

T.C.  
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

POLİMERİK PARTİKÜLLER İLE TİTANYUM ESASLI  
MALZEMELERİN YÜZEY PÜRÜZLÜLÜĞÜNÜN  
DEĞİŞTİRİLMESİ

**Begüm AYDEMİR**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Biyomühendislik Anabilim Dalı

Biyomühendislik Programı

Danışman

Doç. Dr. Sakip ÖNDER

Haziran, 2023

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

**Polimerik Partiküller İle Titanyum Esaslı Malzemelerin Yüzey  
Pürüzlülüğünün Değiştirilmesi**

Begüm AYDEMİR tarafından hazırlanan tez çalışması 09.06.2023 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyomühendislik Anabilim Dalı, Biyomühendislik Programı **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Doç. Dr. Sakip ÖNDER  
Yıldız Teknik Üniversitesi  
Danışman

**Jüri Üyeleri**

Doç. Dr. Sakip ÖNDER  
Yıldız Teknik Üniversitesi

---

Prof. Dr. Serap DERMAN  
Yıldız Teknik Üniversitesi

---

Dr. Öğr. Üyesi Hasan KAHRAMAN  
Atlas Üniversitesi

---

Danışmanım Doç. Dr. Sakip ÖNDER sorumluluğunda tarafımda hazırlanan “Polimerik Partiküller İle Titanyum Esaslı Malzemelerin Yüzey Pürüzlülüğünün Değiştirilmesi” başlıklı çalışmada veri toplama ve veri kullanımında gerekli yasal izinleri aldığımı, diğer kaynaklardan aldığım bilgileri ana metin ve referanslarda eksiksiz gösterdiğimi, araştırma verilerine ve sonuçlarına ilişkin çarpıtma ve/veya sahtecilik yapmadığımı, çalışmam süresince bilimsel araştırma ve etik ilkelerine uygun davrandığımı beyan ederim. Beyanımın aksinin ispatı halinde her türlü yasal sonucu kabul ederim.

Begüm AYDEMİR

İmza

*Aileme,*



## TEŐEKKÜR

---

Tez çalıőmamın başlamasından bu yana bana her koőulda yardımcı ve destek olan hocalarım Doç. Dr. Sakip ÖNDER'e, Prof. Dr. Serap DERMAN'a, çalıőmamda bana yardımcı olup yol gösteren çalışma arkadaőım Seher AR'a, hücre kültürü çalışmalarında yardımcı olan hocam Doç. Dr. Emrah Őefik ABAMOR'a, laboratuvar içi deneysel ekipman desteğini esirgemeyen hocam Doç. Dr. Murat TOPUZOĞULLARI'na, laboratuvar mikropartikül sentez ve ilaç salım çalıőmalarımnda bana yol gösteren hocalarım Arő. Gör. Burcu DOYMUŞ'a ve Arő. Gör. Güleycan DEDECENGİZ'e bana desteklerinden ve yardımlarından ötürü teőekkürlerimi sunarım.

Begüm AYDEMİR

# İÇİNDEKİLER

<b>SİMGE LİSTESİ</b>	<b>vii</b>
<b>KISALTMA LİSTESİ</b>	<b>viii</b>
<b>ŞEKİL LİSTESİ</b>	<b>ix</b>
<b>TABLO LİSTESİ</b>	<b>x</b>
<b>ÖZET</b>	<b>xi</b>
<b>ABSTRACT</b>	<b>xiii</b>
<b>1 GİRİŞ</b>	<b>1</b>
1.1 Biyomalzemeler .....	2
1.2 Seramik Esaslı Biyomalzemeler Hakkında Genel Bilgi .....	3
1.3 Polimer Esaslı Biyomalzemeler Hakkında Genel Bilgi.....	3
1.4 Metal Esaslı Biyomalzemeler Hakkında Genel Bilgi .....	4
1.5 Kompozit Biyomalzemeler Hakkında Genel Bilgi .....	5
1.6 Titanyum ve Titanyum Esaslı Biyomalzemeler.....	5
1.7 Titanyum Malzemelerin Başarısını Etkileyen Faktörler.....	7
1.8 İlaç Taşıma ve Salım Sistemleri .....	8
1.9 İlaç Taşıma Sistemleri Olarak Polimerik Nanopartiküller Hakkında Genel Bilgi .....	11
1.10 Polimerik İlaç Taşıma Sistemlerinin Üretimi .....	13
1.11 Kitosan ve Uygulamaları.....	14
1.12 Tezin Amacı.....	15
1.13 Hipotez .....	16
<b>2 MATERYAL VE METOD</b>	<b>17</b>
2.1 Materyal .....	17
2.2 Metod .....	17
2.3 Kitosan Çözeltilisinin Hazırlanması .....	17
2.4 Nanopartikül Sentezi ve Karakterizasyonu.....	17
2.5 Mikropartikül Sentezi ve Karakterizasyonu .....	18
2.6 Nanopartiküllere İlaç yükleme Çalışmaları .....	18
2.7 Mikropartiküllere İlaç yükleme Çalışmaları .....	19
2.8 İlaç Salım Çalışmaları.....	19
2.9 Nanopartiküllerin ve Mikropartiküllerin Ti Yüzeyle Tutuklanması .....	20

2.10 Nano (NP)/mikropartikül (MP) Kaplanmış Yüzeylerin Karakterizasyonu ..	20
2.11 Hücre Kültürü Çalışmaları .....	20
2.12 MTT Deneyleri .....	21
2.13 Hücre Yapışması Deneyleri .....	22
<b>3 BULGULAR VE TARTIŞMA</b>	<b>37</b>
3.1 Nanopartiküllerin Zeta Sizer ile Analizi .....	23
3.2 Kitosan Nanopartiküllerin FTIR Analizi .....	24
3.3 Kitosan Nanopartiküllerin İlaç Salım Profilleri .....	25
3.4 Kitosan Nanopartikül Kaplı Ti Yüzeylerin Yüzey Pürüzlülük Analizi .....	27
3.5 Kitosan Nanopartikül Kaplı Ti Yüzeylerin SEM Analizi .....	28
3.6 Mikropartiküllerin Boyut Analizi .....	29
3.7 Mikropartiküllerin İlaç Salım Profilleri .....	30
3.8 Mikropartikül Kaplı Ti Yüzeylerin Yüzey Pürüzlülük Analizi .....	31
3.9 Mikropartikül Kaplı Ti Yüzeylerin SEM Analizi .....	32
3.10 Hücre Kültürü Çalışmaları .....	33
<b>4 SONUÇ</b>	<b>36</b>
<b>KAYNAKÇA</b>	<b>38</b>
<b>A EK</b>	<b>45</b>
<b>TEZDEN ÜRETİLMİŞ YAYINLAR</b>	<b>47</b>

## SİMGE LİSTESİ

---

°C	derece santigrat
gr	gram
µg	mikrogram
µl	mikrolitre
µm	mikrometre
mg	miligram
ml	mililitre
mm	milimetre
mV	millivolt
nm	nanometre
Ra	ortalama pürüzlülük
cm	santimetre

## KISALTMA LİSTESİ

---

Au	Altın
APTES	3-Triethoxysilylpropylamine
DMEM	Dulbecco's Modified Eagle Medium
DMSO	Dimetil Sülfoksit
FBS	Fetal Sığır Serumı
FT-IR	Fourier Transform Infrared Spectroscopy
GA	Gluteraldehit
M	Molar
N	Normal
PBS	Phosphate-buffered saline
RESS	Rapid Expansion of Supercritical Solutions
RPM	Revolutions per minute
SAS	Supercritical Antisolvent Process
SEM	Scanning Electron Microscopy
Ti	Titanyum
TPP	Sodyum Tripolifosfat

## ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 1.1	Biyomalzemelerin medikal uygulamalarına örnekler .....	2
Şekil 1.2	Biyomalzeme üretiminde kullanılan polimerlerin sınıflandırılması .....	4
Şekil 1.3	Baştan ayağa titanyum uygulamaları .....	6
Şekil 1.4	Titanyum malzemelerin biyouyumluluğunu etkileyen faktörler.....	7
Şekil 1.5	İlaç uygulamasından sonra kandaki ilaç düzeyinin değişimi .....	8
Şekil 1.6	İlaç taşıma sistemlerinin hedefleme yöntemleri .....	9
Şekil 1.7	İlaç taşıma sistemlerinin üretilmesinde kullanılan bazı malzemeler.....	10
Şekil 1.8	Difüzyon kontrollü (a), su geçiş kontrollü (b) ve kimyasal kontrollü (c), ilaç salım mekanizmaları .....	11
Şekil 1.9	Kitin ve kitosanın kimyasal yapısı .....	14
Şekil 3.1	144 nm boş ve siprofloksasin ilaç yüklü nanopartiküllere ait FTIR grafığı .....	25
Şekil 3.2	Siprofloksasin İlacın Kalibrasyon Eğrisi.....	25
Şekil 3.3	144 nm boyutlarındaki nanopartiküllere ait a) 2 mg b) 8 mg siprofloksasin salım profilleri .....	26
Şekil 3.4	430 nm boyutlarındaki nanopartiküllere ait a) 2 mg b) 8 mg siprofloksasin salım profilleri.....	27
Şekil 3.5	144 nm boyutundaki nanopartiküller ile kaplanmış Ti yüzeylere ait SEM görüntüleri .....	28
Şekil 3.6	430 nm boyutundaki nanopartiküller ile kaplanmış Ti yüzeylere ait SEM görüntüleri .....	29
Şekil 3.7	500 rpm (a) ve 1500 rpm (b) karıştırma hızlarında üretilen mikropartiküllerin ışık mikroskopi görüntüleri.....	30
Şekil 3.8	500 rpm (a) ve 1500 rpm (b) ile üretilmiş mikropartiküllere ait ilaç salım profilleri.....	31
Şekil 3.9	20 µm boyutlu kitosan mikropartiküller ile kaplanmış Ti yüzeylerin SEM görüntüsü (200X, ölçek 100 µm) .....	32
Şekil 3.10	5 µm boyutlu kitosan mikropartiküller ile kaplanmış Ti yüzeylerin SEM görüntüsü.....	33
Şekil 3.11	MTS sonuçları .....	34
Şekil 3.12	Kaplanmamış Ti (a), 5 µm boyutlu mikropartiküller ile kaplanmış Ti (b) ve 20 µm boyutlu mikropartiküller ile kaplanmış Ti yüzeylere tutunmuş hücrelere ait floresan mikroskopi görüntüleri.....	34

## TABLO LİSTESİ

---

<b>Tablo 1.1</b> İlaç taşıyıcı sistemlerde kullanılan polimerler .....	12
<b>Tablo 2.1</b> Hücre kültüründe kullanılan numunelere ait bilgiler .....	21
<b>Tablo 3.1</b> Kitosan nanoparçacığının zeta sizer cihazında ölçülen boyut, zeta ve PDI değerleri.....	23
<b>Tablo 3.2</b> Kitosan nanopartiküllere ait yükleme verimlilikleri .....	26
<b>Tablo 3.3</b> Kitosan nanopartikül kaplı Ti yüzeylerin pürüzlülük değerleri.....	28
<b>Tablo 3.4</b> Kitosan mikropartiküllere ait yükleme verimlilikleri .....	30
<b>Tablo 3.5</b> Kitosan Mikropartikül Kaplı Ti yüzeylerin Pürüzlülük Değerleri.....	32



## **Polimerik Partiküller İle Titanyum Esaslı Malzemelerin Yüzey Pürüzlülüğünün Değiştirilmesi**

Begüm AYDEMİR

Biyomühendislik Anabilim Dalı

Biyomühendislik Programı

Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Doç. Dr. Sakip ÖNDER

Titanyum (Ti) malzemelerin yüzey özellikleri, başarısını etkileyen en önemli faktörlerin başında gelmektedir. Dolayısıyla hücrelerin temas ettikleri yüzeylerin kimyası, fiziksel ve mekanik özellikleri oldukça önemlidir. Bu çalışma kapsamında Ti yüzeyler için farklı büyüklükte partiküllerin kullanıldığı polimerik kaplamalar hazırlanmış, yüzeylerin pürüzlülükleri tespit edilmiş ve bunun hücreler üzerine etkileri çalışılmıştır. Kitosandan sonikasyon ile kitosan nanopartiküller üretilmiştir, çapraz bağlayıcı olarak sodyum tripolifosfat (TPP) kullanılmıştır. Aynı konsantrasyonlardaki kitosan çözeltileri farklı konsantrasyonlardaki TPP çözeltileri ve farklı güç ve zamanlarda sonike edilerek nanopartiküller elde edilmiştir. Nanopartiküllerin zeta potansiyelleri ve boyutları zeta sizer ile analiz edilmiştir. Nanopartiküllerin ilaç yükleme ve salım profillerinin tespiti için model ilaç siprofloksasin tercih edilip, nanopartiküllerin enkapsülasyon yöntemi ile yüklemeleri yapıldı. 48 saatlik salım profilleri incelendiğinde ilacın başarılı şekilde nanopartiküllere yüklendiği ve kontrollü salımının gerçekleştirilebileceği gösterildi.

Mikropartiküllerin üretimi ise emülsifikasyon yöntemi ile gerçekleştirildi. Mikropartikül üretimi sırasında farklı karıştırma hızlarının partikül boyutuna etkisi araştırıldı. Mikropartiküllerin de 48 saatlik ilaç salım profilleri incelendiğinde, ilacın başarılı bir şekilde yüklendiği ve kontrollü salımının gerçekleştirilebileceği gösterildi. Mikropartiküllerin başarı oranının nanopartiküllere göre daha iyi olduğu görüldü. Daha sonra partiküllerin Ti yüzeylere tutuklanabilmesi için Ti numunelerin yüzeylerine sırasıyla alkali işlem, ısı işlem ve silanizasyon işlemleri uygulandı. Silanizasyondan sonra yüzeylerdeki  $-NH_2$  grupları gluteraldehit ile muamele edilerek tutuklanacak partiküller yüzeylere uygulandı ve liyofilizatörde kurutuldu. Tutuklama işleminden sonra ilk olarak Ti malzemelerin mekanik profilometre ile yüzey pürüzlülükleri tespit edildi. Yüzey pürüzlülük testlerinde kaplanmamış ve kaplanmış Ti yüzeylerin pürüzlülük değerleri arasında anlamlı bir farkın olduğu görüldü. Farklı yüzey pürüzlülüğüne sahip Ti yüzeylerde fibroblast hücreler ile sitotoksikite ve hücre yapışması testleri yapıldı. Sitotoksikite testlerinde toksik etki olmadığı görüldü. Ayrıca, yüzey pürüzlülüğünün hücre yapışmasını olumsuz bir şekilde etkilediği tespit edildi. Bu çalışmada, Ti yüzeylerden çeşitli moleküllerin lokal salımında kullanılmak üzere yüzeye tutuklanan farklı boyutlardaki polimerik partiküllerin malzemelerin yüzey pürüzlülüklerini değiştirdiği ve hücre yapışmasını etkilediği gösterildi.

**Anahtar Kelimeler:** Kitosan, ilaç salımı, MTT, yüzey pürüzlülüğü

# **Alteration of the Surface Roughness of Titanium-Based Materials with Polymeric Particles**

Begüm AYDEMİR

Department of Bioengineering

Master of Science Thesis

Supervisor: Assoc. Dr. Sakip ÖNDER

Surface properties of titanium (Ti) materials are one of the most important factors affecting their success. Polymeric coatings using nanoparticles of different sizes were prepared for Ti surfaces, the roughness of the surfaces was determined, effects of roughness on cells were studied. Chitosan nanoparticles were produced from chitosan by sonication method and sodium tripolyphosphate was used as crosslinker. The same chitosan solutions are sonicated with different power and time by different TPP solutions. The zeta potentials and sizes of the produced nanoparticles were analyzed with zeta sizer. For determination of drug loading and release profiles of nanoparticles, siprofloksasin was preferred as model drug, nanoparticles were loaded by encapsulation method. When the 48-hour release profiles of the medicated nanoparticles of different sizes were examined, it was shown that the drug was successfully loaded into the nanoparticles and controlled release could be happened. The production of microparticles was carried out by emulsification method. The effect of different mixing speeds on particle size during microparticle production was investigated. When the 48-hour drug release profiles of microparticles were examined, it was shown that the drug was loaded successfully and controlled release

could be performed similarly to the nanoparticle. Success of microparticles are better than nanoparticles. Alkali treatment, heat treatment and silanization processes were applied to the surfaces of Ti samples, respectively, in order to fix the particles on Ti surfaces. After the silanization process,  $-NH_2$  groups formed on the surfaces were treated with glutaraldehyde, the particles were applied to surfaces for immobilization. After immobilization, the roughness of the surfaces was determined with a mechanical profilometer. Finally, fibroblast cells were seeded on Ti surfaces with different surface roughness and cell viability tests were performed. Cytotoxicity tests showed that coatings applied to Ti surfaces did not have any toxic effect on cells. In cell adhesion tests, it was determined that surface roughness affected cell adhesion negatively. It was shown that polymeric particles of different sizes arrested on surface for use in the local release of various molecules from Ti surfaces change surface roughness of materials and affect cell adhesion.

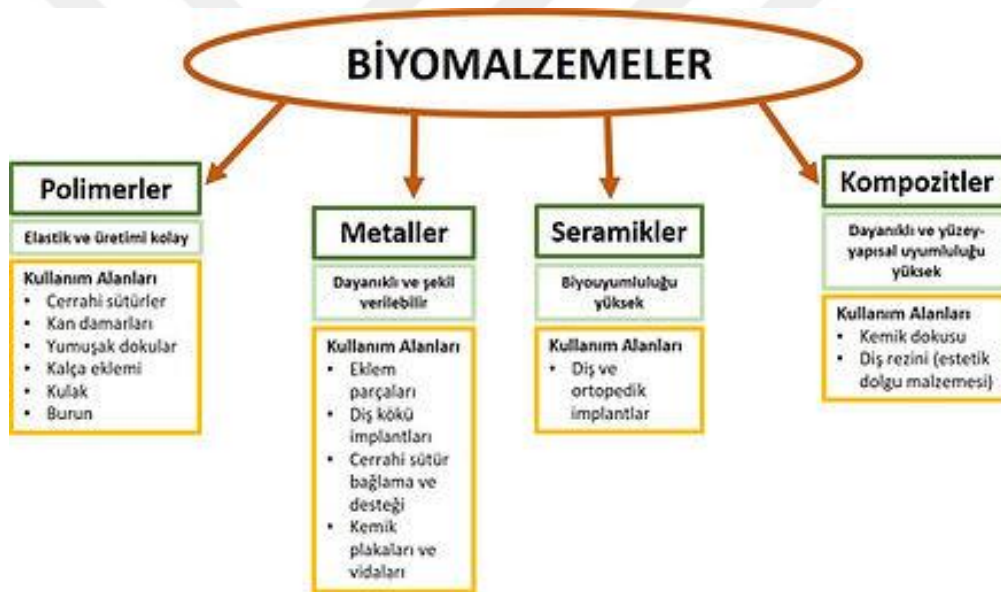
**Keywords:** Chitosan, drug release, MTT, surface roughness

# 1 GİRİŞ

Titanyum (Ti) ve alaşımları vücutta sert doku kayıplarının tedavisinde yoğun bir şekilde kullanılmaktadır. Bunun başlıca sebepleri arasında yüksek korozyon direncine sahip olmaları, iyonlarının vücutta kolayca tolare edilebilmeleri, yüksek osteoentegrasyon özellikleri gelmektedir. Fakat biyoinert olmaları, hastane enfeksiyonları ve yüzey özellikleri gibi unsurlar bu malzemelerin başarısını ciddi oranda etkilemektedir. Literatürde özellikle yüzey özelliklerinden kaynaklı implant başarısızlığına neden olan birçok vaka bulunmaktadır. Malzemelerin yüzey kimyası, yüzey mekanik özellikleri, farkı nano/mikro yapıdaki yüzey motifleri ve yüzey pürüzlülüğü *in vivo* koşullarda başarıyı etkileyen önemli yüzey parametrelerinin başında gelmektedir. Özellikle yüzey pürüzlülüğü kemik hücrelerinin tutunması, çoğalması ve farklılaşması gibi birçok davranışını direkt olarak etkilemektedir. Ayrıca Ti yüzeylerinde bakteriler tarafından oluşturulan biyofilm ve hastane ortamından buluşan diğer mikrobiyal ajanlar da implant başarısını doğrudan etkilemektedir. Cerrahi operasyonlardan sonra hastalara antibiyotik tedavisi uygulanmakta ve olası enfeksiyonların önüne geçilmek istenmektedir. Fakat tedavi amaçlı uygulanan yüksek dozlu antibiyotik sağlıklı hücrelere de zarar vermekte ve ciddi yan etkilere neden olabilmektedir. Bu nedenle lokal ilaç salım sistemlerine yönelik ciddi çalışmalar yürütülmektedir. Lokal ilaç salım sistemlerinde ilaç taşıyıcılar implant malzemelerin yüzeylerine tutuklanmakta böylece hem tedavinin etkinliği arttırılmaya hem de olası yan etkiler azaltılmaya çalışılmaktadır. Hem yüzey parametrelerinin hem de lokal salım çalışmalarının Ti malzemelerin başarısı üzerindeki önemi göz önüne alınarak önerilen çalışma kapsamında farklı boyutlarda polimerik nanopartiküller kullanılarak Ti yüzeylerin yüzey pürüzlülüklerinin değiştirilmesi ve fibroblast hücreleri üzerindeki etkilerinin ortaya konulmasına çalışılmıştır. Çalışma kapsamında ayrıca Ti yüzeylere tutuklanan polimerik nanopartiküllerin ilaç yükleme ve salım profilleri de incelenerek bu yüzeylerden biyomoleküllerin kontrollü bir şekilde lokal olarak salımının yapılıp yapılamayacağı da değerlendirilmiştir. İlgili çalışmalar hakkında detay sunulmadan ve konunun daha anlaşılır olabilmesi adına öncelik biyomalzemeler ve ilaç salım sistemleri hakkında bir bilginin irdelenmesi gerekmektedir.

## 1.1 Biyomalzemeler

Biyomalzemeler, insan vücudundaki canlı dokuların işlevlerini yerine getirmek veya desteklemek amacıyla kullanılan doğal ya da sentetik malzemelerdir. Biyomalzemeler ameliyat ipliği ve vidalı teller gibi malzemeler kullanılarak yaralı kısımların tedavisi ve iyileşmesinde (Güven, 2014), protez malzemesi olarak hastalıklı ve hasarlı dokuların tedavisinde (Mutlu vd., 2005), işitme cihazı (Elçin, 2018), lensler (Güven, 2014) ve kalp pilleri gibi vücut fonksiyonlarını arttırmada ve düzenlemede (Parsinli, 2004), silikon ya da diş implantları (Williams, 1982) olarak kozmetik problemleri ortadan kaldırmada, teşhise yardımcı olmada, iskelet sistem fonksiyon bozukluklarını düzeltmede, biyoteknolojide ve farmasötide kullanılan aparatlarda, ve çeşitli ilaç taşıma sistemleri gibi pek çok alanda kullanılır (Şekil 1.1).



Şekil 1.1 Biyomalzemelerin medikal uygulamalarına örnekler (Park vd., 2007).

Çeşitli tıbbi uygulamalarda kullanılan biyomalzemelerin, toksik ve kanserojen özellikte olmaması, mekanik dayanımlarının yeterli olması, vücutta meydana gelen reaksiyonların dışında reaksiyonlara sebep olmaması ve korozyona uğramamaları beklenmektedir (Karakeçili vd., 2002; Parsinli, 2004). Bir biyomalzemenin vücut dokularına fiziksel, kimyasal, biyolojik uyumu ve vücudun mekanik davranışına sağladığı optimum uyum biyoyumluluk olarak tanımlanabilir. Biyoyumlu bir malzeme, etrafını çevreleyen dokular üzerinde iltihaplanma, pıhtı oluşumu v.b. olumsuz etki yapmayan malzemedir. Biyomalzemelerden; iyi mekanik özellikler,

biyoyumluluk, korozyona dayanım, üstün sürtünme ve aşınma dayanımı göstermesi arzu edilmektedir. Ayrıca, alerjik reaksiyonlara neden olmamaları, zehirli ürünler salgılamamaları, kolay şekillendirilebilir olmaları ve sterilizasyon işlemlerinde özelliklerinin bozulmaması da büyük önem arz etmektedir.

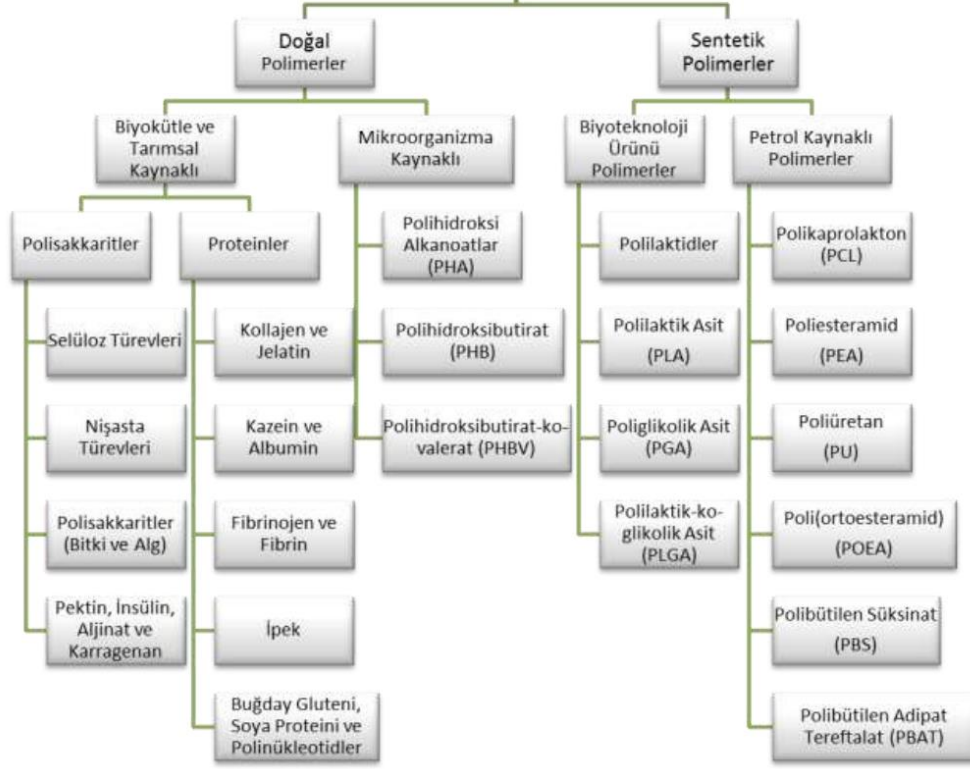
Seramikler, metaller, polimerler ve kompozitler gibi farklı malzemeler tıbbi uygulamalar için biyomalzeme üretiminde kullanılmaktadır. (Dash vd., 1998)

## **1.2 Seramik Esaslı Biyomalzemeler Hakkında Genel Bilgi**

Seramikler yüksek biyoyumluluğa (toksik olmama, alerjik olmama, kanserojen olmama gibi) sahip olmaları, inert olmaları, yüksek erime sıcaklığına sahip olmaları, çekme dayanımlarının düşük, basma dayanımının yüksek olmaları gibi özelliklerinden dolayı medikal uygulamalarda yoğun bir şekilde tercih edilmektedirler (Yılmaz vd., 2019). Fakat kırılma olmaları nedeniyle yüksek yüke maruz kalan bölgelerde kullanımlarının kolay olmaması, üretiminde yaşanan zorluklar ve düşük elastisite gibi özellikleri medikal uygulamalarda kullanımlarını kısıtlamaktadır (Wnek vd., 2008). Alüminyum oksit, zirkonyum oksit, kalsiyum fosfat medikal uygulamalarda kullanılan seramiklere örnek olarak verilebilir. Ortopedi, omurların onarımı, diş implantları, solunum tüpleri, kalp kapakçıkları seramik esaslı biyomalzemelerin kullanıldığı önemli uygulama alanlarından bazılarıdır (Yılmaz vd., 2019).

## **1.3 Polimer Esaslı Biyomalzemeler Hakkında Genel Bilgi**

Polimer, çok sayıda küçük molekülün kovalent bağlarla birbirlerine bağlanarak oluşturduğu makromoleküldür. Biyomedikal malzeme üretiminde kullanılan polimerler kaynağına göre doğal ve sentetik olabilir (Şekil 1.2) Polimerler biyomalzeme üretiminde kullanılan diğer malzemeler ile karşılaştırıldığında mekanik özellikler bakımında daha zayıftır.



**Şekil 1.2** Biyomalzeme üretiminde kullanılan polimerlerin sınıflandırılması (Yoruç vd., 2017)

Doğal veya sentetik polimerler kalp kapakçıkları, damar sistemleri, lensler, doku mühendisliği, yara örtü malzemeleri, yapıştırıcılar, plastik cerrahi, diş ve göz tedavisi, ortopedik malzemeler ve ilaç taşıma sistemleri gibi birçok medikal uygulamada kullanılmaktadır. Mekanik özelliklerinin yumuşak dokuya daha yakın olmasından dolayı vücutta en fazla yumuşak doku uygulamalarında tercih edilmektedir.

#### 1.4 Metal Esaslı Biyomalzemeler Hakkında Genel Bilgi

Metalik biyomalzemeler vücudumuzda kemik ve diş gibi sert dokuların onarımında ve değiştirilmesinde kullanılan biyomalzemelerin üretiminde kullanılmaktadır. Yoğunlukları yüksek ve dokulara göre daha serttir (Hench, 1982). Ayrıca diğer malzemeler ile karşılaştırıldığında kuvvet dayanımları daha yüksek olup şekillendirilebilirler. Fakat korozif ortamda sergilermiş oldukları davranışları biyoyumluluklarını kısıtlamaktadır. Korozyon sonucunda oluşan partiküller dokularda alerjik reaksiyon veya dolaşım sistemine katılarak organlarda olumsuz yan etkilere neden olabilmektedir (Lane, 1895; Lambotte, 1909). Paslanmaz çelik, kobalt

krom alaşımları, titanyum alaşımları özellikle dental implantların, ortez ve protez malzemelerin üzeriminde yoğun bir şekilde kullanılmaktadır (Sherman, 1912; Chen vd., 2015).

## **1.5 Kompozit Biyomalzemeler Hakkında Genel Bilgi**

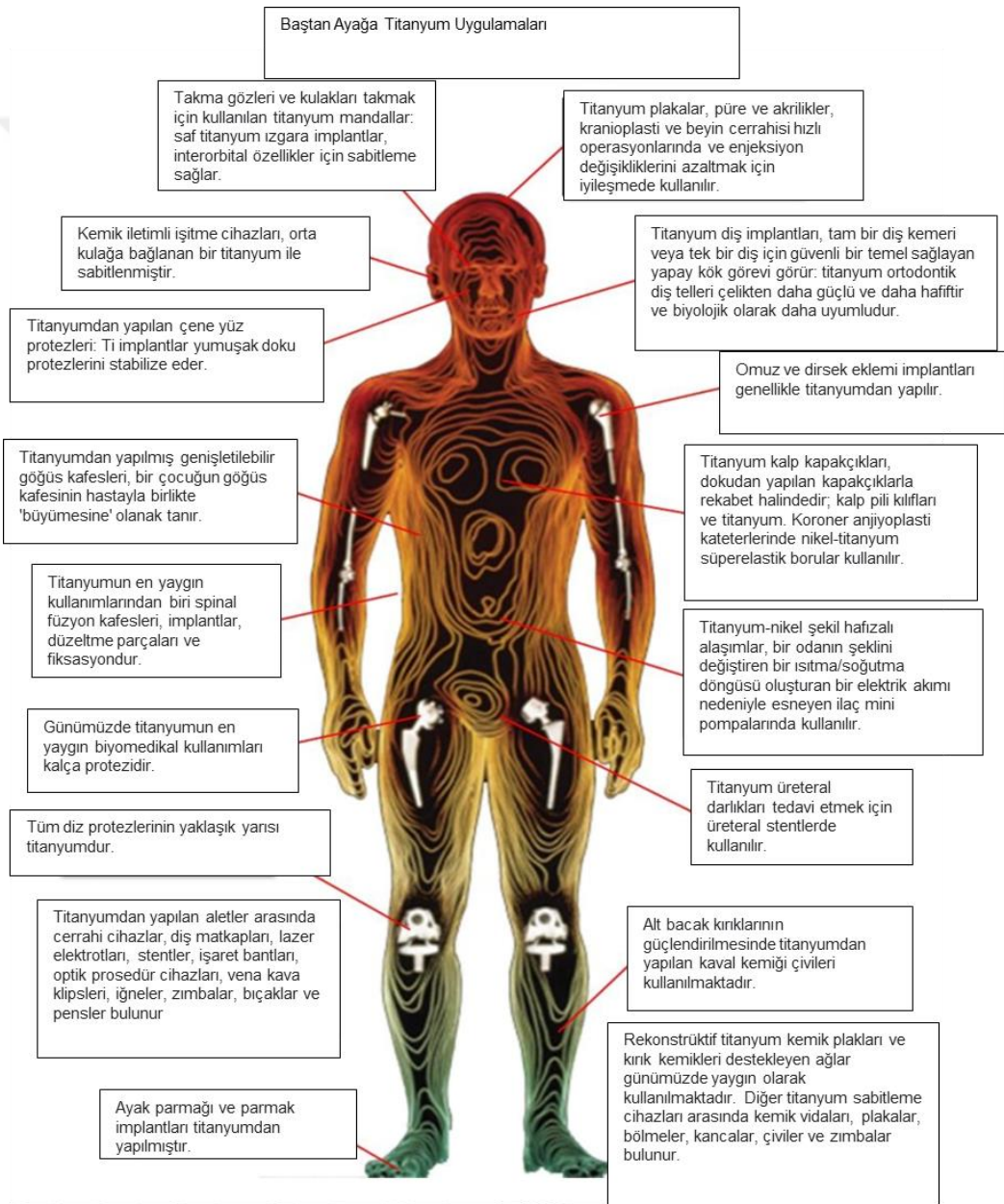
Kompozit malzeme, iki ya da daha fazla sayıda malzemenin kullanımıyla oluşturulan malzeme türüdür (Jian vd., 2021). Kompozit malzemeler farklı özelliklere sahip sürekli ve sürekli olamayan iki fazdan meydana gelmektedir. Bu malzemelerin tasarlanmasındaki amaç uygulamaya spesifik olarak gerek mekanik özellikler gerekse biyouyumluluk açısından en ideal malzemeleri elde etmektir. Örneğin; kullanılan implantların ve kemik dokunun mekanik özelliklerinin benzer olması beklenmektedir fakat metal ya da seramik malzemelerin sertlik dereceleri kemik dokusundan farklıdır (Ariga vd., 2016). Bu durumda kompozit biyomalzemeler tercih edilebilir.

Farklı polimerler, cam, karbon, seramik ve metalik malzemeleri sürekli matrisin içerisine katkılayarak malzemelerin mekanik özelliklerinin değiştirilebilmek mümkündür (Chung, 2002). Yüksek mukavemet ve düşük elastikiyet, artırılmış korozyon direnci, biyomalzemelerden sınırlı iyon salımı ve düşük kırılma hızı kompozit malzemelerin önemli avantajlarından (Özkan vd., 2016). Yapay damarlar (Özkan vd., 2016), diş implantları (O'brien, 2002), parmak eklemleri (Balasundaram, 2014), yapay karın duvarı (Jain vd., 2013), yapay kalça kemiği (Balasundaram, 2014), diz protezi (Jain, 2013) ve yapay kırıkdağlar (Heli vd., 2016) kompozit malzemelerin kullanıldığı uygulamalara örnek olarak verilebilir.

## **1.6 Titanyum ve Titanyum Esaslı Biyomalzemeler**

Ti ve Ti alaşımları sert doku uygulamalarında en yoğun şekilde kullanılan malzemelerdir. Ti yüksek korozyon direnci, yüksek erime sıcaklığı (1668 °C, demirden yüksek erime sıcaklığına sahiptir) ve yüksek mukavemete sahip bir metaldir (Kaya, 2017). Yoğunluğu 4,51 gr/cm<sup>3</sup> olup mekanik özellikler bakımından kemiğe en yakın malzemelerden birisidir. Yüksek korozyon direnci, vücutta tolere edilebilir iyonlar ve biyoinert özelliği medikal uygulamalarda sağlamış oldukları en büyük avantajların başında gelmektedir (Yalcin vd., 2007). Fakat biyoinert özelliği osseointegrasyon açısından Ti esaslı malzemelerin başarısını düşürmektedir.

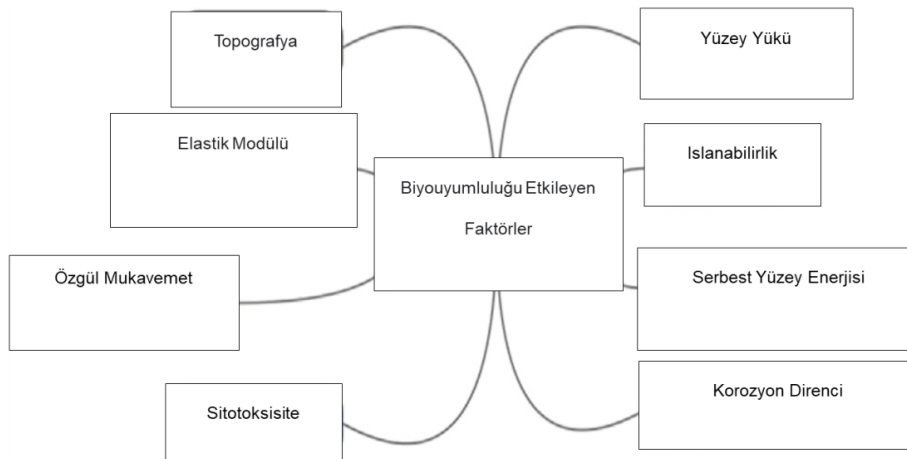
Osseointegrasyonu artırıcı yüzey kaplamalarının kullanımı ile bu problemi azaltmak ve Ti esaslı implantların başarısını arttırmak mümkündür (Coulthard vd., 2003). Bu amaçla çok sık kullanılan yöntemlerden biri kemiğin yapısında doğal olarak bulunan hidroksiapatit mineralinin yüzeylerde kaplama olarak kullanılmasıdır (Navarro vd., 2008). Protezler, eklemler, yüz cerrahisi, cerrahi tüpler, kırık hatlarının sabitlenmesinde kullanılan plaka ve vidalar ve vücut ile temas eden metalik parçaları Ti ve Ti esaslı malzemelerin yoğun olarak kullanıldığı başlıca uygulamalardan bazılarıdır (Karakeçili vd., 2002). Bunların dışında birçok uygulaması da mevcuttur (Şekil 1.3)



Şekil 1.3 Baştan ayağa titanyum uygulamaları (Watari vd., 2004)

## 1.7 Titanyum Malzemelerin Başarısını Etkileyen Faktörler

Biyomalzemelerin başarısını etkileyen unsurların başında malzemelerin yüzey özellikleri gelmektedir. Bir malzeme çevresi ilk temasını yüzeyi ile kurar ve bu bağlamda ilk reaksiyonda çevrede bulunan proteinlerin malzeme yüzeyine tutunmasıdır (Xuanyong vd., 2004). Daha sonrasında adsorbe edilmiş proteinler bu yüzeylerde hücrelerin davranışlarını kontrol ederek biyomalzemenin başarısını etkilemektedir. Özellikler sert doku uygulamalarında kullanılan Ti malzemelerin yüzey özellikleri kemik doku ile sağlam bağlanmayı etkileyen unsurlardan bir tanesidir. Zayıf bağlanma implant başarısızlığına neden olmakta ve revizyon cerrahisine neden olmaktadır (Voigt vd., 2016). Bu bakımdan yüzeylerin kimyası, yüzey enerjisi, korozyon direnci, yüzeylerin mekanik özellikleri ve yüzey pürüzlülüğü gibi faktörler Ti malzemelerin başarısını ciddi bir şekilde etkilemektedir. Ti malzemelerin başarısını etkileyen faktörler genel olarak Şekil 1.4’ de gösterilmiştir. Örneğin; hücrelerin yüzeylerinde integrin reseptörleri bulunmaktadır ve bu reseptörler peptitler (özellikle RGD), fibronektin, vitronektin, laminin ve kolajen yapıları ile kolayca bağ kurmaktadır (Jager vd., 2017; Nascimento vd., 2017). Bundan dolayı Ti implant malzemelerinin yüzeyleri değiştirilerek implant doku arakesitinde kuvvetli bağlar kurmak mümkündür (Lele vd., 2006).



Şekil 1.4 Titanyum malzemelerin biyoyumluluğunu etkileyen faktörler (Quinn vd., 2020)

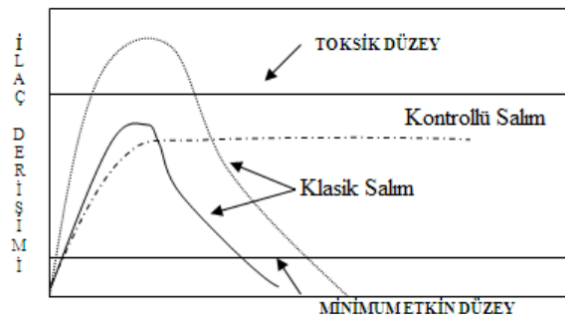
Aynı şekilde yüzeylerin sertliği malzeme hücre etkileşimini etkilemektedir. Sertlik hücrelerin tutunmasını, farklılaşmasını ve malzeme yüzeylerinde yayılmasını

etkilemektedir (Krell, vd., 2003). Bu nedenle Ti yüzeyler farklı mekanik özelliklere sahip polimer, seramik ve karbon nano malzemeler ile kaplanmaktadır (Veronesi vd., 2017). Ayrıca yüzey fiziksel özellikleri ve yüzey pürüzlülüğü de osteoblast hücrelerinin tutunma, farklılaşma, çoğalma gibi birçok davranışını etkilemektedir. Örneğin, Levin ve diğerleri (2022) plazma püskürtme yöntemi ile Ti yüzeylerinin pürüzlülüğünü değiştirmiş ve pürüzsüz yüzeylerde hücre çoğalması daha fazla iken pürüzlü yüzeylerde hücre farklılaşmasının daha iyi olduğunu göstermişlerdir (Levin vd., 2022). Benzer şekilde mekanik yöntemler ile Ti yüzey pürüzlülüğünün değiştirdiği ve çalışıldığı çalışmalar da mevcuttur (Anselme vd., 2000).

Ti yüzeylerine lokal salım yapmak üzere seramik, polimerik, etalik veya kompozit yapıda farklı ilaç taşıyıcı sistemler kaplanmaktadır (De Pasquale vd., 2017, May). Terapötik etkilerinin yanı sıra bu kaplamalar yüzeylerin hem mekanik hem de fiziksel özelliklerinin değişmesine neden olmaktadır. Bunlardan bir tanesi de yüzey pürüzlülüğünde meydana gelen değişikliktir.

## 1.8 İlaç Taşıma ve Salım Sistemleri

İlaç taşıma sistemleri tedavi edici etken maddenin bir taşıyıcı sisteme tutuklanması ile elde edilir. Etken madde yüklü taşıma sistemleri oral olarak, enjeksiyon, solunum ve transdermal olarak hastaya uygulanır (Saltzman, 2001) ve patojenlerin tedavisinde kullanılır. Uygulanan etken maddenin etkili olabilmesi için vücutta belli bir seviyede (etken doz) olması beklenir (Şekil 1.5) ve bu dozdan daha düşük miktarlar, patojenler ile mücadele yetersiz kalır.

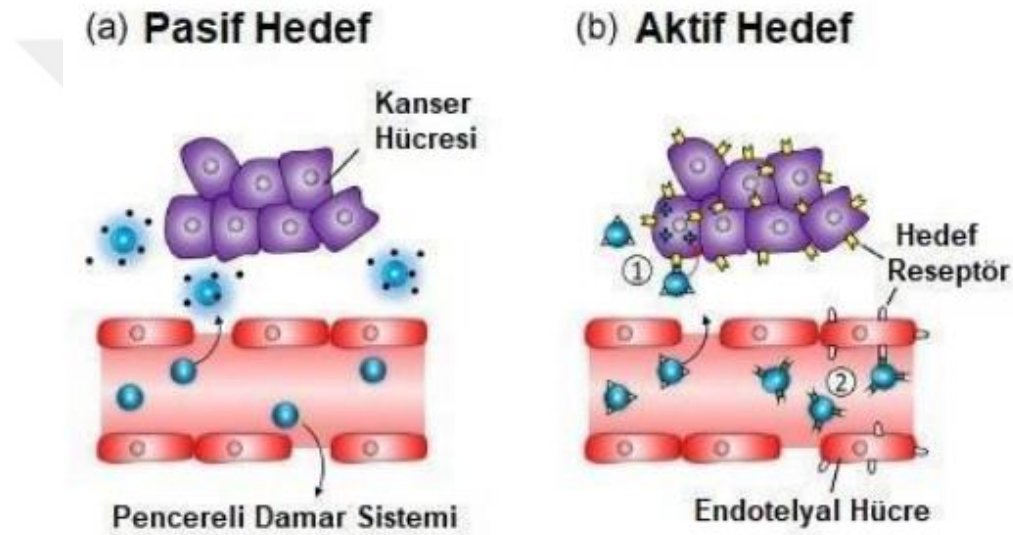


Şekil 1.5 İlaç uygulamasından sonra kandaki ilaç düzeyinin değişimi (Basan vd., 2001).

Özellikle cerrahi operasyonlardan sonra veya enfekte olan hastalarda yüksek miktarda ilaç uygulanmakta olup bu durum sağlıklı hücrelerin zarar görmesine neden

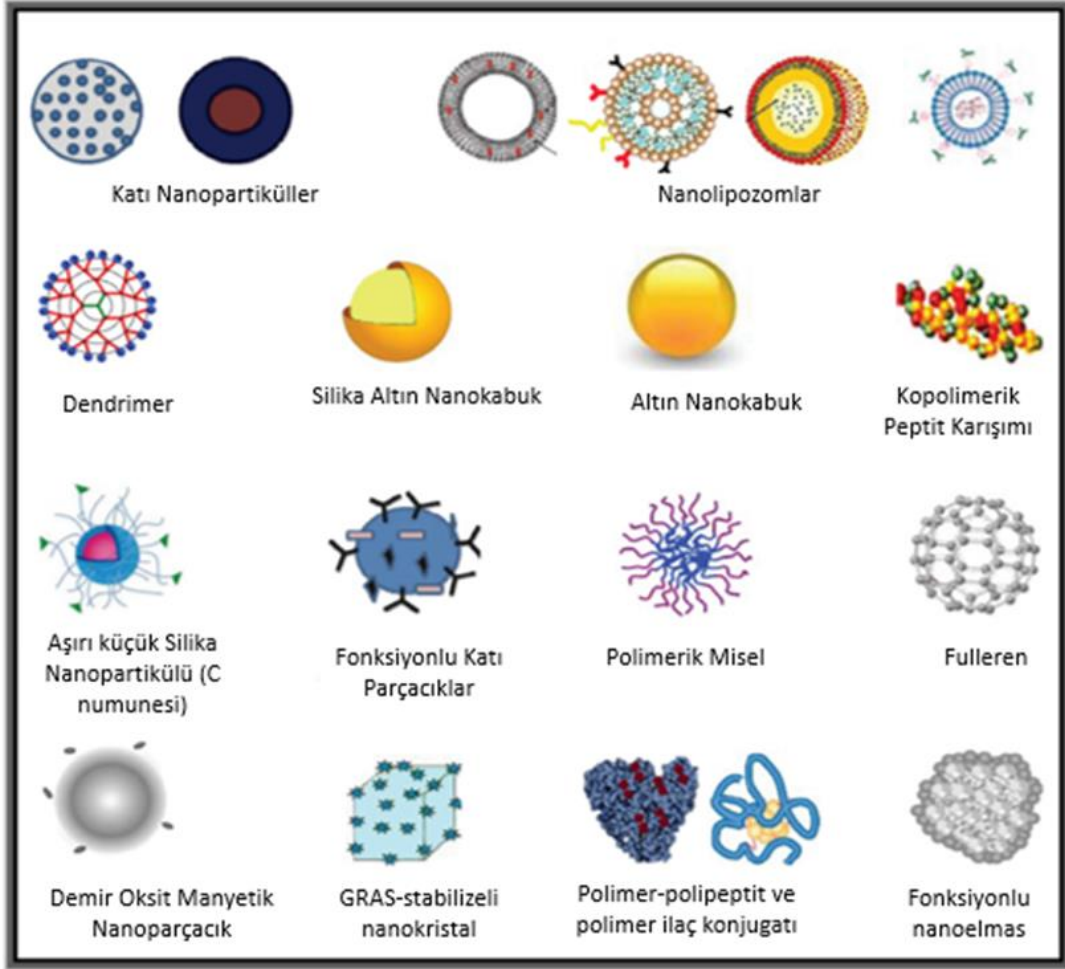
olmaktadır. Bu nedenle kontrollü ilaç salımı yapabilen ve kanda etken doz miktarının belirli bir süre sabit kalmasını sağlayan kontrollü ilaç salım sistemleri medikal uygulamalar için oldukça önemlidir.

İlaç salım sistemlerinde terapötik etkiyi arttıran ve tedavinin yan etkilerini azaltmak için kullanılan bir diğer yöntem ise ilaç taşıma sistemlerini hedefe yönelik olarak tasarlamaktır. İlaç salım sistemleri vücuda uygulandıktan sonra aktif ve pasif olmak üzere iki şekilde vücutta taşınır ve lokalize olurlar (Değim vd., 2011). Pasif taşınan sistemlerde ilaç taşıyıcılar uygulandıktan sonra vücutta dağılır ve vücudun her bölgesinde doku ve organlarda birikmeye başlarlar (Şekil 1.6a).



**Şekil 1.6** İlaç taşıma sistemlerinin hedefleme yöntemleri (Aghebatı-Maleki vd., 2020)

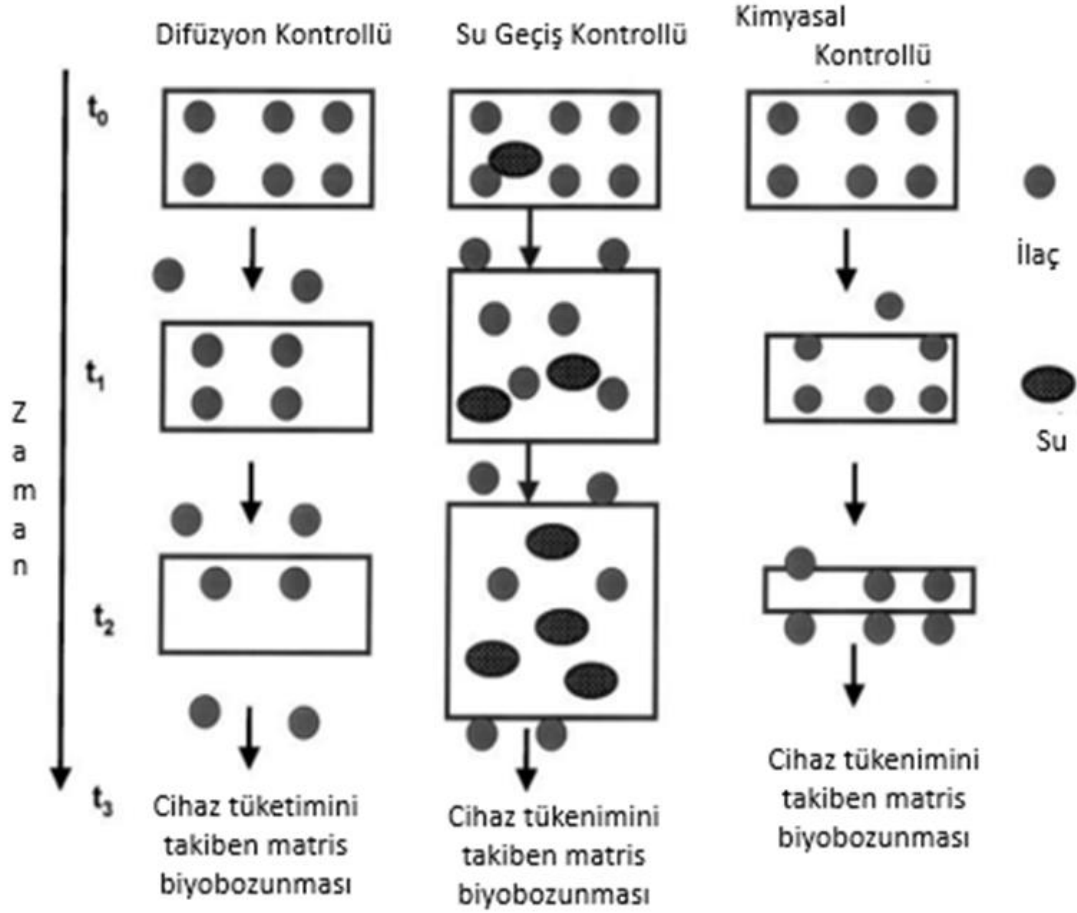
Bu durum fazla ilaç kullanımına neden olurken aynı zamanda sağlıklı hücrelerde olumsuz etkilere neden olmaktadır. Aktif taşıma olarak bilinen hedeflenmiş taşıma sistemleri ise taşıyıcı sistemlerin yüzeylerinde bulunan ve uygulanacak alana özgü reseptörler içermekte olup ilgili bölgede toplanmaktadırlar (Şekil 1.5b). Bu sayede lokal ilaç salımı yapmak ve ilaçların terapötik etkisinin artırılması, sağlıklı hücreler üzerindeki olumsuz etkilerin azaltılması ve kandaki ilaç seviyesinin belirli bir seviyede tutulması mümkün olabilmektedir (Singh vd., 2009). İlaç taşıma sistemlerini üretmek için lipozomlar, miseller, dendrimerler, nanotüpler, nanopartiküller gibi farklı malzemeler kullanılmaktadır (Şekil 1.7).



**Şekil 1.7** İlaç taşıma sistemleri olarak kullanılan bazı malzemeler (Bawa vd., 2016)

İlaç salım mekanizmalarına göre salım sistemlerini difüzyon kontrollü salım sistemleri, kimyasal kontrollü sistemler, su geçiş kontrollü sistemler ve ayarlanabilen sistemler olmak üzere sınıflandırılabilir (Şekil 1.8). Difüzyon kontrollü sistemlerde taşıyıcı sistem ince bir polimerik membran ile çevrilidir ve salım bu membrandan difüzyon ile gerçekleşir (Torchilin, 2000). Kimyasal-kontrollü ilaç salım sistemlerinde kimyasal reaksiyonlar veya enzimler kullanılarak polimere kovalent olarak bağlanmış olan ilaç salımı kontrol edilir (Singh vd., 2009). Su geçiş kontrollü sistemlerde ilaç salımı suyun taşıyıcı sistem içerisine girişi ile kontrol edilmektedir. Bu sistemlerde su sistem içerisine girebilirken etken maddenin taşıyıcı sistemden dışarı çıkışına izin verilmez. Osmoz nedeniyle sistem içerisindeki hacim artışının neden olduğu basınç ilacın dışarı salımına neden olur (Sutradhar vd., 2016). Ayarlanabilir kontrollü salım ise taşıyıcı sistemin dışarıdan uyarılması (manyetik alan, ışık kullanımı gibi) yoluyla (Dash vd., 1998) veya taşıyıcı sistemin farklı

fizyolojik ortamlarda çeşitli substratlara (Gao vd., 2013) veya çevresel faktörlere (pH, sıcaklık gibi) bağlı olarak kontrol edilmektedir (Park, 2014). Bu mekanizmaların birlikte kullanıldığı sistemlerde mümkündür (Önder, 2016; Gao vd., 2013; Park, 2014).



**Şekil 1.8** Difüzyon kontrollü (a), su geçiş kontrollü (b) ve kimyasal kontrollü (c), ilaç salım mekanizmaları (Bajpai vd., 2008; Peppas vd., 1993)

## 1.9 İlaç Taşıma Sistemleri Olarak Polimerik Nanopartiküller Hakkında Genel Bilgi

Boyutları 10-100 nm olan polimerik nanopartiküller ilaç taşıma sistemlerinde etken maddelerin yüklenmesi ve taşınmasında yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Polimerik nanopartiküllerin üretiminde doğal ve sentetik birçok polimer kullanılmaktadır (Tablo 1.1). Bu polimerler kimyasal yapısı, toksik özellikleri ve mekanik özelliklerine göre nanopartiküler ilaç taşıma sistemlerinin üretiminde kullanılmaktadır.

**Tablo 1.1** İlaç Taşıyıcı Sistemlerde Kullanılan Polimerler (Tüylek, 2017)

Polimerler	Polimer Grupları	Numuneler
Doğal ve biyolojik olarak parçalanabilenler	Proteinler	Albumin, Kolajen, Jelatin, Sığır ve İnsan Serum Albuminleri (BSA ve HSA)
	Polisakkaritler	Selüloz, dekstran, kitozan, Kondroitin sülfat, aljinat Nişasta, hiyaluronik asit
	Poliamidler	Poli amino asit, polipeptid
Sentetik ve biyolojik olarak parçalanabilenler	Polyesterler	Poli(laktik asit) Poli(glikolik asit) Poli(laktik-ko-glikolik asit)* Poli(kaprolakton) Poli(dioksanon) Poli(hidroksibütirat)
	Polianhidridler Poliortoesterler Polifosfoesterler	Polifosfat, polifosfonat, polifosfit
Sentetik ve biyolojik olarak parçalanamayanlar	Silikon elastomerler Poli(etilen-ko-vinil asetat) Poliakrilatlar	Poli(metil metakrilat)

Boyutları ayarlanabilen polimerik nanopartiküller küçük kapilerden geçerek hücre içerisine kolaylıkla ulaşabilir ve hedef bölgede etkin maddenin birikmesine olanak sağlar (Acar, 2012). Biyobozunur özelliği ile terapötik etkenlerin kontrollü salımı mümkün olabilmektedir. Ayrıca ilaçların/proteinlerin ya da peptidlerin stabilitesinin artmasını sağlarlar (Sengel-Turk vd., 2009). Sterilizasyon işlemleri kolay olup vücutta parçalandıkları zaman ortaya çıkan yan ürünler toksik değildir (Sun vd., 2005). Etkin madde yükleme kapasitelerini ve vücutta belirli bir bölgede salım yapabilmelerini kontrol etmek mümkün olabilmektedir. Etkin madde polimerik nanopartikülle yüklendikten sonra polimerin yapısında bulunan reaktif gruplar hedeflenen bölgeye özgü reseptör ile modifiye edilebilir (Sengel-Turk vd., 2009). Polimerik nanopartiküllerin yapısı etkin maddenin hedeflenen bölgeye ulaşana kadar etkin maddeyi çevresel faktörlerden korur (Sengel-Turk vd., 2009; Derman vd., 2013). Bu özelliklerinden dolayı polimerik nanopartiküller nanoteknoloji, tıp, (antikanser ilaçlar, antiinflamatuar ilaçlar, antiparaziter ilaçlar, peptid ve proteinler için taşıyıcı sistem, aşı ve tanı maddeleri), veterinerlik (hayvanları parazitlere karşı korumak için içme suyu içinde verilen ve bağırsakta parçalanarak ilacı serbestleştiren nanopartiküller) biyoteknoloji ve diğer alanlarda yoğun olarak tercih edilmektedir (Sengel-Turk vd., 2009; Yapar, 2012; Derman vd., 2013).

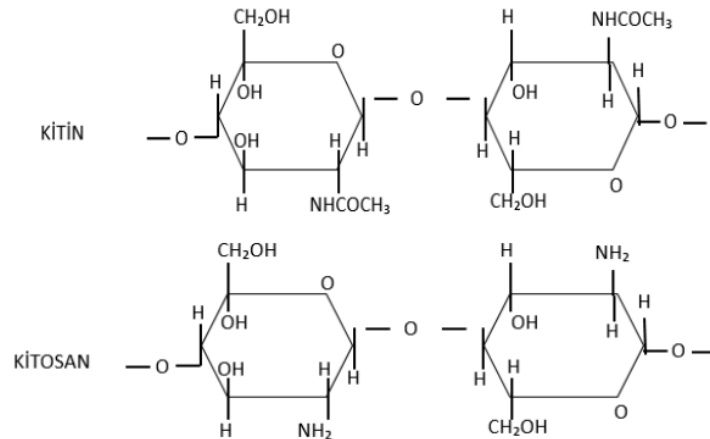
## 1.10 Polimerik İlaç Taşıma Sistemlerinin Üretimi

Nano/mikro boyutta polimer esaslı ilaç taşıyıcı sistemlerin üretiminde kullanılan birçok yöntem mevcuttur. Bu yöntemleri emülsifikasyon-çözücü buharlaştırma yöntemi, salting-out yöntemi, nanoçöktürme yöntemi, diyaliz ve süperkritik sıvı teknolojisi olmak üzere beş ana başlık başlık altında toplamak mümkündür (Derman vd., 2013). Emülsifikasyon-çözücü buharlaştırma yönteminde dikolorometan, kloroform, etil asetat gibi uçucu çözücüler kullanılarak polimer çözeltisi hazırlanır. Daha sonra bu polimer çözeltisi sulu çözeltiye eklenerek emülsiyon oluşturulur. Hazırlanan emülsiyon çözeltisinden çözücü evapore edilince nanopartikül süspansiyonuna dönüşür. Evaporasyon işlemi alçak basınç ya da sabit bir karıştırma işlemi kullanılarak oda sıcaklığında gerçekleştirilir. Bu emülsifikasyon işlemi kendi arasında tekli ve ikili emülsifikasyon olmak üzere iki alt başlığa ayrılır. Tekli emülsifikasyon yönteminde, etken madde ve polimer aynı organik çözücü içerisinde çözdürülür ve çözeltiye yüzey aktif madde eklenerek nanopartiküller üretilir (Konan vd., 2002). İkili emülsifikasyon yönteminde ise etken madde suda, polimer ise su ile karışmayan organik çözücüde çözünür ve iki çözelti karıştırılarak ilk emülsiyon elde edilir. Daha sonrasında bu emülsiyon sulu yüzey aktif madde çözeltisi ile karıştırılarak ikinci emülsiyon elde edilir. Bu işlem daha çok protein ya da peptid gibi hidrofilik moleküllerin olduğu partikül üretimleri için kullanılır. İçerisinde polimer olan organik bir faza, etkin maddenin sulu çözeltisi eklenir, evaporasyon yöntemi ile çözücü çözeltiden uzaklaştırılır. Geriye kalan etkin maddeli nanopartikül sulu çözeltisi nanopartikülleri toplamak için sırasıyla santrifüjlenir, yıkanır ve liyofilizatörde dondurularak kurutulur (Nazir vd., 2010; Wei vd., 2009). Salting-out yönteminde aseton gibi bir çözücüde polimer ve etkin madde çözdürülür ve koloidal stabilizatörlerin sulu jel çözeltisinde emülsifiye edilirler (Muthu, 2009; Allémann vd., 1993). Bu stabilizatöre, magnezyum klorür ya da kalsiyum klorür gibi elektrolitleri içeren (salting-out ajanı) polivinilpiroldon örnek olarak verilebilir. Seyreltikten sonra difüze edilerek, nanopartiküller elde edilir. Başka bir yöntem olan nanoçöktürme yöntemi 'çözücü yer değiştirme yöntemi' olarak da bilinir. Prensibi, polimer ara yüzey çökme işleminin gerçekleştirilmesidir (Muthu vd., 2009; Thioune vd., 1997). Bu yöntemde lipofilik çözeltideki suyla karışabilen yarı polar çözücünün yer değişimi sonucu çökme gerçekleşir. Çözücü olarak aseton kullanılır ve polimer ile etkin madde aseton içerisine eklenerek çözündürülür. Daha sonra ortama distile

su ilave edilir, karıştırılır ve aseton vakum ile ortamdan alınır. Diyaliz yöntemi küçük nanopartiküllerin üretiminde oldukça kullanışlı olan yöntemdir (Rao vd., 2011; Fessi vd., 1989; Jeong vd., 2001; Jeon vd., 2000). Polimer organik çözücünde çözdürülür ve çözelti uygun diyaliz tüpüne yerleştirilir. Polimerin kademeli agregasyonu sonucu eşit bir şekilde homojenize olmuş nanopartikül süspansiyonu oluşur. Süperkritik sıvı teknolojisinde çöktürülen ürün çözücü içermez ve basınç değişikliği faz değiştirmine neden olmaz. En önemli ve yaygın kullanılan süperkritik sıvı, süperkritik karbondioksittir. Bu sıvı yanmaz, pahalı değildir ve toksik madde içermez. Yaygın olarak kullanılan başka bir süperkritik sıvı ise sudur (Mohanraj, 2006). Süperkritik çözeltinin hızlı genişmesi (RESS) ve süperkritik anti çözücü yöntemi (SAS) en çok kullanılan yöntemlerindedir. RESS'te yüksek basınç ile; SAS'ta organik çözücünde (örneğin, metanol) çözdürüldükten sonra süperkritik sıvı ile temasta bırakılır. Sonrasında filtre işlemi gerçekleştirilir. (Sun vd., 2005)

## 1.11 Kitosan ve Uygulamaları

Kitosan kabuklu deniz canlılarının yapısında bol miktarda bulunan doğal bir polimerdir. Temel yapısı poli-[ $\beta$ -(1,4)-2-amino-2-deoksi- $\beta$ -D-glukopiranoz] şeklindedir (Şekil 1.9) ve kitinden elde edilmektedir. Kitinden kitosan elde edilmesi genel olarak deproteinizasyon, demineralizasyon, dekolorizasyon ve deasetilizasyon olmak üzere dört aşamadan oluşmaktadır (Marangoz vd., 2020).



Şekil 1.9 Kitin ve kitosaanın kimyasal yapısı (Kurtuluş vd., 2020)

Kitosan toksik olmaması, biyoyumluluğu, biyolojik bozunabilirliği, düşük allerjenite ve muko-yapışması nedeniyle tıbbi uygulamalar alanında önemli bir role

sahiptir. (Di Martino vd., 2005; Khor vd., 2003; Şenel vd., 2004). Özellikle yüksek biyouyumluğu ve biyolojik olarak parçalanabilirliği tıbbi uygulamalar için önemli fırsatlar sağlamaktadır. Örneğin kitosan doku mühendisliği uygulamalarında yapı iskelesi tasarımında ve hücrelerin yüklenmesinde yoğun bir şekilde tercih edilmektedir. Bunun başlıca nedeni kitosanın yüksek su hapsetme kapasitesinin olması, porlu yapısı, yapı iskelenin mekanik özelliklerinin ayarlanmasına olanak sağlaması ve biyo yıkılabilir olmasıdır (Dutta vd., 2002; Malerba vd., 2019). Yara örtü malzemeleri kitosanın yoğun bir şekilde kullanıldığı diğer bir uygulama alanıdır. Yüksek oksijen geçirgenliği, biyo yıkılabilir olması ve yüksek su hapsetme kapasitesi kitosanın bu uygulama için sahip olduğu en önemli özelliklerinden bazılarıdır (Agboh vd., 1997; Karahan vd., 2009). İlaç taşıma sistemleri kitosanın yaygın bir şekilde kullanıldığı bir diğer uygulama alanıdır. Biyolojik olarak biyo yıkılabilir olması, sıvı ortamında şişme ve porlu yapısı ilaç taşıma sistemleri için önemli avantajlardır (Dash vd., 1998). Memeli vücudunda kolondaki lizozim ve bakteriyel enzimler, metabolik aktivitelerde kitosanı parçalayabilir (Dias vd., 2013). Kitosanın yapısında bulunan  $-NH_2$  özellikle akıllı ilaç salım sistemleri ve hedeflenmiş ilaç taşıma sistemlerinin tasarımında oldukça önemlidir.  $-NH_2$  grubu asidik ortamda protonlanarak pozitif yüklenir ve ilaç taşıyıcı sistemin salım kinetiği kontrol edilebilir. Bu durum akıllı ilaç taşıma ve salım sistemleri açısından oldukça önemlidir.  $-NH_2$  grupları ayrıca aktif taşıma sistemlerinde kullanılan hedefe özgü ligandların tutuklanması içinde kullanılmaktadır (Muzzarelli, 1992). Bunun yanında implant yüzeylerinden lokal ilaç salımı yapmak üzere ilaç taşıyıcı sistemler yine  $-NH_2$  gruplarından implant yüzeylerine tutuklanabilir (Szymańska vd., 2015). İmplant yüzeylerinden yapılacak salım ile implant doku ara kesitinde hücrelerin davranışını hem salımı yapılan molekül ile hem de implant yüzeyinde oluşturulacak desenler ile kontrol edebilmek mümkündür (Roberts, 1992).

## 1.12 Tezin Amacı

Önerilen tez kapsamında i) Ti esaslı malzemelerin kaplamasında kullanılacak farklı boyutlarda kitosan esaslı polimerik nano/mikro partiküllerin üretilmesi ve karakterizasyonlarının yapılması, ii) nano/mikropartiküllerin ilaç salım sistemi olarak kullanılma potansiyellerinin belirlenmesi, iii) farklı büyüklükteki nano/mikropartiküllerin neden olduğu yüzey pürüzlülüğünün tespit edilmesi ve iv)

yüzey pürüzlüğünün hücreler üzerindeki etkisinin ortaya konulması amaçlanmaktadır.

### **1.13 Hipotez**

Kitosan esaslı nano/mikropartiküller kullanılarak Ti yüzeylerden lokal salım yapabilecek kaplamalar geliştirilebilir. Biyomoleküllerin yüzeylerden lokal salımı ile Ti yüzeylerde hücrelerin davranışlarının kontrol edilmesi, dolayısıyla bu malzemelerin başarısının kontrol edilmesi mümkündür. Fakat bu başarıda sadece salımı yapılacak biyomoleküllerin değil aynı zamanda biyomoleküllerin tutuklandığı nano/mikropartiküllerin boyutlarının da etkili olabileceği düşünülmektedir. Farklı nano/mikro partikül boyutları farklı yüzey pürüzlülüklerine neden olacaktır ve yüzey pürüzlülüğü implant doku ara kesitinde hücresel davranışları etkileyen en önemli unsurlardan birisidir. Bu nedenle Ti yüzeylerin farklı boyutlardaki kitosan nano/mikropartiküller ile kaplanarak yüzey pürüzlülüklerinin değiştirilmesi ve oluşturulan farklı yüzey pürüzlülüklerinin fibroblast hücreleri üzerindeki etkilerinin incelenmesi istenmektedir.

## 2.1 Materyal

Tez kapsamında kullanılan kimyasallara ait bilgiler EK A'da, cihazlara ait özellikler ise EK B'de verilmiştir.

## 2.2 Metod

Çalışma kapsamında Ti yüzeylerin kaplanması ve yüzey pürüzlülüğünün değiştirilmesi amacıyla farklı boyutlarda polimerik nanopartiküller ve mikro partiküller hazırlanmış olup ilgili deneylerin adımları aşağıda verildi.

## 2.3 Kitosan Çözeltisinin Hazırlanması

İlk olarak 99 ml su içerisinde %100'lük asetik asitten 1 ml alınıp çözdürülerek %1'lik asetik asit çözeltisi hazırlandı (100 ml) ve içerisinde 3 mg kitosan eklendi. Kitosanın çözülmesi için karışım 1 gün boyunca 50°C derece ve 700 rpm hızda mekanik karıştırıcı ile karıştırıldı. 3 mg kitosan tartımı alınarak, %1'lik asetik asit çözeltisinde çözdürüldü, hazırlanan bu %3'lük kitosan çözeltisinden daha sonra nanopartikül üretiminde kullanılmak üzere 4 mg/ml derişimde kitosan çözeltisi hazırlandı. Nanopartikül üretimine başlanmadan önce bu çözelti 0,45 mikrometre filtreden geçirilerek kalıntılardan arındırıldı ve 1 N NaOH kullanımı ile pH'ı 4,8 olarak ayarlandı.

## 2.4 Nanopartikül Sentezi ve Karakterizasyonu

Nanopartiküllerin hazırlanmasında sodyum tripolifosfat (TPP) çapraz bağlayıcı olarak tercih edildi. Bu amaçla farklı derişimlerde (4mg/ml ve 2 mg/ml) TPP çözeltileri hazırlandı ve 0,20 mikrometre filtreden geçirildi. Daha sonra ultrasonikasyon ile nanopartikül üretim aşamasına geçildi. 2 farklı boyutta nanopartikül elde edilmesi için farklı derişimlerde TPP kullanımının yanında farklı

sonikatör güç değerleri de kullanıldı. İlk olarak 20 ml'lik kitosan çözeltisi 2 mg/ml'lik 4 ml TPP (5:1 oranı) ile sonikatörde 10 saniye boyunca 10 Watt değerinde muamele edildi. Daha sonrasında farklı boyuta sahip nanopartikül elde edebilmek amacıyla 20 ml'lik kitosan çözeltisi 4 mg/ml'lik 4 ml TPP (5:1 oranı) ile sonikatörde 5 dk boyunca 80 Watt değerinde muamele edildi. Son olarak çözeltiler santrifüj edilerek partiküllerin çökmesi sağlandı. Partiküller toplandıktan sonra liyofilizatörde kurutuldu.

Üretilen nanopartiküllerin karakterizasyonu için Zeta sizer cihazı kullanıldı ve üretilen partiküllerin boyut ve zeta potansiyel değerleri ölçüldü, FTIR analizi ile partiküllerin yüzeylerinde bulunan fonksiyonel gruplar tespit edildi.

## **2.5 Mikropartikül Sentezi ve Karakterizasyonu**

Kitosan mikropartiküllerin üretimi emülsifikasyon yöntemi ile gerçekleştirildi. Öncelikle 0.1 gr kitosan 5 ml asetik asit (%1) içerisinde manyetik karıştırıcıda çözdürüldü ve % 2'lik kitosan çözeltisi hazırlandı. 50 ml mineral yağ ile 1 ml Span 80 mekanik karıştırıcıda 10 dk karıştırıldı (500rpm) daha sonra çözünen kitosan enjektör yardımıyla karışmakta olan yağ fazının içine damla damla eklendi. 30 dk sonra çapraz bağlayıcı olarak %25'lik Gluteraldehit solüsyonu (400 µl) mekanik karıştırıcıda karışmakta olan yağ fazına eklendi. Kitosan kürelerin oluşması için 1 saat karıştırma işlemine devam edildi. Sonrasında karışım 60°C'ye ayarlanan su banyosunda 1,5 saat inkübe edilerek karışımdaki çözücünün ortamdan uzaklaştırılması ve kürelerin çökmesi sağlandı. Kürelerden yağın uzaklaştırılması için küreler hekzan ile 3 defa yıkanarak 4000 rpm'de 5 dk santrifüj edildi ve çeker ocak altında kurumaya bırakıldı. Farklı boyutta mikro küre üretimi için karıştırıcı hızı 1000 rpm olarak ayarlandı ve bütün işlemler tekrarlandı.

Üretilen mikropartiküllerin boyutlarının tayini için ışık mikroskopu ve taramalı elektron mikroskopu kullanıldı ve FTIR analizleri yapıldı.

## **2.6 Nanopartiküllere İlaç Yükleme Çalışmaları**

İlaç yükleme ve salım çalışmalarında model ilaç olarak bir antibiyotik (siprofloksasin) tercih edilmiştir. siprofloksasin iki farklı konsantrasyonda (ilaç:çözelti, 2:24 ve 8 :24 mg:ml) hazırlandı ve üretilen farklı boyutlardaki

nanopartiküllerin salım profillerinin elde edilmesinde kullanıldı. Nanopartiküllere ilaç yükleme işlemi için siprofloksasin nanopartikül üretiminde kullanılacak polimer çözeltisi içerisine eklendi. Üretilen nanopartiküllerin ilaç yükleme verimliliklerinin hesaplanması için nanopartiküllerin çöktürülmesi sonrasında elde edilen süpernatant kısmından örnek toplandı ve sonrasında nanopartiküllere yüklenen ilaç miktarı aşağıdaki formül ile hesaplandı.

$$\text{yükleme verimliliği (\%)} = \frac{\text{toplam katı partikül içerisindeki ilaç miktarı (mg)}}{\text{toplam katı partikül miktarı (mg)}} \times 100$$

(1)

Serbest ilaç miktarının belirlenebilmesi ve salımı yapılan ilaç miktarının tespitinde UV-Vis spektrofotometre kullanıldı. Bu amaçla öncelikle siprofloksasin için 275 nm’de farklı konsantrasyonda hazırlanan ilaç çözeltilerinin absorbansları ölçülerek kalibrasyon eğrileri hazırlandı ve ilaç yükleme çalışmalarında ölçülen absorbans değerleri ilaç miktarına çevrildi.

## 2.7 Mikropartiküllere İlaç Yükleme Çalışmaları

Mikropartiküllere ilaç yükleme işlemi mikro partiküller üretildikten sonra literatüre benzer şekilde (Doymuş, 2020) difüzyon yöntemi ile yapıldı. Bu amaçla 500 µl/mg olacak siprofloksasin 1 ml asetik asit içerisinde çözdürüldü, 50 mg’lık mikropartikül bu çözeltiliye eklendi ve ilaç yükleme işlemi için çözelti 24 saat inkübasyona bırakıldı (37 C ve 200 rpm). Nanopartiküllere benzer şekilde mikro partiküller de ilaç ile muamele edildikten sonra santrifüjlendi, süpernatant kısmından örnek toplandı ve ilaç yükleme verimlilikleri denklem (1) ile hesaplandı.

## 2.8 İlaç Salım Çalışmaları

İlaç yüklü nano/mikro partiküllerin salım çalışmaları PBS (0.01 M) tampon çözeltisi içerisinde gerçekleştirildi. Hazırlanmış olan ilaç yüklü partiküller ayrı ayrı mikro santrifüj tüp içerisine yerleştirildi, üzerine hazırlanan PBS tampon çözeltisinden 800 µl eklendi ve 37°C çalkalayıcıda (100 rpm) salım çalışmaları başlatıldı. Salınan ilaç miktarını tespit etmek için tüplerden farklı zamanlarda numuneler alındı ve tüplere alınan hacim kadar PBS eklendi. Toplanan örneklerdeki ilaç miktarı 275 nm’de yapılan spektrofotometre ölçümleri ve hazırlanmış olan kalibrasyon eğrisi ile tespit edildi.

## **2.9 Nanopartiküllerin ve Mikropartiküllerin Ti Yüzeyle Tutuklanması**

Çalışma kapsamında 1 cm x 1,5 mm x 1,5 cm ebatlarında Ti plakalar (grade II) kullanıldı. İlk olarak, HF, HNO<sub>3</sub> ve dH<sub>2</sub>O (sırasıyla %20, %45, %35 v/v)'dan oluşan bir karışım kullanılarak yüzeylerde 5 sn boyunca kimyasal temizlik işlemi yapıldı. Yüzeysel temizlik sonrası örnekler 5 M NaOH ile 60°C'de 24 saat muamele edildi ve dH<sub>2</sub>O ile yıkandı. Daha sonrasında örnekler 60°C 24 saat kurutuldu ve yüzeyleri aktifleştirmek için 25°C'de 24 saat boyunca APTES (%5) ile muamele edildi. Aktifleme işlemi sonrasında örnekler sırasıyla toluen, etanol (%70 v/v) ve distile su ile 15'er dakika süreyle yıkandı ve deneylerde kullanılmak üzere hava ile kurutuldu.

Titanyum yüzeylerin kitosan mikropartiküllerle kaplanması için ilk olarak önceden hazırlanmış olan Ti örnekler oda sıcaklığında 1 saat %8 (v/v) glutaraldehit solüsyonuna daldırıldı ve distile su ile yıkanarak kurutuldu. Sonra 0.1 M asetik asit kullanılarak (%2 w/v) lik kitosan solüsyonu hazırlandı. Önceden hazırlanmış olan kitosan mikropartiküller (3.3 mg) kitosan solüsyonunun içerisine eklenerek karıştırıldı. Ti örneklerin kaplanması için her bir yüzeye 33 µl bu solüsyondan eklendi ve yüzeyler 30 dakika oda sıcaklığında kurumaya bırakıldı. Son olarak kaplanmış Ti örnekler -20 °C'de 30 dakika bekletildi ve gece boyunca liyofilizatörde kurutuldu.

## **2.10 Nano (NP)/mikropartikül (MP) Kaplanmış Yüzeylerin Karakterizasyonu**

Kaplanmış Ti örneklerin karakterizasyonu için taramalı elektron mikroskopu (SEM) ve mekanik profilometre kullanıldı. Kaplanmış Ti örneklerin yüzeylerinde bulunan nano ve mikro partiküllerin görüntülenmesi amacıyla SEM analizleri yapıldı. Bu analizlerden önce örnekler ince bir Au tabakası ile kaplandı. Kaplama işlemi sonrasında farklı geometri ve büyüklükteki partiküllerin oluşturduğu yüzey pürüzlülüğü ise mekanik profilometre ile belirlendi.

## **2.11 Hücre Kültürü Çalışmaları**

Kaplanmış yüzeylerin sitotoksiteleri ve yüzey pürüzlülüğünün hücre yapışması üzerine etkisinin tespit edilebilmesi için farklı boyutlardaki mikropartiküller ile

kaplanmış Ti yüzeylerde fibroblast hücreleri ile MTT ve hücre yapışma çalışmaları yapıldı.

## 2.12 MTT Deneyleri

Hücre çalışmasında kullanılan örneklerin gruplandırılması Tablo 2.1’ de verildi.

**Tablo 2.1** Hücre kültüründe kullanılan numunelere ait bilgiler

Grup	İsim	Sayı
1	Kaplanmamış Ti yüzeyler	6
2	1500 rpm ile üretilen MP ile kaplı Ti yüzeyler	6
3	500 rpm ile üretilen MP ile kaplı Ti yüzeyler	6

Hücre çalışmalarından önce numunelerin sterilizasyon işlemi şu şekilde yapıldı:

1. %70 alkolde yarım saat bekleme,
2. Gece boyunca çeker ocakta kurutma,
3. UV ile arkalı önlü sterilizasyon,
4. 1 X PBS ile 2 kez yıkama.

Sterilizasyon işlemi sonrasında indirekt yöntemi ile hücre canlılığının tespiti için hazırlıklar yapıldı. Bu amaçla öncelikle 1.25 mm<sup>2</sup>/mL numune besiyeri içine alındı (2 numune + 2 mL besiyeri) (Łada-Tondyra vd., 2021; Park vd., 2019). Daha sonra örnekler 130 rpm’de 37°C’ye ayarlanmış çalkalamalı su banyosuna alındı. 72 saat sonra da numunelerin içinde bulunduğu besiyeri (ekstrakt) alındı ve hücrelere uygulanmak üzere 4°C’de bekletildi.

Hücre çalışmalarında L929 fibroblast hücreleri kullanıldı. Öncelikle fibroblastlar %1 penisilin-streptomisin antibiyotiği ve %10 FBS içeren DMEM/F12 besiyerinde çoğaltıldı ve %95 nem, %5 CO<sub>2</sub> ve 37°C’ye ayarlanmış inkübatör koşullarında kültüre edildi. Daha sonra hücreler numune üzerine ekilerek MTT yöntemi ile (Zhao vd., 2018) hücre canlılığı analizleri yapıldı. Bu analiz için için 96 kuyulu plakaların her kuyusuna 1\*10<sup>5</sup> hücre/mL besiyeri olacak şekilde hücre ekimi gerçekleştirildi.

Plakalar 24 saat inkübasyon koşullarında bekletildi. Daha sonra kuyulardaki besiyeri numunelerin ekstraktları ile değiştirilirken, kontrol grubu taze besiyeri ile değiştirildi. Numunelerin uygulandığı plakalar, 24 ve 72 saat için inkübe edildi. Bu sürelerden sonra her kuyuya 10 µL MTT solüsyonu eklendi ve 4 saat boyunca inkübe edildi. Bu süreçte tetrazolyum tuzları canlı hücreler tarafından formazan kristallerine dönüştürülür. Oluşan formazan kristallerini çözdürmek için her kuyuya 100 µL DMSO eklendi ve 30 dakika boyunca karanlık ortamda bekletildi. Daha sonra kuyulardaki optik yoğunluk 570 nm'ye ayarlanmış mikropilaya okuyucuda okundu ve aşağıdaki eşitlik kullanılarak hücre canlılığı (%) hesaplandı. Her grup için üç tekrarlı çalışıldı ve ±SD hesaplandı.

$$\text{Hücre canlılığı (\%)} = (\text{OD}_{\text{örnek}}) / (\text{OD}_{\text{kontrol}}) \times 100\%$$

(2)

### **2.13 Hücre Yapışması Deneyleri**

Hücrelerin (L929) numune yüzeylerine adezyonunu incelemek üzere yüzeylerine 20.000 sayıda hücre ekimi gerçekleştirildi ve numuneler 72 saat boyunca inkübasyona bırakıldı. Bu süre sonunda numuneler PBS ile yıkandı ve ardından metanol ile fiksasyon işlemi gerçekleştirildi (Litchfield vd., 2021). Fikse olan hücreler DAPI boyası ile muamele edildi ve 20 dakika boyunca karanlık ortamda inkübe edildiler. Daha sonra boya ortamdaki hücreler aspire edilerek hücreler PBS ile yıkandı ve boyanmış hücreler floresan mikroskopta 20X büyütmede görüntülendi. Elde edilen görsel veriler üzerinden numunelerin hücre adezyonuna etkileri karşılaştırıldı.

### 3.1 Nanopartiküllerin Zeta Sizer ile Analizi

Üretilen nanopartiküllerin zeta sizer analizinden elde edilen boyut, zeta potansiyel ve PDI değerleri Tablo 3.1’ de verilmiştir.

**Tablo 3.1** Kitosan Nanoparçacığının Zeta Sizer Cihazında Ölçülen Boyut, Zeta ve PDI Değerleri

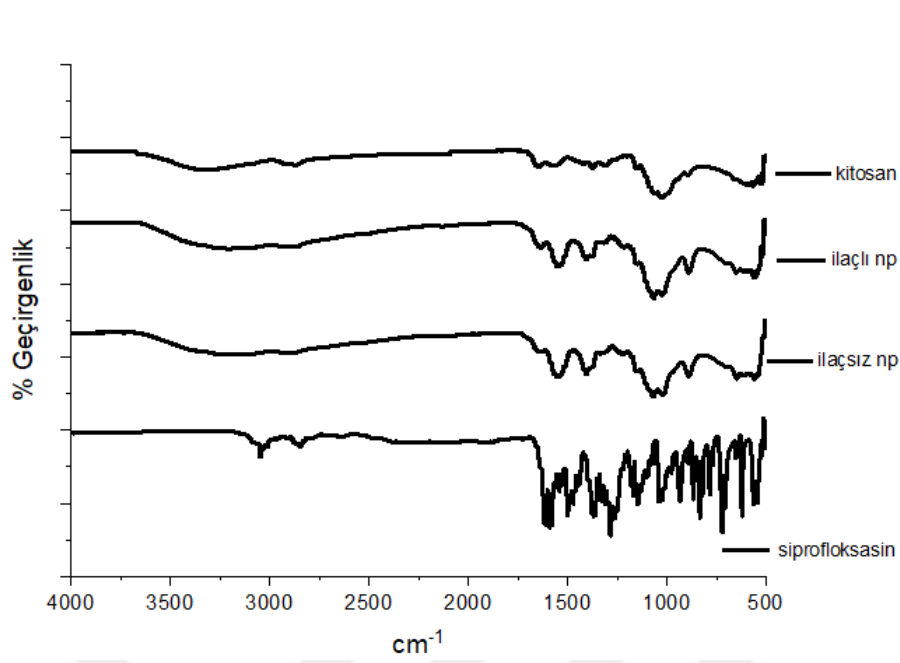
Üretim Yöntemi	Ortalama Boyut (nm)			Zeta Değeri (mV)			PDI (%)		
	ilaçsız	ilaçlı (mg)		ilaçsız	ilaçlı (mg)		ilaçsız	ilaçlı (mg)	
		2	8		2	8		2	8
<ul style="list-style-type: none"> <li>Kitosan</li> <li>TPP (4 mg/ml)</li> <li>Sonikasyon (80 W , 5 dk)</li> <li>İlaç (2 ve 8 mg)</li> </ul>	144±10	183±11	157±6	22±2	32±1	21±1	0,364	0,365	0,298
<ul style="list-style-type: none"> <li>Kitosan</li> <li>TPP (2 mg/ml)</li> <li>Sonikasyon (10 W , 10 sn)</li> <li>İlaç (2 ve 8 mg)</li> </ul>	430,9±128,2	406,8±58,3	381,7±23,2	29,6±2,2	30,5±2,8	32,6±1,0	0,556±0,005	0,693±0,218	0,706±0,097

Bu sonuçlara göre farklı miktarda çapraz bağlayıcı, sonikasyon süresi ve sonikasyon sürecinde kullanılan prob gücünün oluşan nanopartiküllerin boyutlarını etkilediği görüldü. Daha fazla TPP kullanımı, sonikasyon süresinin uzatılması ve daha fazla güç kullanımı daha küçük boyutlarda (144 nm) nanopartikül üretilmesine neden oldu. Daha yüksek güç ve süre, sentez sırasında ortama eklenen kitosan polimerin fonksiyonel gruplarıyla daha çok etkileşimde olmasını sağlayarak, daha fazla çapraz bağlayıcı (TPP) kullanımı ile daha fazla  $-NH_2$  grubu ile bağ kurarak oluşan partiküllerin boyutlarında azalmaya neden oldu. Güç, süre ve çapraz bağlayıcıdaki azalma oluşan partiküllerin boyutunda artışa neden oldu. Bu sonuçlar literatürdeki bilgileri destekledi (Bhumkar vd., 2006). Üretilen nanopartiküllere ilaç yüklenmesi

de boyut değişikliğine neden oldu. İlaç yükleme işlemi sonrasında meydana gelen boyut değişikliklerinin ilacın yükünün ve ilacın nanopartiküllerin yüzeylerine tutunmasından kaynaklanabileceği değerlendirildi. Literatürdeki bilgilere göre siprofloksasinin pH 7.4'te zeta potansiyeli negatiftir (Mahdavinia vd., 2019) ve dolayısıyla partikülün içerisindeki  $-NH_2$  grupları ile etkileşerek boyutu küçültebilir ya da yüzeydeki  $-NH_2$  ile etkileşerek boyutu büyütebilir. Üretilen kitosan partikülleri kitosan polimerinin yapısında bulunan  $-NH_2$  gruplarından dolayı pozitif zeta potansiyeline neden oldu. Nanopartiküllerin PDI değerleri göre de partiküllerin monodisperse yakın oldukları değerlendirildi. Bu sonuçlar farklı büyüklüklere sahip kitosan nanopartiküllerin başarılı bir şekilde üretildiğini gösterdi ve çalışmalara bu partiküller ile devam edildi.

### **3.2 Kitosan Nanopartiküllerin FTIR Analizi**

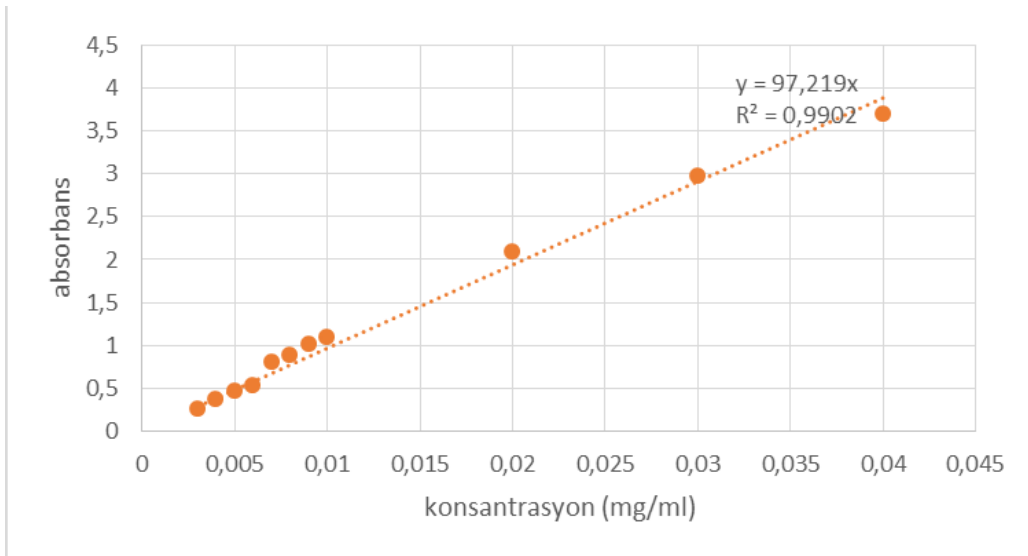
Kitosan, ilaç içermeyen ve ilaç yüklü nanoparçacıklara ve siprofloksasine ait FTIR grafikleri Şekil 3.1'te verildi. FTIR spektrumları incelendiğinde kitosan polimeri, TPP çapraz bağlı kitosan ve ilaç yüklü kitosan nanopartikül FTIR grafikleri arasında farklılık olmadığı ve grafiklerin benzer olduğu tespit edildi. Literatür çalışmaları incelendiğinde Singh ve diğerlerinin (2018) benzer şekilde TPP çapraz bağlayıcı ile kitosan polimerinden nanopartikül ürettiği, siprofloksasini nanopartikül üretmeden önce polimer içerisine eklediği görüldü (Singh vd., 2018). İlgili çalışmada da ilaç yüklenmiş ve yüklenmemiş nanopartiküllerin FTIR grafiklerinde bir farklılık tespit edilemediği belirtilmiştir. Bu durum ilacın herhangi bir fonksiyonel grup etkileşimine sahip olmadan nanoparçacık çekirdeğinde hapsolması ile açıklanmıştır. Benzer durumun bizim çalışmamızda da olduğu değerlendirilmiş olup, ilgili çalışmanın FTIR sonuçları ile bizim çalışmamızın FTIR sonuçları benzerdir. Dolayısıyla FTIR analizi ilacın nanopartiküllere başarılı bir şekilde yüklenmesi hususunda bilgi vermiştir.



Şekil 3.1 144 nm boş ve siprofloksasin ilaç yüklü nanopartiküllere ait FTIR grafiği

### 3.3 Kitosan Nanopartiküllerin İlaç Salım Profilleri

İlaç yüklü nanoparçacıkların farklı konsantrasyonlarda ilaç çözeltilerinin 275 nm’de absorbanlarının okunmasıyla elde edilen kalibrasyon eğrisi Şekil 3.2’de verildi.



Şekil 3.2 siprofloksasin İlacının Kalibrasyon Eğrisi

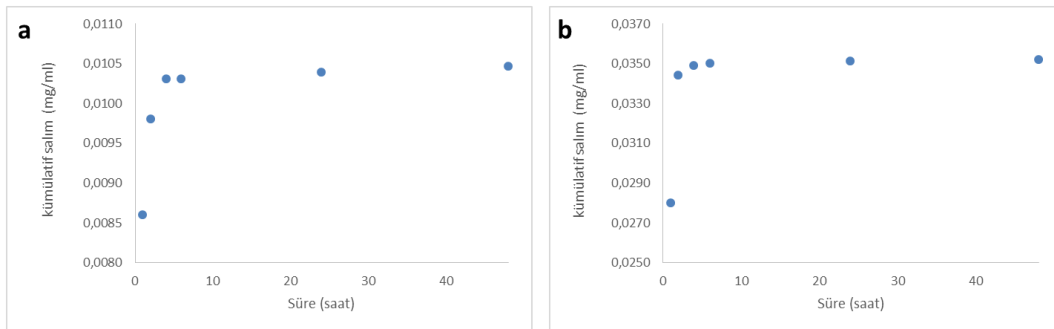
Kalibrasyon eğrisi çizildikten sonra ilaç yüklü nanoparçacıkların çöktürülmesinden sonra örneklerin üst fazıdan alınan örnekler analiz edilerek nanoparçacıkların ilaç yükleme verimlilikleri hesaplandı ve Tablo 3.2’ de gösterildi. Bu sonuçlara göre ilaç

miktarındaki artış aynı boyuttaki nanopartiküller için yükleme verimliliğinde farklılığa neden olmazken, yüksek boyuttaki nanopartiküllerin yükleme verimliliğinde artışa neden oldu. Bu durumun nedeni ilaç yükleme rezervuarlarının daha fazla olması, parçacığı oluşturmak için gerekli polimer miktarının daha fazla olması nedeniyle ilacın bir çapraz bağlayıcı gibi davranarak partikül yapısına daha fazla katılması ile açıklanabilir. Özellikle asidik ortamda pozitif yüklü kitosan ile negatif yüklü siprofloksasinin elektrostatik bağlar ile birbirine bağlanması yükleme verimliliğinde ciddi artışa neden olabilir.

**Tablo 3.2** Kitosan nanopartiküllere ait yükleme verimlilikleri

	Çözeltiye (24 ml) eklenen ilaç miktarı (mg)	Yükleme verimi (%)
144 nm boyutundaki nanopartiküller	2	52
	8	54
430 nm boyutundaki nanopartiküller	2	89
	8	89

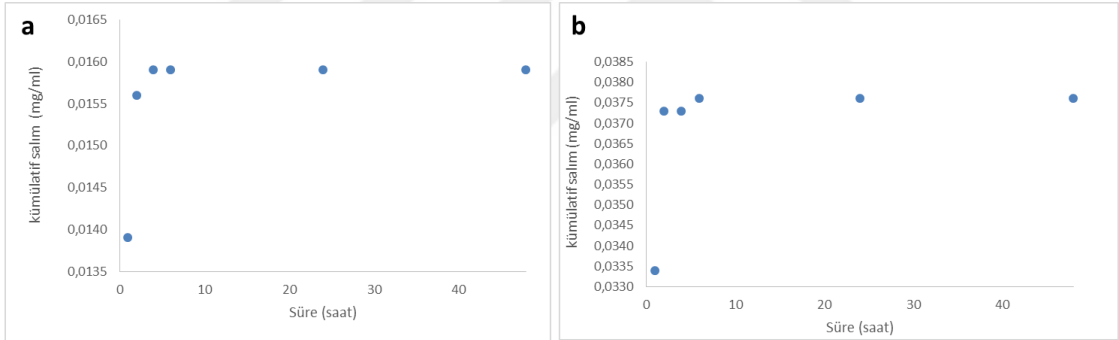
Ortalama 144 nm boyutlara sahip nanopartiküllere ait 48 saatlik salım profillerini gösteren grafikler Şekil 3.3'te verildi. Bu sonuçlara göre salım işleminin başlamasından sonra ilk 4 saat civarında salım hızının hızlı olduğu sonrasında ise ilaç salımının yavaşladığı görüldü.



**Şekil 3.3** 144 nm boyutlarındaki nanopartiküllere ait a) 2 mg b) 8 mg siprofloksasin salım profilleri

İlk 4 saatten sonra ilaç salımında bir değişiklik tespit edilmedi. Bunun başlıca nedenlerinin ilaç ve nanopartikül arasında bağlanmanın kuvvetli olması, partikül

yüzey alanının küçük olması olarak değerlendirildi. Salım profillerinde ayrıca yüklenen ilaç miktarının artması ile salımı yapılan ilaç miktarının arttığı görüldü. Bu fark patlama salımının gerçekleştiği ilk 4 saatte 3 kat daha fazladır (Şekil 3.3b). Benzer sonuçlar yüksek boyutlu nanopartiküllerden (430 nm) elde edilen ilaç salım profillerinde de elde edildi (Şekil 3.4). Farklı boyutlara sahip farklı miktarda ilaçla yükleme işlemine maruz bırakılan nanopartiküllere ait ilaç profillerinde de farklılık tespit edilmedi. Örneğin, ortalama 144 nm boyutlarına sahip nanopartiküller ilk 4 saatte yaklaşık 0.035 mg/ml ilaç salımı gerçekleştirirken daha fazla ilaç ile yüklenmiş olan ortalama 430 nm boyutlara sahip nanopartiküllerden ilk 4 saatte yaklaşık olarak 0.0375 mg/ml ilaç salımı gerçekleşti. Bu durum ilaç ve partikül arasındaki kuvvetli bağlanmadan dolayı salım hızında meydana gelen yavaşlamadan kaynaklanabilir. Daha uzun salım sürelerinde hızlanmanın artması muhtemeldir. Siprofloksasin bu çalışmada sadece model ilaç olarak seçilmiş olup farklı moleküllerin seçilmesi durumunda (farklı yük, reaktif grup grubu sahip moleküller) çok daha hızlı ve uzun süreli molekül salımının ilgili nanopartiküllerden gerçekleşebileceği değerlendirildi.



**Şekil 3.4** 430 nm boyutlarındaki nanopartiküllere ait a) 2 mg b) 8 mg siprofloksasin salım profilleri

Nanopartiküllerden ilaç salım sonuçları farklı boyutlardaki nanopartiküllerden salım yapılabileceğini ve Ti yüzeylerinden lokal salım yapabilecek kaplamaların üretilmesinde kullanılabileceğini gösterdi.

### **3.4 Kitosan Nanopartikül Kaplı Ti Yüzeylerin Yüzey Pürüzlülük Analizi**

İlaçsız nanopartikülle kaplanmış Ti yüzeylerin mekanik profilometre ile yapılan yüzey pürüzlülük testlerinden elde edilen sonuçlar Tablo 3.3'te verildi. Bu sonuçlara

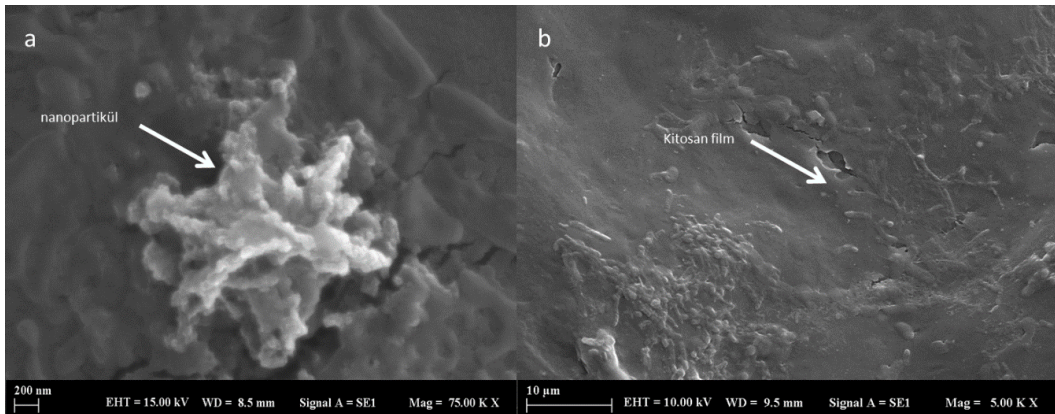
göre kaplanmamış Ti yüzeyler ile kaplanmış Ti yüzeylerin pürüzlülükleri arasında ciddi bir fark söz konusudur. Kaplama işlemi sonrası yüzeylerin pürüzlülükleri artmıştır. Ayrıca 144 nm boyutundaki nanopartikül ile kaplanmış Ti yüzeylerin yüzey pürüzlülüğü 430 nm boyutundaki nanopartikül ile kaplanmış Ti yüzeylere göre daha düşüktür. Nanopartiküllerin boyutlarındaki artış yüzey pürüzlüğünde artışa neden olmuştur.

**Tablo 3.3** Kitosan Nanopartikül Kaplı Ti Yüzeylerin Pürüzlülük Değerleri

	Kaplanmamış Ti	144 nm boyutunda nanopartiküller ile kaplanmış Ti	430 nm boyutunda nanopartiküller ile kaplanmış Ti
<b>Ra (µm)</b>	0,20 ± 0,04	12,74± 0,40	16,94 ± 0,32

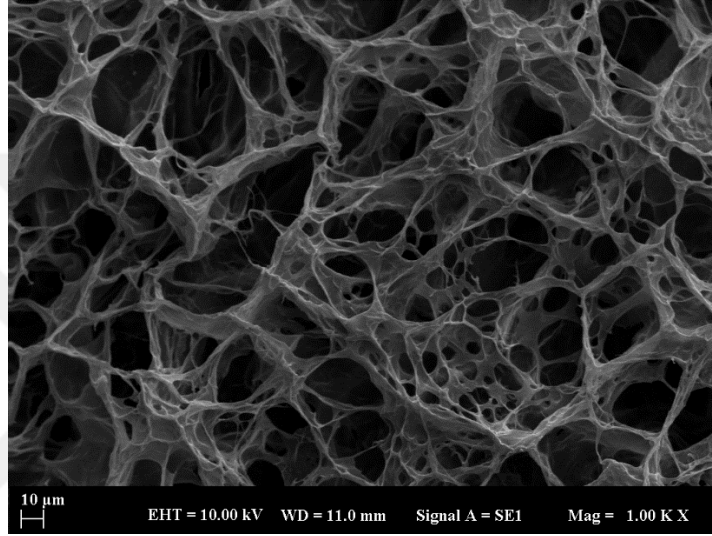
### 3.5 Kitosan Nanopartikül Kaplı Ti Yüzeylerin SEM Analizi

Farklı büyüklükteki nanopartiküller ile kaplanmış Ti yüzeylerin SEM görüntüleri Şekil 3.5 ve Şekil 3.6 'da verildi. 144 nm büyüklüğündeki partiküllerin kullanımı ile elde edilen yüzey kaplamasına ait analiz görüntüleri incelendiğinde partiküllerin birbirlerine yapıştığı (Şekil 3.5a) ve ince bir filmin altında kaldıkları görüldü (Şekil 3.5b). Nanoparçacıkların birbirine yapışmasının ortamda bulunan ve çapraz bağlama da kullanılmayan TPP den kaynaklandığı düşünüldü.



**Şekil 3.5** 144 nm boyutundaki nanopartiküller ile kaplanmış Ti yüzeylere ait SEM görüntüleri

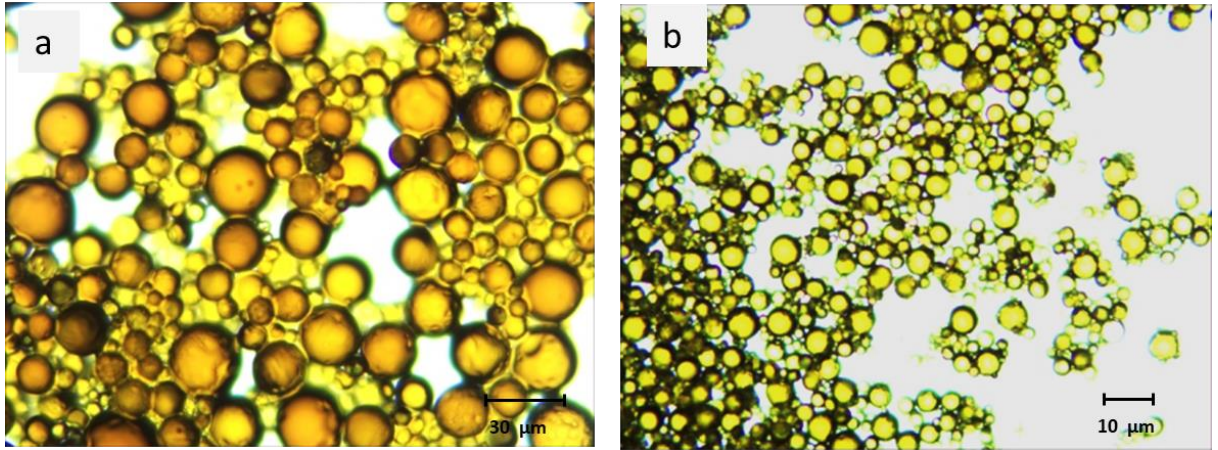
SEM analizleri kaplama içerisinde bulunan nanopartiküllerin detaylı analizinin mümkün olamayacağını gösterdi. Özellikle 430 nm boyutta partiküllerin kullanıldığı kaplamalarda nanopartikül tespiti zor olmakla birlikte yüzeyde yoğun bir şekilde kitosan film kaplama görüldü (Şekil 3.6). Bununla birlikte yüzey pürüzlülük testleri göz önünde bulundurulduğunda (Tablo 3.3) nanopartikül kaplama işlemi sonrasında ölçülen yüzey pürüzlülüğünün sadece kaplama içerisinde bulunan nanopartiküllerden değil aynı zamanda yüzeylerde oluşan porlu kitosan ince filminden de kaynaklanabileceği düşünüldü.



**Şekil 3.6** 430 nm boyutundaki nanopartiküller ile kaplanmış Ti yüzeylere ait SEM görüntüleri

### **3.6 Mikropartiküllerin Boyut Analizi**

Işık mikroskopu ile analiz edilen mikropartiküllerin boyutları Şekil 3.7’te verildi. 500 rpm karıştırma hızında üretilen partiküllerin boyutları ortalama  $20 \mu\text{m} \pm 4 \mu\text{m}$  (Şekil 3.7a), 1500 rpm karıştırma hızında elde edilen partiküllerin boyutlarının ise ortalama  $5 \mu\text{m} \pm 1 \mu\text{m}$  (Şekil 3.7b) olarak ölçüldü. Elde edilen mikropartiküllerin küre şeklinde olduğu ve karıştırma hızının artmasına bağlı olarak boyutlarının küçüldüğü görüldü. Bu durum karıştırıcı hızının artmasına bağlı olarak artan yüzey geriliminin daha küçük boyutta partikül oluşumuna neden olmasından kaynaklanmakta olup, sonuçlar literatürü (Reis vd., 2006; Pal vd., 2011) desteklemektedir.



Şekil 3.7 500 rpm (a) ve 1500 rpm (b) karıştırma hızlarında üretilen mikropartiküllerin ışık mikroskobu görüntüleri

### 3.7 Mikropartiküllerin İlaç Salım Profilleri

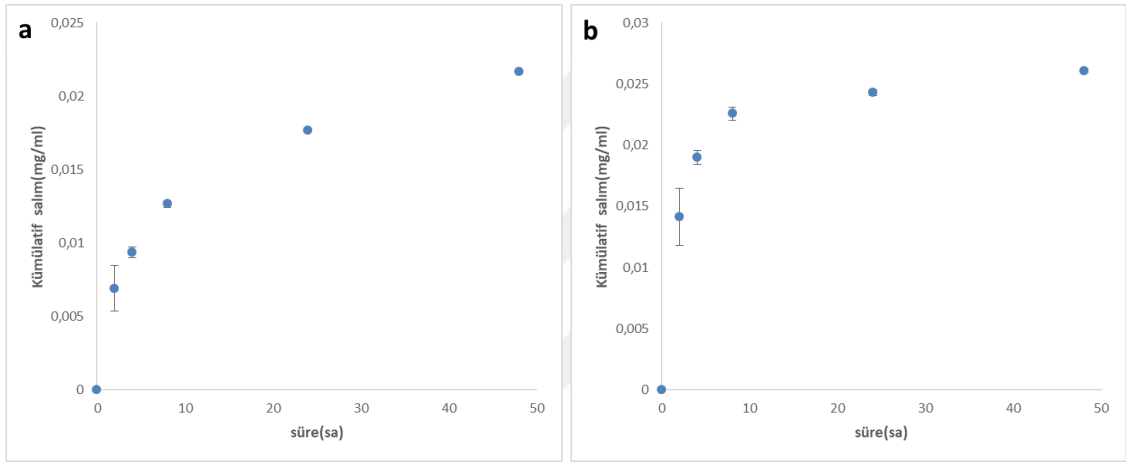
Farklı boyutlarda üretilen mikropartiküllere ait ilaç yükleme verimlilikleri Tablo 3.4'te verildi. Bu sonuçlar farklı büyüklüklerdeki mikropartiküllere ilacın yüksek verimlilik ve başarılı bir şekilde yüklenebildiğini gösterdi. Bu mikropartiküllere ait 48 saatlik ilaç salım profilleri Şekil 3.8' de verildi.

**Tablo 3.4** Kitosan mikropartiküllere ait yükleme verimlilikleri

	Konsantrasyon (µg/ml)	Yükleme verimi (%)
<b>500 rpm ile üretilen mikropartiküller</b>	Yükleme sonrası serbest ilaç miktarı	39,88
	Ortama eklenen ilaç miktarı	500
<b>1500 rpm ile üretilen mikropartiküller</b>	Yükleme sonrası serbest ilaç miktarı	40,08
	Ortama eklenen ilaç miktarı	500

Bu salım profillerine göre model ilaç siprofloksasinin farklı boyutlardaki mikropartiküllerden kontrollü bir şekilde salımının gerçekleştiği görüldü. Salımın ilk 10 saatlik dilimine bakıldığında mikropartiküllerden salımı olan ilaç miktarlarının benzer olduğu, 10. saatten sonra 500 rpm ile üretilen mikropartiküllerden ilaç salımının daha hızlı olduğu görüldü. 48. saatin sonunda 500 rpm ile üretilen mikropartiküllerden salım hızı artmaya devam etmiş (Şekil 3.8a), 1500 rpm ile

üretilem mikropartiküllerin ise salım hızı yavaşlamıştır (Şekil 3.8b). Bu durum kürelerin yüzey alanları ile açıklanabilir. 500 rpm karıştırma hızı üretilen ve ortalama 20 µm olan mikro küreler daha fazla yüzey alanına sahip olup bu durum ilaç salım hızında artışa neden olmuş olabilir. 1500 rpm karıştırma hızı ile hazırlanan ve daha küçük yüzey alanına sahip ortalama 5 µm boyutundaki mikropartiküllerde ise ilaç salım hızı daha yavaştır. Mikropartiküllere ait ilaç salım profilleri nanopartiküllere ait sonuçlar ile karşılaştırıldığında hem yükleme hem de ilaç salımı yapılan ilaç miktarında bir artış gözlemlenmiştir. Bu durum partiküllerin boyutlarında meydana gelen artış ile açıklanabilir. Büyük boyutlu partiküllere daha fazla ilaç yüklemek mümkündür.



**Şekil 3.8** 500 rpm (a) ve 1500 rpm (b) ile üretilmiş mikropartiküllere ait ilaç salım profilleri

İlaç salım profilleri incelendiğinde farklı boyutlarda üretilen mikropartiküllerin de farklı moleküllerin lokal salımında kullanılmak üzere Ti yüzeylerin değiştirilmesinde kullanılabileceğini gösterildi.

### **3.8 Mikropartikül Kaplı Ti Yüzeylerin Yüzey Pürüzlülük Analizi**

İlaçsız mikropartikülle kaplanmış Ti yüzeylerin mekanik profilometre ile yapılan yüzey pürüzlülük testlerinden elde edilen sonuçlar Tablo 3.5' te verildi. Nanopartikül ile kaplanmış yüzeylerin pürüzlülük değerlerinde meydana gelen değişikliklere benzer şekilde kaplanmamış Ti yüzeyler ile mikropartiküllerle kaplanmış Ti yüzeylerin pürüzlülükleri arasında önemli fark olup, kaplanmış yüzeylerde yüzey pürüzlülüğü artmıştır. 20 µm mikropartikül ile kaplanmış yüzeylerin yüzey pürüzlülüğü 5 µm mikropartikül ile kaplanmış yüzeylere göre daha

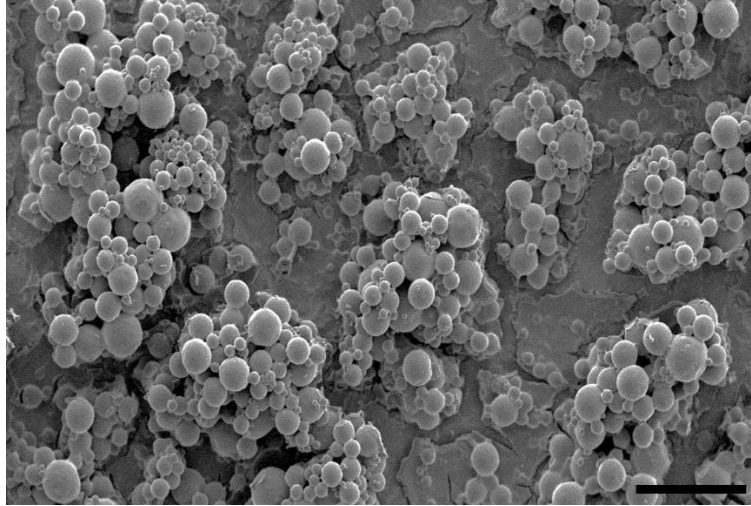
düşüktür. Fakat nanopartikül ile kaplanmış yüzeyler ile kıyaslandığında farkın azaldığı görüldü (Tablo 3.3). Bunun başlıca nedeninin küre şekline sahip olan mikropartiküllerin daha düzenli/düz bir yüzeye neden olduğu değerlendirildi.

**Tablo 3.5** Kitosan Mikropartikül Kaplı Ti yüzeylerin Pürüzlülük Değerleri

	Kaplanmamış Ti	20 µm mikropartikül ile kaplanmış Ti	5 µm mikropartikül ile kaplanmış Ti
Ra (µm)	0,16 ± 0,02	7,97± 0,60	8,57 ± 0,21

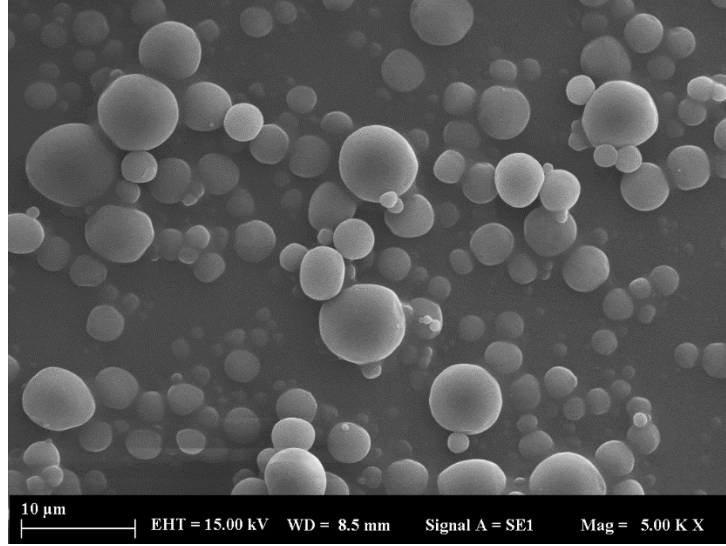
### 3.9 Mikropartikül Kaplı Ti Yüzeylerin SEM Analizi

500 rpm karıştırma hızı ile üretilen mikropartiküllerin Ti yüzeylere tutuklanmasından sonra Ti altlık malzemelerin yüzey görüntüsüne ait mikrograflar Şekil 3.9’da verildi. Bu görüntülerde Ti altlık malzemelerin homojen bir şekilde kaplandığı görüldü. Ti yüzeylere tutuklanan Mikropartiküllerin ortalama 20 µm boyutlarında olduğu ve bu sonuçların ışık mikroskopu analizlerinden elde edilen sonuçları desteklediği görüldü (Şekil 3.7).



**Şekil 3.9** 20 µm boyutlu kitosan mikropartiküller ile kaplanmış Ti yüzeylerin SEM görüntüsü (200X, ölçek 100 µm)

Bu görüntüler gerek kaplama yönteminin gerekse mikropartiküllerin Ti yüzey modifikasyonu için uygun olduğunu gösterdi. Daha küçük boyuttaki (5 µm) mikro partiküllerin kullanıldığı örneklerde de benzer şekilde kürelerin yüzeylere tutuklandığı görüldü (Şekil 3.10).

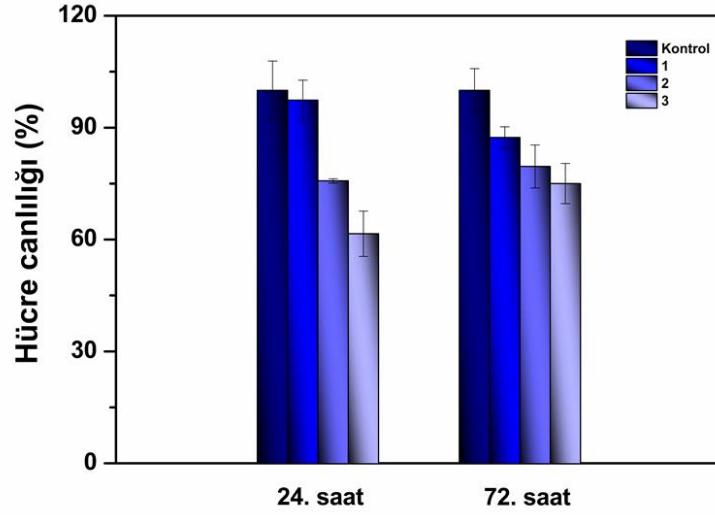


**Şekil 3.10** 5 µm boyutlu kitosan mikropartiküller ile kaplanmış Ti yüzeylerin SEM görüntüsü

Ayrıca, nanopartikül kaplanmış yüzeylerde nanopartiküllerden daha çok kitosan filmin yüzeyleri kapladığı ve yüzey pürüzlülüğüne porlu yapının daha çok katkı sağladığı belirtilmişti (Şekil 3.6). Mikropartiküllerin kullanılması durumunda ise yüzeylerde kitosan film kaplamanın değil mikropartiküllerin baskın olduğu görüldü. Bundan dolayı iki farklı boyutta mikropartikül kaplaması sonucunda yüzey pürüzlülüklerinde meydana gelen farklılığın ince filmde daha çok mikropartiküllerden kaynaklandığı değerlendirildi.

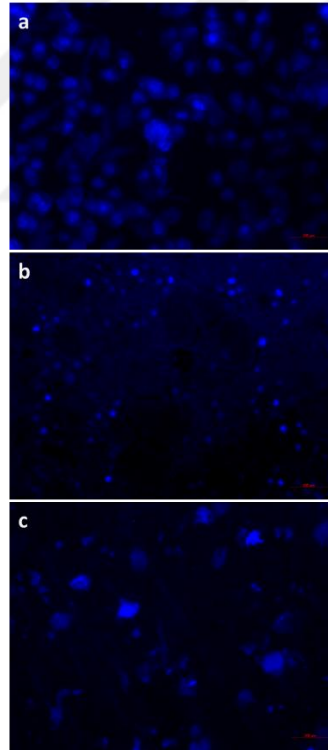
### **3.10 Hücre Kültürü Çalışmaları**

Kaplanmamış Ti ve farklı mikropartiküller (Tablo 2.1) ile kaplanmış örneklere ait hücre canlılığı testi (MTT) sonuçları Şekil 3.11 de verildi. Bu sonuçlar Ti veya mikropartiküllerin hücreler üzerinde herhangi bir olumsuz etkisinin olmadığını ve hücrelerin büyümeye devam ettiğini gösterdi. Kontrol grubu (sadece hücre) ile kaplanmamış/kaplanmış Ti örnekleri karşılaştırıldığında hücre canlılığının %95 seviyesinden ortalama %75 seviyesine gerileği görünmektedir. Bu azalma durumu hücrelerin yüzeye tutunması ve yabancı yüzeye adaptasyonu için zamana ihtiyaç duymuş olabileceğinden kaynaklanmış olabilir.



**Şekil 3.11** MTS sonuçları

Kaplanmamış Ti ve farklı mikropartiküller ile kaplanmış Ti örneklerin yüzeylerinde gerçekleştirilen hücre yapışması deneylerine ait sonuçlar Şekil 3.12’de verildi.



**Şekil 3.12** Kaplanmamış Ti (a), 5 µm boyutlu mikropartiküller ile kaplanmış Ti (b) ve 20 µm boyutlu mikropartiküller ile kaplanmış Ti yüzeylere tutunmuş hücrelere ait floresan mikroskopu görüntüleri

Bu sonuçlarda kaplanmamış yüzeylerde yoğun bir hücre yapışması olduğu ve kaplanmış yüzeylere göre çok düşük yüzey pürüzlülüğüne sahip (Tablo3.5) Ti

yüzeylerin hücre tutunması üzerinde herhangi olumsuz bir etkisinin olmadığı tespit edildi (Şekil 3.12 a). Fakat lokal salım amaçlı Ti yüzeylere tutuklanan ve yüzey pürüzlülüğünde ciddi bir artışa neden olan mikropartiküllerin hücre tutunmasını etkilediği görüldü. 5 µm boyutlu mikropartiküller ile kaplanmış Ti yüzeylerinde (Şekil 3.12b) hücre sayısının kısmen azaldığı ve hücre çekirdeklerinin şeklinde küçülme görüldü. Bunun nedeni olarak yüzeylerde hücre boyutlarının küçülmesinden ve hücrelerin büzüşmesinden kaynaklanmış olabileceği değerlendirildi. (Dinçel vd., 2016). 20 µm boyutlu mikropartiküller ile kaplanmış Ti yüzeylerinde de (Şekil 3.12C) benzer şekilde hücre tutunmasının yüzeyden etkilendiği görüldü. Fakat daha büyük boyutta partiküllere sahip bu yüzeylerde hücre yoğunluğu daha çok azalırken, hücre şeklinde bozulma ve bozulmuş çekirdeğin boyutunda artış gözlemlendi. Bu durum da benzer şekilde hücre ölümüne neden olmaktadır. Hücre yapışması deneyleri MTT sonuçlarında hücre canlılığında meydana gelen azalmayı indirekt bir şekilde açıklamaktadır.

Bu çalışma kapsamında Ti yüzeylere tutuklanan ve bu yüzeylerden lokal olarak moleküllerin salımında kullanılan farklı boyutlardaki nanopartiküllerin neden olduğu yüzey pürüzlülüğünün hücreler üzerindeki etkisi araştırıldı. Bu amaçla ilk olarak farklı 144 nm ve 430 nm boyutlara sahip ilaç taşıma sistemi olarak kullanılabilir kitosan nanopartiküller sonikasyon yöntemi ve TPP kullanılarak üretildi. Üretilen nanopartiküllerin ilaç taşıma kapasitelerinin belirlenmesi için model ilaç olarak siprofloksasin tercih edildi ve nanopartiküllerin ilaç salım profilleri çalışıldı. 144 nm ve 430 nm boyutlarında partiküllerin ilaç yükleme verimlilikleri belirlemek için farklı ilaç konsantrasyonlarında ilaç yüklemesi yapıldı ve ilaç konsantrasyonlarındaki farka rağmen (ilaç:çözelti, 2:24 ve 8:24 mg:ml) nanopartiküllerin ilaç yükleme verimlilikleri UV spektrofotometre kullanılarak 275 nm’de sırasıyla yaklaşık 52% ve 89% olarak belirlendi. 37 °C ve PBS (0,01 M, pH:7.4) içerisinde yapılan 48 saatlik ilaç salım çalışmalarında siprofloksasin salımının gerçekleştiği görüldü. Daha sonra farklı boyutlardaki nanopartiküllerin Ti yüzeylere tutuklanması için, Ti örnekler üzerinde sırasıyla alkali işlem, ısıtma işlemi ve APTES kullanılarak silanizasyon işlemi gerçekleştirildi. – NH<sub>2</sub> gruplarının bulunduğu bu yüzeylere daha sonra GA ve kitosandan üretilmiş ilaç içermeyen nanopartiküller uygulanarak tutuklandı. Yüzeylerde yapılan SEM analizlerinde nanopartiküllerin yüzeylere homojen bir şekilde tutuklanmadığı ve ince bir film yapısında kaplama oluşturdukları görüldü. Bu yüzeylerde mekanik profilometre ile yapılan yüzey pürüzlülüğü testlerinde ise yüzey pürüzlülüğünün ciddi miktarda değiştiği saptandı. Kaplanmamış yüzeylerin Ra değeri 0.20 µm iken 144 nm ve 430 nm partikül içeren yüzeylerde bu değer sırasıyla 12.74 µm ve 16.94 µm olarak ölçüldü. Benzer şekilde mikropartiküllerin yüzey pürüzlülüğü üzerine etkisinin belirlenmesi için emülsifikasyon yöntemi ile kitosan esaslı mikropartiküller üretildi. Farklı boyutlarda mikropartikül üretmek için partiküller 500 ve 1500 rpm olmak üzere iki farklı karıştırma hızında hazırlandı. Üretilen mikropartiküller hem ışık mikroskopu hem de SEM ile analiz edildi ve partiküllerin küre şeklinde olduğu, boyutlarının ise karıştırma hızına bağlı olarak sırasıyla 5 µm ve 20 µm olduğu belirlendi. İlaç yükleme çalışmalarında ise

mikropartiküller 500 ul/mg siprofloksasin (1ml) içerisinde inkübe edildi ve mikropartiküllerin ilaç yükleme verimlilikleri sırasıyla %92 ve %91 olarak bulundu. Ayrıca ilaç salım profilleri incelendiğinde yüzey alanı artan mikro partiküllerden ilaç salım hızının arttığı görüldü. Yüzey pürüzlülüğü ölçüsü Ra ise 5 µm boyutundaki mikropartiküllerin kullanılması durumunda 7.97 µm 20 µm boyutlu mikropartiküllerin kullanılması durumunda ise 8.57 µm olarak ölçüldü. Mikropartikül kaplanmış Ti yüzeylerin SEM analizlerinde yüzeylerin homojen bir şekilde kaplandığı da görüldü. Mikropartiküllerin yüzeylere homojen bir şekilde kaplanması, ilaç yükleme ve salım profillerinin daha iyi olmasından dolayı yüzey pürüzlülüğün hücre yapışması üzerine etkisi ile partiküllerin sitotoksik etkileri mikropartiküller ile kaplanmış Ti yüzeylerinde gerçekleştirildi. Hücre canlılığı fibroblast hücreler kullanılarak MTT testi ile belirlendi. Kitosan mikropartiküller ile kaplanmış Ti örnekler 72 saat besiyeri içerisinde bektetildikten sonra, besiyeri hücrelerin kültüre edilmesinde kullanıldı ve hücrelerin büyümeleri incelendi. MTT testlerinde yüzeylerden ayrılmış olabilecek kitosan partiküllerin hücreler üzerinde olumsuz bir etkisinin olmadığı görüldü. Ayrıca fibroblast hücreleri ile yapılan hücre yapışması deneylerinde Ti yüzeylere tutuklanan partiküllerin hücrelerin yapışmasını etkilediği ortaya konuldu. Kaplanmamış Ti örnekler ile karşılaştırıldığında 5 µm boyutunda mikropartiküller ile kaplanmış yüzeylerde hücre boyutlarında küçülme gözlemlenirken, 20 µm boyutundaki mikropartiküllerin bulunduğu yüzeylerde hem hücre yoğunluğunda hem de hücre şekillerinde bozulmaların meydana geldiği görüldü. Bu sonuçlar farklı boyutlardaki nano/mikro kitosan esaslı partiküllerin Ti yüzeylerden çeşitli moleküllerin salımı için kaplama olarak kullanılabilmesini fakat partiküllerin yüzeylerde neden olduğu pürüzlülüğün hücrelerin tutunması üzerine olumsuz etkisinin olabileceğini gösterdi. Mikropartiküllerin boyutlarındaki artış bu olumsuz etkiyi daha belirgin hale getirdiği görüldü. Dolayısıyla daha küçük boyuttaki mikropartiküller veya nanopartiküllerin kullanımı ile bu etkinin düşürülebileceği ve bu partiküllerden salımı yapılacak moleküller ile birlikte implant/doku arakesitinde hücre davranışının pozitif yönde etkileneceği değerlendirildi.

- Acar Derman, S. (2012). Canine parvovirus'e ait antijenik özellikli sentetik peptidlerin sentezi ve biyokonjugatlarının geliştirilmesi.
- Agboh, O. C., & Qin, Y. (1997). Chitin and chitosan fibers. *Polymers for Advanced Technologies*, 8(6), 355-365.
- Aghebati-Maleki, A., Dolati, S., Ahmadi, M., Baghbanzhadeh, A., Asadi, M., Fotouhi, A., ... & Aghebati-Maleki, L. (2020). Nanoparticles and cancer therapy: Perspectives for application of nanoparticles in the treatment of cancers. *Journal of cellular physiology*, 235(3), 1962-1972.
- Allémann, E., Leroux, J. C., Gurny, R., & Doelker, E. (1993). In vitro extended-release properties of drug-loaded poly (DL-lactic acid) nanoparticles produced by a salting-out procedure. *Pharmaceutical research*, 10, 1732-1737.
- Anselme, K., Bigerelle, M., Noel, B., Dufresne, E., Judas, D., Iost, A., & Hardouin, P. (2000). Qualitative and quantitative study of human osteoblast adhesion on materials with various surface roughnesses. *Journal of Biomedical Materials Research: An Official Journal of The Society for Biomaterials and The Japanese Society for Biomaterials*, 49(2), 155-166
- Ariga, K., Minami, K., Ebara, M., & Nakanishi, J. (2016). What are the emerging concepts and challenges in NANO? Nanoarchitectonics, hand-operating nanotechnology and mechanobiology. *Polymer journal*, 48(4), 371-389.
- Bajpai, A. K., Shukla, S. K., Bhanu, S., & Kankane, S. (2008). Responsive polymers in controlled drug delivery. *Progress in Polymer Science*, 33(11), 1088-1118.
- Balasundaram, G., Storey, D. M., & Webster, T. J. (2014). Novel nano-rough polymers for cartilage tissue engineering. *International journal of nanomedicine*, 9, 1845.
- Basan, H., Imren, D., & GÜMÜŞDERELİOĞLU, M. (2001). pH-sensitive hydrogels and applications in controlled drug delivery pH'ya duyarlı hidrojeller ve kontrollü ilaç salım sistemlerindeki uygulamaları. *Fabard Journal of Pharmaceutical Sciences*, 26(2).
- Bawa, R., Audette, G. F., & Rubinstein, I. (Eds.). (2016). *Handbook of clinical nanomedicine: nanoparticles, imaging, therapy, and clinical applications* (Vol. 1). CRC Press.
- Bhumkar, D. R., & Pokharkar, V. B. (2006). Studies on effect of pH on cross-linking of chitosan with sodium tripolyphosphate: a technical note. *Aaps Pharmscitech*, 7, E138-E143.
- Chen, Q., & Thouas, G. A. (2015). Metallic implant biomaterials. *Materials Science and Engineering: R: Reports*, 87, 1-57.
- Chung, D. D. L. (2002). Piezoresistive cement-based materials for strain sensing. *Journal of Intelligent Material Systems and Structures*, 13(9), 599-609.

- Coulthard, P., Esposito, M., Slater, M., Worthington, H. V., & Kay, E. J. (2003). Prevention. Part 5: Preventive strategies for patients requiring osseointegrated oral implant treatment. *British dental journal*, 195(4), 187-194.
- Dash, A., & Cudworth II, G. (1998). Therapeutic applications of implantable drug delivery systems. *Journal of pharmacological and toxicological methods*, 40(1), 1-12.
- De Pasquale, D., Beraudi, A., Stea, S., Baleani, M., Guerra, G., & Toni, A. (2017, May). Local tissue reaction in total hip arthroplasty with titanium modular neck. In *Orthopaedic Proceedings* (Vol. 99, No. SUPP\_9, pp. 76-76). The British Editorial Society of Bone & Joint Surgery.
- Değim, Z., Çelebi, N., Alemdaroğlu, C., Deveci, M., Öztürk, S., & Özoğul, C. (2011). Evaluation of chitosan gel containing liposome-loaded epidermal growth factor on burn wound healing. *International Wound Journal*, 8(4), 343-354.
- Derman, S., Kızılbey, K., & Akdeste, Z. M. (2013). Polymeric nanoparticles. *Sigma Journal of Engineering and Natural Sciences*, 31(1), 107-120.
- Di Martino, A., Sittinger, M., & Risbud, M. V. (2005). Chitosan: a versatile biopolymer for orthopaedic tissue-engineering. *Biomaterials*, 26(30), 5983-5990.
- Dinçel, G. Ç., & Oguz, K. U. L. (2016). Patolojik apoptozis ve tanı yöntemleri. *Gümüşhane Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 5(1), 86-108.
- Doymuş, B. (2020). *Surface modification of titanium substrates with nano hydroxyapatite coated chitosan microspheres* (Doctoral dissertation, Institute of Science And Technology).
- Dutta, P. K., Ravikumar, M. N. V., & Dutta, J. (2002). Chitin and chitosan for versatile applications. *Journal of Macromolecular Science, Part C: Polymer Reviews*, 42(3), 307-354.
- Elçin, Y. M. (2018). Biyomalzemeler ve Biyoyapay Organ Teknolojileri. *Ders Notu*.
- Fessi, H. P. F. D., Puisieux, F., Devissaguet, J. P., Ammouy, N., & Benita, S. (1989). Nanocapsule formation by interfacial polymer deposition following solvent displacement. *International journal of pharmaceutics*, 55(1), R1-R4.
- Gao, N., & Li, X. J. (2013). Controlled drug delivery using microfluidic devices. In *Microfluidic Devices for Biomedical Applications* (pp. 167-185e). Woodhead Publishing.
- Güven, Ş. (2014). Biyouyumluluk ve biyomalzemelerin seçimi. *Mühendislik Bilimleri ve Tasarım Dergisi*, 2(3), 303-311.
- Heli, H., & Rahi, A. (2016). Synthesis and applications of nanoflowers. *Recent patents on nanotechnology*, 10(2), 86-115.
- Hench, L. L., & Ethridge, E. C. (1982). Biomaterials, an interfacial approach. Biophysic and bioengineering series, vol 4.

- Jager, J., Putnick, D. L., & Bornstein, M. H. (2017). II. More than just convenient: The scientific merits of homogeneous convenience samples. *Monographs of the Society for Research in Child Development*, 82(2), 13-30.
- Jain, S., Jain, A. P., Jain, S., Gupta, O. N., & Vaidya, A. (2013). Nanotechnology: An emerging area in the field of dentistry. *J Dent Sci*, 10, 1-9.
- Jeon, H. J., Jeong, Y. I., Jang, M. K., Park, Y. H., & Nah, J. W. (2000). Effect of solvent on the preparation of surfactant-free poly (DL-lactide-co-glycolide) nanoparticles and norfloxacin release characteristics. *International journal of pharmaceutics*, 207(1-2), 99-108.
- Jeong, Y. I., Cho, C. S., Kim, S. H., Ko, K. S., Kim, S. I., Shim, Y. H., & Nah, J. W. (2001). Preparation of poly (DL-lactide-co-glycolide) nanoparticles without surfactant. *Journal of applied polymer science*, 80(12), 2228-2236.
- Jian, Z. H. O. U., Minglong, X. U., Zhichun, Y. A. N. G., & Yingsong, G. U. (2021). Suppressing nonlinear aeroelastic response of laminated composite panels in supersonic airflows using a nonlinear energy sink. *Chinese Journal of Aeronautics*, 34(2), 376-385.
- Karahan, H. A., Özdoğan, E., Demir, A., Aydin, H., & Seventekin, N. (2009). Effects of atmospheric pressure plasma treatments on certain properties of cotton fabrics. *Fibres & Textiles in Eastern Europe*, (2 (73)), 19-22.
- Karakeçili, A. G., & Gümüşderelioğlu, M. (2002). Comparison of bacterial and tissue cell initial adhesion on hydrophilic/hydrophobic biomaterials. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, 13(2), 185-196.
- Kaya, M., Kılıc, M., Kırık, I., Karakurt, E. M., & Gülenç, B. (2017). Diffusion bonding between Ti-6Al-4V alloy and interstitial free steel: Diffusionsschweißen zwischen einer Ti6Al4V Legierung und interstitiellfreiem Stahl. *Materialwissenschaft Und Werkstofftechnik*, 48(7), 661-665.cf
- Khor, E., & Lim, L. Y. (2003). Implantable applications of chitin and chitosan. *Biomaterials*, 24(13), 2339-2349.
- Konan, Y. N., Gurny, R., & Allémann, E. (2002). State of the art in the delivery of photosensitizers for photodynamic therapy. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 66(2), 89-106.
- Krell, A., Blank, P., Ma, H., Hutzler, T., van Bruggen, M. P., & Apetz, R. (2003). Transparent sintered corundum with high hardness and strength. *Journal of the American Ceramic Society*, 86(1), 12-18.
- Kurtuluş, G., & Vardar, F. (2020). Kitosanın Özellikleri, Uygulama Alanları, Bitki Sistemlerine Etkileri. *International Journal of Advances in Engineering and Pure Sciences*, 32(3), 258-269.
- Łada-Tondyra, E., Jakubas, A., Jabłońska, B., & Stańczyk-Mazanek, E. (2021). The research and analysis of the bactericidal properties of the spacer knitted fabric with the UV-C system. *Opto-Electronics Review*, 192-200.
- Lambotte, A. (1909). Technique et indication des prothèses dans le traitement des fractures. *Presse med*, 17, 321.

- Lane, W. A. (1895). Some remarks on the treatment of fractures. *British medical journal*, 1(1790), 861.
- Lele, T. P., Thodeti, C. K., & Ingber, D. E. (2006). Force meets chemistry: analysis of mechanochemical conversion in focal adhesions using fluorescence recovery after photobleaching. *Journal of cellular biochemistry*, 97(6), 1175-1183.
- Levin, M., Spiro, R. C., Jain, H., & Falk, M. M. (2022). Effects of titanium implant surface topology on bone cell attachment and proliferation in vitro. *Medical Devices: Evidence and Research*, 103-119.
- Litchfield, K., Reading, J. L., Puttick, C., Thakkar, K., Abbosh, C., Bentham, R., ... & Swanton, C. (2021). Meta-analysis of tumor-and T cell-intrinsic mechanisms of sensitization to checkpoint inhibition. *Cell*, 184(3), 596-614.
- Mahdavinia, G. R., Karimi, M. H., Soltaniniya, M., & Massoumi, B. (2019). In vitro evaluation of sustained ciprofloxacin release from  $\kappa$ -carrageenan-crosslinked chitosan/hydroxyapatite hydrogel nanocomposites. *International journal of biological macromolecules*, 126, 443-453.
- Malerba, M., & Cerana, R. (2019). Recent applications of chitin-and chitosan-based polymers in plants. *Polymers*, 11(5), 839.
- Marangoz, Ö., & Yavuz, O. (2020). Nano-ilaç taşıma sistemleri ve toksikolojik değerlendirmeleri. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 77(4), 509-526.
- Muthu, M. S. (2009). Nanoparticles based on PLGA and its co- $\epsilon$  polymer: An overview. *Asian Journal of Pharmaceutics (AJP)*, 3(4).
- Mutlu, B., & Kurt, M. (2005). Kırık kemik tedavilerinde kullanılan fiksatorlerin mekanik özellikleri ve üç değişik malzemeden yapılmış halka tipi fiksatorlerin mekanik testleri. *Mühendis ve Makina*, 46(543), 29-38.
- Muzzarelli, R. (1992). Depolymerization of methyl pyrrolidinone chitosan by lysozyme. *Carbohydrate polymers*, 19(1), 29-34.
- Nascimento, D. R., & DePrince III, A. E. (2017). Simulation of near-edge X-ray absorption fine structure with time-dependent equation-of-motion coupled-cluster theory. *The journal of physical chemistry letters*, 8(13), 2951-2957.
- Navarro, M., Michiardi, A., Castano, O., & Planell, J. A. (2008). Biomaterials in orthopaedics. *Journal of the royal society interface*, 5(27), 1137-1158.
- Nazir, A., Schroën, K., & Boom, R. (2010). Premix emulsification: A review. *Journal of Membrane Science*, 362(1-2), 1-11.
- O'Brien, W. J. (Ed.). (2002). *Dental materials and their selection* (Vol. 10). Chicago: Quintessence.
- Önder, S. (2016). Surface modification of titanium using bsa-loaded chitosan and chitosan/gelatin polymers. *Journal of Medical and Biological Engineering*, 36, 661-667.

- Özkan, A., Şişik, N., & Öztürk, U. (2016). Kompozit malzemelerin ağız, yüz, çene cerrahisinde kullanımı ve malzeme uygunluklarının belirlenmesi. *Düzce Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 4(1), 227-242.
- Pal, S. L., Jana, U., Manna, P. K., Mohanta, G. P., & Manavalan, R. (2011). Nanoparticle: An overview of preparation and characterization. *Journal of applied pharmaceutical science*, (Issue), 228-234.
- Park, H. W., Yoo, J. S., Jung, H., & Yoon, W. B. (2019). Developing a sterilization processing and a grading system to produce a uniform quality of sterilized whole corn (*Zea mays* L. var. *ceratina*). *Journal of Food Engineering*, 249, 55-65.
- Park, K. (2014). Controlled drug delivery systems: past forward and future back. *Journal of Controlled Release*, 190, 3-8.
- Pasinli, A. (2004). Biyomedikal uygulamalarda kullanılan biyomalzemeler. *Makine Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 4(4), 25-34.
- Peppas, N. A., & Khare, A. R. (1993). Preparation, structure and diffusional behavior of hydrogels in controlled release. *Advanced drug delivery reviews*, 11(1-2), 1-35.
- Quinn, J., McFadden, R., Chan, C. W., & Carson, L. (2020). Titanium for orthopedic applications: an overview of surface modification to improve biocompatibility and prevent bacterial biofilm formation. *IScience*, 23(11), 101745.
- Rao, J. P., & Geckeler, K. E. (2011). Polymer nanoparticles: Preparation techniques and size-control parameters. *Progress in polymer science*, 36(7), 887-913.
- Reis, C. P., Neufeld, R. J., Ribeiro, A. J., & Veiga, F. (2006). Nanoencapsulation I. Methods for preparation of drug-loaded polymeric nanoparticles. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine*, 2(1), 8-21.
- Roberts, G. A., & Roberts, G. A. (1992). Chemical behaviour of chitin and chitosan. *Chitin chemistry*, 203-273.
- Saltzman, W. M. (2001). *Drug delivery: engineering principles for drug therapy*. Oxford University Press.
- Şenel, S., & McClure, S. J. (2004). Potential applications of chitosan in veterinary medicine. *Advanced drug delivery reviews*, 56(10), 1467-1480.
- Sengel-Turk, C., & Hasçıçek, C. (2009). Polimerik nanopartikuler ilaç taşıyıcı sistemlerde yüzey modifikasyonu.
- Sherman, W. O. (1912). Vanadium steel bone plates and screws. *Surg Gynecol Obstet*, 14, 629-634.
- Singh, K., Mishra, A., & Singh, A. (2018). Synthesis characterization and in vitro release study of ciprofloxacin-loaded chitosan nanoparticle. *Bionanoscience*, 8, 229-236.
- Singh, R., & Lillard Jr, J. W. (2009). Nanoparticle-based targeted drug delivery. *Experimental and molecular pathology*, 86(3), 215-223.

- Sun, Y. P., Meziani, M. J., Pathak, P., & Qu, L. (2005). Polymeric nanoparticles from rapid expansion of supercritical fluid solution. *Chemistry—A European Journal*, *11*(5), 1366-1373.
- Sutradhar, K. B., & Sumi, C. D. (2016). Implantable microchip: the futuristic controlled drug delivery system. *Drug delivery*, *23*(1), 1-11.
- Szymańska, E., & Winnicka, K. (2015). Stability of chitosan—a challenge for pharmaceutical and biomedical applications. *Marine drugs*, *13*(4), 1819-1846.
- Thioune, O., Fessi, H., Devissaguet, J. P., & Puisieux, F. (1997). Preparation of pseudolatex by nanoprecipitation: Influence of the solvent nature on intrinsic viscosity and interaction constant. *International journal of pharmaceutics*, *146*(2), 233-238.
- Torchilin, V. P. (2000). Drug targeting. *European journal of pharmaceutical sciences*, *11*, S81-S91.
- Tüylek, Z. (2017). İLAÇ TAŞIYICI SİSTEMLER VE NANOTEKNOLOJİK ETKİLEŞİM. *Bozok Tıp Dergisi*, *7*(3), 89-98.
- Veronesi, F., Giavaresi, G., Fini, M., Longo, G., Ioannidu, C. A., d'Abusco, A. S., ... & Scandurra, R. (2017). Osseointegration is improved by coating titanium implants with a nanostructured thin film with titanium carbide and titanium oxides clustered around graphitic carbon. *Materials Science and Engineering: C*, *70*, 264-271.
- Voigt, J., Mosier, M., & Darouiche, R. (2016). Antibiotics and antiseptics for preventing infection in people receiving revision total hip and knee prostheses: a systematic review of randomized controlled trials. *BMC Infectious Diseases*, *16*(1), 1-9.
- Watari, F., Yokoyama, A., Omori, M., Hirai, T., Kondo, H., Uo, M., & Kawasaki, T. (2004). Biocompatibility of materials and development to functionally graded implant for bio-medical application. *Composites Science and Technology*, *64*(6), 893-908.
- Wei, X., Gong, C., Gou, M., Fu, S., Guo, Q., Shi, S., ... & Qian, Z. (2009). Biodegradable poly ( $\epsilon$ -caprolactone)–poly (ethylene glycol) copolymers as drug delivery system. *International journal of pharmaceutics*, *381*(1), 1-18.
- Williams, D. F. (1982). Biodegradation of surgical polymers. *Journal of Materials Science*, *17*, 1233-1246.
- Wnek, G. E., & Bowlin, G. L. (Eds.). (2008). *Encyclopedia of biomaterials and biomedical engineering*. CRC Press.
- Xuanyong, L., Chuanxian, D., & Paul, K. C. (2004). Mechanism of apatite formation on wollastonite coatings in simulated body fluids. *Biomaterials*, *25*(10), 1755-1761.
- Yalcin, B. M., & Karahan, T. F. (2007). Effects of a couple communication program on marital adjustment. *The Journal of the American Board of Family Medicine*, *20*(1), 36-44.
- Yapar, E. A. (2012). İmplant edilebilen polimerik ilaç salım sistemlerine genel bakış. *Türkiye Klinikleri J Pharm Sci*, *1*(2), 73-82.

YILMAZ, Y., AVCI, B., & DEMİRÖREN, H. (2019). Biyomalzeme sektöründe kullanılan titanyum ve alaşımları.

Yoruç, A. B. H., & Uğraşkan, V. (2017). Yeşil Polimerler ve Uygulamaları. *Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 17(1), 318-337.

Zhao, L., Zhang, F., Ding, X., Wu, G., Lam, Y. Y., Wang, X., ... & Zhang, C. (2018). Gut bacteria selectively promoted by dietary fibers alleviate type 2 diabetes. *Science*, 359(6380), 1151-1156.



### 1.İlaç Yüklü/Boş Kitosan Nano/Mikropartiküllerin Sentezinde Kullanılan Kimyasallar Hakkında Bilgi

Chitosan medium molecular weight (CAS: 9012-76-4), asetik asit, (CAS:64 19-7), siprofloksasin (ürün numarası: 17850), distile su (Milli-Q), TPP (sodyum tripolifosfat, C6-7-1-1), NaOH (sodyum hidroksit, ürün numarası 969.112.1000), span 80 (ürün numarası: 85548), hekzan (ürün numarası 208752), mineral yağ (ürün numarası: M5904).

### 2.Yüzey Karakterizasyonu Testleri İçin Kullanılan Kimyasallar Hakkında Bilgi

HF (hidroflorik asit, ürün numarası 695068), HNO<sub>3</sub> (nitrik asit, ürün numarası 438073), APTES (%98, ürün numarası: A3648), titanyum plakalar (Medical Grade II), toluen (ürün numarası 108325), C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH (etanol, %96, ürün numarası 32205), gluteraldehit (ürün numarası: G6257).

### 3.İlaç Salım Çalışmalarında Kullanılan Kimyasallar Hakkında Bilgi

PBS (Phosphate Buffered Saline), KCl (potasyum klorür, ürün numarası P9541), NaCl (sodium klorür, ürün numarası 134239), KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (potasyum hidrat monobazik, ürün numarası P5379), Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (sodyum fosfat dibazik, ürün numarası 255793).

### 4.Hücre Kültürü Çalışmalarında Kullanılan Kimyasallar Hakkında Bilgi

Fibroblast hücreleri L929 (fare fibroblast hücreleri), DMEM/F12 besiyeri (Capricorn), %1 penisilin-streptomisin antibiyotiği (Capricorn), %10 FBS (Capricorn), tetrazolyum tuzları (Biomatik), DMSO (Sigma), DAPI (4',6-Diamidine-2'-phenylindole dihydrochloride) (Serva).

### 5.İlaç Yüklü/Boş Kitosan Nano/Mikropartiküllerin Sentezinde Kullanılan Ekipmanlar Hakkında Bilgi

Sonikatör (Bandelin Electronic, UW 2070, vortex (Heidolph REAX top), mekanik karıştırıcı (Heidolph, MR 3001), santrifüj cihazı (NUVE NF800 R), zeta ölçer (Atomika Teknik Nano-ZS), liyofilizatör (Markasız).

### 6.Yüzey Karakterizasyonu Testleri İçin Kullanılan Ekipmanlar Hakkında Bilgi

SEM (FEI Quanta- 600 FEG), mekanik/optik profilometre (Mahr Perthometer S2).

### 7.İlaç Salım Çalışmalarında Kullanılan Ekipmanlar Hakkında Bilgi

FTIR (Thermo scientific Nicolet iS10, ATR mod ölçümü), UV-Vis. (SHIMADZU, UV-Pharma spec-1700), distile su (Milli-Q), vortex (Heidolph REAX top) çalkalamalı su banyosu (GFL).

### 8.Hücre Kültürü Çalışmalarında Kullanılan Ekipmanlar Hakkında kullanılan Bilgi

Invert mikroskop (Olympus), floresan mikroskop (Olympus), inkübatör (Binder), mikrokuyucu (Thermo Scientific Multiskan FC), çeker ocak, çalkalamalı su banyosu (GFL), 96 kuyulu plakalar (Nest).



# TEZDEN ÜRETİLMİŞ YAYINLAR

---

## Konferans Bildirileri

1. Aydemir B., Ar S., Derman S., & Önder S. (2022). 4. Uluslararası Bilim, Mühendislik ve Teknoloji Avrupa Konferansı, (EurasianSciEnTech2022), Ankara/Türkiye

