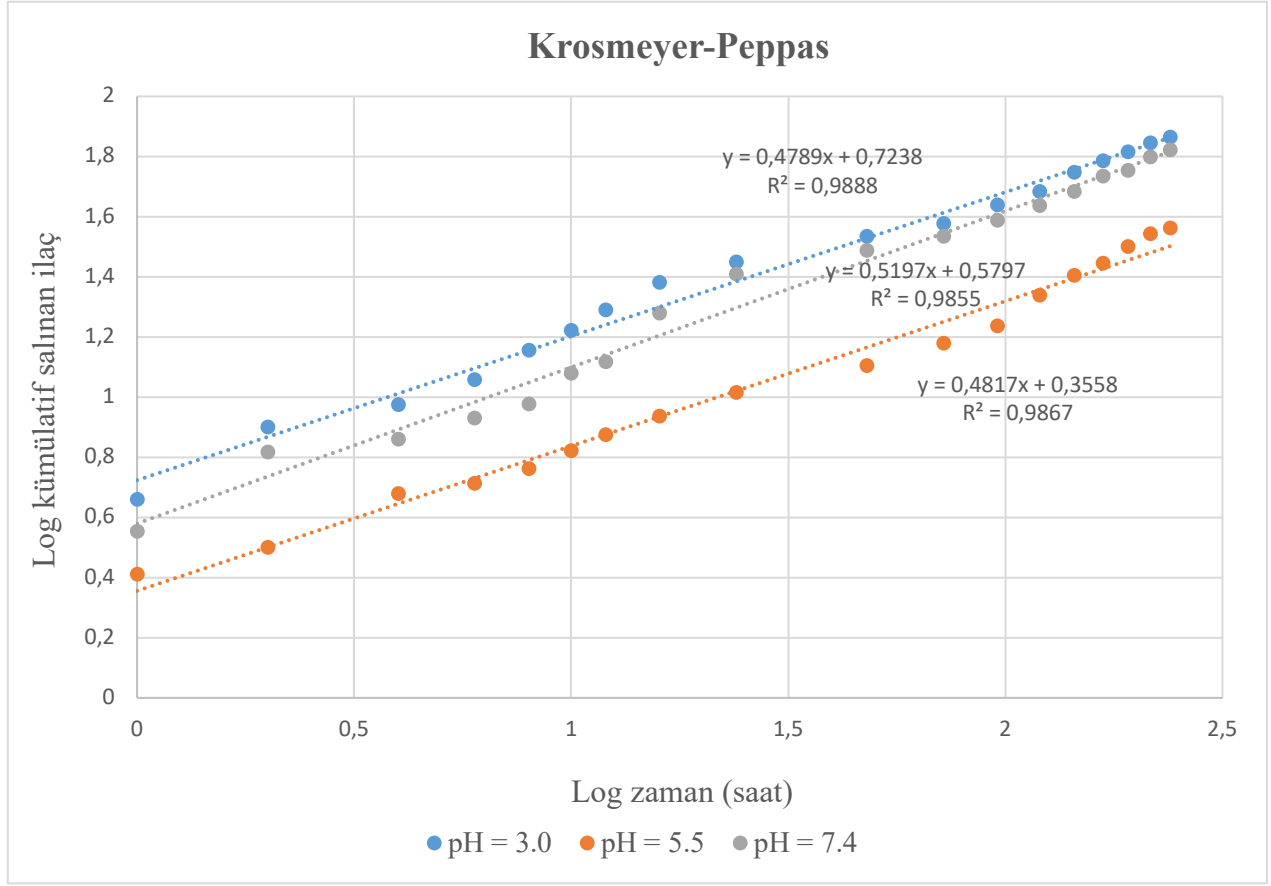
Kinetik Model	Parametreler	NG-BSA-KK pH = 3.0	NG-BSA-KK pH = 5.5	NG-BSA-KK pH = 7.4
Sıfırıncı derece	K_0	0,2735	0,1376	0,2517
	R^2	0,9478	0,9883	0,9485
Birinci derece	K	-0,0022	-0,0007	-0,0018
	R^2	0,9913	0,9921	0,9868
Higuchi	K_H	4,520	2,2055	4,1548
	R^2	0,9923	0,9731	0,9907
Hixson-Crowell	K	0,0062	0,0025	0,0054
	R^2	0,9797	0,9915	0,9757
Korsmeyer-Peppas	K	1,2133	1,9738	2,2113
	R^2	0,9888	0,9867	0,9855
	n	0,4789	0,4817	0,5197



Şekil 6.107. NG-BSA-KK sistemi için ilaç salım kinetik profilleri; Sıfırıncı Derece (A), Birinci derece (B).



Şekil 6.108. NG-BSA-KK sistemi için ilaç salım kinetik eğrileri; Higuchi (A), Hixson-Crowell (B).



Şekil 6.109. NG-BSA-KK sistemi için Krosmeyer-Peppas ilaç salım kinetik profili.

7.TOPLU SONUÇLAR

Bu tez kapsamında, (PAA-PVP) ve (PAA-PVIm) IPC nanojellerinin radyasyonla başlatılan çapraz bağlanma yöntemi ile hazırlanması, nanojellerden BSA'sız ve BSA varlığında kurkumin yükleme ve salımı ile ilgili çalışmalar yapılmıştır.

- Bu tez çalışmasında, pH-duyarlı PAA ile biyouyumlu PVP'yi bir araya getiren, yüksek hidrofilik ve toksik olmayan interpolimer kompleksler hazırlanmış ve radyasyonla başlatılan çapraz bağlanma yöntemiyle, dar boyut dağılımına sahip fonksiyonel PAA-PVP IPC nanojelleri sentezlenmiştir. Uygulanan iki aşamalı bu basit ve etkin sentez yönteminin ilk adımında, su/aseton karışımı içinde PAA ve PVP'nin interpolimer komplekslerinin oluşumu sağlanmış, ardından radyasyonla başlatılan çapraz bağlanma yöntemi ile nanojeller elde edilmiştir. PAA ve PVP arasındaki kompleksin oluşumunda çözücünün doğası önemli bir rol oynar. Ortama aseton eklenerek, polimer-çözücü etkileşimleri zayıflatılmış ve IPC oluşumu kolaylaştırılmıştır. Bu sayede, polimer büzülmesinin bir sonucu olarak boyutun azalmasına neden olmuştur. %25 (v/v) aseton/su karışımında PAA-PVP IPC'nin hazırlanmasının, IPC boyutunu kontrol etmek için uygun koşulu sağladığı bulunmuştur. PAA-PVP nanojellerinin yumak içi çapraz bağlama yoluyla elde edilmesi için, 5 ve 10 kGy'lik radyasyon dozunun yeterli olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca, uygun polimer çiftlerinin seçimi ile, elde edilen nanojellere işlevsellik (hidrofilik/hidrofobik, poliasit/polibaz dengesi gibi) dahil edilebileceği görülmüştür.
- İnterpolimer komplekslerin oluşumunu ve boyutlarını etkileyen faktörleri (pH, molekül ağırlığı, konsantrasyon ve karışım oranı) kullanarak çeşitli boyut ve yüzey yüküne sahip öncü IPC'ler sentezlenmiş ardından radyasyonla başlatılan çapraz bağlanma yöntemi ile 30–250 nm aralığında, -12 ila -34 mV zeta potansiyelleri ve 0.18'den düşük polidispersitelere sahip nanojeller elde edilmiştir. Nanojellerin boyutunun, yumak içi çapraz bağların oluşumundan dolayı öncü IPC yumakların boyutundan daha küçük olduğu bulunmuştur. Böylece, çift amfifilik özelliklere sahip PAA ve PVP'den çok işlevli nanojeller hazırlamanın kolay ve etkin bir yolu detaylandırılmıştır.

- PAA-PVP nanojelleri, Dinamik Işık Saçılması (DLS), Atomik Kuvvet Mikroskopisi (AFM) ve Taramalı Elektron Mikroskopisi (SEM) teknikleri ile analiz edilmiştir. Bu yöntemlerle elde edilen boyut sonuçlarının birbirleriyle uyumlu olduğu görülmüştür. DLS analizleri ile bulunan boyutların, diğer yöntemlerle elde edilen boyutlara kıyasla daha büyük olduğu bulunmuştur. DLS'de analiz çözelti içinde yapılıp ve elde edilen boyut hidrodinamik çaptır, AFM ve SEM analizleri ise kurutulmuş partiküller üzerinde yapılmaktadır.
- Sentezlenen nanojellerin ve öncü IPC'lerin şişmesini ve yumak içi çapraz bağlanmasını kontrol etmek için pH, sıcaklık ve iyonik şiddet etkileri incelenmiştir. Özellikle değişen pH, sıcaklığa ve iyonik şiddete karşın NG'ler kararlılık göstermiş ancak öncü IPC'ler bu tepkilere karşı ayrışma göstermişlerdir.
- Bu çalışmada, NG'leri çevreleyen kararlı albümin koronasını önceden oluşturarak NG'lere dayalı ilaç dağıtım sistemini optimize etmede NG-BSA etkileşiminin başarılı uygulamasını gösterdik. NG'lerin yüzeyinde BSA tutunmasının, NG'lerin fizikokimyasal özellikleri üzerinde önemli etkilere sebep olarak daha büyük parçacık boyutuna, daha düşük negatif zeta potansiyeline ve daha yüksek yüzey pürüzlülüğüne yol açtığı görülmüştür. BSA korona oluşumu nedeniyle biyolojik özelliklerde iyileşme ve NG-BSA kompleksinin, çıplak NG'lere kıyasla gelişmiş bir biyoyararlanım göstermesi beklenir. Dolayısıyla, NG'lerin sitotoksitesinin BSA korona oluşumu neticesinde azalmasını beklemek yanlış olmayacaktır. NG-BSA kompleksinin oluşumunun, NG'lerin dolaşım süresini uzatmak ve nanotoksitesini azaltmak için etkili ve uygulanabilir bir yöntem olabileceği düşünülmektedir. NG'lerin yüzeyinde protein adsorpsiyonunun kaçınılmaz ve spesifik olmadığı gerçeği göz önüne alındığında, NG'leri çevreleyen albümin korona, NG'lere dayalı ilaç dağıtım sistemlerini optimize etmek için çok yönlü bir strateji olabilir.
- PAA-PVP nanojellerine 4 farklı başlangıç derişimine sahip kurkumin çözeltisinde, BSA'sız ve BSA varlığında ilaç yüklemesi yapılmıştır. BSA varlığında daha fazla kurkumin yüklendiği görülmüştür, Kurkumin yüklü PAA-PVP nanojellerin PBS ortamında farklı pH'larda ilaç salım davranışları incelenmiştir. BSA yüklü nanojellerden daha yavaş salım gerçekleştiği görülmüştür. PAA-PVP nanojelleri pH duyarlı olduklarından farklı pH'larda (3.0, 5.5 ve 7.4) salım çalışmaları yapılmış ve salım davranışları incelenmiştir. pH arttıkça salınan ilaç miktarının arttığı gözlenmiştir. pH

duyarlı PAA-PVP nanojellerin PAA'nın pKa değerinin üzerinde şişmesi ve adsorpladığı ilacı saldıgı gözlenmiştir. İlaç salım kinetiği incelendiğinde difüzyon kontrollü salım gerçekleştiği görülmüştür.

- Fonksiyonel nano taşıyıcıları iki aşamalı ve yüksek verimli bir şekilde üretmek amacıyla, radyasyonla başlatılan çapraz bağlama yönteminden faydalandık. Işınlamadan sonra, katalizörlere, başlatıcılara veya yüzey aktif maddelere başvurulmadığı için pahalı veya zaman alıcı saflaştırma prosedürleri gerekmez. Eşzamanlı sterilizasyon, ışınlama dozlarının uygun bir şekilde seçilmesiyle de sağlanabilir. Ancak, nanotaşıyıcı olarak uygulama için gerekli özelliklere sahip çok işlevli parçacıklar üretmek amacıyla bu bulgulara dayalı formülasyonlar geliştirmek üzere şimdiye kadar yeterli çaba gösterilmemiştir. Mevcut çalışma ile, prosedür olarak kolay ve sağlam, ekonomik olarak uygulanabilir bir süreçle biyoyumlu, işlevselleştirilmiş NG'ler üretme olasılığını değerlendirdik.
- Gama ışınları ile başlatılan çapraz bağlama yöntemi ile poli(akrilik asit) (PAA) - poli(N-vinilimidazol) (PVI) çift hidrofilik, poliasit/polibaz, düşük ve yüksek pH'lara duyarlı poliamfolit özelliklere sahip dar boyut dağılımında IPC nanojellerinin hazırlanması gerçekleştirilmiştir. Biyoyumlu, işlevselleştirilmiş nanojellerin üretimi için ölçeklenebilir, iki adımlı basit ve etkin sentez yönteminin ilk adımında, su/aseton karışımı içinde PAA ve PVI'nin interpolimer komplekslerinin oluşumu sağlanmış, ardından radyasyonla başlatılan çapraz bağlama yöntemi ile nanojeller elde edilmiştir. Asetonun suya %10, 20 ve %25 (v/v) eklenmesi, ortalama IPC boyutunu 287 nm'den (aseton olmadan) sırasıyla 254, 211 ve 190 nm'ye düşürmüştür. Suyun içine aseton eklenmesiyle ortamın çözünürlük parametresindeki azalma, PAA ve PVI arasındaki interpolimer kompleksleşmesini kolaylaştıran polimer-çözücü etkileşimlerinin azalmasına neden olmuştur. Bununla birlikte, aseton miktarı %30 ve %40' a (v/v) yükseltildiğinde, IPC yumakları artmıştır. Bu, polimerlerin nispeten yüksek hidrofobik ortamda topaklanmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. %25 (v/v) aseton/su karışımında PAA-PVI IPC'nin hazırlanmasının, IPC boyutunu kontrol etmek için uygun koşulu sağladığı bulunmuştur. Bu sayede, iyi çözücü olmayan asetonun eklenmesi ile polimer-polimer etkileşimleri artar ve yumakların büzülmesi ile birlikte aynı PAA-PVI yumagının üzerinde daha kısa radikaller arası mesafeler nedeniyle sistemin molekül içi

çapraz bağlanmayı tercih etmesine yardımcı olur. PAA-PVIm nanojellerinin yumak içi çapraz bağlama yoluyla elde edilmesi için, 3 kGy'lik radyasyon dozunun yeterli olduğu tespit edilmiştir. 5 ve üzeri dozlarda yumaklar arası çapraz bağlanma gözlenmiştir.

- PAA ve PVIm arasındaki interpolimer komplekslerin oluşumunu ve boyutlarını etkileyen faktörleri (ekleme sırası, pH, molekül ağırlığı, konsantrasyon ve karışım oranı) kullanarak geniş bir nanopartikül aralığında boyut ve yüzey yüküne sahip öncü IPC'ler sentezlenmiş ardından radyasyonla başlatılan çapraz bağlanma yöntemi ile 31–300 nm aralığında, -7 ila -44 mV zeta potansiyelleri ve 0.12'den düşük polidispersitelere sahip nanojeller elde edilmiştir. Böylece, çift hidrofilik poliamfolit özelliklere sahip PAA ve PVIm'den çok işlevli nanojeller hazırlanmıştır.
- Öncü IPC'lerin ve NG'lerin şişmesini ve yumak içi çapraz bağlanmasını kontrol etmek için pH, iyonik şiddet ve sıcaklığın etkileri araştırıldı. Nanojellerin düşük ve yüksek pH'larda mükemmel şişme özelliği sergilediği görülmüştür. Düşük pH'larda PAA ve PVIm birimleri protonlanır ve protonlanan birimlerin arasındaki IPC oluşumu azalır, PVIm-NH⁺ miktarı arttıkça itme kuvvetleri nanojellerin şişmesine ve IPClerin yapısının dağılmasına yol açar. Yüksek pH değerlerinde PAA birimleri disosiye olur (PAA-COO⁻) dolayısıyla PAA-COO⁻ arasındaki itme kuvvetlerin artması ile IPC nanojelleri şişer ve IPC'lerin yapısının bozulduğu görülür. Sıcaklık ve iyonik şiddet etkileri incelendiğinde sıcaklığa ve iyonik şiddete karşın NG'ler kararlılık göstermiş ancak öncü IPC'ler bu etkiler altında ayrışma sergilemişlerdir.
- PAA-PVIm IPC nanojellerini hazırladıktan sonra depolama kararlılığını (raf omru) araştırmak için, öncü IPC ve IPC nanojelleri çözelti içinde (3.50-6.0 pH aralığında) oda sıcaklığında saklanmışlardır. IPC nanojelleri, 12 aylık bir depolama kararlılığı ve öncü IPC'ler 27 günlük bir depolama kararlılığı göstermişlerdir.
- Hazırlanan PAA-PVIm nanojelleri ve öncü IPC'ler, Dinamik Işık Saçılması (DLS), Taramalı Elektron Mikroskopi (SEM) ve Atomik Kuvvet Mikroskopi (AFM) yöntemleriyle karakterize edilmiştir. AFM sonuçlarından IPC'lerin mika yüzeyine yayıldığı ve düzensiz görüntüler verdiği görülmüştür. PAA-PVIm nanojelleri için AFM ve SEM analizleri, küresel ve çok homojen partiküllerin elde edildiğini göstermiştir. Bu sonuçlar aynı zamanda DLS verileri ile de desteklenmiştir. DLS analizinden PAA-PVIm nanojeli için elde edilen ortalama boyut değeri 84 nm, AFM'den yaklaşık 71 nm ve SEM

ölçümlerinden ise 56 nm bulunmuştur. DLS, AFM ve SEM sonuçları arasındaki boyut farkı şişmiş ve kurumuş yapılardan kaynaklanmaktadır.

- PAA-PVIm NG'lerine BSA adsorpsiyonu gerçekleştirilmiş ve 1mg NG in 5.5 mg BSA tuttuğu gözlemlenmiştir. BSA adsorplanan PAA-PVIm NG'lerinin boyut, ζ potansiyeli ve morfolojisindeki değişiklikler incelenmiştir. BSA adsorpsiyonunu NG'lerin fizikokimyasal özellikleri üzerinde önemli etkiler göstererek daha büyük parçacık boyutuna, daha düşük negatif zeta potansiyeline ve daha yüksek yüzey pürüzlülüğüne yol açtığı görülmüştür. Protein adsorpsiyonunun NG'lerin in vitro çalışmalarının üzerindeki önemli etkisi göz önüne alındığında, bulgularımız NG'lere dayalı ilaç dağıtım sistemlerinin tasarımı, çalışması ve pratik uygulaması için oldukça anlamlıdır. NP'ler için koruyucu bir kaplama görevi gören önceden oluşturulmuş albümin korona, plazma proteinlerinin adsorpsiyonunu inhibe edebileceği, dolaşım süresini uzatabileceği ve toksisiteyi azaltabileceği düşünülmektedir. Tanımlanan yaklaşım, nanotıpta çok umut verici bir potansiyele sahip biyohibrit nanojelleri üretmek için yeni bir strateji sağlar.
- Radyasyonla başlatılan çapraz bağlanma yöntemi ile hazırlanan PAA-PVIm nanojelleri BSA'sız ve BSA varlığında kurkumin için bir taşıyıcı görevi gösterdiler. Nanojeller, kurkuminin suda çözünürlüğünü arttırmıştır. Kurkumin yüklü nanojellerin boyut, zeta potansiyeli ve morfolojisi gibi fiziksel özellikleri analiz edilmiştir. Kurkumin yüklü nanojelin boyutu ilaç yüksüz nanojellerden yaklaşık 3 kat büyük çıkmıştır, küresel morfolojiye ve negatif zeta potansiyeline sahip oldukları görülmüştür.
- Çalışmanın son bölümünde PAA-PVIm nanojellerine 4 farklı başlangıç derişimine sahip kurkumin çözeltisinde, BSA'sız ve BSA varlığında ilaç yüklemesi yapılmıştır. BSA varlığında daha fazla kurkumin yüklendiği görülmüştür, BSA yüklü nanojellerden daha yavaş salım gerçekleştiği tespit edilmiştir. PAA-PVIm nanojelleri ikili pH duyarlı olduklarından farklı pH'larda (3.0, 5.5 ve 7.4) salım çalışmaları yapılmış ve salım davranışları incelenmiştir. Nanojeller asidik ve bazik pH'ta daha yüksek kurkumin salımı göstermiştir. Asidik pH'da nanojeller bazik pH'a göre daha fazla şişme gösterdikleri için daha fazla ilaç salımı gerçekleşmiştir. İlaç salım kinetiği incelendiğinde difüzyon kontrollü salım gerçekleştiği bulunmuştur.

KAYNAKLAR

- [1] Cho, K., Wang, X., Nie, S., Chen, Z.G., Shin, D.M. Therapeutic nanoparticles for drug delivery in cancer. Clin. Cancer Res, 14 **(2008)** 1310.
- [2] Bobo, D., Robinson, K.J., Islam, J., Thurecht, K.J., Corrie, S.R. Nanoparticle-based medicines: a review of FDA-approved materials and clinical trials to date. Pharm. Res. 33 **(2016)** 2373.
- [3] Peer, D., Karp, J.M., Hong, S., Farokhzad, O.C., Margalit, R., Langer, R. Nanocarriers as an emerging platform for cancer therapy. Nat. Nanotechnol, 2 **(2007)** 751.
- [4] Kruti S. Soni, Swapnil S. Desale, Tatiana K. Bronich. Nanogels: An overview of properties, biomedical applications and obstacles to clinical translation. Journal of Controlled Release, 240 **(2016)** 109.
- [5] Henke, A., Kadlubowski, S., Ulanski, P., Rosiak, J.M., Arndt, K.-F., Radiationinduced cross-linking of poly(vinylpyrrolidone)-poly(acrylic acid) complexes. Nucl. Instrum. Methods Phys. Res. B, 236 **(2005)** 391.
- [6] Henke, A., Kadhubowski, S., Wolszczak, M., Ulański, P., Boyko, V., Schmidt, T., Arndt, K.F., Rosiak, J.M., The structure and aggregation of hydrogen-bonded interpolymer complexes of poly (acrylic acid) with poly (n-vinylpyrrolidone) in dilute aqueous solution. Macromol. Chem. Phys, 212 **(2011)** 2529.
- [7] Chun, M.K., Cho, C.S., Choi, H.K. Characteristics of poly (vinyl pyrrolidone)/pol(acrylic acid) interpolymer complex prepared by template polymerization of acrylic acid: effect of reaction solvent and molecular weight of template. J. Appl. Polym. Sci, 94 **(2004)** 2390.
- [8] Rainaldi, I., Cristallini, C., Ciardelli, G., Giusti, P. Kinetics and reaction mechanis of template polymerization investigated by conductimetric measurements. Part 3 Radical

- polymerization of acrylic acid in the presence of poly N-vinylpyrrolidone. *Polym. Int.* 49 **(2000)** 63.
- [9] Abd El-Rehim, H.A., Hegazy, E.A., Khalil, F.H., Hamed, N.A. Radiation preparation of drug carriers based polyacrylic acid (PAAc) using poly (vinyl pyrrolidone) (PVP) as a template polymer. *Nucl. Instrum. Methods Phys. Res., Sect. B*, 254 **(2007)** 105.
- [10] Abd El-Rehim, H.A., Hegazy, E.S.A., Hamed, A.A., Swilem, A.E. Controlling the size and swellability of stimuli-responsive poly(vinylpyrrolidone)–poly(acrylic acid) nanogels synthesized by gamma radiation-induced template polymerization. *Eur. Polym. J.* 49 **(2013b)** 601.
- [11] Rashed, E.R., El-Rehim, A., Hassan, A., El-Ghazaly, M.A. Potential efficacy of dopamine loaded-PVP/PAA nanogel in experimental models of Parkinsonism: possible disease modifying activity. *J. Biomed. Mater. Res. Part A* 103 **(2015)** 1713.
- [12] Picone, P., Ditta, L.A., Sabatino, M.A., Militello, V., San Biagio, P.L., Di Giacinto, M.L., Cristaldi, L., Nuzzo, D., Dispenza, C., Giacomazza, D., Di Carlo, M. Ionizing radiation-engineered nanogels as insulin nanocarriers for the development of a new strategy for the treatment of Alzheimer's disease. *Biomaterials*, 80 **(2016)** 179.
- [13] Tsuchida, E., Takeoka, S. “Interpolymer Complexes and Their Ion-Conduction”, *Macromolecular complexes in chemistry and biology*, Eds: Dublin, Bock, Davis, Schuls, Thies, Springer-Verlag, Berlin Heidelberg, 183-185, **(1994)**.
- [14] Olabisi, O., Robeson, L. M., Shaw, M. T. *Polymer-polymer miscibility*, Academic Press, New York, 206-211, **(1979)**.
- [15] Khutoryanskiy, Vitaliy V. Hydrogen-bonded interpolymer complexes as materials for pharmaceutical applications. *International Journal of Pharmaceutics*, 334 **(2007)** 15.
- [16] I. Iliopoulos, T. K. Wang, and R. Audebert. Viscometric evidence of interactions between hydrophobically modified poly(sodium acrylate) and sodium dodecyl sulfate, *langmuir*, 7 **(1991)** 617.

- [17] Smith, K.L., Winslow, A.E., Petersen, D.E. Association reactions for poly(alkylene oxides) and polymeric poly(carboxylic acids). *Ind. Eng. Chem*, 51 **(1959)** 1361.
- [18] F. E. Bailey Jr., R. D. Lundberg, R. W. Callard. Some factors affecting the molecular association of poly(ethylene oxide) and poly(acrylic acid) in aqueous solution. *J. Polym. Sci., Part A*, 2 **(1964)** 845.
- [19] Khutoryanskiy, V. V., Dubolazov, A.V., Nurkeeva, Z. S., Mun, G. A. Effects in the complex formation and blending of poly(acrylic acid) with poly(ethylene oxide) *Langmuir*, 20 **(2004)** 3785.
- [20] Nurkeeva, Z. S., Mun, G. A., Khutoryanskiy, V. V. "Interpolymer complexes of water-soluble non-ionic polysaccharides with polycarboxylic acids and their applications", *Macromol. Bioscience*, 3 **(2003)** 283.
- [21] Ikawa, T., Abe, K., Honda, K., Tsuchida, E., Interpolymer complex between poly(ethylene oxide) and poly(carboxylic acid). *J. Polym. Sci. Part A: Polym. Chem*, 13 **(1975)** 1505.
- [22] Mun, G.A., Nurkeeva, Z.S., Khutoryanskiy, V.V., Bitekenova, A.B. Effect of copolymer composition on interpolymer complex formation of (co) poly(vinyl ether)s with poly(acrylic acid) in aqueous and organic solutions. *Macromol. Rapid Commun*, 21 **(2000)** 381.
- [23] Mun, G.A., Nurkeeva, Z.S., Khutoryanskiy, V.V., Sarybayeva, G.S., Dubolazov, A.V. pH-effects in the complex formation of polymers. Part I. Interaction of poly(acrylic acid) with poly(acrylamide). *Eur. Polym. J*, 39 **(2003)** 1687.
- [24] Nurkeeva, Z.S., Mun, G.A., Khutoryanskiy, V.V., Zotov, A.A., Mangazbaeva, R.A. Interpolymer complexes of poly(vinyl ether) of ethylene glycol with poly(carboxylic acids) in aqueous, alcohol and mixed solutions. *Polymer*, 41 **(2000)** 7647.
- [25] Nurkeeva, Z.S., Mun, G.A., Khutoryanskiy, V.V. Interpolymer complexes of water-soluble nonionic polysaccharides with polycarboxylic acids and their applications. *Macromol. Biosci*, 3 **(2003)** 283.

- [26] Nurkeeva, Z.S., Mun, G.A., Khutoryanskiy, V.V., Bitekenova, A.B., Dubolazov, A.V., Esirkegenova, S.Z. pH effects in the formation of interpolymer complexes between poly(N-vinylpyrrolidone) and poly(acrylic acid) in aqueous solutions. *Eur. Phys. J. E*, 10 **(2003)** 65.
- [27] Papisov, I.M., Litmanovich, A.A. Molecular “recognition” in interpolymer interactions and matrix polymerization. *Adv. Polym. Sci*, 90 **(1988)** 139.
- [28] Polowinski, S. Template polymerisation and co-polymerisation. *Prog. Polym. Sci*, 27 **(2002)** 537.
- [29] Baranovsky, V.Y., Kotlyarsky, I.V., Etlis, V.S., Kabanov, V.A., Template polymerization of methacrylic-acid in the presence of poly(ethylene glycol) and poly(N-vinylpyrrolidone) in benzene. *Eur. Polym. J*, 28 **(1992)** 1427.
- [30] Jiang, M., Li, M., Xiang, M.L., Zhou, H. Interpolymer complexation and miscibility enhancement by hydrogen bonding. *Adv. Polym. Sci*, 146 **(1999)** 121.
- [31] Tsuchida, E., Abe, K., Interactions between macromolecules in solution and intermacromolecular complexes. *Adv. Polym. Sci*, 1-119, **(1982)**.
- [32] Papisov, I.M., Baranovskii, V.Y., Sergieva, E.I., Antipina, A.D., Kabanov, V.A. Thermodynamics of formation of complexes of polymethacrylic and polyacrylic acids with poly(ethylene glycols) calculation of decomposition temperatures of complexes of oligomers and matrices. *Vysokomolek. Soed. Ser. A*, 16 **(1974)** 1133.
- [33] Abe, K., Ohno, H., Nii, A., Tsuchida, E. Calorimetric study on the formation of polymer complexes through electrostatic interaction and hydrogen bonding. *Makromol. Chem*, 179 **(1978)** 2043.
- [34] Tsuchida, E., Osada, Y., Ohno, H. Formation of interpolymer complexes. *J. Macromol. Sci.-Phys. B*, 17 **(1980)** 683.

- [35] Eagland, D., Crowther, N.J., Butler, C.J. Complexation between polyoxyethylene and polymethacrylic acid—the importance of the molar mass of polyoxyethylene. *Eur. Polym. J.*, 30 **(1994)** 767.
- [36] Staikos, G., Karayanni, K., Mylonas, Y. Complexation of polyacrylamide and poly(N-isopropylacrylamide) with poly(acrylic acid). The temperature effect. *Macromol. Chem. Phys.*, 198 **(1997)** 2905.
- [37] Bokias, G., Staikos, G. The study of the interpolymer hydrogen bonding interactions in aqueous solution, based on the isoionic dilution method. *Recent Res. Dev. Macromol. Res.*, 4 **(1999)** 247.
- [38] Khutoryanskiy, V.V., Cascone, M.G., Lazzeri, L., Barbani, N., Nurkeeva, Z.S., Mun, G.A., Dubolazov, A.V. Morphological and thermal characterization of interpolymer complexes and blends based on poly(acrylic acid) and hydroxypropylcellulose. *Polym. Int.*, 53 **(2004b)** 307.
- [39] Baranovsky, V.Y., Kazarin, L.A., Litmanovich, A.A., Papisov, I.M., Thermochemical reactions in polycomplexes. *Eur. Polym. J.*, 20 **(1984)** 191.
- [40] Nurkeeva, Z.S., Mun, G.A., Khutoryanskiy, V.V., Interpolymer complexes of poly(glycol vinyl ethers) and related composite materials. *Polym. Sci. Ser. B*, 43 **(2001a)** 148.
- [41] Khutoryanskiy, V.V., Cascone, M.G., Lazzeri, L., Nurkeeva, Z.S., Mun, G.A., Mangazbaeva, R.A., Phase behaviour of methylcellulose–poly(acrylic acid) blends and preparation of related hydrophilic films. *Polym. Int.*, 52 **(2003)** 62.
- [42] DeLongchamp, D.M., Hammond, P.T. Highly ion conductive poly(ethylene oxide)-based solid polymer electrolytes from hydrogen bonding layer-by-layer assembly. *Langmuir*, 20 **(2004)** 5403.
- [43] Shulga, G., Rekner, F., Varslavan, J. Lignin-based interpolymer complexes as a novel adhesive for protection against erosion of sandy soil. *J. Agric. Eng. Res.*, 78 **(2001)** 309.

- [44] Orazzhanova, L.K., Yashkarova, M.G., Bimendina, L.A., Kudaibergenov, S.E., Binary and ternary polymer–strontium complexes and the capture of radioactive strontium-90 from the polluted soil of the Semipalatinsk nuclear test site. *J. Appl. Polym. Sci*, 87 **(2003)** 759.
- [45] Rivas, B.L., Moreno-Villoslada, I. Chelation properties of polymer complexes of poly(acrylic acid) with poly(acrylamide), and poly(acrylic acid) with poly(N,N-dimethylacrylamide). *Macromol. Chem. Phys*, 199 **(1998)** 1153.
- [46] Mathur, A.M., Drescher, B., Scranton, A.B., Klier, J. Polymeric emulsifiers based on reversible formation of hydrophobic units. *Nature*, 392 **(1998)** 367.
- [47] Mun, G.A., Khutoryanskiy, V. V. Nurkeeva, Z.S., Urkimbaeva, P.I., Zhunuspaev, D., Stabilization of water/n-hexane emulsions by amphiphilic copoly mers based on vinyl ethers and their polycomplexes with poly(acrylic acid). *J. Polym. Sci. Part B: Polym. Phys*, 42 **(2004)** 2625.
- [48] Kurokawa, Y., Ueno, K., Yui, N. Reverse osmosis rejection of organic solute from aqueous solution by using cellulose acetate phthalatepolyvinylpyrrolidone membrane. *J. Colloid Interf. Sci*, 74 **(1980)** 561.
- [49] Desiraju, G.R. Hydrogen bonding. In: *Encyclopedia of Supramolecular Chemistry*. Marcel Dekker Inc, pp. 658 **(2004)** 665.
- [50] Wei Sun, Shirui Mao, Dan Mei, Thomas Kissel., Self-assembled polyelectrolyte nanocomplexes between chitosan derivatives and enoxaparin, *Eur J Pharm Biopharm*, 69 **(2008)** 417.
- [51] S. Lankalapalli, V. R. M. Kolapalli., Polyelectrolyte Complexes: A Review of their Applicability in Drug Delivery Technology. *Indian J Pharm Sci*, 71 **(2009)** 481.
- [52] Joachim Koetz, Sabine Kosmella., *Polyelectrolytes and Nanoparticles*, Springer Berlin Heidelberg, **2007**.

- [53] Valeria Boeris, Beatriz Farruggia, Bibiana Nerli, Diana Romanini, Guillermo Pico. Protein-flexible chain polymer interactions to explain protein partition in aqueous two phase systems and the protein–polyelectrolyte complex formation, *Int J Biol Macromol*, 41 **(2007)** 286.
- [54] Thünemann, Andreas F., Müller, Martin, Dautzenberg, Herbert, Joanny, Jean- François, Löwen, Hartmut, Polyelectrolyte complexes. *Adv. Polym. Sci*, 166 **(2004)** 113.
- [55] Tsuchida E, Kokufuta E, Dubin PL. Formation of polyelectrolyte complexes and their structures. *J Macromol Sci, Pure Appl Chem*, 31 **(1994)** 1.
- [56] Müller M, Starchenko V, Lebovka N, Ouyang W, Keßler B. Preparation and life science applications of polyelectrolyte complex nanoparticles. *Curr Trends Polym Sci*, 13 **(2009)** 1.
- [57] Philipp B, Dautzenberg H, Linow KJ, Kötz J, Dawydoff W. Polyelectrolyte complexes — recent developments and open problems. *Prog Polym Sci*, 14 **(1989)** 91.
- [58] Zezin, A.B., Kabanov, V.A., New form of polyelectrolytes: water soluble complexes. *Usp Khim*, 51 **(1982)** 1447.
- [59] Kabanov, V.A., Zezin, A.B., Soluble interpolymeric complexes as a new class of synthetic polyelectrolytes. *Pure and Applied Chemistry*, 56 **(1984)** 343.
- [60] Tsuchida, E., Osada, Y., Ohno, H., Formation of interpolymer complexes. *J. Macromol. Sci.-Phys. B*, 17 **(1980)** 683.
- [61] Grigoriy A. Mun, Vitaliy V. Khutoryanskiy, Gulnara T, Akhmetkalieva Sergey N, Shmakov Artem V, Dubolazov Zauresh S, Nurkeeva Kinam Park., Interpolymer complexes of poly(acrylic acid) with poly(2-hydroxyethyl acrylate) in aqueous solutions., *Colloid Polym Sci* 283 **(2004)** 174.
- [62] Bakeev, K.N., Izumrudov, V.A., Kuchanov, S.I., Zezin, A.B., Kabanov, V.A, Kinetics and mechanism of interpolyelectrolyte exchange and addition reactions. *Macromolecules*, 25 **(1992)** 4249.

- [63] Izumrudov, V.A., Kharenko, O.A., Kharenko, A.V., Gulaeva, Z.G., Kasaikin, V.A., Zezin, A.B., Kabanov, V.A., Behavior of non-stoichiometric polyelectrolyte complexes in aqueous salt solutions. *Vysokomol. Soedin A*, 22 **(1980)** 692.
- [64] Pergushov, D.V., Izumrudov, V.A., Zezin, A.B., Kabanov, V.A., Effect of low molecular mass salts on the behavior of water soluble non-stoichiometric polyelectrolyte complexes. *Vysokomol. Soedin A*, 35, **(1993)** 844.
- [65] Kabanov, V.A., Zezin, A.B., Soluble interpolymeric complexes as a new class of synthetic polyelectrolytes. *Pure and Applied Chemistry*, 56 **(1984)** 343.
- [66] Dmitry V. Pergushov, Axel H. E. Müller, and Felix H. Schacher, Micellar interpolyelectrolyte complexes., *Chem. Soc. Rev.*, 41 **(2012)** 6888.
- [67] Izumrudov, V.A., Bronich, T.K., Saburova, O.S., Zezin, A.B., Kabanov, V.A., The influence of chain length of a competitive polyanion and nature of monovalent counterions on the direction of the substitution reaction of polyelectrolyte complexes. *Macromolecular Rapid Communication*, 9 **(1988)** 7.
- [68] Müller, M. et al. Polyelectrolyte complex nanoparticles of poly (ethyleneimine) and poly(acrylic acid): preparation and applications. *Polymers*, 3 **(2011)** 762.
- [69] Abhijeet D Kulkarni, Yogesh H Vanjari, Karan H Sancheti, Harun M Patel 1, Veena S Belgamwar, Sanjay J Surana, Chandrakantsing V Pardeshi., Polyelectrolyte complexes: mechanisms, critical experimental aspects, and applications, *Artif Cells Nanomed Biotechnol*, 44 **(2016)** 1615.
- [70] Berth, G., Dautzenberg, H., The degree of acetylation of chitosans and its effect on the chain conformation in aqueous solution. *Carbohydrate Polymers*, 47 **(2002)** 39.
- [71] B. Han, D.R. Chery, J. Yin, X.L. Lu, D. Lee, L. Han, Nanomechanics of layer-by-layer polyelectrolyte complexes: a manifestation of ionic cross-links and fixed charges *Soft Matter*, 12 **(2016)** 1158.

- [72] Fukuda, H., Kikuchi, Y., Polyelectrolyte complexes of sodium dextransulfate with chitosan. *Makromol. Chem*, 178 **(1977)** 2895.
- [73] Thu, B., Espevik, T., Smidsrød, O., Soon-Shiong, P., Skjåk-Bræk, G., Alginate polycation microcapsules II. Some functional properties. *Biomaterials*, 17 **(1996)** 1069.
- [74] Goosen, M.F.A., O'Shea, G.M., Gharapetian, H.M., Chou, S., Sun, A.M., Optimization of microencapsulation parameters: Semipermeable microcapsules as a bioartificial pancreas. *Biotechnol. Bioeng*, 27 **(1984)** 146.
- [75] Smitha, B., Sridhar, S., Khan, A.A., Polyelectrolyte complexes of chitosan and poly(acrylic acid) as proton exchange membranes in fuel cells. *Macromolecules*, 37 **(2004)** 2233.
- [76] Schatz, C., Lucas, J.-M., Viton, C., Domard, A., Pichot, C., and Delair T. Formation and Properties of Positively Charged Colloids Based on Polyelectrolyte Complexes of Biopolymers. *Langmuir*, 20 **(2004)** 7766.
- [77] Karakane, H., Tsuyumoto, M., Maeda, Y., Satoh, K. Honda, Z. Separation of water-ethanol by pervaporation through polyelectrolyte complex composite membrane. *Journal of Applied Polymer Science*, 42 **(1991)** 3229.
- [78] Polk, A., Amsden, B., De Yao, K., Peng, T., Goosen, M.F.A., Controlled release of albumin from chitosan-alginate microcapsules. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 83 **(1994)** 178.
- [79] Yan, X.L., Khor, E., Lim, L.Y, Chitosan-alginate films prepared with chitosan of different molecular weight. *Journal of Biomedical Material Research*, 58 **(2001)** 358.
- [80] Gåserød, O., Smidsrød, O., Skjåk-Bræk, G., Microcapsules of alginate chitosan I: A quantitative study of the interaction between alginate and chitosan. *Biomaterials*, 19 **(1998)** 1815.
- [81] Dautzenberg, H. Polyelectrolyte complex formation: Role of a double hydrophilic polymer. *Macromolecular Chemistry and Physics*, 201 **(2000)** 1765.

- [82] Hugerth, A., Caram-Lelham, N., Sundelöf, L.O, The effect of charge density and conformation on the polyelectrolyte complex formation between carrageenan and chitosan. *Carbohydrate Polymers*, 34 **(1997)** 149.
- [83] Bartkowiak, A., Hunkeler, D, Alginate-oligochitosan microcapsules: A mechanistic study relating membrane and capsule properties to reaction conditions. *Chem. Mater*, 11 **(1999)** 2486.
- [84] Baranovsky, V. Yu.; Litmanovich, A. A.; Papisov, I. M. 1981, Quantitative studies of interaction between complementary polymers and oligomers in solutions. *European Polymer Journal*, 17 **(1981)** 969.
- [85] Thierry Delair., Colloidal polyelectrolyte complexes of chitosan and dextran sulfate towards versatile nanocarriers of bioactive molecules, *Eur J Pharm Biopharm*, 78 **(2011)** 10.
- [86] Berger, J., Reist, M., Mayer, J.M., Felt, O., Gurny, R, Structure and interactions in chitosan hydrogels formed by complexation or aggregation for biomedical applications. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 57 **(2004)** 35.
- [87] H. Dautzenberg, W. Jaeger, Effect of charge density on the formation and salt stability of polyelectrolyte complexes, *Macromol. Chem. Phys*, 203 **(2002)** 2095.
- [88] A. Shovsky, I. Varga, R. Makuška, P.M. Claesson, Formation and stability of water-soluble, molecular polyelectrolyte complexes: effects of charge density, mixing ratio, and polyelectrolyte concentration, *Langmuir*, 25 **(2009)** 6113.
- [89] Lee, K.Y., Park, W.H., Ha, W.S, Polyelectrolyte complexes of sodium alginate with chitosan or its derivatives for microcapsules. *Journal of Applied Polymer Science*, 63 **(1997)** 425.
- [90] Berth, G., Dautzenberg, H, The degree of acetylation of chitosans and its effect on the chain conformation in aqueous solution. *Carbohydrate Polymers*, 47 **(2002)** 39.

- [91] Bartkowiak, A., Hunkeler, D, Carrageenan-oligochitosan microcapsules: optimization of the formation process. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 21 **(2001)** 285.
- [92] Hugerth, A., Caram-Lelham, N., Sundelöf, L.O, The effect of charge density and conformation on the polyelectrolyte complex formation between carrageenan and chitosan. *Carbohydrate Polymers*, 34 **(1997)** 149.
- [93] Barck, K., Butler, M.F., Comparison of morphology and properties of polyelectrolyte complex particles formed from chitosan and polyanionic biopolymers. *Journal of Applied Polymer Science*, 98 **(2005)** 1581.
- [94] Lohmeyer, JHGM., Kransen, G., Tan, Y. Y., Challa, P., Stereo-association between poly(methyl-methacrylate) and poly(methacrylic-acid)", *J Polymer Sci C Polymer Lett*, 13 **(1975)** 725.
- [95] Lohmeyer, JHGM, Tan, Y.Y., Lako, P., Challa, G., , Stereoselective association between isotactic poly(methylmethacrylate) and syndiotactic poly(methacrylic acid)", *Polymer*, 19 **(1978)** 1171.
- [96] Sulzberg, T., Cotter, R.J. Charge-transfer complexing in polymer mixtures Acceptor polymers from nitrophthalic acids and their mixtures with donor polymers from aryliminodiethanols, *J Polymer Sci A-1- Polymer Chem*, 8 **(1970)** 27.
- [97] Mulvaney, J.E., Brand, R.A., "Synthesis of electron-acceptor monomers and their copolymers with n-vinylcarbazole", *Macromolecules*, 13 **(1980)** 244.
- [98] Geissler, U., Schulz, R.C., Polymeric charge – transfer complexes based on poly(vinyl-alcohol acetal), *Makromolekulare Chemie-Macromol Chem and Phys*, 181 **(1980)** 1483.
- [99] Sonja Krause., Polymer-polymer miscibility., *Pure & Appl. Chem.*, 58 **(1986)** 1553
- [100] O. Witcherle and D. Lim, Hydrophilic Gels for Biological Use, *Nature*, 185 **(1960)** 117.

- [101] Ulanski P.; Rosiak J.M., Polymeric nano/microgels, Encyclopedia of Nanoscience and Nanotechnology, Amer. Sci. Publ. (Ed. H.S. Nalwa), 8 **(2004)** 845.
- [102] Flory P. J., Molecular size distribution in three dimensional polymers I. Gelation, J. Am. Chem. Soc, 63 **(1941)** 3083.
- [103] Baker W.O., Microgel, A relation to sol and gel new macromolecule as structural elements of synthetic rubber, Ind. Eng. Chem, 41 **(1949)** 511.
- [104] Sanson, N.; Rieger, J, Synthesis of nanogels/ microgels by conventional and controlled radical crosslinking copolymerization, Polymer Chemistry, 1 **(2010)** 965.
- [105] Kabanov A. V.; Vinogradov S. V, Nanogels as pharmaceutical carriers: Finite networks of infinite capabilities, Angew. Chem. Int. Ed, 48 **(2009)** 5418.
- [106] Matsumoto, A., Miwa, Y., Iga, Y., Aota, H., Free-radical multiallyl crosslinking polymerization preceded by in situ nanogel- or microgel-like 95 methacrylate-network-polymer precursor formation, Nettowaku Porima, 29 **(2008)** 12.
- [107] Delaittre, G., Save, M., Charleux, B., Nitroxide-mediated aqueous dispersion polymerization: from water-soluble macroalkoxyamine to thermosensitive nanogels, Macromolecular Rapid Communications, 28 **(2007)** 1528.
- [108] Yu, Q.; Zhou, M.; Ding, Y.; Jiang, B.; Zhu, S, Development of networks in atom transfer radical polymerization of dimethacrylates, Polymer, 48 **(2007)** 7058.
- [109] Oh, J. K.; Tang, C.; Gao, H.; Tsarevsky, N. V.; Siegwart, D. J.; Sherwood, G.; Peteanu, L.; Matyjaszewski, K. Synthesis and functionalization of degradable nanogel particles prepared by inverse miniemulsion AGET ATRP, Polym. Prepr, 47 **(2006)** 945.
- [110] Oh, J. K.; Bencherif, S. A.; Matyjaszewski, K, Atom transfer radical polymerization in inverse miniemulsion: A versatile route toward preparation and functionalization of microgels/ nanogels for targeted drug delivery applications, Polymer, 50 **(2009)** 4407.

- [111] Liu, L.; Liu, Y.; Hu, Z. Preparation of core-shell structure fluorinated reactive microgel, *Tuliao Gongye*, 39 **(2009-a)** 32.
- [112] Peng, H.; Stolwijk, J. A.; Sun, L.; Wegener, J.; Wolfbeis, O. S, A nanogel for ratiometric fluorescent sensing of intracellular pH values, *Angew. Chem., Int. Ed*, 49 **(2009)** 4246.
- [113] Chai, S.; Zhang, J.; Yang, T.; Yuan, J.; Cheng, S, Thermoresponsive microgel decorated with silica nanoparticles in shell: Biomimetic synthesis and drug release application, *Colloids Surf., A*, 356 **(2010)** 32.
- [114] Zillessen, A.; Bartsch, E. Synthesis of photo-cross-linkable microgel colloids for cluster formation studies, *Langmuir*, 26 **(2010)** 89.
- [115] Li, W; Wang, W.; Qian, S.; Yao, S, Nano poly(N-isopropylacrylamide) microgel polymerization initiated by light, *Fushe Yanjiu Yu Fushe Gongyi Xuebao*, 20 **(2002)** 118.
- [116] Wu, H.; Zhang, H.; Fan, L.; Wang, J.; Ren, B., , Synthesis and properties of temperature-sensitive poly(N-isopropylacrylamide/acrylamide) nanogel, *Jiefangjun Yaoxue Xuebao*, 23 **(2007)** 245.
- [117] L.W. Chen, B.-Z. Yang, and M.-L. Wu, Synthesis and kinetics of microgel in inverse emulsionpolymerization of acrylamide, *Progress in Organic Coatings*, 31 **(1997)** 393.
- [118] Dieu, H. A. Desreux, V, Cross-linking of poly(vinyl alcohol) by γ -radiation, *Large Radiation Sources in Industry. Intern. Atomic Energy Agency, Vienna*, 1 **(1960)** 341.
- [119] Tomoda, Y.; Tsuda, M, Some aspects of the crosslinking and degradation of gelatin molecules in aqueous solutions irradiated by Co60 γ -rays, *Tokyo Kogyo Shikensho Hokoku*, 57 **(1962)** 517.
- [120] Sakurada, I.; Ikada, Y, Effects of γ -radiation on polymers in solution. V. Intramolecular crosslinking of poly(acrylic acid) in dilute aqueous solution, *Bull. Inst. Chem. Res., Kyoto Univ*, 41 **(1963)** 114.

- [121] Sakurada, I.; Ikada, Y, Effects of γ -radiation on polymers in solution. VIII. Radiation effects on poly(vinyl alcohol) in aqueous solutions below the critical concentration for gel formation, *Bull. Inst. Chem. Res., Kyoto Univ*, 42 **(1964)** 32.
- [122] Ulanski, P.; Janik, I.; Rosiak, J. M, Radiation formation of polymeric nanogels, *Radiat. Phys. Chem.*, 52 **(1998)** 289.
- [123] Ulanski, R.; Rosiak, J. M, The use of radiation technique in the synthesis of polymeric nanogels, *Nucl. Instrum. Methods Phys. Res., Sect. B*, 151 **(1999)** 356.
- [124] Ulanski, P.; Kadlubowski, S.; Rosiak, J. M, Synthesis of poly(acrylic acid) nanogels by preparative pulse radiolysis, *Radiat. Phys. Chem.*, 62 **(2002)** 533.
- [125] Spinks J. W.; Woods R. J., *An introduction to radiation chemistry*, John Wiley & Sons, New York, 237-308, **(1964)**.
- [126] Weiss J, *Radiochemistry of aqueous solutions*, *Nature*, 153 **(1944)** 748.
- [127] Vereshchinskii, I.V.; Pikaev, A.K, *Introduction to Radiation Chemistry*, Davey, New York, 61-140, **(1964)**.
- [128] Aziz F.; Rodgers M. A. J, Editors, *Radiation Chemistry Principles and Applications*, VCH, New York, 201-235, **(1987)**.
- [129] Buxton G. V, An overview of the radiation chemistry of liquids, *Radiation Chemistry From Basics to Applications in Material and Life Sciences*, Editors, Spothem-Maurizot M., Mostafavi M., Douki T., Belloni J., EDP Sciences, France, 3-16, **(2008)**.
- [130] Hart E. J., Mechanism of the γ -ray induced oxidation of formic acid in aqueous solution, *J. Am. Chem. Soc*, 73 **(1951)** 68.
- [131] Janata E., Schuler R. H., Rate constant for scavenging e_{aq}^- in N_2O -saturated solutions, *Journal of Physical Chemistry*, 86 **(1982)** 2079.
- [132] Wardman P., Application of pulse radiolysis methods to study the reactions and structure of biomolecules, *Reports on Progress in Physics*, 41 **(1978)** 259.

- [133] Riesz, P., The radiolysis of acetone in air-free aqueous solutions, *Journal of Physical Chemistry*, 69 **(1965)** 1366.
- [134] Hart E. J., Gordon S., Thomas J.K., Rate constants of hydrated electron reactions with organic compounds, *Journal of Physical Chemistry*, 68 **(1964)** 1271.
- [135] Peng, H.; Stolwijk, J. A.; Sun, L.; Wegener, J.; Wolfbeis, O. S. A nanogel for ratiometric fluorescent sensing of intracellular pH values, *Angew. Chem., Int. Ed*, 49 **(2009)** 4246.
- [136] Li, C.; Liu, S, Responsive nanogel-based dual fluorescent sensors for temperature and Hg^{2+} ions with enhanced detection sensitivity, *J. Mat. Chem.*, 20 **(2010)** 10716.
- [137] Holtz, J. H.; Asher, S. A, Polymerized colloidal crystal hydrogel films as intelligent chemical sensing materials, *Nature*, 389 **(1997)** 829.
- [138] Rahimi, M.; Yousef, M.; Cheng, Y.; Meletis, E. I.; Eberhart, R. C.; Nguyen, K, Formulation and characterization of a covalently coated magnetic nanogel, *J. Nanosci. Nanotechnol*, 9 **(2009)** 4128.
- [139] Quevedo, J. A.; Patel, G.; Pfeffer, R., Removal of Oil from Water by Inverse Fluidization of Aerogels, *Ind. Eng. Chem. Res.*, 48 **(2009)** 191.
- [140] Ding Wang, Elisabeth McLaughlin, Robert Pfeffer, Y.S. Lin, Aqueous phase adsorption of toluene in a packed and fluidized bed of hydrophobic aerogels, *Chemical Engineering Journal*, 168 **(2011)** 1201.
- [141] Sultan Butun Sengel, Nurettin Sahiner, Poly(vinyl phosphonic acid) nanogels with tailored properties and their use for biomedical and environmental applications, *European Polymer Journal*, 75 **(2016)** 264.
- [142] Bueno, V. B.; Cuccovia, I. M.; Chaimovich, H.; Catalani, L. H., PVP superabsorbent nanogels, *Colloid Polym. Sci*, 287 **(2009)** 705.

- [143] Hang C, Zou Y, Zhong Y, Zhong Z, and Meng F, "NIR and UV-responsive degradable hyaluronic acid nanogels for CD44-targeted and remotely triggered intracellular doxorubicin, delivery," *Colloids Surfaces B Biointerfaces*, 158 **(2017)** 547.
- [144] Salehi R, Rasouli S, and Hamishehkar H, "Smart thermo/pH responsive magnetic nanogels for the simultaneous delivery of doxorubicin and methotrexate," *Int. J. Pharm* 487 **(2015)** 274.
- [145] Nakahashi-ouchida R, Yuki Y, and Kiyono H, "Cationic pullulan nanogel as a safe and effective nasal vaccine delivery system for respiratory infectious diseases," *Hum Vaccin Immunother*, 14 **(2018)** 2189.
- [146] Sahu P, Kashaw SK, Kushwah V, Sau S, Jain S, and Iyer AK, "pH responsive biodegradable nanogels for sustained release of bleomycin," *Bioorganic Med. Chem*, 25 **(2017)** 4595.
- [147] Oishi, M.; Nagasaki, Y, pH-responsive PEGylated nanogels as smart nanodevice for cancer diagnosis and therapy, *Polym. Prepr*, 49 **(2008)** 461.
- [148] Flavia Maggi, Serena Ciccarelli, Marco Diociaiuti, Stefano Casciardi, and Giancarlo Masci., Chitosan Nanogels by Template Chemical Cross-Linking in Polyion Complex Micelle Nanoreactors, *Biomacromolecules*, 12 **(2011)** 3499.
- [149] Li, Y.; Yang, J.; Wu, W.; Zhang, X.; Zhuo, R, Degradable nanogels as a nanoreactor for growing silica colloids, *Langmuir*, 25 **(2009)** 1923.
- [150] Minnie Chan, Jacques Lux, Tomoki Nishimura, Kazunari Akiyoshi, and Adah Almutairi, Long-lasting and efficient tumor imaging using a high relaxivity polysaccharide nanogel magnetic resonance imaging contrast agent. *Biomacromolecules*, 16 **(2015)** 2964.
- [151] Gong, Y.; Fan, M.; Gao, F.; Hong, J.; Liu, S.; Luo, S.; Yu, J.; Huang, J., Preparation and characterization of amino-functionalized magnetic nanogels via photopolymerization for MRI applications, *Colloids Surf., B*, 71 **(2009)** 243.

- [152] Farokhzad, O. C.; Langer, R., Nanomedicine: Developing smarter therapeutic and diagnostic modalities, *Adv. Drug Deliv. Rev.*, 58 **(2006)** 1456.
- [153] Kanittha Boonpavanitchakul, Livia K. Bast, Nico Bruns, and Rathanawan Magaraphan, Silk Sericin-Polylactide Protein–Polymer Conjugates as Biodegradable Amphiphilic Materials and Their Application in Drug Release Systems, *Bioconjugate Chem.*, 31 **(2020)** 2312.
- [154] Sun, W.; Zhu, H., Progress of folate-PAMAM dendrimer conjugates as drug carriers in targeted drug delivery system, *Zhongguo Yiyao Gongye Zazhi*, 41 **(2010)** 538.
- [155] Piog S, Nesterenko A, Brotons G, Pascual S, and Fontaine L, “Core Cross-Linking of Dynamic Diblock Copolymer Micelles: Quantitative Study of Photopolymerization Efficiency and Micelle,” *Macromolecules*, 44 **(2011)** 594.
- [156] Holowka, E. P.; Sun, V. Z.; Kamei, D. T.; Deming, T. J, Polyarginine segments in block copolypeptides drive both vesicular assembly and intracellular delivery, *Nature Mat.*, 6 **(2006)** 52.
- [157] Hui Wang, Garry L. Rempel, pH-responsive polymer core–shell nanospheres for drug delivery, *Journal of Polymer Science, Part A: Polymer Chemistry*, 51 **(2013)** 4440.
- [158] Hirakura, T.; Yasugi, K.; Nemoto, T.; Sato, M.; Shimoboji, T.; Aso, Y.; Morimoto, N.; Akiyoshi, K, Hybrid hyaluronan hydrogel encapsulating nanogel as a protein nanocarrier: New system for sustained delivery of protein with a chaperone-like function, *J. Controlled Release*, 142 **(2010)** 483.
- [159] Nochi, T.; Yuki, Y.; Takahashi, H.; Sawada, S.; Mejima, M.; Kohda, T.; Harada, N.; Kong, I. G.; Sato, A.; Kataoka, N.; Tokuhara, D, Kurokawa, S.; Takahashi, Y.; Tsukada, H.; Kozaki, S.; Akiyoshi, K.; Kiyono, H, Nanogel antigenic protein-delivery system for adjuvant-free intranasal vaccines, *Nature Mat.*, 9 **(2010)** 572.
- [160] L. Qiu, M. Qiao, Q. Chen, C. Tian, M. Long, M. Wang, Z. Li, W. Hu, G. Li, L. Cheng, L. Cheng, H. Hu, X. Zhao, D. Chen, Enhanced effect of pH-sensitive mixed copolymer

- micelles for overcoming multidrug resistance of doxorubicin, *Biomaterials*, 35 **(2014)** 9877.
- [161] K. Kono, M. Takashima, E. Yuba, A. Harada, Y. Hiramatsu, H. Kitagawa, T. Otani, K. Maruyama, S. Aoshima, Multifunctional liposomes having target specificity, temperature-triggered release, and near-infrared fluorescence imaging for tumor-specific chemotherapy, *J. Control. Release*, 216 **(2015)** 69.
- [162] J.K. Oh, D.J. Siegwart, K. Matyjaszewski, Synthesis and Biodegradation of Nanogels as Delivery Carriers for Carbohydrate Drugs, *Biomacromolecules*, 8 **(2007)** 3326.
- [163] Y. Bae, W.-D. Jang, N. Nishiyama, S. Fukushima, K. Kataoka, Multifunctional polymeric micelles with folate-mediated cancer cell targeting and pH-triggered drug releasing properties for active intracellular drug delivery, *Mol. BioSyst.* 1 **(2005)** 242.
- [164] Qiu L.Y.; Bae Y.H, Polymer architecture and drug delivery, *Pharm. Res.*, 23 **(2006)** 1.
- [165] Maeda, H.; Wu, J.; Sawa, T.; Matsumura, Y.; Hori, K., Tumor vascular permeability and the EPR effect in macromolecular therapeutics: a review, *J. Controlled Release*, 65 **(2000)** 271.
- [166] Allen T. M.; Cullis P. R. Drug delivery systems: entering the mainstream, *Science*, 303 **(2004)** 1818.
- [167] Mai Mouslmani, Jessica M. Rosenholm, Neeraj Prabhakar, Markus Peurla, Elias Baydound and Digambara Patra., Curcumin associated poly(allylamine hydrochloride)-phosphate self-assembled hierarchically ordered nanocapsules: size dependent investigation on release and DPPH scavenging activity of curcumin, *RSC Adv*, 5 **(2015)** 18740.
- [168] Lili Xie, Weijun Tong, Dahai Yu, Jianquan Xu, Jun Lib and Changyou Gao, Bovine serum albumin nanoparticles modified with multilayers and aptamers for pH-responsive and targeted anti-cancer drug delivery, *J. Mater. Chem*, 22 **(2012)** 6053.

- [169] Rajavelu Murali Sankar, Kamal Mohamed Seeni Meera, Debasis Samanta, Panneerselvam Jithendra, Asit Baran Mandal, Sellamuthu N. Jaisankar, The pH-sensitive polyampholyte nanogels: Inclusion of carbon nanotubes for improved drug loading, *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 112 **(2013)** 120.
- [170] Hassan A. Abd El-Rehim, Ahmed E. Swilem, Anke Klingner, El-Sayed A. Hegazy, and Ashraf A. Hamed, Developing the Potential Ophthalmic Applications of Pilocarpine Entrapped Into Polyvinylpyrrolidone–Poly(acrylic acid) Nanogel Dispersions Prepared By γ Radiation, *Biomacromolecules*, 14 **(2013)** 688.
- [171] Pasquale Picone, Lorena Anna Ditta, Maria Antonietta Sabatino, Valeria Militello, Pier Luigi San Biagio, Maria Laura Di Giacinto, Laura Cristaldi, Domenico Nuzzo, Clelia Dispenza, Daniela Giacomazza, Marta Di Carlo, Ionizing radiation-engineered nanogels as insulin nanocarriers for the development of a new strategy for the treatment of Alzheimer's disease, 80 **(2016)** 179.
- [172] Chen, Y.; Zheng, X.; Qian, H.; Mao, Z.; Ding, D.; Jiang, X., Hollow core-porous shell structure poly(acrylic acid) nanogels with a superhigh capacity of drug loading, *ACS Appl. Mater. Interfaces*, 2 **(2010)** 3532.
- [173] Robinson B. V.; Sullivan F. M.; Borzelleca J. F.; Schwartz S. L., *PVP, A critical review of kinetics and toxicology of polyvinylpyrrolidone (Povidone)*, Lewis Publishers, Inc., MI, USA, **1990**.
- [174] Yale L. Meltzer(editor), *Water-soluble polymers; technology and applications*, **1972**.
- [175] Anderson, E.B., Long, T. E, Imidazole-andimidazolium-containingpolymers for biology and material science applications, *Polymer*, 51 **(2010)** 2447.
- [176] Molina, M.J., Gomez-Anton, M.R., Pierola, I.F, Factors Driving the Protonation of Poly(N-vinylimidazole) Hydrogels, *Journal of Polymer Science: Part B: Polymer Physics*, 42 **(2004)** 2294.

- [177] Mazyar, N.L., Annenkov, V.V., Kruglova, V.A, “Acid-base properties of poly(1-vinylazoles) in aqueous solution”. Russian Chemical Bulletin, International Edition, 49 **(2000)** 2013.
- [178] Mika Masaki & Kazuyoshi Ogawa & Etsuo Kokufuta, Unusual behavior in light scattering experiments of poly(N-vinylimidazole) prepared by precipitation polymerization Colloid Polym Sci, 287 **(2009)** 1405.
- [179] Anand P, Sundaram C, Jhurani S, Kunnumakkara AB, Aggarwal BB. Curcumin and cancer: an “old-age” disease with an “age-old” solution. Cancer Lett, 267 **(2008)** 133.
- [180] H. P. Ammon 1, M. A. Wahl, Pharmacology of Curcuma longa, Planta Med, 57 **(1991)** 1.
- [181] Sudarshana Purkayastha, Alexandra Berliner, Suraj Shawn Fernando, Buddima Ranasinghe, Indrani Ray, Hussnain Tariq, Probal Banerjee, Curcumin blocks brain tumor formation, Brain Res, 1266 **(2009)** 130.
- [182] S Servagent-Noinville, M Revault, H Quiquampoix, M Baron, Conformational Changes of Bovine Serum Albumin Induced by Adsorption on Different Clay Surfaces: FTIR Analysis, J Colloid Interface Sci, 221 **(2000)** 273.
- [183] Ratna Tantra, Jordan Tompkins, Paul Quincey, Characterisation of the de-agglomeration effects of bovine serum albumin on nanoparticles in aqueous suspension, Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 75 **(2010)** 275.
- [184] Pinteala, M., Budtova, T., Epure, V., Belnikevich, N., Harabagiu, V., Simionescu, B.C., Interpolymer complexes between hydrophobically modified poly methacrylic acid) and poly N-vinylpyrrolidone. Polymer, 46 **(2005)** 7047.
- [185] Brandrup J, Immergut EH Polymer handbook 3rd edn. Wiley, Canada, **(1989)**.
- [186] Zhunuspayev DE, Mun GA, Hole P, Khutoryanskiy VV., Solvent effects on the formation of nanoparticles and multilayered coatings based on hydrogen-bonded interpolymer

- complexes of poly(acrylic acid) with homo-and copolymers of N-vinyl pyrrolidone. *Langmuir*, 24 **(2008)** 13742.
- [187] Ahn H-J, Kang E-C, Jang C-H, Song K-W, Lee J-O Complexation behavior of poly(acrylic acid) and poly(ethylene oxide) in water and water-methanol. *J Macromol Sci, Pure Appl Chem*, 37 **(2000)** 573.
- [188] Nurkeeva ZS, Mun GA, Khutoryanskiy VV, Kan VA, Zotov AA, Shaikhutdinov EM, Interactions of linear and cross-linked polyacrylic acid with polyvinyl ether of ethyleneglycol in some aliphatic alcohols. *Polym Bull*, 44 **(2000)** 563.
- [189] Khutoryanskiy, V.V., Hydrogen-bonded interpolymer complexes as materials for pharmaceutical applications. *Int. J. Pharm.* 334 **(2007)** 15.
- [190] Khutoryanskiy, V.V., Mun, G.A., Nurkeeva, Z.S., Dubolazov, A.V., pH and salt effects on interpolymer complexation via hydrogen bonding in aqueous solutions. *Polym. Int.* 53 **(2004)** 1382.
- [191] Henke, A., Kadlubowski, S., Ulanski, P., Rosiak, J.M., Arndt, K.-F., Radiationinduced cross-linking of poly(vinylpyrrolidone)-poly(acrylic acid) complexes. *Nucl. Instrum. Methods Phys. Res. B*, 236 **(2005)** 391.
- [192] Zhang, Y., Wang, Z., Wang, Y., Zhao, J., Wu, C., Facile preparation of pH responsive gelatin-based core-shell polymeric nanoparticles at high concentrations via template polymerization. *Polymer*, 48 **(2007)** 5639.
- [193] Henke, A., Kadłubowski, S., Wolszczak, M., Ulański, P., Boyko, V., Schmidt, T., Arndt, K.F., Rosiak, J.M., The structure and aggregation of hydrogen-bonded interpolymer complexes of poly (acrylic acid) with poly (n-vinylpyrrolidone) in dilute aqueous solution. *Macromol. Chem. Phys*, 212 **(2011)** 2529.
- [194] S. Duygu Sütekin, Olgun Güven & Nurettin Şahiner, Nanogel Synthesis by Irradiation of Aqueous Polymer Solutions, *Emerging Technologies for Nanoparticle Manufacturing*, 167-202, **(2021)**.

- [195] Hart EJ, Gordon S, Thomas J Rate constants of hydrated electrons with organic compounds. *J Phys Chem*, 68 **(1964)** 1271.
- [196] Abd El-Rehim, H.A., Hegazy, E.S.A., Hamed, A.A., Swilem, A.E., Controlling the size and swellability of stimuli-responsive poly(vinylpyrrolidone)-poly(acrylic acid) nanogels synthesized by gamma radiation-induced template polymerization. *Eur. Polym. J*, 49 **(2013b)** 601.
- [197] Dispenza, C., Sabatino, M.-A., Grimaldi, N., Bulone, D., Bondi, M.L., Casaletto, M.P., Rigogliuso, S., Adamo, G., Gherzi, G., Minimalism in radiation synthesis of biomedical functional nanogels. *Biomacromolecules*, 13 **(2012)** 1805.
- [198] Henke, A., Kadłubowski, S., Wolszczak, M., Ulański, P., Boyko, V., Schmidt, T., Arndt, K.F., Rosiak, J.M., The structure and aggregation of hydrogen-bonded interpolymer complexes of poly (acrylic acid) with poly (n-vinylpyrrolidone) in dilute aqueous solution. *Macromol. Chem. Phys*, 212 **(2011)** 2529.
- [199] D. Klinger, K. Landfester, Stimuli-responsive microgels for the loading and release of functional compounds: Fundamental concepts and applications, *Polymer*, 53 **(2012)** 5209.
- [200] M.A.C. Stuart, W.T. Huck, J. Genzer, M. Müller, C. Ober, M. Stamm, G.B. Sukhorukov, I. Szleifer, V.V. Tsukruk, M. Urban, Emerging applications of stimuli-responsive polymer materials, *Nat. Mater*, 9 **(2010)** 101.
- [201] N. Rasool, T. Yasin, J.Y.Y. Heng, Z. Akhter, Synthesis, and characterization of novel pH-, ionic strength and temperature- sensitive hydrogel for insulin delivery *Polymer*, 51 **(2010)** 1687.
- [202] Vitaliy V Khutoryanskiy, Grigoriy A Mun, Zauresh S Nurkeeva and Artem V Dubolazov., pH and salt effects on interpolymer complexation via hydrogen bonding in aqueous solutions, *Polym Int*, 53 **(2004)** 1382.
- [203] Qiang Peng, Shu Zhang, Qin Yang, Ting Zhang, Xue-Qin Wei, Li Jiang, Chao-Liang Zhang, Qian-Ming Chen, Zhi-Rong Zhang, Yun-Feng Lin, Preformed albumin corona, a

- protective coating for nanoparticles-based drug delivery system. *Biomaterials*, 34 **(2013)** 8521.
- [204] Qiang Peng, Xue-Qin Wei, Qin Yang, Shu Zhang, Ting Zhang, Xiao-Ru Shao, Xiao-Xiao Cai, Zhi-Rong Zhang & Yun-Feng Lin, Enhanced biostability of nanoparticle-based drug delivery systems by albumin corona. *Nanomedicine (Lond.)*, 10 **(2015)** 205.
- [205] Tan, C., Xie, J., Zhang, X., Cai, J., & Xia, S. Polysaccharide-based nanoparticles by chitosan and gum arabic polyelectrolyte complexation as carriers for curcumin. *Food Hydrocolloids*, 57 **(2016)** 236.
- [206] Winzen S, Schoettler S, Baier G et al. Complementary analysis of the hard and soft protein corona: sample preparation critically effects corona composition. *Nanoscale*, 7 **(2015)** 2992.
- [207] Ritz S, Schottler S, Kotman N et al. Protein corona of nanoparticles: distinct proteins regulate the cellular uptake. *Biomacromolecules*, 16 **(2015)** 1311.
- [208] K. A. Janes, P. Calvo, M. J. Alonso, Polysaccharide colloidal particles as delivery systems for macromolecules. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 47 **(2001)** 83.
- [209] Cai, C.; Bakowsky, U.; Rytting, E.; Schaper, A.K.; Kissel, T. Charged nanoparticles as protein delivery systems: A feasibility study using lysozyme as model protein. *Eur. J. Pharm. Biopharm*, 69 **(2008)** 31.
- [210] Yuzheng Wu, Haifeng Li, Zhouquan Rao, Huaqiang Li, Yan Wu, Jianhao Zhao and Jianhua Rong, Controlled protein adsorption and delivery of thermosensitive poly(N-isopropylacrylamide) nanogels, *J. Mater. Chem. B*, 5 **(2017)** 7974.
- [211] Anand, P., Kunnumakkara, A. B., Newman, R. A., & Aggarwal, B. B. Bioavailability of curcumin: problems and promises. *Molecular Pharmaceutics*, 4 **(2007)** 807.
- [212] S. Moghimi, J. Szebeni, Stealth liposomes and long circulating nanoparticles: critical issues in pharmacokinetics, opsonization and protein-binding properties, *Prog. Lipid Res.* 42 **(2003)** 463.

- [213] A. Gessner, R. Waicz, A. Lieske, B.-R. Paulke, K. Mäder, R. Müller. Nanoparticles with decreasing surface hydrophobicities: influence on plasma protein adsorption, *Int. J. Pharm*, 196 **(2000)** 245.
- [214] F. Schmitt, L. Lagopoulos, P. Käuper, N. Rossi, N. Busso, J. Barge, G. Wagnières, C. Laue, C. Wandrey, L. Juillerat-Jeanneret, Chitosan-based nanogels for selective delivery of photosensitizers to macrophages and improved retention in and therapy of articular joints, *J. Control. Release*, 144 **(2010)** 242.
- [215] K.S. Jaganathan, Y.U. Rao, P. Singh, et al., Development of a single dose tetanustoxoid formulation based on polymeric microspheres: a comparative study of poly(D,L-lactic-co-glycolic acid) versus chitosan microspheres, *Intl. J. Pharm*, 294 **(2005)** 23.
- [216] K.I. Priyadarsini, Photophysics, photochemistry and photobiology of curcumin: studies from organic solutions, bio-mimetics and living cells, *J. Photochem. Photobiol. C Photochem. Rev*, 10 **(2009)** 81.
- [217] Kusonwiriawong C, Lipipun V, Vardhanabhuti N, Zhang Q, Ritthidej GC. Spray-dried chitosan microparticles for cellular delivery of an antigenic protein: physicochemical properties and cellular uptake by dendritic cells and macrophages. *Pharm. Res*, 30 **(2013)** 1677.
- [218] Zeng X, Tao W, Mei L, Huang L, Tan C, Feng SS. Cholic acid-functionalized nanoparticles of star-shaped PLGA– vitamin E TPGS copolymer for docetaxel delivery to cervical cancer. *Biomaterials*, 34 **(2013)** 6058.
- [219] S. Dash, P.N. Murthy, L. Nath, P. Chowdhury, Kinetic modeling on drug release from controlled drug delivery systems, *Acta Pol Pharm*, 67 **(2010)** 217.
- [220] Do, D.Q., Rowe, R.C., York, P., Modelling drug dissolution from controlled release products using genetic programming. *Int. J. Pharm*, 351 **(2008)** 194.
- [221] Costa, P., Lobo, J.M.S., Modeling and comparison of dissolution profiles. *Eur. J. Pharm. Sci*, 13 **(2001)** 123.

- [222] Gibaldi, M., Feldman, S., Establishment of sink conditions in dissolution rate determinations. Theoretical considerations and application to nondisintegrating dosage forms. *J. Pharm. Sci.* 56 **(1967)** 1238.
- [223] Higuchi, W. I., Diffusional models useful in biopharmaceutics. Drug release rate processes. *J. Pharm. Sci.*, 56 **(1967)** 315.
- [224] Hixson, A., Crowell, J., Dependence of reaction velocity upon surface and agitation. *Ind. Eng. Chem.* 23 **(1931)** 1160.
- [225] Korsmeyer, R.W., Gurny, R., Doelker, E., Buri, P., Peppas, N.A. Mechanisms of solute release from porous hydrophilic polymers. *Int. J. Pharm.*, 15 **(1983)** 25.
- [226] Thorne, J. B., Vine, G.J., Snowden, M.J., Microgel applications and commercial considerations, *Colloid and Polymer Science*, 289 **(2011)** 625.
- [227] Ayman M. Atta, Rasha A. M. El-Ghazawy, Reem K. Farag and Shymaa M. Elsaheed Synthesis and characterization of pH-sensitive PAMPS/PVP nanogels in aqueous media *Polym. Adv. Technol*, 22 **(2011)** 732.
- [228] Thomas Swift, Linda Swanson, Mark Geoghegan and Stephen Rimmer. The pH-responsive behaviour of poly(acrylic acid) in aqueous solution is dependent on molar mass, *Soft Matter*, 12 **(2016)** 2542.
- [229] Doi, R., & Kokufuta, E. Conductometric and light scattering studies on the complexation between cationic polyelectrolyte nanogel and anionic polyion. *Langmuir*, 27 **(2010)** 392.
- [230] H. Cai, C. Ni, L. Zhang, Preparation of complex nanoparticles based on alginic acid/poly[(2-dimethylamino) ethyl methacrylate] and a drug vehicle for doxorubicin release controlled by ionic strength, *Eur. J. Pharm. Sci.*, 45 **(2012)** 43.
- [231] W.S. Cheow, K. Hadinoto, Self-assembled amorphous drug-polyelectrolyte nanoparticle complex with enhanced dissolution rate and saturation solubility, *J. Colloid Interface Sci.*, 367 **(2012)** 518.

- [232] Schatz, C.; Lucas, J.M.; Viton, C.; Domard, A.; Pichot, C.; Delair, T. Formation and properties of positively charged colloids based on polyelectrolyte complexes of biopolymers. *Langmuir*, 20 **(2004)** 7766.
- [233] M. Mende, H.-M. Buchhammer, S. Schwarz, G. Petzold, W. Jaeger, The stability of polyelectrolyte complex systems of poly(diallyldimethyl-ammoniumchloride) with different polyanions, *Macromol. Symp*, 211 **(2004)** 121.
- [234] M. Müller, B. Keßler, J. Fröhlich, S. Poeschla, B. Torger, Polyelectrolyte complex nanoparticles of poly(ethyleneimine) and poly (acrylic acid): preparation and applications, *Polymers*, 3 **(2011)** 762.
- [235] K. Krohne, S. Duschner, D. Störkle, M. Schmidt, M. Maskos, topologically controlled inter-polyelectrolyte complexes between molecular bottlebrushes and dendrimers, *Macromolecules*, 43 **(2010)** 8645.
- [236] M. Müller, Sizing, shaping and pharmaceutical applications of polyelectrolyte complex nanoparticles, in: *Polyelectrolyte Complexes in the Dispersed and Solid State II*, Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, 197-260 **(2012)**.
- [237] Sergei V. Raik, Ekaterina R. Gasilova, Natallia V. Dubashynskaya, Anatoliy V. Dobrodumov, Yury A. Skorik. Diethylaminoethyl chitosan–hyaluronic acid polyelectrolyte complexes *International Journal of Biological Macromolecules*, 146 **(2020)** 1161.
- [238] H. Dautzenberg, W. Jaeger, Effect of charge density on the formation and salt stability of polyelectrolyte complexes, *Macromol. Chem. Phys*, 203 **(2002)** 2095.
- [239] H. Dautzenberg, Polyelectrolyte complex formation in highly aggregating systems. 1. Effect of salt: polyelectrolyte complex formation in the presence of NaCl, *Macromolecules*, 30 **(1997)** 7810.
- [240] A. Drogoz, L. David, C. Rochas, A. Domard, T. Delair, Polyelectrolyte complexes from polysaccharides: formation and stoichiometry monitoring, *Langmuir*, 23 **(2007)** 10950.

- [241] Schatz, C.; Domard, A.; Viton, C.; Pichot, C.; Delair, T. Versatile and efficient formation of colloids of biopolymer-based polyelectrolyte complexes. *Biomacromolecules*, 5 (2004) 1882.
- [242] F. Oosawa, *Polyelectrolytes*, Marcel Dekker, New York, 1971.
- [243] X. Feng, R. Pelton, M. Leduc, S. Champ, Colloidal complexes from poly(vinyl amine) and carboxymethyl cellulose mixtures, *Langmuir*, 23 (2007) 2970.
- [244] A. Zintchenko, G. Rother, H. Dautzenberg, Transition highly aggregated complexes soluble complexes via polyelectrolyte exchange reactions: kinetics, structural changes, and mechanism, *Langmuir*, 19 (2003) 2507.
- [245] Wandrey, C.; Hunkeler, D.; Wendler, U.; Jaeger, W. Counterion activity of highly charged strong polyelectrolytes. *Macromolecules*, 33 (2000) 7136.
- [246] N. Karibyants, H. Dautzenberg, Preferential binding with regard to chain length and chemical structure in the reactions of formation of quasi-soluble polyelectrolyte complexes, *Langmuir*, 14 (1998) 4427.
- [247] A. Shovsky, I. Varga, R. Makuška, P.M. Claesson, Formation and stability of water-soluble, molecular polyelectrolyte complexes: effects of charge density, mixing ratio, and polyelectrolyte concentration, *Langmuir*, 25 (2009) 6113.
- [248] D. Fischer, H. Dautzenberg, K. Kunath, T. Kissel, Poly(diallyldimethylammonium chlorides) and their N-methyl-N-vinylacetamide copolymer-based DNA-polyplexes: role of molecular weight and charge density in complex formation, stability, and in vitro activity, *Int. J. Pharm*, 280 (2004) 253.
- [249] Rosiak, J.M., Hydrogel Dressings HDR. In: Clough, R.C., Shalaby, S.W. (Eds.), *Radiation Effects on Polymers*. American Chemical Society, Washington, 271-299 (1991).
- [250] Hart EJ, Gordon S, Thomas J, Rate constants of hydrated electrons with organic compounds. *J Phys Chem*, 68 (1964) 1271.

- [251] Henke, A., Kadlubowski, S., Wolszczak, M., Ulanski, P., Boyko, V., Schmidt, T., Arndt, K.- F., Rosiak, J.M. The structure and aggregation of hydrogen-bonded interpolymer complexes of poly(acrylic acid) with poly(N-vinylpyrrolidone) in dilute aqueous solution. *Macromol. Chem. Phys.* 212 **(2011)** 2529.
- [252] Ulanski, P., Bothe, E., Hildenbrand, K., Rosiak, J.M., von Sonntag, C, Hydroxyl radical-induced reactions of poly(acrylic acid); a pulse radiolysis, EPR and product study. Part I. Deoxygenated aqueous solutions. *J Chem Soc Perkin Trans, 2* **(1996)** 13.
- [253] Matusiak, M.; Kadlubowski, S.; Rosiak, J.M. Nanogels synthesized by radiation-induced intramolecular crosslinking of water-soluble polymers. *Radiat. Phys. Chem*, 169 **(2020)** 108099.
- [254] Ghorbaniazar, P.; Sepehrianazar, A.; Eskandani, M.; Nabi-Mehbodi, M.; Kouhsoltani, M.; Hamishehkar, H. Preparation of PAA-PAAm composite nanogels by radiation technique. *Adv. Pharm. Bull*, 5 **(2015)** 269.
- [255] Matusiak, M., Kadlubowski, S., Ulanski, P. Radiation-induced synthesis of poly (acrylic acid) nanogels. *Radiat. Phys. Chem*, 142 **(2018)** 125.
- [256] He, C., Hu, Y., Yin, L., Tang, C., Yin, C. Effects of particle size and surface charge on cellular uptake and biodistribution of polymeric nanoparticles. *Biomaterials*, 31 **(2010)** 3657.
- [257] F. Luo, T.L. Sun, T. Nakajima, D.R. King, T. Kurokawa, Y. Zhao, A.B. Ihsan, X. Li, H. Guo, J.P. Gong, Strong and Tough Polyion-Complex Hydrogels from oppositely charged polyelectrolytes: a comparative study with polyampholyte hydrogels, *Macromolecules*, 49 **(2016)** 2750.
- [258] A.P. Constantinou, M. Elladiou, C.S. Patrickios, Regular and Inverse Polyampholyte Hydrogels: a detailed comparison, *Macromolecules*, 49 **(2016)** 3869.
- [259] Y.-H. Hsieh, Y.-T. Hsiao, J.-S. Jan, Shell and core cross-linked poly(l-lysine)/poly(acrylic acid) complex micelles, *Soft Matter*, 10 **(2014)** 9568.

- [260] Ajdari N, Vyas C, Bogan SL, Lwaleed BA, Cousins BG. Gold nanoparticle interactions in human blood: a model evaluation. *Nanomed. Nanotechnol. Biol. Med.*, 13 **(2017)** 1531.
- [261] Zolnik BS, Gonzalez-Fernandez A, Sadrieh N, Dobrovolskaia MA. Nanoparticles and the immune system. *Endocrinology*, 151 **(2010)** 458.
- [262] Lundqvist M, Stigler J, Cedervall T, Berggard T, Flanagan MB, Lynch I, et al. The evolution of the protein corona around nanoparticles: a test study. *ACS Nano*, 5 **(2011)** 7503.
- [263] Ying Chen, Xianchuang Zheng, Hanqing Qian, Zhiqing Mao, Dan Ding, and Xiqun Jiang. Hollow Core-Porous Shell Structure Poly(acrylic acid) Nanogels with a Superhigh Capacity of Drug Loading. *ACS applied materials & interfaces*, 12 **(2010)** 3532.
- [264] Kurosch Rezwan, Lorenz P. Meier, Mandana Rezwan, Janos Voros, Marcus Textor, and Ludwig J. Gauckler., Bovine Serum Albumin Adsorption onto Colloidal Al₂O₃ Particles: A New Model Based on Zeta Potential and UV–Vis Measurements, *Langmuir*, 20 **(2004)** 10055.
- [265] D.C. Brigger I, P. Couvreur, Nanoparticles in cancer therapy and diagnosis. *Adv. Drug Delivery Rev*, 54 **(2002)** 631.
- [266] Anand, P., Kunnumakkara, A. B., Newman, R. A., & Aggarwal, B. B. Bioavailability of curcumin: problems and promises. *Molecular Pharmaceutics*, 4 **(2007)** 807.
- [267] Chacko, R. T., Ventura, J., Zhuang, J., & Thayumanavan, S. Polymer nanogels: a versatile nanoscopic drug delivery platform. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 64 **(2012)** 836.
- [268] Gessner, A., Waicza, R., Lieske, A., Paulke, B. R., Mader, K., & Muller, R. H. Nanoparticles with decreasing surface hydrophobicities: Influence on plasma protein adsorption. *International Journal of Pharmaceutics*, 196 **(2000)** 245.
- [269] Peppas, N.A. Analysis of Fickian and Non Fickian Drug Release from Polymers. *Pharmaceutical Acta Helvetiae*, 60 **(1985)** 110.

- [270] Aucoin, H.R.; Wilson, A.N.; Wilson, A.M.; Ishihara, K.; Guiseppi-Elie, A. Release of Potassium Ion and Calcium Ion from Phosphorylcholine Group Bearing Hydrogels. *Polymers*, 5 (2013) 1241.



EKLER

EK 1 - Tezden Türetilmiş Yayınlar

- 1) **Mohammadreza Ghaffarlou**, S Duygu Sütekin, Olgun Güven. Preparation of nanogels by radiation-induced cross-linking of interpolymer complexes of poly (acrylic acid) with poly (vinyl pyrrolidone) in aqueous medium. Radiation Physics and Chemistry, 142 **(2018)** 130.
- 2) Thitirat Rattanawongwiboon, **Mohammadreza Ghaffarlou**, S Duygu Sütekin, Wanvimol Pasanphan, Olgun Güven. Preparation of multifunctional poly (acrylic acid)-poly (ethylene oxide) nanogels from their interpolymer complexes by radiation-induced intramolecular crosslinking. Colloid and Polymer Science, 296 **(2018)**1599.