

**T.C.  
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**POLİKATYONİK HİDROJELLERİN SENTEZİ, KARAKTERİZASYONU  
VE ANTİMİKROBİYAL ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

**ARZU PALANTÖKEN**

**DOKTORA TEZİ  
KİMYA MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI  
KİMYA MÜHENDİSLİĞİ PROGRAMI**

**DANIŞMAN  
PROF. DR. SABRİYE PİŞKİN**

**İSTANBUL, 2015**

T.C.  
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**POLİKATYONİK HİDROJELLERİN SENTEZİ, KARAKTERİZASYONU VE  
ANTİMİKROBİYAL ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

Arzu PALANTÖKEN tarafından hazırlanan tez çalışması 19.11.2015 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı'nda **DOKTORA TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

**Tez Danışmanı**

Prof. Dr. Sabriye PİŞKİN  
Yıldız Teknik Üniversitesi

**Tez Eş Danışmanı**

Prof. Dr. Tarık EREN  
Yıldız Teknik Üniversitesi

**Jüri Üyeleri**

Prof. Dr. Sabriye PİŞKİN  
Yıldız Teknik Üniversitesi

Prof. Dr. Tarık EREN  
Yıldız Teknik Üniversitesi

Prof. Dr. Mualla ÖNER  
Yıldız Teknik Üniversitesi

Prof. Dr. Saadet PABUCCUOĞLU  
İstanbul Üniversitesi

Prof. Dr. Serdar YAMAN  
İstanbul Teknik Üniversitesi

Prof. Dr. Gamze GÜÇLÜ  
İstanbul Üniversitesi

Yrd. Doç. Dr. Emek MÖRÖYDOR DERUN  
Yıldız Teknik Üniversitesi















Bu alışma, Yıldız Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'nün 2013-07-01-KAP04 numaralı projesi ile desteklenmiştir.

## ÖNSÖZ

---

Akademik ve çalışma hayatımda, attığım her adımda ilk günden beri bilgi birikiminden, önerilerinden ve rehberliğinden yararlandığım yaratıcı düşünceleriyle bana yol gösteren; çalışmamda her türlü olanağı gösteren kıymetli hocam Prof.Dr. Sabriye PİŞKİN'e sonsuz teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım. Doktora tez çalışmalarımda önerilerinden ve rehberliğinden yararlandığım değerli hocam Prof.Dr. Tarık EREN'e sonsuz teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım.

Doktora tezimin hazırlanma aşamasındaki desteklerinden ve kıymetli yardımlarından dolayı hocalarım Prof.Dr. Serdar YAMAN ve Prof.Dr. Mualla ÖNER'e teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım. Doktora tez çalışmalarımda her aşamasında gerek bilgi ve tecrübesiyle, gerek dostluk ve arkadaşlığı ile yanımda olan arkadaşım Arş. Gör.Dr. Müge SARI YILMAZ'a teşekkürlerimi ve sevgilerimi sunarım.

Tezimin yazılması ve hazırlanması aşamasındaki yardımlarından ötürü Doç.Dr. Mehmet Burçin PİŞKİN'e, Yrd. Doç.Dr. Emek MÖRÖYDOR DERUN'a ve Yrd. Doç.Dr. Nurcan TUĞRUL'a, Arş.Gör.Dr. Özgül DERE ÖZDEMİR'e, Arş.Gör.Dr. Aysel KANTÜRK FİGEN'e, Arş.Gör.Dr. A. Seyhun KIPÇAK'a, Kimya Yüksek Mühendisi Nevin KARAMAHMUT'a, Yüksek Kimyager Esra Altay'a ve Kimya Mühendisliği bölüm öğrencileri Şule Kurt ile Suheyl Ertürk'e çok teşekkür ederim. Deneysel çalışmamda kullandığım şekilleri düzenleyen arkadaşım Behlül ÇUHALI'ya, antimikrobiyal etkinlik çalışmalarımı gerçekleştiren Doç.Dr. Melda Altıkatoğlu YAPAÖZ ve Öğr.Gör. Nihan ÜNÜBOL'a, toksikoloji çalışmalarımı yürüten Yüksek Kimyager Elçin YENİGÜL'e teşekkürlerimi sunarım.

Beni bugünlere getiren, yaşamım boyunca sabır ve hoşgörü ile yaklaşarak beni daima destekleyen sevgili babam Nevzat PALANTÖKEN, annem Belkise PALANTÖKEN ile kardeşlerim ve eşlerine sonsuz teşekkürlerimi ve sevgilerimi sunarım.

Yıldız Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje Koordinatörlüğü'ne (Proje no: 2013-07-01-KAP04) sağladığı maddi destekten dolayı şükranlarımı sunarım.

Kasım, 2015

Arzu PALANTÖKEN

## İÇİNDEKİLER

|                                                                                      | Sayfa |
|--------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| SİMGE LİSTESİ .....                                                                  | viii  |
| KISALTMA LİSTESİ .....                                                               | x     |
| ŞEKİL LİSTESİ.....                                                                   | xiii  |
| ÇİZELGE LİSTESİ .....                                                                | xivv  |
| ÖZET .....                                                                           | xv    |
| ABSTRACT .....                                                                       | xvii  |
| BÖLÜM 1                                                                              |       |
| GİRİŞ .....                                                                          | 1     |
| 1.1    Literatür Özeti .....                                                         | 1     |
| 1.2    Tezin Amacı .....                                                             | 5     |
| 1.3    Hipotez .....                                                                 | 5     |
| BÖLÜM 2                                                                              |       |
| BAKTERİLER ve ENFEKSİYON .....                                                       | 8     |
| 2.1    Bakteriler .....                                                              | 8     |
| 2.2    Enfeksiyon .....                                                              | 10    |
| 2.3    Sterilizasyonda Kullanılan Metotlar .....                                     | 12    |
| BÖLÜM 3                                                                              |       |
| ANTİMİKROBİYAL HİDROJELLER .....                                                     | 14    |
| 3.1    Hidrojellerin İçeriklere Göre Sınıflandırılması .....                         | 15    |
| 3.1.1    Antimikrobiyal Polimer İçerikli Hidrojeller .....                           | 15    |
| 3.1.2    Yüzey Aktif Madde ve Yağ İçerikli Hidrojeller .....                         | 18    |
| 3.1.3    Metal ve Metal Oksit NPs İçerikli Hidrojeller .....                         | 18    |
| 3.1.4    Antiviral ve Antimikrobiyal Bileşiklere ve İlaçlara Sahip Hidrojeller ..... | 20    |
| 3.1.5    Peptit İçerikli Hidrojeller .....                                           | 20    |
| 3.2    Hidrojeller ve Biyouyumluluk .....                                            | 21    |

## BÖLÜM 4

|                                                   |    |
|---------------------------------------------------|----|
| ROMP (HALKA AÇILMA METATEZ POLİMERİZASYONU) ..... | 22 |
| 4.1 Kontrollü Polimerizasyon .....                | 22 |
| 4.2 Olefin Metatez Polimerizasyonu.....           | 23 |
| 4.2.1 Asiklik Dien Metatez Polimerizasyonu .....  | 23 |
| 4.2.2 Halka-Açılma Metatez Polimerizasyonu.....   | 24 |
| 4.2.2.1 Yaşayan ROMP için Katalizörler .....      | 26 |

## BÖLÜM 5

|                                                                                                                                                                 |    |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| DENEYSEL ÇALIŞMALAR .....                                                                                                                                       | 28 |
| 5.1 Kimyasal Malzemeler .....                                                                                                                                   | 29 |
| 5.2 Enstrümantal Analiz Cihazları .....                                                                                                                         | 31 |
| 5.2.1 Nükleer Manyetik Rezonans Spektroskopisi (NMR).....                                                                                                       | 31 |
| 5.2.2 Fourier Transform Infrared (Kızılötesi) Spektrometresi (FTIR).....                                                                                        | 32 |
| 5.2.3 İndüktif Eşleşmiş Plazma Optik Emisyon Spektrometresi (ICP/OES). 32                                                                                       |    |
| 5.2.4 Diferansiyel Termal Analiz/Termogravimetri Cihazı (DTA/TG) .....                                                                                          | 33 |
| 5.2.5 X-Işınları Difraktometresi (XRD).....                                                                                                                     | 33 |
| 5.2.6 UV-VIS Spektrofotometre.....                                                                                                                              | 33 |
| 5.2.7 İnce Tabaka Kromatografisi (TLC) .....                                                                                                                    | 33 |
| 5.2.8 Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM).....                                                                                                                   | 34 |
| 5.2.9 Liyofilizatör .....                                                                                                                                       | 34 |
| 5.3 Ekipmanlar .....                                                                                                                                            | 34 |
| 5.3.1 254 ve 300 nm Lambalı Fotoreaktör Cihazı .....                                                                                                            | 34 |
| 5.3.2 Fotoreaktör Cam Tüpler .....                                                                                                                              | 35 |
| 5.4 DeneySEL Yöntemler .....                                                                                                                                    | 35 |
| 5.4.1 ROMP Polimeri ve ROMP Jel X Üretimi, Karakterizasyonu, Antimikrobiyal Etkinlik ve Toksikoloji Çalışmaları.....                                            | 35 |
| 5.4.1.1 Monomer Sentezi.....                                                                                                                                    | 35 |
| 5.4.1.2 ROMP Polimer (Teorik molekül ağırlığı 10,000 g/mol) Sentezi ...                                                                                         | 37 |
| 5.4.1.3 ROMP Jel Üretimi .....                                                                                                                                  | 38 |
| 5.4.1.4 ROMP Jel Antibakteriyal Etkinlik Çalışması .....                                                                                                        | 39 |
| 5.4.1.5 ROMP Jel in Vitro Toksisite Çalışması .....                                                                                                             | 39 |
| 5.4.2 UV ile Kürleşebilen Katyonik $Q_{UV}$ -PEI Polimeri, $Q_{UV}$ -PEI-Jel Üretimi, Karakterizasyonu, Antimikrobiyal Etkinlik ve Toksikoloji Çalışmaları..... | 41 |
| 5.4.2.1 UV ile Kürleşebilen Katyonik ve Metakril Fonksiyonlu Polietilenimin Sentezi ve Karakterizasyonu.....                                                    | 41 |
| 5.4.2.2 $Q_{UV}$ -PEI-Jel Üretimi ve Karakterizasyonu .....                                                                                                     | 42 |
| 5.4.2.3 $Q_{UV}$ -PEI-Jel Antibakteriyal Etkinlik Çalışması .....                                                                                               | 43 |
| 5.4.2.4 $Q_{UV}$ -PEI-Jel Toksisite Çalışması.....                                                                                                              | 44 |
| 5.4.3 Hidrojel Yüzeylerindeki Katyonik Grupların Tayini .....                                                                                                   | 44 |
| 5.4.4 Hidrojellerin Şişme Testleri.....                                                                                                                         | 44 |
| 5.4.5 Derek Nexus Programı ile Öngörülü Toksisite Çalışması .....                                                                                               | 45 |
| 5.4.6 İstatiksel Değerlendirmeler .....                                                                                                                         | 45 |

## BÖLÜM 6

|                                                                                                                                                                                  |     |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| DENEYSEL SONUÇLAR .....                                                                                                                                                          | 47  |
| 6.1 ROMP Polimeri ve ROMP Jel X Üretimi, Karakterizasyonu, Antimikrobiyal Etkinlik ve Toksikoloji Çalışmaları .....                                                              | 47  |
| 6.1.1 ROMP Esaslı Monomer ve Polimerlerin Sentez ve Karakterizasyonu                                                                                                             | 47  |
| 6.1.2 ROMP Jel Üretimi .....                                                                                                                                                     | 52  |
| 6.1.3 ROMP Jel Karakterizasyonu .....                                                                                                                                            | 54  |
| 6.1.3.1 FT-IR Analizi .....                                                                                                                                                      | 54  |
| 6.1.3.2 Şişme Testi .....                                                                                                                                                        | 55  |
| 6.1.3.3 SEM Analizi .....                                                                                                                                                        | 58  |
| 6.1.3.4 Katyonik Grup Tayini .....                                                                                                                                               | 60  |
| 6.1.4 ROMP Jel Antimikrobiyal Etkinlik Sonuçları .....                                                                                                                           | 61  |
| 6.1.5 ROMP Jel Toksikoloji Çalışmaları .....                                                                                                                                     | 65  |
| 6.1.5.1 ROMP Polimeri Toksikoloji Tahmin Çalışması .....                                                                                                                         | 72  |
| 6.2 UV ile kürleşebilen katyonik Q <sub>UV</sub> -PEI Polimeri ve Q <sub>UV</sub> -PEI-Jel X Üretimi, Karakterizasyonu, Antimikrobiyal Etkinlik ve Toksikoloji Çalışmaları ..... | 73  |
| 6.2.1 UV ile Kürleşebilen Katyonik Q <sub>UV</sub> -PEI Polimer Üretimi .....                                                                                                    | 73  |
| 6.2.2 UV ile Kürleşebilen Katyonik Q <sub>UV</sub> -PEI Polimer Karakterizasyonu .....                                                                                           | 75  |
| 6.2.2.1 FT-IR Analizi .....                                                                                                                                                      | 75  |
| 6.2.2.2 NMR Analizi .....                                                                                                                                                        | 76  |
| 6.2.3 Q <sub>UV</sub> -PEI-Jel Üretimi .....                                                                                                                                     | 77  |
| 6.2.4 Q <sub>UV</sub> -PEI-Jel Karakterizasyonu .....                                                                                                                            | 79  |
| 6.2.4.1 FT-IR Analizi .....                                                                                                                                                      | 79  |
| 6.2.4.2 Şişme Testi .....                                                                                                                                                        | 80  |
| 6.2.4.3 SEM Analizi .....                                                                                                                                                        | 83  |
| 6.2.4.4 Katyonik Grup Tayini .....                                                                                                                                               | 83  |
| 6.2.4.5 TG/DTG Analizi .....                                                                                                                                                     | 85  |
| 6.2.4.6 ICP-OES Analizi .....                                                                                                                                                    | 86  |
| 6.2.4.7 XRD Analizi .....                                                                                                                                                        | 87  |
| 6.2.5 Q <sub>UV</sub> -PEI-Jel Antimikrobiyal Etkinlik Sonuçları .....                                                                                                           | 88  |
| 6.2.6 Q <sub>UV</sub> -PEI-Jel Toksikoloji Çalışması .....                                                                                                                       | 94  |
| 6.2.6.1 Q <sub>UV</sub> -PEI Esaslı Polimerin Toksikoloji Tahmin Çalışması .....                                                                                                 | 99  |
| BÖLÜM 7                                                                                                                                                                          |     |
| GENEL SONUÇLAR VE TARTIŞMALAR .....                                                                                                                                              | 101 |
| KAYNAKLAR .....                                                                                                                                                                  | 109 |
| ÖZGEÇMİŞ .....                                                                                                                                                                   | 124 |

## SİMGE LİSTESİ

---

|                   |                                                      |
|-------------------|------------------------------------------------------|
| Ag                | Gümüş                                                |
| AgNO <sub>3</sub> | Gümüş nitrat                                         |
| Au                | Altın                                                |
| °C                | Santigrat derece                                     |
| CeO <sub>2</sub>  | Seryum dioksit                                       |
| CDCl <sub>3</sub> | Döteryumlu kloroform                                 |
| CdS <sub>2</sub>  | Kadmiyum disülfid                                    |
| CH <sub>3</sub> I | Metil iyodür                                         |
| cm                | Santimetre                                           |
| CO <sub>2</sub>   | Karbondioksit                                        |
| dk                | Dakika                                               |
| g                 | Gram                                                 |
| HCl               | Hidroklorik asit                                     |
| HNO <sub>3</sub>  | Nitrik asit                                          |
| kV                | Kilovolt                                             |
| L                 | Litre                                                |
| mA                | Mili amper                                           |
| M <sub>A</sub>    | Molekül ağırlığı                                     |
| McF               | Mikrobiyal yakıt hücresi (microbial fuel cell)       |
| mg                | Miligram                                             |
| ml                | Mililitre                                            |
| mmol              | Milimol                                              |
| MoO <sub>3</sub>  | Molibden trioksit                                    |
| µL                | Mikro litre                                          |
| N <sub>2</sub>    | Azot gazı                                            |
| nm                | Nanometre                                            |
| σ <sub>M</sub>    | Ortalamanın standart hatası (standart error of mean) |
| t                 | Zaman                                                |
| TiO <sub>2</sub>  | Titanyum dioksit                                     |
| V                 | Volt                                                 |
| W                 | Watt                                                 |
| WCl <sub>6</sub>  | Tungsten heksaklorür                                 |
| WOCl <sub>4</sub> | Tungsten oksitetraklorür                             |

|     |              |
|-----|--------------|
| ZnO | Çinko oksit  |
| ZnS | Çinko sülfür |

## KISALTMA LİSTESİ

|                   |                                                                                                                                                                                                                                               |
|-------------------|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| AAm               | Akrilamid                                                                                                                                                                                                                                     |
| AB                | Avrupa Birliği                                                                                                                                                                                                                                |
| ABD               | Amerika Birleşik Devletleri                                                                                                                                                                                                                   |
| ACOM              | 3- (akriloiloksi) -2-hidroksipropil metakrilat                                                                                                                                                                                                |
| AMP               | Antimikrobiyal Peptid                                                                                                                                                                                                                         |
| APS               | Amonyum Persulfat                                                                                                                                                                                                                             |
| BAAm              | N’N’ Metilenbisakrilamid                                                                                                                                                                                                                      |
| CAE               | Keçi Arthritis ve Ensefalitisi (Caprine Arthritis Encephalitis)                                                                                                                                                                               |
| CDC               | Amerikan Hastalıkları Kontrol ve Önleme Merkezi (Centers Disease Prevention and Control)                                                                                                                                                      |
| CFU               | Koloni Oluşturan Birim (Colony Forming Units)                                                                                                                                                                                                 |
| <i>C.albicans</i> | <i>Candida albicans</i>                                                                                                                                                                                                                       |
| DABCO             | 1.4-Diazobisiklo[2.2.2]oktan                                                                                                                                                                                                                  |
| DMEM              | Dulbecco’ nun Modified Eagle Ortamı (Dulbecco’s Modified Engle’s Medium)                                                                                                                                                                      |
| DMSO              | Dimetilsülfoksit                                                                                                                                                                                                                              |
| DTA/TG            | Diferansiyel Termal Analiz/Termogravimetri                                                                                                                                                                                                    |
| <i>E.coli</i>     | <i>Escherichia coli</i>                                                                                                                                                                                                                       |
| FBS               | Fötal Dana Serum (Fetal Bovine Serum)                                                                                                                                                                                                         |
| FTIR              | Fourier Dönüşümlü Infrared Spektrometresi (Fourier Transform Infrared Spectroscopy)                                                                                                                                                           |
| GTI               | Genotoksik Safsızlık (Genotoxic Impurities)                                                                                                                                                                                                   |
| HUVEC             | İnsan Göbek Kordon ven Endotel Hücre Kültürü (Human Umbilical Vein Endothelial Cells)                                                                                                                                                         |
| ICH               | İnsanda Kullanılan İlaçların Ruhsatlandırılması için Teknik Gerekliliklerin Uyumlandırılması Uluslararası Birliği (The International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use) |
| ICP/OES           | İndüktif Eşleşmiş Plazma-Optik Emisyon Spektrometresi (Inductively Coupled Plasma Optical Emission Spectrometry)                                                                                                                              |
| IPN               | İç içe Geçmiş Ağ Yapılı Polimerler (Interpenetrating Polymer Network)                                                                                                                                                                         |
| MBA               | N,N-Metilenbisakrilamid                                                                                                                                                                                                                       |
| MTS               | Tetrazolyum Tuzu                                                                                                                                                                                                                              |

|                 |                                                                                              |
|-----------------|----------------------------------------------------------------------------------------------|
| MRSA            | Metisilin Dirençli Staphylococcus Aureus                                                     |
| NMR             | Nükleer Manyetik Rezonans                                                                    |
| NNIS            | Hastane Enfeksiyonları Surveyans Sistemi (National Nosocomial Infection Surveillance System) |
| NP              | Nanopartikül                                                                                 |
| NPs             | Nanopartiküller                                                                              |
| PAM             | Poli(akrilamid)                                                                              |
| PBS             | Fosfat Tampon Çözeltisi                                                                      |
| ORT             | Fosfat Tampon Çözeltisi                                                                      |
| PD              | Polimerizasyon Derecesi                                                                      |
| PDI             | Polidispersite İndeksi                                                                       |
| PEGDA           | Poli(etilen glikol) Diakrilat                                                                |
| PEI             | Polietilenimin                                                                               |
| PMS             | Fenazin Metosülfat                                                                           |
| PVA             | Polivinil Alkol                                                                              |
| PVP             | Polivinil Prolidon                                                                           |
| QACs            | Kuaterner Amonyum Bileşikleri (Quaternary Ammonium Compounds)                                |
| ROMP            | Halka Açılma Metatez Polimerizasyonu (Ring Opening Metathesis Polymerization)                |
| <i>S.aureus</i> | Staphylococcus aureus                                                                        |
| SEM             | Taramalı Elektron Mikroskobu (Scanning Electron Microscope)                                  |
| TEMED           | <i>N,N,N',N'</i> -Tetrametiletildiamin                                                       |
| THF             | Tetrahidrofuran                                                                              |
| TLC             | İnce Tabaka Kromatografisi (Thin-layer Chromatography)                                       |
| TMS             | Tetrametilsilan                                                                              |
| XRD             | X-Ray Diffraction (X-Işını Difraksiyonu)                                                     |

## ŞEKİL LİSTESİ

|                                                                                                                        | Sayfa |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| Şekil 2. 1 Gram pozitif prokaryot hücre yapısı .....                                                                   | 8     |
| Şekil 2. 2 Gram pozitif ve negatif bakterilerin farklı hücre duvarı yapıları.....                                      | 9     |
| Şekil 2. 3 Sterilizasyon yöntemlerinin sınıflandırılması .....                                                         | 12    |
| Şekil 3. 1 Çapraz bağlı hidrojel yapısı .....                                                                          | 14    |
| Şekil 3. 2 Antimikrobiyal polimerlerin genel çalışma prensipleri.....                                                  | 16    |
| Şekil 4. 1 Olefin metatez polimerizasyonu şematik gösterimi .....                                                      | 23    |
| Şekil 4. 2 Asiklik dien metatez reaksiyonu .....                                                                       | 24    |
| Şekil 4. 3 Asiklik dien metatez polimerizasyonu reaksiyon mekanizması.....                                             | 24    |
| Şekil 4. 4 ROMP reaksiyon mekanizması genel örneği.....                                                                | 25    |
| Şekil 4. 5 Tipik ROMP reaksiyonunun genel mekanizması .....                                                            | 26    |
| Şekil 4. 6 Rutenyum esaslı katalistler .....                                                                           | 27    |
| Şekil 5. 1 Rayonet merry-go round tipi UV-Fotoraktör cihazı .....                                                      | 35    |
| Şekil 5. 2 Hücre proliferasyon sitotoksosite deneyi kiti-CCK-8 şematik gösterimi.....                                  | 40    |
| Şekil 6. 1 Çalışma kapsamında gerçekleştirilen ROMP monomer ve polimerlerin sentez şeması .....                        | 48    |
| Şekil 6. 2 ROMP esaslı katyonik polimerin FTIR spektrumu .....                                                         | 50    |
| Şekil 6. 3 Dabco-okzanorbornen monomeri ve polimerinin <sup>1</sup> H NMR spektrum.....                                | 51    |
| Şekil 6. 4 ROMP jel oluşumunun şematik gösterimi .....                                                                 | 53    |
| Şekil 6. 5 Katyonik polimer (ROMP) esaslı bazı hidrojellerin görüntüsü.....                                            | 53    |
| Şekil 6. 6 ROMP hidrojellerin karşılaştırmalı FT-IR spektrumu. ....                                                    | 54    |
| Şekil 6. 7 ROMP hidrojellerinin şişme özelliklerinin zamanla değişimi .....                                            | 55    |
| Şekil 6. 8 Romp hidrojellerinin şişme sonrası görüntüleri. ....                                                        | 57    |
| Şekil 6. 9 Su tutma testi sonucu parçalanmış ROMP hidrojellerinin görüntüleri. ....                                    | 57    |
| Şekil 6. 10 Romp hidrojellere ait farklı büyütmelerde elde edilmiş SEM görüntüleri. .                                  | 59    |
| Şekil 6. 11 ROMP hidrojellerin antimikrobiyal etkinlik analizleri için hazırlanan bazı numunelere ait görüntüler. .... | 61    |
| Şekil 6. 12 ROMP hidrojellerin mikroorganizmalara karşı % ölüm histogramı (1.grup)                                     | 62    |
| Şekil 6. 13 ROMP hidrojellerin mikroorganizmalara karşı % ölüm histogramı (2.grup)                                     | 64    |
| Şekil 6. 14 ROMP hidrojellerin mikroorganizmalara karşı etkinlik görüntüleri. ....                                     | 64    |
| Şekil 6. 15 Farklı konsantrasyonlara karşılık ROMP hidrojellerinin 24 saat sonundaki MTS grafikleri .....              | 67    |
| Şekil 6. 16 Farklı konsantrasyonlara karşılık ROMP hidrojellerinin 72 saat sonundaki MTS grafikleri .....              | 70    |

|             |                                                                                                                                      |    |
|-------------|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Şekil 6. 17 | Toksikoloji ve mutajenite tahmini yapılan ROMP esaslı katyonik polimerlerdeki tekrarlanabilir kısmın (monomer) kimyasal yapısı ..... | 72 |
| Şekil 6. 18 | PEI' in UV ve katyonik fonksiyonel hale getirilmesi .....                                                                            | 74 |
| Şekil 6. 19 | Karşılaştırmalı FTIR spektrumları .....                                                                                              | 75 |
| Şekil 6. 20 | UV ile kürleşebilen katyonik PEI polimerinin <sup>1</sup> H NMR spektrumu .....                                                      | 76 |
| Şekil 6. 21 | Q <sub>UV</sub> -PEI-Jel oluşumunun şematik gösterimi. ....                                                                          | 77 |
| Şekil 6. 22 | Fotobaşlatıcılı polimerizasyon ile hazırlanan hidrojellerin görüntüleri .....                                                        | 79 |
| Şekil 6. 23 | Fotobaşlatıcılı hidrojellerin karşılaştırmalı FTIR spektrumları. ....                                                                | 80 |
| Şekil 6. 24 | Q <sub>UV</sub> -PEI-Jel'lerinin şişme özelliklerinin zamanla değişimi .....                                                         | 81 |
| Şekil 6. 25 | Q <sub>UV</sub> -PEI-Jel'lerinin şişme testi sonrası görüntüleri.....                                                                | 82 |
| Şekil 6. 26 | Su tutma testinde parçalanmış Q <sub>UV</sub> -PEI-Jel'lerine ait görüntüler.....                                                    | 83 |
| Şekil 6. 27 | Q <sub>UV</sub> -PEI-Jel'lerin farklı büyütme ve operasyon modlarında elde edilmiş SEM görüntüleri. ....                             | 84 |
| Şekil 6. 28 | Q <sub>UV</sub> -PEI-Jel'lere ait termal analiz eğrileri .....                                                                       | 85 |
| Şekil 6. 29 | UV ile kürleşebilen katyonik Q <sub>UV</sub> -PEI polimerinin termal analiz eğrisi .....                                             | 86 |
| Şekil 6. 30 | Q <sub>UV</sub> -PEI-Jel 4'ün XRD analiz diyagramı .....                                                                             | 87 |
| Şekil 6. 31 | Kontrol hidrojeline ait XRD diyagramı .....                                                                                          | 88 |
| Şekil 6. 32 | Q <sub>UV</sub> -PEI-Jel'lerin antimikrobiyal etkinlik analizleri için hazırlanan numunelere ait görüntüler .....                    | 89 |
| Şekil 6. 33 | Q <sub>UV</sub> -PEI-Jel'lerinin <i>E.coli</i> ve <i>S.aureus'</i> a karşı antimikrobiyal etkinlik histogramları. ....               | 91 |
| Şekil 6. 34 | Q <sub>UV</sub> -PEI-Jel'lerinin antimikrobiyal etkinlik görüntüleri. ....                                                           | 92 |
| Şekil 6. 35 | Kontrol (soldaki), Q <sub>UV</sub> -PEI-Jel 2 (sağdaki) ve Q <sub>UV</sub> -PEI-Jel 4 (ortadaki) jellere ait görüntüler. ....        | 92 |
| Şekil 6. 36 | Kontrol (soldaki), Q <sub>UV</sub> -PEI-Jel 4 (sağdaki) jellerine ait görüntüler. ....                                               | 93 |
| Şekil 6. 37 | Farklı konsantrasyonlara karşılık Q <sub>UV</sub> -PEI-Jel'lerinin 24 saat sonundaki MTS grafikleri .....                            | 95 |
| Şekil 6. 38 | Farklı konsantrasyonlara karşılık Q <sub>UV</sub> -PEI-Jel'lerinin 72 saat sonundaki MTS grafikleri .....                            | 97 |
| Şekil 6. 39 | Toksikoloji ve mutajenisite tahmini gerçekleştirilen Q <sub>UV</sub> -PEI polimerdeki kimyasal yapılar.....                          | 99 |

## ÇİZELGE LİSTESİ

|                                                                                                                                                                   | Sayfa |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------|
| Çizelge 5.1 Kimyasal malzemeler ve genel özellikleri.....                                                                                                         | 29    |
| Çizelge 5.2 ICP-OES cihazının çalışma koşulları .....                                                                                                             | 32    |
| Çizelge 6. 1 ROMP esaslı hidrojellerin içerikleri .....                                                                                                           | 52    |
| Çizelge 6. 2 ROMP esaslı hidrojellerin içerikleri ile % şişme değerlerinin karşılaştırmalı verileri .....                                                         | 56    |
| Çizelge 6. 3 ROMP esaslı hidrojellerin mikroorganizmalara karşı % ölüm değerleri (grup 1).....                                                                    | 62    |
| Çizelge 6. 4 ROMP esaslı hidrojellerin mikroorganizmalara karşı % ölüm değerleri (grup 2).....                                                                    | 63    |
| Çizelge 6. 5 Farklı konsantrasyonlardaki ROMP esaslı hidrojellerin 24 saat sonundaki ortalama % hücre canlılık ve ortalama standart hata değerleri .....          | 66    |
| Çizelge 6. 6 ROMP Jel içeriklerinin 24 saat sonundaki ortalama % hücre canlılık değerleri ile karşılaştırılması .....                                             | 68    |
| Çizelge 6. 7 Farklı konsantrasyonlardaki ROMP esaslı hidrojellerin 72 saat sonundaki ortalama % hücre canlılık ve ortalama standart hata değerleri .....          | 69    |
| Çizelge 6. 8 ROMP jel içeriklerinin 72 saat sonundaki ortalama % hücre canlılık değerleri ile karşılaştırılması .....                                             | 71    |
| Çizelge 6. 9 $Q_{UV}$ -PEI-Jel hidrojel formülasyon içerikleri .....                                                                                              | 78    |
| Çizelge 6. 10 $Q_{UV}$ -PEI-Jel'lerin formülasyon içerikleri ile % şişme değerlerinin karşılaştırmalı verileri .....                                              | 82    |
| Çizelge 6. 11 $Q_{UV}$ -PEI-Jel'lerinin karşılaştırmalı MIC zone çapları .....                                                                                    | 89    |
| Çizelge 6. 12 $Q_{UV}$ -PEI-Jel'lerinin E.coli ve S.aureus'a karşı % ölüm değerleri .....                                                                         | 90    |
| Çizelge 6. 13 Farklı konsantrasyonlardaki karşılık $Q_{UV}$ -PEI-Jel'lerinin 24 saat sonundaki ortalama %hücre canlılık ve ortalama standart hata değerleri ..... | 94    |
| Çizelge 6. 14 $Q_{UV}$ -PEI-Jel içeriklerinin 24 saat sonundaki ortalama % hücre canlılık değerleri ile karşılaştırılması .....                                   | 95    |
| Çizelge 6. 15 Farklı konsantrasyonlardaki $Q_{UV}$ -PEI-Jel'lerinin 72 saat sonundaki ortalama % hücre canlılık ve ortalama standart hata değerleri .....         | 96    |
| Çizelge 6. 16 $Q_{UV}$ -PEI-Jel içeriklerinin 72 saat sonundaki ortalama % hücre canlılık değerleri ile karşılaştırılması .....                                   | 98    |

**POLİKATYONİK HİDROJELLERİN SENTEZİ, KARAKTERİZASYONU VE  
ANTİMİKROBİYAL ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

Arzu PALANTÖKEN

Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı

Doktora Tezi

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Sabriye PİŞKİN

Eş Danışman: Prof. Dr. Tarık EREN

Günümüzde sağlık problemlerinin önemli bir kısmını enfeksiyonlar oluşturmaktadır. Bu nedenle yeni antimikrobiyal malzemelerin sentezlenmesi için çok çeşitli çalışmalar yapılmaktadır. Ayrıca, bu malzemelerin modifikasyonunda, antimikrobiyal özellik gösteren ancak düşük toksisiteye sahip malzemelerin sentezi önem kazanmaktadır.

Bu tez çalışması kapsamında, iki farklı üretim yöntemine göre hidrojel grupları belirlenmiştir. Birinci grup hidrojel formülasyonunda, ROMP esaslı katyonik polimer kullanılmıştır. Su bazlı hidrojeller, serbest radikal polimerizasyon yöntemi kullanılarak Akrilamid (AAM), N'N' Metilenbisakrilamid (BAAM), Polietilen glikol diakrilat (PEGDA) ve Halka Açılma Metatez Polimerizasyonu (ROMP) polimerlerinin farklı oranlarda karıştırılması ile elde edilmişlerdir.

İkinci grup hidrojellerin üretiminde, antimikrobiyal özellik gösteren katyonik Polietilenimin (PEI) ve gümüş nitrat ( $\text{AgNO}_3$ ) kullanılmış ve sinerjistik (çift yönlü) etkileri incelenmiştir. Bu çalışmanın ilk bölümünde PEI, UV ile küreleşebilen yapıya dönüştürülerek metil iyodür ile katyonik gruplar elde edilmiştir. Hidrojeller, fotopolimerizasyon yöntemi kullanılarak UV ile küreleşebilen PEI,  $\text{AgNO}_3$ , AAM ve BAAM'ın belli formülasyonlarda kullanılması ile UV başlatıcı varlığında hazırlanmıştır.

Sentezlenen hidrojellerin karakterizasyonları, antimikrobiyal etkinlik ve in vitro toksisite çalışmaları yapılarak gerçekleştirilmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Hastane enfeksiyonu, ROMP, katyonik polimer, antimikrobiyal hidrojel.

## ABSTRACT

---

### SYNTHESIS, CHARACTERIZATION AND INVESTIGATION OF ANTIMICROBIAL EFFECT OF POLYCATIONIC HYDROGELS

Arzu PALANTÖKEN

Department of Chemical Engineering

Ph.D. Thesis

Adviser: Prof. Dr.Sabriye PİŞKİN

Co-Adviser: Prof. Dr. Tarık EREN

Nowadays infections constitute a significant portion of health problems. Therefore, there have been several studies on the synthesis of new antibacterial materials. Moreover, in modification of these materials, low toxicity and high antibacterial properties gain importance for the synthesis of materials.

The scope of this study, the hydrogel groups were determined according to two different manufacturing methods. In the first method, ROMP based cationic polymer was used in hydrogel formulation. Water based hydrogels were synthesized by free radical polymerization method including AAm, BAAM, PEGDA and ROMP polymers with different amounts. Antimicrobial cationic PEI and AgNO<sub>3</sub> were used for the investigation of synergistic (two sided) effects in second group hydrogels production.

In the first part of this study, polyethyleneimine (PEI) was converted into a structure capable of curing UV PEI, cationic groups are obtained with methyl iodide.

Hydrogels were prepared by photopolymerization method with using UV-curable cationic polyethyleneimine, AgNO<sub>3</sub>, AAm and BAAM in the presence of UV initiator.

Antimicrobial activity and in vitro toxicity studies were performed for characterization of the synthesized hydrogels.

**Keywords:** Hospital infection, ROMP, cationic polymer, antimicrobial hydrogel.

#### 1.1 Literatür Özeti

İnsan vücudunda bulunan bakteri sayısı, insan hücresi sayısının on katı kadardır. Bunların büyük bir çoğunluğu bağışıklık sisteminin koruyucu etkisiyle zararsız kılınmıştır. Ayrıca bakterilerin bir kısmı yararlı (probiyotik) olsalar da, bir kısmı patojen olup enfeksiyon hastalıklarına neden olmaktadır. Bu enfeksiyonların oluşturduğu hastalıklar ise günümüzde önemli bir sağlık problemi oluşturmuş ve insan ölümleri için de yaygın bir neden haline gelmiştir [1].

Enfeksiyonlara yol açan mikroorganizmaların antibiyotiklere karşı direnç kazanması da bakteri ve enfeksiyonlara karşı mücadelede büyük bir problem oluşturmaktadır. Bu artışın devam etmesi tüm dünyada, sağlık harcamalarına, başarısız tedavilere ve ölümlere neden olmaktadır. Araştırma sonuçlarına göre, Avrupa Birliği'nde yıllık, antibiyotik dirençli bakteriyel enfeksiyonlardan kaynaklanan ölüm sayısının 25.000 kişi üzerinde olduğu tespit edilmiştir [2]. Hastane enfeksiyonlarından kaynaklanan ölümlerin ise yılda 5 milyar dolardan fazla ekonomik maliyeti olduğu tahmin edilmektedir [3]. Bu nedenle, AB topluluğu araştırma faaliyetleri ve tüm AB Üye Devletleri'nin oybirliği ile enfeksiyonlar ve antibakteriyel direnç, ortak strateji gerektiren büyük bir uluslararası sorun olarak kabul edilmiştir "Mikrobiyal Tehdit" Avrupa Birliği Konferansı, Eylül 1998, 1, Kopenhag Öneriler Raporu" [4, 5]. Buna bağlı olarak geliştirilen "Antimikrobiyal İlaç Direnci" stratejisinin hedefi; multidisipliner bir yaklaşım ile Avrupa ve dünyanın geri kalanında, mikrobiyal ilaç direnci patojenlerini kontrol etmek ve onlarla mücadeleyi sağlamaktır. Ancak genel hijyen standartları çok

düşüktür, özellikle kateter, tıbbi cihazlar ve implant kullanan hastalarda enfeksiyonlara ve yüksek ölüm oranlarına rastlanmaktadır. Dünyada, 50000'den fazla hastayı öldüren sekonder enfeksiyonlar, yılda 500 milyondan fazla kullanılan implant malzemeler sayesinde bulaşmaktadır [6]. Bu nedenle antimikrobiyal malzemeler ve yüzey uygulamalarının geliştirilmesi, sağlık ve biyomedikal cihaz sanayi, gıda sanayi ve kişisel hijyen sektöründe önem kazanmıştır [7-10]. AMP'ler, gümüş iyonları, ya da polikationik gruplar gibi maddeler, emprenye (emdirme) yöntemi ile malzeme yüzeyine antimikrobiyal özellikler kazandırabilmektedir [11, 12]. Örneğin; gümüş, antimikrobiyal amonyum bileşikler, antibiyotikler, aktif klorin veya triklosan gibi biyosit yüklü yüzeyler, mikrobiyal enfeksiyonların yayılmasını inhibe etmek için alternatif bir yoldur [13].

Gümüşün antimikrobiyal aktivitesi yüzyıllardır bilinmektedir. Toksik olmayan ve güvenli bir inorganik antibakteriyel madde olan gümüş, biyolojik uygulamalarda geniş bir kullanıma sahiptir. Antifungal, antibiyotiklere karşı dirençli bakteriler için, enfeksiyonların önlenmesi, yara iyileştirme ve anti-inflamatuar gibi kullanma alanları yer almaktadır [14-17].

Gümüşün antimikrobiyal etkinlik mekanizması; bakteri hücrelerinin solunum enzimlerinde bulunan tiyol gruplarıyla etkileşmesiyle açıklanmaktadır [18]. Bu, tiyoller, karboksilatlar, amidler, imidazoller, indoller, hidroksiller gibi elektron verici grupları koordine eden DNA ve hücrel enzimlerini devre dışı bırakmaktadır [19, 20].

Literatürde gümüşün antimikrobiyal aktivitesinden faydalanan pek çok çalışma yer almaktadır. Örneğin, Ag nanopartikül içeren hidrojeller, akrilamit ve bisakrilamidin UV ışıkla uyarılmış kopolimerizasyonu sırasında stabilize edici madde olarak sitrat moleküllerinin varlığında gümüş nitratin indirgenmesi yoluyla başarılı bir şekilde hazırlanmıştır [21]. İyi disperse olmuş Ag NP içeren bu hidrojeller önemli bir antibakteriyel aktivite göstermişlerdir.

Santamaria ve arkadaşları, gözenek duvarlarına bağlı gümüş nanopartikülleri ile beraber, gözenekler üzerinde adsorbe olan perasetik asit ile gözenekli silis tarafından sağlanan sinerjistik bir bakterisidal hareket ile nano yapı taşıyıcıyı serbest bırakan uzun süreli bir antimikrobiyal etkiyi sağlamışlardır [14]. Gümüş iyonları ve gümüş bazlı

bileşiklerin, bakteri hücre duvarında geçirgenliğin artması ve hücre ölümüne yol açan çukurlukları oluşturduğu çok iyi bilinmektedir [22-24]. Ancak etkin bir antimikrobiyal özelliğe sahip olmasına karşın zamanla yüzeyden salım yapması ile bu özellik giderek yok olmaktadır.

Uzun süreli aktif özellik gösteren, yüzeyden salım yapmayan moleküllerin sentezi ve uygulanması önemli çalışmaların başında gelmektedir. Bu kapsamda doğal ve sentetik polimerler antimikrobiyal malzeme geliştirilmesinde önemli bir yer tutmaktadır. Ayrıca, kuaterner amonyum ve fosfonyum, tersiyer sülfonyum ve guanidinyum fonksiyonlarına sahip polikasyonik antimikrobiyal polimerler, antimikrobiyal ajanların geliştirilmesi için umut verici adaylardır [8, 25]. Genel olarak mikrobiyal hücreler, yüzey de negatif bir net yüke sahiptirler. Bu nedenle, polikasyonların çekilmesi ve bir amfifilik karaktere sahip olması durumunda, dış zarı bozarak hücre ölümü ile sonuçlanan hücre lisisine (hücrenin erimesine) neden olduğu belirtilmiştir [26, 27].

Literatürde bildirilmiş birçok çalışma bulunmasına rağmen, yüzeye bağlı katyonik polimerlerin antibakteriyel etki mekanizmasının net bir açıklaması henüz bulunmamaktadır [28]. Önerilen mekanizmalardan birine göre; yüzeye bağlı katyonik polimerin, sitoplazmik membranda hasara neden olması için hücre duvarına yeterli sürede nüfus ettirilmesi gerekmektedir [11, 29, 30]. Diğer bir hipotezde ise, hücre biyomembranları içindeki polikasyonların pozitif yükler ve yapısal açıdan önemli mobil katyonlar ( $Ca^{2+}$  ve  $Mg^{2+}$ ) arasındaki iyon değişimini içeren mekanizmayı öngörmektedir [31].

PEI'ler gen terapisinde iletim vektörleri ve kanıtlanmış antimikrobiyel etkisi ile birçok uygulamada kullanılabilir bulunan, katyonik polimerlerdir. Örnek olarak; yardımcı madde, flokülant, kenetleme monomeri, anyon değiştirme, elektrolitler ile kullanım ve atıksu arıtımı gibi kullanımları verilebilir [32, 33]. Bakteriyel hücre zarlarının parçalanmasında da etkili olan PEI türevleri, cihaz ve yüzeylerin antimikrobiyel kaplaması için önerilmiştir [29, 34-38].

Klibanov ve arkadaşları, mikrobiyel yüzey kaplamaları oluşturmak için yeni bir strateji önermişlerdir. Bu strateji, Gram-pozitif (*S.aureus*) ve Gram-negatif (*E.coli*) bakterilere karşı, yüzey üzerindeki canlı bakteri sayısında  $10^9$  kat azalmaya kadar önemli bir

antibakteriyel etkiye sahip N-heksil, metil-polietilenimin temelli uzun hidrofobik polikasyonik zincirler ile kovalent bir kaplamayı içermektedir. Oluşturulan N-alkil-PEI'nin bakterileri öldürürken memeli (maymun böbreği) hücreleri için de zararsız olduğu belirlenmiştir [34]. Domb ve Weiss ise çalışmalarında, alkilasyon derecesinin ve kuaterner amonyum PEI nanopartiküllerinin N-metilasyonunun, reaktifin antibakteriyel aktivitesinde önemli bir rol oynadığını ortaya koymuşlardır [36].

Antimikrobiyal maddelerin solüsyon ve katı yüzeyde etkinliklerinin yanı sıra hidrojel formülasyonunda kullanılması çalışmaları da devam etmektedir. Hidrojeller, antimikrobiyal malzeme mühendisliği için oldukça kullanışlı bir başlangıç noktasıdır. Bu nedenle bu biyomalzemeler, ilaç ve biyomedikal mühendisliğinin farklı alanlarında yaygın olarak kullanılmaktadır [39]. Potansiyel uygulamaları; yara bandajları, tıbbi cihazlarda kaplama malzemesi ve yenileyici tıp uygulamalarını içermektedir. Aynı zamanda, temizleyiciler ve dezenfektanlar olarak kişisel bakım ürünlerinin kullanımında da kullanılabilmektedirler.

Koh ve arkadaşları, N, N'-metilenbisakrilamid varlığında bir redoks başlatıcı sistemi ile serbest radikal polimerizasyonu kullanarak, pluronik ve poli(akrilamit)'den oluşan yarı-iç içe geçmiş ağ hidrojellerini sentezlemişlerdir. Bu çalışmada hidrojeller, sodyum borhidrürün gümüş nitratı indirgemesi yolu ile gümüş nanopartikülleri üretmek için taşıyıcı sistem olarak görev yapmıştır. Antimikrobiyal PEI kaplı gümüş nanopartiküller, istikrarlı bir kolloidal dispersiyonda sentezlenmiş, *S.aureus* ve *Klebsiella pneumoniae* karşı iyi bir antibakteriyel aktivite göstermiştir [40]. Ag nanopartikülleri içeren çok katmanlı PEI'nin iyi salım ve temasla bakteri suşlarına karşı öldürme özelliği ile açıklanmıştır [37]. Disk difüzyon ve solüsyon testi, Ag nanopartikül yüklenmesinin, temas halinde öldürme özelliğini geliştirmiş olduğunu desteklemektedir.

ROMP, düşük ağırlık dağılımları (PDI) ve kontrollü bir molekül ağırlığı ile iyi tanımlanmış makromoleküler maddelerin sentezlenmesi için geniş çapta uygulanabilir bir yöntemdir. Özellikle Tew ve arkadaşları, ROMP mekanizması ile sentezledikleri yüksek seçicilik gösteren antimikrobiyal polimerler ile moleküler yapı kiti yaklaşımı oluşturmuşlardır. Çalışmalarında amfifilik oksanorbornen türevi monomerlerin birçok farklı çeşit sentezini gerçekleştirmişlerdir [41].

Eren ve arkadaşları, yan zincir farklı kuaterner piridinyum tuzları ile amfifilik polinorbornen sentezlemişlerdir. Çeşitli alkil yan zincirleri ile bu polimerlerin antibakteriyel verimliliği büyüme inhibisyon deneyleri ile belirlenmiştir. Yan zincirde daha uzun alkil zincirinin bulunmasıyla, bu polimerlerin toksisite ve etkinliğinin arttığı gösterilmiştir [42].

Amin tuzlarının polinorbornen türevleri sentezlenmiş ve aktivite değerlerinin ölçümü ise İlker ve arkadaşlarının yaptığı çalışmalar ile belirlenmiştir. Polimer zincirlerinin üzerinde hidrofobik yapının artışına bağlı olarak antibakteriyel ve toksik özelliklerin arttığı görülmüştür [26].

Sonuç olarak, enfeksiyon problemlerinin üstesinden gelen, biyosidal malzemelerin üretimi için pek çok alternatif yaklaşımlar kullanılmaktadır. Yapılan çalışmalarda, materyal yüzeylerinin kaplandığı, patojenik ve antibiyotik dirençli suşları da içeren, su ve hava bazlı bakteri ve mantarlarla temas ettiğinde kalıcı antimikrobiyal etkiye sahip çeşitli polimerik maddeler incelenmiştir [6, 29, 43-46].

## **1.2 Tezin Amacı**

Bu tez çalışmasının amacı, seçici özellik gösteren (toksik ve yan etkisi bulunmayan), bunun yanı sıra geniş spektrumlu, mantar (fungi), maya (yeast), Gram-pozitif ve Gram-negatif bakteri gibi zararlı mikroorganizmaları etkili bir şekilde yok edebilen yeni malzemelerin (hidrojellerin) sentezlenmesidir.

Tez çalışmasının diğer bir amacı ise literatürde ilk defa yer alacak sentezlenmiş polimerlerin, antibakteriyel yüzeylerde kullanılabilmesini amaçlayan hidrojel sistemlerinin oluşturulması ve uygulamasının incelenmesidir.

## **1.3 Hipotez**

Literatür araştırmaları sonucunda, artan bakteri ve azalan antibiyotik direnci nedeniyle antibakteriyel yüzeylerin geliştirilmesine ihtiyaç olduğu görülmüştür. Bu kapsamda geliştirilen antibakteriyel malzemelerin başlıca özellikleri; geniş spektruma sahip olması, uzun süre ortam şartlarına dayanıklı olması, ucuz olması ve özellikle vücut içerisinde kullanılan implant malzemelerin ya da bandaj, yara bandı gibi malzemelerin

toksik özellik göstermemesidir [47]. Bu kapsamda özellikle virüs ve bakterilere karşı mücadelede birçok antibakteriyel malzemeler gelişmekte ve kullanılmaktadır.

Tez kapsamında gerçekleştirilen birinci grup çalışmada, norbornen monomerlerinin ROMP ile oluşturulan sentetik katyonik polimerlerin yüzeyde antibakteriyel etkinliğinin incelenmesi amaçlanmaktadır. Polinorbornen türevlerinin, çözelti içinde yoğun bir şekilde çalışılırken, bu polimerlerle kaplanan yüzeylerin çok iyi bilinen antibakteriyel aktiviteleri sınırlıdır. Ayrıca, çözelti içinde ve yüzey üzerindeki bakterisidal etkinliklerinin karşılaştırılması eksiktir.

Projede sentezlenen çift yüke sahip ROMP polimerleri, hidrojel formülasyonunda kullanılmıştır. Çift yüklü polimerin, özellikle negatif yüklü bakteri çeperi ile etkileşmesinin daha fazla olacağı, sonuç itibari ile bakteri hücre çeperinin yapısını etkileyerek bakterinin ölümüne sebep olacağı öngörülmüştür.

Tez kapsamında planlanmış ikinci grup çalışmada, UV ile kürleşebilen katyonik polietilenimin ile içerisinde gömülü olarak  $\text{AgNO}_3$  içeren, kuvvetli ve çift yönlü antibakteriyel etkinlik gösteren hidrojel üretimi gerçekleştirmektir. Çalışmanın ilk bölümünde, polietilenimin (PEI), omurgasındaki metakrilik işlevini geliştirmek için 3-(akriloiloksi)-2-hidroksipropil metakrilat (ACOM) ile reaksiyona sokulmuştur. UV ile kürleşebilen PEI, ayrıca metil iyodür ile birlikte N-metilasyon yoluyla kuaternize edilmiştir. Yeni modifiye edilmiş, UV ile kürleşebilen katyonik PEI/ $\text{AgNO}_3$  temelli hidrojellerin hazırlanması fotopolimerizasyon tekniği ile gerçekleştirilmiştir. Hazırlanan hidrojellerin Gram-pozitif insan patojenleri (*Staphylococcus aureus*) ve Gram-negatif bakterileri (*E.coli*) öldürebilen antimikrobiyal özelliklere sahip olacağı düşünülmektedir. Antimikrobiyal özellikler, bakteri hücrelerinin sulu süspansiyonlarının yüzeylere püskürtülmesi, bunu takiben hava ile kurutma ve yaşayabilen hücrelerin sayılması (büyüyen koloni yeteneğine sahip) ile değerlendirilecektir. Elde edilen hidrojel yüzeyleri, jel formülasyonu içindeki UV ile kürleşebilen katyonik polietilenimin ( $\text{Q}_{\text{UV}}$ -PEI) içeriğine bağlı olarak, hidrojel yüzeyine püskürtülen *E.coli* ve *S. aureus* hücrelerinin büyük bir %'sini öldüreceği beklenmektedir. Ayrıca antimikrobiyal etkinliğin, biyosidal  $\text{Q}_{\text{UV}}$ -PEI ve hidrojelden serbest bırakılan  $\text{Ag}^+$  iyonlarının ayarlanması ile gerçekleşeceği tasarlanmıştır. Bu kapsamda elde edilecek hidrojele,  $\text{Ag}^+$  iyonları salımı ile

antimikrobiyal etkinlik göstermesinin yanısıra  $Q_{UV}$ -PEI ile de yüzeyde etkinlik gösteren çift yönlü bir özellik kazandırılacaktır. Hidrojellerin in vitro hücre toksikoloji çalışmaları yapılarak malzemelerin toksik özellikleri hakkında bilgi elde edilecektir. Bilgisayar programı ile yapılacak öngörülü toksikoloji tahmin çalışmasının in vitro hücre toksisite çalışmalarına öncülük yapması planlanmaktadır.

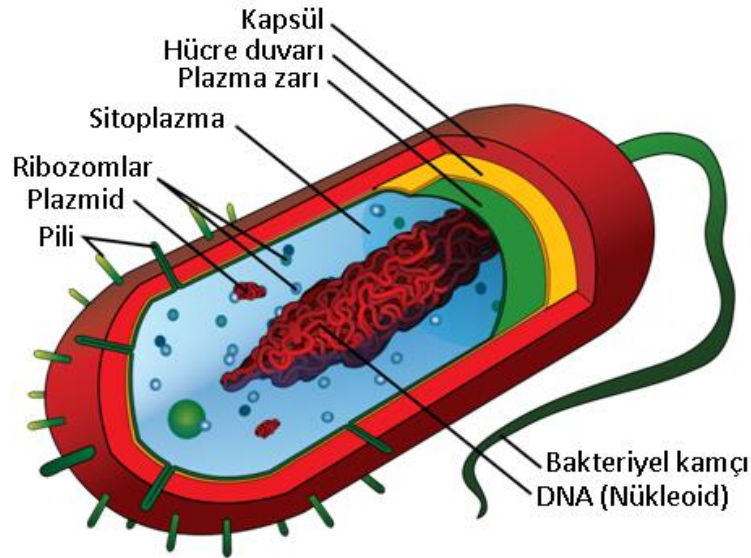
Bu gruptaki hidrojellerin, biyomedikal ve genel kullanım uygulamalarında, çok çeşitli antimikrobiyal malzeme olarak potansiyel kullanıma sahip olacağı tasarlanmıştır. PEI esaslı hidrojellere Ag nanopartiküllerinin dahil edilmesi, sadece yapışan bakterilere karşı antimikrobiyal özelliği arttırmayacak ayrıca,  $Ag/Ag^+$ 'nın, çevreye uzun süreli salım ile süspansiyon kültüründe bulunan bakterilerin büyümesinin inhibisyonuna neden olması bakımından özgün bir çalışma olacaktır.

Sonuç olarak, ilk defa çift yüke sahip katyonik esaslı antimikrobiyal özellik gösteren ROMP polimer içeren hidrojeller ile katyonik polimer PEI/ $AgNO_3$  temelli hidrojellerin sentezlenmesi, antimikrobiyal etkinlik ve hücre toksikoloji özelliklerinin incelenmesi tezin özgün bir çalışma olmasını sağlamaktadır.

### BAKTERİLER ve ENFEKSİYON

#### 2.1 Bakteriler

Bakteri, tek hücreli mikroorganizma grubudur. Tipik olarak birkaç mikrometre uzunluğunda olan bakterilerin, küresel, spiral ve çubuksu gibi farklı şekilleri bulunmaktadır. Yeryüzündeki her ortamda bakteriler mevcuttur. Şekil 2.1’de Gram-pozitif bakterinin hücre yapısı görülmektedir.

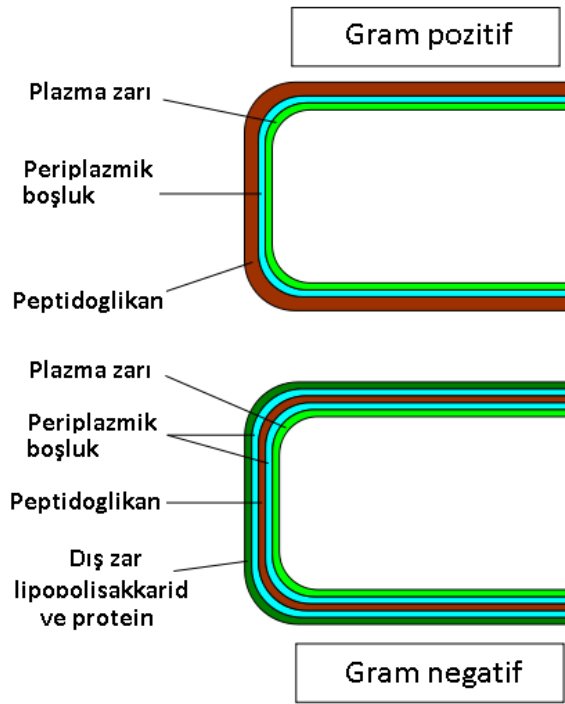


Şekil 2. 1 Gram pozitif prokaryot hücre yapısı [48].

İnsan vücudunda bulunan bakteri sayısı, insan hücresi sayısının on katı kadardır. Özellikle deride ve sindirim yolu içinde çok sayıda bakteri bulunmaktadır [49]. Bunların çok büyük bir çoğunluğu bağışıklık sisteminin koruyucu etkisiyle zararsız kılınmış, ayrıca

bir kısmı da yararlı (probiyotik) olsalar da, bazıları patojen bakterilerdir ve enfeksiyona neden olurlar.

Bakterilerin yapısında, hücre zarı ve onun üzerinde protein, lipid ve polisakkarit moleküllerinden yapılmış selüloz içermeyen bir hücre duvarı mevcuttur (Şekil 2.1) [50]. Bakteriler şekillerine, oksijen ihtiyaçlarına, Gram boyası ile boyanma özelliğine ve beslenme şekline göre gruplandırılmaktadır. Ayrıca Gram-pozitif ve Gram-negatif olmak üzere iki çeşide ayrılmıştır. Gram-pozitif bakterilerde duvar kalın gösterişli iken, Gram-negatif'lerde ince ve lipopolisakkaritten oluşmuş bir dış zar ile kaplıdır (Şekil 2.2). Gram-negatif çeperde bulunan lipopolisakkaritler insan ve hayvanlara karşı zehirli bir etki gösterdiği için endotoksin adı verilmiştir.



Şekil 2. 2 Gram pozitif ve negatif bakterilerin farklı hücre duvarı yapıları [51].

Hücre zarının seçici geçirgen olmasını sağlayan, biyolojik membranların en önemli bileşenlerinden olan fosfolipitler gliserol alkolün ve daha kompleks bir alkol olan sfingozinin türevleridirler. Gliserolden türetilen fosfolipitlere fosfogliserid adı verilir [52].

Fosfolipitler nötral, asidik ve bazik olmak üzere üç ana katagoriye ayrılmaktadırlar. Fosfolipitler polar ve iyonik yapıda olup yağ asitleri gibi amfipatiktirler yani hidrofilik bir baş (fosfat gurubu ve ona bağlı olan serin, etanolamin, kolin gibi) ve uzun hidrofobik

kuyruğa sahiptirler. Gliserofosfolipitler ve sfingozin içeren sfingomyelin hücre zarının bileşenidir.

## 2.2 Enfeksiyon

Enfeksiyon; herhangi bir yolla insana geçme özelliğindeki hastalık yapıcı mikropların veya parazitlerin vücuda girmesiyle ortaya çıkan hastalık tablosudur. Bu hastalıklar, bir bireyden diğerine veya bir türden diğerine geçebilmelerinden dolayı genellikle bulaşıcı hastalık olarak tanımlanırlar.

Hastalığı yapan organizmalar, virüsler, bakteriler, riketsialar, mantarlar olabilmektedir. [53-55]. Örneğin; sirotik hastalardaki bakteriyel enfeksiyonun, morbidite ve mortaliteyi önemli ölçüde oluşturduğu bilinmektedir [56, 57]. Sirotik hastaların ölüm nedenlerinin %25'in bakteriyel enfeksiyonlardan kaynaklandığı tespit edilmiştir [57].

Enfeksiyonlara neden olan patojen mikroorganizmalara çok geniş bir spektrumda rastlanabilmektedir. Örneğin; çeşitli medikal cihazlarda, ilaçlarda, hastane yüzeylerinde, diş uygulamalarında, ameliyat malzemelerinde, sağlık ürünlerinde, su saflaştırma sistemlerinde, tekstil, gıda paketlenme ve saklama vb. alanlarda karşımıza çıkmaktadırlar [8, 10, 58-61].

Mikroorganizmaların bir yüzeye yapışarak kendi ürettikleri polimerik yapıda jelsi bir tabaka içinde yaşayarak oluşturduğu topluluk biyofilmler olarak tanımlanabilir [62]. Özellikle kalp iç zarı iltihabı, periodontit, kistik fibrozis gibi hastalıklara neden olan biyofilm oluşturan mikroorganizmalar ile enfeksiyon hastalıkları arasında kuvvetli bir ilişki bulunmaktadır [63].

Son yıllarda, özellikle hastane enfeksiyonu etkenleri arasında geniş bir yere sahip olan MRSA'ların, antimikrobiyallere karşı geliştirdikleri direnç mekanizmaları nedeniyle, önemi giderek artmıştır [64]. Penisiline dirençli *S.aureus*'un neden olduğu enfeksiyonların tedavisinde kullanılmak üzere geliştirilen metisilin ve diğer penisilinaz dirençli penisilinlerin kullanıma girmesiyle tedavi başarısı sağlanmış ancak, bir süre sonra metisiline dirençli *S.aureus* (MRSA) suşları ortaya çıkmıştır. Bu durum öncelikle hastane enfeksiyonlarında, daha sonra toplumda kazanılmış enfeksiyonlarda etken olarak kendini göstermiştir [65]. MRSA, hafif cilt enfeksiyonlarından, ciddi yara

enfeksiyonlarına ve bakteriyemiye kadar değişen genişlikte klinik vakalara neden olabilmektedir [66, 67].

Hastane enfeksiyonu veya bir diğer ismiyle "Nozokomiyal Enfeksiyon"; genel olarak enfeksiyon dışında bir nedenle hastaneye başvuran hastada gelişen enfeksiyon olarak tanımlanmaktadır. Hasta, hastaneye yattığı zaman kuluçka döneminde değilse veya o enfeksiyonun belirti ve bulguları yoksa, hastanede ortaya çıkan enfeksiyonlar "Hastane Enfeksiyonu" olarak değerlendirilir [68]. Ayrıca sağlık çalışanlarında gelişen mesleki enfeksiyonlar da sağlık hizmeti ilişkili enfeksiyon olarak kabul edilmektedir.

Hastane enfeksiyonları tüm dünyada hasta güvenliğini tehdit eden önemli bir sağlık sorunu olmaya devam etmektedir. Günümüzde hastane enfeksiyonlarının önlenmesi için geliştirilen "Enfeksiyon Kontrol Programları" hastanelerin yerine getirmek zorunda oldukları rutin hizmetlerdendir. Aynı zamanda bu programların kalitesi hastanenin kalitesinin de bir göstergesi kabul edilmektedir. Sağlıkta kabul edilen standartlara uyma iddiasındaki her hastane standart bir süveyans yöntemi (hastane enfeksiyonlarını sistematik olarak toplanması, analizi ve yorumu) kullanarak ve risk faktörlerini dikkate alarak enfeksiyonları engellemek için gerekenleri yapmak zorundadır [69]. Günümüzde hastane hizmetlerinde, ilaç, tıbbi malzeme-araç ve cihaz endüstrisindeki gelişmelerle tanı ve tedavi amaçlı girişimler ve invaziv araç kullanımları artmış bulunmaktadır. Öte yandan daha çok, yaşlı hastalar ile karşılaşmaktadır. Gelişen imkanlara ve yaşlı nüfusun artışına da bağlı olarak yoğun bakım ihtiyacı olan veya bağışıklık sistemi baskılanmış hasta sayısının artışı ile hastane enfeksiyonu gelişme riski artmaktadır.

CDC sadece ABD’nde yıllık 1,7 milyon sağlık hizmeti ilişkili enfeksiyon ve bu enfeksiyonlara bağlı 99.000 ölüm geliştiğini bildirmiştir. Bu enfeksiyonların %32’sinin üriner sistem enfeksiyonları, %22’sinin CAE, %15’inin akciğer enfeksiyonları (pnömoni) ve %14’ünün kan dolaşımı enfeksiyonları olduğu kabul edilmektedir. Bu nedenle, enfeksiyon önleme ve kontrol (IPC) ekipleri 1950’lerde İngiltere’de IPC hemşirelerinin tanıtılması ile klinik mikrobiyoloji çalışmalarını desteklemek için oluşturulmuştur [70]. Ayrıca ABD’de 1970’li yıllarda kurulan ulusal hastane enfeksiyonları süveyans sistemi bu alanda birçok gelişmeye katkı sağlamıştır. Bu sistem kurulduğu tarihten itibaren ülke genelinde 300’den fazla hastaneden topladığı verileri sürekli olarak analiz ederek

sürveyans programlarının standartlarını oluşturmuştur. Türkiye’de yapılan çalışmalarda ise (43 farklı merkez, 133 yoğun bakım ünitesi, 1030 olgu) bir nokta prevalans çalışmasında yoğun bakım ünitesinde kazanılmış enfeksiyon prevalansı %21 olarak tespit edilmiştir. En sık görülen enfeksiyonlar: pnömoni (%45,5), kan dolaşımı enfeksiyonu (%26) ve üriner sistem enfeksiyonu (%18) olarak bildirilmiştir [69].

Yapılan araştırmalar sonucunda, gelişmekte olan ülkelerde hastane enfeksiyonu etkeni olan mikroorganizmalarda antimikrobiyal ilaçlara direnç sorununun çok ciddi boyutlara ulaştığı dikkati çekmektedir.

### 2.3 Sterilizasyonda Kullanılan Metotlar

Sterilizasyon, herhangi bir cismin veya maddenin, birlikte bulunduğu tüm mikroorganizmaların her türlü canlı formundan temizlenmesi amacıyla uygulanan fiziksel veya kimyasal işlemdir.

Sterilizasyon işleminde mikroorganizmaların üzerine olan etki mekanizması, kullanılan sterilizasyon aracına ve yöntemine göre değişiklik göstermektedir. İşlem sonunda mikroorganizmalar ölmekte veya bulundukları ortamdan tamamen ayrılmaktadırlar [71]. Şekil 2.3’de yer alan sterilizasyon yöntemleri kullanılarak pek çok malzemenin sterilizasyon işlemi gerçekleştirilmektedir [47].



Şekil 2. 3 Sterilizasyon yöntemlerinin sınıflandırılması [47].

Hastanelerde uygulanabilecek en pratik ve en etkili korunma yöntemlerinden biri el yıkamadır. Patojen organizmalar kolonize ve enfekte hastalardan personelin ellerine geçer ve bu durum hastane içinde yayılmanın önemli yollarından biridir. Ellerin dekontaminasyonu üçe ayrılmaktadır.

- Sosyal El Yıkama:

Orta derecede kirli ellerin sadece sabunla ve su ile yıkanmasıdır. Özellikle yiyeceklerle temastan önce, hastayı yedirmeden önce, tuvalet sonrası, hasta bakımına başlamadan, ellerin her kirlenmesinde, hastayla yüzeysel temastan sonra yapılmaktadır.

- Sosyal ve Hijyenik El Yıkama:

Ellerin antiseptik bir deterjan ile veya alkol ile dezenfekte edildiği durumdur. Özellikle invaziv işlemiden önce, enfeksiyona yatkın hastalarla temastan önce, yaralara ve üretral kateterlere dokunmadan önce ve sonra, eldiven takmadan önce ve sonra, kanlı çıkartılarla temas veya mikrobik kontaminasyon olabilecek diğer durumlardan sonra yapılmalıdır.

- Cerrahi El Yıkama:

Geçici florayı uzaklaştırmak ve eldiven hasar gördüğü zaman yaranın kontamine olmasını önlemek için tüm cerrahi işlemlerden önce yapılmalıdır.

Bunlara ek olarak, sağlık personelinin korunması için genel önlemlerin alınması gerekmektedir. İşe başlarken işe giriş muayeneleri ve personel sağlık kayıtları yapılmalıdır. Her personel için hazırlanan kayıt formunda bağışıklık durumları ve aşıları kaydedilmelidir. İğne batması ve kesikler gibi kazalarda durum sorumlu kişiye bildirilerek kaydedilmeli ve gerekli önlemler alınmalıdır. Ellerdeki bütün yaralar su geçirmeyen bir bant ile kapatılmalıdır.



Literatürde hidrojel­ler hazırlama yöntemlerine bağlı olarak; homo polimer, kopolimer, yarı-IPN ve IPN olarak sınıflandırılmaktadır. Homopolimerler, yapısında başka bir polimer zinciri olmayan tek bir hidrofilik monomerin çapraz bağlanmasıyla oluşmuş yapılarıdır [75]. Kopolimer hidrojel­ler, şişebilecek hale getirmek için en az bir tanesinde hidrofil grup olmak üzere iki veya daha fazla monomerin çapraz-bağlanması gerekmektedir [76].

Hem doğal hem de sentetik polimer komponentleri içeren IPN hidrojel­ler; diğer polimerin mevcudiyetinde hemen çapraz bağlanan veya sentezlenen en az bir polimerin olduğu, iki polimerin özel kombinasyonu olarak tanımlanmaktadır [77]. Çapraz bağlı IPN bileşenlerinin kilitlemiş yapısının, kütle ve yüzey morfolojisinin istikrarını sağladığına inanılmaktadır [78, 79]. İlaç taşıyıcı sistem olarak genellikle IPN hidrojel­leri kullanılmaktadır [80]. Yarı-IPN hidrojel­ler ise, IPN hidrojel­leri oluşturan iki polimerik komponentten birisinin çapraz bağlı olmasına karşın diğerinin düz zincirli olmasıyla meydana gelmektedir [81].

Hidrojel­ler, antimikrobiyal malzeme mühendisliği için oldukça kullanışlı bir başlangıç noktasıdır. Şişmiş halde, canlı dokulara benzeyerek mükemmel bir biyouyumluluk gösteren, yumuşak ve lastiksi yapıda bulunmaktadır [82]. Bu nedenle bu biyomalzemeler, ilaç ve biyomedikal mühendisliğinin farklı alanlarında yaygın olarak kullanılmaktadır [39]. Potansiyel uygulamaları; yara bandajları, tıbbi cihazlarda kaplama malzemesi ve yenileyici tıp uygulamalarını içerir. Aynı zamanda, temizleyiciler ve dezenfektanlar olarak kişisel bakım ürünlerinin kullanımında da kullanılabilirler. Antimikrobiyal ve antiviral özellik gösteren bileşikler (hidrojel­ler), antibiyotikler ve antiviral ilaçlar ile ilaç olmayan sürfaktan, yağlar, polimerler ve nanopartikülleri içermektedir [59, 83].

### **3.1 Hidrojel­lerin İçeriklerine Göre Sınıflandırılması**

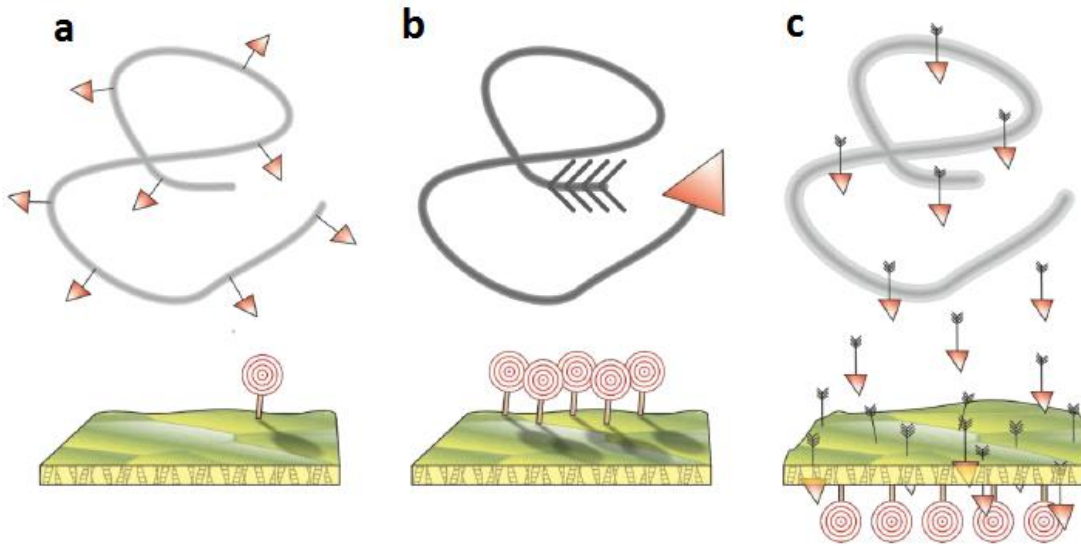
#### **3.1.1 Antimikrobiyal Polimer İçerikli Hidrojel­ler**

Antimikrobiyal polimerler, 1965’de Cornell ve Dunraruma’nın 2-metakriloksitropo non’dan hazırlanan polimerler ve kopolimerlerin bakterileri öldürdüğüünün belirlenmesinden bu yana bilinmektedir [84]. Günümüzde, bu makro moleküllerin

büyük bir kısmının bilinmesine rağmen etki mekanizmaları her zaman anlaşılamamıştır. Bununla birlikte, son on yılda FDA onaylı dezenfektan polimerlerin sayısındaki artış, alternatif antibiyotiklere ve çevresel dezenfektanlara olan ihtiyacı göstermektedir [13].

Polimerlerin, molekül ağırlığı, hidrofobikliği, yük ve amfifilisitesi antimikrobiyal özelliklerini etkilemektedir. Antimikrobiyal peptitlere benzer şekilde, antimikrobiyal polimerler pozitif yüklü olma eğilimlidirler. Bu özellikleri negatif yüklü bakteri membranları ile bağlanmayı ve kırılmayı kolaylaştırmaktadır [10, 85].

Sonuç olarak, polimerin antimikrobiyal özellikleri; yük yoğunluğu, yük dağılımı, elektrostatik ve hidrofobiklik arasındaki etkileşim etkileri, polimerin içerisindeki pozitif yüklü kalıntıların ve karşı iyonların yapısı gibi parametrelere bağlıdır [59].



Şekil 3. 2 Antimikrobiyal polimerlerin genel çalışma prensipleri a) Polimerik biyositler, b) Biyosidal polimerler, c) Biyosit salan polimerler [13].

Literatür çalışmalarında, antimikrobiyal polimerler; polimerik biyosidler, biyosidal polimerler ve biyosit-salan polimerler olarak üç genel grupta toplanmaktadırlar (Şekil 3.2). Polimerik biyositler; biyoaktif tekrarlayan birimlerden oluşan düşük molekül ağırlıklı bileşiklerdir. Biyosidal polimerlerde ise biyoaktif kısım bütün makromolekül ile yapılandırılmıştır. Yüksek konsantrasyonlardaki biyositlerini hücrenin yakınına kadar salabilmeleri nedeni ile biyosit salan polimerler ise en aktif sistemlerdir [13].

Polimerlerin tüm bu özelliklerinin yanı sıra çapraz bağlayıcılıkları antimikrobiyal hidrojenlerin performansını etkileyebilmektedir. Örneğin, Andrews ve arkadaşları;

poli(allilamin)in iki hidrofobik aldarik asit türevleri (dietil L-tartrat ve N, N, O-bis (metoksikarbonilmetil)-D-glucaramide) ile çapraz bağlamasıyla hidrojeller hazırlanmıştır. Her iki çapraz bağlayıcı ajan ile oluşturulan hidrojeller, çapraz bağlanmayan poli(allilamin) ile hazırlanan hidrojellere oranla, Gram-negatif *E.coli* ve *P.aeruginosa*, Gram-pozitif *S.aureus* ve mantarlar *C.albicans*'lara karşı oldukça yüksek antimikrobiyal etkinlik göstermiştir [86].

Hidrofobik çapraz bağlama maddelerinin doğrudan antimikrobiyal etkilerinin yanı sıra, hidrojellerin antimikrobiyal aktivitesini etkileyen ikinci unsur; bünyesindeki antimikrobiyal malzemenin serbest salımına olan etkisidir [59]. Buna örnek olarak, Pavlukhina ve arkadaşlarının yapmış olduğu, antimikrobiyal ilaç etkeni Gentamisin ve antimikrobiyal peptid L5 (PAWRKAFRWAWRMLKAA) içeren hidrojel kaplamalar verilebilir [87]. Özellikle, bu çalışmada, iki çapraz bağlayıcı, içlerinde en hidrofobik olan adipik asit dihidrazid (AADH) ile etilendiamin (EDA) karşılaştırılmıştır. Hidrofilik gentamisinin, iki çapraz bağlayıcı ajan ile oluşturulmuş mikrojellerden salımı aynı olmuştur. Burada hidrofobiklik çapraz bağlanmadan bağımsızdır. Amfifilik L5 peptid ise, daha hidrofobik AADH çapraz bağlayıcıyı ihtiva eden hidrojelden çok daha düşük salınmıştır. Çalışma sonucunda, aktif grupların salımına bağlı olarak, L5 yüklü AADH içeren hidrojeller, EDA içeren hidrojele oranla daha düşük antimikrobiyal aktivite göstermiştir. Ayrıca AADH içeren hidrojin antimikrobiyal aktivite gösterdiği belirlenmiştir.

Son zamanlarda sadece antimikrobiyal değil aynı zamanda antifouling (yüzeyde kayganlaştırıcı) hidrojeller hakkında da çalışmalar yer almaktadır. Liu ve arkadaşları, antimikrobiyal polikarbonat (polikarbonat içeren kuaterner amonyum grupları) içeren, PEG esaslı hidrojellerin (katyonik formdaki PEG-APS) üretimini tanımlamışlardır. Bu jellerin, *S.aureus*, *E.coli* ve *Calbicans*'a karşı kuvvetli antimikrobiyal aktivite gösterdikleri tespit edilmiştir [88].

Zwitteriyonik hidrojellerin kayganlaştırıcı özelliklerinden esinlenerek, Cao ve arkadaşları, poli(2-((2-hidroksietil)(2-(metakriloiloksi)etil)(metil) amonyum) asetat) (pCBOH1) ve poli(2-(bis(2-hidroksietil)(2-(metakriloiloksi)etil) amonyum) asetat) (pCBOH2) esaslı, nötr ya da bazik çözelti koşullarında zwitteriyonik olarak bulunan iki

hidrojel geliştirmişlerdir. Çevre pH değeri asidik olduğunda, bu jellerin katyonik yapıya dönüşüp bakteri membranına hasar vererek ölümüne sebep olduğu belirlenmiştir [89].

### **3.1.2 Yüzey Aktif Madde ve Yağ İçerikli Hidrojeller**

Özellikle lipozomlar olmak üzere, polar lipidler tarafından oluşturulan yapıların, antimikrobiyal ve antiviral tedaviler için; az çözünür ilaçların çözünürlüğünü arttırma, ilaçlardaki hidrolizi azaltma, ilaç salımını kontrol etme ve biyoyararlanımını geliştirmek gibi bir çok avantajları Drulis-Kawa ve Dorotkiewicz Jach tarafından belirtilmiştir [90]. Polimer-sürfaktant sistemleri, antimikrobiyal ve antiviral hidrojeller gibi benzer fırsatlar sunabilmektedir.

Bu etkilere ek olarak, bazı sürfaktanlar ve polar yağlar, kendi kendilerine antimikrobiyal etki göstermektedirler. Örneğın, en katyonik yüzey aktif maddeler, anyonik lipid zarlar ve bakteriyel zarlardaki diğeri önemli bileşenlerle kolaylıkla bağlanarak membran lizisine ve bakteri ölümüne sebep olabilmektedirler [59].

Yang ve arkadaşları, laurik asit ( $C_{12:0}$ ), palmitik asit ( $C_{16:0}$ ), ve oleik asit ( $C_{18:1}$ ) gibi, farklı alkil zincir uzunluklarındaki yağ asitlerinin antimikrobiyal etkinliklerini incelemişlerdir. Bunlar arasından, *P. acnes*'e karşı en güçlü bakterisidal aktiviteyi daha kısa olan laurik asitin verdiği bulunmuştur [91].

### **3.1.3 Metal ve Metal Oksit NPs İçerikli Hidrojeller**

Gümüş  $NP_s$ , bilinen antimikrobiyal özellikleri nedeniyle, bakteri ve mantarlara karşı biyomedikal uygulamalarda geniş bir yelpazede kullanılmaktadırlar [92-96]. Antimikrobiyal etki mekanizmalarının, tam olarak anlaşılmamasına rağmen, reaktif oksijen türlerinin oluşumu ve bakterinin hücre zarına bağlanmasını içeren bir mekanizmayla, hücre zarına zarar verdiği görülmüştür [22-24]. Ayrıca gümüş iyonlarının, elektron verici gruplar olan N, O veya S atomları ile reaksiyona girerek antimikrobiyal etkinlik göstermesi amaçlanmıştır. Örneğın; bakterideki protein veya DNA'daki amino, imidazol, fosfat, karboksil, veya tiyol grupları gibi [97]. Tiyol grupları ile etkileşime girdiğinde, bakteriyel inaktivasyonda önemli bir rol oynadığı görülmüştür

[19, 20, 98]. Buna ek olarak Ag'nin partikül boyutu küçüldükçe etkinliğinin arttığı tespit edilmiştir [22, 94, 99-102].

Antimikrobiyal hidrojel-Ag NPs sistemlerini hazırlamak için, hidrojellerin farklı kompozisyonları kullanılmıştır. Bunlar; PVA, PVP ve poli (akrilamid-ko-akrilik asit) gibi sentetik polimerlerin yanı sıra jelatin ve alginat gibi doğal polimerlerden hazırlanan hidrojellerdir [103-106]. Örneğin, Murthy ve arkadaşları, 3-5 nm boyutta Ag NPs içeren, PVP ve PAM temelli yarı-IPN hidrojeller sentezlemişlerdir. Antibakteriyal etkinlik sonuçları gelecek vaat edici bulunmuştur [107].

NP yüklü jeller üretmek için daha yaygın bir strateji, doğrudan jel ağı içerisine gümüş nitratin indirgenmesidir [104-109]. Bu çalışmada hidrojel, nitrat çözeltisi içerisine daldırılır. Gümüş nitrat yüklü jeller daha sonra sodyum borhidrür gibi bir indirgeme maddesi ile muamele edilerek Ag NP çöktürülür ve jel ağına yayılır. Bazı jel sistemleri, nanopartiküllerin şekil ve boyutunu kontrol etmeyi sağlayan bir şablon oluşturabilmektedirler [110]. Ag NPs'nin partikül şekil ve boyutlarının antimikrobiyal etkinlik üzerine etkisinin gösterilmesi oldukça önemlidir [105, 111].

Örnek olarak Gils ve arkadaşlarının gerçekleştirdiği çalışmada, bağlatıcı APs, çapraz bağlayıcı MBA, katalizör  $\text{CuSO}_4$ /glisin şelat kompleksi varlığında, arap sakızı ve çapraz bağlanmış kopolimer poli(2-hidroksietil metakrilat-ko-akrilik asit)'in yarı iç içe geçmiş ağ polimerleri sentezlemişlerdir. Son olarak, indirgeyici ajan ( $\text{Na}_3\text{C}_6\text{H}_5\text{O}_7$ ) kullanılarak  $\text{AgNO}_3$ 'ün indirgenmesi ile oluşan Ag nanopartikülleri jel ağına yayılmıştır. Partikül boyutu stabil olan Ag NPs içeren hidrojin, mükemmel bir antimikrobiyal etkinlik gösterdiği tespit edilmiştir [112].

Altın NP's'nin de antibakteriyal özellik gösterdiği yapılan çalışmalarla belirlenmiştir [93, 113]. Gümüş NP içerikli antibakteriyel hidrojellerin üretimindeki benzer yaklaşım (Au) partikülleri-hidrojel sistemleri için de kullanılmıştır [114, 115].

Reddy ve arkadaşları, gümüş ve altın NPs'nin bilinen antimikrobiyal özelliklerinden yararlanarak; Ag-Au NPs içerekl (bimetalik)akrilamid/2-akrilamido-2-metil-1-propansülfonik asit hidrojellerini tanımlamışlardır [115]. Bu bimetalik (iki madenden bir araya gelmiş) hidrojin antibakteriyal aktivitesinin, metal NPs'nin tek başına oluşturduğu jel sistemlerinden daha yüksek olduğu bulunmuştur.

Ag ve diğ er metal nanopartiküllere benzer olarak, antimikrobiyal/antiviral etkinliğe sahip hidrojel ler, metal olmayan NPs'nin bir araya getirilmesiyle oluşturulabilmektedir. Çok sayıda metal oksit ve bunlarla ilgili NP  rneğin, TiO<sub>2</sub>, ZnO, CeO<sub>2</sub>, CdSe, FeOx, ve ZnS gibi bileşiklerin antimikrobiyal ve hatta antiviral özellikler gösterdiği bulunmuştur [116-125]. Özellikle TiO<sub>2</sub>'nin morfolojisine, kristal yapısına ve kristal boyutuna bağlı olarak, fotokatalitik doğasına ve şeffaf iletkenliğine göre çeşitli uygulamalarda yoğun olarak incelenmiştir. TiO<sub>2</sub>'nin yakın UV ışınına maruz kaldığında, anataz formunda g    antimikrobiyal etkiye sahip olduğu bulunmuştur [116].

Schwegmann ve arkadaşlarının yapmış olduğu çalışmada, demir oksit nanopartiküllerinin bakteri zarına doğrudan önemli bir etkisi olduğu gösterilmiştir [123].

#### **3.1.4 Antiviral ve Antimikrobiyal Bileşiklere ve İlaçlara Sahip Hidrojeller**

Literatürde, hidrojel yapıları içerisine antimikrobiyal ve antiviral ilaçların dahil edilmesine yönelik pek çok çalışma bulunmaktadır. Örneğin, Zumbuehl ve arkadaşları geniş spektrumlu antifungal ilaç Amfoterisin B(AmB) içeren dekstran tabanlı hidrojel ler hazırlamışlardır. Hidrojellerin, etkili bir şekilde iki saat içinde *C.albicans*'ları öldürdüğü ve en az 53 gün süre ile bu etkiyi koruduğu bulunmuştur. Ayrıca, AmB-yüklü hidrojel lerin, kanda hemolize neden olmadığı ve umut verici biyoyoumluluk gösterdiği bulunmuştur [126]. Aynı doğrultuda, Hudson ve arkadaşlarının yaptığı araştırmada, mantar enfeksiyonlarının lokal enjektabl tedaviler için benzer ürün olan AmB-yüklenmiş hidrojel ler hazırlanmıştır. İmmün sistemi baskılanmış hastalarda verimli bir antifungal etki yakalanmıştır [127].

#### **3.1.5 Peptid İçerikli Hidrojeller**

Antimikrobiyal hidrojel ler, sentetik polielektrolitlerin oluşumuna benzer şekilde, katyonik peptidler ile de oluşturulabilmektedirler. Örneğin, Salick ve arkadaşları iki farklı peptidden hidrojel ler sentezlemişlerdir. Bu hidrojel lerin, *S.aureus*'a karşı g    antimikrobiyal etki gösterirken memeli hücreleri üzerinde ise düşük toksisiteye sahip olduğu gözlenmiştir [128].

Antimikrobiyal hidrojeller aynı zamanda, antimikrobiyal peptidlerin birleşmesinden de meydana gelebilmektedir. Antimikrobiyal peptitler ve mikrojeller arasındaki etkileşimin, çoğunlukla elektrostatik etkileşim yolu ile oluştuğu ispatlanmıştır. Bu etkileşim, mikrojel ve peptid yük yoğunluğu, iyonik kuvvet ve pH gibi faktörlere bağlıdır [129-134].

### **3.2 Hidrojeller ve Biyouyumluluk**

Hidrojellerin biyouyumluluğu ve toksik özelliği, biyomedikal alanda uygulanabilmesi açısından çok önemlidir. Bu amaç için kullanılan çoğu polimerler, sitotoksikite ve in vivo toksisite testlerini geçmek zorundadırlar. Sentetik hidrojel polimerizasyonunda kullanılabilir toksik kimyasallar, dönüşüm %100 olmadığında biyolojik uyumluluk için sorunlara neden olabilmektedir. Bunun dışında, polimerizasyon ve hidrojel sentezinde kullanılan çapraz bağlayıcılar, organik çözücüler, stabilize edici ajanlar, emülsifiye ediciler, reaksiyona girmemiş monomerler ve başlatıcılar, dokularda ya da kapsüllenmiş hücrelerde dışarı sızmaları halinde konukçu hücrelere karşı toksik olabilmektedir [73]. Örneğin, çok sayıda serbest radikal fotopolimerizasyonda kullanılan tipik bir fotobaşlatıcı olan Irgacure 2959, %0.1 konsantrasyonun üzerinde kullanıldığında hücre canlılığını azalttığı belirlenmiştir [135]. Hazırlanmış hidrojellerden tehlikeli kimyasal maddeleri uzaklaştırmak için, solvent yıkama veya diyaliz gibi çeşitli saflaştırma işlemleri yapılmaktadır.

Hidrojellerin biyouyumluluklarını değerlendirmek için kullanılmış üç temel hücre kültürü testleri bulunmaktadır: Elüsyon (ekstraktı seyreltme), doğrudan temas ve agar difüzyonu. Bu testler ABD Farmakopisi ve Uluslararası Standartlar Organizasyonu tarafından tanımlanmıştır. Bu çalışmalar morfolojik deneylerdir ve hücre morfolojisindeki değişikliklerin gözlenmesiyle sonuçlar elde edilmektedir.

### HALKA AÇILMA METATEZ POLİMERİZASYONU

Tezin ilk aşamasında ROMP esaslı jel üretimi gerçekleştirilmiştir. ROMP son yıllarda kullanılan önemli polimerizasyon yöntemlerinin başında gelmektedir. Molekül ağırlığının ve dağılımının kontrol edilebilir olması, farklı fonksiyonel grupların eklenmesi, uygulama kapsamında önemli bir avantajdır.

#### 4.1 Kontrollü Polimerizasyon

Yaşayan polimerizasyon reaksiyonları olarak da bilinen kontrollü radikal polimerizasyon mekanizmaları, polimer zinciri molekülünün kontrollü büyümesini sağlayan ve istenilen molekül ağırlığını elde etmeye yarayan farklı polimerizasyon mekanizmalarından oluşmaktadır. Kontrollü polimerizasyon bütün monomerler tükeninceye kadar devam etmektedir. Bu yüzden molekül ağırlığı polimer dönüşümü ile doğru orantılıdır. Böylece istenilen molekül ağırlığı elde edilebilmektedir.

Yaşayan polimerizasyonla oluşan polimerik materyaller genellikle çok dar moleküler ağırlık dağılımına sahiptir. Böylece monodisperse yakın, dar bir molekül ağırlığı elde edilir. Bu dağılımlar genellikle aşağıda verilen denklemde, örneğin polidispersite indeksinin (PDI) belirlenmesiyle hesaplanmaktadır.

$$(PDI) = [M_w]/[M_n] = [1] / [1 + DP] \quad (4.1)$$

$M_w$ ; Ağırlıkça ortalama molekül ağırlığını,

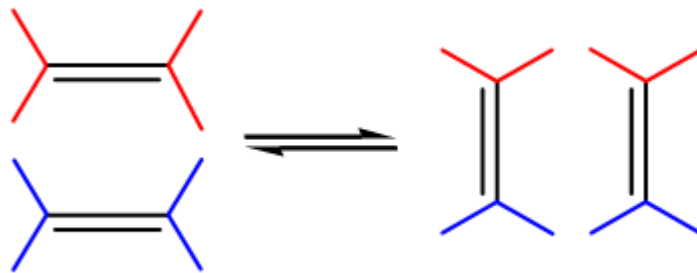
$M_n$ ; Sayıca ortalama molekül ağırlığını,

DP; Polimerizasyon derecesini (polimer zinciri başına monomer birimlerinin ortalama sayısı) belirtmektedir.

Yaşayan polimerizasyon genellikle, polimerin molekül ağırlığı değişiminin zamanın ve/veya monomer dönüşümünün bir fonksiyonu olarak analiziyle, kondenzasyon ve kinetik olarak kontrollü (serbest radikal) polimerizasyondan ayırt edilebilmektedir [136].

#### 4.2 Olefin Metatez Polimerizasyonu

Son yıllarda, karbon-karbon çift bağlarının kırılması ve yeniden düzenlenmesi için kullanılan geçiş metali ile katalizlenmiş metatez tepkimeleri önem kazanmıştır. Halkalı olefinler, diolefinler ve düz zincirli olefinler uygun katalizör varlığında metatez reaksiyonu varlığında farklı ürünler oluşturmaktadır [137]. Olefin metatez polimerizasyonu, çift bağ içeren bir monomerden yine çift bağ içeren polimer sentezine olanak sağlamaktadır. Şekil 4.1'de yan grupları farklı olan olefinin tepkimeye girerek yan gruplarını değiştirdiği gösterilmektedir



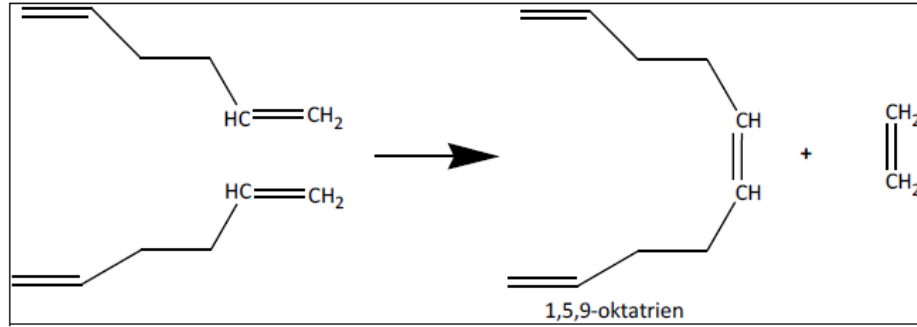
Şekil 4. 1 Olefin metatez polimerizasyonu şematik gösterimi [138].

Olefin metatez polimerizasyonu (metatez polimerizasyonu), asiklik dien metatez polimerizasyonu (basit olefin metatez polimerizasyonu) ve halka açılma metatez polimerizasyonu (ROMP) olarak iki gruba ayrılmaktadır. Polimerizasyon sırasında  $WCl_6$ ,  $WOCl_4$ ,  $MoO_3$  gibi geçiş metal bileşikleri ve  $EtAlCl_2$ ,  $AlR_3$ ,  $Sn_4$  türü katalizörler kullanılmaktadır [138].

##### 4.2.1 Asiklik Dien Metatez Polimerizasyonu (ADMET)

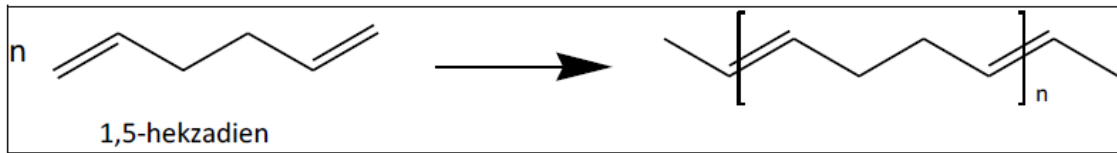
Asiklik dien metatez polimerizasyonunda bir asiklik dienle başlanıp yan ürün olarak çift bağ iskeletine sahip bir polimerik ürün ve etan gazı yan ürünü elde edilmektedir (Şekil

4.2). Bu gruba en iyi örnek 1,5-hekzadienin polimerizasyonudur. Burada iki tane 1,5-hekzadien molekülü birbirine bağlanarak 1,5,9-oktatrien oluşturmaktadır. 1,5,9-oktatrienin uçlarındaki çift bağlar korunur ve ayrıca molekül içerisinde de bir çift bağ bulunur [138].



Şekil 4. 2 Asiklik dien metatez reaksiyonu [138].

1,5,9-oktatrien daha sonra uçlarındaki çift bağlar üzerinden ileri tepkimeye girerek daha büyük bir moleküle dönüşür. Benzer adımlarla yinelenen metatez tepkimeleri sonucu Şekil 4.3’de yapısı verilen ve ana zinciri üzerinde çift bağlar bulunan bir polimer elde edilebilmektedir [139].

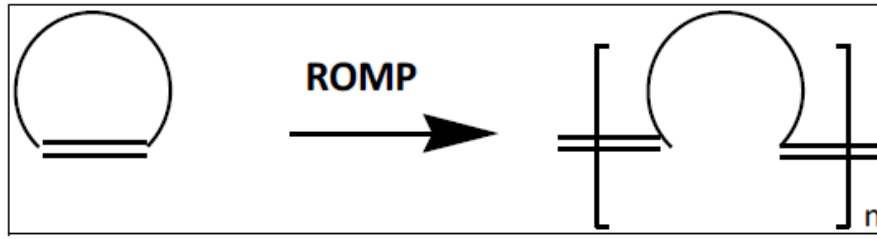


Şekil 4. 3 Asiklik dien metatez polimerizasyonu reaksiyon mekanizması [139].

#### 4.2.2 Halka Açılma Metatez Polimerizasyonu (ROMP)

Polimer kimyası alanında yeni ve son yıllarda artan bir ilgi ile çalışılmakta olan halka açılma metatez polimerizasyonu (ROMP), makromoleküler maddelerin sentezlenmesi için geniş alanda uygulanabilir bir yöntemdir [140-146].

ROMP, siklik olefin karışımının polimerik materyallere dönüştürüldüğü bir zincir büyümesi polimerizasyon prosesidir. Şekil 4.4’de halka açılma metatez polimerizasyonu genel örneği yer almaktadır [139].



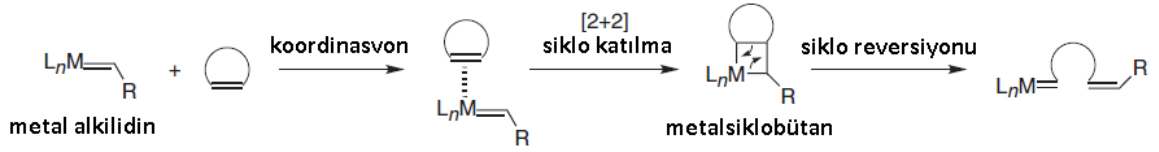
Şekil 4. 4 ROMP reaksiyon mekanizması genel örneği [149].

Polimerizasyon mekanizması, eşsiz bir metal aracılı karbon-karbon çifte bağ değişim işlemi olan olefin metatezine dayanır [150, 151]. Sonuç olarak, bir monomerle ilgili herhangi bir doymamış polimere dönüştürüldüğünde de korunmuş olur. ROMP’u tipik olefin eklemeli polimerizasyonlardan ayıran en önemli özelliktir. Örnek olarak; etilen-polietilen verilebilir.

Şekil 4.5’de ROMP için verilen genel mekanizma Chauvin’in önerisine dayanmaktadır [140]. Başlama mekanizması, siklik olefinlere geçiş metali alkiliden kompleksinin koordinasyonu ile gerçekleşmektedir. Daha sonra büyüyen polimer zincirinin başlangıcını etkili bir şekilde meydana getiren dört üyeli ara metalsiklobütan [2+2] siklo yapısı meydana gelmektedir. Bu ara madde yeni metal alkiliden meydana getirmek için siklorevizyon reaksiyonuna uğramaktadır. Ortaya çıkan kompleks boyutu büyümesine rağmen (monomerlerin birleşmesinden dolayı), başlatıcının siklik olefinlere karşı aktifliği aynıdır. Bu nedenle benzer işlemler polimerizasyon bitene kadar gelişme aşamasında tekrar eder. Böylece tüm monomerler tükenir, reaksiyon dengeye ulaşır veya reaksiyon sonlandırılır.

Yaşayan ROMP reaksiyonları genel olarak, özel reaktiflerin dışarıdan eklenmesiyle sonlandırılır. Büyüyen zincirin sonundaki geçiş metalini kaldırmak, metalin yerine bilinen bir fonksiyonel grubun geçmesini sağlamak, bu reaktifin fonksiyonunu oluşturmaktadır.

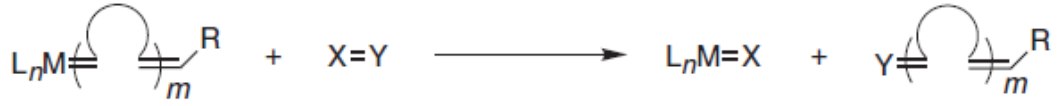
### Başlama:



### Gelişme:



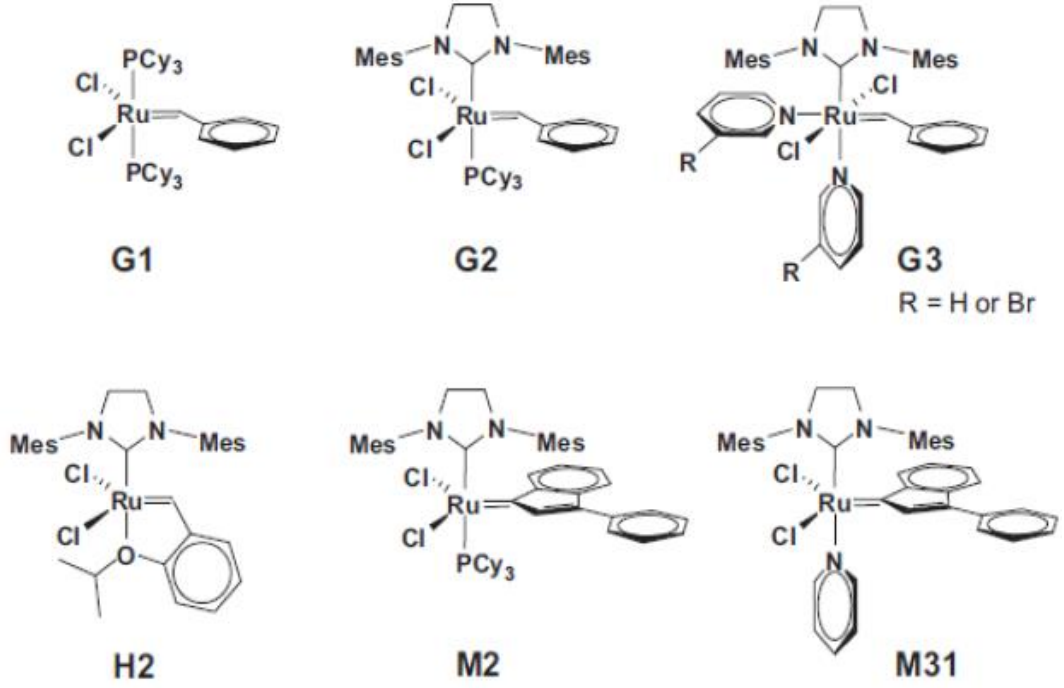
### Sonlanma:



Şekil 4. 5 Tipik ROMP reaksiyonunun genel mekanizması [140].

#### 4.2.2.1 Yaşayan ROMP için Katalizörler

ROMP'daki gelişmeler; çok sayıdaki araştırmacının, iyi tanımlanmış katalizörlerin geliştirilmesi konusundaki büyük çabalarıyla sağlanmıştır. Geliştirilen ilk katalizör sistemleri genellikle hava ve neme karşı aşırı hassas, karakterize etmesi zor, sistematik olarak çalışması ve en iyi şekilde kullanımı neredeyse imkansız olan heterojen karışımlardır. Olefin metatezinin istenen potansiyeline ulaşması için, iyi belirlenmiş yapıdaki katalistlerin gerekli olduğu anlaşılmıştır [136]. Ayrıca Grubbs katalistlerinin, diğer olefin metatezi katalistlerine kıyasla, alkendeki diğer fonksiyonel grupları tolere etmesi, havaya karşı dayanıklı olması ve geniş yelpazedeki çözücülerle uyumlu olması nedeniyle özellikle önemlidir [152, 153]. Şekil 4.6'da çeşitli Grubb's katalistleri de dahil olmak üzere rutenyum esaslı katalizörler gösterilmektedir.



Şekil 4. 6 Rutenyum esaslı katalistler [154].

Ayrıca Yves Chauvin, Robert H. Grubbs ve Richard R. Schrock, bugüne kadar yüksek etkili ve seçici olan birçok katalist buluşlarından dolayı 2005 yılında Nobel Ödülü'nü kazanmışlardır [155].

## BÖLÜM 5

---

### DENEYSEL ÇALIŞMALAR

Deneysel çalışmalarda, iki farklı üretim yöntemine göre, hidrojel sentez grupları belirlenmiştir. Bu iki grup hidrojellerin üretimi için iki farklı yöntem ile sentezlenmiş katyonik polimer kullanılmıştır.

Birinci grup hidrojellerin yapısında kullanılan polimer; halka açılma metatez polimerizasyonu (ROMP) metodu ile elde edilen katyonik polimerdir. Polimer (ROMP esaslı katyonik polimer) sentezinde, öncelikli olarak katyonik grup içeren okzanorbornen monomer yapıları sentezlenmiş ve daha sonra ROMP tekniği ile polimerleştirilmiştir. Elde edilen polimer, serbest radikal polimerizasyonu ile üretilen birinci grup hidrojellerin yapımında kullanılmıştır. Suda çözünen bu polimer AAm, BAAM, PEGDA, ortamında farklı oranlarda kullanılarak, APS/TEMED başlatıcı/katalizör sistemi ile oda sıcaklığında jel yapılmıştır. Bu gruptaki hidrojeller ROMP-Jel X kısaltması ile verilecektir. Bu gruptaki hidrojellerde, çapraz bağlı kopolimerlerin üretiminde monomer olarak AAm, yardımcı monomer olarak BAAM kullanılmıştır. Çapraz bağlayıcı olarak PEGDA ( $M_n=700$ ), başlatıcı olarak APS ve hızlandırıcı olarak TEMED kullanılarak çapraz bağlı kopolimer üretimi gerçekleştirilmiştir.

İkinci grup hidrojellerin yapısında Ag nanopartikülleri ve katyonik polimerlerin ortak kullanıldığı bir hidrojel yapısı elde edilmiştir. Kullanılan polimer kapsamında, öncelikle polietilenimin katyonik ve akrilat grup içeren yapıya dönüştürülmüştür. Antimikrobiyal özellik gösteren UV ile kürleşebilen bu polimer (kuaternize amonyum PEI) daha sonra AAm, BAAM, PEGDA ve  $AgNO_3$  kullanılarak fotobaşlatıcılı polimerizasyon ile hidrojel yapısı oluşturulmuştur. Bu grupta üretilen hidrojeller, özel olarak tasarlanan Rayonet

merry-go round tipi UV-fotoreaktör cihazında ve fotobaşlatıcı olarak Irgacure 2959 kullanılarak sentezlenmiştir. Bu hidrojellerin tanımlaması  $Q_{UV}$ -PEI-Jel X olarak verilecektir.

Üretilen her iki katyonik polimerlerin kimyasal analizleri, XRD, FTIR ve NMR cihazları ile incelenmiştir. Serbest radikal polimerizasyonu ve fotobaşlatıcılı polimerizasyon tekniğine dayanarak hazırlanan hidrojel gruplarının fiziksel ve yapısal tayinleri SEM, FTIR, XRD, ICP, UV-Spektrofotometre ve TGA cihazları ile incelenmiştir. Ayrıca sentezlenen çapraz bağlı kopolimerlere, oda sıcaklığında (sabit 21°C'de) su tutma testleri uygulanmıştır.

## 5.1 Kimyasal Malzemeler

Deneysel çalışmalarda kullanılan kimyasal malzemeler ve genel özellikleri Çizelge 5.1'de verilmektedir.

Çizelge 5.1 Kimyasal malzemeler ve genel özellikleri

| KİMYASAL MALZEME                                                                         | MARKASI       | SAFLIĞI      | KULLANILDIĞI AŞAMA                   |
|------------------------------------------------------------------------------------------|---------------|--------------|--------------------------------------|
| SODYUM HİDROJEN KARBONAT ( $\text{NaHCO}_3$ )                                            | MERCK         | %99.5-100.5  | ROMP ESASLI KATYONİK POLİMER ÜRETİMİ |
| 3-BROMOPROPYLAMİDE HYDROBROMİDE ( $\text{Br}(\text{CH}_2)_3\text{NH}_2\cdot\text{HBr}$ ) | ALFA AESAR    | %98          | ROMP ESASLI KATYONİK POLİMER ÜRETİMİ |
| DİETİLETER ( $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{OCH}_2\text{CH}_3$ )                           | CARLO ERBA    | $\geq$ %99.8 | ROMP ESASLI KATYONİK POLİMER ÜRETİMİ |
| SODYUM ASETAT ( $\text{CH}_3\text{COONa}$ )                                              | MERCK         | $\geq$ %99   | ROMP ESASLI KATYONİK POLİMER ÜRETİMİ |
| KLOROFORM ( $\text{CHCl}_3$ )                                                            | MERCK         | %99          | ROMP ESASLI KATYONİK POLİMER ÜRETİMİ |
| HEGZAN ( $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4\text{CH}_3$ )                                       | SIGMA-ALDRICH | $\geq$ %99   | ROMP ESASLI KATYONİK POLİMER ÜRETİMİ |
| SODYUM KLORÜR( $\text{NaCl}$ )                                                           | SIGMA-ALDRICH | $\geq$ %99.5 | ROMP ESASLI KATYONİK POLİMER ÜRETİMİ |

Çizelge 5.2 Kimyasal malzemeler ve genel özellikleri (devamı)

| KİMYASAL MALZEME                                                                                                                                                                             | MARKASI       | SAFLIĞI                                 | KULLANILDIĞI AŞAMA                               |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------|-----------------------------------------|--------------------------------------------------|
| TETRAHİDROFURAN (C <sub>4</sub> H <sub>8</sub> O)                                                                                                                                            | MERCK         | %99                                     | ROMP ESASLI KATYONİK POLİMER ÜRETİMİ             |
| METANOL (CH <sub>3</sub> OH)                                                                                                                                                                 | MERCK         | (maks. %0.003 H <sub>2</sub> O içeriği) | ROMP ESASLI KATYONİK POLİMER ÜRETİMİ             |
| ASETONİTRİL (CH <sub>3</sub> CN)                                                                                                                                                             | MERCK         | %99.8                                   | ROMP ESASLI KATYONİK POLİMER ÜRETİMİ             |
| ETİLİNİLETER (C <sub>4</sub> H <sub>8</sub> O)                                                                                                                                               | ALDRICH       | %99                                     | ROMP ESASLI KATYONİK POLİMER ÜRETİMİ             |
| GRUBBS İKİNCİ JENERASYON KATALİSTİ(C <sub>46</sub> H <sub>65</sub> CL <sub>2</sub> N <sub>2</sub> PRu) (TRİSİKLOHEKZİLFOSEİN) (1,3-DİMESİTİLMİDAZOLİDİN-2-LİDİN) BENZİLİDENERUTHENYUM KLORÜR | ALDRICH       | ≥ %99                                   | ROMP ESASLI KATYONİK POLİMER ÜRETİMİ             |
| N,N DİMETİLFORMAMİD (C <sub>3</sub> H <sub>7</sub> NO)                                                                                                                                       | SIGMA-ALDRICH | ≥ %99                                   | ROMP ESASLI KATYONİK POLİMER ÜRETİMİ             |
| KİMYASAL MALZEME                                                                                                                                                                             | MARKASI       | SAFLIĞI                                 | KULLANILDIĞI AŞAMA                               |
| AKRİLAMİT (AAm, C <sub>3</sub> H <sub>5</sub> NO)                                                                                                                                            | SIGMA-ALDRICH | %99                                     | ROMP JEL X ve Q <sub>UV</sub> -PEI-JEL X ÜRETİMİ |
| N'N-METİLENBİSAKRİLAMİT (BAAm, C <sub>12</sub> H <sub>16</sub> O <sub>4</sub> )                                                                                                              | SIGMA-ALDRICH | >%99.5                                  | ROMP JEL X ve Q <sub>UV</sub> -PEI-JEL X ÜRETİMİ |
| POLİETİLEN GLİKOL DİAKRİLAT MW:700 (PEGDA 700)                                                                                                                                               | SIGMA-ALDRICH | -                                       | ROMP JEL X ÜRETİMİ                               |
| AMONYUM PERSULFATE (APS, (NH <sub>4</sub> ) <sub>2</sub> S <sub>2</sub> O <sub>8</sub> )                                                                                                     | SIGMA-ALDRICH | ≥98%                                    | ROMP JEL X ÜRETİMİ                               |
| N,N,N',N'-TETRAMETİLENDİAMİN (TEMED, (CH <sub>3</sub> )NCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> N(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> )                                                                   | SIGMA-ALDRICH | ≥99%                                    | ROMP JEL X ÜRETİMİ                               |
| GÜMÜŞ NİTRAT (AgNO <sub>3</sub> )                                                                                                                                                            | SIGMA-ALDRICH | >99.5                                   | Q <sub>UV</sub> -PEI-JEL X ÜRETİMİ               |

Çizelge 5.3 Kimyasal malzemeler ve genel özellikleri (devamı)

| KİMYASAL MALZEME                                                                                                                                                              | MARKASI       | SAFLIĞI      | KULLANILDIĞI AŞAMA                                       |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|---------------|--------------|----------------------------------------------------------|
| 2-HYDROXY-4-2(2-HYDROXYETHOXY)-2-METHYLPROPIOPHERONE (IRGACURE 2959, HOCH <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> OC <sub>6</sub> H <sub>4</sub> COC(CH <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> OH ) | SIGMA-ALDRICH | %98          | Q <sub>UV</sub> -PEI-JEL X ÜRETİMİ                       |
| POLİETİLENİMİN (C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> N) <sub>n</sub> ,                                                                                                               | SIGMA-ALDRICH | Mw:600 g/mol | Q <sub>UV</sub> -PEI-JEL X ÜRETİMİ                       |
| ETANOL (CH <sub>3</sub> CH <sub>2</sub> OH)                                                                                                                                   | SIGMA-ALDRICH | > %99.8      | Q <sub>UV</sub> -PEI-JEL X ÜRETİMİ                       |
| İYODOMETAN (CH <sub>3</sub> I)                                                                                                                                                | FLUKA         | > %99        | Q <sub>UV</sub> -PEI-JEL X ÜRETİMİ                       |
| 3-(ACRYLOYLOXY)-2-HYDROXYPROPYL METHACRYLATEH <sub>2</sub> C=C(CH <sub>3</sub> )CO <sub>2</sub> CH <sub>2</sub> CH(OH)CH <sub>2</sub> O <sub>2</sub> CCH=CH <sub>2</sub>      | SIGMA-ALDRICH | ≥70.0 %      | Q <sub>UV</sub> -PEI-JEL X ÜRETİMİ                       |
| FURAN (C <sub>4</sub> H <sub>4</sub> O)                                                                                                                                       | FLUKA         | ≥ %99        | ROMP ESASLI KATYONİK POLİMER ÜRETİMİ (BİLEŞİK 1 SENTEZİ) |
| MALEİK ANHİDRİT (C <sub>4</sub> H <sub>2</sub> O <sub>3</sub> )                                                                                                               | SIGMA-ALDRICH | ≥ %99        | ROMP ESASLI KATYONİK POLİMER ÜRETİMİ (BİLEŞİK 1 SENTEZİ) |

## 5.2 Enstrümantal Analiz Cihazları

### 5.2.1 Nükleer Manyetik Rezonans Spektroskopisi (NMR)

ROMP metodu kullanılarak sentezlenen katyonik polimerlerin ve UV ile kürleşebilen katyonik ve metakril fonksiyonlu polietilenimin polimerlerinin kimyasal yapısının belirlenmesinde Yıldız Teknik Üniversitesi NMR Laboratuvarında bulunan Bruker Avance III 500 MHz marka NMR cihaz kullanılmıştır. Çözücü olarak d-DMSO, CDCl<sub>3</sub> ve standart olarak TMS kullanılarak elde edilen nükleer magnetik rezonans spektrumları <sup>1</sup>H NMR (500 MHz) deneysel sonuçlar bölümünde verilmektedir.

### 5.2.2 Fourier Transform Infrared (Kızılötesi) Spektrometresi (FTIR)

Üretimi gerçekleştirilen polimerlerin ve hidrojenlerin yapısal analizi, 4000-650  $\text{cm}^{-1}$  dalga boyları arasında Perkin Elmer Spectrum One marka FTIR spektrometre cihazı ile gerçekleştirilmiştir. Örnekler Universal ATR ekipmanı kullanılarak analiz edilmişlerdir. Elde edilen FTIR spektrumları deneysel sonuçlar bölümünde verilmektedir.

### 5.2.3 İndüktif Eşleşmiş Plazma Optik Emisyon Spektrometresi (ICP/OES)

Fotobaslatıcılı polimerizasyon ile üretilen hidrojenlerin içeriğindeki  $\text{Ag}^+$  iyonu ile bu jellerden suya geçen  $\text{Ag}^+$  iyonunun tayini Perkin Elmer marka Optima 2100 DV model ICP/OES spektrometresi ile yapılmıştır. Jel ve su numuneleri öncelikli olarak çözündürme işlemine tabi tutulmuştur. Çözündürme, yaklaşık 0.1 g kurutulmuş jel ve 5 ml su numuneleri alınarak Berghof marka MWS3+ model mikrodalga yakma ünitesinde gerçekleştirilmiştir. Mikrodalga yakma kaplarına yerleştirilmiş numunelerin üzerine 3 ml  $\text{HNO}_3$  (%65 saflıkta) ve 7 ml  $\text{HCl}$  (%37 saflıkta) eklenerek 20 dk çeker ocakta bekletilmiştir. Süre sonunda kapların kapakları kapatılarak mikrodalga yakma cihazına yerleştirilmiştir. 1 saat süren yakma işlemi sonunda kaplar çıkartılarak 20 dk çeker ocakta soğumaya bırakılmış ve kapağı gevşetilerek basıncı azaltılmıştır. Soğuyan kapların içeriği huni yardımı ile 25 ml'lik balon jöjelere aktararak ultra saf su ile hacmine tamamlanmıştır.

Çizelge 5. 2 ICP-OES cihazının çalışma koşulları

| PARAMETRELER                | ÖLÇÜM DEĞERLERİ |
|-----------------------------|-----------------|
| GÜÇ                         | 1.45 kW         |
| PLAZMA AKIŞ HIZI (Ar)       | 15L/dk.         |
| YARDIMCI GAZ AKIŞI (Ar)     | 0.20 L/dk.      |
| SİSLEŞTİRİCİ GAZ AKIŞI (Ar) | 0.80 L/dk.      |
| RF JENERATÖRÜ               | 50/60 Hz        |
| POMPA HIZI                  | 1.5 ml/dk       |

Cihaz parametrelerine ve kalibrasyon çözeltisine göre analizi gerçekleştirilen numunelerin Ag içerikleri belirlenmiştir. Elde edilen veriler deneysel sonuçlar bölümünde verilmektedir. ICP-OES cihazında gerçekleştirilen analize ait çalışma parametreleri Çizelge 5.2’de yer almaktadır.

#### **5.2.4 Diferansiyel Termal Analiz/Termogravimetri Cihazı (DTA/TG)**

Fotobaşlatıcı ile fotoreaktörde üretilen hidrojenlerin termal özellikleri TA Instrument TGA Q500 termogravimetri cihazında incelenmiştir. Analizler 10°C/dk ısıtma hızında, 30-500°C sıcaklık aralığında, 60 ml/dk’lık azot atmosferi altında alüminyum kroze kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

#### **5.2.5 X-Işınları Difraktometresi (XRD)**

Fotobaşlatıcı ile fotoreaktörde üretilen hidrojenlerin kristalografik özellikleri X ışınlarının 45 kV ve 35 mA değerlerinde CuK $\alpha$  tüpünde üretildiği Rigaku Ultima IV X-Ray Diffractometer marka XRD cihazı ile incelenmiştir. Toz haldeki numuneler, alüminyum numune kabına boşaltılmış ve düz bir yüzey elde edilmesine dikkat edilerek analize hazırlanmışlardır. Analizi gerçekleştirilen jel numunelerinin XRD analizleri; 2°/dakika tarama hızı, 3.0°-80.0° arasında değişen difraksiyon açılarında kaydedilmiştir. Elde edilen XRD diyagramları deneysel sonuçlar bölümünde yer almaktadır.

#### **5.2.6 UV-VIS Spektrofotometre**

Hazırlanan hidrojenlerin kuarterner amonyum gruplarının yüzey yoğunluğu, floresan kompleksleşme ve UV-VIS spektroskopisine göre kolorimetrik yöntemle tayin edilmiştir.

#### **5.2.7 İnce Tabaka Kromatografisi (TLC)**

Silika jel 60 F254 TLC alüminyum plakalar uygun boyutlara getirilerek kullanılmıştır. TLC plaka analizinde "Camag 254 / 366 nm" UV lamba kullanılmıştır.

### **5.2.8 Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM)**

Taramalı elektron mikroskopu çalışmaları Boğaziçi Üniversitesi İleri Teknolojiler Ar-Ge Merkezi Laboratuvarlarında FEI Philips XL 30ESEM FEG marka cihazda 10 kV vakum modu altında analiz edilmiştir. SEM görüntüleri deneysel sonuçlar bölümünde yer almaktadır.

### **5.2.9 Liyofilizatör**

Hazırlanan hidrojellerin taramalı elektron mikroskobu çalışması öncesi numune hazırlama aşamasında, İstanbul Üniversitesi Orman Fakültesi Laboratuvarlarında bulunan Christ marka Freeze Dryer Alpha 1-2 LD plus cihazı kullanılmıştır.

## **5.3 Ekipmanlar**

### **5.3.1 254 ve 300 nm Lambalı Fotoreaktör Cihazı**

Fotobaşlatılmış polimerizasyon yöntemi ile üretilen hidrojeller, Kerman Laboratuvar Cihazları San. ve Tic. Ltd. Şti. firması tarafından özel olarak tasarlanan Rayonet merry-go-round tipi UV-fotoreaktör cihazında sentezlenmiştir. Cihazda, 7 adet şeffaf (254 nm-UV I) ve 6 adet beyaz (300 nm-UVII) lamba yer almaktadır. Her bir lamba 220 V ve 6 W gücündedir. Fotoreaktör içerisinde cam tüplük yer almaktadır. İki dalga boyunda ayrı ayrı çalışma yapılabilen fotoreaktör hava soğutmalı fan sistemi ile birlikte tasarlanmıştır.

UV fotoreaktörde üretilen hidrojellerden bir kısmı için fotoreaktör içerisine IKA marka manyetik karıştırıcı yerleştirilmiştir. Bu çalışmaya ait deney düzenekleri Şekil 5.1’de yer almaktadır.



Şekil 5. 1 Rayonet merry-go round tipi UV-fotoraktör cihazı

### 5.3.2 Fotoreaktör Cam Tüpler

Fotobaşlatıcılı polimerizasyon yöntemi ile üretilen hidrojenlerin üretiminde İldam Cam A.Ş. tarafından özel olarak tasarlanan kuvarz cam tüpleri kullanılmıştır.

## 5.4 Deneysel Yöntemler

### 5.4.1 ROMP Polimeri ve ROMP jel X Üretimi, Karakterizasyonu, Antimikrobiyal Etkinlik ve Toksikoloji Çalışmaları

#### 5.4.1.1 Monomer Sentezi

Monomer sentezinde öncelikle; furan ve maleik anhidritin oda sıcaklığında Diels-Alder katılması sonucunda beyaz okzanorbornen monomeri (Bileşik 1) elde edilmiştir. Daha sonra 3-bromopropil amin ile imid transformasyonu yapılarak Bileşik 2 elde edilmiştir. Bileşik 2' de bulunan brom grubu DABCO yapısındaki tersiyer amin ile oda sıcaklığında reaksiyona girmiş ve mono katyonik tuz elde edilmiştir (Bileşik 3). Çift katyonik yüklü

monomer sentezi için Bileşik 3 metil iyodür ile reaksiyona sokularak metanol-THF (7:3 v/v) karışımında çökmesi ve saflaştırılması sağlanmıştır. Monomer ve polimer sentezleri Şekil 6.1’de verilmektedir.

**Bileşik 1: Ekzo-7-okzabisiklo [2.2.1] hept-5-en-2,3-dikarboksilik anhidrit sentezi:** 63.0 g (642 mmol) maleik anhidrit, tetrahidrofuran içerisinde çözöldökdten sonra 48 mL (660 mmol) furan pipet ile ortama eklenerek 5 dakika karıştırıldıktan sonra reaksiyon durdurularak oda sıcaklığında 4 gün bekletilmiştir. Bekleme işleminin sonunda ortamda, maleik anhidrit furan ürünü olan beyaz okzanorbornen kristallerinin (Bileşik 1) oluştuğı görölmüştür. Kristaller soğuk THF ile yıkanarak saflaştırılmıştır. Reaksiyon verimi %78 ve Diels-Alder ürünün tamamı ekso-norbornen olarak elde edilmiştir.

**Bileşik 2: (3aR,4S,7R)-2-(3-bromopropyl)-3a,4,7,7a-tetrahydro-1H-4,7epoxyisoindole-1,3(2H)-dione] sentezi:** 2.7 gr (25 mmol) sodyum bikarbonat (NaHCO<sub>3</sub>) beher içerisinde konulduktan sonra üzerine 30 mL saf su ilave edilerek magnetik karıştırıcıda çözölməsi sağlanmıştır. Bu çözelti üzerine 7.13 gr (32 mmol) 3-bromopropilamin HCl ilave edilerek çözünmesi beklenmiştir. Berrak çözelti oluştuktan sonra üzerine havanda toz haline getirilmiş 5 gr (51 mmol) Bileşik 1 ilave edilmiştir. Karışım bir saat oda sıcaklığında karıştırıldıktan sonra filtrelenerek beyaz kristal yapıda malzeme elde edilmiştir. Elde edilen katı maddeler 20 mL saf su ve 20 ml dietileter ile birer kez yıkanmıştır. Kurutma işlemi için bir gece çeker ocak altında bekletilmiştir. Sentezin ikinci kısmında kullanılmak üzere hazır hale getirilmiştir [156].

0.36 gr (4 mmol) sodyum asetat tek boyunlu balon içerisinde konulduktan sonra üzerine 8 ml asetonitril ilave edilmiş, magnetik karıştırıcıda ısıtılarak çözölməsi sağlanmıştır. Sıcaklık 90°C’ye geldiğinde birinci aşamada hazırlanan ürünün hepsi ilave edilmiş, kalan maddeler az miktarda asetik anhidrit ile yıkanmış ve balon septumla kapatılarak 90°C sıcaklıkta üç saat karıştırılmaya bırakılmıştır.

Çözelti, içerisinde buz bulunan 250 mL’lik behere aktarılmış, üzerine 200 ml kloroform ilave edilerek çöktürme işlemi yapılmıştır. Oluşan karışım, ayırma hunisine alınarak fazların birbirinden ayrılması sağlanmıştır. Maddenin bulunduğu kloroformlu kısım daha yoğun olduğundan alt fazı oluşturmuştur. Alt faz alınarak %10’luk sodyum bikarbonat, tuzlu su ve su ile yıkanmıştır. Referans ürüne karşı TLC’de karşılaştırılmalı

analizi gereleştirilerek ürünün oluştuğu belirlenmiş ve saflaştırma işlemine geçilmiştir. Etilasetat: Hekzan (1:1) ile kolon kromatografisinde ürünün saflaştırılması gerçekleştirilmiştir. Kolondan alınan zlti döner buharlaştırıcıda zcsnden uzaklaştırıldıktan sonra petrolyumeter ilave edilerek sürekli çalkalanmıştır. alkalanma sırasında kristallerin hızlıca oluştuğu gözlenmiştir. Oluşan kristaller (Bileşik 2) petrol eteri ile  kez yıkanmış, petrol eteri uzaklaştırılarak vakum etüvünde kurutulmuştur.

**Bileşik 3 (Tek yüklü DABCO): (1-(3-((3aR,4S,7R)-1,3-dioxo-3a,4,7,7a-tetrahydro-1H-4,7-epoxyisoindol-2(3H)-yl)propyl)-1,4-diazabicyclo[2.2.2]octan-1-ium bromide)**  
**sentezi:** 0.46 gr DABCO (0.0041 mol) tek boyunlu reaksiyon balonuna konulduktan sonra üzerine 5 ml etilasetat ilave edilerek magnetik karıştırıcıda üzülmesi sağlanmıştır. Bu zlti üzerine 8 ml etil asetat içerisinde znen 0.85 gr (0.00297 mol) Bileşik 2 zltisi damla damla ilave edilmiş ve oda sıcaklığında reaksiyon bir gün süreyle srdrlmştir. Oluşan açık sarı renkteki katı madde santrifüj yöntemi kullanılarak etilasetat ile 5 kez yıkanarak azot altında kurutulmuştur.

**Bileşik 4 (ift yüklü DABCO): (1-(3-((3aR,4S,7R)-1,3-dioxo-3a,4,7,7a-tetrahydro-1H-4,7-epoxyisoindol-2(3H)-yl)propyl)-4-methyl-1,4-diazabicyclo[2.2.2]octane-1,4 diium bromide iodide)**  
**sentezi:** 0.1096 gr (0.000275 mol) Bileşik 3 (tek yüklü DABCO) tek boyunlu reaksiyon balonuna konulduktan sonra üzerine 10:3 (v/v) oranında metanol:tetrahidrofuran ilave edilerek magnetik karıştırıcıda üzülmesi sağlanmıştır. Bu zlti üzerine metiliyodrn (0.014 mol) metanoldeki (1 ml) zltisi damla damla ilave edilerek oda sıcaklığında alüminyum folya ile sarılı şekilde 2 gün bekletilerek reaksiyon devam ettirilmiştir. Santrifüj yöntemiyle 12:8 (v/v) oranında metanol:tetrahidrofuran karışımı ile 6 kez yıkanarak azot altında kurutulmuştur.

#### **5.4.1.2 ROMP Polimer (Teorik Molekül Ağırlığı 10,000 g/mol) Sentezi**

ROMP Jel X retiminde kullanılan katyonik okzanorbornen polimerlerinin sentezinde önce DABCO esaslı okzanorbornen monomeri (Bileşik 4) sentezlenmiştir. Polimerizasyon metodu olarak kontrollü polimerizasyon yöntemi ROMP uygulanmıştır. Monomer ve polimerin sentez şeması şekil 6.2'de gösterilmektedir.

Polimerizasyon için Grubbs ikinci jenerasyon katalisti kullanılmıştır. Ayrıca elde edilen polimerizasyonun verimine göre Grubbs üçüncü jenerasyon katalisti literatüre göre sentezlenerek uygulanmıştır [157]. Grubbs (III) katalist bromopiridin ile ticari olan Grubbs ikinci jenerasyon katalistin karıştırılması ve pentanda çöktürülmesi ile elde edilmektedir. Her iki katalist fonksiyonel grup, oksijen ve havaya dayanıklıdır. En önemli farkları, başlatıcı hızları monomerde bulunan fonksiyonel gruplara göre farklılık göstermesidir. Bu fark polimer zincir uzunlukları ve dağılımına etki etmektedir.

0.1 gr (0.00018 mol) Bileşik 4, 15 mL ağzı kapaklı cam şişeye konulduktan sonra üzerine 2 mL N,N-Dimetilformamit ilave edilerek magnetik karıştırıcıda çözünmesi sağlanmıştır. Bu çözelti üzerine Grubbs (III) (0.00001 mol) diklorometandaki (0.5 mL) çözeltisi ilave edilmiş ve reaksiyon 3 saat oda sıcaklığında sürdürülmüştür. Reaksiyon süresi bitiminde polimerizasyonu sonlandırmak amacıyla 1:1 oranında etilvinileter:metanol ilave edilerek 30 dakika magnetik karıştırıcıda karıştırılmaya devam edilmiştir. Çözelti 200 mL dietileter içerisinde çöktürülmüş, santrifüj işlemiyle üç kez dietileter ile yıkanarak azot altında kurutulmuştur.

#### **5.4.1.3 ROMP Jel Üretimi**

Bu grupta hazırlanan hidrojellerin sentezinde ROMP metodu kullanılarak sentezlenen katyonik polimer kullanılmıştır. Hidrojeller; AAm, BAAm, PEGDA ( $M_n=700$ ), APS ve TEMED'in farklı konsantrasyonlarda hazırlanan sulu çözeltilerinin farklı oranlarda karıştırılması ile hazırlanmıştır.

Örnek jel formülasyonu (ROMP Jel B) katı içeriğinde %10 katyonik ROMP polimeri bulunmaktadır. 100 ml su içeriğinde 12.5 g AAm, 1.5 g BAAm, 0.2 g PEGDA ( $M_n=700$ ) ve hızlandırıcı TEMED'den 20 ml yer almaktadır. 40 g/100 ml başlatıcı amonyum persülfatın ilavesi ile 10 saniyede jel oluşumu gerçekleşmiştir. ROMP esaslı hidrojellerin içeriklerine ait değerler Çizelge 6.1'de verilmiştir.

#### **5.4.1.4 ROMP Jel Antibakteriyal Etkinlik Çalışması**

Katyonik polimer esaslı hidrojellerin antimikrobiyal etkinlik çalışmasında kullanılan *E.coli* (ATCC 25922), *S.aureus* (ATCC 29213) ve *C.albicans* (ATCC 90028) bakterileri Acıbadem Üniversitesi Araştırma Laboratuvarı Kültür Koleksiyonu'ndan, kullanılan tüm kimyasallar ise Salubris Microbiological Culture Media® (SMCM®)'dan temin edilmiştir.

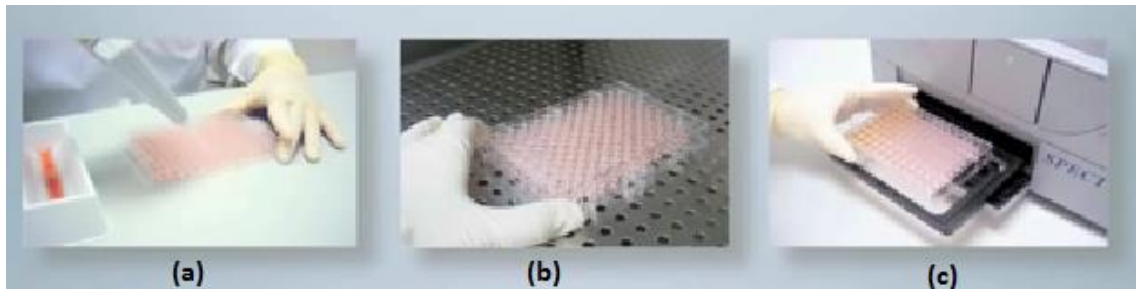
Bu çalışmada, nötralizasyon broth hazırlanarak otoklavlanmıştır. Kullanılacak her mikroorganizmadan taze pasaj alınmış ve bir gece 37°C'de inkübe edilmiştir. Üreyen mikroorganizmalardan PBS içinde 0.5 McF bulanıklığında süspansiyon hazırlanmıştır. Hidrojeller, çalışılacak mikroorganizma sayısına göre tek tek petri kaplarına konulmuştur. Petriye konulan hidrojellerin üzerine mikroorganizma süspansiyonundan 10 µl eklenmiştir. Petrinin kapağı kapatılarak 1 saat 37°C'de inkübe edilmiş, 1 saat sonunda her bir hidrojel ayrı ayrı mikrosantrifüj tüplerine aktarılarak üzerlerine reaksiyonu durdurmak için 1 ml nötralizasyon broth eklenmiştir. Ters yüz yaparak nötralizasyon broth ile hidrojelin etkin bir şekilde teması sağlanmıştır. Bu aşamadan sonra her farklı hidrojel ve mikroorganizma için 6 tüpe 200 µl PBS eklenmiş ve (nötralizasyon broth + hidrojel) bulunan tüpten 200 µl alınarak 1/2, 1/4, 1/8, 1/16, 1/32 ve 1/64 olacak şekilde seyreltmeler yapılmıştır. Seyreltme işleminden sonra her bir mikroorganizma için Luria Bertani agara (LB agar) hazırlanan 7 tüpten ekim yapılmıştır. Bir gece 37°C'de inkübe edilerek ertesi gün sonuçlar değerlendirilmiştir. Hidrojeller antimikrobiyal etkinlik çalışması için, 0.8 cm çapında ve 0.5 cm kalınlıkta kesilerek hazırlanmıştır.

#### **5.4.1.5 ROMP Jel in Vitro Toksisite Çalışması**

ROMP jel grubuna ait hidrojellerin in vitro çalışmaları, Yeditepe Üniversitesi Genetik ve Biyomühendislik Bölümü Laboratuvarları'nda gerçekleştirilmiştir. İn vitro toksisite çalışmaları, farklı konsantrasyondaki jellerin farklı zaman dilimlerindeki hücre canlılığı üzerine etkisi olup olmadığını araştırmak ve etki mekanizmasını belirlemek üzere ISO EN 10993-5:2009 standartlarına uygun olarak MTS yöntemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir [158].

Çalışmalarda, insan göbek kordon ven endotel hücre kültürü-insan umbilikan ven endotel hücreleri (HUVEC) Amerikan Tip Kültür Koleksiyonu'ndan (ATCC-CRL-1730, Virginia, USA) ticari olarak elde edilmiştir. Hidrojellerin sterilizasyon işlemi 15 dk UV ışığı altında gerçekleştirilmiştir.

Deneysel çalışmalar sırasında Dulbecco Eagle Minimum Essential Medium (L-Glutamine içeren DMEM, Gibco) kullanılmıştır. Besiyeri ortamına enfeksiyonları önleyici penisilin-streptomisin (Pen Strep, Gibco) veya antimikotik (Anti-Anti (100X), Gibco) ilave edilmiştir. Sığır cenin serumu Gibco firmasından temin edilmiştir. Dulbecco'nun fosfat tamponlu tuz çözeltisi (DPBS; w/o: kalsiyum, w/o: magnezyum) PAN Biotech'ten GmbH, dimetil sülfoksit Sigma-Aldrich'ten satın alınmıştır. Ayrıca, tetrazolyum tuzu (MTS) Promega şirketinden temin edilmiştir (CellTiter 96® Sulu MTS reaktif tuzu). Çalışmada Biosciences marka Cell Proliferation Cytotoxicity CCK-8 Assay kiti kullanılarak toksisite testi yapılmış ve kitin içinde belirtilen dalga boylarında spektrum alınmıştır (Şekil 5.2).



Şekil 5. 2 Hücre proliferasyon sitotoksikite deneyi kiti-CCK-8 şematik gösterimi. a)Numune hazırlama, b)İnkübasyon ve c)Absorbans ölçümü [159].

**Hücre Kültürü:** HUVEC ticari olarak temin edilmiş ve yüksek glikoz içerikli (4.5 g/L) %10FBS, %1 penisilin-streptomisin ve %1 antimikotik içeren DMEM (1X) içerisinde büyütülmüştür. Hücreler logaritmik büyüme fazına gelene kadar 37°C sıcaklıkta, %5 CO<sub>2</sub> ve %95 hava ortamında bulunan inkübatörde muhafaza edilmiştir.

**Hücre Canlılık Testi:** Polimerik malzemenin in vitro sitotoksikite çalışmasında, tetrazolyum tuzu tabanlı [3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-5-(3-carboxymethoxyphenyl)-2-(4-ulfophenyl)-2H-tetrazolium, iç tuzu (MTS)] hücre canlılığını değerlendirmek için bir renk ölçüm tekniği kullanılmıştır. Hücre canlılığını değerlendirmek için yapılmış olan MTS testinde, 96-kuyulu plakaların her bir kuyucuğunda 100 µl 5x10<sup>3</sup> hücre ekilmiş ve

24 saat boyunca inkübe edilmiştir. Daha sonra, %1.25 konsantrasyona kadar 50 µl polimer süspansiyon çözeltisi ortama eklenip farklı kuyularda 24 saat ve 72 saat inkübe edilmiştir. Farklı tip polimerlerin in vitro toksisite testi için belirli hücre çözelti konsantrasyonları (12.5, 8 ve 4 mg/mL) uygulanmıştır. Herbir zaman aralığı için MTS ölçümü yapılmış, süpernatant (üst faz) dikkatlice alınarak, 110 µL MTS çözeltisi plakalara eklenmiş ve 2 saat daha inkübe edilmiştir.

MTS testi sonuçları, her bir numune için 4 ardışık tekrar yapılarak ve her deney 2 defa tekrar edilerek elde edilmiştir. Canlı hücreler MTS çözeltisini, PMS varlığında mitokondrilerine alarak mitokondriyon aktivitesini ölçen mavi formazan kristallerinde metabolize etmektedirler. Daha sonra, manyetit-MTS içeren hücrelerin absorbans değeri kontrol hücrelerinin değerlerinden çıkarılarak gerçek sonuçlar elde edilmiştir.

Değerlendirme yapabilmek için negatif kontrol olarak toksik olduğu bilinen %20'lik DMSO ve hidrojel uygulanmayan %100 canlı kabul edilen pozitif kontrol grubu kullanılmıştır. 24 ve 72 saatlik inkübasyon sonrası Biosciences marka Cell Proliferation Cytotoxicity CCK-8 Assay kiti kullanılarak toksisite testi yapılmış ve kitin içerisinde belirtilen dalga boylarında spektrum alınmıştır.

Hidrojel uygulanan hücrelerdeki sonuçlar % hücre canlılık olarak ifade edilmiştir ve hidrojel uygulanmayan, %100 canlı kabul edilen pozitif kontrol grubu (Maksimal Viabilite, Max V) ile %0 canlı kabul edilen, %20'lik DMSO uygulanan negatif kontrol grubuna (Minimal Viabilite, Min V) göre eşitlik 5.1'de verilen formül kullanılarak hesaplanmıştır [160].

$$\% \text{ Hücre canlılık} = [(Test - Min V) / (Max V - Min V) \times 100] \quad (5.1)$$

#### **5.4.2 UV ile Kürleşebilen Katyonik $Q_{UV}$ -PEI Polimeri, $Q_{UV}$ -PEI-Jel Üretimi, Karakterizasyonu, Antimikrobiyal Etkinlik ve Toksikoloji Çalışmaları**

##### **5.4.2.1 UV ile Kürleşebilen Katyonik ve Metakril Fonksiyonlu Polietilenimin Sentezi ve Karakterizasyonu**

UV ile kürleşebilen katyonik ve metakril fonksiyonlu polietileniminin (PEI) sentezinde, PEI öncelikle ACOM ve Michael katılması ile reaksiyona sokularak UV ile fonksiyonel

hale getirilmiştir. Michael reaksiyonu primer amin ile akrilat çift bağlarının katılması şeklinde olmaktadır. Reaksiyon stokiyometrisine dikkat edilerek polietilenimindeki amin gruplarının hepsinin akrilat ile reaksiyona girmemesi sağlanmıştır. Serbest kalan amin grupları daha sonra metil iyodür ile reaksiyona sokularak katyonik tuzun elde edilmesinde kullanılmıştır.

PEI (1.0 g, 16.6 mmol monomer birimi) ve ACOM (1.0 gr, 4 mmol), içerisinde 15 ml etanol bulunan 100 ml'lik reaksiyon balonuna eklenerek karıştırılmıştır. Balon azotla temizlendikten sonra, şişenin ağzı septum ile kapatılarak gece boyunca oda sıcaklığında karıştırılmıştır. Daha sonra çözücü dönerli buharlaştırıcıda uzaklaştırılarak, metakril fonksiyonlu PEI daha çok nicel bir verimde viskoz bir ürün olarak elde edilmiştir.

#### **5.4.2.2 Q<sub>uv</sub>-PEI-Jel Üretimi ve Karakterizasyonu**

Bu grupta oluşturulan hidrojellerde çift yönlü antimikrobiyal etki hedeflenmiştir. Kullanılan polimer ve kimyasal olarak çöktürülen AgI ile etkinliğin artması planlanmıştır. Hidrojeller; UV ile kürleşebilen polietilenimin esaslı polimer, AAm, BAAM, AgNO<sub>3</sub> ve fotobaşlatıcı Irgacure 2959'un farklı konsantrasyonlarda hazırlanan sulu çözeltilerinin farklı oranlarda karıştırılması ile hazırlanmıştır.

Örnek formülasyon Q<sub>uv</sub>-PEI-Jel 2'nin hazırlanışı; katı madde içeriğinin ağırlıkça %9'u olacak şekilde polimer (0.2 g UV ile kürlenmiş katyonik polietilenimin), AAm (2.0 g), BAAM (0.025 g), AgNO<sub>3</sub> (0.01 g), 4 ml su içinde çözülmüştür. Daha sonra hazırlanan çözeltiliye fotobaşlatıcı Irgacure 2959'un stok çözeltisinden ilave edilerek (0.08 gr. Irgacure 2959, 20 ml saf suda çözülerek) UV reaktörde reaksiyon başlatılmıştır. Jelleşme N<sub>2</sub> altında, oda sıcaklığında 1 saatte gerçekleşmiştir. Jel formülasyonlarına ait bilgi Çizelge 6.9'da yer almaktadır.

Hazırlanan Q<sub>uv</sub>-PEI-Jellerinin karakterizasyonu için; FT-IR, XRD, TG/DTA, su tutma testi ve katyonik grupların tayini gerçekleştirilmiştir.

#### 5.4.2.3 Q<sub>UV</sub>-PEI-Jel Antibakteriyel Etkinlik Çalışması

Bu çalışmada kullanılan *E.coli* (ATCC25922) ve *S.aureus* (ATCC25923) bakterileri Yıldız Teknik Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü Tekstil-Antimikrobiyal Laboratuvarı Kültür Koleksiyonu'ndan, temin edilmiştir.

*E.coli* ve *S.aureus* 37°C'de gece boyunca inkübe edilmiş ve nutrient agar besiyeri ortamında muhafaza edilmiştir. Bakteriyel çözelti konsantrasyonları standardizasyonu için 590 nm (OD590)'da absorbans değeri okunmuştur [161]. 0.1 M PBS tamponunda hazırlanan *E.coli* ve *S.aureus* süspansiyonundan (pH 7.0, 10<sup>11</sup> CFU/ml) 100 ml alınarak, steril erlenmayerde bulunan 50 ml nutrient broth (sıvı besi ortamı) içerisine eklenmiştir. Hücreleri, 10<sup>6</sup> CFU/mL'lik bir konsantrasyon elde etmek için %0.9'luk NaCl çözeltisinden 10 ml eklenerek süspanse edilmiştir. Hidrojel kaplanmış yüzeylerin antibakteriyel etkinliğini incelemek için Airborne Test ve Disk Difüzyon yöntemi kullanılmıştır.

Airborne test için, *E.coli* ve *S.aureus* doymuş süspansiyonu, 5 dakika boyunca 4000 rpm'de oda sıcaklığında santrifüj edilmiştir. Hücreler, 10<sup>6</sup> CFU/mL'lik bir konsantrasyon elde etmek için % 0.9'luk NaCl içeren saf su içinde yeniden süspanse edilmiştir. *E.coli* (10<sup>6</sup> hücre/mL) süspansiyonu test yüzeyleri (hidrojel numuneleri) üzerine püskürtülerek yaklaşık 5 dakika kurutulmak üzere bekletilmiştir. Daha sonra, üzerine bakteri uygulanmış test örnekleri boş steril polistiren petri kapları (VWR, 100 mm x 15 mm) içine yerleştirilmiştir. Otoklavlanıp, 37°C'ye soğutulmuş nutrient agar, örneklerin üzerinden petriye dökülmüş ve 37°C'de bir gece boyunca inkübe edilerek daha sonrasında koloniler sayılmıştır. Kontrol olarak Ag nanopartikülü ve Q<sub>UV</sub>-PEI polimeri içermeyen jel örnekleri kullanılmıştır.

Sonuçlar aşağıdaki denkleme göre ifade edilmiştir;

$$\% \text{ölüm} = \frac{\text{Kontrol koloni sayısı} - \text{test üzerindeki koloni sayısı}}{\text{Kontrol koloni sayısı}} \times 100 \quad (5.2)$$

Disk difüzyon yönteminde, bakteri stok çözeltisi (10<sup>6</sup> CFU/mL) 100 µL nutrient agar dökülmüş petri üzerine eklenmiştir. Jel numuneleri besi ortamına temas edecek şekilde yerleştirilmiş ve 37°C'de bir gece boyunca inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrası hidrojel numunelerinin etrafında oluşan zone çapları incelenmiştir.

Hidrojellerin, *E.coli* ve *S.aureus* üzerindeki antimikrobiyal etkinlik çalışmaları, herbir hidrojel numunesi için üç tekrar yapılarak gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar bu tekrarların ortalaması alınarak elde edilmiştir.

#### **5.4.2.4 Q<sub>UV</sub>-PEI Jel Toksisite Çalışması**

Q<sub>UV</sub>-PEI-Jel grubuna ait hidrojellerin insan vücuduyla olan uyumunun belirlenebilmesi için yapılan in vitro toksisite çalışmaları Yeditepe Üniversitesi Genetik ve Biyomühendislik Bölümü Laboratuvarları'nda gerçekleştirilmiştir. Test prosedürü bölüm 5.4.1.5 ROMP jelin in vitro toksisite çalışması kısmında açıklanan prosedür ile aynıdır.

#### **5.4.3 Hidrojel Yüzeylerindeki Katyonik Grupların Tayini**

ROMP esaslı ve Q<sub>UV</sub>-PEI polimerlerini içeren hidrojellerin katyonik grup tayini sodyum floresein kullanılarak yapılmıştır. Çalışmada, 1 cm çapında ve kalınlığında kesilen hidrojeller ilk olarak 10 dakika distile su içinde hazırlanan %1 floresein sodyum tuzu çözeltisi içinde daldırılmıştır. Bu koşullar altında, floresan moleküller negatif yüklerinden dolayı katyonik gruplara güçlü bir şekilde bağlanmaktadır. Reaksiyona girmemiş boyar moleküller distile su ile iyice durulanarak uzaklaştırılmıştır. Bağlı floresan molekülleri daha sonra tek değerlikli setiltrimetilamonyum klorür solüsyonuna, (setiltrimetilamonyum klorür, C<sub>19</sub>H<sub>42</sub>N<sup>+</sup>Cl<sup>-</sup>, %0.25 damıtılmış su içinde), 9mL'de daldırılmış ve 15 dakika süreyle sonikasyon uygulanmıştır. Bu uygulamadan sonra cam yüzeyler çözelti içerisinden çıkarılmış ve bu çözelti üzerine 1 ml fosfat tampon çözeltisi (100 mM, pH 8) ilave edildikten sonra elde edilen solüsyonun absorban değeri 501 nm'de ölçülmüştür. Floresein konsantrasyonu, yok olma katsayısı için 77000 M<sup>-1</sup>.cm<sup>-1</sup> bir değer alınarak hesaplanmıştır. Bu konsantrasyon değerlerinden sonra katyonik grupların yoğunluğu elde edilmiştir [43]. Ölçülen yükler floresein ile iyonik bir kompleks oluşturma yeteneğine sahip kuaterner amonyum gruplarına karşılık gelenlerdir.

#### **5.4.4 Hidrojellerin Şişme Testleri**

Hazırlanan hidrojellere, oda sıcaklığında (sabit 21°C'de) su tutma testleri uygulanmıştır. Bu amaçla kuru hidrojeller hassas terazi yardımıyla tartılarak içerisinde damıtık su

bulanan behere konularak şişmeye bırakılmıştır. Hidrojel örneğinin suya bırakıldığı an  $t=0$  olarak alınmış ve belirli zaman aralıklarında sudan çıkarılan hidrojin dış yüzeyindeki su kurularak aynı duyarlılıkla tartılmıştır. Sabit kütle değerleri elde edilene kadar tartıma devam edilmiş ve değişmeyen değerler elde edildiğinde şişmenin dengeye geldiği kabul edilerek deney sonuçlandırılmıştır. Denge durumuna ulaşıldığında şişmiş hidrojin en büyük şişme değerine sahip olduğu kabul edilir.

Hidrojellerin %su tutma miktarları Eşitlik 5.3'e göre gravimetrik olarak hesaplanmıştır [162, 163].

$$\%Su \text{ tutma} = [(m_t - m_o) / m_o] \times 100 \quad (5.3)$$

Bu eşitlikte,  $m_t$  (g) herhangi bir zamandaki tartılan hidrojel ağırlığını;  $m_o$  (g) ise, başlangıçtaki kuru hidrojin ağırlığını göstermektedir.

#### **5.4.5 Derek Nexus Programı ile Öngörülü Toksisite Çalışması**

Sentezleri gerçekleştirilen ve antimikrobiyal etkinlik çalışması yapılan hidrojellerin in vitro hücre toksikoloji çalışmalarına başlamadan önce, Lhasa firmasına ait Derek (Deductive estimate of risk from existing knowledge-riskin mevcut bilgidan yola çıkarak tımdengelim tahmini) Nexus bilgisayar programı ile antimikrobiyal polimerlerin toksikoloji tahmin çalışmaları gerçekleştirilmiştir.

Lhasa firması (Leeds, Yorkshire, UK) ilaç, kozmetik ve kimya endüstrilerine veri paylaşımı yaparak projelere destek olan bir kuruluştur. Firma, oluşturduğu bilgi tabanlı sistemler ile kullanıcılara yardımcı olmaktadır. Lhasa Limited'in kimya, ilaç ve bu alanlarla ilgili bilimler üzerinde daha özel odaklanma yapan bilgi yönetimi, bilgi tabanlı destekler ve ilişkili veri tabanlarında geniş araştırmaları mevcuttur. Ürünlerinin sürekli gelişimi için endüstri, akademi ve düzenleyici kişilerle ortak projeler yürütmektedir. Bu amaç için geliştirilmiş yazılımlar ve çalışma alanları aşağıdaki gibidir;

- Derek Nexus; toksisite tahmin sistemi,
- Sarah Nexus; mutajenite tahmini için istatistiksel sistemi,
- Vitic Nexus; kimyasal data ve bilgi yönetimi,
- Meteor Nexus; metabolik akibet tahmin sistemi,
- Zeneth; zorlanmış bozunma ürünleri tahmini sistemidir.

Derek Nexus programı, ilgili bileşikteki potansiyel toksisitenin erken bulunmasını sağlamaktadır. Program, yapının toksisitesi hakkında bilgi vermek için; kompleks bileşikler, çelişkili veriler ve muhakeme kuralları konusunda uzman kişiler tarafından hazırlanmıştır. Genel olarak Derek programı; moleküllerin, toksisite, hassasiyet etkileri, potansiyel deri ve göz tahrişi tahmini için kullanılmaktadır [164].

Derek Nexus tarafından verilen tahminler; yapı aktivite ilişkisinin grafiksel açıklaması, gelişim için gerekçe, bilinen toksisite verisi ve anahtar referanslar ile desteklenmiştir. Sağlam ve gerekçeli tahminler oluşturmanın yanı sıra kullanıcı bilgilerini tamamlayıcı özelliği de bulunmaktadır.

Derek Nexus programı yaygın olarak; GTI (genotoksik safsızlık) değerlendirmesi ve GTI yönetimi için ilaç sanayisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Derek Nexus kuruluşların ICH M7 gereksinimlerinin yarısını sağlamakta ve desteklemektedir.

Derek Nexus programının iki aşamalı işlem özelliği bulunmaktadır. Bunlardan ilki yüksek seviyeli öngörüm, ikincisi ise derinlemesine kalite sağlama özelliğidir. Uygulamada, kullanıcıların basit bir potansiyel toksisite tahmininde bulunarak başlamalarını sağlamaktadır. Ayrıca kullanıcıların ihtiyaç duyması halinde daha detaylı bilgi içeren uzman özeti için sorgulama yapabilmektedirler.

Hidrojel formülasyonlarında kullanılan polimerlerin (ROMP esaslı ve Q<sub>UV</sub>-PEI) toksisite öngörü çalışması Derek Nexus programı deneme sürümü versiyon 4.0.5 (LHASA Limited, Leeds, UK, Derek KB 2014 1.0) ile gerçekleştirilmiştir. Programın tahmin çalışması, benzer moleküllerin insan, *E.coli* ve *Salmonella typhimurium* üzerindeki sonuçları arasında gerçekleştirmiştir. Cilt ve göz tahriş potansiyeli, genotoksisite ve üremeye etkileri değerlendirilmiştir.

#### **5.4.6 İstatiksel Değerlendirmeler**

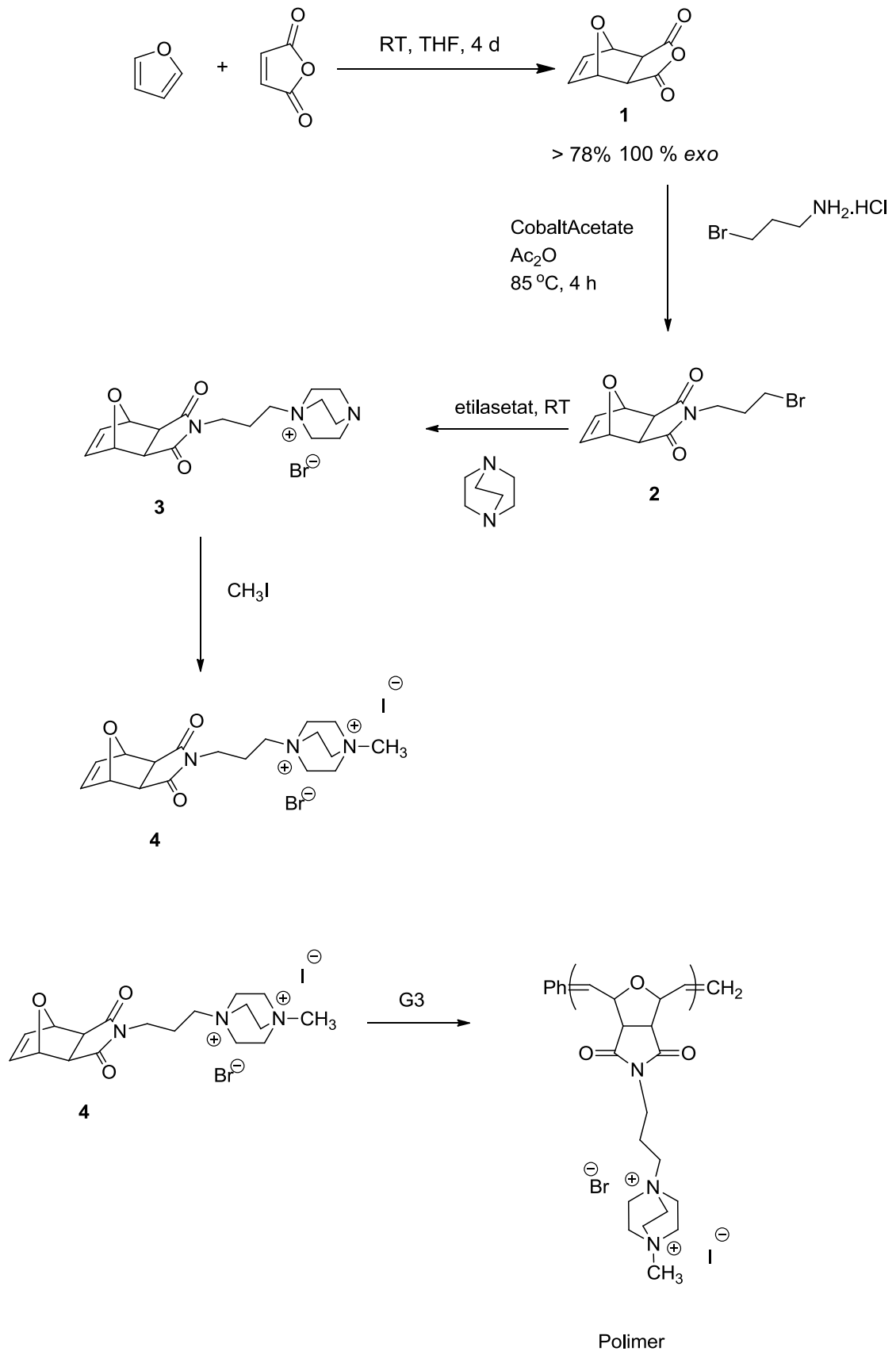
İn vitro toksisite testi sonucunda seçilen veriler arasındaki yüzde canlılık değerlendirmesi ve ilgili ortalamanın standart hatası ( $\sigma_M$ : Standart Error of Mean-ortalamanın standart hatası) MS Excel (MS Office 2007) kullanılarak hesaplanmıştır.

### DENEYSEL SONUÇLAR

#### 6.1 ROMP Polimeri ve ROMP Jel X Üretimi, Karakterizasyonu, Antimikrobiyal Etkinlik ve Toksikoloji Çalışmaları

##### 6.1.1 ROMP Esaslı Monomer ve Polimerlerin Sentez ve Karakterizasyonu

ROMP esaslı monomer ve polimer sentezi sırasında öncelikle, Furan ile Maleik Anhidrit Diels-Alder reaksiyonu sonucu ekzo-7-okzabisiklo[2.2.1]hept-5-en-2,3-dikarboksiklik anhidrid (Bileşik 1) oluşturulmuş ve beyaz kristaller elde edilmiştir. Karakterizasyon kapsamında  $^1\text{H}$  NMR analizi yapılmış ve analiz sonucu elde edilen ürünün ekzo yapıda olduğu görülmüştür. Monomer sentezi kobalt asetat prosedürü ile 3-bromopropilamin reaksiyona sokularak imid transformasyonu yapılmış ve Bileşik 2 sentezlenmiştir. Şekil 6.1’de monomer ve polimerlerin sentez şemaları yer almaktadır.



Şekil 6. 1 Çalışma kapsamında gerçekleştirilen ROMP monomer ve polimerlerin sentez şeması

Molekül ağırlığı ve dağılımı kullanılan katalist ve monomer konsantrasyonuna göre ayarlanabilmektedir. Çalışma kapsamında 10.000 ve 3.000 gram/mol ağırlığında polimerler sentezlenmiştir. Ancak 3.000 molekül ağırlığındaki polimerler ile istenen özellikte hidrojel elde edilememiştir. 10.000 molekül ağırlığı sentezi için katalist miktarı ve monomer konsantrasyonu ile polimerizasyon derecesinin hesaplanması aşağıda verilmektedir.

10.000 g.mol<sup>-1</sup> ortalama molekül ağırlığına sahip olan Bileşik 4 içeren monomerin molekül ağırlığı hesaplanması aşağıdaki gibidir. Bu kapsamda öncelikle polimerizasyon derecesi (PD) hesaplanmıştır. PD, belirlediğimiz molekül ağırlığına sahip polimer zincirindeki monomerlerin ortalama sayısını vermektedir. 10.000 g.mol<sup>-1</sup> ortalama molekül ağırlığına sahip olan Dabco esaslı polimerin PD değeri;

Bileşik 4 içeren monomerin molekül ağırlığı (M<sub>A</sub>) = 539,94 g.mol<sup>-1</sup>

Grubbs III katalistinin molekül ağırlığı (M<sub>A</sub>) = 884,98 g.mol<sup>-1</sup>

$$PD = \frac{\text{Polimerin molekül ağırlığı} \left( \frac{g}{mol} \right)}{\text{Monomerin molekül ağırlığı} \left( \frac{g}{mol} \right)} \quad (6.1)$$

$$PD = 10000 / 539,94 \quad (6.2)$$

$$PD = 18,520 \sim 18 \quad (6.3)$$

Sentez için dabco grubu içeren okzanorbornen monomerinden 0,2 g (0,475 mmol) elde ettiğimiz PD değerinden yola çıkarak sentez Bileşik 4 içeren okzanorbornen monomerinden 0.1 gr (0,00018 mol) alınmıştır. Elde edilen PD değerinden yola çıkarak kullanılacak olan Grubbs III katalist miktarı belirlenmiş ve 10.000 g.mol<sup>-1</sup> molekül ağırlığındaki Bileşik 4 içeren polimer için gerekli miktarlar hesaplanmıştır;

$$PD = (\text{monomer}) / (\text{katalist}) \quad (6.4)$$

$$18, 520 = 0,00018 / (\text{katalist}) \quad (6.5)$$

$$[\text{katalist}] = 0,000010 \text{ mol} \quad (6.6)$$

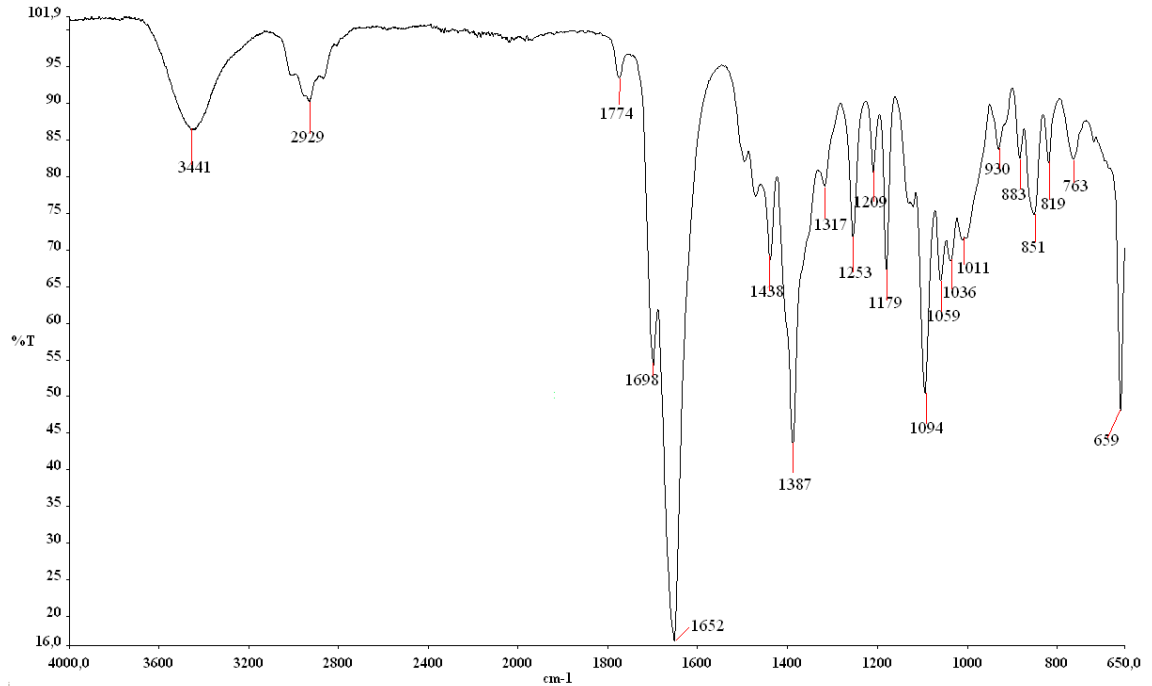
Kullanılacak olan Grubbs (III) katalist miktarı (g) ;

$$0,000010 = \frac{\text{Kullanılacak olan Grubbs III katalist miktarı (g)}}{884,98 \text{ (g/mol)}} \quad (6.6)$$

Kullanılacak olan Grubbs (III) katalist miktarı (g) = 0,0088 g olarak hesaplanmıştır.

ROMP esaslı polimerlerin yapısal ve fiziksel analizlerinin belirlenebilmesi amacı ile FTIR ve NMR analizleri yapılmıştır.

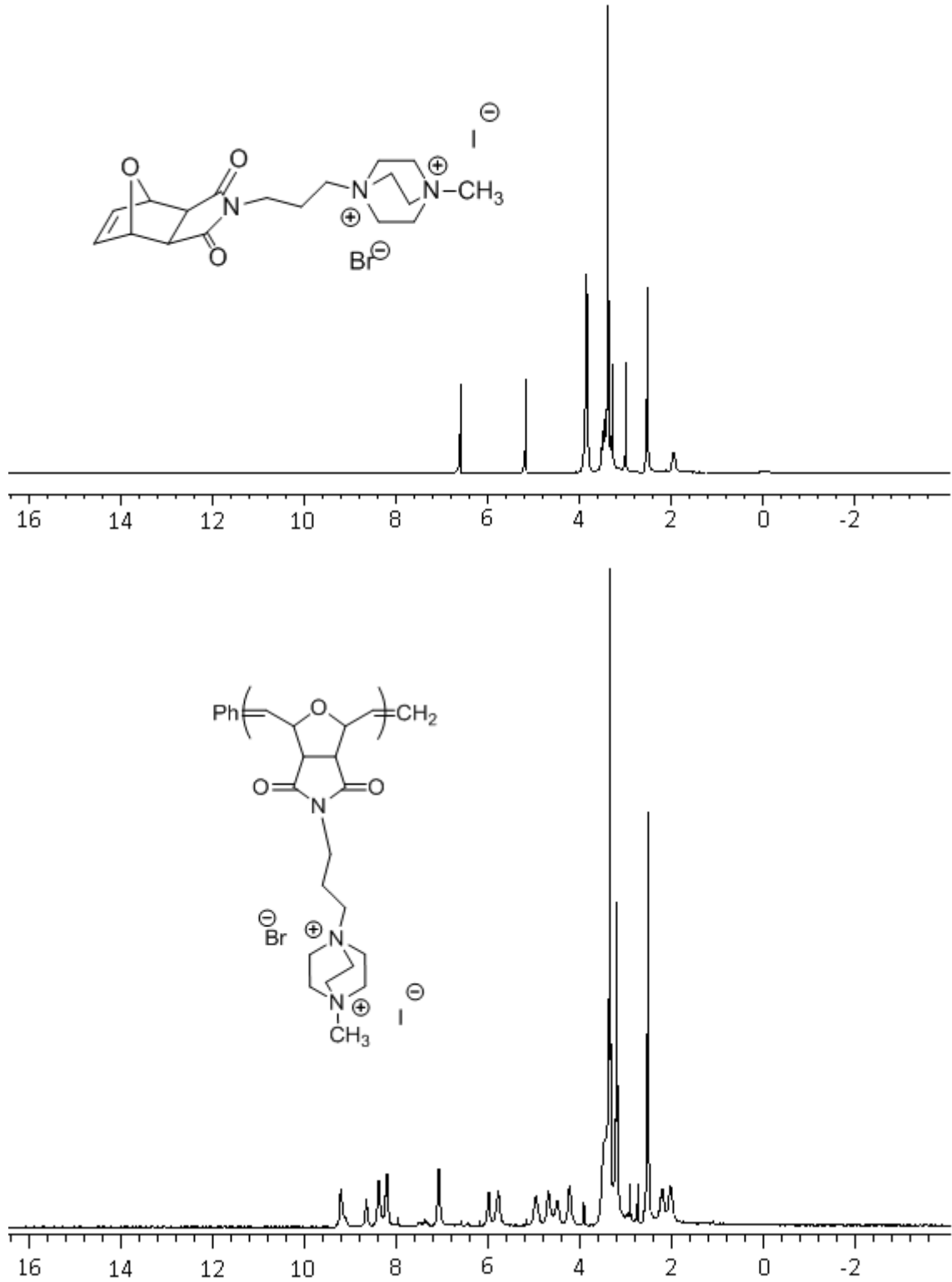
10.000 g.mol<sup>-1</sup> ortalama molekül ağırlığına sahip olan polimerin 4000-650 cm<sup>-1</sup> dalga boyları arasındaki fonksiyonel bağ grup özellikleri FT-IR analiziyle incelenmiştir. Şekil 6.2’de verilen FTIR spektrumları incelendiğinde; 3441 cm<sup>-1</sup>’de (N-H) gerilme, 2929 cm<sup>-1</sup>’de (C-H) gerilme, 1698 cm<sup>-1</sup>’de (C-N) [47] alkan eğilme, 1253 cm<sup>-1</sup>’de (C=N<sup>+</sup>) [165], 1179 cm<sup>-1</sup> ve 851 cm<sup>-1</sup>’de (C-O), 1094 cm<sup>-1</sup>’de (C-N) gerilme ve 659 cm<sup>-1</sup> (C-Br) gerilme [166] yapıları gözlenmektedir.



Şekil 6. 2 ROMP esaslı katyonik polimerin FTIR spektrumu

Dabco-okzanorbornen monomeri ve polimerinin <sup>1</sup>H NMR spektrumu Şekil 6.3’de yer almaktadır. <sup>1</sup>H NMR spektrumu incelendiğinde, okzanorbornen halkası polimerleştğinde, 5.0 ve 6.2 ppm’de gelen monomer olefin proton pikleri kaybolmuş,

polimer yapısında bulunan olefin proton sinyalleri 5.8-5.6 ppm'de geniş olarak geldiği gözlemlenmiştir [167].



Şekil 6. 3 Dabco-okzanorbornen monomeri ve polimerinin <sup>1</sup>H NMR spektrumu.

### 6.1.2 ROMP Jel Üretimi

ROMP esaslı katyonik polimer içeren gruba ait hidrojellerin sentezi serbest radikal polimerizasyonu yöntemi kullanılarak oda koşullarında gerçekleştirilmiştir. Şekil 6.4’de jel formülasyonunun şematik olarak gösterimi yer almaktadır.

Bu gruptaki hidrojellerin hazırlanmasında; monomer olarak AAm, yardımcı monomer olarak BAAM, çapraz bağlayıcı olarak PEGDA ( $M_n=700$ ), başlatıcı olarak APS ve hızlandırıcı olarak TEMED kullanılmıştır. APS stok çözeltisi (4.0 g APS/20 ml) ve TEMED stok çözeltisi (4.0 ml TEMED/20 ml) distile suda hazırlanmıştır. Çizelge 6.1’de verilen hidrojel içeriklerinde; AAm (xg/100ml), BAAM ( $\times 10^{-3}$ g/100ml), PEGDA 700 (xg/100ml), APS (xg/100ml), TEMED (xml/100ml) katsayılarına göre verilmiştir. Tüm hidrojeller başlatıcı amonyum persülfatın eklenmesi ile 10 saniye içinde jelleşmiştir.

Çizelge 6. 1 ROMP esaslı hidrojellerin içerikleri

| HİDROJEL KODU | POLİMER<br>%KATI<br>İÇERİK | AAm<br>(g) | BAAM<br>(g) | PEGDA<br>( $M_n=700$ )<br>(g) | APS<br>(g) | TEMED<br>(ml) |
|---------------|----------------------------|------------|-------------|-------------------------------|------------|---------------|
| ROMP JEL A    | 10.0                       | 12.5       | 1.5         | -                             | 40.0       | 20.0          |
| ROMP JEL B    | 10.0                       | 12.5       | 1.5         | 0.2                           | 40.0       | 20.0          |
| ROMP JEL C    | 2.5                        | 12.5       | 3.0         | 0.1                           | 40.0       | 20.0          |
| ROMP JEL D    | 10.0                       | 25.0       | 3.0         | 0.1                           | 40.0       | 20.0          |
| ROMP JEL E    | -                          | 12.5       | 1.5         | 0.1                           | 40.0       | 20.0          |
| ROMP JEL B 1  | 5.0                        | 12.5       | 1.5         | 0.2                           | 40.0       | 20.0          |
| ROMP JEL B 2  | 12.5                       | 12.5       | 1.5         | 0.2                           | 40.0       | 20.0          |
| ROMP JEL B 3  | 10.0                       | 12.5       | 1.5         | 0.2                           | 40.0       | 20.0          |
| ROMP JEL D 1  | 10.0                       | 25.0       | 3.0         | -                             | 40.0       | 20.0          |

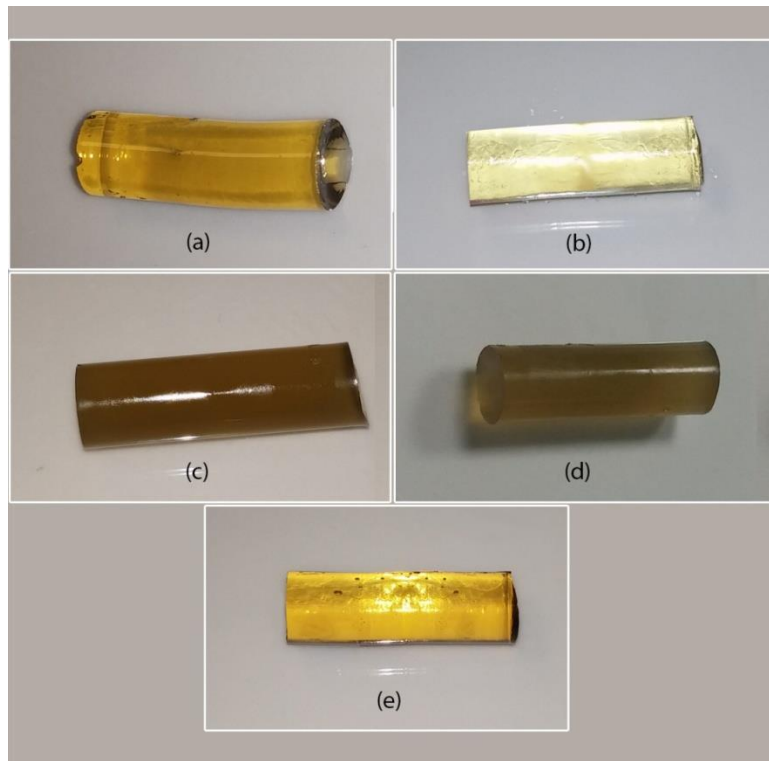
Çizelge 6.1’de yer aldığı gibi Romp Jel B 3’ün içerik ve hazırlanışı Romp Jel B ile aynıdır. Ancak Romp Jel B 3 jel formunda hazırlandıktan sonra 40°C’de vakum etüvünde bünyesindeki tüm su uzaklaşıp sabit tartıma gelene kadar bekletilmiştir. Hazırlanan bu jel ile bünyedeki suyun ve jellerde bulunan gözenek yapısının antimikrobiyal etkinlik

üzerine olan etkisini karşılaştırmak hedeflenmiştir. Çalışma sonuçlarına ait detaylı bölüm 6.1.4 Romp Jel antimikrobiyal etkinlik sonuçları kısmında verilmiştir.



Şekil 6. 4 ROMP Jel oluşumunun şematik gösterimi.

Farklı görünüm ve yapıdaki ROMP hidrojellerine ait görüntüler Şekil 6.5’de verilmiştir.



Şekil 6. 5 Katyonik polimer (ROMP) esaslı bazı hidrojellerin görüntüsü. (a)Romp Jel A(b) Romp Jel B 1, (c)Romp Jel B 2, (d)Romp Jel B 3 ve (e)Romp Jel D 1

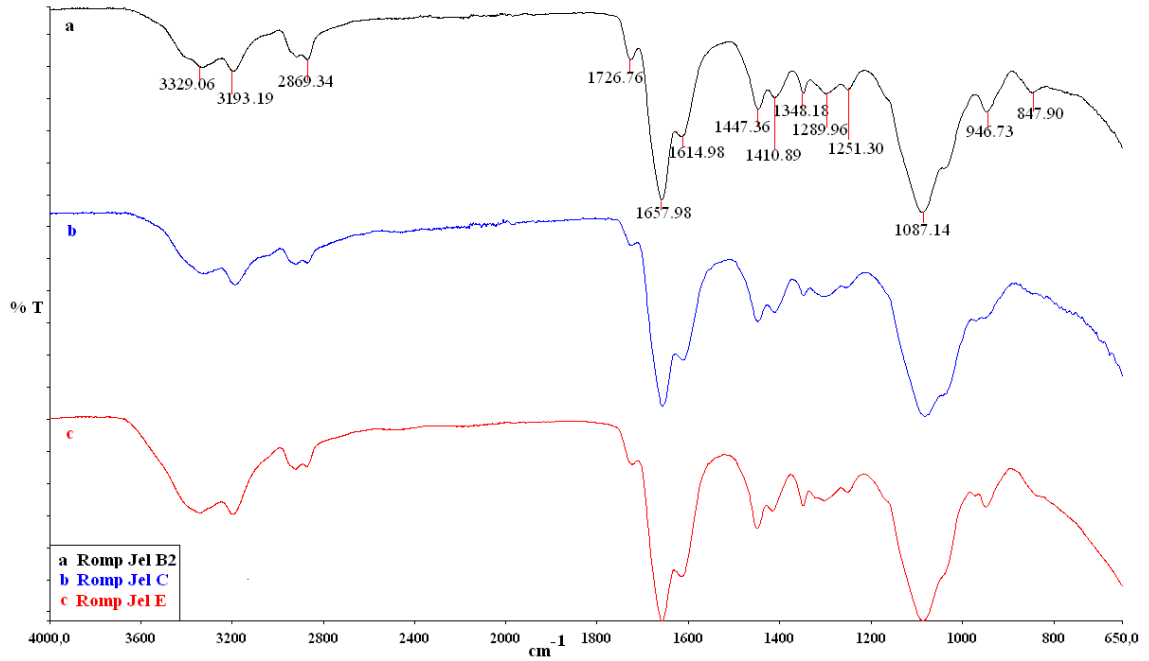
### 6.1.3 ROMP Jel Karakterizasyonu

ROMP esaslı katyonik polimerlerle sentezlenen birinci grup hidrojellerin karakterizasyonu için; FT-IR, su tutma testi, katyonik grupların tayini, antimikrobiyal etkinlik ve hücre toksisite çalışmaları gerçekleştirilmiştir.

#### 6.1.3.1 FT-IR Analizi

Hazırlanan hidrojellerin kimyasal yapısını aydınlatmak için gerekli spektroskopik incelemeler FT-IR spektrometresi ile yapılmıştır. Bu amaçla çapraz bağlı kopolimerlerin spektrumları 4000-650  $\text{cm}^{-1}$  dalga sayısı aralığında alınmıştır.

ROMP esaslı hidrojellerin karşılaştırmalı FTIR spektrumları Şekil 6.6'da gösterilmektedir. FTIR spektrumları incelendiğinde; 3329.66  $\text{cm}^{-1}$  ve 3193.19  $\text{cm}^{-1}$ 'de (O-H) ve (N-H) gerilme, ayrıca 3000-3600  $\text{cm}^{-1}$  arasındaki geniş bant (N-H) gerilmelerini göstermektedir [74]. 2869.34  $\text{cm}^{-1}$  de (C-H) gerilme [168], 1726.76  $\text{cm}^{-1}$ 'de (C=O), 1087.14  $\text{cm}^{-1}$  ve 946.73  $\text{cm}^{-1}$  de (C-O) yapıları gözlenmektedir.

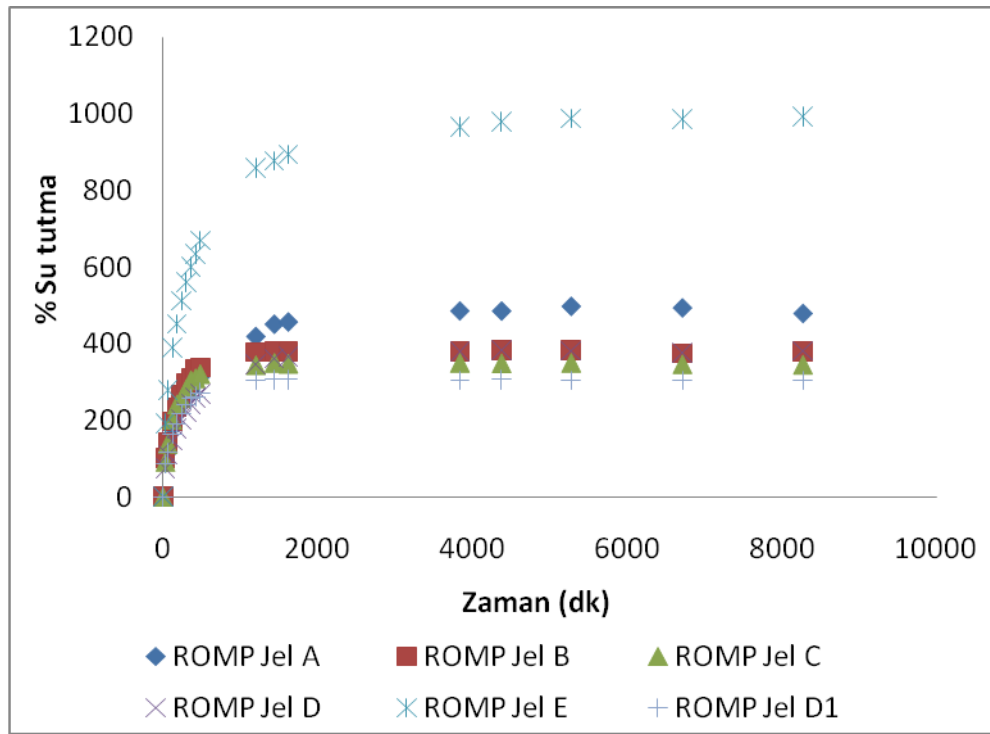


Şekil 6.6 ROMP hidrojellerin karşılaştırmalı FT-IR spektrumu. a)Romp Jel B2, b)Romp Jel C ve c)Romp Jel E

### 6.1.3.2 Şişme Testi

ROMP Jellerin şişme davranışlarının incelenmesi için hidrojellere sabit sıcaklıkta su tutma testleri uygulanmıştır. Kuru hidrojellerin suya bırakılma anı "0" olarak alınmıştır ve belirlenmiş süre aralıklarında sudan alınan örneklerin yüzeyindeki su kurularak tartımları gerçekleştirilmiştir.

ROMP Jel grubuna ait hidrojellere uygulanan şişme testleri sonucunda hidrojeller dengeye gelerek sabit bir şişme değerine ulaşmışlardır. Oluşturulan şişme izotermeleri, elde edilen sonuçlar ile % su tutma-t grafikleri çizilerek Şekil 6.7’de gösterilmiştir.



Şekil 6. 7 ROMP hidrojellerinin şişme özelliklerinin zamanla değişimi

Şekil 6.7’de görüldüğü gibi tüm hidrojeller ilk saatlerde hızlı şişmiş, şişme 8 saat sonra yavaşlamıştır. Jellerdeki kütlece artış 5280 dakikadan 8280 dakikaya kadar geçen zaman aralığında ciddi bir değişime uğramamıştır. Hazırlanan tüm jel sistemlerinde bu durum aynı şekilde gözlenmiştir. Çizelge 6.2’de ROMP esaslı hidrojellerin içerikleri ile denge anındaki %şişme değerleri yer almaktadır.

Çizelge 6.2 incelendiğinde, şişme değerlerinin %350 ile %500 arasında değiştiği görülmektedir. Ancak ROMP esaslı katyonik polimeri içermeyen hidrojelde (ROMP Jel E) % şişme değerinin diğerlerinden farklı olarak %994.7 olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca

hidrojel sistemlerinde artan ROMP esaslı polimerin içeriği ile %şişme değerinin azaldığı görülmektedir. Polimerin yapıya girmesi, jel sistemindeki çapraz bağ yoğunluğunu arttırarak suyun absorpsiyonunun azalmasına sebep olmuştur [169]. Literatürde yer alan çalışmalarda, çapraz bağ yoğunluğundaki artışın yapıya geçen su kütlesi miktarını azalttığı belirtilmiştir [170].

AAm ve BAAm miktarlarının iki katına çıkarıldığı ROMP Jel D hidrojelde elde edilen dengedeki %S<sub>d</sub> değeri ROMP Jel B ile yakın olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca PEGDA içerikli hidrojin (ROMP Jel B) PEGDA içermeyen hidrojele (ROMP Jel A) oranla daha düşük şişme göstermesi, hidrojin yapısında bulunan PEGDA moleküllerinin suyun hidrofilik gruplarla etkileşimini engellemesi ve çapraz bağlı yapının gözeneklerinde bulunan PEGDA nedeniyle suyun difüzlenebileceği boşlukların azalması şeklinde açıklanabilmektedir [171].

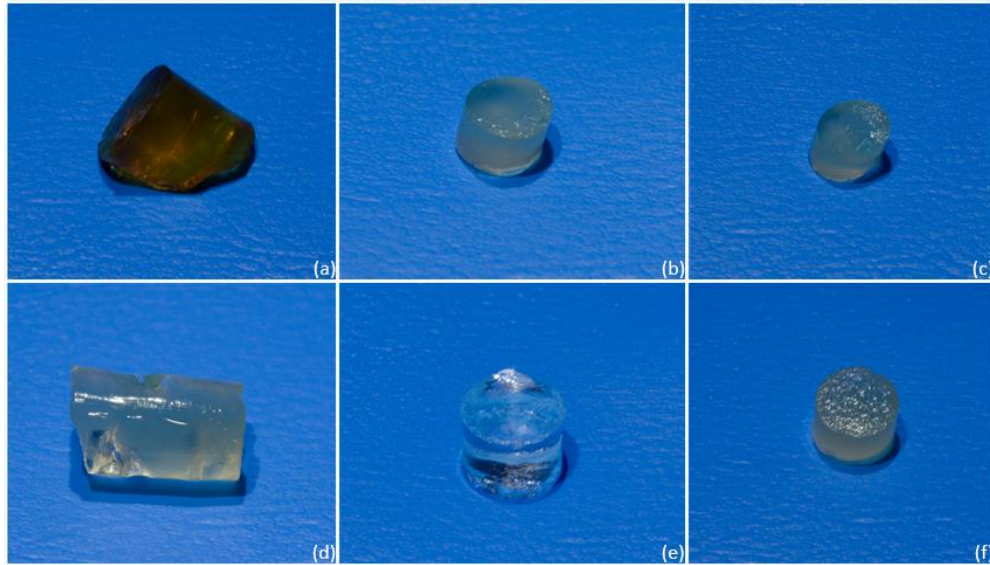
Çizelge 6. 2 ROMP esaslı hidrojellerin içerikleri ile %şişme değerlerinin karşılaştırmalı verileri

| HİDROJEL KODU | ROMP<br>POLİMER<br>%(ağ/ağ) | AAm<br>(g) | BAAm<br>(g) | PEGDA<br>(Mn=700)<br>(g) | %ŞİŞME<br>DEĞERİ |
|---------------|-----------------------------|------------|-------------|--------------------------|------------------|
| ROMP JEL A    | 10.0                        | 12.5       | 1.5         | -                        | 477.8            |
| ROMP JEL B    | 10.0                        | 12.5       | 1.5         | 0.2                      | 381.2            |
| ROMP JEL C    | 2.5                         | 12.5       | 3.0         | 0.1                      | 345.1            |
| ROMP JEL D    | 10.0                        | 25.0       | 3.0         | 0.1                      | 381.0            |
| ROMP JEL E    | -                           | 12.5       | 1.5         | 0.1                      | 994.7            |
| ROMP JEL B 1  | 5.0                         | 12.5       | 1.5         | 0.2                      | *                |
| ROMP JEL B 2  | 12.5                        | 12.5       | 1.5         | 0.2                      | *                |
| ROMP JEL B 3  | 10.0                        | 12.5       | 1.5         | 0.2                      | *                |
| ROMP JEL D 1  | 10.0                        | 25.0       | 3.0         | -                        | 304.4            |

\*Belirtilen jeller için şişme testi gerçekleştirilememiştir.

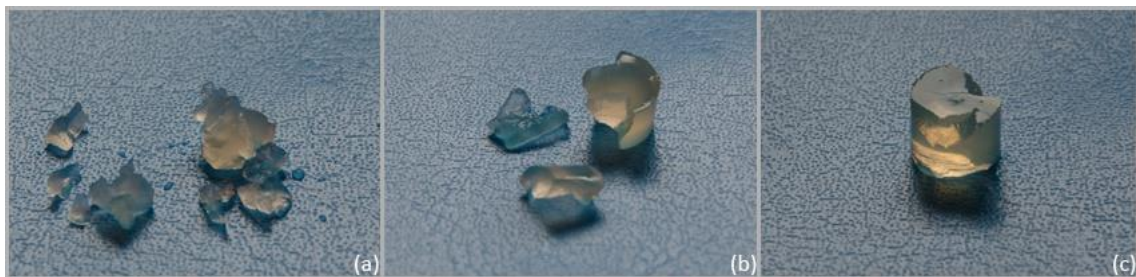
Suda bekletilen hidrojellerin şişme testleri sonucunda dengeye gelerek sabit bir şişme değerine ulaştıkları zamanda alınan görüntüleri Şekil 6.8’de verilmektedir.

Şekil 6.8’de görüldüğü üzere, ROMP Jel A, ROMP Jel B, ROMP Jel C, ROMP Jel D, ROMP Jel E ve ROMP Jel D 1 hidrojellerinin oldukça sağlam ve kararlı bir yapıda olmaları kullanılabilirlikleri açısından olumlu bir durumdur.



Şekil 6. 8 ROMP hidrojellerinin şişme sonrası görüntüleri (a)ROMP Jel A, (b)ROMP Jel B, (c)ROMP Jel C, (d)ROMP Jel D, (e)ROMP Jel E ve (f)ROMP Jel D 1.

ROMP hidrojel grubunda su tutma testinde, bazı hidrojeller belli süre şiştikten sonra parçalanmışlardır. Romp Jel B 1 ve Romp Jel B 2’nin 30 dk., ROMP Jel B 3’ün ise 60 dk. sonunda parçalandığı tespit edilmiştir. Bu hidrojellere ait görüntüler de Şekil 6.9’da yer almaktadır.



Şekil 6. 9 Su tutma testi sonucu parçalanmış ROMP hidrojellerinin görüntüleri (a) ROMP Jel B 2, (b) ROMP Jel B 3 ve (c) ROMP Jel B 1

Şişme testi sırasında Romp Jel B 1, B 2 ve B 3 yapılarında suyun bünyeye girmesi ile çatlakların oluştuğu gözlemlenmiştir. Çapraz bağ yoğunluğunun artması ile jel yapısında daha fazla çatlak ve deliklerin oluştuğu incelenen SEM verileri ile de belirlenmiştir. Jel

içerisinde oluşan stres ve baskı nedeniyle bu jellerde parçalanma ve kopmalar gözlemlenmiştir.

Biyomedikal uygulamalarda (ilaç taşıyıcı sistem, yönlendirilmiş doku rejenerasyonu vb.) kullanılmak üzere oluşturulan hidrojellerde, yapısal bozunmanın kontrol edilebilmesi ve sağlam fiziksel özellikler önemli bir parametredir. Hidrojel yapısının bozunma mekanizması, sadece kimyasal bileşimine değil aynı zamanda polimerik ağ yapılarına da bağlı olduğu kabul edilmiş karmaşık bir prosestir [172].

ROMP Jel B %381 şişme gösterirken, aynı içerikli ancak 40°C'de kurutulduktan sonra şişme testi uygulanan ROMP Jel B 3 için şişme test sonucu elde edilememiştir. Hidrojelin suyunu kaybettikten sonra kararsız yapıda olduğu ve mukavemet değerlerinin düştüğü öngörülmektedir.

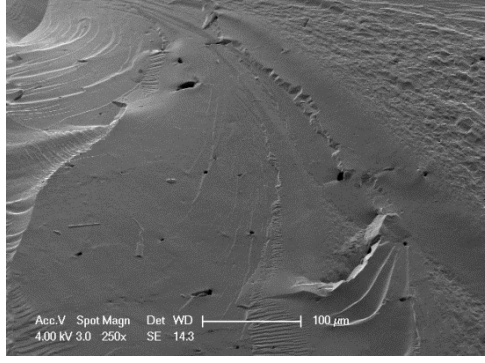
#### **6.1.3.3 SEM Analizi**

ROMP hidrojellerin yüzey gözenekliliği hakkında bilgi edinebilmek amacıyla SEM görüntüleri alınmıştır. SEM görüntülerinin elde edilmesinde şişmiş haldeki hidrojel örnekleri kullanılmıştır. Şişmiş haldeki örnekler (-86)°C'de dondurulduktan sonra liyofilizatör cihazında (-20)°C'de suyu uzaklaştırılmıştır. Farklı büyütme ölçekleri kullanılarak alınan görüntüler Şekil 6. 10'da verilmektedir.

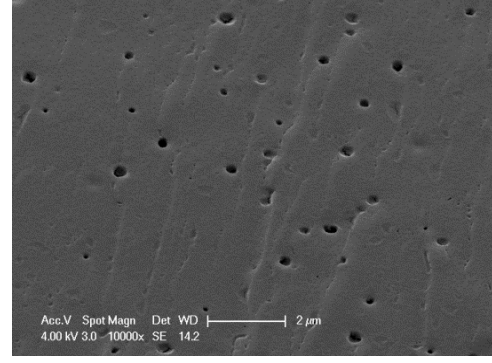
Şekil 6.10(a)'da ROMP jel B'ye ait 250, Şekil 6.10(b)'de ROMP jel B'ye ait 10000, Şekil 6.10(c)'de ROMP jel D'ye ait 250, Şekil 6.10(d)'de ROMP jel D'ye ait 10000, Şekil 6.10(e)'de ROMP jel E'ye ait 250, Şekil 6.10(f)'de ROMP jel E'ye ait 10000 büyütmede elde edilen kesit görüntüleri sunulmuştur.

SEM analizinde ROMP Jel B, ROMP Jel D ve ROMP Jel E hidrojelleri serinin içerisinden seçilerek incelenmiştir. Jellerin ağırlıklı olarak incelenme nedenleri;

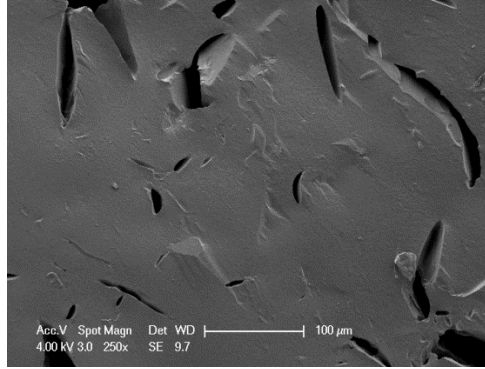
- ROMP Jel B için; yüksek oranda ROMP polimeri içermesi, seri içerisinde en fazla antimikrobiyal etkinliğe sahip olduğunun tespit edilmesi ve iyi bir şişme özelliği göstermesi,



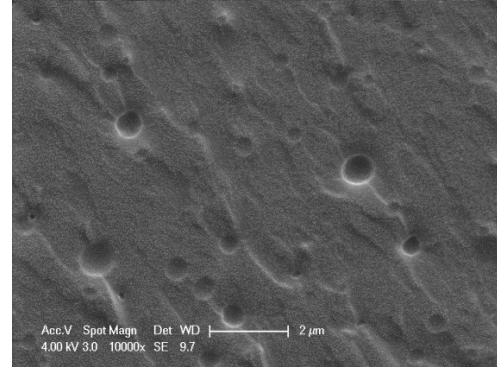
(a)



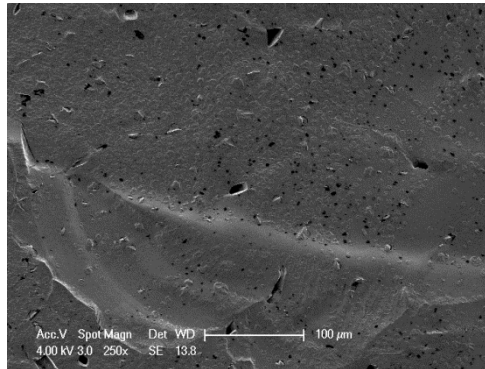
(b)



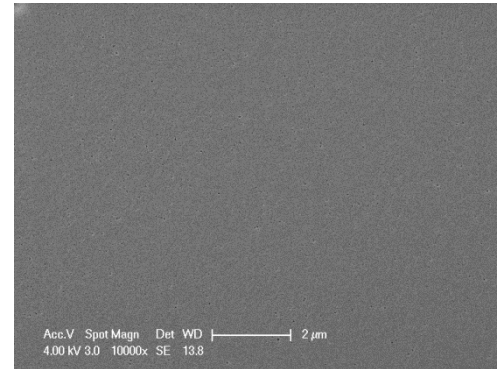
(c)



(d)



(e)



(f)

Şekil 6. 10 ROMP hidrojellerine ait farklı büyütme ölçeklerinde elde edilmiş SEM görüntüleri.

(a)ROMP Jel B, x250, (b)ROMP Jel B, x10000, (c)ROMP Jel D, x250, (d)ROMP Jel D, x10000, (e)ROMP Jel E, x 250 ve (f)ROMP Jel E, x10000.

- Romp Jel D için; sadece *C.albicans*'a karşı antimikrobiyal etkinlik göstermesi, yüksek oranda ROMP polimeri içermesi ve şişme değerinin ROMP jel B'ninkine yakın olması,
- Romp Jel E için; kaşılaştırmada kontrol jel olarak hazırlanması, hiçbir mikroorganizmaya karşı antimikrobiyal etkinlik göstermemesi, yapısında ROMP

polimerinin yer almaması ve seri içerisinde en fazla şişme özelliği göstermiş olmasıdır.

Sentezlenen hidrojellerin kesitlerine ait SEM görüntüleri, çapraz bağlanmalar sonucunda oluşan gözenekler hakkında görsel fikir vermiştir.

ROMP Jel B'nin Şekil 6.10(a)'daki 250 büyütmede verilen SEM görüntüsünde yüzeyde genel olarak homojen düz yapı görünürken seyrek olarak gözenekli yapının olduğu gözlenmiştir. Aynı jelin 10000 büyütmedeki görüntüsünde (Şekil 6.10(b)) gözeneklerin daha belirgin ve sık bir şekilde yerleştiği belirlenmiştir.

Şekil 6.10(c)'de verilen ROMP Jel D'nin 250 büyütmesine ait SEM görüntüsünde yüzeyde heterojen yapıli çatlaklar tespit edilmiştir. Jelin 10000 büyütmedeki görüntüsünde (Şekil 6.10(d)) yüzeyde yuvarlak şekildeki çukurluklara rastlanmaktadır.

ROMP Jel E'nin Şekil 6.10(e)'de 250 büyütmede verilen SEM görüntüsünde ise yüzeyde deliklere ve su kabarcığı görüntüsüne rastlanırken 10000 büyütmede (Şekil 6.10(f)) gözeneksiz, kırksız ve homojen bir yapısı olduğu belirlenmiştir.

Elde edilen SEM yüzey morfolojilerine göre, çapraz bağ yoğunluğu arttıkça jel yapısında daha fazla çatlak ve deliklerin arttığı görülmüştür. Bu durum, direk olarak jel içerisinde oluşan stres ve baskıdan kaynaklanmaktadır. Bu tür gözenekli yapılar, su moleküllerinin polimer ağı boyunca kolayca difüzyonunu sağlamaktadır [170].

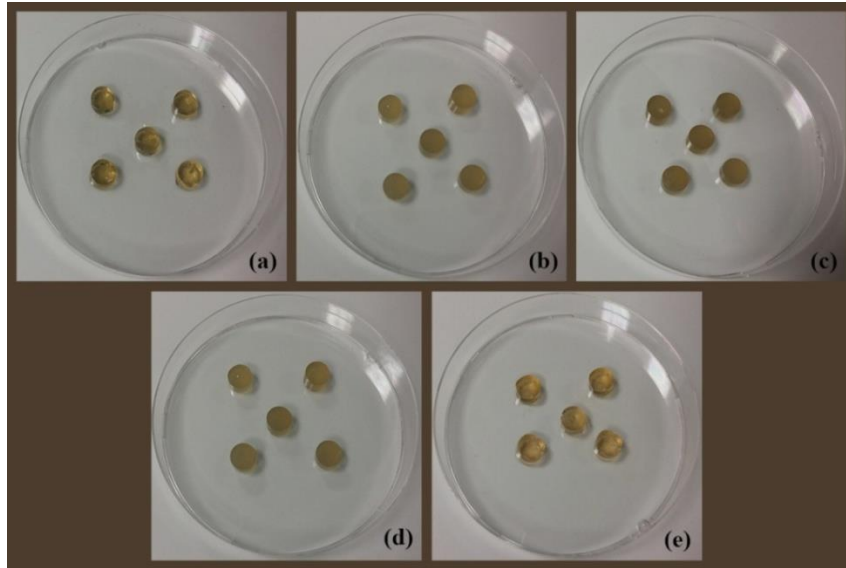
#### **6.1.3.4 Katyonik Grup Tayini**

Antimikrobiyal malzemelerde yüzeydeki yük miktarının önemli bir parametre olduğu yapılan çalışmalarla belirlenmiştir [11, 31, 173]. Bu konuda Tiller ve arkadaşları yaptıkları çalışmada kuaterner grupların yüzey yoğunluğunu floresan kompleksleşme ve UV-VIS spektroskopisine dayanan kolorimetrik yöntemle ölçülmüşlerdir [31, 43]. Çalışmamızın bu bölümünde, sentezlenen hidrojellerin yüzeylerinde bulunan katyonik yük yoğunluğu floresan kompleksleşme ve UV-VIS spektroskopisine dayanan kolorimetrik yöntemle ölçülmüştür. Romp polimer içeriği farklı olan hidrojel yüzeylerin boyanmasıyla, floresein bağlanmasının stokiometrisi, yaklaşık 71.0-72.6 nmol.cm<sup>-2</sup> arasında olduğu saptanmıştır. Katyonik polimer miktarının hidrojel formülasyonlarında artması ile elde edilen absorbans değerlerinde artış gözlenmiştir. Bu çalışma ışığı

altında yük yoğunluğu ve antibakteriyel aktivite arasında ilişki gözlenmiştir, ancak floresan kompleksleşme yöntemi ile yüzey üzerinde bulunan polimer tabaka içindeki tüm yükler belirlenemeyebilir.

#### 6.1.4 ROMP Jel Antimikrobiyal Etkinlik Sonuçları

Antimikrobiyal testler için ROMP esaslı hidrojel 0.8 cm çapında ve 0.5 cm kalınlığında kesilerek hazırlanmış ve testler Acıbadem Üniversitesi'nde gerçekleştirilmiştir. Hazırlanan numunelere ait görüntüler Şekil 6.11'de yer almaktadır. ROMP esaslı katyonik polimer içerikli hidrojel grubunun antimikrobiyal etkinlik çalışması sonuçları mikroorganizmalara karşı %ölüm değeri olarak tespit edilmiştir. Çizelge 6.3'de hidrojellerin mikroorganizma üzerine olan %ölüm değerleri verilmektedir.



Şekil 6. 11 ROMP hidrojellerin antimikrobiyal etkinlik analizleri için hazırlanan bazı numunelere ait görüntüler (a) ROMP Jel A, (b) ROMP Jel B 1, (c) Romp Jel B 2, (d) ROMP Jel B 3, (e) ROMP Jel D 1.

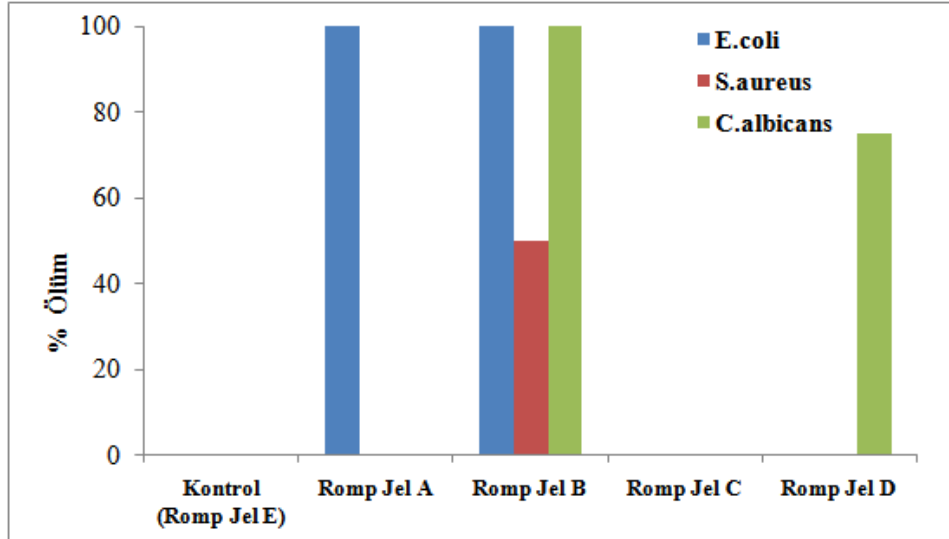
Birinci hidrojel grubundan elde edilen tüm sonuçlar değerlendirildiğinde uygulanan mikroorganizmalar üzerine en etkili olan jelin ROMP Jel B olduğu tespit edilmiş olmasına rağmen Gram (+) bir bakteri olan *S.aureus* üzerine olan etkisinin %50'de kaldığı görülmüştür. Gram (+) bakteriler daha kalın bir peptidoglikan tabakaya sahip oldukları için, hücre duvarı, Gram (-) bakterilere göre daha dayanıklıdır. Jel kesitlerinin etkinliği hücre zarı üzerinden olmaktadır. Bu sebeple, burada Gram (-)

bakterileri hücre duvarına göre daha dayanıklı bir bariyer oluşturmakta ve bu sebeple de maddeler Gram (+) bakterilerin hücre zarına ulaşamamaktadırlar.

Çizelge 6. 3 ROMP esaslı hidrojel­lerin mikroorganizmalara karşı %ölüm değ­erleri (Grup 1)

| HİDROJEL KODU        | MİKROORGANİZMALAR  |                |                  |
|----------------------|--------------------|----------------|------------------|
|                      | <i>C. albicans</i> | <i>E. coli</i> | <i>S. aureus</i> |
| ROMP JEL A           | 0                  | 100            | 0                |
| ROMP JEL B           | 100                | 100            | 50               |
| ROMP JEL C           | 0                  | 0              | 0                |
| ROMP JEL D           | 75                 | 0              | 0                |
| ROMP JEL E (KONTROL) | 0                  | 0              | 0                |

Şekil 6.12’de ROMP esaslı 1.grup hidrojel­lerin mikroorganizmalara karşı %ölüm histogramları yer almaktadır.



Şekil 6. 12 ROMP hidrojel­lerin mikroorganizmalara karşı %ölüm histogramı (Grup 1)

ROMP Jel C’nin, deneysel sonuçlarına göre, bu jelin tüm mikroorganizmalar için etkisiz olduğu belirlenmiştir. Romp Jel D’nin etkinlik sonuçları incelendiğinde, bir maya olan *C.albicans* üzerinde inhibe edici aktiviteye sahipken, Gram (+) ve Gram (-) bakterilere karşı herhangi bir inhibe edici aktiviteye sahip olmadığı belirlenmiştir.

Hazırlanan ikinci grup hidrojellerin etkinlik çalışmalarında kullanılan yöntem birinci grup jellere uygulanan yöntem ile aynıdır. Bu çalışmada ROMP Jel B 3 numunesi kuru ve yaş olarak hazırlanarak hidrojin bünyesindeki suyun etkinlik üzerindeki etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Kuru numune, 40°C’de vakum etüvünde sabit tartıma gelene kadar bünyesindeki su uzaklaştırılarak hazırlanmıştır. Ayrıca ROMP Jel A’nın başlangıç ve 8 ay beklemiş numunelerinin etkinlik sonuçları da elde edilmiştir.

Çizelge 6.4’de görüldüğü gibi maddelerin birçoğunun *C.albicans* üzerine inhibisyonu diğer organizmalara göre oldukça yüksektir. ROMP Jel A-baslangıç olarak adlandırılan numunenin sadece *E.coli*’ye olan yüksek etkisi ve ROMP Jel A-8ay ile olan stabilite farkı oldukça dikkat çekicidir.

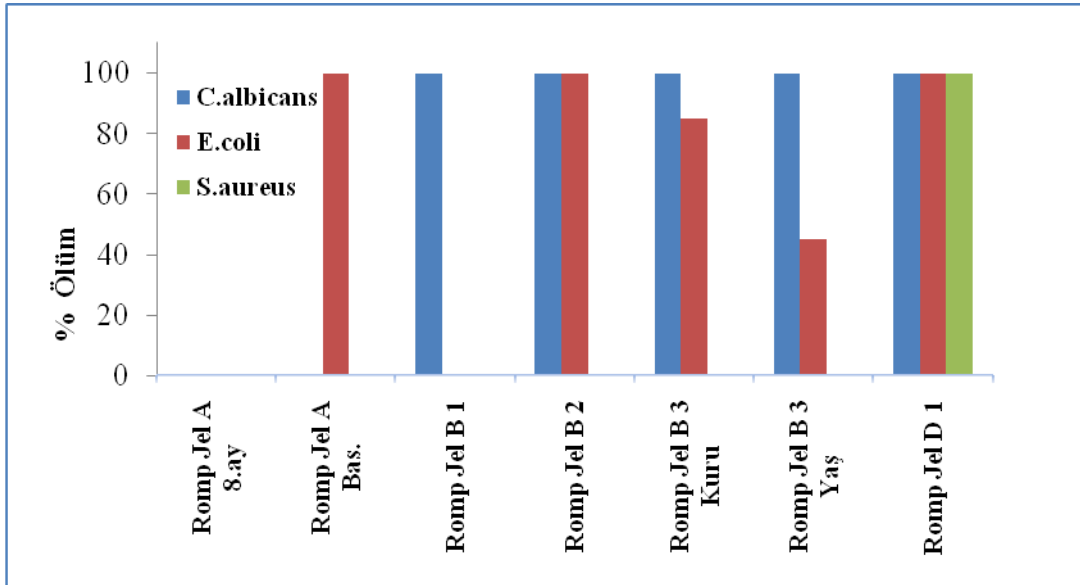
ROMP Jel D 1 olarak adlandırılan maddenin ise tüm mikroorganizmalara etkili olması bu madde için diğer deneylere bir an önce geçiş yapılması gerektiğini göstermektedir. Tüm deneysel sonuçlar incelendiğinde, hidrojellerin mikro organizmalar üzerine farklı değerlerde etkin olduğu görülmektedir. Bu durumun mikro organizmaların farklı hücre membranına sahip olmasından kaynaklanması ve sonuç olarak etki mekanizmalarının farklı olmasından kaynaklanmaktadır.

Çizelge 6. 4 ROMP esaslı hidrojellerin mikroorganizmalara karşı %ölüm değerleri (Grup 2)

| HİDROJEL KODU          | MİKROORGANİZMALAR  |                |                  |
|------------------------|--------------------|----------------|------------------|
|                        | <i>C. albicans</i> | <i>E. coli</i> | <i>S. aureus</i> |
| ROMP JEL A*            | 0                  | 0              | 0                |
| ROMP JEL A (BAŞLANGIÇ) | 0                  | 100            | 0                |
| ROMP JEL B 1           | 100                | 0              | 0                |
| ROMP JEL B 2           | 100                | 100            | 0                |
| ROMP JEL B 3 (KURU)    | 100                | 85             | 0                |
| ROMP JEL B 3 (YAŞ)     | 100                | 45             | 0                |
| ROMP JEL D 1           | 100                | 100            | 100              |

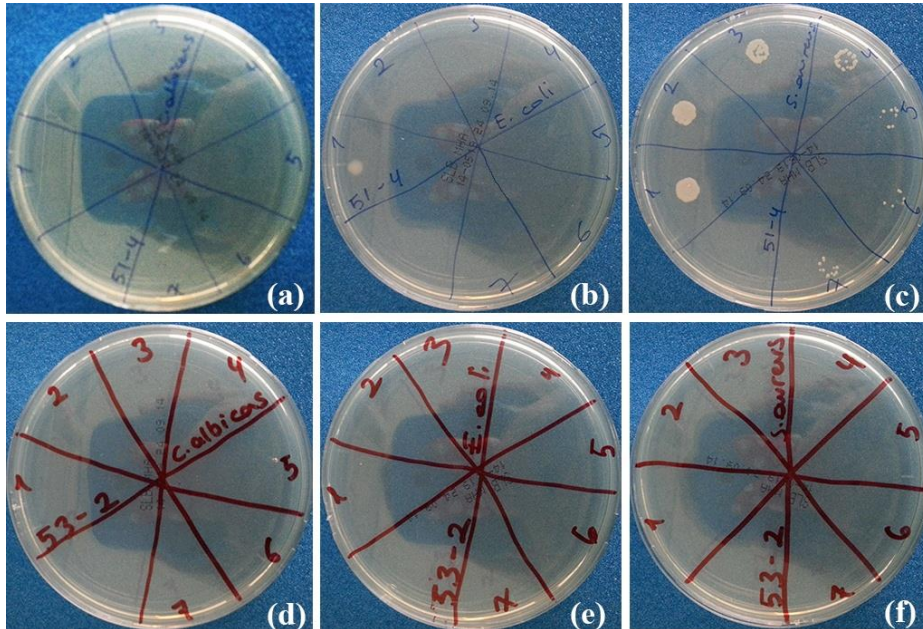
\* 8 ay sonra çalışılan numune.

Şekil 6.13’de ROMP esaslı 2.grup hidrojelilerin mikroorganizmalara karşı %ölüm histogramları verilmektedir.



Şekil 6.13 ROMP hidrojelilerin mikroorganizmalara karşı %ölüm histogramı (Grup 2)

Şekil 6.14’te ROMP esaslı hidrojellerden ROMP Jel B 3 ve Romp Jel D 1’in mikroorganizmalara (*C.albicans*, *E.coli* ve *S.aureus*) karşı etkinlik fotoğrafları yer almaktadır. Görüntüler incelendiğinde katyonik esaslı ROMP polimerinin arttığı hidrojel formülasyonunda antimikrobiyal etkinliğin arttığı gözlemlenmiştir.



Şekil 6. 14 ROMP hidrojelilerin mikroorganizmalara karşı etkinlik görüntüleri. (a) ROMP Jel B 3-*C.albicans*, (b) ROMP Jel B 3-*E.coli*, (c) ROMP Jel B 3-*S.aureus*, (d) ROMP Jel D 1-*C.albicans*, (e) ROMP Jel D 1-*E.coli* ve (f) ROMP Jel D 1-*S.aureus*.

Katyonik biyositlerin öldürücü etkinliği mekaniksel olarak oldukça karmaşıktır. Etki mekanizmaları; biyosit hedef bölgeleri; bakteriyel hücrelerin sitoplazmik membranları ve takip eden prosesler olarak belirlenmiştir. Bu prosesler aşağıdaki sıra ile gerçekleşmektedir;

- Bakteriyel hücre yüzeyi üzerine adsorpsiyon,
- Hücre duvarından difüzyon,
- Stoplazmik zara bağlanma,
- Stoplazmik membranın bozulması,
- $K^+$  iyonu, DNA ve RNA gibi stoplazmik bileşeni serbest bırakma
- Hücrenin ölümü [174, 175].

Katyonik biyositlerdeki yük yoğunluğunun artışı, negatif yüklü bakterinin hücre yüzeyine adsorpsiyonunu arttırmaktadır. Bu nedenle, mono katyonik antimikrobiyal ajanlara kıyasla DABCO tabanlı QACs'ın bakteriyel hücre yüzeyine adsorpsiyonu daha yüksek yada kuvvetli olduğu belirlenmiştir. Negatif yüklü bakteri çeperi ile (+) yüklü hidrojinin elektrostatik etkileşmesi sonucu bakteri çeperinde deformasyon oluşmakta ve bakteri ölümü gerçekleşmektedir [176].

#### **6.1.5 ROMP Jel Toksikoloji Çalışmaları**

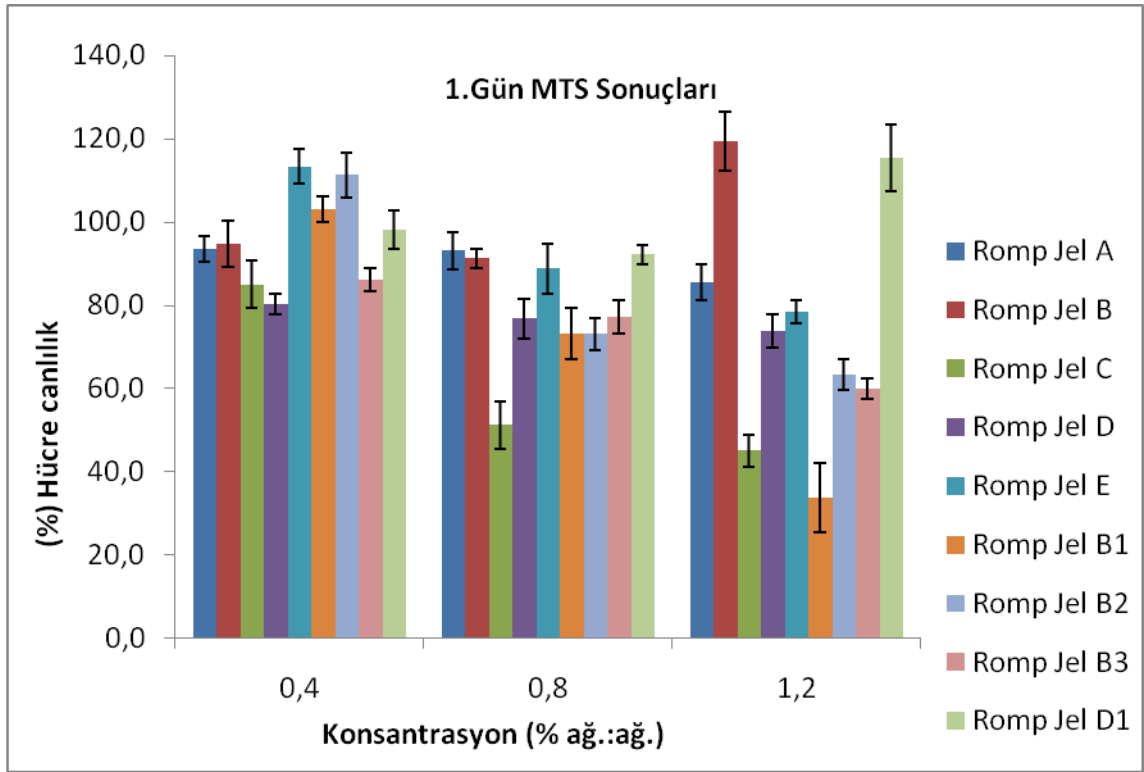
ROMP Jellerinin biyoyumluluk çalışması, hücre canlılığını tayin etmek için kullanılan MTS (administered 3-(4, 5-dimethyl thiazol- 2-yl)-5-(3-carboxymethoxy phenyl)-2-(4-sulfophenyl)-2H-tetrazolium, inner salt) testi ile gerçekleştirilmiştir [177]. Stotoksisite çalışmaları kapsamında temel olarak farklı hidrojellerde, belirlenen jel konsantrasyonları kullanılmıştır. Numunelerin sterilizasyon işlemi 15 dk UV ışığı altında tutularak gerçekleştirilmiştir. Sterilizasyon işleminden sonra hidrojeller doğrudan hücreler ile etkileştirilerek HUVEC hücre hattında üreme davranışları incelenmiştir.

Şekil 6.15'de MTS yöntemi kullanılarak gerçekleştirilen ROMP jellerine ait hücre canlılık sonuçları görülmektedir. Üç farklı jel konsantrasyonuna karşılık gelen %hücre canlılık değerleri 24 saat sonunda tespit edilmiştir.

Çizelge 6.5’de farklı konsantrasyonlardaki ROMP jellerinin 24 saat sonundaki ortalama %hücre canlılık ve ortalama standart hata değerleri yer almaktadır.

Çizelge 6. 5 Farklı konsantrasyonlardaki ROMP esaslı hidrojellerin 24 saat sonundaki ortalama %hücre canlılık ve ortalama standart hata değerleri

| ROMP JEL KODU | 1. GÜN SONUÇLARI                           |                |                 |
|---------------|--------------------------------------------|----------------|-----------------|
|               | %0.4                                       | %0.8           | %1.25           |
|               | %HÜCRE CANLILIK (ORT) $\pm$ ( $\sigma_M$ ) |                |                 |
| ROMP JEL A    | 93.4 $\pm$ 3.0                             | 93.1 $\pm$ 4.4 | 85.6 $\pm$ 4.3  |
| ROMP JEL B    | 94.8 $\pm$ 5.5                             | 91.2 $\pm$ 2.3 | 119.4 $\pm$ 7.0 |
| ROMP JEL C    | 84.9 $\pm$ 5.8                             | 51.1 $\pm$ 5.8 | 45.1 $\pm$ 3.9  |
| ROMP JEL D    | 80.2 $\pm$ 2.5                             | 76.7 $\pm$ 4.8 | 73.7 $\pm$ 3.9  |
| ROMP JEL E    | 113.3 $\pm$ 4.2                            | 88.8 $\pm$ 6.1 | 78.3 $\pm$ 2.8  |
| ROMP JEL B 1  | 103.0 $\pm$ 3.0                            | 73.1 $\pm$ 6.2 | 33.7 $\pm$ 8.4  |
| ROMP JEL B 2  | 111.2 $\pm$ 5.4                            | 73.0 $\pm$ 3.7 | 63.2 $\pm$ 3.7  |
| ROMP JEL B 3  | 86.1 $\pm$ 2.8                             | 77.2 $\pm$ 4.0 | 59.8 $\pm$ 2.4  |
| ROMP JEL D 1  | 98.1 $\pm$ 4.7                             | 92.1 $\pm$ 2.4 | 115.1 $\pm$ 8.1 |



Şekil 6. 15 Farklı konsantrasyonlara karşılık ROMP hidrojellerinin 24 saat sonundaki MTS grafikleri

ROMP hidrojellerin 24 saat sonunda HUVEC üzerinde elde edilen %hücre canlılık sonuçları incelendiğinde; ROMP Jel A, B ve D 1'in tüm konsantrasyonlarda hücre canlılık değerlerinin oldukça iyi sonuç verdiği görülmüştür. 24 saat sonunda %1.25 konsantrasyonda ROMP Jel C'nin %45.1 ve ROMP Jel B 1'in %33.7 ile en düşük hücre canlılığını gösterdiği belirlenmiştir.

ROMP C'nin yapısında bulunan katyonik polimer miktarının az olması ve jel yapısından BAAm'den dönüşemeyen monomer sayısının etkisi ile yüksek konsantrasyonlarda uygulandığında, hücre üzerine toksik etki göstermiş olduğu düşünülmektedir.

ROMP Jel D, E, B 2 ve B 3'ün %0.4 konsantrasyonda yüksek hücre canlılığına sahip iken, %0.8 konsantrasyonda bu değerlerin %70-90 aralığına, %1.25'de ise 55-80 aralığına düştüğü tespit edilmiştir.

ROMP Jel B 1'in, ROMP Jel B'ye oranla üç farklı konsantrasyonda 24 saat sonunda %canlılık değerleri daha düşük sonuç vermiştir. Bu durum, ROMP Jel B 1'in polimer içeriğinin daha düşük olması, buna bağlı olarak dönüşmeyen monomer ve PEGDA miktarının fazla olmasına bağlı olduğu düşünülmektedir.

Çizelge 6.6'da ROMP jel içeriklerinin 24 saat sonundaki ortalama %hücre canlılık değerleri ile karşılaştırılması yer almaktadır.

Çizelge 6. 6 ROMP jel içeriklerinin 24 saat sonundaki ortalama %hücre canlılık değerleri ile karşılaştırılması

| ROMP JEL KODU | %0.4                  | %0.8 | %1.25 | JEL İÇERİKLERİ       |         |          |                    |
|---------------|-----------------------|------|-------|----------------------|---------|----------|--------------------|
|               | %HÜCRE CANLILIK (ORT) |      |       | POLİMER %KATI İÇERİK | AAm (g) | BAAm (g) | PEGDA (Mn=700) (g) |
| ROMP JEL A    | 93.4                  | 93.1 | 85.6  | 10.0                 | 12.5    | 1.5      | -                  |
| ROMP JEL B    | 94.8                  | 91.2 | 119.4 | 10.0                 | 12.5    | 1.5      | 0.2                |
| ROMP JEL C    | 84.9                  | 51.1 | 45.1  | 2.5                  | 12.5    | 3.0      | 0.1                |
| ROMP JEL D    | 80.2                  | 76.7 | 73.7  | 10.0                 | 25.0    | 3.0      | 0.1                |
| ROMP JEL E    | 113.3                 | 88.8 | 78.3  | -                    | 12.5    | 1.5      | 0.1                |
| ROMP JEL B 1  | 103.0                 | 73.1 | 33.7  | 5.0                  | 12.5    | 1.5      | 0.2                |
| ROMP JEL B 2  | 111.2                 | 73.0 | 63.2  | 12.5                 | 12.5    | 1.5      | 0.2                |
| ROMP JEL B 3  | 86.1                  | 77.2 | 59.8  | 10.                  | 12.5    | 1.5      | 0.2                |
| ROMP JEL D 1  | 98.1                  | 92.1 | 115.3 | 10.0                 | 25.0    | 3.0      | -                  |

ROMP Jel'lerinin biyoyumluluk çalışmasında hücre canlılık değerleri 72 saat sonunda yeniden incelenmiştir. Bu çalışmaya ait sonuçlar, Çizelge 6.7'de farklı konsantrasyonlardaki ROMP jellerinin 72 saat sonundaki ortalama %hücre canlılık ve ortalama standart hata değerleri olarak verilmiştir. Şekil 6.16'da ise ROMP jellerine ait 72 saat sonunda hücre canlılık sonuçları görülmektedir.

ROMP hidrojellerin 72 saat sonunda HUVEC üzerinde elde edilen sonuçlar incelendiğinde; ROMP Jel B, D ve D 1'in tüm konsantrasyonlarda %hücre canlılık değerlerinin oldukça iyi sonuç verdiği görülmüştür. ROMP Jel A'nın 72 saat sonunda %0.4 konsantrasyonda %93.4, %0.8 konsantrasyonda %103.0 ve %1.25 konsantrasyonda ise %74.6 hücre canlılık değeri gösterdiği belirlenmiştir. Belirlenen en

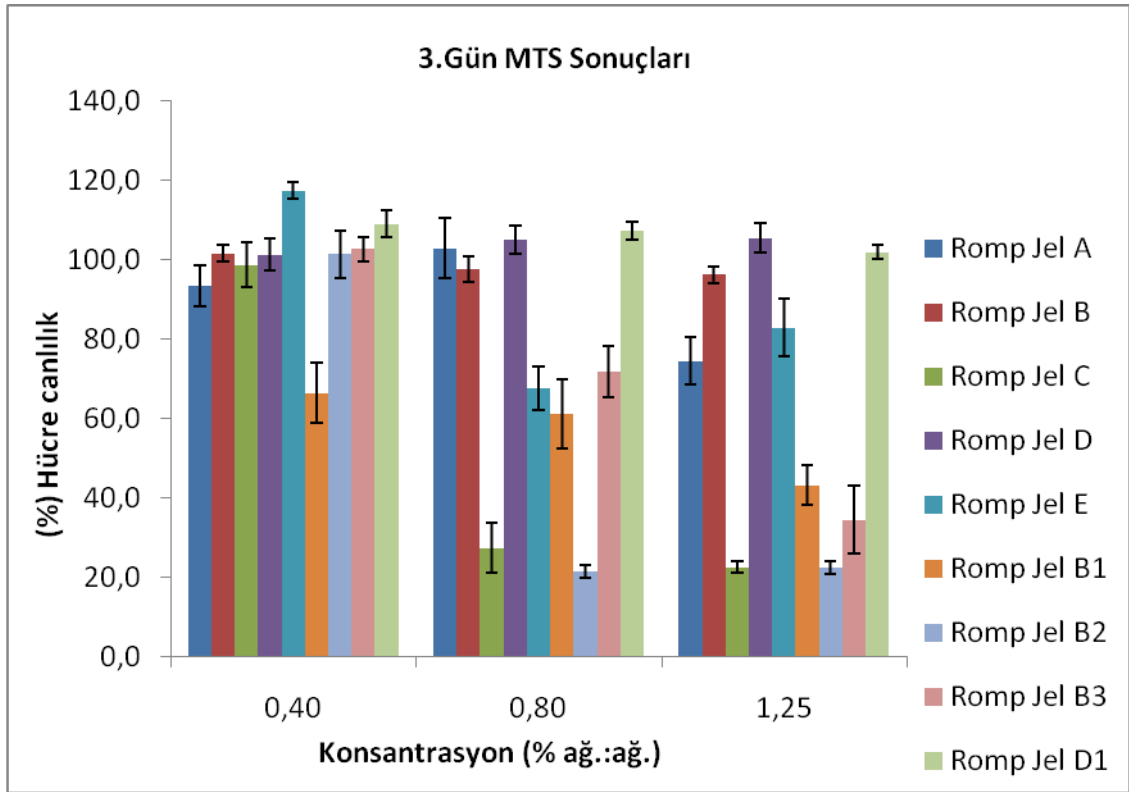
yüksek konsantrasyonda 72 saat sonunda ROMP Jel A'nın toksik özellik gösterdiği tespit edilmiştir.

Çizelge 6. 7 Farklı konsantrasyonlardaki ROMP esaslı hidrojellerin 72 saat sonundaki ortalama %hücre canlılık ve ortalama standart hata değerleri

| ROMP JEL KODU | 3. GÜN SONUÇLARI                           |                 |                 |
|---------------|--------------------------------------------|-----------------|-----------------|
|               | %0.4                                       | %0.8            | %1.25           |
|               | %HÜCRE CANLILIK (ORT) $\pm$ ( $\sigma_M$ ) |                 |                 |
| ROMP JEL A    | 93.4 $\pm$ 5.2                             | 103.0 $\pm$ 7.6 | 74.6 $\pm$ 6.1  |
| ROMP JEL B    | 101.7 $\pm$ 2.0                            | 97.7 $\pm$ 3.4  | 96.4 $\pm$ 2.1  |
| ROMP JEL C    | 98.8 $\pm$ 5.8                             | 27.5 $\pm$ 6.2  | 22.7 $\pm$ 1.5  |
| ROMP JEL D    | 101.3 $\pm$ 4.0                            | 105.0 $\pm$ 3.6 | 105.5 $\pm$ 3.8 |
| ROMP JEL E    | 117.5 $\pm$ 2.1                            | 67.8 $\pm$ 5.5  | 82.9 $\pm$ 7.3  |
| ROMP JEL B 1  | 66.5 $\pm$ 7.5                             | 61.3 $\pm$ 8.6  | 43.3 $\pm$ 5.1  |
| ROMP JEL B 2  | 101.5 $\pm$ 6.0                            | 21.6 $\pm$ 1.5  | 22.5 $\pm$ 1.6  |
| ROMP JEL B 3  | 102.8 $\pm$ 3.1                            | 71.9 $\pm$ 6.4  | 34.6 $\pm$ 8.4  |
| ROMP JEL D 1  | 109.2 $\pm$ 3.4                            | 107.4 $\pm$ 2.4 | 102.1 $\pm$ 1.7 |

Yapısında katyonik ROMP polimerinin en az yer aldığı ROMP Jel C'nin 72 saat sonunda %0.4 konsantrasyonda hücre canlılığı %98.8 değerinde bulunmuştur. %0.8 ve %1.25 konsantrasyonlarda ise sırasıyla %27.5 ve %22.7 değerleri ile hücre canlılığının düştüğü belirlenmiştir. ROMP Jel C yapısındaki polimer miktarının az olması ve buna bağlı monomer miktarındaki artış ile yüksek konsantrasyonda toksik sonuç elde edildiği düşünülmektedir.

ROMP Jel E, 72 saat sonunda %0.8 ve 1.25 konsantrasyonda sırası ile %67.8 ve %82.9 değerleri ile toksik bulunurken, %0.4 konsantrasyonda %117.5 hücre canlılığına sahiptir.



Şekil 6. 16 Farklı konsantrasyonlara karşılık ROMP hidrojellerinin 72 saat sonundaki MTS grafikleri

ROMP Jel B 1'in 72 saat sonunda tüm konsantrasyon değerlerinde %hücre canlılık değerleri düşük bulunarak toksik etki gösterdiği tespit edilmiştir. Elde edilen bu toksik değer, jel yapısındaki düşük katyonik polimer miktarına bağlı olarak artan monomer ve PEGDA'nın toksik etkisinin neden olduğu düşünülmektedir.

ROMP Jel B 2, 72 saat sonunda %0.4 konsantrasyonda %101.5 hücre canlılığına sahipken, %0.8 konsantrasyonda %21.6 ve %1.25 konsantrasyonda %22.5 değerleri ile toksik etki gösterdiği tespit edilmiştir.

ROMP Jel B 3'ün 72 saat sonundaki %canlılık değerleri incelendiğinde; en düşük konsantrasyonda yüksek bulunurken konsantrasyon değeri arttıkça bu değerin giderek düştüğü ve toksik etki gösterdiği belirlenmiştir.

Çizelge 6.8'de ROMP jel içeriklerinin 72 saat sonundaki ortalama %hücre canlılık değerleri ile karşılaştırılması yer almaktadır.

Çizelge 6. 8 ROMP jel içeriklerinin 72 saat sonundaki ortalama %hücre canlılık değerleri ile karşılaştırılması

| ROMP JEL KODU | %0.4                  | %0.8  | %1.25 | JEL İÇERİKLERİ       |         |          |                    |
|---------------|-----------------------|-------|-------|----------------------|---------|----------|--------------------|
|               | %HÜCRE CANLILIK (ORT) |       |       | POLİMER %KATI İÇERİK | AAm (g) | BAAm (g) | PEGDA (Mn=700) (g) |
| ROMP JEL A    | 93.4                  | 103.0 | 74.6  | 10.0                 | 12.5    | 1.5      | -                  |
| ROMP JEL B    | 101.7                 | 97.7  | 96.4  | 10.0                 | 12.5    | 1.5      | 0.2                |
| ROMP JEL C    | 98.8                  | 27.5  | 22.7  | 2.5                  | 12.5    | 3.0      | 0.1                |
| ROMP JEL D    | 101.3                 | 105.0 | 105.5 | 10.0                 | 25.0    | 3.0      | 0.1                |
| ROMP JEL E    | 117.5                 | 67.8  | 82.9  | -                    | 12.5    | 1.5      | 0.1                |
| ROMP JEL B 1  | 66.5                  | 61.3  | 43.3  | 5.0                  | 12.5    | 1.5      | 0.2                |
| ROMP JEL B 2  | 101.5                 | 21.6  | 22.5  | 12.5                 | 12.5    | 1.5      | 0.2                |
| ROMP JEL B 3  | 102.8                 | 71.9  | 34.6  | 10.0                 | 12.5    | 1.5      | 0.2                |
| ROMP JEL D 1  | 109.2                 | 107.4 | 102.1 | 10.0                 | 25.0    | 3.0      | -                  |

ROMP hidrojellerinin belirlenen miktarlardaki konsantrasyonları ile %hücre canlılık değerleri incelendiğinde 24 ve 72 saat sonunda, ROMP Jel B ve D 1'in tüm konsantrasyonlarda toksik olmayan sonuç verdiği belirlenmiştir. ROMP Jel D 1'in tüm konsantrasyon ve sürelerde %canlılık değerlerinin yüksek olması poliakrilamidin biyoyumluluğundan kaynaklanmaktadır [178].

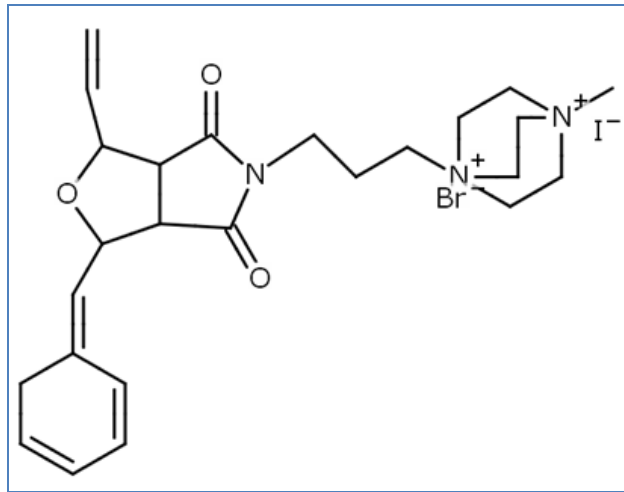
ROMP Jel B'nin tüm konsantrasyon ve sürelerde %canlılık değerleri yüksek bulunmuştur. Buna jel yapısındaki dönüşmeyen monomer sayısının düşük ve katyonik polimer miktarının yüksek olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Ayrıca yapısında katyonik polimer yer almayan ROMP Jel E'nin 24 ve 72 saat sonunda tüm konsantrasyonlardaki yüzde canlılık değerleri toksik bulunmamıştır.

ROMP Jel yapılarında bulunun akrilamidin, nörotoksin olmasının yanı sıra insan sağlığı için şüpheli bir kanserojen ve teratojen etkisinin olduğunu bilinmektedir. Deri ve solunum yollarının her ikisi ile vücuda alımı mümkündür [179]. Daha büyük bir molekül

olan, deri ve solunum yoluyla nüfus etmesi kolay olmayan bisakrilamid ise şüpheli bir mutajen ve teratojen olmasına karşın akrilamid ile aynı tehlike düzeyinde olmadığı bilinmektedir [180]. Ancak akrilamid ve bisakrilamidin polimerizasyonu sonrasında oluşan polimerin yapısında, reaksiyona girmemiş kalıntı monomer olmadığı sürece toksik etkisi bulunmamaktadır [181]. Literatürde, akrilamidin polimerizasyonu sırasında reaksiyona girmemiş monomerlerinin toksik etkilerine ait bulgular yer almaktadır [182-184].

#### 6.1.5.1 ROMP Polimeri Toksikoloji Tahmin Çalışması

ROMP esaslı hidrojelilerin in vitro hücre toksikoloji çalışması yapılmadan önce antimikrobiyal etkinliği belirlenen ROMP esaslı katyonik polimerin Lhasa firmasının geliştirmiş olduğu Sarah ve Derek Nexus programları ile toksikoloji ve mutajenite tahmini çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Bu çalışmada ROMP esaslı katyonik polimerin yapısal olarak toksisite ve mutajenite tahminleri incelenmiştir.



Şekil 6. 17 Toksikoloji ve mutajenite tahmini yapılan ROMP esaslı katyonik polimerdeki tekrarlanabilir kısmın (monomer) kimyasal yapısı.

Nexus 1.7.5 yazılımı ile kimyasal yapısı çizilen ROMP esaslı katyonik polimerdeki tekrarlanabilir kısmın (monomer) toksisite ve mutajenite tahmini Derek Nexus 4.0.5 ve Nexus 1.7.5 program deneme versiyonu ile gerçekleştirilmiştir (Şekil 6.17). Ayrıca polimerin salmonella/mikozom mutajenite (AMES) tahmini Sarah Nexus programı 1.1.2 deneme versiyonu ile gerçekleştirilmiştir. Mutajenite tahmin çalışması da toksisite

tahmininde olduğu gibi Şekil 6.17’de gösterilen polimerdeki katyonik grup üzerinde gerçekleştirilmiştir.

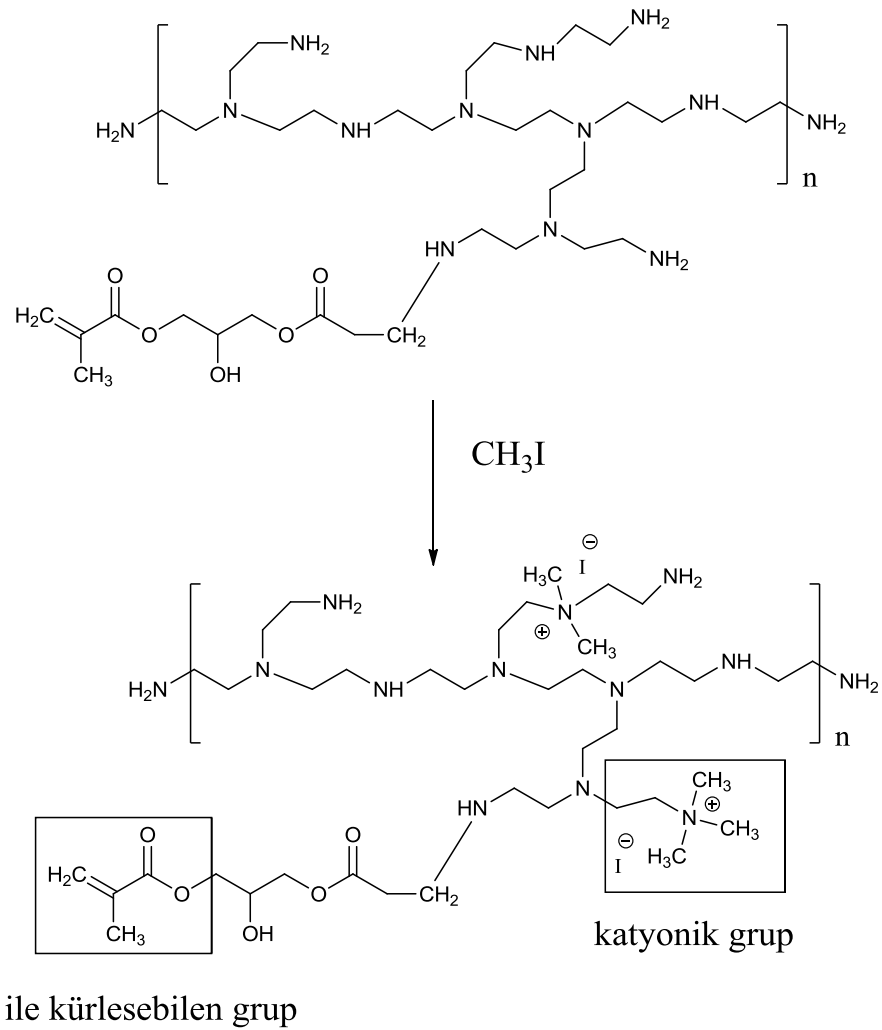
ROMP esaslı katyonik polimerin toksikoloji tahmin çalışması veri tabanındaki *E.coli*, insan ve *Salmonella typhimurium* üzerinde yapılmıştır. ROMP esaslı katyonik polimerin, DEREK tahmini sonucuna göre, kuaterner amonyum tuzu olarak bilgi bankasındaki taramasında insan göz ve deri tahrişi için toksisitesi makul sınırlar içinde bulunmuştur. *E.coli* ve *Salmonella typhimurium* üzerindeki mutajenite tahmini için programdan karşılaştırma sonucu elde edilememiştir. Çünkü karşılaştırma için daha önce bilgi bankasına girilmiş bu molekül yapısına yakın bir mutajenite verisi bulunmamaktadır. Dolayısıyla bakteriler üzerine in vitro AMES mutajenite testi için tahmin gerçekleştirilememiştir.

## **6.2 UV ile Kürleşebilen Katyonik Q<sub>UV</sub>-PEI Polimeri ve Q<sub>UV</sub>-PEI-Jel X Üretimi, Karakterizasyonu, Antimikrobiyal Etkinlik ve Toksikoloji Çalışmaları**

### **6.2.1 UV ile Kürleşebilen Katyonik Q<sub>UV</sub>-PEI Polimer Üretimi**

UV ile kürleşebilen Q<sub>UV</sub>-PEI polimerinin üretiminde, PEI öncelikle ACOM ile Michael katılması reaksiyonu vermektedir. Michael reaksiyonu, primer amin ile akrilat çift bağlarına katılması şeklinde olmaktadır. Reaksiyon sonunda PEI’de bulunan serbest amin grupları daha sonra CH<sub>3</sub>I ile reaksiyona sokularak kuaterner gruplar elde edilmiştir.

Şekil 6.18’de gösterildiği gibi, Michael katılması, ACOM’un akrilat işlevselliğine birincil amin (PEI) ilave edilmesini kapsayan bir genel sentetik rotaya göre hazırlanmıştır. Reaksiyon, herhangi bir katalizatör eklenmeden, oda sıcaklığında etanol içerisinde gerçekleştirilmiştir. Birincil aminlerin ilavesinin oranları genellikle yüksektir ve reaksiyon, oda sıcaklığında 15-45 dakika içinde tamamlanmıştır. Bununla birlikte, reaksiyona, tam dönüşümü sağlamak üzere, oda sıcaklığında 24 saat devam edilmiştir [185]. Reaksiyon sonunda açık sarı renkte viskoz bir sıvı elde edilmiştir. Metakril fonksiyonlu PEI monomeri düşük bir miktar UV içeren, sıradan bir ışık varlığında jel verebilmektedir. Bu nedenle, sentezlenen yeni polimerler UV ile kürleşebilen monomer varlığı nedeniyle, erken polimerizasyonu ve çapraz bağlanmayı önlemek için, karanlıkta ve N<sub>2</sub> altında, etanol çözeltisi içinde depolanmıştır.



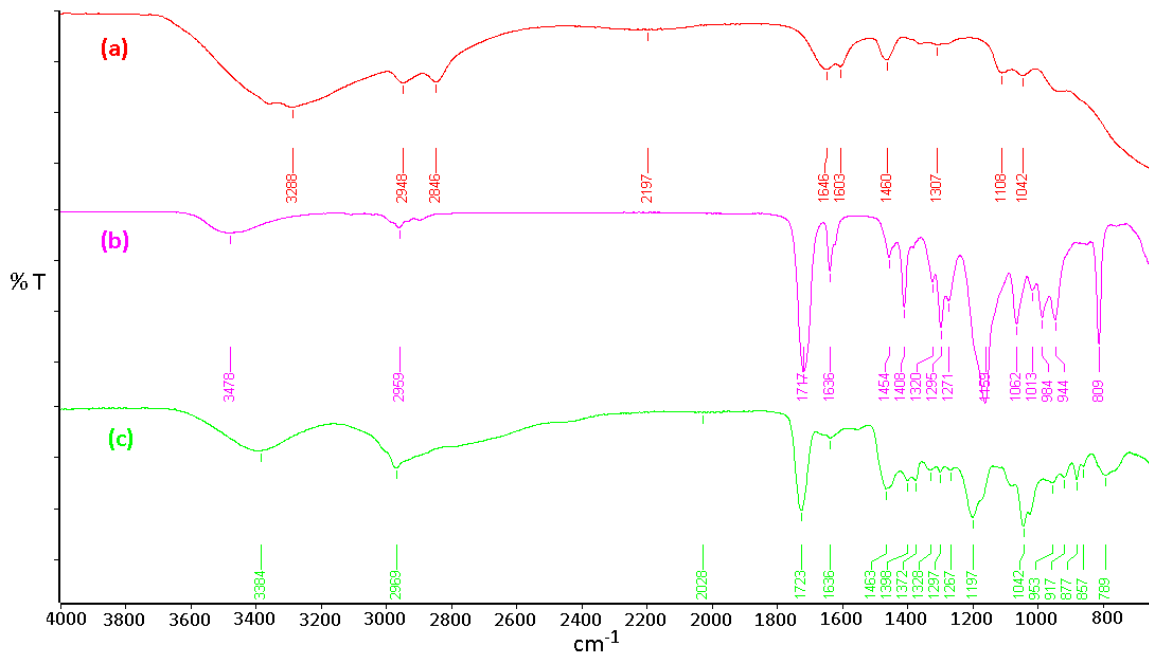
74

## 6.2.2 UV ile Kürleşebilen Katyonik Q<sub>UV</sub>-PEI Polimer Karakterizasyonu

UV ile kürleşebilen Q<sub>UV</sub>-PEI polimerinin karakterizasyonunda kuaterner grupları tayini NMR ve FT-IR teknikleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Ayrıca sentezlenen polimerin termal özellikleri TG/DTG analzi ile incelenmiştir.

### 6.2.2.1 FT-IR Analizi

Q<sub>UV</sub>-PEI'ye ait FTIR spektrumu Şekil 6.18(c)'da gösterildiği gibidir. FTIR spektrumları incelendiğinde; 3384 cm<sup>-1</sup>'de (N-H) gerilme, 2969cm<sup>-1</sup> de (C-H) gerilme, 1723 cm<sup>-1</sup> de (C=O), 1636 cm<sup>-1</sup> de (C-C) halka ve 1197 cm<sup>-1</sup> de (C-O) yapıları gözlenmektedir. PEI'in ACOM ile reaksiyonu sonucu 1717 cm<sup>-1</sup>'de (C=O), (C=C) metakrilat/akrilat çift bağ gerilmeleri gözlenmiştir.



Şekil 6. 19 Karşılaştırmalı FTIR spektrumları (a)PEI, (b)ACOM ve (c)Q<sub>UV</sub>-PEI.

FTIR spektrumu, 1636 cm<sup>-1</sup> de ACOM'da bulunan metakrilat ve akrilat C=C gruplarının karakteristik bir absorpsiyon bandını göstermektedir (Şekil 6.19(b)).

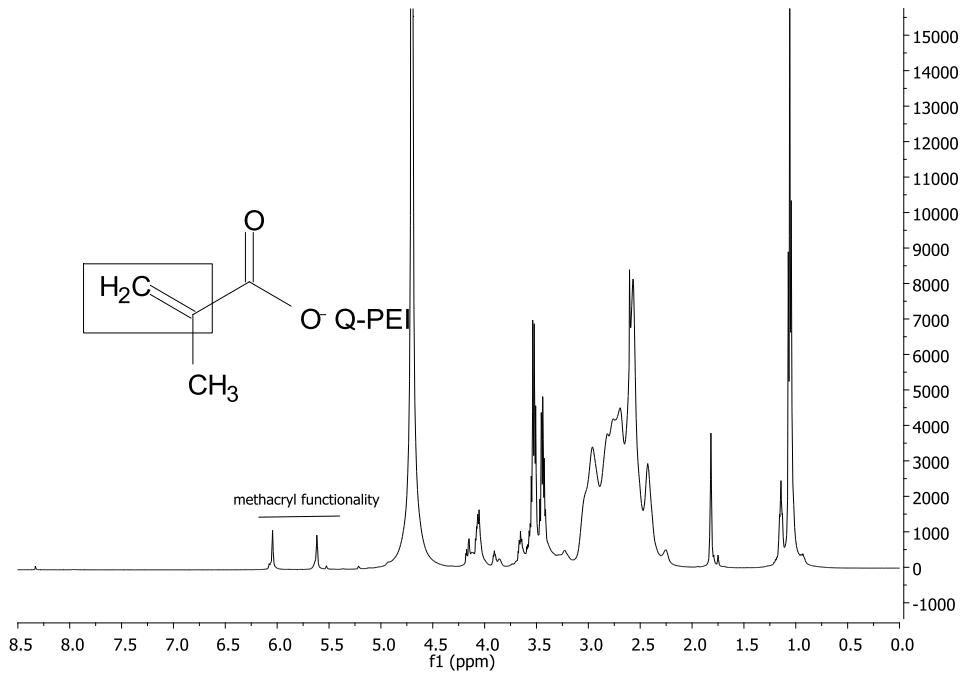
PEI'nin FT-IR spektrumu, 3288 ve 1646 cm<sup>-1</sup>'de bulunan amin gruplarının karakteristik absorpsiyon bantlarını göstermektedir (Şekil 6.19(a)). PEI'nin alkilasyon derecesinde, amin titreşim grubunda (3288 ve 1646 cm<sup>-1</sup>) azalma ile C-H germe ve titreşim bantlarındaki deformasyonda artış, kalitatif olarak gözlemlenmiştir. 917 cm<sup>-1</sup>'de C-N<sup>+</sup>

gerilmesinde artış gözlemlenmiştir (Şekil 6.19(c)). Kürleşme sonrası  $1636\text{ cm}^{-1}$  metakrilat çift bağlarının azalmış olduğu gözlenmiştir.

#### 6.2.2.2 NMR Analizi

ACOM ile PEI reaksiyon verimi  $^1\text{H}$  NMR analizi ile belirlenmiştir ve %93 tespit edilmiştir.  $\text{Q}_{\text{UV}}$ -PEI polimer sentezi sırasında ACOM'da bulunan akrilat piklerinin kaybolması ve metilen karbona gelen yeni sinyallerin görünümü  $^1\text{H}$  NMR spektrumu ile gözlenmiştir (Şekil 6.20).

$^1\text{H}$ -NMR spektrumu 2.2-3.0 ppm'de akrilat karbonundan ve 4.0 ppm'de ester grubunun metileninden oluşturulan metilenler için protonları göstermektedir. 5.6 ve 6.1 ppm pikleri, metakrilatin çift bağ protonlarına gelmektedir. Kürleşme sonucunda FTIR spektrumunda akrilat çift bağının yok olduğu gözlenmiştir. Kürleşen jeller çözücü içinde çözünmediğinden dolayı NMR analizi yapılamamıştır.



Şekil 6. 20 UV ile kürleşebilen katyonik PEI ( $\text{Q}_{\text{UV}}$ -PEI) polimerinin  $^1\text{H}$  NMR spektrumu

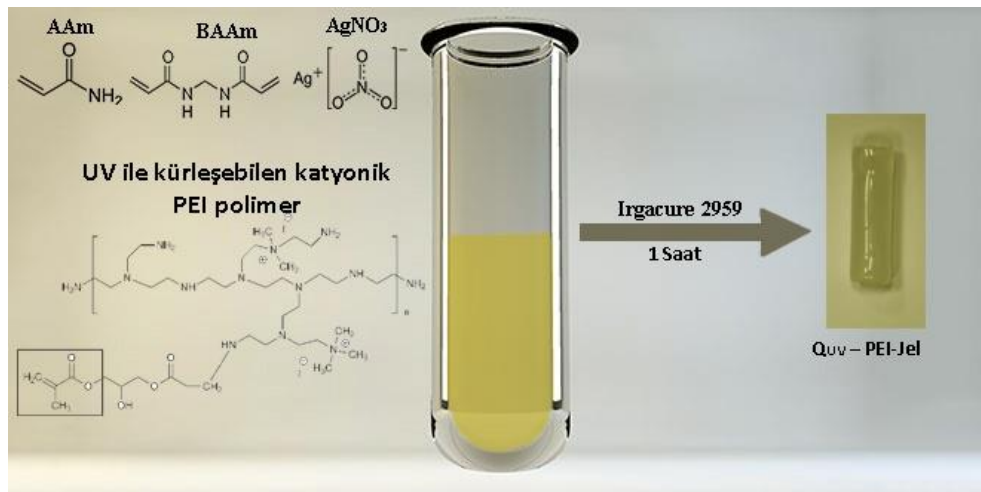
Metil iyodür ile PEI amino gruplarının reaksiyonu sonucu elde edilen kuaterner aminlerin karakterizasyonu  $^1\text{H}$ -NMR spektroskopisi ile analiz edilmiştir.  $\delta 3.05$  ppm'deki singlet, dört bağlı nitrojen atomlarına bağlanmış olan metil grupları karşılık gelmiştir ( $\text{CH}_3\text{-N}^+$ ).  $\delta 3.31$  ppm'de ortalanmış geniş rezonans, doğrudan dördü azot atomuna (-

$\text{CH}_2\text{-N}^\oplus$ ) bağlanmış metilene karşılık gelmiştir. Kuaterner nitrojen atomundaki metilen protonları  $\delta 1.75$  ppm'de geniş bir rezonans vermektedir ( $-\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^\oplus$ ). Katyonik (quaternizasyon) verimi NMR ile tespit edilmiş ve %65 verim olduğu bulunmuştur.

### 6.2.3 $\text{Q}_{\text{UV}}$ -PEI-Jel Üretimi

$\text{Q}_{\text{UV}}$ -PEI-Jel üretiminde 10 mm çapında kuvarz cam tüpler kullanılmıştır. Elde edilen polimer çözeltileri azot atmosferinde, özel olarak tasarlanmış Rayonet merry-go round fotoreaktörde, UVII (300 nm) dalga boyunda UV ışık ile yaklaşık 1 saat süreyle etkileştirilerek serbest-radikal fotopolimerizasyonu ile polimerizasyon gerçekleştirilmiştir [21].

Şekil 6.21'de jel formülasyonunun şematik olarak gösterimi yer almaktadır. Reaksiyon, oda sıcaklığında 1 saatte gerçekleştirilmiştir. Oluşturulan hidrojellere ait isimlendirme ve içerik bilgileri Çizelge 6.9'da yer almaktadır.



Şekil 6. 21  $\text{Q}_{\text{UV}}$ -PEI-Jel oluşumunun şematik gösterimi

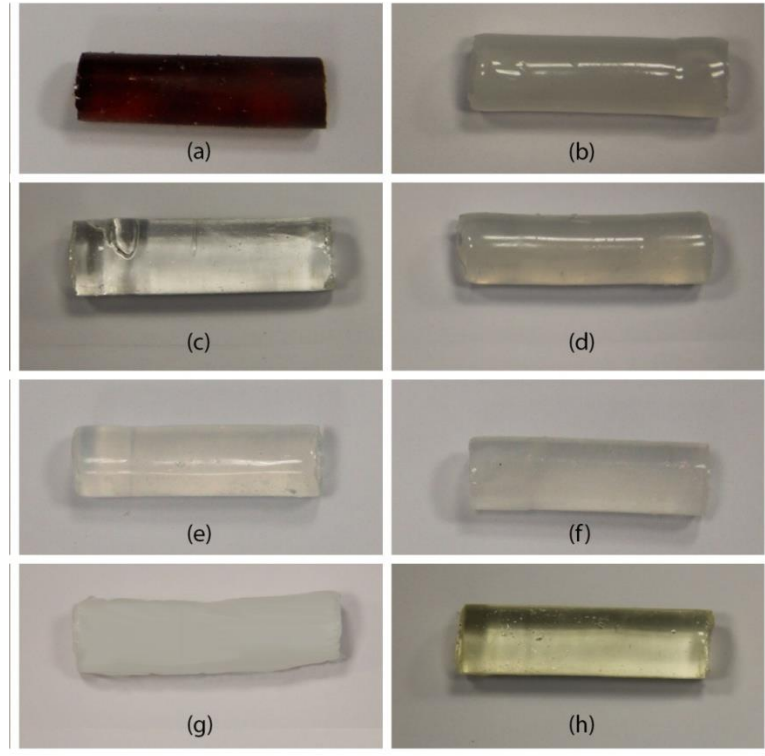
Deneysel çalışmaların başlangıcında hazırlanan hidrojellerde,  $\text{AgI}$ 'nin çökmesi nedeniyle dipte çökeltiler olduğu gözlenmiştir.  $\text{AgI}$ 'nin hidrojelin içerisinde homojen dağıtılması için manyetik karıştırıcı temin edilerek fotoreaktör içerisine yerleştirilmiştir ve jelleşme süresi boyunca karıştırma devam etmiştir. Ayrıca fotobaşlatıcı miktarı artırılarak jelleşme süresi kısaltılmıştır. Böylece daha hızlı bir şekilde homojen görünümlü jeller elde edilmiştir.

Hidrojeller Çizelge 6.9'da yer alan içeriklere göre hazırlanmıştır. Belirtilen miktarlardaki  $Q_{UV}$ -PEI polimeri, AAm, BAAM ve  $AgNO_3$  4 ml su içinde çözülmüştür. Daha sonra hazırlanan tüm çözeltilere UV başlatıcı Irgacure 2959'un stok çözeltisinden ilave edilerek (0.08 gr. Irgacure 2959, 20 ml saf suda çözülerek) UV reaktörde reaksiyon başlatılmıştır.

Çizelge 6. 9  $Q_{UV}$ -PEI-Jel hidrojel formülasyon içerikleri

| HİDROJEL KODU       | $Q_{UV}$ -PEI POLİMER İÇERİĞİ (g) | $AgNO_3$ (g) | AAm (g) | BAAM (g) |
|---------------------|-----------------------------------|--------------|---------|----------|
| $Q_{UV}$ -PEI-JEL 1 | -                                 | 0.01         | 2.0     | 0.025    |
| $Q_{UV}$ -PEI-JEL 2 | 0.20                              | 0.01         | 2.0     | 0.025    |
| $Q_{UV}$ -PEI-JEL 3 | 0.20                              | -            | 2.0     | 0.025    |
| $Q_{UV}$ -PEI-JEL 4 | 0.10                              | 0.01         | 2.0     | 0.025    |
| $Q_{UV}$ -PEI-JEL 5 | 0.05                              | 0.01         | 2.0     | 0.025    |
| $Q_{UV}$ -PEI-JEL 6 | 0.40                              | 0.01         | 2.0     | 0.025    |
| $Q_{UV}$ -PEI-JEL 7 | 0.20                              | 0.05         | 2.0     | 0.025    |
| $Q_{UV}$ -PEI-JEL 8 | -                                 | -            | 2.0     | 0.025    |

Reaksiyon çözeltisi, 100 rpm'de bir manyetik karıştırıcı plaka üzerinde 15 dakika boyunca karıştırılmıştır. Irgacure 2959'u ekledikten hemen sonra çözelti 10 mm çapındaki cam tüplere aktarılmıştır. Tüpler  $N_2$  altında kapatıldıktan sonra oda sıcaklığında 1 saat boyunca 300 nm'de, nominal ışık yayan 6 lambanın daire biçimde içinde bulunduğu Rayonet merry-go round fotoreaktöründe ışınlandırılmıştır. Reaksiyon, sert bir jel elde etmek için gece boyunca bekletilmiştir. Çizelge 6.9'da formülasyonları verilen jellerin görüntüleri Şekil 6.22'de verilmiştir.



Şekil 6. 22 Fotobaşlatıcılı polimerizasyon ile hazırlanan hidrojellerin görüntüleri (a)Q<sub>UV</sub>-PEI-Jel 1, (b)Q<sub>UV</sub>-PEI-Jel2, (c)Q<sub>UV</sub>-PEI-Jel 3, (d)Q<sub>UV</sub>-PEI-Jel4, (e)Q<sub>UV</sub>-PEI-Jel5, (f)Q<sub>UV</sub>-PEI-Jel 6, (g)Q<sub>UV</sub>-PEI-Jel7 ve (h)Q<sub>UV</sub>-PEI-Jel 8.

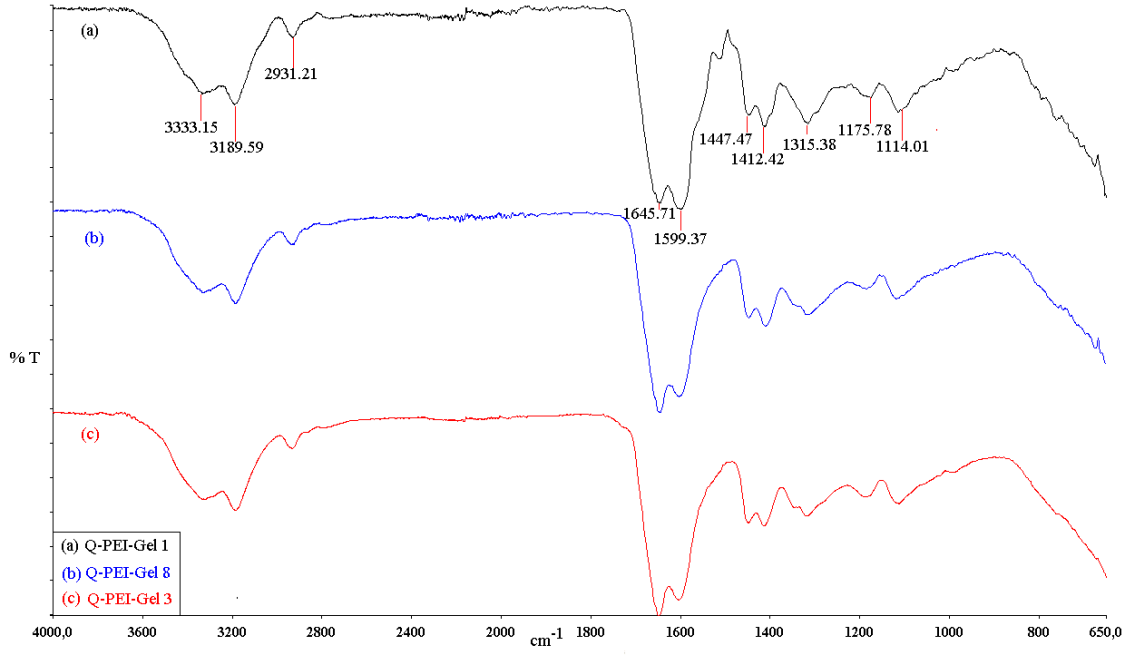
#### 6.2.4 Q<sub>UV</sub>-PEI Jel Karakterizasyonu

Fotobaşlatıcılı polimerizasyon yöntemi ile sentezlenen ikinci grup hidrojellerin karakterizasyonu için; FT-IR, su tutma testi, katyonik grupların tayini, antimikrobiyal etkinlik ve hücre toksisite çalışmaları gerçekleştirilmiştir.

##### 6.2.4.1 FT-IR Analizi

Q<sub>UV</sub>-PEI-Jel 1-3-8' in karşılaştırmalı FT-IR spektrumları Şekil 6.23'te gösterilmektedir. FT-IR spektrumları incelendiğinde; 2930 cm<sup>-1</sup> civarında yer alan absorpsiyon bandı, AAm veya BAAm'nin CH<sub>2</sub> gruplarından, simetrik ya da asimetrik gerilme titreşimine işaret etmektedir.

3400 ve 1645 cm<sup>-1</sup> civarındaki bandlar BAAm'deki NH-grubu veya AAm'de bulunan –CONH<sub>2</sub> grubu gerilme titreşimlerini göstermektedir [186]. 1448 cm<sup>-1</sup>'de bulunan absorpsiyon bandı ise AAm'de yer alan C-N gerilme titreşimlerini işaret etmektedir [168].

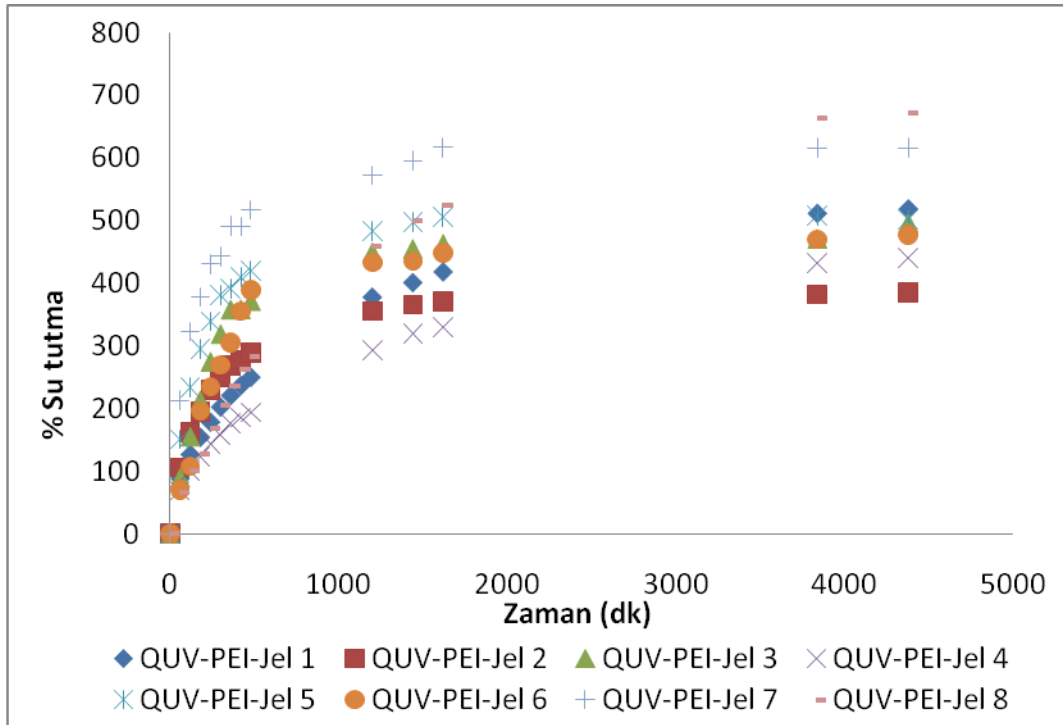


Şekil 6. 23 Fotobaşlatıcılı hidrojellerin karşılaştırmalı FTIR spektrumları.(a)Q<sub>UV</sub>-PEI-Jel 1, (b)Q<sub>UV</sub>-PEI-Jel8 ve (c) Q<sub>UV</sub>-PEI-Jel 3

#### 6.2.4.2 Şişme Testi

Q<sub>UV</sub>-PEI-Jel'lerin şişme davranışlarının incelenmesi için hidrojellere sabit sıcaklıkta su tutma testleri uygulanmıştır. Kuru hidrojellerin suya konulma anı "0" olarak alınmıştır ve belirli süre aralıklarında sudan alınan örneklerin yüzeyindeki su kurularak tartımları gerçekleştirilmiştir.

Q<sub>UV</sub>-PEI-Jel grubuna ait hidrojellere uygulanan şişme testleri sonucunda hidrojeller dengeye gelerek sabit bir şişme değerine ulaşmışlardır. Oluşturulan şişme izotermi, Şekil 6.24'te gösterilmiştir.



Şekil 6. 24 Q<sub>UV</sub>-PEI-Jel'lerinin şişme özelliklerinin zamanla değişimi

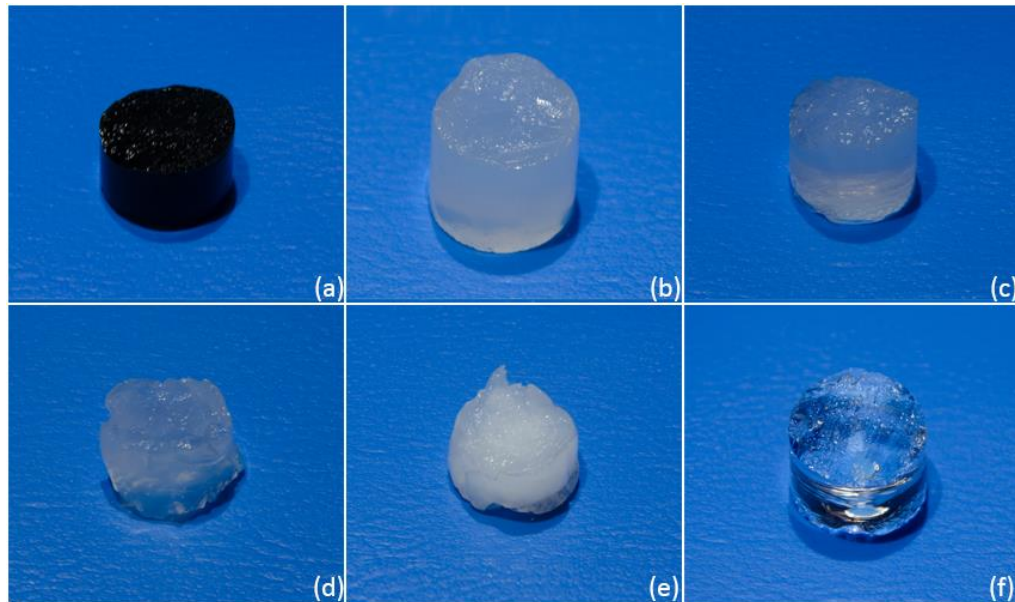
Şekil 6.25'te görüldüğü gibi; tüm hidrojelers ilk 8 saatte hızlı şişmiş, şişme daha sonra yavaşlamıştır. Jellerdeki kütlece artış 5280 dakikadan 8280 dakikaya kadar geçen zaman aralığında kütlelerinde ciddi bir değişim gözlenmemiştir. Hazırlanan tüm jel sistemlerinde bu durum gözlenmiştir. Çizelge 6.10'da Q<sub>UV</sub>-PEI-Jel'lerinin içerikleri ile denge anındaki % şişme değerleri yer almaktadır.

Çizelge 6.10 incelendiğinde, şişme değerlerinin %400 ile %700 arasında değiştiği görülmektedir. Ancak UV ile küreleşebilen katyonik Q<sub>UV</sub>-PEI polimer ve AgNO<sub>3</sub> içermeyen kontrol hidrojelde (Q<sub>UV</sub>-PEI-Jel 8) % şişme değerinin diğerlerinden farklı olarak %672.5 olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca hidrojel sistemlerinde Q<sub>UV</sub>-PEI polimer ve AgNO<sub>3</sub> miktarlarının % şişme değerine olan etkisi net olarak açıklanamamıştır.

Çizelge 6. 10 Q<sub>UV</sub>-PEI-Jel'lerin formülasyon içerikleri ile %şişme değerlerinin karşılaştırmalı verileri

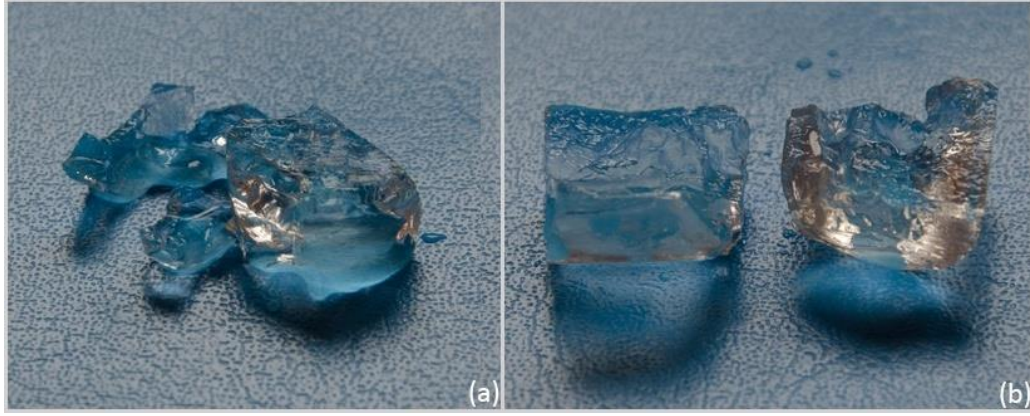
| HİDROJEL KODU              | Q <sub>UV</sub> -PEI<br>POLİMER<br>İÇERİĞİ (g) | AgNO <sub>3</sub><br>(g) | AAm<br>(g) | BAAm<br>(g) | %ŞİŞME<br>DEĞERİ |
|----------------------------|------------------------------------------------|--------------------------|------------|-------------|------------------|
| Q <sub>UV</sub> -PEI-JEL 1 | -                                              | 0.01                     | 2.0        | 0.025       | 519.4            |
| Q <sub>UV</sub> -PEI-JEL 2 | 0.20                                           | 0.01                     | 2.0        | 0.025       | 385.7            |
| Q <sub>UV</sub> -PEI-JEL 3 | 0.20                                           | -                        | 2.0        | 0.025       | 496.6*           |
| Q <sub>UV</sub> -PEI-JEL 4 | 0.10                                           | 0.01                     | 2.0        | 0.025       | 440.8            |
| Q <sub>UV</sub> -PEI-JEL 5 | 0.05                                           | 0.01                     | 2.0        | 0.025       | 502.1            |
| Q <sub>UV</sub> -PEI-JEL 6 | 0.40                                           | 0.01                     | 2.0        | 0.025       | 477.7*           |
| Q <sub>UV</sub> -PEI-JEL 7 | 0.20                                           | 0.05                     | 2.0        | 0.025       | 616.3            |
| Q <sub>UV</sub> -PEI-JEL 8 | -                                              | -                        | 2.0        | 0.025       | 672.5            |

Q<sub>UV</sub>-PEI-Jel grubunda su tutma testinde Q<sub>UV</sub>-PEI-Jel 3 ve Q<sub>UV</sub>-PEI-Jel 6 kodlu hidrojeller son zaman noktalarında (3840.dk ve 4380.dk) şiştikten sonra parçalanmışlardır. Bu hidrojellere ait görüntüler de Şekil 6.26'da yer verilmektedir.



Şekil 6. 25 Q<sub>UV</sub>-PEI-Jel'lerin şişme testi sonrası görüntüleri (a)Q<sub>UV</sub>-PEI-Jel 1, (b)Q<sub>UV</sub>-PEI-Jel 2, (c)Q<sub>UV</sub>-PEI-Jel 4, (d)Q<sub>UV</sub>-PEI-Jel 5, (e)Q<sub>UV</sub>-PEI-Jel 7 ve f)Q<sub>UV</sub>-PEI-Jel 8

\* Şişme testinde parçalanmış hidrojeller.



Şekil 6. 26 Su tutma testinde parçalanmış Q<sub>UV</sub>-PEI-Jel'lerine ait görüntüler (a)Q<sub>UV</sub>-PEI-Jel 3, (b)Q<sub>UV</sub>-PEI-Jel 6

#### 6.2.4.3 SEM Analizi

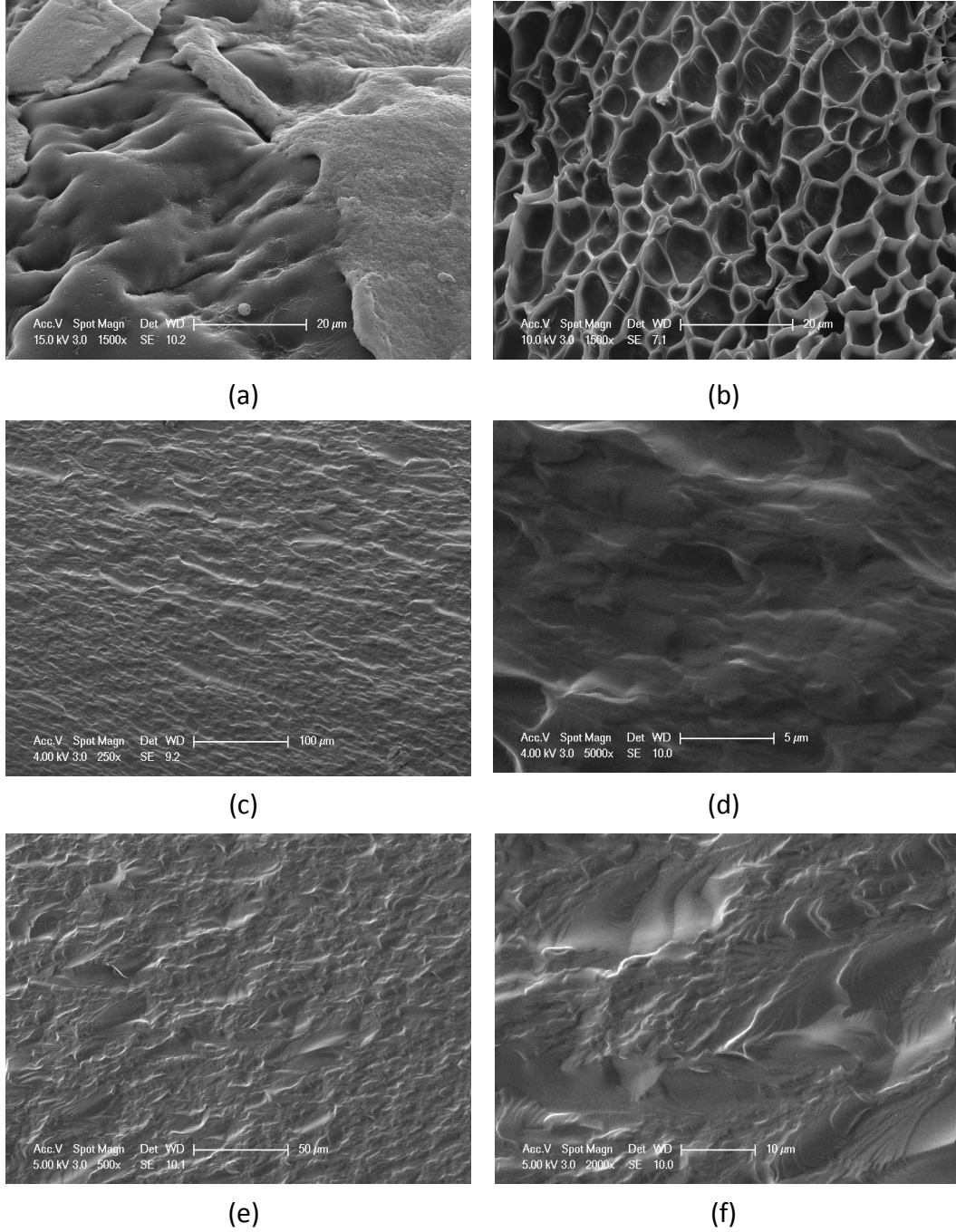
Hazırlanan hidrojellerin yüzey gözenekliliği hakkında bilgi edinebilmek amacıyla SEM görüntüleri alınmıştır. SEM görüntülerinin elde edilmesinde şişmiş haldeki hidrojel örnekleri kullanılmıştır. Farklı büyütme ölçekleri kullanılarak alınan görüntüler, Şekil 6.27'de verilmiştir. SEM görüntüleri, çapraz bağlanmalar sonucunda oluşan gözenekler hakkında görsel fikir vermektedir.

Görüntüler incelendiğinde yüzeylerde mikrometre ölçeğinde gözenek, içe doğru ilerleyen kanal ve boşluklar izlenmektedir. Q<sub>UV</sub>-PEI-Jel 7 numunesi SEM analizi öncesi platin ile kaplanarak analize hazır hale getirilmiştir.

Şekil 6.27(a)'da verilen Q<sub>UV</sub>-PEI-Jel 7'ye ait SEM-EDS görüntüsü 10.0 kV operasyon modunda açık ve koyu alanda incelenmiştir. Açık alana ait elementel kompozisyon %32.64 C, %10.16 O, %17.34 Ag ve %39.86 I, koyu alana ait elementel kompozisyon ise %66.86 C, %31.00 O, %0.70 Ag ve %1.44 I olarak belirlenmiştir (Şekil 6.27(b)).

Q<sub>UV</sub>-PEI-Jel 2 numunesine ait SEM görüntüleri ise (Şekil 6.27(c) ve Şekil 6.27(d)) farklı büyütmelerde verilmektedir. Hidrojel formülasyonunda AgNO<sub>3</sub> olmadığı SEM sonuçları ile de gösterilmiştir.

Q<sub>UV</sub>-PEI-Jel 6 numunesine ait SEM görüntüleri ise farklı büyütmelerde Şekil 6.27(e) ve Şekil 6.27(f)'de yer almaktadır.



Şekil 6. 27 Q<sub>UV</sub>-PEI-Jel'in farklı büyütme ve operasyon modlarında elde edilmiş SEM görüntüleri. (a)Q<sub>UV</sub>-PEI-Jel 7, 10.0 kV, (b)Q<sub>UV</sub>-PEI-Jel 7, 15.0 kV, (c)Q<sub>UV</sub>-PEI-Jel 2, x250, (d)Q<sub>UV</sub>-PEI-Jel 2, x5000, (e)Q<sub>UV</sub>-PEI-Jel 6, x500 ve (f)Q<sub>UV</sub>-PEI-Jel 6, x2000.

#### 6.2.4.4 Katyonik Grup Tayini

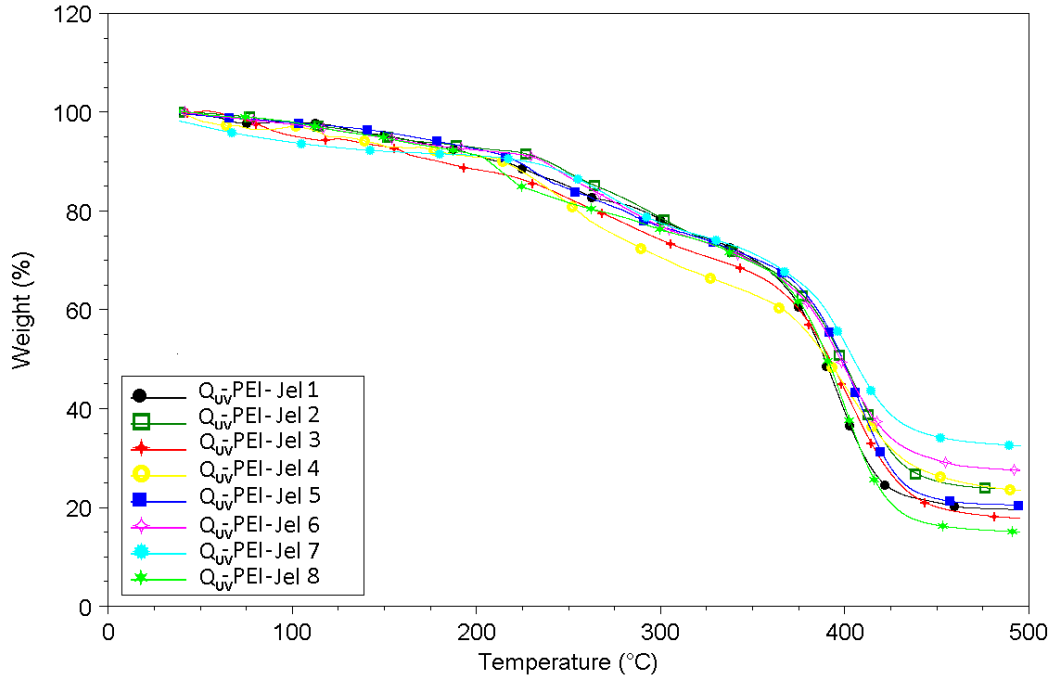
Sentezlenen Q<sub>UV</sub>-PEI-Jel'lerinin yüzeylerinde bulunan katyonik yük yoğunluğu floresan kompleksleşme ve UV-VIS spektroskopisine dayanan kolorimetrik yöntemle ölçülmüştür. Q<sub>UV</sub>-PEI polimer ve Ag içeriği farklı olan hidrojel yüzeylerin boyanmasıyla, floresein bağlanmasının stokiyometrisi, yaklaşık 52.5-60.1 nmol.cm<sup>-2</sup> arasında olduğu

saptanmıştır. Katyonik polimer miktarının hidrojel formülasyonlarında artması ile elde edilen absorpsiyon değerlerinde artış gözlenmiştir. Bu çalışma ışığı altında yük yoğunluğu ve antibakteriyel aktivite arasında ilişki gözlenmiştir, ancak floresan kompleksleşme yöntemi ile yüzey üzerinde bulunan polimer tabaka içindeki tüm yükler belirlenememektedir.

#### 6.2.4.5 TG/DTG Analizi

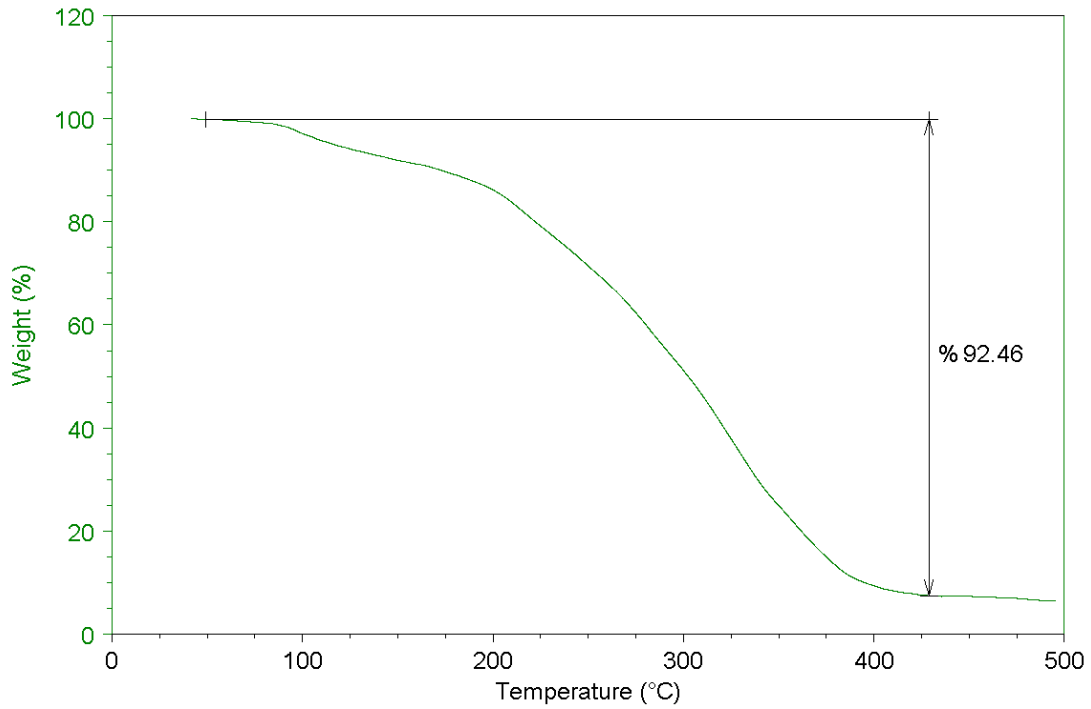
$Q_{UV}$ -PEI polimer ve Ag içeren hidrojellerin termal özellikleri azot atmosferi altında  $10^{\circ}\text{C}/\text{dk}$ 'lık ısıtma hızında, 60 mL/dk azot akışında,  $30\text{-}500^{\circ}\text{C}$  aralığında gerçekleştirilmiştir (Şekil 6.28). Hidrojellere ait termal analiz eğrileri incelendiğinde  $200^{\circ}\text{C}$  ve  $500^{\circ}\text{C}$  aralığında polimer matriksine ait keskin kütle kaybı olduğu gözlenmiştir.

İçerisinde  $Q_{UV}$ -PEI polimer ve  $\text{AgNO}_3$  bulunmayan kontrol hidrojin ( $Q_{UV}$ -PEI-Jel 8)'in bozunma sonucundaki kalıntı miktarı %19.58 olarak tespit edilmiştir. Farklı polimer ve  $\text{AgNO}_3$  içeren hidrojellerin kalıntı miktarları incelendiğinde,  $\text{AgNO}_3$  miktarı arttıkça analiz sonucunda elde edilen kül miktarının da arttığı gözlenmiştir.



Şekil 6. 28  $Q_{UV}$ -PEI-Jel'lere ait termal analiz eğrileri

Hidrojellere ait yapılan TG/DTG çalışmalarına ek olarak, Q<sub>UV</sub>-PEI polimerin termal özellikleri de incelenmiştir. Çalışma azot atmosferi altında 10°C/dk ısıtma hızında 30-500°C aralığında gerçekleştirilmiştir (Şekil 6.29). TG/DTG eğrilerine göre UV ile kürleşebilen katyonik Q<sub>UV</sub>-PEI polimerinin kütle azalmasının tek kademede oluştuğu belirlenmiştir. 10°C/dk ısıtma hızına ait TG/DTG eğrisi için 30-500°C sıcaklığı arasında oluşan kütle azalması %92.46 olarak hesaplanmıştır.



Şekil 6. 29 Q<sub>UV</sub>-PEI polimerinin termal analiz eğrisi

#### 6.2.4.6 ICP-OES Analizi

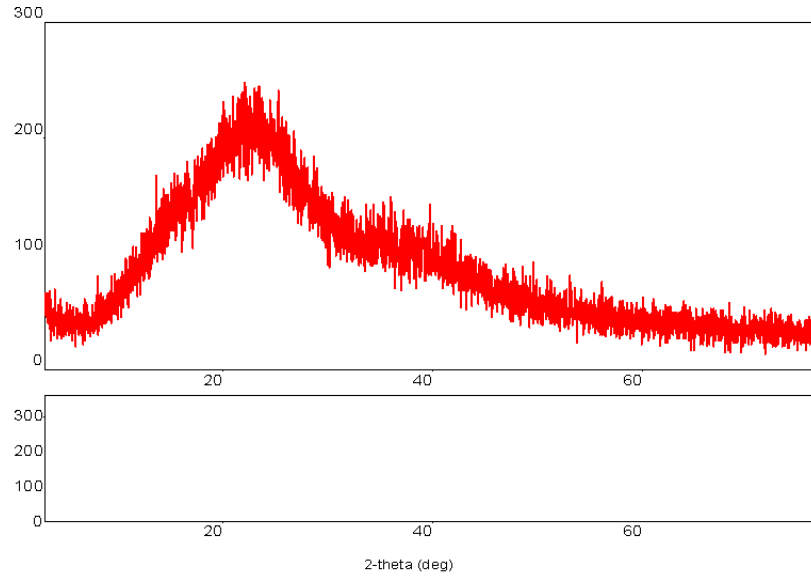
Q<sub>UV</sub>-PEI-Jel numunelerinde yer alan Ag içeriği ve Ag'nin suya salımı ICP-OES cihazı ile incelenmiştir. Seçilen jel numuneleri 24 ve 48 saat distile suda bekletilmiş ve daha sonra su fazı analiz edilmiştir.

En yüksek AgNO<sub>3</sub> içeriğine sahip Q<sub>UV</sub>-PEI-Jel 7 numaralı jel ile gerçekleştirilmiş çalışma sonucunda 2425 ppm (%0.2425 ağı.), teorik olan ağırlıkça %1.4 Ag değerine yakın bulunmuştur. Ayrıca Q<sub>UV</sub>-PEI-Jel 7'den 48 saat sonunda suya salınan Ag<sup>+</sup> iyonu 0.50 ppm olarak hesaplanmıştır.

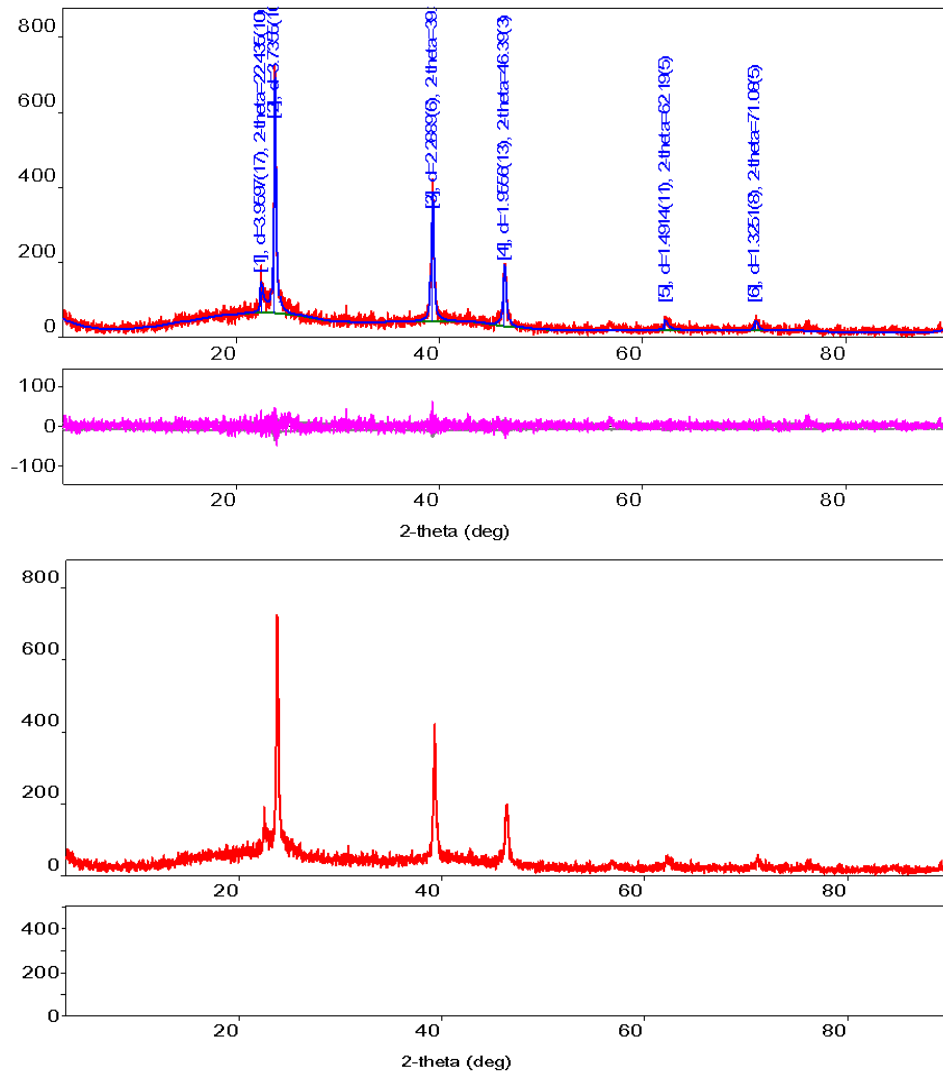
#### 6.2.4.7 XRD Analizi

$Q_{UV}$ -PEI-Jel formülasyonlarındaki yüzeydeki Ag tayini SEM analizinin yanı sıra XRD çalışmaları ile de yapılmıştır.  $Q_{UV}$ -PEI-Jel 4'ün XRD diyagramına göre amorf yapı elde edilmiştir (Şekil 6.29). Deneysel çalışmanın ve cihazın kontrolü için ağırlıkça %10 Ag içeren kontrol UV ile kürleşebilen hidrojel sentezlenerek XRD diyagramı incelenmiştir (Şekil 6.30). Analiz sonucuna göre ağırlıkça %10 Ag içeren kontrol hidrojin yapısında karakteristik Ag pikleri görülmektedir.

Kontrol hidrojin yapısında yer alan Ag iyonları XRD analizi ile tespit edilmesine rağmen kantitatif olarak karşılaştırma yapılamamıştır. Bu durum, XRD analizinde aranan bileşenin ağırlıkça %5'in altında olmasından kaynaklanmaktadır [187]. Bu kapsamda sentezlenen hidrojellerin yapısında yer alan Ag miktarları XRD tekniği ile kantitatif olarak tespit edilememiştir.



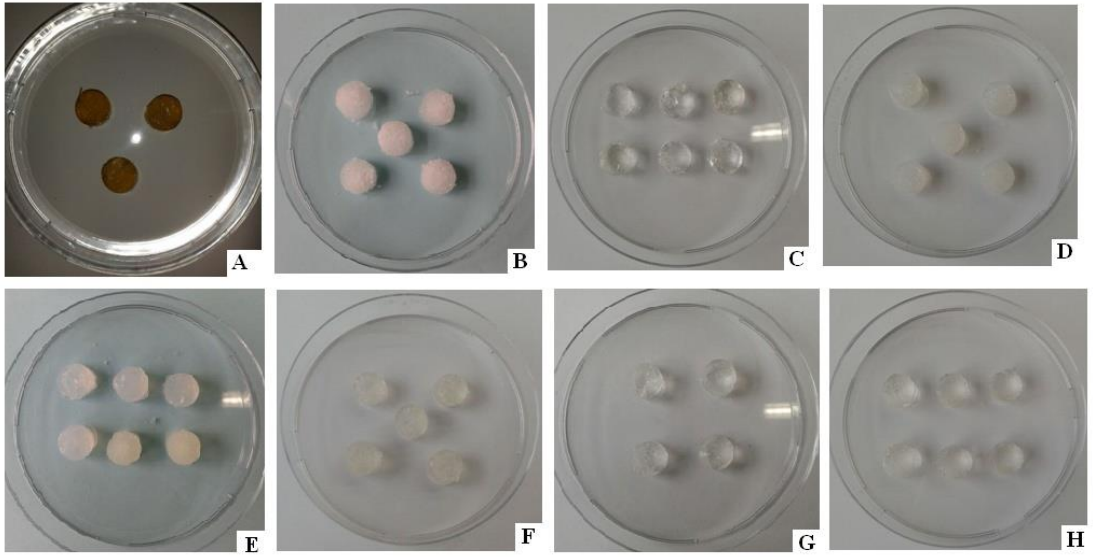
Şekil 6. 30  $Q_{UV}$ -PEI Jel 4'ün XRD analiz diyagramı



Şekil 6. 31 Kontrol hidrojeline ait XRD diyagramı

### 6.2.5 Q<sub>UV</sub>-PEI-Jel Antimikrobiyal Etkinlik Sonuçları

Fotobaşlatıcılı polimerizasyon yöntemine göre hazırlanan ikinci grup hidrojellerin antimikrobiyal etkinlik analizleri Yıldız Teknik Üniversitesi Kimya Bölümü'nde gerçekleştirilmiştir. Şekil 6.32'de bu analizler için hazırlanan numunelere ait görüntüler yer almaktadır. Numuneler 1 cm çapında ve 0.5 cm kalınlığında kesilerek analize hazır hale getirilmiştir.



Şekil 6. 32 Q<sub>UV</sub>-PEI-Jel’lerin antimikrobiyal etkinlik analizleri için hazırlanan numunelere ait görüntüler. (A)Q<sub>UV</sub>-PEI-Jel 1, (B)Q<sub>UV</sub>-PEI-Jel 2, (C)Q<sub>UV</sub>-PEI-Jel 3, (D)Q<sub>UV</sub>-PEI-Jel 4, (E)Q<sub>UV</sub>-PEI-Jel, (F)Q<sub>UV</sub>-PEI-Jel 6, (G)Q<sub>UV</sub>-PEI-Jel 7 ve (H)Q<sub>UV</sub>-PEI-Jel 8 (kontrol)

Antimikrobiyal etkinlik disk difüzyon testi sonuçlarına göre; en yüksek Ag içeriğine sahip hidrojelde (Q<sub>UV</sub>-PEI-Jel 7) en büyük zone çapının olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca ICP çalışması ile de hidrojin suya Ag salımı yaptığı ispat edilmiştir.

Çizelge 6. 11 Q<sub>UV</sub>-PEI-Jel’lerinin karşılaştırmalı MIC zone çapları

| HİDROJEL KODU              | ZONE ÇAPI (mm)<br><i>E.coli</i> | ZONE ÇAPI (mm)<br><i>S.aureus</i> |
|----------------------------|---------------------------------|-----------------------------------|
| Q <sub>UV</sub> -PEI-JEL 1 | 3                               | 1                                 |
| Q <sub>UV</sub> -PEI-JEL 2 | 2                               | -                                 |
| Q <sub>UV</sub> -PEI-JEL 3 | -                               | -                                 |
| Q <sub>UV</sub> -PEI-JEL 4 | 3                               | 1.5                               |
| Q <sub>UV</sub> -PEI-JEL 5 | 4                               | 2                                 |
| Q <sub>UV</sub> -PEI-JEL 6 | 1                               | -                                 |
| Q <sub>UV</sub> -PEI-JEL 7 | 5                               | 3.5                               |
| Q <sub>UV</sub> -PEI-JEL 8 | -                               | -                                 |

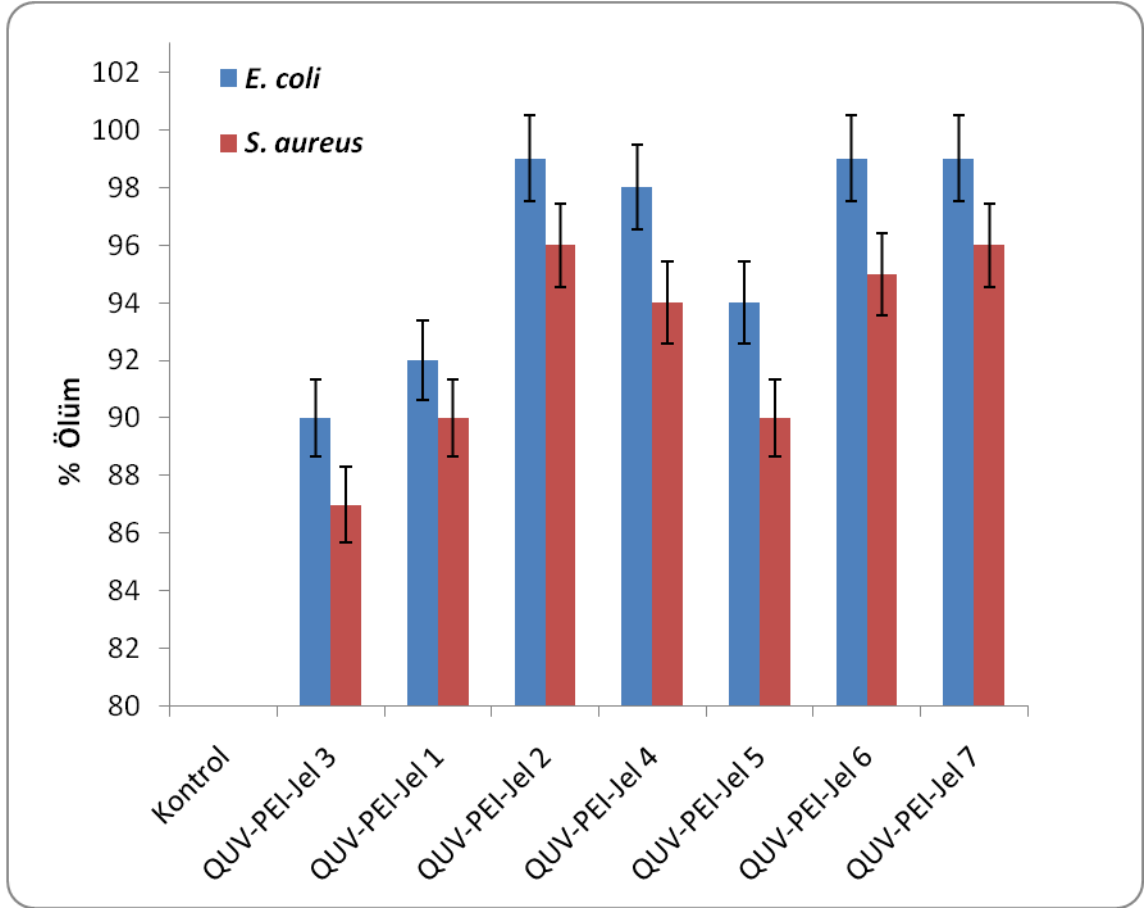
Yapısında AgNO<sub>3</sub> bulunmayıp Q<sub>UV</sub>-PEI polimeri bulunan hidrojelde (Q<sub>UV</sub>-PEI-Jel 3) ise beklenildiği gibi, zone çapı oluşmamıştır. Zone çapının oluşmaması hidrojel formülasyonunda reaksiyona girmeyen monomerlerin eser miktarda olduğu ve bakteri için öldürücü etkisinin olmadığı görülmektedir. Ag'nin bakteriler üzerinde yayılım etkisi göstermesi Ag içerikli hidrojellerde oluşan zonlar ile doğrulanmıştır.

Çizelge 6.11'de Q<sub>UV</sub>-PEI-Jel'lerinin *E.coli* ve *S.aureus*'a karşı karşılaştırmalı MIC zone çap değerleri verilmiştir. Çizelge 6.12'de ise Q<sub>UV</sub>-PEI Jel'lerinin *E.coli* ve *S.aureus*'a karşı karşılaştırmalı %bakteri ölüm değerleri yer almaktadır.

Çizelge 6. 12 Q<sub>UV</sub>-PEI Jel'lerinin *E.coli* ve *S.aureus*'a karşı %ölüm değerleri

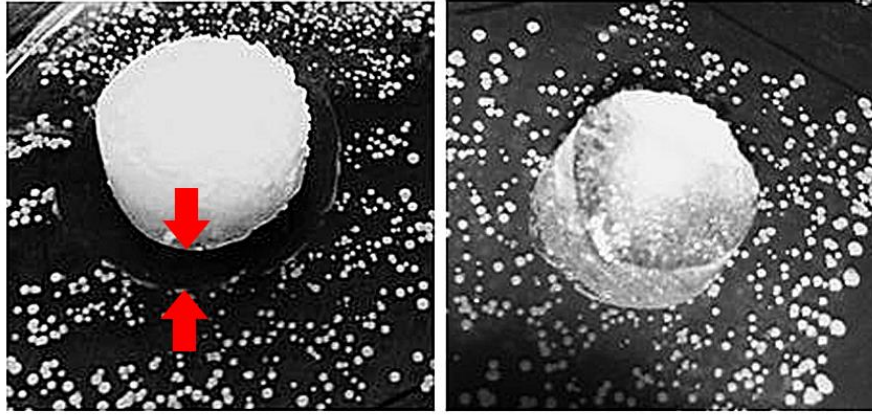
| HİDROJEL KODU                        | %ÖLÜM ( <i>E.coli</i> ) | %ÖLÜM ( <i>S.aureus</i> ) |
|--------------------------------------|-------------------------|---------------------------|
| Q <sub>UV</sub> -PEI-JEL 3           | 90                      | 87                        |
| Q <sub>UV</sub> -PEI-JEL 1           | 92                      | 90                        |
| Q <sub>UV</sub> -PEI-JEL 2           | 99                      | 96                        |
| Q <sub>UV</sub> -PEI-JEL 4           | 98                      | 94                        |
| Q <sub>UV</sub> -PEI-JEL 5           | 94                      | 90                        |
| Q <sub>UV</sub> -PEI-JEL 6           | 99                      | 95                        |
| Q <sub>UV</sub> -PEI-JEL 7           | 99                      | 96                        |
| Q <sub>UV</sub> -PEI-JEL 8 (KONTROL) | 0                       | 0                         |

Şekil 6.33'de Q<sub>UV</sub>-PEI-Jel'lerinin *E.coli* ve *S.aureus*'a karşı antimikrobiyal etkinlik histogramları verilmiştir.



Şekil 6. 33 Q<sub>UV</sub>-PEI-Jel'lerinin *E.coli* ve *S.aureus*'a karşı antimikrobiyal etkinlik histogramları (Grafikteki hata çubukları n=3 için standart sapmayı temsil etmektedir)

Şekil 6.34'de Q<sub>UV</sub>-PEI-Jel 7 kodlu jelin *E.coli*'ye karşı MIC testi sonucunda oluşturduğu zone çapı kırmızı okla işaret edilerek gösterilmiştir. Şekilde de görüldüğü gibi kontrol hidrojelde (yapısında AgNO<sub>3</sub> ve antimikrobiyal Q<sub>UV</sub>-PEI polimeri bulunmayan) herhangi bir zone oluşmazken Q<sub>UV</sub>-PEI-Jel 7 nolu jelin çevresinde 5 mm'lik bakteri üremeyen bir zone oluştuğu görülmüştür.



Q<sub>UV</sub> – PEI-Jel 7

Kontrol

Şekil 6. 34 Q<sub>UV</sub>-PEI-Jel'lerinin antimikrobiyal etkinlik görüntüleri (inhibisyon bölgesi oklarla gösterilmiştir. Q<sub>UV</sub>-PEI-Jel 7 kodlu jel *E.coli*'ye karşı en büyük zone çapını oluşturmuştur)

Şekil 6.35'de Q<sub>UV</sub>-PEI-Jel 2, Q<sub>UV</sub>-PEI-Jel 4 ve kontrol hidrojellerinin *E.coli*'ye karşı airborne testi sonucunda oluşan etkinlik görüntüleri yer almaktadır. Bu çalışmada hidrojelere *E.coli* hücrelerinin sulu süspansiyonları (10<sup>6</sup> hücre/mL) püskürtüldükten sonra 5 dk kurutulmak üzere bekletilmiş, % 1 nutrient agar altında 37°C'de bir gece boyunca inkübe edildikten sonra etkinlikleri incelenmiştir.



Kontrol

Q<sub>UV</sub> – PEI-Jel 4

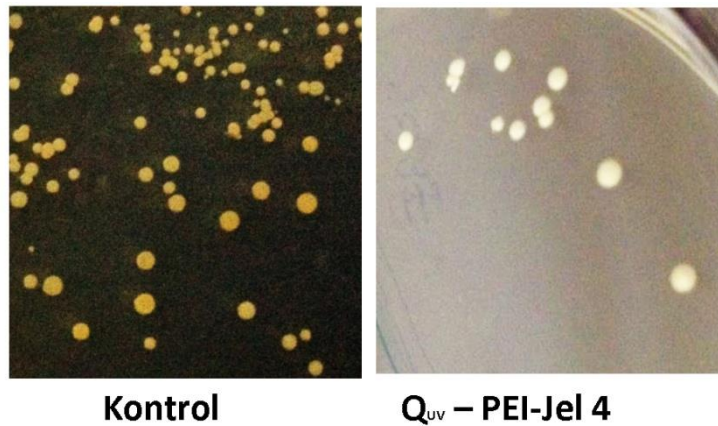
Q<sub>UV</sub> – PEI-Jel 2

Şekil 6. 35 Kontrol (soldaki), Q<sub>UV</sub>-PEI-Jel 2 (sağdaki) ve Q<sub>UV</sub>-PEI-Jel 4 (ortadaki) jellere ait görüntüler. Jellerin üzerine 10<sup>6</sup> hücre/mL konsantrasyondaki *E.coli* süspansiyonu püskürtüldü, 5 dk kurutulmak üzere bekletildi ve % 1 nutrient agar altında 37°C'de bir gece boyunca inkübe edilmiştir.

Şekil 6.35'de kontrol jel (soldaki) yüzeyi üzerindeki bakteri hücreleri beyaz spot şeklinde görülmektedir. Q<sub>UV</sub>-PEI-Jel 2 (sağdaki) yüzeyinde bakteri üremediği gözlenirken *E.coli* hücrelerinin %99'unu öldürdüğü tespit edilmiştir. Q<sub>UV</sub>-PEI-Jel 4 (ortadaki) yüzeyinde oluşan hücre kolonilerinin kontrol hidrojele göre oldukça az

olduğu gözlenirken *E.coli* hücrelerinin %98'ini öldürdüğü belirlenmiştir.

Şekil 6.36'de Q<sub>UV</sub>-PEI-Jel 4 ve kontrol hidrojellerinin *S.aureus*'a karşı airborne testi sonucunda oluşan etkinlik görüntüleri yer almaktadır. Hidrojellere *S.aureus* hücrelerinin sulu süspansiyonları (10<sup>6</sup> hücre/mL) püskürtüldükten sonra 5 dk kurutulmak üzere bekletilmiş, %1 nutrient agar altında 37°C'de bir gece boyunca inkübe edildikten sonra etkinlikleri incelenmiştir. Q<sub>UV</sub>-PEI-Jel 4 (sağdaki) yüzeyindeki beyaz spot ile görülen hücre yoğunluğunun kontrol (soldaki) hidrojele oranla daha az olduğu görülmektedir. Q<sub>UV</sub>-PEI-Jel 4'ün airborne test sonucunda *S.aureus* hücrelerini %94 oranda öldürdüğü belirlenmiştir. Jellerin *S.aureus*'a daha düşük etkinlik göstermesinin sebebi, hücre çeperinde bulunan lipopolisakkaritten kaynaklanmaktadır. Katyonik polimer fosfolipit membran ile etkileşmesi Gram (+) bakterilere göre daha zayıf olmaktadır. Bu sebeple elektrostatik etkileşme azalarak bakteriye karşı etkinliği daha düşük olmaktadır.



Şekil 6. 36 Kontrol (soldaki), Q<sub>UV</sub>-PEI-Jel 4 (sağdaki) jellerine ait görüntüler. Jellerin üzerine 10<sup>6</sup> hücre/mL konsantrasyondaki *S.aureus* süspansiyonu püskürtüldü, 5 dk kurutulmak üzere bekletildi ve % 1 nutrient agar altında 37°C'de bir gece boyunca inkübe edilmiştir.

Airborn testi sonucuna göre; en düşük etkinlik sonucu, yapısında antimikrobiyal polimerin yer aldığı, AgNO<sub>3</sub>'ün bulunmadığı Q<sub>UV</sub>-PEI-Jel 3 kodlu jelde gözlenmektedir. En yüksek antimikrobiyal etkinlik ise yapısında sadece AgI NPs'nin yer aldığı Q<sub>UV</sub>-PEI-Jel 1 kodlu hidrojelde olduğu gözlenmiştir. AgNO<sub>3</sub> ve Q<sub>UV</sub>-PEI polimerin yüksek oranda kullanıldığı jellerde %99 bakteri ölümüne rastlanmaktadır (Çizelge 6.12).

### 6.2.6 Q<sub>UV</sub>-PEI-Jel Toksikoloji Çalışması

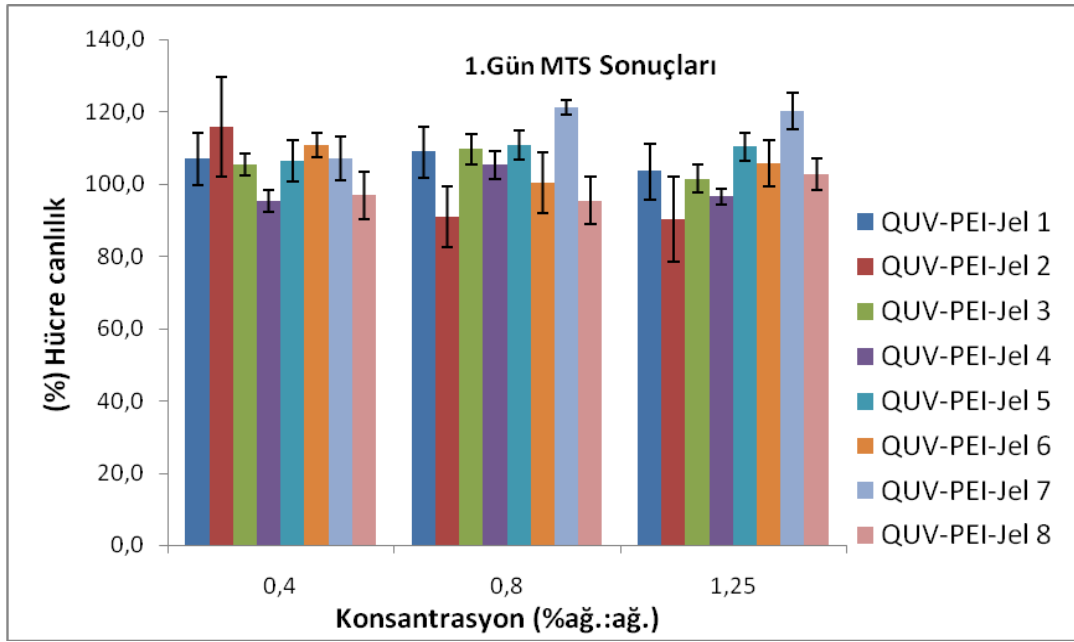
Q<sub>UV</sub>-PEI-Jel'lerinin biyouyumluluk çalışması, hücre canlılığını tayin etmek için kullanılan MTS (administered 3-(4, 5-dimethyl thiazol-2-yl)-5-(3-carboxymethoxy phenyl)-2-(4-sulfophenyl)-2H-tetrazolium, inner salt) testi ile gerçekleştirilmiştir [177]. Stotoksisite çalışmaları kapsamında gerçekleştirilen çalışmalarda temel olarak, farklı hidrojellerin belirlenmiş konsantrasyonları kullanılmıştır. Numune sterilizasyon işlemi 15 dk UV ışığı altında tutularak yapılmıştır. Bu amaca uygun olarak hidrojeller sterilizasyon işlemi sonrası doğrudan hücreler ile etkileştirilerek, HUVEC hücre hattında üreme davranışları incelenmiştir.

Şekil 6.37'de MTS yöntemi kullanılarak gerçekleştirilen Q<sub>UV</sub>-PEI-Jel'lerine ait hücre canlılık sonuçları görülmektedir. Üç farklı jel konsantrasyonuna karşılık gelen %hücre canlılık değerleri sırasıyla 24 saat sonunda tespit edilmiştir.

Çizelge 6.13'de farklı konsantrasyonlardaki Q<sub>UV</sub>-PEI-Jel'lerinin 24 saat sonundaki ortalama %hücre canlılık ve ortalama standart hata değerleri verilmiştir.

Çizelge 6. 13 Farklı konsantrasyonlardaki Q<sub>UV</sub>-PEI-Jel'lerinin 24 saat sonundaki ortalama %hücre canlılık ve ortalama standart hata değerleri

| Q <sub>UV</sub> -PEI-JEL KODU | 1.GÜN SONUÇLARI                           |             |             |
|-------------------------------|-------------------------------------------|-------------|-------------|
|                               | %0.4                                      | %0.8        | %1.25       |
|                               | %HÜCRE CANLILIK (ORT) ± (σ <sub>M</sub> ) |             |             |
| Q <sub>UV</sub> -PEI-JEL 1    | 106.9 ± 7.2                               | 108.9 ± 7.0 | 103.5 ± 7.7 |
| Q <sub>UV</sub> -PEI-JEL 2    | 115.8 ± 13.7                              | 90.8 ± 8.4  | 90.3 ± 11.6 |
| Q <sub>UV</sub> -PEI-JEL 3    | 105.5 ± 3.1                               | 109.6 ± 4.3 | 101.4 ± 3.8 |
| Q <sub>UV</sub> -PEI-JEL 4    | 95.3 ± 3.0                                | 105.2 ± 3.8 | 96.5 ± 2.1  |
| Q <sub>UV</sub> -PEI-JEL 5    | 106.4 ± 5.7                               | 110.7 ± 4.0 | 110.4 ± 3.8 |
| Q <sub>UV</sub> -PEI-JEL 6    | 110.8 ± 3.3                               | 100.4 ± 8.3 | 105.7 ± 6.5 |
| Q <sub>UV</sub> -PEI-JEL 7    | 107.1 ± 6.2                               | 121.3 ± 2.1 | 120.3 ± 5.1 |
| Q <sub>UV</sub> -PEI-JEL 8    | 96.9 ± 6.5                                | 95.3 ± 6.6  | 102.8 ± 4.2 |



Şekil 6. 37 Farklı konsantrasyonlara karşılık Q<sub>UV</sub>-PEI-Jel'lerinin 24 saat sonundaki MTS grafikleri

Çizelge 6.14'de Q<sub>UV</sub>-PEI-Jel içeriklerinin 24 saat sonundaki ortalama %hücre canlılık değerleri ile karşılaştırılması yer almaktadır.

Çizelge 6.14. Q<sub>UV</sub>-PEI-Jel içeriklerinin 24 saat sonundaki ortalama %hücre canlılık değerleri ile karşılaştırılması

| Q <sub>UV</sub> -PEI-JEL KODU | %0.4                  | %0.8  | %1.25 | JEL İÇERİKLERİ                       |                       |
|-------------------------------|-----------------------|-------|-------|--------------------------------------|-----------------------|
|                               | %HÜCRE CANLILIK (ORT) |       |       | Q <sub>UV</sub> -PEI-JEL İÇERİĞİ (g) | AgNO <sub>3</sub> (g) |
| Q <sub>UV</sub> -PEI-JEL 1    | 106.9                 | 108.9 | 103.5 | -                                    | 0.01                  |
| Q <sub>UV</sub> -PEI-JEL 2    | 115.8                 | 90.8  | 90.3  | 0.2                                  | 0.01                  |
| Q <sub>UV</sub> -PEI-JEL 3    | 105.5                 | 109.6 | 101.4 | 0.2                                  | -                     |
| Q <sub>UV</sub> -PEI-JEL 4    | 95.3                  | 105.2 | 96.5  | 0.1                                  | 0.01                  |
| Q <sub>UV</sub> -PEI-JEL 5    | 106.4                 | 110.7 | 110.4 | 0.05                                 | 0.01                  |
| Q <sub>UV</sub> -PEI-JEL 6    | 110.8                 | 100.4 | 105.7 | 0.4                                  | 0.01                  |
| Q <sub>UV</sub> -PEI-JEL 7    | 107.1                 | 121.3 | 120.3 | 0.2                                  | 0.05                  |
| Q <sub>UV</sub> -PEI-JEL 8    | 96.9                  | 95.3  | 102.8 | -                                    | -                     |

Sonuçlar incelendiğinde, Q<sub>UV</sub>-PEI-Jel'lerinin %0.4, %0.8 ve %1.25 konsantrasyonları için HUVEC hücrelerine karşı 24 saat sonunda yüzde canlılık sonuçlarının %90-120 aralığında yer aldığı belirlenmiştir. 24 saat sonunda belirlenmiş üç konsantrasyon değeri için toksik etkinin olmadığı gözlenmiştir. Çalışma 72 saat sonundaki %hücre canlılık değerleri için aynı parametrelerle tekrarlanmıştır.

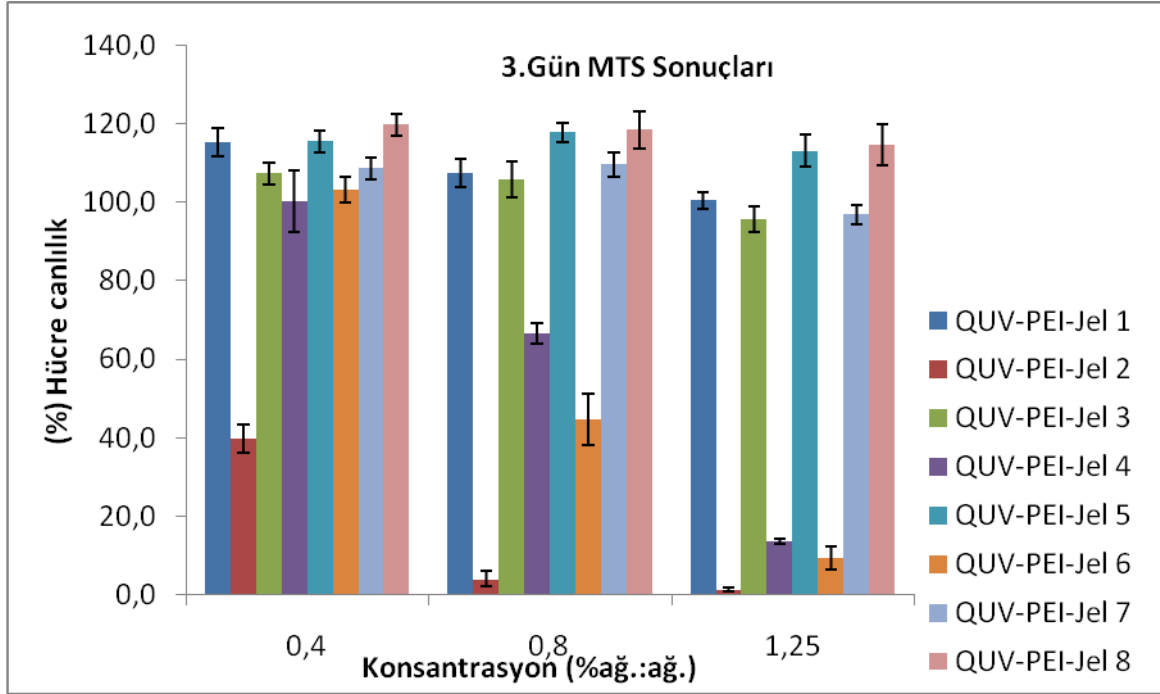
Şekil 6.38'de MTS yöntemi kullanılarak gerçekleştirilen Q<sub>UV</sub>-PEI-Jel'lerine ait hücre canlılık sonuçları görülmektedir. Üç farklı jel konsantrasyonuna karşılık gelen %hücre canlılık değerleri sırasıyla 72 saat sonunda tespit edilmiştir. Ayrıca Çizelge 6.15'de farklı konsantrasyonlardaki Q<sub>UV</sub>-PEI-Jel'lerinin 72 saat sonundaki ortalama %hücre canlılık ve ortalama standart hata değerleri verilmiştir.

Çizelge 6. 15 Farklı konsantrasyonlardaki Q<sub>UV</sub>-PEI-Jel'lerinin 72 saat sonundaki ortalama %hücre canlılık ve ortalama standart hata değerleri

| Q <sub>UV</sub> -PEI-JEL KODU | 3.GÜN SONUÇLARI                           |             |             |
|-------------------------------|-------------------------------------------|-------------|-------------|
|                               | %0.4                                      | %0.8        | %1.25       |
|                               | %HÜCRE CANLILIK (ORT) ± (σ <sub>M</sub> ) |             |             |
| Q <sub>UV</sub> -PEI-JEL 1    | 115.3 ± 3.5                               | 107.3 ± 3.6 | 100.4 ± 2.1 |
| Q <sub>UV</sub> -PEI-JEL 2    | 39.7 ± 3.7                                | 4.0 ± 2.0   | 1.3 ± 0.4   |
| Q <sub>UV</sub> -PEI-JEL 3    | 107.3 ± 2.9                               | 105.8 ± 4.6 | 95.7 ± 3.3  |
| Q <sub>UV</sub> -PEI-JEL 4    | 100.2 ± 7.9                               | 66.6 ± 2.6  | 13.6 ± 0.6  |
| Q <sub>UV</sub> -PEI-JEL 5    | 115.4 ± 2.7                               | 117.7 ± 2.4 | 113.1 ± 4.0 |
| Q <sub>UV</sub> -PEI-JEL 6    | 103.1 ± 3.2                               | 44.6 ± 6.5  | 9.5 ± 2.9   |
| Q <sub>UV</sub> -PEI-JEL 7    | 108.6 ± 2.7                               | 109.6 ± 3.0 | 96.6 ± 2.5  |
| Q <sub>UV</sub> -PEI-JEL 8    | 119.6 ± 2.9                               | 118.4 ± 4.8 | 114.5 ± 5.2 |

Q<sub>UV</sub>-PEI-Jel'lerinin 72 saat sonunda %hücre canlılık değerleri incelendiğinde; Q<sub>UV</sub>-PEI-JEL 2' nin tüm konsantrasyon değerlerinde düşük olduğu ve HUVEC hücrelerine karşı toksik etki gösterdiği belirlenmiştir. Q<sub>UV</sub>-PEI-JEL 6'ya ait sonuçlarla karşılaştırıldığında, Q<sub>UV</sub>-PEI-JEL 2'nin yüzde hücre canlılık değerlerinin daha yüksek olması beklenmektedir.

Jel yapısında  $\text{AgNO}_3$ 'ün homojen olarak dağılamaması ve uzaklaştırılamayan eser miktarda monomerlerin kalmış olmasının hücre canlılık değerlerine etkide bulunduğu düşünülmektedir.



Şekil 6. 38 Farklı konsantrasyonlara karşılık  $\text{Q}_{\text{UV}}$ -PEI-Jellerinin 72 saat sonundaki MTS grafikleri

%0.4 jel konsantrasyonunda  $\text{Q}_{\text{UV}}$ -PEI-JEL 2 hariç diğer tüm jellerin 72 saat sonunda %hücre canlılık değerleri toksik etkinin olmadığını göstermektedir.

Jel yapısında  $\text{Q}_{\text{UV}}$ -PEI ve  $\text{AgNO}_3$ 'ün yer almadığı kontrol jel  $\text{Q}_{\text{UV}}$ -PEI-JEL 8'in, 24 ve 72 saat sonunda tüm konsantrasyonlarda beklendiği gibi toksik etki göstermemiştir.

Jel içeriğinde  $\text{AgNO}_3$ 'ün bulunmadığı  $\text{Q}_{\text{UV}}$ -PEI-JEL 3, 72 saat sonunda toksik etki göstermemiştir. Ayrıca en yüksek  $\text{AgNO}_3$  miktarına sahip  $\text{Q}_{\text{UV}}$ -PEI-JEL 7, 72 saat sonunda tüm konsantrasyonlarda %hücre canlılık değerleri %96-110 aralığında bulunmuştur.

En yüksek  $\text{Q}_{\text{UV}}$ -PEI polimer miktarına sahip  $\text{Q}_{\text{UV}}$ -PEI-JEL 6'nın 72 saat sonunda %0.4 konsantrasyonda yüzde hücre canlılık değeri %103.1 iken, %0.8 konsantrasyonda %44.6 ve %1.25 konsantrasyonda %9.5'e kadar düşmüştür. Bu konsantrasyonlar için toksik etki tespit edilmiştir.

En düşük Q<sub>UV</sub>-PEI polimer miktarına sahip Q<sub>UV</sub>-PEI-JEL 5'in 72 saat yüzde hücre canlılık değerleri tüm konsantrasyonlarda toksik olmayan sonuç vermiştir.

Q<sub>UV</sub>-PEI-JEL 4'ün 72 saat sonundaki sonuçları incelendiğinde %0.8 ve %1.25 konsantrasyonlarda yüzde hücre canlılık değerlerinin yüksek olması beklenmektedir. AgNO<sub>3</sub>'ün homojen olarak dağılamaması ve eser miktarda monomerlerin jelin yapısında kalmasının sonuçlardaki farklılığa neden olduğu düşünülmektedir.

Çizelge 6.16'da Q<sub>UV</sub>-PEI-Jel içeriklerinin 72 saat sonundaki ortalama %hücre canlılık değerleri ile karşılaştırılması yer almaktadır.

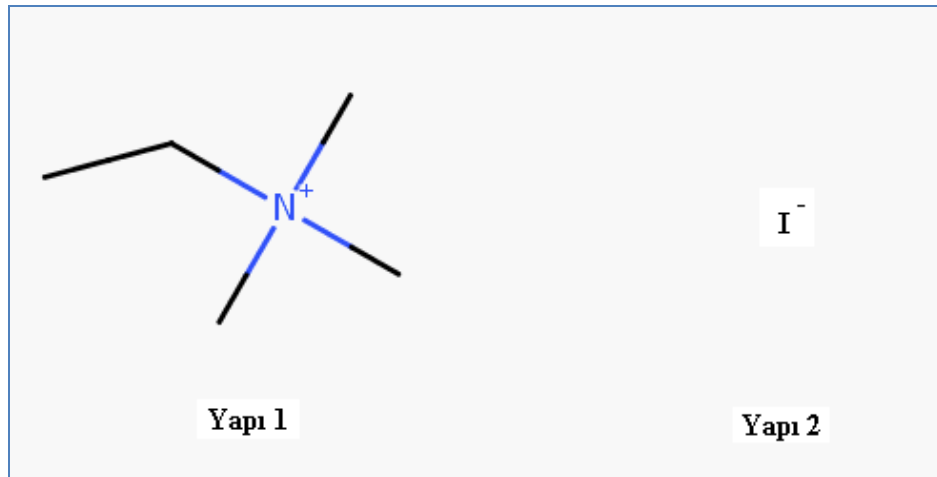
Çizelge 6.16 Q<sub>UV</sub>-PEI-Jel içeriklerinin 72 saat sonundaki ortalama %hücre canlılık değerleri ile karşılaştırılması

| Q <sub>UV</sub> -PEI-JEL KODU | %0.4                  | %0.8  | %1.25 | JEL İÇERİKLERİ                       |                       |
|-------------------------------|-----------------------|-------|-------|--------------------------------------|-----------------------|
|                               | %HÜCRE CANLILIK (ORT) |       |       | Q <sub>UV</sub> -PEI-JEL İÇERİĞİ (g) | AgNO <sub>3</sub> (g) |
| Q <sub>UV</sub> -PEI-JEL 1    | 115.3                 | 107.3 | 100.4 | -                                    | 0.01                  |
| Q <sub>UV</sub> -PEI-JEL 2    | 39.7                  | 4.0   | 1.3   | 0.2                                  | 0.01                  |
| Q <sub>UV</sub> -PEI-JEL 3    | 107.3                 | 105.8 | 95.7  | 0.2                                  | -                     |
| Q <sub>UV</sub> -PEI-JEL 4    | 100.2                 | 66.6  | 13.6  | 0.1                                  | 0.01                  |
| Q <sub>UV</sub> -PEI-JEL 5    | 1154                  | 117.7 | 113.1 | 0.05                                 | 0.01                  |
| Q <sub>UV</sub> -PEI-JEL 6    | 103.1                 | 44.6  | 9.5   | 0.4                                  | 0.01                  |
| Q <sub>UV</sub> -PEI-JEL 7    | 108.9                 | 109.6 | 96.6  | 0.2                                  | 0.05                  |
| Q <sub>UV</sub> -PEI-JEL 8    | 119.6                 | 118.4 | 114.5 | -                                    | -                     |

Q<sub>UV</sub>-PEI-Jel grubuna elde edilen tüm in vitro toksikoloji sonuçları incelendiğinde, jel içeriğinde yer alan Q<sub>UV</sub>-PEI polimerinin ve Ag'nin belirlenmiş miktarlarının HUVEC hücrelerine karşı 24 saat sonunda toksik etki göstermediği belirlenmiştir. 72 saat sonunda jel içeriğindeki Q<sub>UV</sub>-PEI polimeri ve Ag miktarlarının artışı ile jelin yüksek konsantrasyonlarında toksik etki gösterdiği tespit edilmiştir.

#### 6.2.6.1 Q<sub>UV</sub>-PEI Esaslı Polimerin Toksikoloji Tahmin Çalışması

Antimikrobiyal etkinlik sonuçları belirlenen Q<sub>UV</sub>-PEI-Jel'lerin in vitro toksikoloji çalışmaları öncesinde öngörü ve araştırma için bilgisayarlı program ile toksikoloji tahmin çalışmaları yapılmıştır. Q<sub>UV</sub>-PEI polimer toksisite tahmini Derek Nexus 4.0.5, Nexus 1.7.5 program deneme versiyonu ile polimerdeki katyonik grup üzerinde gerçekleştirilmiştir. Ayrıca polimerin mutagenisite (AMES) tahmini Sarah Nexus programı 1.1.2 deneme versiyonu ile gerçekleştirilmiştir. Mutajenite tahmin çalışması da toksisite tahmininin olduğu gibi Şekil 6.39'da gösterilen polimerdeki katyonik grup üzerinde gerçekleştirilmiştir. AMES testi olarak da adlandırılan *Salmonella*/mikrozom mutajenite testi, kimyasal maddelerin mutajenik etkilerinin araştırılmasında kullanılan, test parametreleri açısından en iyi standardize edilmiş ve mutajen/karsinojen etkisi en iyi bilinen kimyasallarla geçerliliği en fazla kabul edilmiş bakteriyel test sistemlerinden biridir [188].



Şekil 6. 39 Toksikoloji ve mutajenisite tahmini gerçekleştirilen Q<sub>UV</sub>-PEI polimerdeki kimyasal yapılar.

Toksikoloji ve mutajenite tahmini yapılan ROMP esaslı katyonik polimerdeki tekrarlanabilir kısmın (monomer) kimyasal yapısı Yapı-1 için, DEREK tahmini sonucuna göre, kuaterner amonyum tuzu olarak bilgi bankasındaki taramasında insan göz ve deri tahrişi için toksisitesi makul sınırlar içinde bulunmuştur. *E.coli* ve *Salmonella typhimurium* üzerindeki mutajenisite tahmini için bilgi bankasındaki hiçbir veri ile karşılaştıramamıştır. *E. coli* ve *Salmonella typhimurium* üzerindeki mutajenite tahmini için programdan karşılaştırma sonucu elde edilememiştir. Karşılaştırma için daha önce

bilgi bankasına girilmiş Yapı-1'in molekül yapısına yakın bir mutajenite verisi bulunmamaktadır. Dolayısıyla bakteriler üzerine in vitro (AMES) mutajenite testi için tahmin gerçekleştirilememiştir.

Yapı-2 için, *E.coli* ve *Salmonella typhimurium* üzerindeki mutajenisite tahmini için bilgi bankasındaki hiçbir veri ile karşılaştıramamıştır. Sonuç olarak Yapı-2 için de bakteriler üzerine in vitro (Ames) mutajenisite testi için tahmin yapılamamıştır.

### GENEL SONUÇLAR VE TARTIŞMALAR

Bu tez çalışmasında, iki farklı üretim yöntemine göre hidrojel grupları belirlenmiştir. Birinci yöntemde, ROMP esaslı katyonik polimer hidrojel formülasyonunda kullanılmıştır. Hidrojeller, AAm, BAAM, PEGDA ve ROMP polimeri ile farklı oranlarda karıştırılarak su bazlı serbest radikal polimerizasyon yöntemi ile elde edilmişlerdir.

İkinci grup hidrojellerin üretiminde, antimikrobiyal özellik gösteren katyonik PEI ve  $\text{AgNO}_3$  kullanılarak sinerjistik (çift yönlü) etkileri incelenmiştir. Çalışmanın ilk bölümünde, polietilenimin UV ile kürleşebilen yapıya dönüştürülmüş, metil iyodür ile katyonik gruplar elde edilmiştir. UV ile kürleşebilen PEI,  $\text{AgNO}_3$ , AAm ve BAAM belli formülasyonlarda kullanılarak UV başlatıcı varlığında fotopolimerizasyon yöntemi ile hidrojeller hazırlanmıştır. Sentezlenen hidrojellerin karakterizasyonları, antimikrobiyal etkinlik ve in vitro toksisite çalışmaları gerçekleştirilmiştir.

Deneysel çalışmalar sonucunda aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir;

#### A) ROMP esaslı polimer ve hidrojeller için;

- ROMP esaslı monomer ve polimer sentezinde elde edilen Bileşik 1'in karakterizasyon analizleri sonucu ekzo yapıda olduğu,
- Sentezlenen 10000 ve 3000 gram/mol ağırlığındaki ROMP esaslı polimerlerden 3000 molekül ağırlığındaki polimer ile istenen hidrojel özelliğinin elde edilemediği,
- 10000 molekül ağırlığına sahip ROMP esaslı polimerin, polimerizasyon derecesinin  $18.520 \sim 18$  olduğu,

- ROMP esaslı katyonik polimer içeren hidrojellerin serbest radikal polimerizasyonu yöntemi kullanılarak oda koşullarında, APS (başlatıcı) eklenmesi ile birkaç saniye içinde gerçekleştiği,
- ROMP Jel şişme testinde; tüm hidrojellerin ilk saatlerde hızlı şiştiği, şişmenin 8 saat sonra yavaşladığı, jellerdeki kütlece artışın 5280-8280 dakika zaman aralığında ciddi bir değişime uğramadığı, şişme değerlerinin %350 ile %500 arasında değiştiği,
- ROMP esaslı katyonik polimeri içermeyen hidrojelde (ROMP Jel E) %şişme değerinin diğerlerinden farklı olarak %994.7 olduğu,
- ROMP hidrojel sistemlerinde, yapıda ROMP esaslı polimer arttıkça % şişme değerinin azaldığı, polimerin artışının jel yapısında çapraz bağ yoğunluğunu arttırarak suyun absorpsiyonunu azalttığı,
- Çapraz bağ yoğunluğunun artması ile jel yapısında daha fazla çatlak ve deliklerin oluştuğu, oluşan stres ve baskı nedeniyle bu jellerde parçalanma ve kopmaların meydana geldiği,
- ROMP Jel'lerin elde edilen SEM yüzey morfolojilerine göre, çapraz bağ yoğunluğu arttıkça jel yapısında daha fazla çatlak ve deliklerin arttığı, bu durumun direk olarak jel içerisinde oluşan stres ve baskıdan kaynaklandığı, bu tür gözenekli yapıların, su moleküllerinin polimer ağı boyunca kolayca difuzyonunu sağladığı,
- Romp polimer içeriği farklı olan hidrojel yüzeylerin boyanmasıyla, floresein bağlanmasının stokiometrisi, yaklaşık 71.0-72.6 nmol.cm<sup>-2</sup> arasında olduğu,
- ROMP esaslı hidrojellerin yapısında katyonik polimer miktarının artması ile yük yoğunluğu ve antibakteriyel aktivite arasında doğru bir orantının olduğu,
- ROMP esaslı hidrojellerin antimikrobiyal etkinlik testi sonucunda; tüm sonuçlar değerlendirildiğinde uygulanan mikroorganizmalar üzerine en etkili olan jelin Romp Jel B olduğu tespit edilmiş olmasına rağmen Gram (+) bir bakteri olan *S.aureus* üzerine olan etkisinin %50'de kaldığı,

- Romp Jel A-baslangıç olarak adlandırılan numunenin sadece *E.coli*'ye karşı %100 etkili olduğu, aynı jel numunesinin 8 ay sonunda *E.coli*'ye karşı %0 etki ile stabilize farkının oldukça dikkat çekici olduğu,
- ROMP esaslı hidrojellerin tüm antimikrobiyal etkinlik sonuçları incelendiğinde, hidrojellerin organizmalar üzerine farklı değerlerde etkin olduğu, bu durumun organizmaların farklı hücre membranına sahip olmasından kaynaklandığı,
- ROMP esaslı hidrojellerin 24 saat sonunda HUVEC üzerinde elde edilen % hücre canlılık sonuçları incelendiğinde; ROMP Jel A, B ve D 1'in tüm konsantrasyonlarda oldukça iyi sonuç verdiği, %1.25 konsantrasyonda Romp Jel C'nin %45.1 ve Romp Jel B1'in %33.7 ile en düşük hücre canlılığını gösterdiği,
- ROMP Jel D, E, B 2 ve B 3'ün 24 saat sonunda %0.4 konsantrasyonda yüksek hücre canlılığına sahip iken, %0.8 konsantrasyonda bu değerlerin %70-90 aralığına, %1.25'de ise 55-80 aralığına düştüğü,
- ROMP Jel B 1'in, ROMP Jel B'ye oranla üç farklı konsantrasyonda 24 saat sonunda %canlılık değerleri daha düşük sonuç vermesinin ROMP Jel B 1'in polimer içeriğinin daha düşük olması, buna bağlı olarak dönüşmeyen monomer ve PEGDA miktarının fazla olmasına bağlı olduğu,
- ROMP Jel'lerin 72 saat sonundaki %hücre canlılık değerleri incelendiğinde; ROMP Jel B, D ve D 1'in tüm konsantrasyonlarda oldukça iyi sonuç verdiği, 72 saat sonunda %0.4 konsantrasyonda Romp Jel A'nin %93.4, %0.8 konsantrasyonda %103.0 ve %1.25 konsantrasyonda ise %74.6 hücre canlılığı değeri gösterdiği,
- Yapısında katyonik ROMP polimerinin en az yer aldığı ROMP Jel C'nin 72 saat sonunda %0.4 konsantrasyonda hücre canlılığı %98.8, %0.8 ve %1.25 konsantrasyonlarda ise sırasıyla %27.5 ve %22.7 değerleri ile hücre canlılığının düştüğüne, ROMP Jel C yapısındaki polimer miktarının az olması ve buna bağlı monomer miktarındaki artış ile yüksek konsantrasyonda toksik sonuç elde edildiğine,
- ROMP Jel E'nin, 72 saat sonunda %0.8 ve 1.25 konsantrasyonda sırası ile %67.8 ve %82.9 değerleri ile toksik bulunurken, %0.4 konsantrasyonda %117.5 hücre canlılığına sahip olduğuna,

- ROMP Jel B 1'in 72 saat sonunda tüm konsantrasyon değerlerinde %hücre canlılık değerlerinin, jel yapısındaki düşük katyonik polimer miktarına bağlı olarak artan monomer ve PEGDA'nın toksik etkisi ile düşük elde edildiğine,
- ROMP Jel B 2'nin, 72 saat sonunda %0.4 konsantrasyonda %101.5 hücre canlılığına sahipken, %0.8 konsantrasyonda %21.6 ve %1.25 konsantrasyonda %22.5 değerleri ile toksik etki gösterdiği,
- ROMP Jel B 3'ün 72 saat sonundaki %canlılık değerleri incelendiğinde; en düşük konsantrasyonda yüksek bulunurken konsantrasyon değeri arttıkça bu değerin giderek düştüğü ve toksik etki gösterdiği,
- ROMP hidrojellerinin belirlenen miktarlardaki konsantrasyonları ile %hücre canlılık değerleri incelendiğinde 24 ve 72 saat sonunda, ROMP Jel B ve D 1'in tüm konsantrasyonlarda toksik olmayan sonuç verdiği, ROMP Jel D 1'in tüm konsantrasyon ve sürelerde %canlılık değerlerinin yüksek olmasının, jel yapısında reaksiyona girmemiş monomerlerden özellikle PEGDA, AAm, BAAm'in büyük ölçüde etkili olduğu,
- ROMP Jel B'nin tüm konsantrasyon ve sürelerde %canlılık değerlerinin yüksek bulunmasının, jel yapısında yer alan yüksek miktardaki katyonik polimere bağlı düşük monomer miktarı ile ilişkili olduğu,
- Ayrıca yapısında katyonik polimer yer almayan ROMP JEL E'nin 24 ve 72 saat sonunda tüm konsantrasyonlardaki yüzde canlılık değerlerinin toksik olduğuna,
- ROMP esaslı katyonik polimerin, Derek Nexus 4.0.5, Nexus 1.7.5 programı deneme tahmini sonucuna göre, kuaterner amonyum tuzu olarak bilgi bankasındaki taramasında insan göz ve deri tahrişi için toksisitesi makul sınırlar içinde olduğu,

**B) Q<sub>UV</sub>-PEI polimer ve Q<sub>UV</sub>-PEI-JEL için;**

- UV ile kürleşebilen Q<sub>UV</sub>-PEI polimerinin üretiminde, PEI'nin ACOM ile Michael katılması reaksiyonu sonunda PEI'de bulunan serbest amin gruplarının CH<sub>3</sub>I ile reaksiyonu ile kuaterner grupların elde edildiği,

- Q<sub>UV</sub>-PEI-Jel üretiminde, kuvarz cam tüplerde, polimer çözeltilerinin azot atmosferinde, Rayonet merry-go round fotoreaktörde, UVII (300 nm) dalga boyundaki UV ışık ile yaklaşık 1 saatte, serbest-radikal fotopolimerizasyonu ile gerçekleştiği,
- Q<sub>UV</sub>-PEI-Jel'lerin şişme testinde; tüm hidrojellerin ilk 8 saatte hızlı şiştiği, şişmenin daha sonra yavaşladığı, jellerdeki kütlece artışın 5280 dakikadan 8280 dakikaya kadar geçen zaman aralığında ciddi bir değişime uğramadığı, şişme değerlerinin %400 ile %700 arasında değiştiği,
- UV ile kürleşebilen katyonik Q<sub>UV</sub>-PEI polimer ve AgNO<sub>3</sub> içermeyen kontrol hidrojelde (Q<sub>UV</sub>-PEI-Jel 8) %şişme değerinin %672.5 olduğu,
- Q<sub>UV</sub>-PEI-Jel 7'ye ait SEM-EDS görüntüsü 10.0 kV operasyon modunda açık alana ait elemental kompozisyonun %32.64 C, %10.16 O, %17.34 Ag ve %39.86 I, koyu alana ait elemental kompozisyonun ise %66.86 C, %31.00 O, %0.70 Ag ve %1.44 I olduğu,
- Q<sub>UV</sub>-PEI polimer ve Ag içeriği farklı olan hidrojel yüzeylerin boyanmasıyla, floresenin bağlanması stokiyometrisi, yaklaşık 52.5-60.1 nmol.cm<sup>-2</sup> arasında olduğu, ancak floresan kompleksleşme yöntemi ile yüzey üzerinde bulunan polimer tabaka içindeki tüm yüklerin belirlenemediği,
- Q<sub>UV</sub>-PEI-Jel grubunda içerisinde Q<sub>UV</sub>-PEI polimer ve AgNO<sub>3</sub> bulunmayan kontrol hidrojin (Q<sub>UV</sub>-PEI-Jel 8) bozunma sonucundaki kalıntı miktarı %19.58 olduğunu, farklı polimer ve AgNO<sub>3</sub> içeren hidrojellerin kalıntı miktarları incelendiğinde, AgNO<sub>3</sub> miktarı arttıkça analiz sonucunda elde edilen kül miktarının da arttığı,
- Q<sub>UV</sub>-PEI-Jel grubunda en yüksek AgNO<sub>3</sub> içeriğine sahip Q<sub>UV</sub>-PEI-Jel 7 numaralı jelin ICP/OES çalışması sonucunda 2425 ppm (%0.2425 ağırlıkça), teorik olan ağırlıkça %1.4 Ag değerine yakın bulunduğu, ayrıca Q<sub>UV</sub>-PEI-Jel 7'den suya salınan Ag<sup>+</sup> iyonu içeriğinin 48 saat 0.50 ppm olduğu, suya salınan Ag<sup>+</sup> iyonu miktarının antimikrobiyal etkinlik testindeki zone çapları ile ilişkili olduğu,
- Q<sub>UV</sub>-PEI-Jellerin yapısında yer alan Ag miktarının ağırlıkça %5'in altında kalması nedeniyle XRD tekniği ile kalitatif olarak tespit edilemediği,
- Q<sub>UV</sub>-PEI-Jel'lerin antimikrobiyal etkinlik disk difüzyon testi sonuçlarına göre; en büyük zone çapının en yüksek Ag içeriğine sahip hidrojelde (Q<sub>UV</sub>-PEI-Jel 7) olduğu (*E.coli*

için: 5mm, *S.aureus* için: 3.5mm), yapısında  $\text{AgNO}_3$  bulunmayıp  $\text{Q}_{\text{UV}}$ -PEI polimeri içeren hidrojelde ( $\text{Q}_{\text{UV}}$ -PEI-Jel 3) ise beklendiği gibi, zone çapı oluşmadığı (*E.coli* ve *S.aureus* için zone oluşumu yok), Ag'nin bakteriler üzerinde yayılım etkisi göstermesi Ag içerikli hidrojellerde oluşan zonlar ile doğrulandığı,

- $\text{Q}_{\text{UV}}$ -PEI-Jel'lerin antimikrobiyal etkinlik airborne test sonucuna göre; en düşük etkinliğin antimikrobiyal polimer içerirken  $\text{AgNO}_3$  bulunmayan jelde gözlemlendiği ( $\text{Q}_{\text{UV}}$ -PEI-Jel 3), en yüksek antimikrobiyal etkinliğin ise yapısında sadece Ag NPs'nin yer aldığı hidrojelde ( $\text{Q}_{\text{UV}}$ -PEI-Jel 1) olduğu,  $\text{AgNO}_3$  ve  $\text{Q}_{\text{UV}}$ -PEI polimerin yüksek oranda kullanıldığı jellerde %99 bakteri ölümünün gerçekleştiği,
- $\text{Q}_{\text{UV}}$ -PEI-Jel'lerinin %0.4, %0.8 ve %1.25 konsantrasyonları için HUVEC hücrelerine karşı 24 saat sonunda yüzde canlılık sonuçlarının %90-120 aralığında yer aldığı, 24 saat sonunda belirlenmiş üç konsantrasyon değeri için toksik etkinin olmadığı,
- $\text{Q}_{\text{UV}}$ -PEI-Jel'lerinin 72 saat sonunda %hücre canlılık değerleri incelendiğinde;  $\text{Q}_{\text{UV}}$ -PEI-JEL 2'nin tüm konsantrasyon değerlerinde düşük olduğu ve HUVEC hücrelerine karşı toksik etki gösterdiği,
- $\text{Q}_{\text{UV}}$ -PEI-JEL 6'ya ait sonuçlarla karşılaştırıldığında,  $\text{Q}_{\text{UV}}$ -PEI-JEL 2'nin yüzde hücre canlılık değerlerinin daha yüksek olmasının beklendiği ancak jel yapısındaki  $\text{AgNO}_3$ 'ün homojen olarak dağılamaması ve uzaklaştırılamayan eser miktarda monomerlerin kalmış olmasının hücre canlılık değerlerine etkide bulunduğu,
- Jel içeriğinde  $\text{AgNO}_3$ 'ün bulunmadığı  $\text{Q}_{\text{UV}}$ -PEI-Jel 3, 72 saat sonunda toksik etki göstermediği, ayrıca en yüksek  $\text{AgNO}_3$  miktarına sahip  $\text{Q}_{\text{UV}}$ -PEI-Jel 7, 72 saat sonunda tüm konsantrasyonlarda % hücre canlılık değerleri %96-110 aralığında bulunduğuy.
- En yüksek  $\text{Q}_{\text{UV}}$ -PEI polimer miktarına sahip  $\text{Q}_{\text{UV}}$ -PEI-JEL 6'nın 72 saat sonunda %0.4 konsantrasyonda yüzde hücre canlılık değeri %103.1 iken, %0.8 konsantrasyonda %44.6 ve %1.25 konsantrasyonda %9.5'e kadar düştüğü,
- En düşük  $\text{Q}_{\text{UV}}$ -PEI polimer miktarına sahip  $\text{Q}_{\text{UV}}$ -PEI-Jel 5'in 72 saat yüzde hücre canlılık değerleri tüm konsantrasyonlarda toksik olmayan sonuç verdiği,

- $Q_{UV}$ -PEI-Jel 4'ün 72 saat sonundaki sonuçları incelendiğinde, %0.8 ve %1.25 konsantrasyonlarda yüzde hücre canlılık değerlerinin beklenenden düşük olmasının yapıdaki  $AgNO_3$ 'ün homojen olarak dağılamamasından kaynaklandığı,
- $Q_{UV}$ -PEI-Jel grubuna elde edilen tüm in vitro toksikoloji sonuçları incelendiğinde, jel içeriğinde yer alan  $Q_{UV}$ -PEI polimerinin ve Ag'ün belirlenmiş miktarlarının HUVEC hücrelerine karşı 24 saat sonunda toksik etki göstermediği, 72 saat sonunda jel içeriğindeki  $Q_{UV}$ -PEI polimeri ve Ag miktarlarının artışı ile jelin yüksek konsantrasyonlarında toksik etki gösterdiği,
- UV ile kürleşebilen katyonik  $Q_{UV}$ -PEI polimerinin Derek Nexus 4.0.5, Nexus 1.7.5 program deneme versiyonu ile polimerdeki katyonik grup üzerinde gerçekleştirilen toksisite tahmininde; Yapı-1 için, kuaterner amonyum tuzu olarak bilgi bankasındaki taramasında insan göz ve deri tahrişi için toksisitesinin makul sınırlar içinde bulunduğuna,
- UV ile kürleşebilen katyonik  $Q_{UV}$ -PEI polimerinin Yapı-1 için Sarah Nexus programı 1.1.2 deneme versiyonu ile gerçekleştirilen *E.coli* ve *Salmonella typhimurium* üzerindeki mutagenisite (AMES) tahmininde; bilgi bankasındaki hiçbir veri ile karşılaştırılamadığı, dolayısıyla bakteriler üzerine in vitro (AMES) mutajenisite testi için tahminin gerçekleştirilemediğine,
- UV ile kürleşebilen katyonik  $Q_{UV}$ -PEI polimerinin Yapı-2 için Sarah Nexus programı 1.1.2 deneme versiyonu ile gerçekleştirilen *E.coli* ve *Salmonella typhimurium* üzerindeki mutagenisite (AMES) tahmininde; bilgi bankasındaki hiçbir veri ile karşılaştırılamadığı, dolayısıyla bakteriler üzerine in vitro (AMES) mutajenisite testi için tahminin gerçekleştirilemediğine,

Sonuç olarak, ilk defa sentezlenen çift yüke sahip katyonik esaslı antimikrobiyal özellik gösteren ROMP ve katyonik polimer PEI/ $AgNO_3$  temelli hidrojellerin biyomedikal ve genel kullanım uygulamalarında, çok çeşitli antimikrobiyal malzeme olarak potansiyel kullanıma sahip olacağı önerilmektedir.  $Q_{UV}$ -PEI esaslı hidrojellere Ag nanopartiküllerinin dahil edilmesi ile çift yönlü antibakteriyel özellik elde edilecektir. Jelin yüzeyinde bulunan Ag/ $Ag^+$  iyonları ve katyonik PEI yapısı, yüzeye yapışan bakterilerin ölmesine yardımcı olacaktır. Ayrıca, Ag/ $Ag^+$ 'nin, çevreye salım yapması ile

bölgesel olarak antibakteriyel etkinlik kazanılacaktır. Bu kapsamda sinerjistik etki ile antimikrobiyal yüzeyler için geniş kullanım alanı sağlanmış olacaktır.

## KAYNAKLAR

---

- [1] Bonilla, A.M. ve Garcia, M.F., (2012). "Polymeric Materials with Antimicrobial Activity", *Progress in Polymer Science*, 37:281-339.
- [2] Organization, W.H., (2011). "Tackling Antibiotik Resistance From a Food Safety Perspective in Europe", *World Health Organization*.
- [3] Wenzel, R.P., (1995). "The Economics of Nosocomial Infections", *Journal of Hospital Infection*, 31:79-87.
- [4] Frimodt-Moller, N., (2004). "Microbial Threat-the Copenhagen Recommendations Initiative of the EU", *Journal of Veterinary Medicine Series B*, 5:400-402.
- [5] Mevius, D.J., Sprenger, M.J.W. ve Wegener, H.C., (1999). "The Microbial Threat", *International Journal of Antimicrobial Agent*, 11:101-105.
- [6] Madkour, A.E., Dabkowski, J.M., Nüsslein, K. ve Tew, G.N., (2009). "Fast Disinfecting Antimicrobial Surfaces", *Langmuir*, 25:1060-1067.
- [7] Tiller, J.C., (2011). "Antimicrobial Surfaces", *Advances in Polymer Science*, In *Bioactive Surfaces*, Borner, H.G., Lutz, J.F., Eds., 240:193-217.
- [8] Timofeeva, L. ve Kleshcheva, N., (2011). "Antimicrobial Polymers: Mechanism of Action, Factors of Activity, and Applications", *Applied and Microbiol Biotechnology*, 89:475-492.
- [9] Vasilev, K., Cook, J. ve Griesser, H.J, (2009). "Antibacterial Surfaces for Biomedical Devices", *Expert Review of Medical Devices*, 6(5):553-567.
- [10] Kenawy, E.R., Worley, S.D. ve Broughton, R., (2007). "The Chemistry and Applications of Antimicrobial State-of-the-art Review", *Biomacromolecules*, 8(5):1359-1384.
- [11] Murata, H., Koepsel, R.R., Matyjaszewski, K. ve Russell, A.J., (2007). "Permanent, Non-Leaching Antibacterial Surfaces-2: How High Density Cationic Surfaces Kill Bacterial Cells", *Biomaterials*, 28(32):4870-4879.
- [12] Gao, G., Lange, D., Hilpert, K., Kindrachuk, J., Zou, Y., Cheng, J.T.J., Kazemzadeh-Narbat, M., Yu, K., Wang, R., Straus, S. K., Brooks, D. E., Chew, B.H., Hancock, R.E.W. ve Kizhakkedathu, J.N., (2011). "The Biocompatibility and Biofilm Resistance of Implant Coatings Based on Hydrophilic Polymer Brushes Conjugated with Antimicrobial Peptides", *Biomaterials*, 32:3899-3909.

- [13] Siedenbiedel, F. ve Tiller, J.C., (2012). "Antimicrobial Polymers in Solution and on Surfaces: Overview and Functional Principles", *Polymers*, 4(1):46-71.
- [14] Carmona, D., Lalueza, P., Balas, F., Arruebo, M. ve Santamaría, J., (2012). "Mesoporous Silica Loaded with Peracetic Acid and Silver Nanoparticles as a Dual-Effect, Highly Efficient Bactericidal Agent", *Microporous and Mesoporous Materials*, 161:84-90.
- [15] Landry, B.K., Nadworny, P.L., Omotoso, O.E., Maham, Y., Burrell, J.C.ve Burrell, R.E., (2009). "The Kinetics of Thermal Instability in Nanocrystalline Silver and the Effect of Heat Treatment on The Antibacterial Activity of Nanocrystalline Silver Dressings", *Biomaterials*, 30(36):6929-6939.
- [16] Raffi, M., Hussain, F., Bhatti, T., Akhter, J.I, Hameed, A. ve Hasan, M.M. (2008). "Antibacterial Characterization of Silver Nanoparticles Against *E.coli* ATCC-15224", *Journal of Materials Science and Technology*, 24(2):192-196.
- [17] Rai, M., Yadav, A. ve Gade, A., (2009). "Silver Nanoparticles as a New Generation of Antimicrobials", *Biotechnology Advances*, 27(1):76-83.
- [18] Klasen, H.J., (2000). "A Historical Review of The Use of Silver in the Treatment of Burns. I. Early Uses", 26(2):177-130.
- [19] Feng, Q., Wu, J., Chen, G., Cui, F., Kim, T. ve Kim, J., (2000). "A Mechanistic Study of The Antibacterial Effect of Silver Ions on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*", *Journal of Biomedical Materials Research*, 52(4):662-668.
- [20] Holt, K.B. ve Bard, A.J., (2005). "Interaction of Silver(I) Ions with the Respiratory Chain of *Escherichia coli*: an Electrochemical and Scanning Electrochemical Microscopy Study of the Antimicrobial Mechanism of Micromolar Ag<sup>+</sup>", *Biochemistry*, 44(39):13214-13223.
- [21] Uygun, M., Kahveci, M.U., Odaci, D., Timur, S. ve Yagci, Y., (2009). "Antibacterial Acrylamide Hydrogels Containing Silver Nanoparticles by Simultaneous Photoinduced Free Radical Polymerization and Electron Transfer Processes Macromolecular Chemistry and Physics", 210(21):1867-1875.
- [22] Soni, I. ve Salopek-Soni, B., (2004). "Silver Nanoparticles as Antimicrobial Agent: a Case Study on *E.coli* As a Model For Gram-Negative Bacteria", *Colloid Interface Science*, 275(1):177-182.
- [23] Slawson, R.M., Van Dyke, M.I., Lee, H. ve Trevors, J.T., (1992). "Germanium and Silver Resistance, Accumulation, and Toxicity in Microorganisms", *Plasmid-Determined Metal Resistance: a Collection of Reviews*, 27:(1):72-79.
- [24] Zhao, G. ve Stevens Jr, S.E., (1998). "Multiple Parameters for The Comprehensive Evaluation of the Susceptibility of *Escherichia coli* to The Silver Ion", *Biometals*, 11(1):27-32.
- [25] Carmona-Ribeiro, A.M. ve Carrasco, M.L.D., (2013). "Cationic Antimicrobial Polymers and Their Assemblies", *International Journal of Molecular Sciences*, 14(5):9906-9946.

- [26] İlker, M.F., Nusslein, K., Tew, G.N. ve Coughlin, E.B., (2004). "Tuning the Hemolytic and Antibacterial Activities of Amphiphilic Polynorbornene Derivatives", *American Chemical Society*, 126(48):15870-15875.
- [27] Eren, T., Som, A., Rennie, J. R., Nelson, C. F., Urgina, Y., Nusslein, K., Coughlin, E. B. ve Tew, G.N., (2008). "Antibacterial and Hemolytic Activities of Quaternary Pyridinium Functionalized Polynorbornenes", *Macromolecular Chemistry and Physics*, 209(5):516-524.
- [28] Yang, Y.F., Hu, H.Q., Li, Y., Wan, L.S. ve Xu, Z.K., (2011). "Membrane Surface with Antibacterial Property by Grafting Polycation", *Journal of Membrane Science*, 376(1-2):132-141.
- [29] Gibney, K. A., Sovadinova, I., Lopez, A. I., Urban, M., Ridgway, Z., Caputo, G. A. ve Kuroda, K., (2012). "Poly(ethyleneimine)s as Antimicrobial Agents with Selective Activity", *Macromolecular Bioscience*, 12(9):1279-1289.
- [30] Berndt, E., Behnke, S. ve Ulbricht, M., (2011). "Influence of Alkyl Chain Length and Molecular Weight on the Surface Functionalization via Adsorption/Entrapment with Biocidal Cationic Block Copolymers", *European Polymer Journal*, 47(12):2379-2390.
- [31] Kugler, R., Bouloussa, O. ve Rondelez, F., (2005). "Evidence of a Charge Density Threshold for Optimum Efficiency of Biocidal Cationic Surfaces", *Microbiology*, 151:1341-1348.
- [32] Spoden, G.A., Besold, K., Krauter, S., Plachter, B., Hanik, N., Kilbinger, A.F. ve Lambert, C., Florin, (2012). "Polyethylenimine is a Strong Inhibitor of Human Papillomavirus and Cytomegalovirus Infection", *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 56(1):75-82.
- [33] Giffin, G.A., Castillo, F.Y., Frech, R., Glatzhofer, D.T. ve Burba, C.M., (2009). "Spectroscopic Investigation of Proton-Conducting, Cross-Linked Linear Poly(ethyleneimine) Hydrochloride Membranes", *Polymer*, 50(1):171-176.
- [34] Milović, N.M., Wang, J., Lewis, K. ve Klivanov, A.M., (2005). "Immobilized N-Alkylated Polyethylenimine Avidly Kills Bacteria by Rupturing Cell Membranes with no Resistance Developed", *Biotechnology and Bioengineering*, 90(6):715-722.
- [35] Beyth, N., Pilo, R. ve Weiss, E.I., (2012). "Antibacterial Activity of Dental Cements Containing Quaternary Ammonium Polyethylenimine Nanoparticles", *Journal of Nanomaterials*, 1-6.
- [36] Yudovin-Farber, I., Golenser, J., Beyth, N., Weiss, E.I. ve Domb, A.J., (2010). "Quaternary Ammonium Polyethyleneimine: Antibacterial Activity", *Journal of Nanomaterials*, 1-11.
- [37] He, T. ve Chan, V., (2010). "Covalent Layer-by-layer Assembly of Polyethyleneimine Multilayer for Antibacterial Applications", *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 95A(2):454-464.

- [38] Gao, B., Zhang, X. ve Zhu, Y., (2007). "Studies on The Preparation and Antibacterial Properties Of Quaternized Polyethyleneimine", Journal of Biomaterials Science Polymer Edition, 18(5):531-544.
- [39] Das, N., Bera, T. ve Mukherjee, A., (2012). "Biomaterial Hydrogels for Different Biomedical Applications", International Journal Pharm and Bio Sciences, 3(3):586-595.
- [40] Lee, H.J., Lee, S.G., Oh, E.J., Chung, H.Y., Han, S.I., Kim, E.J., Seo, S.Y., Ghim, H.D., Yeum, J.H. ve Choi, J.H., (2011). "Antimicrobial Polyethyleneimine-Silver Nanoparticles in a Stable Colloidal Dispersion", Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 88(1):505-511.
- [41] Lienkamp, K., Madkour, A.E., Musante, A., Nelson, C.F., Nüsslein, K. ve Tew G.N., (2008). "Antimicrobial Polymers Prepared by ROMP with Unprecedented Selectivity: a Molecular Construction Kit Approach", Journal of American Chemical Society, 130(30):9836-9843.
- [42] Eren, T., Som, A., Rennie, J.R., Nelson C.F., Urgina Y., Nüsslein K., Coughlin, E.B. ve Tew, G.N. (2008). "Antibacterial and Hemolytic Activities of Quaternary Pyridinium Functionalized Polynorbornenes", Macromolecular Chemistry and Physics, 209:516-524.
- [43] Tiller, J.C., Liao, C.J., Lewis, K. ve Klibanov, A.M. (2001). "Designing Surfaces That Kill Bacteria on Contact", Proceedings of the National Academy Sciences of the United States of America, 98(11):5981-5985.
- [44] Park, S., Murthy, P.S.K., Park, S., Mohan, Y.M. ve Koh, W.G. (2011). "Preparation of Silver Nanoparticle-Containing Semi-Interpenetrating Network Hydrogels Composed of Pluronic and Poly(acrylamide) with Antibacterial Property", Journal of Industrial and Engineering Chemistry, 17(2):293-297.
- [45] Kuroda, K. ve Caputo, G.A., (2013). "Antimicrobial Polymers as Synthetic Mimics of Host-Defense Peptides", Wiley Interdiscip Rev Nanomed Nanobiotechnol, 5(1):49-66.
- [46] Gabriel, G.J., Som, A., Madkour, A.E., Eren, T. ve Tew, G.N., (2007). "Infectious Disease: Connecting Innate Immunity to Biocidal Polymers", Material Science and Engineering R, 57:28-64.
- [47] Altay, E., (2013). Romp (Ring Opening Metathesis Polymerization) Metodu ile Katyonik Polinorbornen Türevlerinin Sentezi, Karakterizasyonu ve Antimikrobiyal Etkinliğinin İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, YTÜ Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- [48] Wikipedi, Bakteri, <http://en.wikipedia.org/wiki/Bacteria>, 8 Şubat 2015.
- [49] Sears, C.L., (2005). "A Dynamic Partnership: Celebrating our Gut Flora", Anaerobe 11, 247–251.
- [50] Bozkurt, O., (2008). Genel Biyoloji, 4.Baskı, Pegem Akademi, ANKARA.
- [51] Wikipedi, Gram Negatif Bakteri, [http://en.wikipedia.org/wiki/Gram-negative\\_bacteria](http://en.wikipedia.org/wiki/Gram-negative_bacteria), 8 Şubat 2015.

- [52] Keha, E. ve Küfrevioğlu, Ö., (2011). Biyokimya, 3. Baskı, Aktif Yayınevi, ANKARA.
- [53] Wikipedi, Enfeksiyon, Bulaşıcı Hastalık, [http://tr.wikipedia.org/wiki/Bulaşıcı\\_hastalık](http://tr.wikipedia.org/wiki/Bulaşıcı_hastalık), 9 Şubat 2015.
- [54] World Health Organization, Prevention of Hospital-Acquired Infections a Practical Guide 2nd Edition WHO/CDS/CSR/EPH/2002.12, <http://www.who.int/csr/resources/publications/whocdscsreph200212.pdf>, 21 Mayıs 2015.
- [55] Mann, E.E., Mettetal, M.R., May, R.M., Drinker, M.C., Stevenson, B.C., Baiamonte, V.L., Marso, J.M., Dannemiller, E.A., Parker, A.E., Reddy, S.T. ve Sande, M.K., (2014). "Surface Micropattern Resists Bacterial Contamination Transferred by Healthcare Practitioners", Journal of Microbiology and Experimentation, 1(5):00032.
- [56] Botwin, G.J. ve Morgan, T.R., (2014). "Bacterial Infections in Cirrhosis", Hepatology International, 8(2):467-474.
- [57] Aslaner, M.A. ve Karaca, M.A., (2014). "Infected Subcutaneous Hematoma and Pneumomediastinum in a Patient with Chronic Liver Disease", Hepatology International, 8(2):467-474.
- [58] Bonilla, A.M. ve García, M.F. (2012). "Polymeric Materials with Antimicrobial Activity", Progress in Polymer Science, 37:281-339.
- [59] Malmsten, M., (2011). "Antimicrobial and Antiviral Hydrogel", The Royal Society of Chemistry, 7:8725-8736.
- [60] Zhang, L., Jiang, Y., Ding, Y., Povey, M. ve York, D., (2007). "Investigation into the Antibacterial Behavior of Suspensions of ZnO Nanoparticles (ZnO Nanofluids), Journal of Nanoparticle Research, 9:479-489.
- [61] World Health Organization, Hospital Hygiene and Infection Control, [http://www.who.int/water\\_sanitation\\_health/medicalwaste/148to158.pdf](http://www.who.int/water_sanitation_health/medicalwaste/148to158.pdf), 21 Mayıs 2015.
- [62] Leone, S., Molinaro, A., Alfieri, F., Cafaro, V., Lanzetta, R., Donato, A. ve Parrilli, M., (2006). "The Biofilm Matrix of Pseudomonas Sp. OX1 Grown on Phenol is Mainly Constituted by Alginate Oligosaccharides", Carbohydrate Research, 341:2456-2461.
- [63] Donlan, R.M. ve Costerton, J.W., (2002). "Biofilms : Survival Mechanism of Clinically Relevant Microorganisms", Clinical Microbiology Reviews, 15(2):167-193.
- [64] Garipçin, M. ve Şeker, E., (2013), "İnsanlarda ve Hayvanlarda Metisiline Dirençli Staphylococcus Aureus (MRSA) İnfeksiyonlar", Elektronik Mikrobiyoloji Dergisi, 11(1):44-60.
- [65] Ünal, S., (2009). "MRSA Problemi", Antibiyotik ve Kemoterapi Derneği Dergisi, 23(2):1-12.

- [66] RCN (2005). "Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus (MRSA). Guidance for Nursing Staff", Royal College of Nursing, London, 1-20.
- [67] Morgan, M., (2008). "Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus and Animals: Zoonosis or Humanosis?", Journal Antimicrobial Chemotherapy, 62:1181-1187.
- [68] Ertek, M., (2008). "Hastane Enfeksiyonları: Türkiye Verileri", Hastane Enfeksiyonları: Koruma ve Kontrol Sempozyum, 60:9-14.
- [69] Hoşoğlu S., (2011), Hastane Enfeksiyonları, Dicle Üniversitesi, [www.dicle.edu.tr](http://www.dicle.edu.tr), 21 Mayıs 2015.
- [70] Hale, R., Powell, T., Drey, N.S. ve Gould, D.J., (2015). "Working Practices and Success of Infection Prevention and Control Teams: a Scoping Study", Journal of Hospital Infection, 89:77-81.
- [71] Bilgehan, H., (2002). Temel Mikrobiyoloji ve Bağışıklık Bilimi, 10. Baskı, Barış Yayınları Fakülteler Kitabevi, İZMİR.
- [72] Tomatsu I., Peng, K. ve Kros, A., (2011). "Photoresponsive Hydrogels for Biomedical Applications", Advanced Drug Delivery Reviews, 63:1257-1266.
- [73] Das, N., (2013), "Preparation Methods and Properties of Hydrogel: A Review", International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences, 5(3):112-117.
- [74] Hasgöl, B., (2013). Karragenan Katkılı Yeni Polimer/Kil Kompozit Hidrojellerinin Sentezi, Karakterizasyonu ve Potansiyel Soğurum Kapasitelerinin Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Fakültesi, Aydın.
- [75] Lizawa, T., Taketa, H., Maruta, M., Ishido, T., Gotoh, T. ve Sakohara, S., (2007). "Synthesis of Porous Poly(N-Isopropylacrylamide) Gel Beads by Sedimentation Polymerization and Their Morphology", Journal of Applied Polymer Science; 104:842-850.
- [76] Young, R.J. ve Lovell, P.A., (1991). "Introduction to Polymers, 2<sup>nd</sup> Ed.", Chapman & Hall, London, 241-306.
- [77] Lipatov, Y.S., (2002). "Polymer Blends and Interpenetrating Polymer Networks at the Interface with Solids", Progress in Polymer Science, 27:1721-1801.
- [78] Muniz, E.C. ve Geuskens, G., (2001). "Polyacrylamide Hydrogels and Semi-Interpenetrating Networks (IPNS) with Poly(N-Isopropylacrylamide): Mechanical Properties by Measure of Compressive Elastic Modulus", Journal of Materials Science:Materials in Medicine, 12:879-881.
- [79] Zhang, X.Z. ve Zhuo R.X., (2000). "Preparation of Fast Responsive, Thermally Sensitive Poly(N-Isopropylacrylamide) Gel", European Polymer Journal, 36(10):2301-2303.
- [80] Mohamadnia, Z., Zohuriaan-Mehr, M.J., Kabiri, K., Jamshidi, A. ve Mobedi, H., (2007). pH-Sensitive IPN Hydrogel Beads of Carrageenan-Alginate for Controlled Drug Delivery, Journal of Bioactive Compatible Polymers, 22:342-356.

- [81] Zhang, J.T., Bhat, R. ve Jandt, K.D., (2009). "Temperature-Sensitive PVA/PNIPAAm Semi-IPN Hydrogels with Enhanced Responsive Properties", *Acta Biomaterialia*, 5:488-497.
- [82] Kalshetti, P.P., Rajendra V.B., Dixit D.N. ve Parekh, P.P., (2012). "Hydrogels as a Drug Delivery System and Applications: a Review", *International Journal of Pharmaceutical Sciences*, 4(1):1-7.
- [83] Veiga, A.S. ve Schneider, J.P., (2013). "Antimicrobial Hydrogels for the Treatment of Infection", *Biopolymers (Peptide Science)*, 100(6):637-644.
- [84] Cornell, R.J. ve Donaruma, L.G., (1965). "2-Methacryloxytroponones. Intermediates for Synthesis of Biologically Active Polymers", *Journal of Medicinal Chemistry*, 8(3):388-390.
- [85] Strömstedt, A.A., Ringstad, L., Schmidtchen, A. ve Malmsten, M., (2010). "Interaction Between Amphiphilic Peptides and Phospholipid Membranes", *Current Opinion in Colloid&Interface Science*, 15:467-478.
- [86] Andrews, M.A., Figuly, G.D., Chapman, J.S., Hunt, T.W., Glunt, C.D., Rivenbark, J.A. ve Chenault, H.K., (2011). "Antimicrobial Hydrogels Formed By Crosslinking Polyallylamine with Aldaric Acid Derivatives", *Journal of Applied. Polymer Science*, 119:3244-3252.
- [87] Pavlukhina, S., Lu, Y., Patimetha, A., Libera, M. ve Sukhishvili, S., (2010). "Polymer Multilayer's with pH-Triggered Release of Antibacterial Agents", *Biomacromolecules*, 11:3448-3456.
- [88] Liu, S.Q., Yang, C., Huang, Y., Ding, X., Li, Y., Fan, W.M., Hedrick, J.L. ve Yang, Y.Y., (2012). "Antimicrobial and Antifouling Hydrogels Formed in situ from Polycarbonate and Poly(ethylene glycol) via Michael Addition", *Advanced Materials*, 24:6484-6489.
- [89] Cao, B., Tang, Q., Li, L., Humble, J., Wu, H., Liu, L. ve Cheng, G., (2013). "Switchable Antimicrobial and Antifouling Hydrogels with Enhanced Mechanical Properties", *Advanced Healthcare Materials*, 2(8):1096-1102.
- [90] Drulis-Kawa, Z. ve Dorotkiewicz-Jach, A., (2010). "Liposomes as Delivery Systems for Antibiotics", *International Journal of Pharmaceutics*, 387:187-198.
- [91] Yang, D., Pornpattananangkul, D., Nakatsuji, T., Chan, M., Carson, D., Huang C.M. ve Zhang, L., (2009). "The Antimicrobial Activity of Liposomal Lauric Acids Against *Propionibacterium Acnes*", *Biomaterials*, 30:6035-6040.
- [92] Panacek, A., Kvitek, L., Prucek, R., Kolar, M., Vecerova, R., Pizurova, N., Sharma, V.K., Nevecna, T. ve Zboril, R., (2006). "Silver Colloid Nanoparticles: Synthesis, Characterization, and Their Antibacterial Activity", *The Journal of Physical Chemistry B*, 110(33):16248-16253.
- [93] Hernandez-Sierra, J.F., Ruiz, F., Pena, D.C., Martinez- Gutierrez, F., Martinez, A.E., Guillen, A.J.P., Tapia-Perez, H. ve Castanon, G.M., (2008). "The Antimicrobial Sensitivity of *Streptococcus Mutans* to Nanoparticles of Silver, Zinc Oxide, and Gold", *Nanomedicine*, 4:237-240.

- [94] Morones, J.R., Elechiguerra, J.L., Camacho, A., Holt, K., Kouri, J.B., Ramirez, J.T. ve Yacaman, M.J., (2005). "The Bactericidal Effect of Silver Nanoparticles", *Nanotechnology*, 16:2346-2353.
- [95] Panacek, A., Kolar, M., Vecerova, R., Pucek, R., Soukupova, J., Krystof, V., Hamal, P., Zboril, R., Kvitek, L., (2009). "Antifungal Activity of Silver Nanoparticles Against *Candida* spp.", *Biomaterials*, 30:6333-6340.
- [96] Chaloupka, K., Malam, Y. ve Seifalian, A.M., (2010). "Nanosilver as a New Generation of Nanoproduct in Biomedical Applications", *Trends in Biotechnology*, 28(11):580-588.
- [97] Clement, J.L. ve Jarrett P.S. (1994). "Antibacterial Silver", *Met. Based Drugs*, 1:467-482.
- [98] Gordon, O., Slenters, T.V., Brunetto, P.S., Villaruz, A.E., Sturdevant, D.E., Otto, M., Landmann, R. ve Fromm K.M., (2010). "Silver Coordination Polymers for Prevention of Implant Infection: Thiol Interaction, Impact on Respiratory Chain Enzymes, and Hydroxyl Radical Induction", *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 54:4208-4218.
- [99] Kim, J.S., Kuk, E., Yu, K.N., Kim, J.H., Park, S.J., Lee, H.J., Kim, S.H., Park, Y.K., Park, Y.H., Hwang, C.Y., Kim, Y.K., Lee, Y.S., Jeong, D.H. ve Cho, M.H., (2007). "Antimicrobial Effects of Silver Nanoparticles", *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*, 3:95-101.
- [100] Lok, C.N., Ho, C.M., Chen, R., He, Q.Y., Yu, W.Y., Sun, H., Tam, P.K., Chiu, J.F. ve Che, C.M., (2007). "Silver Nanoparticles: Partial Oxidation and Antibacterial Activities", *Journal of Biological Inorganic Chemistry*, 12:527-534.
- [101] Li, W.R., Xie, X.B., Shi, Q.S., Zeng, H.Y., Ou-Yang, Y.S. ve Chen, Y.B., (2010). "Antibacterial Activity and Mechanism of Silver Nanoparticles on *Escherichia coli*", *Applied Microbiology and Biotechnology*, 85:1115-1122.
- [102] Prabhu, S. ve Poulose, E.K., (2012). "Silver Nanoparticles: Mechanism of Antimicrobial Action, Synthesis, Medical Applications, and Toxicity Effects", *International Nano Letters*, 2(32):1-10.
- [103] Yu, H.J., Xu, X.Y., Chen, X.S., Lu, T.C., Zhang, P.B. ve Jing, X.B., (2007). "Preparation and Antibacterial Effects of PVA-PVP Hydrogels Containing Silver Nanoparticles", *Journal of Applied Polymer Science*, 103:125-133.
- [104] Zan, X.J., Kozlov, M., Mc Carthy, T.J. ve Su, Z.H., (2010). "Covalently Attached, Silver-Doped Poly(vinyl alcohol) Hydrogel Films on Poly(L-lactic acid)", *Biomacromolecules*, 11:1082-1088.
- [105] Thomas, V., Yallapu, M.M., Sreedhar, B. ve Bajpai, S.K., (2007). "A Versatile Strategy to Fabricate Hydrogel-Silver Nanocomposites and Investigation of Their Antimicrobial Activity", *Journal of Colloid and Interface Science*, 315:389-395.
- [106] Singh, R. ve Singh, D.J., (2012). "Radiation Synthesis of PVP/Alginate Hydrogel Containing Nanosilver as Wound Dressing", *Journal of Materials Science Materials in Medicine*, 23(11):2649–2658

- [107] Murthy, P.S.K., Mohan, Y.M., Varaprasad, K., Sreedhar, B. ve Raju, K.M., (2008). "First Successful Design of Semi-IPN Hydrogel-Silver Nanocomposites: a Facile Approach for Antibacterial Application", *Journal of Colloid Interface Science*, 318(2):217-224.
- [108] Vimala, K., Sivudu, K.S., Mohan, Y.M., Sreedhar, B. ve Raju, K.M., (2009). "Controlled Silver Nanoparticles Synthesis in Semi-Hydrogel Networks of poly(acrylamide) and Carbohydrates: a Rational Methodology for Antibacterial Application", *Carbohydrate Polymers*, 75: 463-471.
- [109] Varaprasad, K., Mohan, Y.M., Ravindra, S., Reddy, N.N., Vimala, K., Monika, K., Sreedhar, B. ve Raju, K.M., (2010). "Hydrogel-Silver Nanoparticle Composites: A New Generation of Antimicrobials", *Journal of Applied Polymer Science*, 115: 1199-1207.
- [110] Mohan, Y.M., Vimala, K., Thomas, V., Varaprasad, K., Sreedhar, B., Bajpai, S.K. ve Raju, K.M., (2010). "Controlling of Silver Nanoparticles Structure by Hydrogel Networks", *Journal of Colloidal Interface Science*, 342:73-82.
- [111] Pal, S., Tak, Y.K., Song, M.S., (2007). "Does the Antibacterial Activity of Silver Nanoparticles Depend on the Shape of the Nanoparticle? A Study of the Gram-Negative Bacterium *Escherichia coli*", *Applied and Environmental Microbiology*, 73:1712-1720.
- [112] Gils, P.S., Ray, D. ve Sahoo, P.K, (2010). "Designing of Silver Nanoparticles in Gum Arabic Based Semi-IPN Hydrogel", *International Journal of Biological Macromolecules*, 46:237-244.
- [113] Cui, Y., Zhao, Y., Tian, Y., Zhang, W., Lü, X. ve Jiang, X., (2012). "The Molecular Mechanism of Action of Bactericidal Gold Nanoparticles on *Escherichia coli*", *Biomaterials*, 33:2327-2333.
- [114] Marsich, E., Travan, A., Donati, I., Di Luca, A., Benincasa, M., Crosera, M., Paoletti, S., (2011). "Biological Response Of Hydrogels Embedding Gold Nanoparticles", *Colloids and Surfaces B:Biointerfaces*, 83:331-339.
- [115] Reddy, P.R., Varaprasad, K., Reddy, N.N., Raju, K.M. ve Reddy, N.S.J, (2012). "Fabrication of Au and Ag Bi-Metallic Nanocomposite for Antimicrobial Applications", *Journal of Applied Polymer Science*, 125:1357-1362.
- [116] Baram, N., Starosvetsky, D., Starovetsky, J., Epshtein, M., Armon, R. ve Ein-Eli, Y., (2011). "Photocatalytic Inactivation of Microorganisms Using Nanotubular TiO<sub>2</sub>", *Applied Catalysis B:Environmental*, 101:212-219.
- [117] Dalrymple, O.K., Stefanakos, E., Trotz, M.A. ve Goswami, D.Y., (2010), "A Review of the Mechanisms and Modeling of Photocatalytic Disinfection", *Appl. Catal. B.*, 98:27-38.
- [118] Chen, Y., Yan, L., Yuan T., Zhang, Q. ve Fan, H., (2011), "Asymmetric Polyurethane Membrane with in situ-Generated Nano-TiO<sub>2</sub> as Wound Dressing", *J. Appl. Polym. Sci.*, 119:1532–1541.

- [119] Diaz-Visurraga, J., Melendrez, M.F., Garcia, A., Paulraj, M. ve Cardenas, G., (2010). "Semitransparent Chitosan-TiO<sub>2</sub> Nanotubes Composite Film for Food Package Applications", *Journal of Applied Polymer Science*, 116:3503-3515.
- [120] Qian, T., Su, H. ve Tan, T., (2011). "The Bactericidal and Mildew-Proof Activity of a TiO<sub>2</sub>-Chitosan Composite", *Journal of Photochemistry and Photobiology A:Chemistry*, 218:130-136.
- [121] He, L., Liu, Y., Mustapha, A. ve Lin, M., (2011), "Antifungal Activity of Zinc Oxide Nanoparticles Against Botrytis Cinerea and Penicillium Expansum", *Microbiological Research*, 166:207-215.
- [122] Fang, X., Yu, R., Li, B., Somasundaran, P. ve Chandran, K., (2010). "Stresses Exerted by ZnO, CeO<sub>2</sub> and Anatase TiO<sub>2</sub> Nanoparticles on the Nitrosomas Europaea", *Journal of Colloid and Interface Science*, 348: 329-334.
- [123] Schwegmann, H., Feitz, A.J. ve Frimmel F.H., (2010). "Influence of the Zeta Potential on the Sorption and Toxicity of Iron Oxide Nanoparticles on *S.cerevisiae* and *E.coli*", *Journal of Colloid and Interface Science*, 347:43-48.
- [124] Akhavan, O., (2009). "Lasting Antibacterial Activities of Ag-TiO<sub>2</sub>/Ag/a-TiO<sub>2</sub> Nanocomposite Thin Film Photocatalysts Under Solar Lights Irradiation", *Journal of Colloid and Interface Science*, 336:117-124.
- [125] Karunakaran, C., Abiramasundari, G., Gomathisankar, P., Manikandan, G. ve Anandi,V., "Cu-Doped TiO<sub>2</sub> Nanoparticles for Photocatalytic Disinfection of Bacteria under Visible Light", *Journal of Colloid and Interface Science*, 2010, 352:68-74.
- [126] Zumbuehl, A., Ferreira, L., Kuhn, D., Astashkina, A., Long, L., Yeo, Y., Laconis, T., Ghannoum, M., Fink, G.R., Langer, R. ve Kohane D.S., (2007). "Antifungal Hydrogels", *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104:12994-12998.
- [127] Hudson, S.P., Langer R., Fink G.R. ve Hohane, D.S., (2010). "Injectable in situ Cross-linking Hydrogels for Local Antifungal Therapy", *Biomaterials*, 31:1444-1452.
- [128] Salick, D.A., Pochan, D.J. ve Schneider J.P., (2009). "Design of an Injectable b-hairpin Peptide Hydrogel that Kils Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*", *Advanced Materials*, 21:4120-4123.
- [129] Bysell, H. ve Malmsten, M., (2006). "Visualizing the Interaction Between poly-L-lysine and poly(acrylic acid) Microgels Using Microscopy Techniques: Effect of Electrostatics and Peptide Size", *Langmuir*, 22(12):5476-5484.
- [130] Bysell, H. ve Malmsten, M., (2009). "Interactions Between Homopolypeptides and Lightly Cross-linked Microgels", *Langmuir*, 25(1):522-528.
- [131] Bysell, H., Hansson, P. ve Malmsten, M., (2010). "Effect of Charge Density on the Interaction Between Cationic Peptides and Oppositely Charge Microgels", *The Journal of Physical Chemistry B*, 114(21):7207-7215.

- [132] Bysell, H., Hansson, P., Schmidtchen, A. ve Malmsten, M., (2010). "Effects of Hydrophobicity on the Interaction Between Antimicrobial Peptides and poly(acrylic acid) Microgels", *The Journal of Physical Chemistry B*, 114(3):1307-1313.
- [133] Mansson, R., Bysell, H., Hansson, P., Schmidtchen, A. ve Malmsten, M., (2011). "Effects of Peptide Secondary Structure on the Interaction with Oppositely Charged Microgels", *Biomacromolecules*, 12(2):419-424.
- [134] Bysell, H., Schmidtchen, A. ve Malmsten, M., (2009). "Binding and Release of Consensus Peptides by Poly(acrylic acid) Microgels", *Biomacromolecules*, 10(8):2162-2168.
- [135] Bryant, S.J., Nuttelman, C.R. ve Anseth, K.S.,(2000). "Cytocompatibility of UV and Visible Light Photoinitiating Systems on Cultured NIH/3T3 Fibroblasts in vitro". *Journal of Biomaterials Science Polymer Edition*, 11(5):439-457.
- [136] Gold, L., (1958). "Statistics of Polymer Molecular Size Distribution for an Invariant Number of Propagating Chains", *The Journal of Chemical Physics*, 28, 91.
- [137] Uysulcan, C., (2011). Grubbs Reaksiyonlarının İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Edirne.
- [138] Saçak, M., (2012). Polimer Kimyası, 5.Baskı, Gazi Kitabevi, ANKARA.
- [139] Wagener, K.B., Boncella, J.M. ve Nel, J.G., (1991). "Acyclic Diene Metathesis (ADMET) Polymerization", *Macromolecules*, 24:2649-2657.
- [140] Calderon, N., (1972). "Ring-Opening Polymerization of Cycloolefins", *Journal of Macromolecular Science, Reviews in Macromolecular Chemistry and Physics*, 7:105-159.
- [141] Dall'Asta, G., (1974). "Preparation and Properties of Polyalkenamers", *Rubber Chemistry and Technology*, 47:511-96.
- [142] Novak, B.M., Risse W. ve Grubbs, R.H., (1992). "The Development of Well-Defined Catalysts for Ring-Opening Olefin Metathesis Polymerization (ROMP)", *Advances in Polymer Science*, 102:47-71.
- [143] Ivin, K.J. ve Mol, J.C., (1997). "Olefin Metathesis and Metathesis Polymerization", San Diego: Academic Press, Chapter 11 ve 13.
- [144] Buchmeiser, M.R., (2000). "Homogenous Metathesis Polymerization by Well-Defined Group VI and Group VIII Transitionmetal Alkylidenes: Fundamentals and Applications in the Preparation of Advanced Materials", *Chemical Reviews*, 100:1565-1604.
- [145] Frenzel, U. ve Nuyken, O., (2002). "Ruthenium-Based Metathesis Initiators: Development and Use in Ring-Opening Metathesis Polymerization", *Journal of Polymer Science Part A:Polymer Chemistry*, 40:2895-2916.
- [146] Grubbs, R.H., *Handbook of Metathesis Ed.*, vol. 3, (2003), Wiley-VCH: Weinheim, Germany.

- [147] Lehman, S.E. ve Wagener K.B., (2003), ADMET polymerization. In: Grubbs R.H., Handbook of metathesis, New York: Wiley-VCH; 283-353.
- [148] Baughman, T.W. ve Wagener K.B., (2005). "Recent Advances in ADMET polymerization", *Advances in Polymer Science*, 176:1-42.
- [149] Bielawski, C.W. ve Grubbs, R.H., (2007). "Living Ring-Opening Metathesis Polymerization", *Progress in Polymer Science*, 32:1-29.
- [150] Calderon, N., (1972). "Olefin Metathesis Reaction", *Accounts of Chemical Research*, 5:127-132.
- [151] Calderon, N., Ofstead, E.A. ve Judy, W.A., (1976). "Mechanistic Aspects of Olefin Metathesis", *Angewandte Chemie International Edition in English*, 15:401-409.
- [152] Vougioukalakis, G.C. ve Grubbs, R.H., (2010). "Ruthenium-Based Heterocyclic Carbene-Coordinated Olefin Metathesis Catalysts", *Chemical Reviews*, 110:1746-1787.
- [153] Trnka, T.M. ve Grubbs, R.H., (2001). "The Development of  $L_2X_2Ru=CHR$  Olefin Metathesis Catalysts: An Organometallic Success Story", *Accounts of Chemical Research*, 34:18-29.
- [154] Leitgeb, A., Wappel, J. ve Slugovc, C., (2010). "The ROMP toolbox upgraded", *Polymer*, 51:2927-2946.
- [155] The Nobel Prize in Chemistry, (2005). [www.nobelprize.org](http://www.nobelprize.org), (21 Mayıs 2015).
- [156] Bazzi, H.S. ve Sleiman, H.F., (2002). "Adenine-Containing Block Copolymers via Ring-Opening Metathesis Polymerization: Synthesis and Self-Assembly into Rod Morphologies", *Macromolecules*, 35(26):9617-9620.
- [157] Love, J.A., Morgan, J.P., Trnka, T.M. ve Grubbs, R.H., (2002). "A Practical and Highly Active Ruthenium-Based Catalyst that Effects the Cross Metathesis of Acrylonitrile", *Angewandte Chemie-International Edition*, 41(21):4035-4037.
- [158] ISO 10993-5:2009, (2009). Biological Evaluation of Medical Devices-Part 5: Tests for in vitro cytotoxicity, NSAI.
- [159] Dojindo Molecular Technologies, Measuring Cell Viability/Cytotoxicity: Cell Counting Kit-8, <https://www.dojindo.com/Protocol/CellProliferationProtocolColorimetric.pdf>, 22 Mayıs 2015.
- [160] Ulukaya, E., Özdikicioğlu, F., Yildiztepe Oral, A. ve Demirci, M. (2008). "The MTT Assay Yields a Relatively Lower Result of Growth Inhibition than the ATP Assay Depending on the Chemotherapeutic Drugs Tested", *Toxicology in Vitro*. 22: 232-239.
- [161] Herigstad, B., Hamilton, M. ve Heersink, J., (2001). "How to Optimize The Drop Plate Method for Enumerating Bacteria", *Journal of Microbiological Methods*, 44:121-129.

- [162] Li, P., Poon, Y.F., Li, W., Zhu, H.Y., Yeap, S.H., Cao, Y., Xiaobao Q., Zhou, C., Lamrani, M., Beuerman, R.W., Kang, E.T., Mu, Y., Li, C.M., Chang, M.W., Leong, S.J.L. ve Chan-Park, M.B., (2011). "A Polycationic Antimicrobial and Biocompatible Hydrogel with Microbe Membrane Suctioning Ability", *Nature Materials*, 10:149-156.
- [163] Karaca, N., (2007). Fotobaşlatılmış Polimerizasyon Yöntemiyle Hidrojellerin Hazırlanması ve Mekanik Özelliklerinin Saptanması, Yüksek Lisans Tezi, YTÜ Fen Bilimleri Fakültesi, İstanbul.
- [164] Rey, A., Gouedard, C., Ledirac, N., Cohen, M., Dugay, J., Vial, J., Pichon, V., Bertomeu, L., Picq, D., Bontemps, D., Chopin, F., Carrette, P.-L., (2013). "Amine Degradation in CO<sub>2</sub> Capture. 2. New Degradation Products of MEA. Pyrazine and Alkylpyrazines: Analysis, Mechanism of Formation and Toxicity", *International Journal of Greenhouse Gas Control*, 19:576-583.
- [165] Hauser, L., Knall, A.C., Roth, M., Trimmel, G., Edler, M., Griesser, T. ve Kern, W., (2012). "Reversible Photochromism of Polynorbornenes Bearing Spiropyran Side Groups", *Monatsh. Chem.*, 143:1551-1558.
- [166] Kolodziejcki, M., Waliszewska, G. ve Abramczyk, H. (1996), "Vibrational Dephasing in Bromocyclohexane: How to Separate Contributions from Different Mechanisms", *Chemical Physics*, 213:341-356.
- [167] Altay, E., Yapaöz, M.A., Keskin, B, Yücesan, B., Eren, T., (2015). "Influence of Alkyl Chain Length on The Surface Activity of Antibacterial Polymers Derived From ROMP", *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 127:73-78.
- [168] Magalhães, A.S.G., Neto M.P.A., Bezerra, M.N., Feitosa, Ricardo, N.M.P.S. ve Feitosa, J.P.A, (2012). "Application of FTIR in the Determination of Acrylate Content in Poly(sodium acrylate-co-acrylamide) Superabsorbent Hydrogels", *Quimica Nova*, 35(7):1464-1467.
- [169] Bulut, M., (2005). Makrogözenekli Poli(akrilamit) Hidrojellerinin Hazırlanması ve Farklı Ortamlardaki Şişme Davranışlarının İncelenmesi, Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- [170] Sivaprakasam, M., Mawilmada, P., Schoess, J.N., Schaefer, L., Lee, Y.H., Ramakrishnan, L. ve Mandell, M., (2012). "Rapid Deswelling of Poly(*N*-Isopropyl Acrylamide-co-Acrylic Acid) Hydrogels in Response to Temperature Changes", *World Research Journal of Biomaterials*, 1(1):12-15.
- [171] Bayraktar, İ., (2013). Manyetik Hidrojellerin Sentezi, Karakterizasyonu ve Adsorpsiyon Özelliklerinin İncelenmesi, Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Aydın.
- [172] Xu, J., Feng, E., ve Song, J., (2014). "Bioorthogonally Cross-Linked Hydrogel Network with Precisely Controlled Disintegration Time Over a Broad Range", *Journal of American Chemical Society*, 136:4105-4108.
- [173] Illergard, J., Wagberg, L. ve Ek, M., (2011). "Bacterial-Growth Inhibiting Properties of Multilayers Formed with Modified Polyvinylamine", *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 88:115-120.

- [174] Li, G., Shen, J. ve Yinlan, Z, (2000). "A Study of Pyridinium-Type Functional Polymers.III. Preparation and Characterization of InsolublePyridinium-Type Polymers", Journal of Applied Polymer Science, 78(3):668-675.
- [175] Abel, T., Cohen, J.L.I., Engel, R., Filshinskaya, M., Melkonian, A. ve Melkonian, K.,(2002). "Preparation and Investigation of Antibacterial Carbohydrate-Based Surfaces", Carbohydrate Research, 337:2495-2499.
- [176] Dizman, B., Elasi, M.O. ve Mathias, L.J., (2004). "Synthesis and Antibacterial Actimicrobial Activities of New Water-Soluble Bis-Quternary Methacrylate Polymers ", Journal of Applied Polymer Science, 94:635-642.
- [177] Huang, K.T, Chen, Y.H., Walker, A.M., (2004). "Inaccuracies in MTS Assays: Major Distorting Effects of Medium, Serum Albumin, and Fatty Acids", Bio Techniques, 37(3):406, 408, 410-412.
- [178] Woodrow, J.E., Seiber, J.N., Miller, G.C., (2008). "Acrylamide Release Resulting from Sunlight Irradiation of Aqueous Polyacrylamide/Iron Mixtures", Journal of Agricultural and Food Chemistry, 56(8):2773–2779.
- [179] Sigma Aldrich, Acrylamide Material Safety Data Sheet, <http://www.sigmaaldrich.com/MSDS/MSDS/DisplayMSDSPage>, 4 Ekim 2015.
- [180] N,N'-Methylenebis(acrylamide) Material Safety Data Sheet, <http://www.sigmaaldrich.com/MSDS/MSDS/DisplayMSDSPage>, 4 Ekim 2015.
- [181] McAuley, K. B., (2004). "The Chemistry and Physics of Polyacrylamide Gel Dosimeters: Why They Do and Don't Work", Journal of Physics: Conference Series 3, 29-33.
- [182] Mc Collister, D.D., Oyen, F. ve Rowe, V.K., (1964). "Toxicology of Acrylamide", Toxicology and Applied Pharmacology, 172-181.
- [183] Lawrence, A.G., Gentry, R., McDonald, T., Bartow, H., Bounds, J., Macdonald, N., Clewell, H., Allen, B. ve Van Landingham, C., (2006). "Acrylamide: Review of Toxicity Data and Dose-Response Analyses for Cancer and Noncancer Effects", Critical Reviews in Toxicology, 36:481-608.
- [184] King, D.J. ve Noss, R.R., (1989). "Toxicity of Polyacrylamide and Acrylamide Monomer", Review of Environmental Health, 8:3-16.
- [185] Nayak, B.R. ve Mathias, L.J., (2005). "A Novel Photoinimer for the Polymerization of Acrylates and Methacrylates", Journal of Polymer Science Part A:Polymer Chemistry, 43(22):5661-5670.
- [186] Özeroglu, C. ve Birdal, A., (2009). "Swelling Properties of Acrylamide-N,N'-methylenebis(acrylamide) Hydrogels Synthesized by Using Meso-2,3-dimercaptosuccinic acid-cerium(IV) Redox Couple", *Express Polymer Letters*, 3(3):168-176.
- [187] The International Centre for Diffraction Data, How to Analyze Drugs Using X-ray Diffraction, <http://www.icdd.com/knowledge/tutorials/pdf/HowtoAnalyzeDrugs.pdf>, 9 Nisan 2015.

[188] Genetik Toksisite Testleri, (2011). Cilt:4, Sayı:3, Sayfa:221-229

## ÖZGEÇMİŞ

### KİŞİSEL BİLGİLER

**Adı Soyadı** : Arzu PALANTÖKEN  
**Doğum Tarihi ve Yeri** : 10.02.1978/İstanbul-Üsküdar  
**Yabancı Dili** : İngilizce  
**E-posta** : apalantoken@gmail.com

### ÖĞRENİM DURUMU

| Derece    | Alan               | Okul/Üniversite            | Mezuniyet Yılı |
|-----------|--------------------|----------------------------|----------------|
| Y. Lisans | Kimya Mühendisliği | Yıldız Teknik Üniversitesi | 2005           |
| Lisans    | Kimya Mühendisliği | Yıldız Teknik Üniversitesi | 2001           |
| Lise      | Fen Bilimleri      | Üsküdar Kız Lisesi         | 1995           |

### İŞ TECRÜBESİ

| Yıl         | Firma/Kurum                                                | Görevi              |
|-------------|------------------------------------------------------------|---------------------|
| 2005-       | Sanovel İlaç San. Tic. A.Ş.<br>Araştırma-Geliştirme Bölümü | Ar-Ge Uzmanı        |
| 2004 - 2005 | Yıldız Teknik Üniversitesi<br>Kimya Mühendisliği Bölümü    | Araştırma Görevlisi |

2002 - 2003 Çevre Endüstriyel Analiz Laboratuvarları Analist  
Enstrümantal Analiz Laboratuvarı

## **YAYINLARI**

### **Patent**

1. Toksöz A., Çifter Ü., Türkyılmaz A., Üzer Murat İ., Palantöken A., Cefdinir formulation with improved dissolution rate, European Patent Application, EP 2 366 379 A1, (Yayınlanma tarihi: 21.09.2011).
2. A Modified Release Pharmaceutical Composition of Donepezil (Başvuru).
3. Pharmaceutical Composition of Prasugrel Hydrobomide (Başvuru).

### **Makale**

1. Palantoken A., Yilmaz Sari M., Yapaoz Altıkatoglu M., Pişkin S., Sigma Journal of Engineering and Natural Sciences, Volume: 33, Issue: 1, (Mar 2015), Pages: 1-7.
2. Elbeyli Yakar İ., Palantöken A., Pişkin S., Peksel A., Kuzu H., Bio-Liquefaction/Solubilization of Lignitic Humic Acids by White-Rot Fungus (*Phanerochaete chrysosporium*), Taylor & Francis Group, Energy Sources, Part A: Recovery, Utilization, and Environmental Effects, Volume 28, Number 11, August 2006, Pages: 1051-1061.
3. Elbeyli Yakar İ., Palantöken A., Pişkin S., Kuzu H., Peksel A., Liquefaction/Solubilization of Low-Rank Turkish Coals by White-Rot Fungus (*Phanerochaete chrysosporium*), Taylor & Francis Group, Energy Sources, Part A: Recovery, Utilization, and Environmental Effects, Volume 28, Number 11 , August 2006, Pages: 1063 - 1073 .

## **Bildiri**

1. Piskin S., Palantöken A., Yilmaz Sari M., Antimicrobial Activity of Synthesized  $TiO_2$  Nanoparticles, ICETET' 2013 International Conference on Emerging in Engineering and Technology, (2013).
2. Arzu Palantöken, M. Sarı Yılmaz, M. Altikatoğlu Yapaöz, Tarık Eren, Sabriye Pişkin., Hydrogel Synthesis Incorporated with UV Curable Quaternary Ammonium Polyethyleneimine, Bio Eng.' 14 Bioengineering Conference Proceeding, 27 Kasım 2014, 115-120, İstanbul.

## **Ulusal tebliğ**

1. Sevimli M.M., Sarılioğlu Ü.B., Palantöken A., Pişkin S., "Uçucu Kül Katkılı Çimento Harçlarının Agresif Sulara Karşı Dayanımının Araştırılması" 6.Ulusal Kimya Mühendisliği Kongresi, 7-10 Eylül 2004, İzmir.

## **Proje**

1. Halka Açılma Metatez Polimerizasyonu Esaslı Antimikrobiyal Hidrojel Kaplama (Proje No:2013-07-01-KAP04), YTU BAP, 2013-2016, Araştırmacı.
2. Çeşitli Nanopartiküllerin Farklı Hücre Modelleri Üzerindeki Etkisinin Karşılaştırmalı Olarak İncelenmesi (Proje No:2012-07-01-KAP01), YTU BAP, 2012-2014, Araştırmacı.
3. Çeşitli Bileşiklerden Hidrojen Üretimi ve Yakıt Pili Geliştirilmesi (Proje No: 23-DPT-07-01-02), Devlet Planlama Teşkilatı, 2003-2010, Araştırmacı.