İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TEMEL BİLEŞENİ N-İZOPROPİLAKRİLAMİT OLAN, ÖZELLİKLERİ DEĞİŞTİRİLMİŞ KOMPOZİT HİDROJELLERİN ŞİŞME, İLAÇ SALIM VE MEKANİK DAVRANIŞLARININ İNCELENMESİ

DOKTORA TEZİ

Bestenur YALÇIN

Kimya Anabilim Dalı

Kimya Programı

MAYIS 2018

İSTANBUL TEKNİK ÜNİVERSİTESİ ★ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TEMEL BİLEŞENİ N-İZOPROPİLAKRİLAMİT OLAN, ÖZELLİKLERİ DEĞİŞTİRİLMİŞ KOMPOZİT HİDROJELLERİN ŞİŞME, İLAÇ SALIM VE MEKANİK DAVRANIŞLARININ İNCELENMESİ

DOKTORA TEZİ

Bestenur YALÇIN
(509092207)

Kimya Anabilim Dalı

Kimya Programı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Candan ERBİL

MAYIS 2018

İTÜ, Fen Bilimleri Enstitüsü'nün 509092207 numaralı doktora öğrencisi Bestenur YALÇIN, ilgili yönetmeliklerin belirlediği gerekli tüm şartları yerine getirdikten sonra hazırladığı "Temel Bileşeni N-İzopropilakrilamit Olan, Özellikleri Değiştirilmiş Kompozit Hidrojellerin Şişme, İlaç Salım ve Mekanik Davranışlarının İncelenmesi" başlıklı tezini aşağıda imzaları olan jüri önünde başarı ile sunmuştur.

Tez Danışmanı : **Prof. Dr. Candan ERBİL**
İstanbul Teknik Üniversitesi .....

Jüri Üyeleri : **Prof. Dr. Nurseli UYANIK**
İstanbul Teknik Üniversitesi .....

Prof. Dr. Gülten GÜRDAĞ
İstanbul Üniversitesi .....

Prof. Dr. OYA ATICI
İstanbul Teknik Üniversitesi .....

Prof. Dr. Gülten ATUN
İstanbul Üniversitesi .....

Teslim Tarihi : **26 Nisan 2018**
Savunma Tarihi : **30 Mayıs 2018**

Kızıma,

ÖNSÖZ

Doktora tez çalısmalarım boyunca, bilgi ve deneyimi ile bana yol gösteren, yardımcı olan ve kendisi ile çalışmaktan onur duyduğum değerli hocam Prof.Dr.Candan ERBİL'e, gösterdigi tüm sabır ve anlayışı, hoşgörü ve sonsuz desteğinden dolayı en içten dileklerimle teşekkür ederim.

Çalışmalarımın her aşamasında bana yardımcı olan Kimya Anabilim Dalı ögretim üyelerine ve çalışmamın uygulama kısmını destekleyen İstanbul Teknik Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine (BAP – 37746 no.lu proje) teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmam süresince, bilgi ve deneyimlerini paylaşarak, çalışmalarıma yön veren tez izleme jüri üyelerimiz, Prof.Dr.Nurseli UYANIK ve Prof.Dr.Gülten GÜRDAĞ'a sonsuz teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım.

Ögrenim hayatım boyunca daima yanımda olan, bana inanan ve beni destekleyen annem Bahriye ÜLKÜSEVEN'e teşekkür ederim.

Son olarak, doktora çalışmalarım süresince ve hayatımın her noktasında, sonsuz sabır ve desteği ile yanımda yürüyen, daha iyimser, daha mücadeleci ve daha başarılı olmam için beni heyecanla teşvik eden çok değerli eşim İbrahim Ertuğrul YALÇIN'a tüm kalbimle teşekkür ederim.

Nisan 2018

Bestenur YALÇIN
(Kimya Y.Mühendisi)

İÇİNDEKİLER

Sayfa

KISALTMALAR

gNH	**:** Geleneksel PNIPAAm hidrojeli
mgNH	**:** Modifiye geleneksel PNIPAAm hidrojeli
mkNH	**:** Modifiye kompozit PNIPAAm hidrojeli
mgkNH	**:** Modifiye geleneksel kopolimer PNIPAAm hidrojeli
mkkNH	**:** Modifiye kompozit kopolimer PNIPAAm hidrojeli
m(IPN)kNH	**:** Modifiye tam-IPN PNIPAAm hidrojeli
VPTT	**:** Hacim faz geçiş sıcaklığı
LP	**:** Laponit
MMT	**:** Montmorillonit
ODA-MMT	**:** Oktadesilamin-montmorillonit
BIS	**:** N,N'-metilenbisakrilamit
KPS	**:** Potasyumpersülfat
TEMED	**:** N,N,N',N'-tetrametiletilendiamin
NIPAAm	**:** N-izopropilakrilamit
DMAPMAAm	**:** N-[3-(dimetilamino)propil]metakrilamit
MAPTAC	**:** 3-(metakrilamino)propil trimetilamonyum klorür
SBMAAm	**:** N,N-dimetil-N-(3-metakrilamidopropil)-N-(3-sülfopropil) amonyum betain
IPN	**:** İçiçe geçmiş ağyapı (Interpenetrating Network)
KOB	**:** Koloni oluşturucu birim
GS	**:** Gentamisin sülfat
DDS	**:** Destile deiyonize su
PBS	**:** Tuzlu fosfat tampon

SEMBOLLER

υ_{2s}	: Şişmiş haldeki polimerin hacim kesri
υ_{2r}	: Sentez sonrası polimerin hacim kesri
Qv	: Hacimce şişme oranı
$\mathbf{M_c}$	: Çapraz bağlanma noktaları arasındaki polimer zincirlerinin ortalama molekül ağırlığı
ξ	: Ardışık çapraz bağlanma noktaları arası mesafe (por çapı)
$\mathbf{V_r}$	: Kuru haldeki polimer hacmi
$\mathbf{V_s}$	: Şişmiş haldeki hidrojel hacmi
E	: Young modülü
$\mathbf{v_e}$	: Hidrojelin çapraz bağ yoğunluğu
χ	: Polimer çözücü etkileşim parametresi
do, d	: Hidrojellerin başlangıçta ve t anındaki çapları
ρ	: Yoğunluk
D	: Korsmeyer-Peppas modeli için difüzyon katsayısı
J_A	: İlaç akısı
F	: t anında çözünmüş ilaç kesri
$\mathbf{M_o}$, $\mathbf{M_t}$, $\mathbf{M_\infty}$	: Başlangıçta, t anında ve denge anında hidrojelden salınan ilaç miktarları
K, $\mathbf{K_1}$,	: Sıfırıncı mertebe ve birinci mertebe modellerine ait hız sabitleri
$\mathbf{K_h}$, $\mathbf{K_s}$	: Higuchi ve Hixon-Crowell modellerine ait hız sabitleri
k	: Korsmeyer-Peppas modeline ait hız sabiti
n	: Korsmeyer-Peppas modeline ait difüzyon üsteli
$\mathbf{D_i}$, $\mathbf{D_L}$, $\mathbf{D_{ort}}$	: Schott difüzyon modeli için başlangıç, geç dönem ve ortalama difüzyon katsayıları

ÇİZELGE LİSTESİ

Sayfa

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

TEMEL BİLEŞENİ N-İZOPROPİLAKRİLAMİT OLAN, ÖZELLİKLERİ DEĞİŞTİRİLMİŞ KOMPOZİT HİDROJELLERİN ŞİŞME, İLAÇ SALIM VE MEKANİK DAVRANIŞLARININ İNCELENMESİ

ÖZET

N-izopropilakrilamit (NIPAAm) sıcaklığa duyarlı doğrusal ve/veya çapraz bağlı polimer sentezinde yaygın olarak kullanılan monomerlerden biridir. Bu çalışmada, geleneksel poli(N-izopropilakrilamit) (PNIPAAm) hidrojellerinin (gNH) başta mekanik özelliklerinin değiştirilmesi/iyileştirilmesi olmak üzere, şişme, ilaç salım ve biyouyumluluk gibi özelliklerinin de geliştirilmesi amacıyla çeşitli modifikasyonlar gerçekleştirilmiştir. Bu modifikasyonlar; (i) polimerizasyon çözücüsü olarak gNH'lerinin sentezinde sıklıkla kullanılan destile deiyonize su (DDS) yerine 0.1N ve 0.2N NaOH çözeltilerinin kullanılması (modifiye geleneksel PNIPAAm hidrojelleri:mgNH), (ii) çapraz bağlayıcı olarak N,N'-metilenbisakrilamit (BIS) yerine laponit (LP), Na-montmorillonit (MMT) ve oktadesilamin-montmorillonit (ODA-MMT) gibi inorganik çok tabakalı smektitlerin kullanılması (modifiye kompozit PNIPAAm hidrojelleri:mkNH), (iii) sentez çözücüsü ve tabakalı silikatların dispersiyon ortamı olarak kullanılan 0.1N ve 0.2N NaOH çözeltilerinin aynı zamanda polimerizasyon hızlandırıcısı olarak da görev yapması ve böylece geleneksel PNIPAAm hidrojellerin sentezinde sıklıkla kullanılmış olan polimerizasyon hızlandırıcısının (N,N,N',N'-tetrametiletilenediamin – TEMED) reaksiyon ortamından çıkarılması, (iv) katyonik ve zwitteriyonik komonomerler kullanılarak modifiye geleneksel ve modifiye kompozit kopolimer PNIPAAm hidrojellerinin sentezlenmesi (modifiye geleneksel kopolimer PNIPAAm hidrojelleri:mgkNH ve modifiye kompozit kopolimer PNIPAAm hidrojelleri:mkkNH) ve (v) mekanik özellikler bakımından yeterli değişmenin/iyileşmenin sağlanamadığı mkkNH'lerinin tam-içiçe geçmiş ağyapılarının (IPN) sentezlenmesidir (modifiye tam-IPN kopolimer PNIPAAm hidrojelleri:m(IPN)kNH). Özetle bu tez çalışmasındaki hidrojel sentezleri polimerizasyon hızlandırıcısı ve organik çapraz bağlayıcı molekülün olmadığı, sentez ortamında olabilecek en az sayıdaki organik bileşenin bulunduğu ve en yüksek biyouyumluluğu sağlayacak koşulların yaratıldığı bir ortamda gerçekleştirilmiştir.

Bu modifikasyonlar sonucunda elde edilmiş olan mgNH, mkNH, mgkNH, mkkNH ve m(IPN)kNH'lerinin (a) 30°-45°C aralığındaki tek eksenli sıkıştırma testlerinden elde edilen sıkıştırma modülü değerleri, (b) hidrojel disklerin 30°-45°C aralığındaki çap ve yükseklik ölçümlerinden yararlanılarak hesaplanan V/V_o değerleri, (c) XRD, FTIR, SEM-EDS ve kondüktometrik titrasyonlar ile belirlenen yapısal ve yüzeysel özellikleri, (d) kan uyumlulukları, (e) *E.coli*'ye karşı antibakteriyel aktiviteleri, (f) tuzlu fosfat tampon (PBS) (pH 7.4) içerisindeki dinamik şişme davranışları, (g) 30°C ve pH 2.0-12.0 aralığındaki faz geçiş davranışları ve (h) Gentamisin (GS) salım özellikleri incelenmiştir.

Bu tezde, modifiye PNIPAAm hidrojellerinin malzeme özellikleri üzerine polimerizasyon süresinin etkileri de incelenmiştir. Özellikle kompozit hidrojellerin

sıkıştırma modül değerlerinin sentez süresine bağlı olarak artış göstermesi polimerizasyon reaksiyonlarının iki hafta boyunca polimerizasyon koşullarına da bağlı olarak devam ettiğini göstermiştir. Ayrıca, bu tez çalışmasında literatür çalışmalarından farklı şekilde, polimerizasyon ortamı olarak kullanılan 0.1N ve 0.2N NaOH çözeltilerinin ve uzun polimerizasyon sürelerinin NIPAAm esaslı hidrojeller üzerine hidroliz edici bir etkisi olup olmadığını görmek amacıyla, seçilen örnekler ile kondüktometrik titrasyonlar yapılmıştır. Kontrol hidrojeli olarak seçilen, DDS içerisinde TEMED varlığında ve 24 saatlik polimerizasyon süresi ile sentezlenmiş gNH'inde gözlenen –COOH grubu varlığı % 0.66 mol olarak tespit edilmiştir. 0.1N ve 0.2N NaOH çözeltilerinde polimerizasyon süresinin 2 haftaya kadar uzatıldığı mgNH'lerinde de hesaplanan -COOH grubu miktarları % 0.69-0.88 mol civarındadır. Elde edilen kıyaslamalı bulgular, 0.1N ve 0.2N NaOH çözelitleri içerisinde ve maksimum iki haftalık reaksiyon süreleriyle sentezlenen mgNH'lerinde hidroliz yüzdesinin geleneksel PNIPAAm hidrojellerinden farklı olmadığını göstermiştir. mkNH'leriyle yapılan kondüktometrik titrasyon sonuçları da benzer bulgular vermiştir.

Ayrıca, mgNH ve mkNH'leri ile birlikte bu hidrojellerde çapraz bağlayıcı olarak kullanılan 0.1N ve 0.2N NaOH çözeltileri ile muamele edilmiş kil örneklerinin XRD ve FTIR analizleri yapılarak, alkali polimerizasyon ortamının çapraz bağlayıcı olarak kullanılan kil yapılara ve kompozit hidrojellerin yapısal özellikleri üzerine etkileri incelenmiştir. NIPAAm esaslı ağyapılardaki amit, hidroksil, izopropil ve silanol (kompozit hidrojellerde) gibi temel fonksiyonel grupların varlığını koruduğu kanıtlanmıştır.

Biyouyumlu malzemelerin sentezinde de kullanılan hidrojellerin en dikkat çekici iki temel özelliği, mekanik özelikler ve hidrofiliklik bakımından canlı dokularla yarışan özelliklere sahip olmalarıdır. Bu tez çalışmasında, hidrojel sentezleri için, DDS yanında, literatür çalışmalarından farklı olarak 0.1N ve 0.2N NaOH çözeltileri de polimerizasyon ortamı olarak kullanılmıştır. Bu çalışmadaki sentez koşullarından 0.1N NaOH'in hidrojellerin şişme kapasitelerini koruduğu ve 30^{o}-45^{o}C aralığındaki sıkıştırma modül değerlerinde de önemli iyileşme sağladığı bulgusuna ulaşılmıştır.

mkNH'leri ve mkkNH'lerinde çapraz bağlayıcı olarak kullanılan inorganik çok fonksiyonlu kil yapıların (NIPAAm'a göre ağırlıkça %10 oranında) hidrojellerin sıkıştırma modülü değerlerini, sentez koşullarına da bağlı olarak değiştirdiği, esnekliği arttırdığı ve malzemelerin hidrofilik karakterlerini güçlendirdiği sonuçlarına ulaşılmıştır. Özellikle, ODA-MMT'nin kullanıldığı mkNH ve mkkNH'lerinde fizyolojik sıcaklık olan 37^{o}C'da incelenen sıcaklık aralığındaki en yüksek elastik modül değerleri de elde edilmiştir.

Bu tez çalışmasının temel amaçlarından bir diğeri, özellikleri değiştirilmiş geleneksel ve kompozit PNIPAAm hidrojellerine pH duyarlılığı ile birlikte antibakteriyel aktivite kazandırmaktır. Bu nedenle, herbiri birer amid türevi olan ve molekül yapısı bakımından temel bileşen olan NIPAAm'e benzerlik gösteren üç farklı komonomer; N-[3-(dimetilamino)propil]metakrilamit (DMAPMAAm), 3-(metakrilamino)propil trimetilamonyum klorür (MAPTAC) ve N,N-dimetil-N-(3-metakrilamidopropil)-N-(3-sülfopropil) amonyum betain (SBMAAm) kullanılmıştır. mgkNH'leri çapraz bağlayıcı olarak BIS, mkkNH'leri ise ODA-MMT kullanılarak sentezlenmişlerdir. mgNH'leri ve mkNH'lerinin tek eksenli sıkıştırma testlerinden elde edilen bulgular dikkate alınarak, kopolimer hidrojellerin sentezi için polimerizasyon ortamı 0.1N NaOH ve polimerizasyon süresi bir hafta olarak belirlenmiştir.

BIS ile çapraz bağlanmış eşdeğerlerine kıyasla daha düşük modül değerlerine sahip olan PNIPAAm/MAPTAC ve PNIPAAm/SBMAAm kompozit hidrojellerinin mekanik özelliklerinin iyileştirilmesi amacıyla, m(IPN)kNH'leri de sentezlenmiştir. m(IPN)kNH'lerine uygulanan tek eksenli sıkıştırma testleri, (i) PNIPAAm/DMAPMAAm IPN hidrojelin başlangıç modül değerinin, geleneksel ve kompozit PNIPAAm/DMAPMAAm hidrojelleri arasında olduğunu, buna karşılık esnekliğin ve dayanımın ise IPN hidrojelde belirgin derecede yüksek olduğunu, (ii) PNIPAAm/SBMAAm IPN hidrojelde başlangıç modül değerinin, geleneksel ve kompozit SBMAAm hidrojellerinden düşük olduğunu, ancak IPN hidrojelin geleneksel ve kompozit PNIPAAm/SBMAAm hidrojellerine kıyasla çok daha yüksek dayanıma sahip olduğunu, (iii) PNIPAAm/MAPTAC IPN hidrojellerinde ise, başlangıç modül değerlerinin geleneksel PNIPAAm/MAPTAC hidrojeline kıyasla düşük ve dayanımın ise yüksek olduğunu göstermiştir. PNIPAAm/MAPTAC geleneksel kopolimer hidrojelinde gözlenen kırılma, MAPTAC varlığında sentezlenen m(IPN)kNH'inde ortadan kalkmıştır.

Sentezlenen hidrojeller arasından seçilen örneklerin oda sıcaklığında PBS içerisindeki dinamik şişme davranışları, 30°C'daki pH'a bağlı (pH 2-12) şişme davranışları ve fizyolojik koşullardaki (37°C ve pH7.4) ilaç salım davranışları da incelenmiştir. Korsmayer-Peppas modeli başta olmak üzere, sıfırıncı mertebe, birinci mertebe, Hixon-Crowell ve Higuchi yarı(ampirik) salım modelleri ve kinetik denklemler kullanılarak hidrojellerin dinamik şişme davranışları ve ilaç salım mekanizmaları belirlenmiştir.

Bunun yanında kuvvetli katyonik MAPTAC ve pH'a bağlı olarak iyonize olabilen DMAPMAAm'i %2.5 mol oranında içeren kopolimer hidrojellerin, bu komonomerlerin etkisi ile gösterebilecekleri olası bakterisit özellikler, agar disk difüzyonu metodu (modifiye Kirby-Bauer disk difüzyonu metodu) ile *Escherichia coli* (*E.coli*)'ye karşı incelenmiştir. Özellikle gram negatif bakteri grupları üzerinde etkili bir antibiyotik olan Gentamisin kullanılarak, seçilen hidrojellerin ilaç salım özellikleri ve antibakteriyel özellikleri sırasıyla UV-Vis spektroskopisi ve agar disk difüzyonu metodu ile incelenmiştir. Hem geleneksel ve kompozit PNIPAAm hidrojelleri hem de kopolimer PNIPAAm hidrojelleri üzerine uygulanmış disk difüzyonu test sonuçları, gentamisin yüklenmiş hidrojel diskler tarafından oluşturulan inhibisyon alanı çaplarının hidrojellerin, inkübasyon sıcaklığı olan 37°C'daki modül değerleri ile ilişkili olduğunu göstermiştir. Ayrıca, DDS ve 0.1N NaOH ortamlarında sentezlenmiş mgkNH'lerinin, mgNH'lerinden (BIS/0/1 ve BIS/0.1/1) daha düşük modül değerleri ve daha geniş inhibisyon alanlarına sahip oldukları da gözlenmiştir.

mgNH, mkNH, mgkNH ve mkkNH'lerinden seçilen örnekler ile, 0.1N NaOH çözeltisi ile muamele edilmiş ODA-MMT örneklerinin hemolitik aktiviteleri, biyolojik bir membran sistemi olarak, sağlıklı insan eritrositleri kullanılarak incelenmiştir. 37°C'da 180 dakika süreyle gerçekleştirilen inkübasyon ardından, hidrojel örnekler ile temas halinde bulunan eritrositlerin % hemoliz oranları, UV-görünür alan spektrofotometre ile belirlenen absorbans değerleri kullanılarak hesaplanmıştır. Sonuçlar, incelenen mgNH, mkNH, mgkNH, mkkNH ve m(IPN)kNH örnekleri için, hemoliz oranlarının kan uyumluluğuna sahip polimerik malzemeler için kabul edilebilir en yüksek hemoliz seviyesi olan %5'in oldukça altında olduğunu göstermiştir. Çalışma kapsamında sentezlenen PNIPAAm hidrojelleri, biyomedikal alanda kullanılacak biyouyumluluğu yüksek, özellikle fizyolojik sıcaklıktaki modül ve dayanımı iyileştirilmiş malzemelerin geliştirilmesi bakımından önemli bir başlangıç çalışmasıdır.

INVESTIGATION OF SWELLING, DRUG RELEASE AND MECHANICAL PROPERTIES OF MODIFIED N-ISOPROPYLACRYLAMIDE BASED COMPOSITE HYDROGELS

SUMMARY

N-isopropylacrylamide (NIPAAm) is one of the monomers commonly used in temperature-sensitive linear and / or crosslinked polymer synthesis. In this study, several modifications were made to improve the properties of conventional poly(N-isopropylacrylamide) (PNIPAAm) hydrogels (gNH), such as altering/improving the mechanical properties, swelling, drug release and biocompatibility. These modifications are (i) the use of 0.1N and 0.2N NaOH solutions instead of distilled deionized water (DDS), which is often used in gNH synthesis as the polymerization solvent (modified conventional PNIPAAm hydrogels:mgNH), (ii) the use of inorganic multilayer smectites such as laponite (LP), Na-montorillonite (MMT) and octadecylamine montmorillonite (ODA-MMT) instead of N,N'-methylene bisacrylamide (BIS) as cross-linker (modified composite PNIPAAm hydrogels:mkNH) (iii) the use of 0.1N and 0.2N NaOH solutions as synthesis solvent and dispersion medium of the and layered silicates also function as polymerization accelerators thus removing the polymerization accelerator component (N, N, N ', N'-tetramethyl ethylenediamine- TEMED), which has frequently been used in the synthesis of conventional PNIPAAm hydrogels, from the reaction medium (iv) synthesis of modified conventional (mgkNH) and modified composite (mkkNH) PNIPAAm copolymer hydrogels using cationic and zwitterionic comonomers (modified conventional copolymer PNIPAAm hydrogels:mgkNH and modified composite copolymer PNIPAAm hydrogels:mkkNH) and (v) synthesis of mkkNHs in the form of modified full-IPNs in which sufficient modification/improvement of mechanical properties can not be provided (modified full-IPN copolymer PNIPAAm hydrogels:m(IPN)kNH). In summary, hydrogel syntheses in this thesis have been carried out in an environment in which polymerisation accelerator and organic cross-linker molecule are not present, the minimum number of organic components that may be present in the synthesis medium are present, and conditions providing the highest biocompatibility are created.

As a result of these modifications, the properties of mgNH, mkNH, mgkNH, mkkNH and m(IPN)kNHs (a) compression moduli obtained from uniaxial compression tests between 30º- 45ºC (b) V/V_o values calculated from the diameter and height measurements of hydrogel disks in the same temperature range (c) structural and morphological properties determined by XRD, FTIR, SEM-EDS and conductometric titrations (d) blood compatibility (e) antibacterial activities against E. coli (f) dynamic swelling behavior in PBS (pH 7.4) (g) pH dependent volumetric swelling (pH 2.0, 4.0, 6.0, 8.11, 9.20, 10.74 and 11.66) and (h) Gentamicin (GS) release properties were examined.

In this study, the effects of the polymerization time on the material properties of the modified PNIPAAm hydrogels were also investigated. In particular, the increase in the compression modulus values of composite hydrogels due to the duration of the synthesis has shown that the polymerization reactions continue for two weeks depending on the polymerization conditions.

In this thesis study, in order to see whether the 0.1N and 0.2N NaOH solutions preferred as polymerization medium and the long polymerization times have hydrolysing effect on NIPAAm-based hydrogels, conductometric titrations were made with selected hydrogel samples. The presence of a -COOH group of 0.66 mol% was found in the PNIPAAm/BIS hydrogel synthesized in the presence of TEMED and in 24 hours polymerization, which can be regarded as a control hydrogel. In hydrogel samples synthesized in the 0.1 and 0.2N NaOH solutions for 2 weeks -COOH group of 0.69-0.88 mol% was found. The obtained comparative findings have shown that the percentage of hydrolysis in mgNHs synthesized in 0.1N and 0.2N NaOH solutions and maximum reaction times of two weeks is not different from the conventional PNIPAAm hydrogels. Conductometric titration results with mkNHs also gave similar findings.

XRD and FTIR analyzes of conventional and composite hydrogels and clay samples treated with 0.1N and 0.2N NaOH solutions were performed. The effects of alkaline polymerization medium on the structural properties of the crosslinkers and composite hydrogels were examined and the existence of basic functional groups such as amide, hydroxyl, isopropyl and silanol (in composite hydrogels) in NIPAAm based networks were proved.

Two of the most striking features of the hydrogels used in the synthesis of biocompatible materials are their mechanical properties and their ability to compete with living tissues for hydrophilicity. In this thesis study, 0.1N and 0.2N NaOH solutions were used as the polymerization medium for hydrogel synthesis, besides DDS, different from literature studies. In this study, we have found that the synthesis conditions of 0.1N NaOH maintain the swelling capacity of the hydrogels and provide significant improvement in the compression modulus values in the range of 30°-45°C.

It has been found that inorganic multifunctional smectites, which are used as crosslinkers at a ratio of 10% by weight with respect to NIPAAm (in mkNH and mkkNH), change the compression modulus values of the hydrogels depending on the synthesis conditions, increase the flexibility and durability and strengthen the hydrophilic characteristics of the materials. PNIPAAm / DMAPMAAm, which is flexible and brittle, has become hard and durable as the cross-linking component being changed from BIS to ODA-MMT. Particularly, in the PNIPAAm homopolymer and copolymer hydrogels in which the ODA-MMT was used, the elastic modulus values at the physiological temperature of 37°C, which reached the highest values in the examined temperature range, were also obtained.

Another of the main objectives of this thesis study is to impart antibacterial activity along with pH sensitivity to modified traditional and composite PNIPAAmhydrogels. Three different comonomers that resemble NIPAAm (the key component in the molecular structure) have been used in the synthesis of the modified PNIPAAm hydrogels of the conventional and composite copolymers; N-[3-(dimethylamino)propyl]methacrylamide (DMAPMAAm), 3-(methacrylamino) propyl trimethylammonium chloride (MAPTAC) ve N,N-dimethyl-N-(3-methacrylamidopropyl)-N-(3-sulfopropyl) ammonium betaine (SBMAAm). In the

data obtained from uniaxial compression tests of mgNHs and mkNHs, the polymerization medium for the synthesis of copolymer hydrogels was determined to be 0.1N NaOH and the polymerization time was one week. mgkNHs were synthesized using BIS as crosslinker and mkkNHs were synthesized using ODA-MMT. In order to improve the mechanical properties of the PNIPAAm/MAPTAC and PNIPAAm/SBMAAm composite hydrogels, which have lower moduli than the BIS cross-linked equivalents, (m(IPN)kNH) hydrogels have also been synthesized. m(IPN)kNHs uniaxial compression tests show that (i) the initial modulus value of PNIPAAm/DMAPMAAm IPN hydrogel is between conventional and composite PNIPAAm/DMAPMAAm hydrogels, whereas the flexibility and strength is significantly higher in IPN hydrogel (ii) the initial module value of PNIPAAm/SBMAAm IPN hydrogel was lower than that of conventional and composite SBMAAm hydrogels but that IPN hydrogel had much higher strength than conventional and composite PNIPAAm/SBMAAm hydrogels and (iii) in the PNIPAAm/MAPTAC IPN hydrogels, the initial module values were lower than the conventional PNIPAAm/MAPTAC hydrogel.

Dynamic swelling behaviors in PBS at room temperature, swelling behavior at pH 30 (pH 2-12), and drug release behavior in physiological conditions (37°C and pH 7.4) were also investigated in the samples selected from the synthesized hydrogels. Dynamic swelling behaviors and drug release mechanisms of hydrogels have been determined using the Korsmayer-Peppas model, the zeroth order, the first order, Hixon-Crowell and Higuchi half (empirical) emission models and kinetic equations.

Possible bactericidal properties of copolymer hydrogels containing strongly cationic MAPTAC and pH-depending ionic DMAPMAAm at 2.5% by mol were investigated against E. coli by the agar disk diffusion method (modified Kirby-Bauer disc diffusion method). The drug release properties and antibacterial properties of selected hydrogels were examined by UV-Vis spectroscopy and agar disc diffusion method, respectively, using Gentamycin, an effective antibiotic, especially on gram negative bacteria strains. Disk diffusion test results show that the inhibition zone diameters generated by gentamicin loaded hydrogel discs are associated with module values at 37°C. It has been observed that conventional copolymer hydrogels synthesized in DDS and 0.1N NaOH media have lower modulus values and wider inhibition areas than conventional homopolymer hydrogels (BIS/0/1 and BIS/0.1/1).

Hemolytic activities of conventional and composite homopolymer PNIPAAm hydrogels at concentrations of 1 mg/ml and 5 mg/ml and ODA-MMT samples treated with 0.1 N NaOH solution were investigated using healthy human erythrocytes as a biological membrane system. After incubation for 180 minutes at 37°C % haemolysis rates of erythrocytes in contact with hydrogel specimens were calculated using absorbance values determined by UV-visible spectrophotometer. The results showed that, for the mgNH, mkNH, mgkNH, mkkNH ve m(IPN)kNH specimens studied, hemolysis rates were below 5%, the highest acceptable hemolysis level for polymeric materials with blood compatibility. The hydrogels synthesized within the scope of the study are important starting points for the development of materials with high biocompatibility to be used in the biomedical field, especially those with improved module and strength at physiological temperatures.

1. GİRİŞ

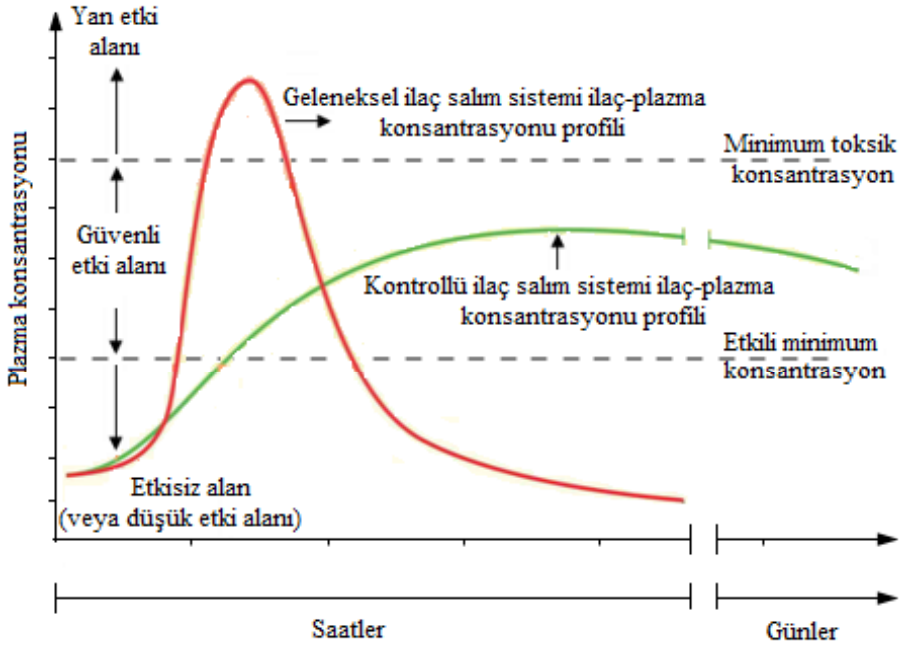
Hidrojeller, insan vücudu üzerinde kullanılmak üzere sentezlenmiş ilk biyomalzeme grubudur. Kaza ve yaralanmalara bağlı doku hasarlarının iyileştirilmesi ve doku kayıplarının tedavisinde, özellikle hidrojel esaslı polimerik malzemelerin yara örtüsü ve yapı iskelesi olarak kullanımları üzerine yapılan çok sayıda çalışma literatüre sunulmuştur [1-4]. Bu amaçlarla sentezlenen polimerlerin, kullanım yerine ve kullanım amacına uygun yapısal ve mekanik özelliklere sahip şekilde hazırlanabilmeleri üzerine çalışmalar ise halen sürmekte, var olan malzemelerin çeşitlendirilmeleri ve özelliklerinin iyileştirilmesine yönelik araştırmalar hızla devam etmektedir.

Hidrojeller, su ve biyolojik sıvı absorpsiyonu yapabilen, biyolojik koşullarda ve fizyolojik fonksiyonların devamlılığı için optimum sıcaklık olan 37°C'da [5] kullanılmaya uygun hidrofilik yapıda malzemelerdir. Bu özellikleri, hidrojelleri ilaç taşıyıcı ağyapıların tasarımı ve doku mühendisliği çalışmaları için ideal bir malzeme sınıfı haline getirir [6-8]. Bazı hidrojel malzemeler polimerizasyonun gerçekleştirileceği vücut bölgesine enjeksiyon yoluyla yerleştirilebilir [9-11]. Böylece özellikle doku mühendisliği çalışmalarında, yapı iskelesi olarak kullanılan malzeme üzerinde homojen hücre dağılımının sağlanması ve polimerizasyonun yerinde gerçekleştirilebilmesi gibi avantajlarlar elde edilmiş olur [12].

Hidrojeller, özelikle son yıllarda, suda çözünen metabolitler, besin öğeleri ve oksijen bakımından yüksek geçirgenliğe, yüksek biyouyumluluğa ve antibakteriyel özelliklere sahip şekilde, doku iskeleleri ve hücre enkapsülasyonu gibi biyomühendislik çalışmalarında tercih edilmektedirler [13-18]. Bununla birlikte hidrojeller, tarım [19] ve tekstil [20] endüstrileri ile, çeşitli biyosensör uygulamalarında [21-24] da kullanılabilmektedir.

Hidrojel esaslı polimerik malzemelerin biyomalzeme olarak bir diğer önemli kullanım alanı, tedavi süreçlerinin önemli bir bölümünü oluşturan ilaçla tedavidir. Farklı büyüklüklerdeki moleküllerin hidrojel ağyapı içerisine difüzlenebilmesi ve şebeke

içerisinden çıkabilmesi (ilaç yükleme-salım) sayesinde hidrojeller, kuru ya da şişmiş haldeki polimerik ağyapılardan oral, nasal (burun ve geniz mukozasından), bukal (ağız mukozasından), oküler (göz mukozasından), vajinal ve parenteral yollardan bir ilaç salım mekanizması ile tedaviye olanak sağlar [25]. Oral, intravenöz ya da intramusküler yollarla uygulanan geleneksel ilaç tedavilerinde, ilacın uygulanmasını takiben, kısa süre içerisinde (~2 saat) ilacın plazma konsantrasyonu maksimum seviyeye ulaşır ve ardından kan dolaşımından hızla uzaklaştırılmaya başlar (Şekil 1.1). İlaç etken maddelerinin uzaklaştırılması, ilaç etken ve destek maddelerinin karaciğer tarafından işlenmesi ve böbrekler tarafından kan dolaşımından filtrelenmesi yoluyla gerçekleşir. Geleneksel tedavide ilacın plazma konsantrasyonunun tedavi edici aralıkta kaldığı süre oldukça kısadır. İlaç konsantrasyonunu tedavi edici aralıkta tutmak için doz yinelemesi yapılması gerekmekte, bu durum da ilaç konsantrasyonunda dalgalanmalara ve hastanın ilaca karşı duyarlılığının azalmasına sebep olmaktadır [26,27].



Şekil 1.1 : Geleneksel ve kontrollü ilaç salım sistemlerinde ilaç etken maddeleri-plazma konsantrasyonu profilleri.

Geleneksel ilaç salım sistemlerine alternatif olarak tasarlanacak hidrojel esaslı ideal bir kontrollü ilaç salım sistemi, inert, hemolitik ve toksik etkiler göstermeyen, kullanılması planlanan vücut bölgesi için uygun mekanik özelliklerde, dayanıklı, yüksek miktar ilaç tutabilen, etkili ve güvenli bir salım mekanizmasına sahip, üretimi,

saflaştırılması, vücuda yerleştirimesi ve vücuttan çıkarılması kolay bir sistem olmalıdır. Bunun ötesinde, biyomedikal amaçlarla kullanılacak diğer tüm malzemeler için olduğu gibi hidrojellerin de canlı dokular ile biyouyumluluk göstermesi şarttır. Canlı organizmayı oluşturan birçok makro ve mikro birim, doğal hidrojel esaslı yapılardan, özellikle kollajen ve jelatinden oluşur [28,29]. Bu doğal polimerler, canlı dokularda hücreler tarafından bölgesel olarak salgılanan, çeşitli protein ve polisakkaritlerden oluşan hücreler arası ortam (extracellular matrix) benzeri makromoleküler özelliklere sahip olup, özel hücre malzeme etkileşimleri yaratırlar [30]. Uygulama noktasına yerleştirilen hidrojel esaslı yapı iskeleleri, dokular kendi hücreler arası ortamlarını oluşturuncaya kadar yerleştirildikleri bölgeyi mekanik yük etkisinden koruyarak, bu bölgeye hücre göçünü destekler, hücre çoğalması ve başkalaşımı için uygun mekanik ve fizyolojik koşulları oluşturur.

Yüksek su tutma kapasiteleri ile esnek ve yumuşak oluşları sayesinde hidrojeller, diğer sentetik biyomalzemeler ile karşılaştırıldıklarında, fiziksel özellikler bakımından canlı dokuları başarılı şekilde taklit edebilme yeteneğine sahiptirler. İlaveten hidrojel yüzeyi ile sulu çözelti arasındaki düşük yüzeyler arası gerilim, hidrojelin özellikle vücut sıvılarından protein adsorplama eğiliminin düşük olmasına sebep olmaktadır [31]. Bu sayede vücut içerisine yerleştirilen hidrojel ile temas halinde bulunan proteinin katalik aktivitesi olumsuz etkilenmeyecektir [32]. Bu durum hidrojellerin biyomalzemeler olarak kullanılabileceği yönündeki ilgiyi arttırmaktadır. Bunun yanında hidrojeller, proteinlerin katalitik aktivitelerini zayıflatmamaları sayesinde aynı zamanda çeşitli hastalıkların tedavisi ve doku mühendisliği alanlarında protein taşıyıcı olarak da kullanılabilmektedir. Bu tip çalışmalarda proteinler, hidrojel ağyapıya çeşitli mekanizmalar ile yüklenebilir. Ağyapıya tutunma fiziksel etkileşimler ile gerçekleşebileceği gibi, kovalent bağlanma yoluyla da gerçekleşebilir ve ağyapıya tutunmuş proteinler, değişik ilaç ve hormonlar, katalitik aktiviteleri zayıflamaksızın, difüzyon, şişme, degradasyon veya bir fiziksel uyaranın (pH, sıcaklık vs.) etkisi ile ağyapıdan salınır [33-35]. Salım, mekanizmasına bağlı olarak farklı salım kinetikleri çerçevesinde gerçekleşir.

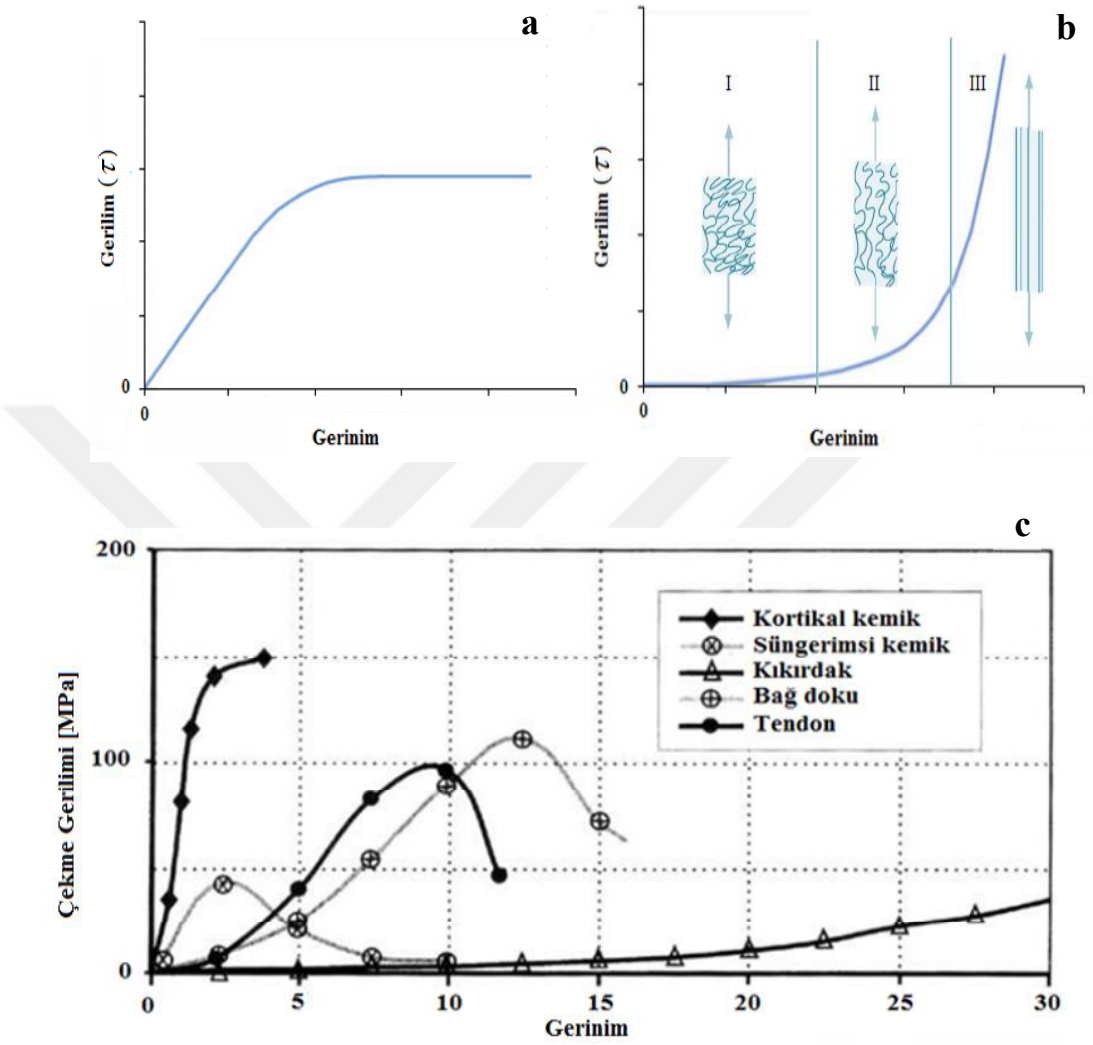
Çeşitli mekanizmalar ile dış uyaranlara karşı şişme-büzülme, saydam ya da opak görünüme kavuşma gibi fiziksel tepkiler vererek, fizyolojik sıcaklık ve pH'da özellikle biyolojik sıvılardan absorpsiyon yapabilmeleri, hidrojelleri kontrollü ilaç salımı ve

doku mühendisliği gibi biyolojik uygulamalarda kullanılabilecek birer malzeme haline getiren başlıca avantajlardır.

Kontrollü ilaç salım sistemleri, yara örtüleri, yumuşak doku implantları gibi biyomedikal uygulamalara yönelik malzemelerin kullanım amacına uygun yapısal, mekanik ve biyolojik özelliklere sahip şekilde hazırlanmaları bir diğer önemli gerekliliktir. Diğer bir ifade ile, yara örtüleri ve yumuşak doku mühendisliği çalışmalarında kullanılacak hidrojel yapılı sentetik polimerik malzemelerin, yüksek miktarda su ve biyolojik sıvı absorpsiyonu yapabilme, esneklik, yumuşaklık gibi özellikler bakımından canlı dokular ile yarışan özelliklere sahip olma yanında, canlı yumuşak doku benzeri mekanik özelliklere de sahip olmaları ve uygulanan mekanik etki ile yapısal bütünlüklerini koruyabilmeleri gerekir. İlaveten birçok potansiyel uygulama alanı için, minimum yapısal heterojenlik ve yüksek optik geçirgenlik ile birlikte, özellikle sıcaklık uyaranına karşı yüksek cevap hızına sahip polimer şebekeleri istenmektedir [36]. Özellikle klinik uygulamalarda, hidrojelin tüm bu özellikler ile birlikte aynı zamanda yumuşak doku benzeri modül ve esnekliğe de sahip olması gereklidir.

Bir hidrojel ağyapının mekanik özelliklerini tanımlayan en temel parametrelerden biri, denge halindeki yapının tek eksenli çekme ve sıkıştırma testlerinden elde edilen Young modülü değerleridir. Young modülü, malzemenin, üzerine uygulanan kuvvete karşı ne şekilde tepki verdiğinin, diğer bir ifadeyle uygulanan kuvvet karşısındaki deformasyon davranışının göstergesidir. Organizmayı oluşturan farklı dokular farklı mekanik özelliklere sahip olmakla birlikte (Şekil 1.2), izotropik değildir. Örneğin kemikler, sertlikleri yüksek dokulardır ancak kollajen liflerin daha ziyade kemiğin uzunluğu boyunca yönlenmiş olması sebebiyle, uygulanan kuvvete karşı oldukça dar bir aralıkta elastik cevap verebilirler ve uzunlukları doğrultusunda daha dayanıklıdırlar. Buna karşılık cilt epidermis, dermis ve oldukça viskoz ve yumuşak bir tabaka olan hipodermis olmak üzere üç temel heterojen tabakadan oluşan kompleks bir yapıdır. Dermis bir kollajen ağyapı içerisine gömülü elastik zincirler ve lenfatik elementlerden oluşur. Dermis, kısmen keratinize ve üst tabakaya göç sırasında kısmen dehidrate olmuş bir epidermal tabaka ile kaplıdır. Her bir cilt tabakası yaş, cilt bölgesi ve hidrasyona bağlı olarak farklı kalınlıktadır [37]. Dermis bölgesindeki elastin iplikler, gerilen ciltte, uygulanan kuvvete karşı elastik bir başlangıç davranışı gözlenmesine sebep olurken, artan germe, kollajen ipliklerin gerilmesine ve germeye karşı cildin

direnç göstermeye başlamasına sebep olur. Bu noktada cilt germeye karşı daha fazla esneyemez. Bu sebeple cilt gerilim-gerinim eğrisi (Şekil 1.2 (b)), kemik gerilim-gerinim eğrisinden (Şekil 1.2 (a)) oldukça farklıdır [38,39].



Şekil 1.2 : (a) Kemik ve (b) cilt için gerilim-gerinim eğrileri ile, (c) çeşitli vücut dokularına ait çekme gerilimi değerleri.

Farklı kemik dokular ile kıkırdak doku gerilim-gerinim eğrilerinin birarada verilmiş olduğu Şekil 1.2 (c)'de, kıkırdak dokunun cilt dokusuna benzer şekilde düşük başlangıç modülü değerleri ile birlikte, kemik dokuya kıyasla çok daha esnek bir yapıya sahip olduğu görülmektedir.

Literatüre sunulmuş olan çeşitli çalışmalarda, cilt dokusunun, bükme (torsion) testleri için 0.42MPa - 0.85MPa [40,41], vakum testleri için 0.05MPa - 0.15MPa [42-44] ve çekme testleri için 0.2 - 7.8MPa aralığında değişen Young modülü değerlerine sahip olduğu tespit edilmiştir [45]. Çizelge 1.1'de, farklı cilt bölgelerine iki farklı hızda ve

iki farklı doğrultuda uygulanan sıkıştırma testlerinden elde edilmiş Young modülü değerleri verilmiştir.

Çizelge 1.1 : Faklı cilt bölgelerine farklı hız ve doğrultularda uygulanan sıkıştırma testlerinden elde edilmiş Young modülü değerleri.

Cilt Bölgesi	Sıkıştırma Hızı ($mm.s^{-1}$)	~Young Modülü [MPa]	Kaynak
Abdomen	0.83	14.96	[46]
Alın	3	14 (boyuna) 140 (enine)	[47]
Sırt	2	83.3	[48]
Abdomen	0.16	4.02	[45]

Hidrojel esaslı sentetik malzemeler, mekanik özelliklerin kontrol edilebilir ve tekrarlanabilir şekilde uygulama alanına göre değiştirilebilmesi ve malzemelerin farklı özelliklere (porozite, uyarıya cevap hızı, hidrofilite, degradasyon süresi vs.) sahip şekilde sentezlenebilmeleri gibi avantajlara sahiptir.

N-alkilakrilamitlerden ve diğer çeşitli fonksiyonel gruplar (–OH, –COOH ve $–SO_3H$) taşıyan vinil monomerlerinden (etilen glikol, akrilik asit, 2-akrilamido-2-metilpropan sülfonik asit vs.) sentezlenen hidrojeller, polimerik ağ yapının üç boyutlu halini koruyarak su absorpsiyonu yapabilen, yumuşak ve uyarıya duyarlı malzemeler olarak, Wichterle ve Lim tarafından ilk sentetik hidrojel malzemenin sentezinden [49] günümüze kadar olan sürede oldukça büyük ilgi çekmiştir.

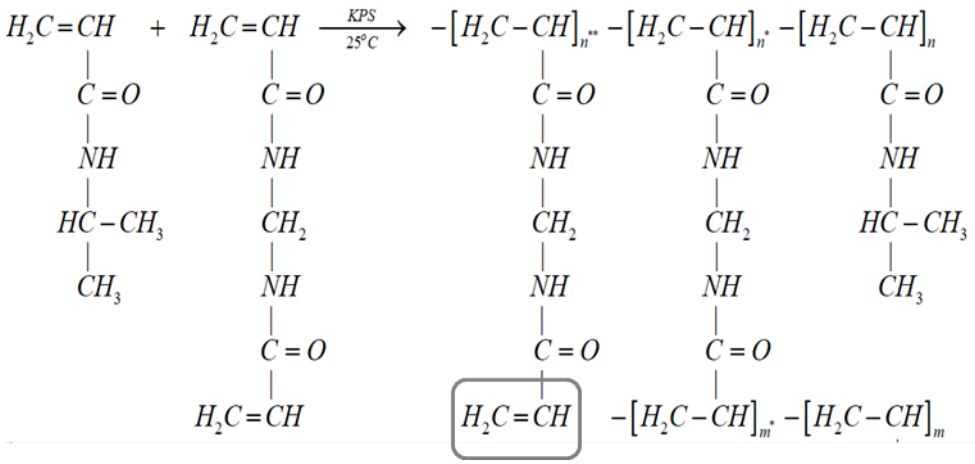
N-alkilakrilamit grubunun önemli bir üyesi olan N-izopropilakrilamit (NIPAAm), hidrofilik amit (O=C-NH) ve hidrofobik izopropil ($-CH(CH_3)_2$) gruplarını birarada bulunduran molekül yapısı sayesinde, sulu çözelti içerisinde sıcaklığa bağlı ters çözünürlük davranışı sergileyen bir polimer olan poli(N-izopropilakrilamit) (PNIPAAm) oluşturan nötral bir monomerdir. Sıcaklık uyaranı etkisi ile hidrofilik halden hidrofobik hale geçişin gerçekleştiği bu sıcaklık, düz zincirli PNIPAAm polimerleri için alt kritik çözelti sıcaklığı (Lower Critical Solution Temperature - LCST) olarak isimlendirilirken, çapraz bağlı polimer için, hacim faz geçiş sıcaklığı (Volume Phase Transition Temperature - VPTT) olarak tanımlanır. Polimer zincirlerinin mikro yapısal özelliklerine bağlı bu geçiş, PNIPAAm homopolimeri için vücut sıcaklığına oldukça yakın bir değer olan, 32°-34°C aralığında gerçekleşir [50]. Bu özellik, NIPAAm esaslı doğrusal ve çapraz bağlı polimerleri tıbbi ve biyomedikal uygulamalar açısından dikkat çekici hale getirmektedir.

Hidrojeller, yaygın şekilde, serbest radikal katılma polimerizasyonu mekanizması ile sentezlenirler. Yöntemde, hidrofilik monomerler ile çok fonksiyonlu çapraz bağlayıcılar, reaksiyon ortamında çözünmüş bir termal başlatıcı ve polimerizasyon hızlandırıcısının oluşturduğu redoks sistemi varlığında kopolimerizasyon/çapraz bağlanma reaksiyonları ile hidrojel ağyapılar oluşturur. Hidrojel ağyapıların sentezinde bir diğer yöntem, elektron bombardımanı ya da gamma ışınları gibi yüksek enerjili iyonize edici kaynakları başlatıcı olarak kullanmaktır [51]. Sulu polimer çözeltilerinin yüksek enerjili radyasyona maruz bırakılması ile, doğrusal polimer zinciri üzerinde radikalik merkezler oluşabileceği gibi, sulu çözelti içerisinde oluşacak OH^* radikalleri de polimer zincirlerine atak ederek çapraz bağlanma reaksiyonlarını başlatabilir [52]. Hidrojeller, sentez çözücüsü içerisinde çözünmüş monomer ve başlatıcıyı içeren polimerizasyon çözeltilerinden çözelti polimerizasyonu tekniği ile sentezlenebilecekleri gibi, kütle ve süspansiyon polimerizasyonu teknikleri ile de sentezlenebilirler. Sadece monomer ve monomer içerisinde çözünen başlatıcıların kullanıldığı kütle polimerizasyonu tekniğinde yüksek monomer konsantrasyonundan kaynaklanan yüksek polimerizasyon hızı ve yüksek polimerizasyon dereceleri elde edilirken, oldukça hızlı ilerleyen ekzotermik polimerizasyon reaksiyonları, polimerizasyon karışımının viskozite ve sıcaklık değerlerinde ani yükselişlere sebep olabilmektedir [53]. Hidrojeller ayrıca, monomer ve başlatıcıyı içeren sulu çözelti organik faz içerisinde süspanse edilerek, mikro kürecikler şeklinde de sentezlenebilir [54]. Hidrojellerin süspansiyon polimerizasyonu tekniği ile sentezinde, monomer çözeltisinin viskozitesi, karıştırıcı tipi ve karıştırma hızı, hidrojel mikro küreciklerin şeklini ve boyutunu etkileyen temel parametrelerdir [53]. İlaveten süspansiyon polimerizasyonu tekniği ile hidrojel sentezinde, süspansiyon kararlılığını sağlamak amacıyla sabit karıştırma hızına ilaveten sorbitan monooleat [55], sodyum dodesil sülfat [56] gibi süspansiyon oluşturucu kimyasal maddelerin de polimerizasyon ortamında bulunması sebebiyle, polimerizasyon reaksiyonu sonunda bu maddelerin üründen uzaklaştırılması da gerekir.

NIPAAm esaslı hidrojellerle ilgili olarak literatüre sunulmuş çok sayıdaki çalışmada sentez, destile deiyonize su (DDS) ya da organik çözücüler içerisinde serbest radikal katılma polimerizasyonu mekanizması ile yani çözelti polimerizasyonu ile gerçekleştirilmiştir. DDS, metanol, etanol gibi polar çözücüler ile benzen, 1,4-dioksan, tetrahidrofuran (THF), gibi apolar organik çözücülerin veya bu çözücülerden oluşan

karışımların reaksiyon ortamı olarak kullanıldığı çalışmalarda, potasyum persülfat (KPS), amonyum persülfat (APS), azobis(izobütironitril) (AIBN), benzoil peroksit ve lauril peroksit gibi termal başlatıcılar ile polimerizasyon hızlandırıcısı N,N,N',N'-tetrametiletilendiamin (TEMED)'in oluşturduğu redoks çiftleri kullanılmıştır.

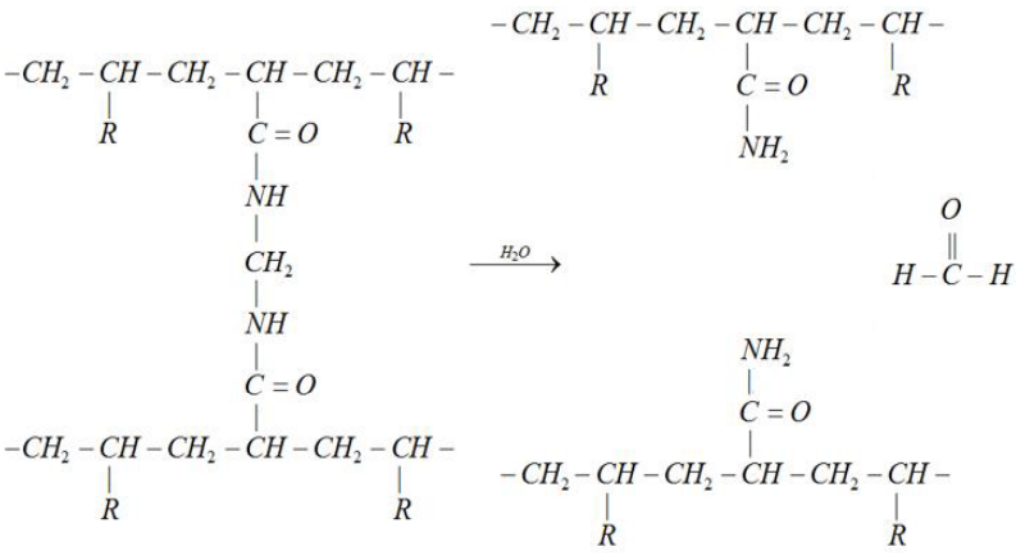
Geleneksel PNIPAAm hidrojellerinin serbest radikal katılma polimerizasyonu yöntemiyle sentezlenmelerinde, ağ yapıdaki temel bileşen olan NIPAAm tekrarlayan birimine benzer molekül yapısı nedeniyle, en sık kullanılan organik çapraz bağlayıcı N,N'-metilenbisakrilamit (BIS) olmuştur. BIS ve benzeri en az iki vinil grubu taşıyan organik bir çapraz bağlayıcının bulunduğu monomer çözeltilerinden serbest radikal katılma polimerizasyonu mekanizması ile sentezlenen hidrojeller, yapısal özellikler bakımından heterojen ve mekanik özellikler bakımından kısmen zayıf olup, düşük şişme değerleri ile düşük uyarıya cevap hızlarına sahiptirler [57-60]. Geleneksel hidrojellerin zayıf yapısal ve mekanik özellikleri temelde, polimerizasyon sıcaklığına, çapraz bağlayıcı olarak kullanılan organik molekülün türüne ve konsantrasyonuna bağlı olarak, polimerizasyon esnasında gerçekleşen gelişi güzel çapraz bağlanmanın bir sonucudur. İlaveten çapraz bağlayıcı miktarındaki artışla mekanik dayanımın yükseldiği bilinmektedir [61].



Şekil 1.3 : BIS varlığında sentezlenen PNIPAAm hidrojelinde kısmen reaksiyona girmiş çapraz bağlayıcının şematik gösterimi.

Ancak, güçlü hidrojel ağyapıları elde etmek için artan miktarda kullanılan çapraz bağlayıcı bileşenler, aynı zamanda toksik etkili kimyasallardır. Dolayısıyla mekanik dayanımı yükseltmek için çapraz bağlayıcı miktarını arttırmak, çapraz bağlayıcı olarak kullanılan organik bileşiklerin toksik etkileri göz önüne alındığında avantajdan ziyade bir dezavantajdır. Bu sebeple, özellikle biyolojik uygulamalar için sentezlenen

hidrojellerde, son uygulamadan önce ortamda reaksiyona girmeden kalmış olabilecek çapraz bağlayıcının ve monomerlerin hidrojelden uzaklaştırılması gerekir. Fakat kısmen reaksiyona girmiş çapraz bağlayıcının (Şekil 1.3) tamamen ortamdan uzaklaştırılması mümkün değildir [62]. İlaveten, organik çapraz bağlayıcı varlığında sentezlenmiş bir ağyapı, yerleştirildiği vücut bölgesinde, degradasyon süresi boyunca organik çapraz bağlayıcının bozunmasından kaynaklanan toksik moleküller de oluşturabilir [63]. Literatür çalışmaları, BIS'in formaldehit oluşumu ile sonlanan bir hidroliz reaksiyonu sonucu (Şekil 1.4) bozunabildiğini ifade etmektedir [64,65].



Şekil 1.4 : BIS'in formaldehit oluşturmak üzere hidrolizi ve reaksiyon ürünleri.

Organik çapraz bağlayıcılar varlığında sentezlenen geleneksel hidrojellerin toksik içeriklerinin azaltılması yanında, yine temelde organik çapraz bağlayıcı kullanımından kaynaklanan zayıf mekanik özelliklerinin de geliştirilmesi amacıyla literatüre sunulmuş çeşitli çalışmalar mevcuttur. Siklodekstrin benzeri serbest şekilde hareket edebilen "sekiz şeklinde" (freely movable figure-of-eight crosslinks) bileşenlerin kullanılması ile hareketli çapraz bağlanma noktalarının oluşturulduğu bazı çalışmalarda, ağyapının yüksek esneklik (boyca ~20 kat), yüksek şişme özellikleri (ağırlıkça ~24.000 kat) ile birlikte oldukça düşük Young modülü değerleri gösterdiği ifade edilmiştir [66-70].

PNIPAAm hidrojellerin mekanik özelliklerinin iyileştirilmesi ve organik çapraz bağlayıcıların varlığından kaynaklanabilecek toksik etkilerin ortadan kaldırılmasında izlenebilecek bir diğer yol, polimerizasyon ortamına çapraz bağlayıcı olarak organik küçük moleküller yerine inorganik çok tabakalı kil yapılar ilave etmektir. Kil

tabakaları üzerinde oluşan radikalik merkezler ve bu merkezler üzerinden ilerleyen bir polimerizasyon ile kil tabakalarının fiziksel özellikleri ve yüzey yüklerinden yararlanılarak bir çapraz bağlanma oluşturulur. Bu şekilde, kil tabakalarının geri dönmeyen kuvvetli fiziksel etkileşimler ile birarada tuttulduğu bir ağyapı elde edilir. Böylece, hidrojel malzeme üzerine uygulanan kuvvet, kil tabakalarının hareketi ile tüm yapıya dağılır ve esneklik artışı yanında malzemenin dayanıklılığına da katkıda bulunur [71,72].

PNIPAAm hidrojellerinin mekanik özelliklerinin iyileştirilmesinde bir diğer yaklaşım kendi kendini onarabilen ağyapıların sentezidir. Haraguchi ve çalışma grubu tarafından, su ortamında KPS/TEMED redoks çifti varlığında LP-XLG kullanarak sentezlenen poli(dimetilakrilamit) (PDMAAm) ve PNIPAAm kompozit hidrojel yapıların kendiliğinden iyileşme (self-healing) özelliği gösterdiği ifade edilmiştir. Çalışmada kompozit hidrojeller üzerindeki mekanik hasarın, herhangi bir iyileştirici ajana (healing agent) ihtiyaç olmasızın, düşük sıcaklık değerlerinde (oda sıcaklığı) ve sadece fiziksel temasın sağlanması ile ortadan kalktığı belirtilmiştir [73].

Esnek ve yumuşak oluşları yanında hidrofilik özellikleri sayesinde canlı dokuları başarıyla taklit edebilme özelliği sergileyen hidrojeller, aynı zamanda anyonik ve/veya katyonik çeşitli küçük moleküllerin ve enzimlerin kontrollü absorpsiyon ve salımını sağlayabilen ilaç taşıyıcı sistemler olarak da kullanılabilirler [74, 75]. Suda potasyum persülfat (KPS)-potasyum pirosülfat (KPyroS) redoks çifti ve N,N'-metilenbisakrilamit (BIS) çapraz bağlayıcısı ile poli(NIPAAm/itakonik asit) kopolimer hidrojellerin hazırlandığı bir literatür çalışmasında [76], sentezlenen hidrojel patojen bir mantar olan *Candida rugosa*'dan elde edilmiş lipaz ile yüklenerek, hidrojelin gastrointestinal sistem pH ve sıcaklık koşullarının simüle edildiği ortamdaki davranışı ile enzim salım kinetiği incelenmiştir. Hidrojel ağyapılara, gümüş ya da metal oksit nano parçacıklar ile kuaterner grupları taşıyan çeşitli moleküller de ilave edilebilir [77-80]. Bu şekilde antimikrobiyal özellikler de kazanan hidrojeller, gıda endüstrisi ile medikal uygulamalarda önemli kullanım alanları bulmaktadır.

DDS içerisinde KPS(APS)/TEMED redoks çifti ile BIS varlığında ve VPTT altındaki sıcaklık değerlerinde sentezlenen geleneksel PNIPAAm hidrojelleri, yüksek şişme oranları/düşük büzülme hızları, opak görünümleri ve zayıf mekanik özellikleri sebebiyle sınırlı kullanım alanına sahiptir. Bu çalışmada, yüksek büzülme hızı ile birlikte yüksek modül değerlerine, biyouyum ve kan uyumluluğu özelliklerine,

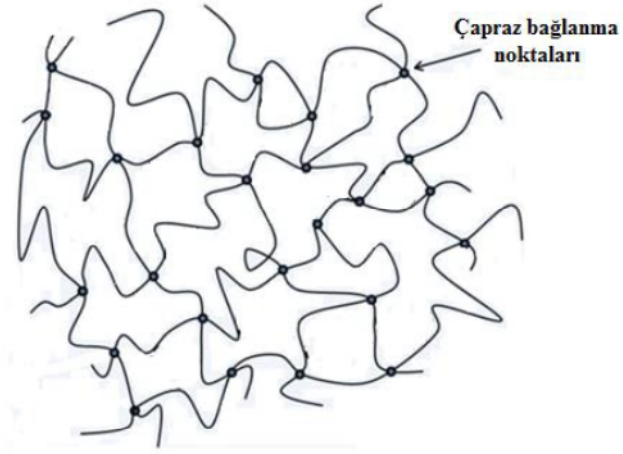
iyileştirilmiş şişme ve ilaç salım özelliklerine sahip modifiye PNIPAAm hidrojelleri (mNH) elde etmek amacıyla, sentez çözücüsünün türü ve bileşiminde çeşitli modifikasyonlar yapılmıştır. Sentez çözücüsü olarak kullanılan DDS'in 0.1N ve 0.2N NaOH çözeltileri ile değiştirilmesi ve NaOH'in aynı zamanda reaksiyon hızlandırıcısı olarak kullanılması çalışmadaki ilk ve temel modifikasyondur. gNH'ler üzerine yapılan bir diğer önemli modifikasyon, çapraz bağlayıcı olarak kullanılan organik molekülün (BIS) ağyapıdan çıkarılması, bunun yerine farklı özelliklerde üç tip inorganik çok tabakalı kilin (LP, MMT ve ODA-MMT) kullanılmasıdır. Sentez çözücüsü, sentez süresi, polimerizasyon hızlandırıcısı ve çapraz bağlayıcı bileşenin değiştirilmesi yoluyla modifiye edilen geleneksel PNIPAAm hidrojellerinin (gNH), sıcaklığa bağlı modül değerleri, pH ve sıcaklık duyarlılıkları, dinamik şişme ve ilaç salım davranışları, antibakteriyel özellikleri ve kan uyumlulukları ile diğer yapısal özelliklerinin ne ölçüde değiştiği/iyileştiği araştırılmıştır. Çalışma kapsamında 43 farklı hidrojel sentezlenmiş, bunlar arasından seçilen örneklerin, FTIR, XRD ve SEM-EDS yöntemleriyle yapısal karakterizasyonları da gerçekleştirilmiştir. İlaveten, moleküler yapı bakımından NIPAAm'a benzer olan hidrofilik özellikli üç farklı tip komonomer kullanılmasının ağyapı özelliklerinde yarattığı farklanma, gNH, mgNH ve mkNH'lerle kıyaslamalı olarak incelenmiş, mekanik özellikler bakımından öngörülen iyileşmenin sağlamadığı kopolimer hidrojeller, tam-IPN'leri şeklinde de sentezlenmiştir.

Literatüre sunulmuş olan bu çalışma, PNIPAAm/BIS ve PNIPAAm/kil hidrojellerin sentezi için polimerizasyon çözücüsü ve polimerizasyon hızlandırıcısı olarak NaOH çözeltilerinin (0.1N ve 0.2N) kullanılmış olması, böylece VPTT'si fizyolojik sıcaklığa (37°C) ulaşmış ve modül değerleri oldukça yüksek hidrojeller sentezlenebilmiş olması bakımından ilktir.

2. TEORİK KISIM

2.1. Polimerik Jeller ve Hidrojeller

Polimerik jeller; kovalent bağlı polimer zincirlerinden oluşan kimyasal olarak çapraz bağlı jeller veya polimer zincirlerinin hidrojen bağları, Van der waals etkileşimleri, elektrostatik etkileşimler gibi ikincil kuvvetler ile birarada tutulduğu fiziksel jeller olarak iki sınıfa ayrılırlar [81]. Hidrojel ağ yapıyı oluşturan polimer zincirlerinin –OH, –COOH, $–CONH_2$ ve $–SO_3H$ gibi hidrofilik özellikli gruplar taşıyan monomerlerin biraraya gelişi ile oluşması, tüm ağ yapıya hidrofilik özellik kazandırır ve yapı hidrojel olarak isimlendirilir [82]. Çapraz bağlı hidrojel ağ yapının şematik olarak gösterimi Şekil 2.1 ile verilmiştir. Hidrofilik gruplar ile su arasında kurulan hidrojen bağları sayesinde su ve biyolojik sıvılar içerisinde yüksek miktarda çözücü absorpsiyonu yapan hidrojeller, aynı zamanda, polimer zincirlerini birarada tutan fiziksel veya kimyasal etkileşimler sayesinde yapısal bütünlüklerini muhafaza ederler.



Şekil 2.1 : Çapraz bağlı hidrojel ağ yapısının şematik gösterimi.

Yapısal bütünlüklerini kaybetmeksizin yüksek miktarda su tutabilme kapasiteleri yanında esnek ve yumuşak oluşları ile hidrojeller, diğer sentetik biyomalzemeler ile karşılaştırıldıklarında, fiziksel özellikler bakımından canlı dokuları başarılı şekilde taklit edebilme yeteneğine de sahip bir polimer grubudur. Bunun ötesinde, yüksek su

içerikleri ile hidrojeller, uygulandıkları bölgelerde ciddi bağışıklık sistemi reaksiyonları oluşturmazlar ve canlı hücrelere yüksek uyum gösterirler [83].

2.2. Flory-Rehner Teorisi, Hidrojel Ağyapıyı Tanımlayan Özellikler ve Bu Özellikleri Etkileyen Parametreler

Hidrojellerin çözücü absorpsiyonu yoluyla isotropik şişmesi termodinamik açıdan Flory-Rehner teorisi ile açıklanır [84,85]. Teoriye göre; saf, amorf ve serbest haldeki (unstrained) polimer zincirlerinin saf çözücü ile karışması sırasındaki serbest enerji değişimi (ΔG),

- polimer zincirleri ile çözücünün karışmasından kaynaklanan serbest enerji değişimi ΔG_{mix},

- ağyapı zincirlerinin elastik deformasyonundan kaynaklanan serbest enerji değişimi ΔG_{el} ve

- ağyapıyı oluşturan polimer zincirleri üzerinde iyonik grupların bulunması durumunda, elektrostatik etkileşimlerin varlığından kaynaklanan serbest enerji değişimi ΔG_i terimlerinin toplamına eşittir.

$$\Delta G = \Delta G_{mix} + \Delta G_{el} + \Delta G_i \tag{2.1}$$

İyonik bileşen taşımayan bir hidrojel ağyapının çözücüsü ile birarada bulunduğu halde ise, sistemin toplam serbest enerji değişimi aşağıdaki şekilde ifade edilir.

$$\Delta G = \Delta G_{mix} + \Delta G_{el} \tag{2.2}$$

Hidrojelin içerisinde bulunduğu çözücü ortamındaki çözünen moleküllerinin difüzyon hızları ve ağyapı içerisindeki hareketlilikleri, absorplanan çözücü miktarına, ağyapıyı oluşturan polimer zincirlerinin esnekliklerine ve zincirler arası mesafelere bağlıdır. Diğer bir ifade ile, şişmiş haldeki bir hidrojel ağyapıyı tanımlayan en önemli parametreler, şişmiş haldeki polimerin hacim kesri (υ_{2s}), çapraz bağlanma noktaları arasındaki polimer zincirlerinin ortalama molekül ağırlığı ($\overline{M}_c$) ve ardışık çapraz bağlanma noktaları arası mesafe (por çapı)'dır (ξ) [86-88].

Şişmiş haldeki polimerin hacim kesri olarak tanımlanan ve kuru haldeki polimer hacminin (V_r) şişmiş jel hacmine (V_s) oranı olarak da ifade edilebilen υ_{2s}, ağ yapının içerisinde tutulabilecek çözücü miktarını tanımlar. İfade aynı zamanda Q_v ile ifade

edilen hacimce şişme oranının matematiksel olarak tersidir. Eşitlikler matematiksel olarak aşağıdaki şekilde ifade edilir [89-91].

$$\upsilon_{2s} = \frac{V_r}{V_s} = \upsilon_{2r}\left(d_o/d\right)^3 = Q_v^{-1} \tag{2.3}$$

Çalışmamızda, sentez sonrası polimerin hacim kesri (υ_{2r}), sentez sonrası polimer hacminin $V_{(p)}$ sentez sonrası çözücü hacmine $V_{(s)}$ oranı olarak hesaplanmıştır.

$$\upsilon_{2r} = \frac{V_{(p)}}{V_{(s)}} \tag{2.4}$$

Çapraz bağlanma noktaları arasındaki polimer zincirinin ortalama molekül ağırlığı, hidrojelin çapraz bağ yoğunluğu (ν_e) ile ilgili olup,

$$\overline{M}_c = \frac{\rho_{polimer}}{\nu_e} \tag{2.5}$$

şeklinde ifade edilir ve hidrojelin şişme davranışı, sertliği gibi fiziksel özellikleri ile ilişkilidir. Kuru PNIPAAm ağyapısının yoğunluk değeri, $\rho_{polimer}$, 1.1 $g.ml^{-1}$ olarak alınmıştır.

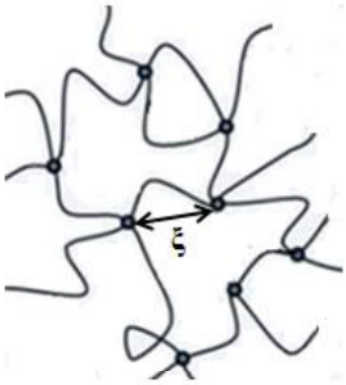
Sentez sonrası polimerin hacim kesri (υ_{2r}), deneysel olarak bulunan şişme değerlerinden hesaplanan υ_{2s} ve sabit sıcaklıkta gerçekleştirilen tek eksenli sıkıştırma testlerinden elde edilen çapraz bağ yoğunluğu (ν_e) değerlerinden yararlanılarak, polimer çözücü etkileşim parametresi (χ), Eşitlik 2.6 ile hesaplanır [92].

$$\chi = -\left[\ln\left(1-\nu_{2s}\right) + \nu_{2s} + \nu_e V_1 \nu_{2r}\left\{\left(\frac{\nu_{2s}}{\nu_{2r}}\right)^{1/3} - \frac{2}{f}\left(\frac{\nu_{2s}}{\nu_{2r}}\right)\right\}\right] / \nu_{2s}^{\,2} \tag{2.6}$$

$$\nu_e = \frac{G}{\left(1-\frac{2}{f}\right)RT\nu_{2s}^{1/3}\nu_{2r}^{2/3}} \tag{2.7}$$

Hidrojel ağyapıların tanımlanmasında kullanılan bir diğer parametre olan ξ, ardışık çapraz bağlanma noktaları arası mesafe, ya da por çapı (mesh size) olarak tanımlanır. ξ, Eşitlik 2.8 ile verilmiş ve Şekil 2.2 ile şematik olarak gösterilmiştir [93]. Eşitlikte $\left(\overline{r_0^2}\right)^{1/2}$, komşu çapraz bağlanma noktaları arasındaki mesafelerin kareleri ortalamasının

karekökü (root-mean-squared end to end distance) olarak tanımlanır [94,95] ve matemetiksel olarak Eşitlik 2.9 ile ifade edilir. Eşitlikte l bağ uzunluğu, N_b bağ sayısı ve C_n polimer zincirleri üzerindeki gerçek bağların (sınırlı bağ açıları ve sterik etkiler) sebep olduğu ideal zincirden sapmayı tanımlayan Flory karakteristik oranıdır. Uzun polimer zincirleri için C_n değerine yapılabilecek makul bir yaklaşım Eşitlik 2.10 ile verilmiştir [93]. Eşitlikte θ, ardışık bağlanma noktaları arasındaki açıdır.



Şekil 2.2 : Ardışık çapraz bağlanma noktaları arası mesafe, ξ .

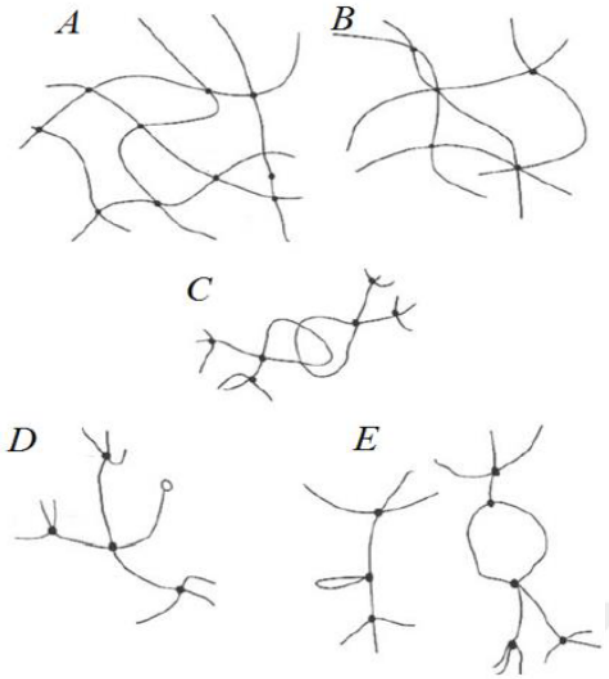
$$\xi = \nu_{2s}^{-1/3}\left(\overline{r_0^2}\right)^{1/2} = Q^{1/3}\left(\overline{r_0^2}\right)^{1/2} \tag{2.8}$$

$$\left(\overline{r_0^2}\right)^{1/2} = l\left(C_n N_b\right)^{1/2} \tag{2.9}$$

$$C_\infty = \frac{1+\cos\theta}{1-\cos\theta} \tag{2.10}$$

Por çapı da çapraz bağ yoğunluğu gibi, mekanik dayanım, difüzyon özellikleri ve bozunma gibi fiziksel özellikleri belirleyen temel bir faktör olup, pH, sıcaklık, iyonik şiddet değişimleri gibi dış uyaranların etkisi altındadır [94].

İdeal bir hidrojel ağyapı (Şekil 2.3 A) dört fonksiyonlu bir çapraz bağlayıcının varlığında sentezlenir. Ancak ağ yapı içerisinde aynı zamanda, çoklu çapraz bağlanma noktaları (Şekil 2.3 B) ve geçici ya da kalıcı moleküler dolaşıklıklar (Şekil 2.3 C) da bulunabilir. Reaksiyona girmemiş zincir uçları (Şekil 2.3 D) ve halka oluşumları (Şekil 2.3 E) da karşılaşılabilecek moleküler kusurlardan olup, ağyapının fiziksel ya da mekanik özelliklerine katkı sağlamazlar.



Şekil 2.3 : Hidrojel ağyapısı. A) dört fonksiyonlu çapraz bağlayıcı varlığında oluşan ideal ağyapı, B) çoklu çapraz bağlanma, C) moleküler dolaşıklıklar, D) reaksiyona girmemiş zincir uçları, E) halka oluşumları.

2.3. Hidrojellerin Sınıflandırılmaları

Hidrojeller doğal kaynaklı ve sentetik olmak üzere iki temel sınıfta incelenebilecekleri gibi, polimer zincirlerini birarada tutarak yapıyı çözünmekten alıkoyan ve tek bir büyük makromolekül gibi davranmasını sağlayan çapraz bağlanmaların fiziksel ya da kimyasal oluşuna, hazırlanma yöntemlerine, polimer zincirlerini oluşturan birimlerin yük durumlarına ve uyarıya duyarlılık özeliklerine göre de sınıflanabilirler. Sentetik polimerler doğal polimerlere kıyasla daha hidrofobik ve mekanik olarak daha dayanıklı olmakla birlikte [96], moleküler düzetde uygun hale getirilmiş biyofonksiyonlara ve ayarlanabilir mekanik özelliklere sahip şekilde de tasarlanabilmektedirler [97].

2.3.1. Hidrojellerin Sentez Yöntemlerine Göre Sınıflandırılması

Hidrojeller, homopolimer, kopolimer ve içiçe geçmiş ağyapılı (IPN-Interpenetrating Network) olmak üzere üç ana sınıfta incelenirler.

Homopolimer hidrojeller, tek tip hidrofilik monomer ünitesinin kovalent bağlar aracılığıyla ardarda sıralandığı, çapraz bağlı polimer zincirlerinden oluşan ağyapılardır [98].

Kopolimer hidrojeller en az biri hidrofilik karakterde olmak üzere iki farklı tip monomerin sıralı, blok ya da rastgele dizilmeleri ile oluşurken IPN'ler, polimerik boyutta içiçe geçmiş iki ya da daha fazla sayıda polimer şebekesinin birarada olduğu, birbirlerine kimyasal bağlarla bağlı olmamalarına karşın birbirlerinden ayrılmayan, polimerik ağ yapılar bütünüdür. [99]. IPN'ler bir doğrusal polimer çözeltisi içerisinde dağıtılmış ikinci bir monomer, çapraz bağlayıcı ve başlatıcının varlığında sentezlenebilecekleri gibi (yarı-IPN), birinci monomer çapraz bağlayıcı ve başlatıcı ile, evvelden hazırlanmış çapraz bağlı bir polimer şebekesi içerisine ikinci monomer ve çapraz bağlayıcıyı içeren çözeltinin difüzlenmesi ve ardından başlatıcı varlığında gerçekleştirilecek polimerizasyon ile de sentezlenebilirler (tam-IPN). Tam içiçe geçmiş ağyapılarda, her iki polimerik yapı da ayrı ayrı çapraz bağlı olup, birbirleri ile etkileşim içerisindedir. IPN'lerde her bir polimerik yapı kendine ait yapısal özellikleri korur ve ağyapı birlikteliği ile yaratılan sinerjik etki sonucu, bireysel polimer zincirlerine kıyasla yapısal özellikler bakımından iyileşmiş bir içiçe geçmiş ağyapılar bütünü elde edilir [100]. Örneğin, 2-akrilamido-2-metilpropan sülfonik asit (AMPS) ve akrilamitten (AAm) BIS varlığında PAMPS/PAAm tam-IPN hidrojelinin sentezlendiği bir çalışmada [101], tam-IPN'ler PAMPS ve PAAm tek ağyapıları ile sıkıştırma modülleri bakımından kıyaslanmışlardır. PAMPS ve PAAm tek ağyapıları için sırasıyla 0.4MPa ve 0.8MPa sıkıştırma modül değerlerine ulaşılan çalışmada, PAMPS/PAAm tam-IPN hidrojel için 17.2MPa'lık bir sıkıştırma modülü gözlenmiştir.

2.3.2. Hidrojellerin Tekrarlayan Birimlerin Yük Durumuna Göre Sınıflandırılması

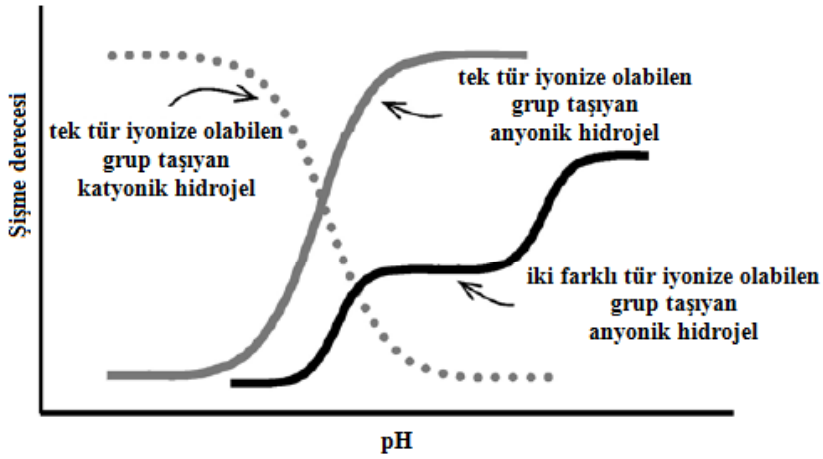
Hidrojeller ağyapıyı oluşturan polimer zincirleri üzerindeki tekrarlayan birimlerin yük durumuna göre, nötral, iyonik ve amfolitik hidrojeller olmak üzere üç grupta incelenirler.

pH'a bağlı bir iyonizasyon davranışı göstermeyen (nötral) hidrofilik monomer ünitelerinin oluşturduğu polimerik ağyapılar nötral hidrojeller olarak tanımlanırlar. Nötral hidrojellerde şişme, sadece ağyapıyı oluşturan monomer birimlerinin kimyasal yapısına bağlıdır. Nötral hidrojeller homopolimerik ya da kopolimerik yapıda olabilirler.

Yapısında iyonik gruplar taşıyan hidrojellerde ise şişme, sadece ağyapıyı oluşturan monomer birimlerinin kimyasal yapısına değil, aynı zamanda hidrojelin içerisinde

bulunduğu ortamın pH değerine de bağlıdır. Bununla birlikte, yüklü polimer zincirleri ile hareketli iyonlar arasındaki etkileşim de iyonik hidrojellerin şişme prosesi üzerinde etkili bir diğer parametredir. İyonik hidrojeller, nötral hidrojellere kıyasla daha hidrofilik bir yapıya sahip olup, daha yüksek miktarda çözücü absorplarlar.

Anyonik hidrojeller, iyonize olabilen gruplarının pKa değerinden daha yüksek pH değerine sahip çözücü ortamlarında deprotone olurlar. Bunun aksine, katyonik hidrojellerde, iyonize olabilen gruplar pKb değerlerinden daha düşük pH değerine sahip çözücü ortamlarında protone olarak hidrojelin şişme derecelerini yükseltirler. Sentezde kullanılan iyonik monomerlerin fiziksel ve kimyasal yapılarına bağlı olarak, hidrojellerin pH-şişme derecesi eğrileri, iyonize olabilen monomerlerin pKa/pKb değerlerine yakın pH noktalarında kendisini gösteren bir ya da birden fazla dönüm noktasına sahip olabilir (Şekil 2.4) [102].

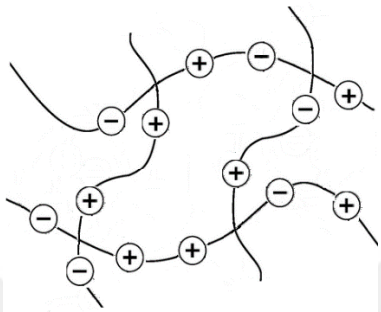


Şekil 2.4 : İyonik hidrojellerde pH'a bağlı şişme davranışının şematik gösterimi [102].

pH duyarlılığına sahip hidrojeller, yapay kas dokusu tasarımlarında [103-105], intravasküler ilaç salım sistemlerinde [106], kötü tada sahip ilaçlarda tat maskeleyici olarak [107] kullanılabilmektedir. İlaveten kuvaterner amonyum [108,109], fosfonyum [110] veya piridinyum [111] gibi katyonik gruplar taşıyan polimerler, negatif yüklü bakteri hücre zarı ile etkileşerek, kuvvetli antibakteriyel etkiler de gösterirler.

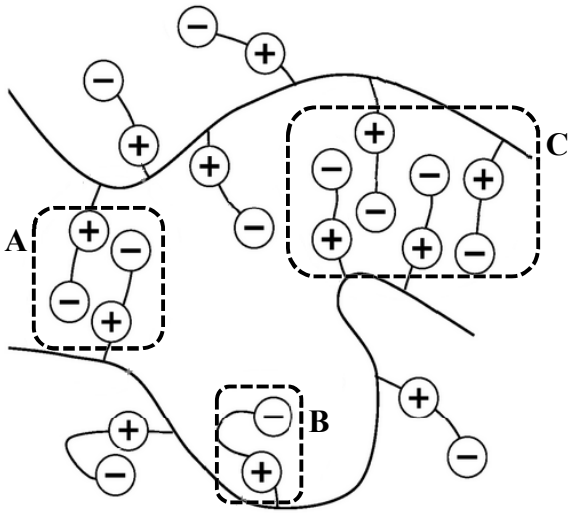
Poliamfolit hidrojeller, çapraz bağlı polimerik ağyapılar olup, zincir üzerinde pozitif ve negatif yüklü monomer üniteleri taşırlar (Şekil 2.5). Katyonik ve anyonik gruplara sahip monomerler yanında yapı nötral bir monomer de içerebilir. Poliamfolit

hidrojellerin fiziksel özellikleri üzerinde etkili en önemli parametrelerden biri pozitif ve negatif yüklü monomer ünitelerinin bağıl konsantrasyonudur. Poliamfolit hidrojeller genellikle zayıf asidik ve zayıf bazik özellik gösteren monomer birimlerinden oluşur ve izoelektrik noktaya sahiptir [112]. Bir monomer ünitesi üzerindeki net yük ise, asit ve baz dissosiasyon sabitlerinin değerlerine bağlıdır. Dolayısıyla ağyapı bileşimine bağlı olarak, fiziksel özellikler bakımından geniş bir çeşitliliğe sahip poliamfolit hidrojeller sentezlenebilmektedir [113].



Şekil 2.5 : Poliamfolit hidrojel yapısının şematik gösterimi.

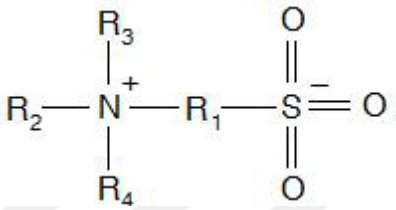
Zwitteriyonik hidrojellerde ise, poliamfolit hidrojellerden farklı olarak, aynı monomer birimi üzerinde hem pozitif hem de negatif yüklü bölgeler mevcuttur. Bu bölgeler Şekil 2.6 ile verilen zwitteriyonik hidrojel yapısı üzerinde işaret edilmiş olan kısa ve uzun mesafeli moleküller arası etkileşimler ile birarada bulunabilirler.



Şekil 2.6 : Zwitteriyonik hidrojel yapı ve temel yapısal etkileşimlerin şematik gösterimi. A. moleküller arası kısa mesafeli etkileşim, B. molekül içi etkileşim, C. moleküller arası uzun mesafeli etkileşim [114].

Zwitteriyonik hidrojellerin tersinir şişme büzülme davranışları, entropi temelli kısa ve uzun mesafeli moleküller arası etkileşimler ile molekül içi etkileşimlerin bir dengesi olarak tanımlanmıştır [115,116].

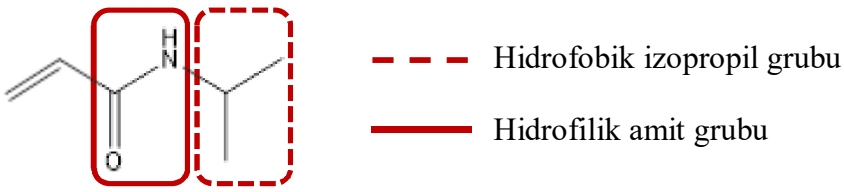
Zwitteriyonik yapılı tekrarlanan birimlerden oluşan polibetainler, pozitif ve negatif yüklü grupların aynı monomer ünitesinin ardışık olmayan bölgelerinde bulunduğu ve negatif yüklü monomer bölgesine eşlik eden bir H^+ iyonunun bulunmadığı yapılardır. Şekil 2.7'de sülfobetain fonksiyonel grubu şematik olarak gösterilmiştir [114].



Şekil 2.7 : Sülfobetain yapısının şematik gösterimi.

Fosfobetain, sülfobetain veya karboksibetain yinelenen birimlerinden oluşan zwitteriyonik polimerler, oldukça yüksek plazma proteini dirençleri sayesinde, yeni nesil biyoyapışmaz malzemeler olarak büyük ilgi çekmektedirler [117-121]. Wu ve arkadaşları [122] tarafından yapılan çalışmada, poli(sülfobetain metakrilat)'ın (PSBMA) doku implantlarında ve insan kan hücreleri ile temas halinde olacak yüzeylerde kullanılacak etkili ve kararlı bir biyoyapışmaz malzeme olarak sentezi gerçekleştirilmiştir. Literatüre sunulmuş olan bir diğer çalışmada, zwitteriyonik SBMA ile sıcaklık duyarlılığına sahip noniyonik PNIPAAm'den sulu çözeltide hem LCST hem de UCST davranışı gösterebilen doğrusal bir kopolimer sentezlenmiştir [123]. Çift sıcaklık duyarlılığına sahip bu zwitteriyonik-noniyonik kopolimer farklı komonomer konsantrasyonları ile sentezlenmiş, bu sentezler arasından poli(SBMA/NIPAAm) 50:50 (ağırlıkça) kopolimerinin 1°-15°C aralığında zwitteriyonik bileşenin moleküller arası etkileşimlerinden kaynaklanan fiziksel jel oluşturduğu görülmüştür. 15°-35°C aralığında suda çözünmüş halde bulunan sistem, 35°C üzerine ısıtıldığında, PNIPAAm zincirleri arasındaki etkileşimin baskın hale gelmesi ile tekrar fiziksel jel oluşturmaktadır. Kopolimer LCST değerinin PNIPAAm homopolimerine kıyasla daha yüksek olduğu ve LCST'nin artan SBMA yüzdesi ile yükseldiği, çalışmada vurgulanan önemli noktalar arasındadır.

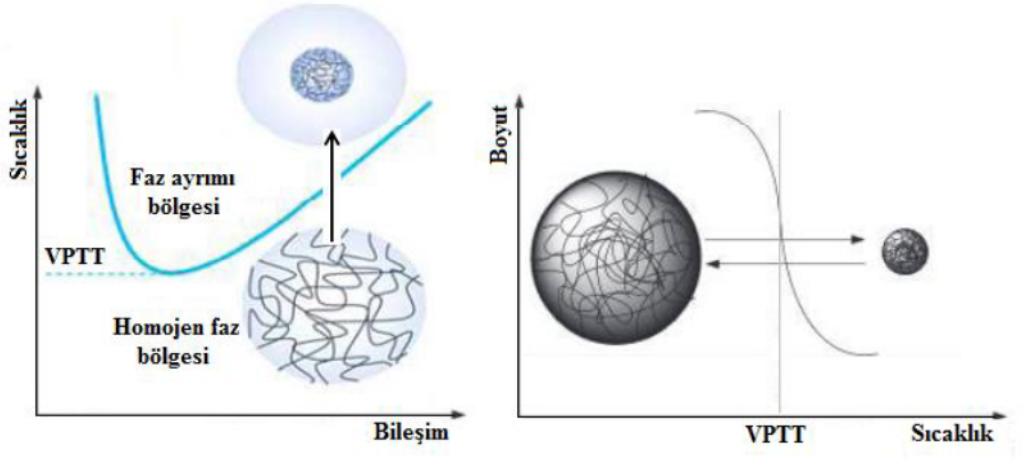
2.4. Hidrojellerde Uyarıya Duyarlılık ve Geleneksel PNIPAAm Hidrojelleri



Şekil 2.8 : N-izopropilakrilamit (NIPAAm) molekül yapısı.

N-izopropilakrilamit, N-alkilakrilamit grubu içerisinde sıcaklığa duyarlı hidrofilik polimerlerin sentezlenmesinde kullanılan bir monomer olarak öne çıkan bir yapıdır. NIPAAm uygun reaksiyon koşullarında, "hacim faz geçiş sıcaklığı" (Volume Phase Transition Temperature – VPTT) olarak isimlendirilen ve vücut sıcaklığına oldukça yakın bir değer olan 32° - 34°C'da hacim faz geçişi gösteren bir homopolimer olan poli(N-izopropilakrilamit) (PNIPAAm) oluşturur [124]. Sulu çözeltilerinde ters çözünürlük davranışı sergileyen PNIPAAm'in şişmiş halden büzülmüş hale geçmesi, ağyapıdaki hidrofilik ve hidrofobik bölgeler arasındaki etkileşime kuvvetle bağlıdır [.

N-izopropilakrilamit, hidrofilik amit ve hidrofobik izopropil olmak üzere iki zıt özellikli grubu aynı anda yapısında barındırmaktadır (Şekil 2.8). VPTT'nin altındaki sıcaklık değerlerinde, PNIPAAm izopropil grupları, birbirlerine hidrojen bağları ile bağlı durumda bulunan su molekülleri tarafından çevrelenmiş durumdadır. Hidrofobik hidrasyon olarak da isimlendirilen bu durumda, düzenli halde bulunan su moleküllerinin azalmış entropisi ile su molekülleri arasındaki hidrojen bağı oluşumunun entalpiyi yükseltici etkilerinin bir dengesi söz konusudur. Sıcaklığın yükselmesi hidrojen bağlarının kırılmasına ve izopropil gruplarını çevrelemiş su moleküllerinden oluşan kafesin bozulmasına sebep olur. Süreç, birbirine komşu izopropil grupları arasındaki hidrofobik etkileşimlerin baskın hale gelmesi ile devam eder ve VPTT noktasına ulaşıldığında ağyapıdaki PNIPAAm zincirleri şişmiş (random coil) halden büzülmüş (globule) hale geçerek bir konformasyon değişimine uğrar [125]. Bu noktada, VPTT altında homojen tek bir faz olarak gözlenen sistem, polimerce zengin faz ve çözücü fazı olmak üzere ikiye ayrılır (Şekil 2.9) [126,127].



Şekil 2.9 : Sıcaklığa duyarlı polimerlerde VPTT'nin şematik gösterimi [126,127].

Homopolimer PNIPAAm hidrojeli için 32º - 34ºC'da gözlenen faz geçişi, NIPAAm'in hidrofobik özellikli komonomerler ile polimerizasyonundan elde edilen kopolimer hidrojellerde daha düşük iken, hidrofilik özellikli komonomerler, kopolimerde daha yüksek hacim faz geçiş sıcaklığının gözlenmesine sebep olmaktadır [128-130]. Literatüre sunulmuş olan bazı çalışmalarda, hidrofilik komonomer miktarının yeteri kadar yüksek olması halinde, PNIPAAm hidrojelinde hacim faz geçişi davranışının tamamen kaybolacağı ifade edilmektedir [131].

Messersmith ve F. Znidarsich [132] tarafından literatüre sunulmuş olan bir diğer çalışmada ise, PNIPAAm hidrojel sentezi, sulu Na-MMT süspansiyonu içerisinde, çapraz bağlayıcı olarak BIS kullanarak ve oda sıcaklığında gerçekleştirilmiştir. Araştırmacılar, ağırlıkça %3.5 oranında Na-MMT içeren PNIPAAm hidrojelinde, modifiye edilmemiş geleneksel NIPAAm/BIS hidrojeline benzer şekilde ~32ºC'da bir hacim faz geçişi gözlendiğini, ağırlıkça %10 oranında Na-MMT kullanılarak sentezlenen PNIPAAm hidrojelinde ise ölçülebilir bir hacim faz geçiş sıcaklığı tespit edilemediğini ifade etmişlerdir. Çalışmada elde edilen sonuç, smektit grubu inorganik çok tabakalı hidrofilik bir kil yapı olan Na-MMT'nin geleneksel NIPAAm/BIS hidrojeline olan kuvvetli hidrofilik katkısını vurgulamaktadır.

2.5. Kompozit PNIPAAm hidrojelleri

PNIPAAm hidrojelleri, literatüre sunulmuş olan çalışmaların büyük kısmında, DDS içerisinde, BIS gibi bir organik çapraz bağlayıcının varlığında ve serbest radikal katılma polimerizasyonu yöntemi ile sentezlenmiştir [133]. Bu şekilde sentezlenen geleneksel PNIPAAm hidrojellerinin (gNH), şişme oranları, optik saydamlıkları,

modül değerleri ve yüzey özelliklerinde [134-136], hacim faz geçiş sıcaklığına ulaşıldığında belirgin bir değişim gözlenebilmekle birlikte, geleneksel sentez yöntemi ile hazırlanan hidrojellerin kullanım alanlarını kısıtlayan, gözardı edilemeyecek birtakım dezavantajlar da söz konusudur. Bu dezavantajlardan bazıları, yapısal heterojenlik, mekanik özelliklerin zayıflığı, düşük şişme değerleri ve düşük uyarıya cevap hızları gözlenmesidir [137]. Geleneksel hidrojellerin tüm bu zayıf yapısal ve mekanik özellikleri temelde polimerizasyon sırasında gerçekleşen gelişi güzel çapraz bağlanmanın bir sonucudur. Nakamoto ve çalışma ark. [138], PNIPAAm hidrojellerindeki heterojenliği, jelin sentez ortamı basıncının bir fonksiyonu olarak ve dinamik ışık saçılımı yöntemi ile incelemişlerdir. Çalışmada, sentez basıncının artması ile saçılan ışık şiddetinin arttığı ve PNIPAAm hidrojellerinin artan sentez basıncı ile bir faz ayrımı gösterdikleri, buna karşılık doğrusal PNIPAAm çözeltisinde herhangi bir faz ayrımı olmadığı gözlenmiştir. Oppermann ve arkadaşları [139] ise, statik ışık saçılımı yöntemi ile, polimer hacim fraksiyonu 0.05−0.09 aralığında olan PNIPAAm hidrojellerinde, yapısal heterojenliğin, artan sentez sıcaklığı, artan monomer konsantrasyonu ve artan çapraz bağlayıcı konsantrasyonu ile kuvvetli bir artış gösterdiğini gözlemişlerdir.

Çapraz bağlayıcı olarak kullanılan organik moleküllerin sentez ortamındaki konsantrasyonlarının artışıyla jelin mekanik dayanımının yükseldiği bilinmektedir. Ancak, güçlü hidrojel yapıları elde etmek için artan miktarda kullanılan çapraz bağlama vasıtaları jelin modül değerlerini ve sertliği yükseltmekle birlikte, çözücü absorplama kapasitesini düşürmekte [140], bunun yanında dayanımını da azaltmaktadır [141]. İlaveten, NIPAAm tekrarlayan birimine benzer molekül yapısı nedeniyle, PNIPAAm hidrojellerinde çapraz bağlayıcı olarak en yaygın şekilde kullanılan BIS başta olmak üzere, organik çapraz bağlayıcıların toksik etkili kimyasallar oldukları da bilinmektedir. Dolayısıyla hidrojellerin mekanik dayanımlarını yükseltmek amacıyla kullanılan organik çapraz bağlayıcı miktarını arttırmak, avantajdan ziyade bir dezavantajdır.

Hidrojellerin zayıf mekanik özelliklerinin geliştirilmesine yönelik çeşitli çalışmalar literatüre sunulmuştur. Bunlar arasında, çapraz bağlayıcı olarak siklodekstrin benzeri serbest şekilde hareket edebilen "sekiz şeklinde" bileşenlerin kullanılması ile polimer zincirleri üzerinde hareketli çapraz bağlanma noktaları oluşturulması, polimer zincirlerinin hızlı hareketi ile malzeme üzerinde hasar oluşumuna sebep olabilecek

stresi azaltacak ikinci bir polimer şebekesinin ağ yapıya dahil edilmesi yani iç içe geçmiş ağ yapıların (IPN) oluşturması öne çıkan yaklaşımlardır [142-144]. Üçüncü bir yaklaşım ise, çok foksiyonlu bir inorganik yapının çapraz bağlayıcı olarak kullanıldığı bir sistemde, monomer ve başlatıcı varlığında gerçekleştirilen polimerizasyon ile nanokompozit hidrojeller elde etmektir. Bu yöntemde polimer zincirleri nano boyutlu tanecikler ya da tabakalar arasında köprüler kurar ve böylelikle bir ağyapı oluşur. Nanokompozit hidrojeller, sentezlerinin kolay oluşu yanında, oldukça iyi mekanik ve optik özellikler ile yüksek çözücü absorplama yeteneğine sahiptirler [145]. Bununla birlikte, literatüre sunulmuş çeşitli çalışmalar, BIS ve inorganik çok tabakalı kil yapıların birarada kullanımı ile sentezlenmiş hidrojellerin mekanik özellikler bakımından, kıyaslandıkları kompozit hidrojellere göre daha zayıf olduklarını ifade etmektedir [146,147].

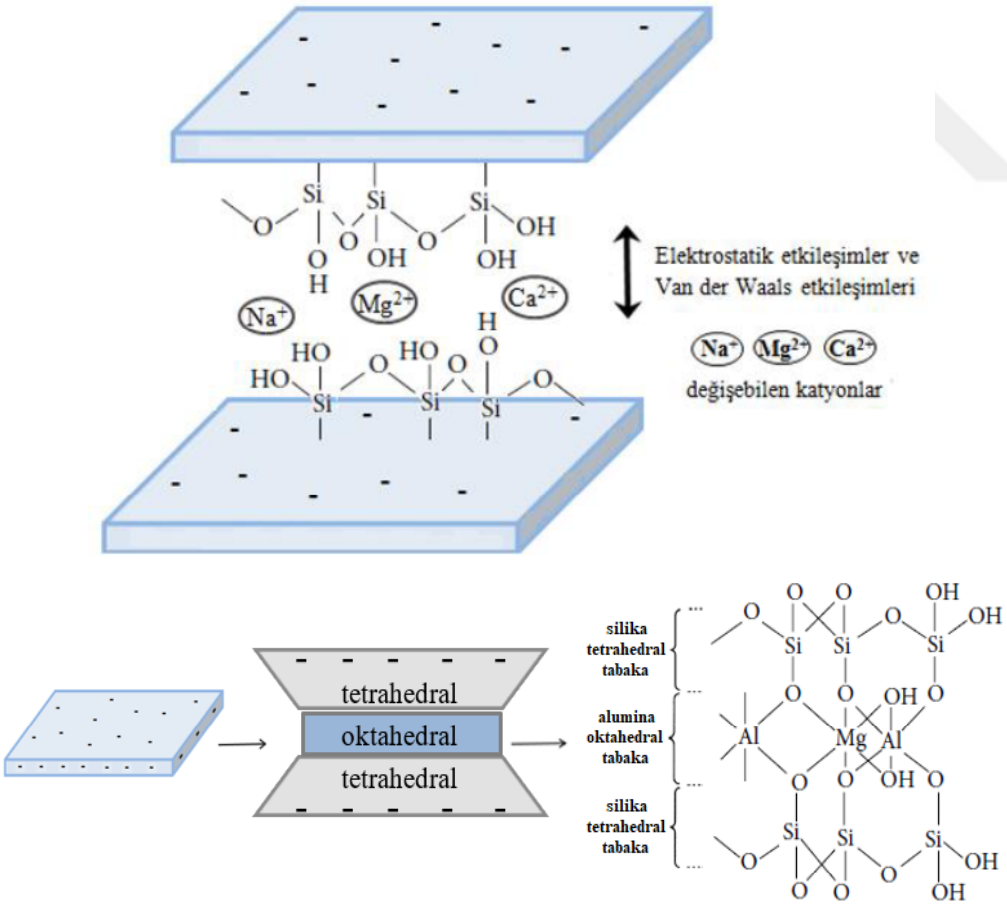
Killer, geniş yüzey alanları ve yüksek mekanik kararlılıkları sayesinde, hidrojel nanokompozitlerin sentezinde çapraz bağlayıcı olarak kullanılmaya oldukça uygundur. Başta Haraguchi ve çalışma grubu olmak üzere, özellikle son on yılda nanokompozit hidrojeller üzerine yapılan çalışmalar yoğunlaşmış ve nanokompozit hidrojeller elde etmek üzere, ağırlıklı olarak Laponit (LP) (sentetik hektorit) ve bir kısım çalışmada da, bir organik çapraz bağlayıcının da varlığında sodyum-montmorillonit (Na-MMT) gibi hidrofilik özellik gösteren smektit grubu kil yapıları kullanılmıştır. Smektit grubu killer (Şekil 2.10), bir silisyum atomunun dört oksijen atomu ile çevrelendiği tetrahedral (T) tabakalar ile bir alüminyum ya da magnezyum atomunun sekiz oksijen atomu ile çevrelendiği oktahedral (O) levhalardan oluşan tabakalı yapılardır. Yapıda, tabakaları bir arada tutan elektrostatik ekileşimler ve van der Waals kuvvetleri kısmen zayıf olup, tabakalar arası mesafe tabakalar üzerindeki yük yoğunluğu, tabakalar arasındaki katyonların çapları ve kilin hidratasyon derecesine bağlıdır.

Literatüre sunulmuş olan bu tez çalışmasında, inorganik çapraz bağlayıcı olarak, herbiri birer smektit yapısı olan, üç farklı çok tabakalı kil kullanılmıştır. Bunlar; sodyum montmorillonit (Na-MMT), oktadesilamin ile yüzey modifikasyonu (%30-35) gerçekleştirilmiş montmorillonit (ODA-MMT) ve bir sentetik hektorit yapısı olan laponittir (LP).

2.6. İnorganik Çok Tabakalı Smektit Yapılar ve Kompozit Hidrojel Sentezinde Çapraz Bağlayıcı olarak Kullanımları

2.6.1. Sodyum montmorillonit (Na-MMT)

Smektit grubu killerde tetrahedral ve oktahedral tabakalar (Şekil 2.10), oksijen atomlarını paylaşmak suretiyle bir arada tutulurlar [148]. Na-MMT'de oktahedral tabakalardaki Al^{3+} iyonlarının Mg^{2+} veya Fe^{2+} iyonları ile yer değiştirmesi kil tabakaları üzerinde negatif yüklü bölgeler oluşturur [149,150]. Bu şekilde tabakalar arasına çeşitli moleküllerin girişi kolaylaşır ve MMT, antikanser [151-153], antibiyotik [154], anestezik [155], antidepresan [156] ve antihistaminik [157] özellikli çeşitli ilaç molekülleri ile, özellikle gen transferi çalışmalarında aminoasitler [158] ve DNA için [159] taşıyıcı olarak kullanılabilir. Ayrıca kil tabakaları organik moleküllerin tabakalar arasına girişi ve katyon değişimi yoluyla organik olarak da modifiye edilebilirler.

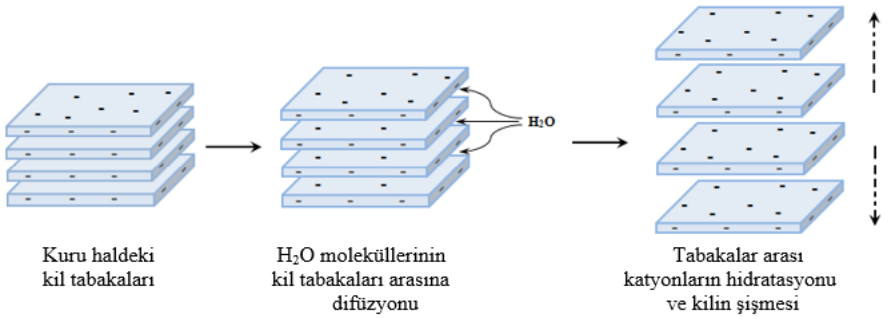


Şekil 2.10 : Smektit grubu killerde TOT tabakalı yapının şematik gösterimi.

Kil tabaka yüzeylerindeki negatif yüklü bölgelere ilaveten, tabaka uçlarında Al-OH ve Si-OH gruplarının varlığından kaynaklanan polar bölgeler de mevcuttur. Kil tabaka uçlarında bulunan ve amfoterik olarak kabul edilen bu bölgeler çözücünün pH değerine bağlı olarak pozitif ya da negatif şekilde yüklenebilirler [160];

$$\text{Asitli ortamda}: Al-OH + H^{+} \rightarrow Al-OH_2^{+}$$
$$\text{Bazik ortamda}: Al-OH + OH^{-} \rightarrow Al-O^{-} + H_2O$$
$$Si-OH + OH^{-} \rightarrow Si\text{-}O^{-} + H_2O$$

Kil tabaka uçlarında pH'a bağlı olarak gerçekleşen iyonizasyon sonucu oluşan bu yüklü grupların birbirlerine uygulayacakları elektrostatik itme, kil tabakalarının çözücü ortamında birbirlerinden ayrılmalarını ve tabakalar arası katyonların hidrate olmalarını sağlayarak kilin şişmesini kolaylaştırır (Şekil 2.11). Smektit grubunda kil tabakalarını birarada tutan elektrostatik etkileşimler ve van der Waals kuvvetleri zayıf olduğundan tabakalar arası mesafe, katyon çapları ve hidratasyon derecesine bağlıdır. Özellikle hidrate durumdaki tabakalar arası mesafe ve oldukça zayıf tabakalar arası kuvvetler, polimerizasyon ortamında bulunan başta monomerler olmak üzere diğer tüm moleküllerin tabakalar arasına girişine olanak sağlar, bu durum tabakalı yapının daha da genişlemesi ve nihayetinde her bir kil tabakasının birbirinden ayrılması ile sonuçlanır [161].



Şekil 2.11 : Kil tabakalarının sulu çözeltide birbirlerinden ayrılmaları.

MMT, inert, toksik ve alerjik etkileri düşük bir inorganik yapıdır [162]. Gümüş nitrat ($Ag(NO_3)$) ile muamele edilmiş MMT K10'un amonyak çözeltisi içerisinde hidrazin hidrat ile indirgenmesinden elde edilen ürünün ve gümüş nanopartiküller (Ag^o) taşıyan MMT'nin (Ag^o-MMT) toksik etkilerinin incelendiği bir çalışmada [163], Ag^o-MMT, 5mg ve 20 mg'lık dozlar halinde sıçan peritonu (karın zarı) içerisine enjekte edilmiş ve bağışıklık sistemi tepkileri incelenmiştir. Tuzlu fosfat tampon (PBS) ve MMT enjeksiyonu yapılmış deneklerin kontrol grubu olarak kullanıldığı çalışmada, tüm

denekler için 4 günlük izleme süresi boyunca gelişimin normal seyirde olduğu, anormal klinik bulgu ve davranışın gözlenmediği belirtilmiştir. İzleme süresi sonunda deneklerin bağışıklık sistemi tepkilerinin ölçüsü olan plazma hücresi (beyaz kan hücresi) sayıları aşağıdaki şekildedir.

Çizelge 2.1 : Ag^o-MMT ile muamele edilmiş deneklerde kan plazma hücresi sayılarındaki değişimler [163].

Örnek	Hücre sayısı	Fark (Kontrol faresine kıyasla)
Kontrol faresi	1.0×10^7	-
MMT	6.4×10^7	6.4 kat artış
Ag^o-MMT (düşük doz)	96.0×10^6	6.6 kat azalma
Ag^o-MMT (yüksek doz)	3.2×10^6	20 kat azalma

Çalışmada, MMT'ye karşı oluşan bağışıklık sistemi tepkisinin MMT'nin enjekte edildiği bölgede kalmış olmasının sonucu olarak ortaya çıkmış olabileceği belirtilmiştir. Polimerik implantlar tarafından salınan 10μm'den daha büyük çaplı partiküllerin, salımın gerçekleştiği bölgede birikime sebep olduğu bilinmektedir [164]. Ag^o-MMT için bağışıklık sistemi tepkisi gözlenmemesinin Ag^o nanopartiküllerin sitokin salgılanmasındaki destekleyici etkisinden kaynakladığı belirtilirken, izleme süresi sonunda hiçbir denekte enjeksiyonu yapılan maddelerin nörotoksik etkilerini gösterir bulguya rastlanmamıştır.

$Na_{0.19}K_{0.20}Ca_{0.04}(Mg_{0.36}Fe_{0.10}Al_{1.14})Si_4O_{10}(OH)_2$ genel formülüne sahip Na-MMT, kararlı olmayan biyoaktif molekülleri zorlu biyolojik koşullara karşı koruyarak, kontrollü şekilde salımlarını sağlayacak ve bu şekilde etkinliklerini arttıracak bir inorganik taşıyıcı olarak, literatüre sunulmuş çeşitli çalışmalarla incelenmiştir. Bu çalışmalarda, MMT'nin diğer inorganik taşıyıcılarla kıyaslandığında daha düşük toksik etkiye sahip olduğu ifade edilmektedir [165].

Geniş spektrumlu bir antimikrobial olan oksitetrasiklin'in (OXT) sindirim sistemindeki biyouyumluluğunu arttırıcı bir taşıyıcı sistem olarak, kitosan-MMT (CS-MMT) nanokompozitlerinin sentezlendiği bir çalışmada CS ve MMT %1'lik asetik asit çözeltisinde dispers edilmiş, ardından -20°C'a soğutularak 48 saat süre ile liyofilize edilmiştir [166]. Kontrol grubu olarak ise asetik asit içerisinde tek başına çözündürülen CS benzer yöntemle hazırlanmıştır. Çalışmada CS ve MMT'nin biyouyumluluğu yüksek bir nanokompozit oluşturduğu, nanokompozit malzemeye yüklenmiş ilaç için başlangıç geçirgenlik hızı düşük olmakla birlikte, geçirgenliğin izleme süresi boyunca

doğrusal şekilde devam ettiği gözlenmiştir. CLSM (Eşodaklı lazer tarama mikroskopisi - Confocal laser scanning microscopy) analiziyle ise, nanokompozit malzeme ve hücreler arası etkileşimin varlığı ortaya konmuş, malzemenin hücreler için toksik bir etki göstermediği kanıtlanmıştır. Bir diğer çalışmada [167], yine MMT-kitosan nanokompozitlerinin 5-florourasil biyouyumluluğunu arttırdığı ve molekülün toksisitesini düşürdüğü ifade edilmektedir. MMT'nin van der Waals kuvvetleri ve hidrojen bağları aracılığıyla polimerik nanopartiküllerin hücre zarı ile etkileşimini güçlendirdiği ve hücresel alım etkinliğini arttırdığı da literatüre sunulmuş çalışmalarda vurgulanmaktadır [168].

İnsan normal sindirim sistemi hücreleri üzerine MMT'nin kısa ve uzun dönemli toksik etkilerinin incelendiği bir çalışmada [169], MMT'nin olası sitotoksisitesi, hücre proliferasyonu (hücre büyümesi ve bölünmesinin sonucu olarak hücre sayısındaki artış), hücre koloni oluşturma kapasitesi, hücre duvarı hasarının tespiti ve hücre içerisinde reaktif oksijen türlerinin (ROS) oluşup oluşmadığının tespiti yöntemleri ile farmokinetik olarak detaylı şekilde incelenmiştir. Çalışmada INT-407 kodlu insan normal sindirim sistemi hücreleri ile çalışılmış, $2x10^3$ hücre/100µl konsantrasyonlu hücreler, 24, 48 ve 72 saatlik süreler ile 0.5, 5, 50, 100, 125, 250, 500 ve 1000µg/ml'lik MMT süspansiyonları ile muamele edilmelerinin ardından incelenmişlerdir. MMT'nin 100µg/ml'lik konsantrasyondan itibaren hücre proliferasyonunu inhibe edici etki gösterdiği (24-72 saatlik inceleme), ilaveten 5 µg/ml'lik konsantrasyondan itibaren ise, koloni oluşumunu engellediği (10 günlük inceleme) gözlenmiştir. Bu bulgu MMT'nin hücreler üzerindeki toksik etkisinin uzun süreli maruz kalma ile daha belirgin şekilde gözlendiğini kanıtlamaktadır. MMT toksisitesi, hücre duvarı hasarının göstergesi olan hücreler arası ortama laktat dehidrogenaz salımı takip edilerek incelendiğinde ise, toksik etkinin sadece 1000µg/ml'lik MMT konsantrasyonunda ortaya çıktığı gözlenmiştir. Diğer taraftan, 24 saat sonunda 500µg/ml MMT konsantrasyonuna maruz kalan hücrelerde ROS oluşumu gözlenmezken, 48-72 saatlik maruz kalma süreleri sonunda, 50µg/ml MMT konsantrasyonunun bile ROS oluşturabildiği görülmüştür. Bu sonuç MMT'nin hücre içerisinde oksidatif stres yaratabileceğini, ancak bunun uzun maruz kalma sürelerinde önem kazanacağını ifade etmektedir.

Araştırmacılar, MMT'nin hücre canlılığını doğrudan etkilemediğini, ancak uzun süreli maruz kalmada, hücre duvarına yapışmak ve proliferasyonu durdurmak yoluyla koloni oluşumunu engelleyici etki gösterdiğini ifade etmişlerdir. Çalışmada MMT'nin

hücreler üzerindeki toksik etkisinin nano boyuttaki MMT partiküllerinin hücre duvarına nüfuz etmesinin ötesinde hücre yüzeylerini kaplamaları ile ilişkili olabileceği de vurgulanmaktadır [170]. Çalışmada vurgulanan bir diğer önemli nokta, uygulamayı takip eden 8 saatlik süre sonunda incelenen hiçbir dokuda (akciğer, dalak, karaciğer ve böbrek) MMT birikiminin gözlenmemiş olmasıdır. İnsan sindirim sistemi içerisinde ağız yoluyla alınmak suretiyle kontrollü ilaç salımı yapacak bir sistem, 24 saat içerisinde organizmayı terk edecektir. Dolayısıyla, MMT'nin taşıyıcı olarak kullanılacağı kontrollü salım sistemlerinde, inorganik çok tabakalı kil yapının varlığından kaynaklanacak toksik etkiler tedavi edici süre aralığında önemsiz olacaktır. MMT, canlı organizmadan uzaklaştırılması hızlı, farmasötik alanda kullanılmaya uygun bir kinetik davranışa sahip inorganik çok tabakalı bir kil yapıdır [169]. Farmasötik alanda güvenli kabul edilen kullanım süresi ve konsantrasyon sınırları içerisinde uygulandığında, oldukça etkili bir taşıyıcıdır.

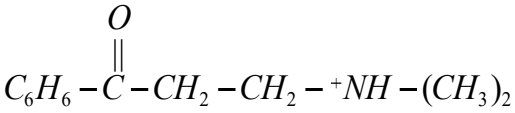
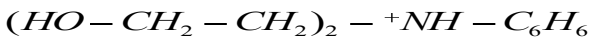
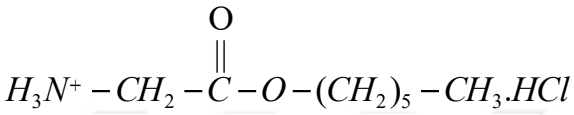
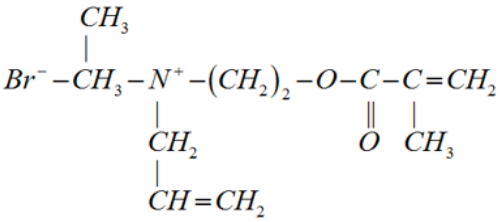
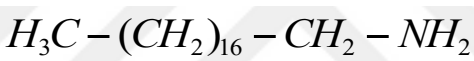
2.6.2. Oktadesilamin montmorillonit (ODA-MMT)

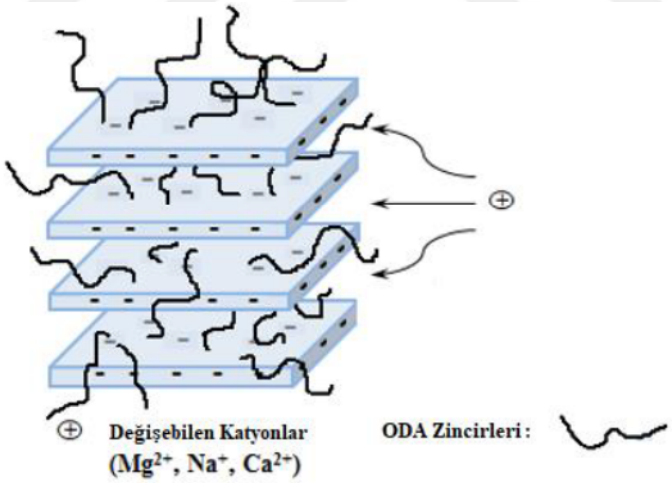
İnorganik çok tabakalı kil yapıların yüksek enerjili hidrofilik yüzeyleri, birçok polimerin düşük enerjili hidrofobik yüzeyi ile yüksek derecede uyum gösteremez. Bu sebeple inorganik kil ile organik ağyapı arasındaki uyumluluğu arttırmak amacıyla kil yüzeyleri çeşitli organik küçük moleküllerin yüzeye fiziksel olarak aşılanması yoluyla modifiye edilebilir.

Bilindiği gibi, kil yapısındaki inorganik katyonlar, alkilamonyum gibi organik iyonlarla kolaylıkla yer değiştirerek organik olarak modifiye edilmiş montmorillonitleri (OMMT) oluştururlar (Şekil 2.12). Na-MMT'den sulu çözeltide iyon değişimi yoluyla organofilik montmorillonit (OMMT) sentezinin gerçekleştirildiği bir çalışmada [171], 1N HCl çözeltisi ile 1 saat süreyle muamele edilerek protonlanan β-dimetil-aminopropiofenon amonyum, N-fenildietanolamonyum ve glisin-n-heksilester amonyum çözeltilerine ağırlıkça %1 olacak şekilde Na-MMT ilave edilmiştir. Karışımın 80°C'da 2 saat süreyle karıştırılmasıyla (500rpm) belirtilen amin bileşiklerinden elde edilen klorür tuzları ve Na-MMT arasındaki iyon değişimi sonucu OMMT sentezlenmiştir. Bunun dışında, heksadesiltrimetilamonyum (HDTMA), oktadesil amin, 2-metakriloiloksietil allil dimetilamonyumbromür [172] gibi çeşitli moleküllerin (Çizelge 2.2) katyon değişimi

yoluyla kil tabakaları arasına girmesi ile çeşitli OMMT yapılarının elde edildiği çalışmalar da literatüre sunulmuştur.

Çizelge 2.2 : OMMT sentezinde kullanılan bazı inorganik katyonlar.

	Molekül	Kaynak
β-dimetil-aminopropiofenon amonyum		[171]
N-fenil dietanolamonyum		[171]
glisin-n-heksilester amonyum		[171]
2-metakriloiloksietil allildimetil amonyumbromür		[172]
Oktadesil amin		-



Şekil 2.12 : ODA-MMT çok tabakalı kil yapısının şematik gösterimi.

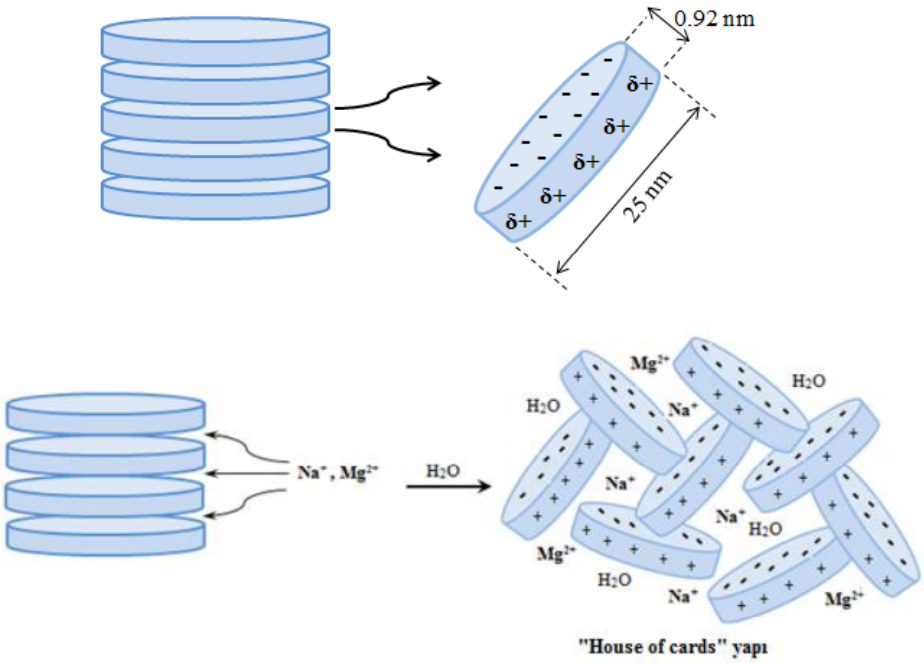
İnorganik katyonların organik katyonlarla yer değiştirmesi, silikatları organofilik ve hidrofobik olarak değiştirerek yüzey enerjisini düşürür ve tabakalar arası mesafelerin artmasını sağlar [173]. Bu durum kilin organik ve/veya hidrofobik özellik gösteren monomerler ile birlikte bulunduğu ve polimerizasyon ortamının su gibi hidrofilik bir çözücü olduğu durumlarda kilin ıslanma, şişme ve dağılma özelliklerini iyileştirmektedir.

2.6.3. Laponit (LP)

Literatüre sunulmuş olan çalışmalarda sıklıkla kullanılmış olan bir diğer kil, smektit grubu çok tabakalı bir filosilikat olan laponittir (LP). Laponit bir tür sentetik hektorit olup, 25-30nm çap ve yaklaşık 1nm yüksekliğe sahip disk şeklinde tabakalardan oluşur (Şekil 2.13) [174,175]. LP suda dispers edildiğinde tam dağılmış silikat tabakaları oluşturur. Tek bir LP tabakası iki tetrahedral silika tabakası arasına sıkışmış bir oktahedral magnezyum tabakasından oluşur. Magnezyum atomlarının oktahedral tabakadaki lityum atomları ile izomorfik yerdeğiştirmesi tabaka yüzeylerinde kalıcı negatif yükler oluşmasına sebep olur. LP tabaka uçları ise silisyum oksit ile magnezyum oksit ve hidroksitlerden oluşur [174] ve pH 11 altında pozitif yüklü halde bulunur [176]. Magnezyum hidroksit için sıfır yük noktası pH 12.5 civarında gözlenirken [177], magnezyum oksit için bu nokta pH 10-13 aralığındadır [178,179]. Silisyum oksit ise pH 3.5 üzerinde negatif yüklü halde bulunur [178,180]. Dolayısıyla LP tabaka uçları, ancak pH 13 üzerinde negatif yüklü halde bulunabilir.

Laponit tabakaları, sulu çözeltide, tabaka yüzeylerindeki negatif ve tabaka uçlarındaki pozitif yüklerin sonucu olarak, yüzey-uç yığışmasına uğrar ve Şekil 2.13 ile şematik olarak gösterilmiş "house of cards" olarak da isimlendirilen makroporöz yığınları oluştururlar. Laponit dispersiyonunun pH değeri yükseldikçe, tabaka uçlarındaki yük yoğunluğu ve tabakaların yığışımı azalır. Tawari ve ark. [176] literatüre sunmuş oldukları çalışmalarında laponit tabaka uçlarındaki yüklerin pH 11.7'den itibaren nötralize olmaya başladığını ifade etmişlerdir.

İlaveten, yine literatüre sunulmuş olan bazı çalışmalarda, inert atmosferde muhafaza edilen düşük laponit konsantrasyonuna sahip (1.0-1.5 kütlece %) dispersiyonlarda yapıdan Mg^{2+} ayrılmasının sözkonusu olmadığı, buna karşılık, inert ortamda muhafaza edilmeyen kil dispersiyonlarında, Mg^{2+} iyon konsantrasyonunun zamana bağlı olarak arttığı ifade edilmiştir. Bunun sulu çözelti içerisinde çözünen ve laponit dispersiyonunun pH'ının düşmesine sebep olan atmosferik CO_2'den kaynaklanmış olabileceğinin ifade edildiği çalışmada, araştırmacılar incelemelerini başlangıç pH değeri 10 olan bir LP süspansiyonu üzerinde gerçekleştirmişlerdir [181].



Şekil 2.13 : (a) LP tabaka yapısı ve (b) sulu ortamda LP tabakalarının yüzey-uç etkileşimi yoluyla oluşturdukları "house of cards" yapının şematik gösterimi.

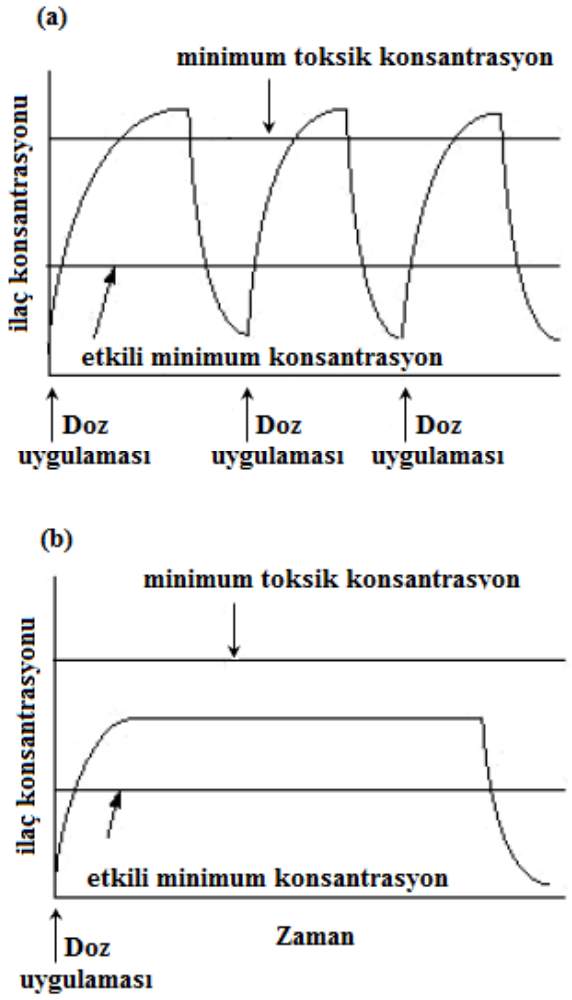
Nanokompozit hidrojellerin sentezi, polimerizasyon ortamında bulunan türler (monomer, başlatıcı, hızlandırıcı, kil, polimerizasyon çözücüsü) arasındaki çeşitli etkileşimlerin sonucu olup karmaşık bir prosestir. Çok tabakalı kil yapıların ortamda bulunduğu polimerizasyonlardan elde edilen nanokompozit hidrojeller, geleneksel hidrojellere kıyasla iyileşmiş optik özellikler, belirgin ve tekrarlanabilir şişme/büzülme davranışları ile üstün mekanik özellikler sergilemektedir [182-184].

Özellikle Haraguchi çalışma grubu tarafından ve ağırlıklı olarak LP XLG kullanılarak, organik bir çapraz bağlayıcının da bulunduğu polimerizasyon ortamında sentezlenen PNIPAAm nanokompozit hidrojellerin sentez süreci, oldukça detaylı şekilde literatüre sunulmuştur [185]. Çalışmalarda, polimerizasyon çözeltisi içerisinde dağıtılmış LP tabaka yüzeylerindeki oksit ve hidroksil grupları ile NIPAAm amit grubunun hidrojen bağları aracılığıyla kuvvetli şekilde etkileştiği ifade edilmektedir. Bu etkileşim kil tabakalarının NIPAAm molekülleri ile çevrelenmesini sağlar. Hidrojen bağları aracılığıyla gerçekleşen bu kil-monomer düzenlenmesi, negatif tabaka yüzeyleri ile pozitif tabaka uçları arasındaki etkileşimi engelleyerek, laponit tabakalarının house of cards yapıyı oluşturmalarına engel olur. Çalışmada, polimerizayon ortamına ilave edilen NIPAAm'in (1 mol/L), laponit süspansiyonunun jelleşme süresini bir aya kadar uzattığı ifade edilmekte, bu sürenin NIPAAm içermeyen aynı konsantrasyonlu kil süspansiyonunda ise birkaç saat olduğu vurgulanmaktadır. Aynı çalışmada,

polimerizasyon başlatıcısı olarak kullanılan potasyum persülfatın (KPS) da sulu çözeltide kil tabakaları ile kuvvetli bir etkileşimde bulunduğu ve NIPAAm'in aksine kil süspansiyonunun viskozitesini arttırıcı yönde etki gösterdiği ifade edilmektedir.

2.7. Hidrojel Ağyapılar için Difüzyon Mekanizmaları

Hidrojeller ayarlanabilir difüzyon davranışları ve biyouyumlulukları sayesinde, özellikle tıp ve ilaç endüstrilerinde geniş uygulama alanı bulan özel bir malzeme grubudur. Hidrojellerin en önemli uygulamalarından biri olan kontrollü ilaç salım sistemleri, tedavi edici bileşenlerin geniş bir zaman aralığında organizmaya verilmesine olanak sağlar ki bu durum, ağız yoluyla alınan ya da kas doku/damar içine enjeksiyon şeklinde uygulanan geleneksel ilaç tedavilerine kıyasla çok daha etkili ve verimli bir yöntemdir.



Şekil 2.14 : (a) Geleneksel tedavi ve (b) kontrollü salım sistemleri ile uygulanan ilacın konsantrasyon zaman profili.

Şekil 2.14 (a), geleneksel ilaç tedavilerinde, uygulanan ilacın plazma konsantrasyon profilini göstermektedir. Grafik, geleneksel tedavide uygulanan her bir dozun ardından, ilacın plazma konsantrasyonunun hızlı bir artış ile, kısa sürede minimum toksik konsantrasyonu (güvenli kullanım konsantrasyonu üst sınırı) aşan değerlere ulaşmasını ve ardından hızlı bir düşüş ile tedavi edici konsantrasyonun altına gerileyişini göstermektedir. Hidrojel esaslı kontrollü salım sistemleri ise, uygulanan ilacın kan plazmasındaki konsantrasyonunu uzun bir süre boyunca tedavi edici seviyede tutabilmeyi amaçlamaktadır. Şekil 2.14 (b), kontrollü ilaç salım sistemi yoluyla alınan ilacın, doz uygulamasının ardından, kan plazma konsantrasyonu profilini açıklamaktadır. Grafik, kontrollü ilaç salım sistemi içerisine yüklenmiş olan ilacın difüzyon yoluyla ağyapıdan ayrılarak kısa sürede tedavi edici konsantrasyona ulaştığını ve uzun süre boyunca güvenli kullanım konsantrasyon aralığında kalabildiğini göstermektedir.

Difüzyon, bir konsantrasyon farkının varlığından kaynaklanan ve moleküler seviyede etkili olan termodinamik kuvvetlerin etkisi ile gerçekleşen kütle taşınımı olayı olarak tanımlanır [186]. Ağyapı bileşimi, iyonik yüklerin varlığı, hidrodinamik etkileşimler, yüzey modifikasyonunun etkileri ve çözünen molekül büyüklüğü hidrojellerde kütle taşınımı olayını etkileyen başlıca faktörlerdir. Biyomedikal uygulamalar için sentezlenmiş birçok hidrojel, şişmiş halde 5-100 nm'lik por çaplarına sahiptir [187,188]. Bu çap değerleri çoğu ilaç molekülüne ait çap değerinden (Çizelge 2.3) daha büyüktür dolayısıyla, ilaç moleküllerinin ağyapı içerisine difüzlenmeleri de oldukça kolaydır.

Çizelge 2.3 : Çeşitli ilaç etkin maddeleri, molekül boyutları ve uygulama alanları.

İlaç etkin maddesi	**Molekülün hidrodinamik çapı**	**Uygulama Alanı**	**Kaynak**
Doxorubicin	30 nm	Kemoterapi uygulamaları	[189]
Resiquimod	1.15nm	Bağışıklık sistemi destekleyici, antiviral ve antitümör etkili	[190]
Gentamisin	1.6 nm	Antibakteriyel etkili	[191]
Antibiyotik etkili çeşitli moleküller	~1 nm	Antibakteriyel etkili	[192]

Peptidler, proteinler ve oligonükleotidler gibi yüksek hidrodinamik çap değerlerine sahip makromoleküllerin ise şişmiş haldeki hidrojel ağyapıdan difüzlenmeleri zordur.

Hidrojellerde fizikokimyasal özellikler yanında, ilaç moleküllerinin ağyapıya yüklenme şekli de ilacın salım mekanizması üzerinde etkilidir. Hidrojel esaslı bir kontrollü salım sistemine ilaç yükleme iki şekilde gerçekleşebilir [193];

1. Sentez sonrası yükleme: Hidrojel tarafından ilaç moleküllerinin absorpsiyonu ağyapının sentezinden sonra gerçekleştirilir. İnert bir hidrojel sisteminde, ilaç absorpsiyonu difüzyon kontrollü, salım ise difüzyon ya da şişme kontrollü olarak gerçekleşir.
2. Sentez sırasında yükleme: İlaç molekülleri polimerizasyon çözeltisi içerisine dağıtılır. Böylece hidrojel ağyapının sentezi ve ilaç enkapsülasyonu eş zamanlı olarak gerçekleşir. Bu tip sistemlerde ilacın salımı difüzyon ya da şişme kontrollü olarak gerçekleşebileceği gibi tersinir ilaç polimer etkileşimleri ve ağyapının bozunması yoluyla da gerçekleşebilir.

Hidrofilik karakterleri sayesinde oldukça yüksek miktarda su ve biyolojik sıvı absorpsiyonu yapabilen hidrojellerden çeşitli küçük moleküllerin salımı hidrofobik polimerlerden oldukça farklıdır. Hidrojel esaslı kontrollü ilaç salım sistemlerinden küçük moleküllerin salımını tanımlamada üç temel difüzyon modeli kullanılır. Bu modeller, kontrollü salım prosesinin hız belirleyici basamağını temel alır ve aşağıdaki şekilde sınıflandırılır;

1. Difüzyon kontrollü ilaç salım prosesleri
2. Şişme kontrollü ilaç salım prosesleri
3. Kimyasal kontrollü ilaç salım prosesleri

Şişme kontrollü ilaç salım proseslerinde, hidrojelin şişme hızı ilaç salım hızını belirleyen temel faktörken, difüzyon kontrollü ilaç salım sistemlerinde, ilacın ağyapıdan ayrılma yani salım hızı, hidrojelin şişme hızından daha düşüktür [194]. Kimyasal kontrollü ilaç salım proseslerinde ise, ilaç salım hızı, hidrojel ağyapı içerisinde gerçekleşen kimyasal reaksiyonlar ve bu reaksiyonların hızı tarafından belirlenir. Bu reaksiyonlar, hidrolitik ya da enzimatik bozunma ile ağyapıyı oluşturan polimer zincirlerinin kırılmaları ya da hidrojel ağyapısı ile ilaç molekülü arasındaki tersinir ve tersinmez etkileşimlerdir [193,195].

Kontrollü ilaç salım sistemlerinin modellenmesinde sabit ya da değişken difüzyon sabitleri ile Fick difüzyon yasasından yararlanılır [196]. Difüzyon kontrollü hidrojel esaslı ilaç salım sistemleri ilaç moleküllerinin polimerik bir membranla çevrelendiği birer rezervuar olarak kabul edilir [197] ve ilaç moleküllerinin membrandan difüzyonu Fick'in 1. difüzyon yasası ile (Eşitlik 2.11) açıklanır. Eşitlikte; J_A ilaç akısı (mol/cm^{2}s - flux of the drug), D ilaç difüzyon katsayısı (cm^2/s), C_A ilaç konsantrasyonudur (mol/cm^3) ve x molekülün yüzeye paralel olarak katettiği mesafeyi (cm) göstermektedir.

$$J_A = -D\frac{dC_A}{dx} \tag{2.11}$$

Fick'in 1.difüzyon yasası, malzemenin birim alanından geçen madde miktarının (akı:J) konsantrasyon (C) ile doğru orantılı olduğunu varsaymaktadır. Eşitlikte, (-) işareti molekül hareketinin, yüksek konsantrasyon bölgesinden düşük konsantrasyon bölgesine doğru olacağını ifade eder. Böylece yoğun bölgeden uzaklaşıldıkça derişim azalacak ve akı değeri her zaman pozitif değer alacaktır. Fick'in 1.difüzyon yasasına göre, molekül hareketi iki bölge arasındaki konsantrasyon farkı sıfır oluncaya kadar devam eder. Kanun, difüzyonun denge durumu koşullarında gerçekleşmesi halinde geçerli olup, difüzyonun gerçekleştiği bölgedeki her birim mesafede az yoğun bölge ile çok yoğun bölge arasındaki derişim farkının zamanla değişmediği kabulüne dayanır. Bununla birlikte, ilaç molekülünün ağyapı içerisinde birim zamanda ne kadarlık bir alanı geçebildiğini veya molekülün ortamdan uzaklaşma yeteneğini ifade eden difüzyon sabitleri modellemenin kolaylaştırılması bakımından sabit kabul edilir. Ancak, D ilaç konsantrasyonunun bir fonksiyonu olup aynı zamanda, sıcaklık ve molekülün difüzlendiği ortamın özelliklerine de bağlı bir değişkendir. Eşitlik 2.11 ile verilen Fick 1.difüzyon yasasında bir diğer varsayım, J_A'nın kütlece ortalama hız olarak kabul edilmesidir.

Fick'in 2.difüzyon yasasında ise, konsantrasyon ve akı, zaman ve mesafenin birer fonksiyonu olarak tanımlanır (Eşitlik 2.12).

$$-\frac{dC_A}{dt} = \frac{dJ_A}{dx} \tag{2.12}$$

Eşitlik 2.12'nin ikinci dereceden kısmi diferansiyeli alınarak, Eşitlik 2.13 elde edilir.

$$\frac{dJ_A}{dx} = -D\frac{d^2C_A}{dx^2} \tag{2.13}$$

Bu eşitlikte, $\frac{dJ_A}{dx}$ ifadesi yerine, $-\frac{dC_A}{dt}$ ifadesi alınarak ise, Fick'in 2.yasası olarak bilinen Eşitlik 2.14 elde edilir.

$$\frac{dC_A}{dt}=D\frac{d^2C_A}{dx^2} \tag{2.14}$$

Bu eşitlikte molekül hareketinin sadece bir yöne doğru olduğu kabul edilir. Difüzyon bölgesinde, derişimin zamanla değişim hızı (dC_A/dt), katedilen mesafedeki derişim farkının değişim hızı ile orantılıdır. Çalışılan koşullarda bu iki hız arasındaki oran sabit olup, difüzyon katsayısı kadardır [198].

Fick difüzyon modellerinin temeli, yüzey konsantrasyonunun, malzemenin içerisinde bulunduğu ortamın konsantrasyon değişimlerine hızla cevap vererek denge haline ulaştığı ve absorpsiyon prosesi boyunca sabit kaldığı varsayımına dayanmaktadır. Ancak birçok polimer-çözücü sistemi bu kadar basitleştirilmiş bir tanıma uygun hareket etmez [199]. Bir çözücünün camsı bir polimer malzemeye difüzyonu olayında Fick difüzyon modellerine uygunluk ise nadiren gözlenebilmektedir [200]. Non-Fickian difüzyon modelinde ise, kuru haldeki polimerin çözücü absorpsiyonu boyunca, kuru ve şişmiş polimer bölgelerini ayıran keskin bir hattın zamanla doğrusal şekilde hareket etmekte olduğu varsayılır [201].

Hidrojel ağyapılar için madde taşınımı modelleri ilk defa Rogers tarafından (1965), Fickian difüzyon (Fick yasasına uyan difüzyon), non-Fickian difüzyon (Fick yasasına uymayan difüzyon) ve Durum II taşınım olmak üzere üç temel gruba ayrılmıştır [202]. Bu farklı taşınım modelleri, deneysel verilerin ilk %50'lik kısmının Eşitlik 2.15'e uygulanması ile belirlenmiştir [203,204].

$$F=k.(t)^{0.5} \tag{2.15}$$

Eşitlik 2.15'de F, fraksiyonel denge değeri olup Eşitlik 2.16 ile tanımlanır.

$$F=\frac{m(t)-m(0)}{m(\infty)-m(0)} \tag{2.16}$$

Eşitlikte;

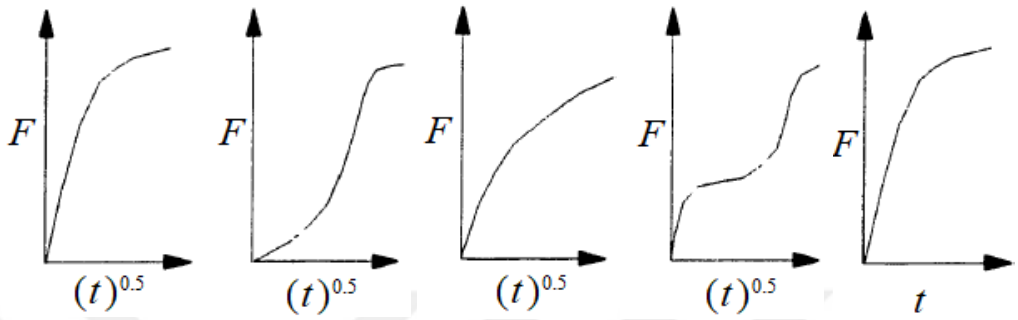
m(0): t = 0 anında taşınmış madde miktarı,

m(t): herhangi bir t anında taşınmış madde miktarı ve

m(∞): denge haline ulaşıldığı anda taşınmış olan maddenin toplam miktarıdır.

F-t ve F-$(t)^{0.5}$ grafikleri difüzyon modellerinin bir göstergesi olarak, Şekil 2.15 ile verilmiştir.

Fick II	Anormal Durumlar			Durum II
	Sigmoidal	Pseudo-Fick	Çift Basamaklı	
a	b	c	d	e



Şekil 2.15 : Madde taşınımı mekanizmalarının göstergesi olarak F-t ve F-$(t)^{0.5}$ eğrileri [202].

İlaç rezervuar ve salım sistemi olarak tasarlanmış yeni bir ağyapıdan ilaç salımının miktarsal analizi, ağyapıya ait karakteristik özellikler ile birlikte, uygun bir matematiksel model kullanılarak, doğru şekilde gerçekleştirilebilir. Bu matematiksel modeller, ağyapıdan ayrılan ilaç miktarını test süresinin bir fonksiyonu olarak tanımlar. Ağyapılardan ilaç salım kinetiklerinin matematiksel modeller ile belirlenmesinin temelleri, 1897'de Noyes ve Whitney tarafından, Eşitlik 2.17 [205] ile atılmıştır.

$$\frac{dM}{dt} = KS(C_s - C_t) \tag{2.17}$$

Eşitlikte, C_t t anında taşınmış olan madde miktarı ve C_s, deney sıcaklığında, taşınan maddenin denge konsantrasyonu ve S madde taşınımının gerçekleştiği yüzey alanıdır. Teoriye göre, C_t'nin C_s'in %15'inden daha küçük olduğu hallerde, C_t'nin madde taşınımı üzerinde etkisiz olduğu varsayımı yapılmaktadır.

Brunner ve Nerst ise, Fick difüzyon yasasını kullanarak, Eşitlik 2.17'deki sabit (K) ile difüzyon katsayısı (D) arasındaki ilişkiyi ortaya koymuşladır (Eşitlik 2.18). Eşitlikte, h difüzyon bölgesinin kalınlığı ve γ çözelti hacmidir. Ancak ilaç salım sisteminin boyutları, ağyapının çözücü absorpsiyonuna bağlı olarak, test süresince sürekli

değiştiğinden, ağyapıdan ilaç salımını tanımlayan bu temel teoriler yüksek hassasiyetli sonuçlar verememektedir.

$$K = \frac{DS}{h\gamma} \tag{2.18}$$

Kontrollü salım sistemlerinden ilaç salımı kinetiğinin belirlenmesinde kullanılabilecek yöntemler üç sınıfa ayrılır;

- İstatistiksel metodlar (keşifsel veri analizi yöntemi, tekrar eden ölçümler, MANOVA (multivariate analysis of variance)) [206,207],
- Matematiksel metodlar (sıfırıncı mertebe, birinci mertebe, Higuchi, Hixon-Crowell, Weibull, Korsmayer-Peppas vs.) [208,209],
- Modelden bağımsız metodlar (benzerlik faktörü (f2) ve farklılık faktörü (f1)) [210,211],

Ağyapılardan ilaç salımını tanımlayan bazı matematiksel modeller ile bu modellere ait matematiksel bağıntılar Çizelge 2.4 ile verilmiştir [212].

Çizelge 2.4 : Ağyapılardan ilaç salımını tanımlayan bazı matematiksel modeller ve bu modellere ait matematiksel bağıntılar.

Model	Matematiksel bağıntı	Kaynak
Sıfırıncı mertebe	$\frac{M_t}{M_\infty} = Kt$	[213]
Birinci mertebe	$\ln\left(1 - \frac{M_t}{M_\infty}\right) = -K_1 t$	[214]
Hixon-Crowell	$M_0^{1/3} - M_t^{1/3} = K_s t$	[215,216]
Higuchi	$\frac{M_t}{M_\infty} = K_h \sqrt{t}$	[217]
Korsmayer-Peppas	$\frac{M_t}{M_\infty} = kt$	[218]

2.7.1. Sıfırıncı Mertebe

Salım prosesi boyunca parçalanmayan ve düşük hızda salım yapan sistemler için uygun bir modeldir [219-221]. Model ayrıca, transdermal sistemlerin yanı sıra düşük çözünürlüğe sahip ilaçları taşıyan tablet şeklindeki sistemler için de uygundur.

$$\frac{M_t}{M_\infty} = \frac{k}{M_\infty} t = Kt \tag{2.19}$$

Modeli tanımlayan matematiksel ifadede (Eşitlik 2.19) K orantı sabiti olup, M_t ve M_∞ sırasıyla herhangi bir t anında çözeltide bulunan ilaç miktarı ve sonsuz zamanda ağyapıdan ayrılan ilacın kütlesidir.

2.7.2. Birinci mertebe

Gözenekli ağyapılardan suda çözünebilen maddelerin absorpsiyonu ya da salımı proseslerinin tanımlanmasında uygun bir modeldir [222,223]. Modeli tanımlayan matematiksel ifade Eşitlik 2.20 ile verilmiştir.

$$\ln\left(1-\frac{M_t}{M_\infty}\right)=-K_1 t \tag{2.20}$$

Eşitlikte, M_t ve M_∞ sırasıyla, t anında ağyapıdan ayrılmış olan madde miktarı ve sonsuz zamanda ağyapıdan ayrılan ilacın kütlesidir. t zaman ve K_1 ise birinci mertebe hız sabitidir [224].

2.7.3. Higuchi Modeli

Deri içine uygulanan ilaç salım sistemleri ile suda çözünebilen maddeleri taşıyan tablet şeklindeki ağyapılardan gerçekleşecek salım proseslerinin tanımlanmasına uygun bir modeldir [225-227]. Model birtakım varsayımlar yapmaktadır, buna göre; (i) ağyapı içerisindeki ilacın başlangıç konsantrasyonu, ilacın çözünürlük değerinden yüksektir, (ii) madde difüzyonu sadece tek doğrultuda gerçekleşir, (iii) taşınan madde molekülleri ağyapının genişliğinden çok daha küçüktür, (iv) ağyapının şişme ve çözünmesi ihmal edilmektedir ve (v) taşınan maddenin difüzlenebilirliği sabittir. Buna göre taşınım modelini tanımlayan matematiksel ifade, Eşitlik 2.21 ile verilir. Eşitlikte M_t ve M_∞ sırasıyla, t anında ağyapıdan ayrılmış olan madde miktarı ve sonsuz zamanda ağyapıdan ayrılan ilacın kütlesidir. K_h ise, Higuchi çözünürlük sabiti olarak tanımlanır [228].

$$\frac{M_t}{M_\infty}=K_h\sqrt{t} \tag{2.21}$$

2.7.4. Hixon – Crowell Modeli

Model, madde taşınımı süresince, salım yapan tablet ya da partiküllerin yüzey alanı veya çaplarında değişimin olmadığı haller için uygulanabilirdir [229]. Model matematiksel olarak Eşitlik 2.22 ile tanımlanır. Eşitlikte, M_o ağyapı içerisindeki

başlangıç taşınan madde miktarı, M_t t anında ağyapı içerisinde kalmış olan ilaç miktarı ve K_s Hixon – Crowell hız sabitidir.

$$M_0^{1/3} - M_t^{1/3} = K_s t \tag{2.22}$$

2.7.5. Korsmayer-Peppas Modeli

Sabit ve değişmeyen bir başlangıç ilaç konsantrasyonu (C_1) ve sabit yüzey ilaç konsantrasyonuna (C_o) sahip l kalınlığındaki polimerik ince filmden, x doğrultusunda gerçekleşen tek boyutlu difüzyon için, D difüzyon katsayısı olmak üzere, Fick 2. Difüzyon yasası aşağıdaki şekilde ifade edilir;

$$\frac{\partial C}{\partial t} = D\frac{\partial^2 C}{\partial x^2} \qquad \begin{array}{lll} t = 0 & -l/2 < x < l/2 & C = C_1 \\ t > 0 & x = \pm l/2 & C = C_0 \end{array} \tag{2.23}$$

Fick 2. difüzyon yasasının yukarıda belirtilen koşullarda bir trigonometrik seri olarak çözümü,

$$\frac{M_t}{M_\infty} = 1 - \sum_{n=0}^{\infty} \frac{8}{(2n+1)^2 \pi^2} \exp\left[\frac{-D(2n+1)^2 \pi^2}{l^2} t\right] \tag{2.24}$$

şeklindedir. Eşitlikte, M_t ve M_∞ sırasıyla t anında ve sonsuz zamanda ağyapıdan ayrılan ilacın kütlesidir. Eşitlik 2.23 için alternatif bir diğer çözüm, Eşitlik 2.25 ile verilen ilaç salım prosesi için kısa zaman yaklaşımına ulaşmayı kolaylaştıran hata fonksiyonu serisidir.

$$\frac{M_t}{M_\infty} = 4\left[\frac{Dt}{l^2}\right]^{1/2}\left[\frac{1}{\pi^{1/2}} + 2\sum_{n=1}^{\infty}(-1)^n ierfc\frac{nl}{2\sqrt{Dt}}\right] \tag{2.25}$$

Kısa süreler için, Eşitlik 2.25'de aşağıdaki yaklaşım yapılabilir.

$$\frac{M_t}{M_\infty} = 4\left[\frac{Dt}{\pi l^2}\right]^{1/2} \tag{2.26}$$

Eşitlik 2.26 ile verilen kısa süre yaklaşımı, toplam ilaç salım verilerinin ilk %60'lık kısmı için ($M_t/M_\infty \leq 0.60$) geçerli ve doğru sonuç verir.

Eşitlik 2.26'ya ilaveten, Ritger ve Peppas [230] tarafından literatüre sunulan Eşitlik 2.27, polimerik ince filmler için ilaç salım hızının zamandan bağımsız olduğu bir salım kinetiğini tanımlar.

$$\frac{M_t}{M_\infty} = k't \tag{2.27}$$

Birçok ilaç salım prosesi, bu sınırlayıcı durumlar arasında bulunur. Bu iki ifadenin (Eşitlik 2.26 ve 2.27) birleştirilmesi ile; sırasıyla Eşitlik 2.28 ve Eşitlik 2.29 [231] elde edilir.

$$\frac{M_t}{M_\infty} = k_1\sqrt{t} + k_2 t \tag{2.28}$$

$$\frac{M_t}{M_\infty} = kt^n \tag{2.29}$$

Eşitlik 2.29, çözücü difüzyonu ile hidrojellerdeki madde taşınımı proseslerini tanımlamada kullanılan en uygun matematiksel modellerden biridir. Eşitlik, polimerik ağyapılarda difüzyon mekanizmasını tanımlamada oldukça başarılı olup, madde taşınımı prosesinin ilk %60'lık veri grubuna uygulanır [214].

Eşitlikte, M_t/M_∞, t=0'dan t anına kadar olan sürede ağyapıdan ayrılmış olan moleküllerin $t=\infty$ anında ağyapıdan ayrılan molekül miktarına oranını ifade eder. k, yapısal/geometrik bir sabit olup, n salım mekanizması hakkında bilgi verir. Eşitlik 2.29'da her iki tarafın logaritması alınarak elde edilecek Eşitlik 2.30, basitçe bir doğru denklemini tanımlamaktadır.

$$\ln\left(\frac{M_t}{M_\infty}\right) = \ln k + n\ln t \tag{2.30}$$

Eşitlik 2.30 ile tanımlanan doğru denkleminde, ordinat kesim noktası ve eğim değeri sırasıyla, lnk ve n değerlerini verir. Hidrojel sistemi için difüzyon mekanizması bu parametrelere bağlı olarak belirlenir [232].

- Fickian difüzyon (n=0.5): Ağyapının gevşeme hızı, çözücünün difüzyon hızından daha büyüktür ve sistem denge şişme değerine kısa sürede ulaşır. Fick tipi difüzyon olayında şişme, difüzyon olayı ile denetlenir ve ağyapıya giren ya da ağyapıdan çıkan türün miktarı, zamanın karekökü ile orantılı olarak artar.

- Non-Fickian difüzyon (0.5< n <1): Ağyapının gevşeme hızı ve difüzyon hızlarının şişme üzerinde aynı ölçüde etkin olduğu difüzyon türüdür.

- (Süper) Durum II (n=1): Difüzyon hızının, ağyapının gevşeme hızından daha büyük olduğu difüzyon türüdür.

Çizelge 2.5 : Hidrojel ağyapılar için çözücü taşınımı mekanizmaları ve difüzyon sabitleri.

Taşınım tipi	Difüzyon katsayısı (*n*)	Zamana bağlılık
1. "Less Fickian" difüzyon	n < 0.5	$t^{1/2}$
2. Fickian difüzyon	n = 0.5	t^{n-1}
3. Non-Fickian (anomalous) difüzyon	0.5 < n < 1.0	zamandan bağımsız
4. Durum II taşınım	n = 1.0	
5. Süper Durum II taşınım	n > 1.0	

Fick 2.difüzyon yasası, sabit bir difüzyon katsayısı (D) ile, a yarıçaplı disk şeklindeki bir örnekten gerçekleşecek tek boyutlu ilaç salım prosesi için ise aşağıdaki şekilde yazılabilir (Eşitlik 2.31).

$$\frac{\partial C}{\partial t}=D\left[\frac{\partial^2 C}{\partial x^2}+\frac{1}{r}\frac{\partial C}{\partial r}\right] \qquad \begin{matrix} t=0 & 0<r<a & C=C_1 \\ t>0 & r=a & C=C_0 \end{matrix} \tag{2.31}$$

Denklemin verilen koşullarda bir trigonometrik seri olarak çözümünden elde edilen denklemde;

$$\frac{M_t}{M_\infty}=1-\sum_{n=1}^{\infty}\frac{4}{a^2\alpha_n^2}\exp\left[-D\alpha_n^2 t\right] \tag{2.32}$$

α_n $J_o(a\alpha_n)=0$ denkleminin pozitif kökleridir. J_o birinci tip sıfırıncı mertebe Bessel fonksiyonu olup $a\alpha_n$, bu fonksiyonun sıfır değerleridir.

Eşitlik 2.31 için kısa zaman yaklaşımına ulaşmayı kolaylaştıran alternatif çözüm, hata fonksiyonu serisi olarak Eşitlik 2.33 ile verilir.

$$\frac{M_t}{M_\infty}=4\left[\frac{Dt}{\pi a^2}\right]^{1/2}-\pi\left[\frac{Dt}{\pi a^2}\right]-\frac{\pi}{3}\left[\frac{Dt}{\pi a^2}\right]^{3/2}+... \tag{2.33}$$

Bu çözüm disk şeklindeki örnekler için, tek boyutlu difüzyon davranışını kısa süre yaklaşımı ile verir. Ancak, eşitlik 2.26, 2.29 ve 2.33 ilaç salım prosesi toplam verilerinin ilk %60'lık kısmı için uygulanabilirdir. Dolayısıyla, tüm absorpsiyon verilerinin tam olarak yorumlanabilmesi için farklı bir kinetik modele ihtiyaç vardır. Nispeten uzun şişme süresi olan hidrojeller için, herhangi bir zamandaki şişme oranının, denge durumuna ulaşılmadan önce, şişme kapasitesinin kareköküyle doğru orantılı olduğunun öne sürüldüğü model, Schott tarafından önerilen ikinci dereceden denklem ile aşağıdaki şekilde ifade edilmiştir [233]:

$$\frac{dM_t}{dt} = k_2 \left(M_\infty - M_t \right)^2 \tag{2.34}$$

Eşitlikte M_t herhangi bir t anında taşınmış madde miktarı ve k_2 taşınım prosesi için ikinci mertebe hız sabitidir. Eşitlik 2.34'ün, $t = 0 \longrightarrow M_t = 0$ ve $t = \infty \longrightarrow M = M_\infty$ limit değerleri ile integre edilmesi sonucu Eşitlik 2.35 ve Eşitlik 2.36 elde edilir.

$$\frac{t}{M_t} = \frac{1}{k_2 M_\infty^2} + \frac{t}{M_\infty} \tag{2.35}$$

$$\frac{t}{M_t} = A + Bt \tag{2.36}$$

İfadede A ve *B*, fiziksel anlamı aşağıdaki şekilde yorumlanan iki katsayıdır: madde taşınımı süresinin uzun olduğu hallerde Bt>>A, bu sebeple B = 1/M∞'a yani taşınan maksimum madde miktarının matematiksel olarak tersine eşittir. Buna karşılık, kısa zaman aralıklarında, B_t << A ve

$$\lim_{t \to 0} \left(\frac{dM_t}{dt} \right) = \frac{1}{A} \tag{2.37}$$

olacaktır. Dolayısıyla, Eşitlik 2.36 ile ifade edilen doğru denklemi için kesim noktası (A) başlangıç madde taşınım hızının matematiksel olarak tersi olacaktır. Böylece, madde taşınımı prosesi için Schott kinetik hız sabiti, k_2, aşağıdaki eşitlik ile hesaplanır.

$$k_2 = \frac{eğim^2}{kesim\,noktası} = \frac{B^2}{A} \tag{2.38}$$

Madde taşınımının başlangıcında, ağyapı içerisine madde taşınımı hızını temsil eden başlangıç difüzyon katsayısı (D_i), F=0.5 ve $t=t_{1/2}$ alınarak madde taşınımı için ortalama hız, D_{ort}, sırasıyla, Eşitlik 2.39 ve 2.40 ile hesaplanır.

$$\frac{M_t}{M_\infty} = 4 \left[\frac{D_i t}{\pi a^2} \right]^{1/2} \tag{2.39}$$

$$D_{ort} = \frac{0,049 a^2}{t_{1/2}} \tag{2.40}$$

In(1-M_t/M_∞) – t grafiğinde, madde taşınımı prosesi verilerinin ilk %60'ından sonraki kısmı kullanılarak, taşınım prosesinin ileri dönem difüzyon katsayısı (D_L), aşağıda verilen eşitlik ile hesaplanır [234-236];

$$D_L = -\frac{(eğim\ x\ l^2)}{\pi^2} \tag{2.41}$$

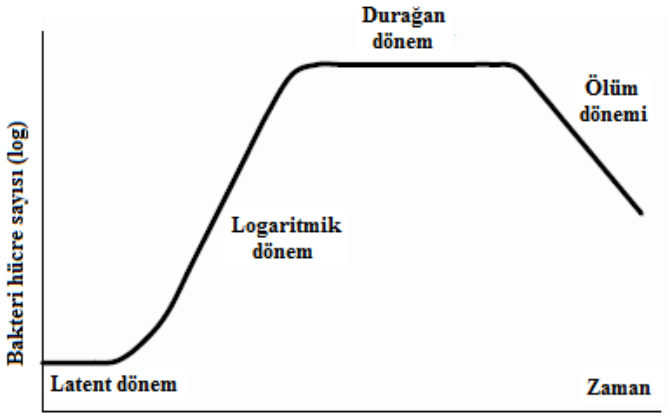
Peppas tarafından literatüre sunulmuş bir diğer çalışmada [237] ise, madde taşınımı prosesinin ilk %60'lık kısmından sonra, taşınımın başlıca ağyapının gevşeme hızı tarafından kontrol edildiği ve bu aşamadan sonra madde taşınımının birinci mertebe kinetiğine uyacak şekilde gerçekleştiği fade edilmiştir. Çalışmada, ağyapının gevşeme hızı Eşitlik 2.42 ile verilmiş olup, k_2 ağyapı için gevşeme hız sabitidir.

$$\frac{dM_t}{dt} = k_2 \left(M_\infty - M_t \right) \tag{2.42}$$

2.8. Hidrojel Ağyapılarda Antibakteriyel Özellikler

Tıp ve gıda endüstrileri bakımından yüzey biyofilmleri oldukça önemli bir problemdir. Biyofilm, katı bir yüzey üzerinde bulunan kolonileşmiş bakteri gruplarıdır. Bakteri kolonileri kendilerini, salgıladıkları hücredışı bir polimerik madde ağyapısı içerisine gömerek, çevresel faktörlerden, antiseptik ve antibiyotiklerin etkilerinden korur ve varlıklarını uzun süre devam ettirebilirler. Gıda endüstrisi ekipmanlarının önemli bir bölümü ile medikal malzeme ve ekipmanların yüzeylerinde oluşan bakteriyel biyofilmler ise ölümcül hastalıklara sebep olabilmektedir. Biyofilm oluşumu temelde üç basamakta gerçekleşir. İlk adım olan bakteri hücrelerinin yüzeye adhezyonu/tutunması, yüzeyin kimyasal kompozisyonu ile topolojik yapısına kuvvetle bağlıdır. İlaveten tek hücreli organizmalarda bulunan flagella (kamçı) ve fimbria (tüy) gibi hücre dışı uzantılar da, bakterilerin yüzeylere adhezyonu sürecinde önemli rol oynar. Yüzeye adhezyonu takiben, proliferasyon (değişim, başkalaşım, büyüme) sürecine giren bakteri kendisine hücre dışı ortam oluşturacak kimyasallar salgılamaya başlar. Üçüncü ve son adımda ise, biyofilm oluşumu tamamlanır. Olgunlaşmış durumda bulunan biyofilm, mekanik etkiler ile yüzeyden ayrılabilir ve bulaşmanın gerçekleştiği yüzeylerde yeni biyofilmler oluşturabilir.

Herhangi bir yüzeye kontaminasyon yoluyla bulaşan ve tutunan ya da test tüpü gibi kapalı bir kültür ortamına giren bakteri hücreleri için popülasyon, daima Şekil 2.16'da verilen büyüme dinamiğini izler.



Şekil 2.16 : Uygun büyüme koşullarında bakteri hücre sayısının zamana bağlı değişimi.

Latent dönem, bakteri hücrelerinin bulundukları yeni ortama uyum sağlama dönemidir. Bakteri hücrelerinde üremenin görülmediği ve dolayısıyla sayıca da bir artmanın sözkonusu olmadığı bu dönemde, biyosentez hızı ise oldukça yüksektir. Hücreler, bir sonraki evre olan logaritmik çoğalma için gerekli proteinler, enzimler ve diğer metabolik maddeleri sentezleyerek bulundukları yeni ortama adapte olurlar. Adaptasyon gerçekleştiremeyen hücrelerin ölümünün de gerçekleştiği bu dönemde toplam hücre sayısında azalmalar da olasıdır. Ortama uyum sağlayan ve metabolik maddelerinin biyosentezini tamamlayan bakteri hücreleri bölünmeye başlayarak logaritmik evreye geçiş yapar. Latent dönemin uzunluğu, pH, sıcaklık, oksijen seviyesi gibi çevresel etkenlerin yanısıra, inoküle edilen bakterilerin alındığı başlangıç kültürünün durumuna ve büyüme dönemine de bağlıdır. Botelho ve ark. [238] tarafından yapılan ayrıntılı bir çalışmada, Agimix, Siptran, Atranex Herbitrim, Fusilade, Gliz, Fortex, MSMA, Gramoxone, Padron, Tordon ve Trifluralina gibi herbisitler varlığında E.coli için latent dönemin yaklaşık 150 dakika olduğunu, herbisitler yokluğunda ise 120 dakikalık bir latent süresi tespit ettiklerini belirtmişlerdir.

Çoğalma evresi için gerekli protein ve diğer metabolik maddelerin biyosentezini tamamlayan bakteriler latent fazı geride bırakarak, kendi türlerine özgü bir jenerasyon süresi ile belli aralıklarla bölünerek çoğalmaya başlarlar. Bakteri sayısı ve bölünme

zamanla orantılı olarak artar. Standart bir besi yeri üzerinde ve uygun çevresel koşullarda (pH, sıcaklık) logaritmik evre boyunca bakteri büyüme hızı bakterinin jenerasyon süresi olarak tanımlanır. Bu süre, çeşitli bakteri türleri için 12 dakika ile 24 saat aralığında değişebilmekle birlikte, *Escherichia coli* (*E.coli*) için 15-20 dakikadır. Kültür ortamına inoküle edilmiş popülasyondaki birey (bakteri) sayısı *E.coli* için her 15-20 dakikalık süre sonunda iki kat artmaktadır. Ancak, mayoz bölünmeler ile birlikte farklı genetik koda sahip bireylerin oluşması (replikasyon) ve kromozom segregasyonunun tamamlanması, sadece mitoz bölünmeler ile genetik olarak birbirinin kopyası olan bireylerin oluştuğu jenerasyon adımından daha uzundur. *E.coli* için replikasyon süresi 60-90 dakika aralığındadır [239]. İnokülasyonu yapılan bakteri süspansiyonu içerisindeki bireylerin yeterli sayıda replikasyonu tamamlamaları ve gözlenebilir koloniler oluşturabilmeleri için ise 6-18 saatlik bir inkübasyon süresi idealdir.

Sağlıklı memeli sindirim sistemi, çeşitli bakteri, virüs, mantar ve protozoa kolonilerinin birarada bulunduğu bir mikrobiotadır. Dengeli bir intestinal mikrobiota, konak canlının sağlığı açısından oldukça önemlidir ve intestinal sistemin dengesinde meydana gelen bozukluklar (disbiosis) özellikle bağışıklık sistemi zayıf bireyler için tehlike oluşturur. *E.coli* insan ve sıcakkanlı hayvanların sindirim sistemi içerisindeki en iyi bilinen bakteri türlerinden biri olup, organizmanın vitamin sentezinde [240] rol oynar ve çoğunlukla konak canlı için zararsızdır. Bunun yanında, 1917 yılında Prof. Alfred Nissle tarafından izole edilen probiyotik etkili *E.coli* suşu "Nissle1917"nin gastrointestinal hastalıklardan korunma ve tedavide mikrobiyal ilaç olarak kullanımı üzerine klinik çalışmalar 80 yılı aşkın süredir devam etmektedir.

Çubuk şekilli, 1-2µm uzunluk ve 0.1-0.5µm çapa sahip *E.coli* türü bakteriler oldukça geniş bir çeşitliliktedir. Çoğu *E.coli* türü yukarıda da ifade edildiği üzere zararsız ve hatta sağlıklı sindirim sisteminin önemli bir üyesi olarak konak organizma ile uyumlu şekilde var olur ve hastalık yapmazken, bazı serotipler patojen etki gösterirler. *E.coli* bakterisinin yüzlerce serotipinden biri olan O157:H7, Shiga toksini (Shigella dysenteriae - *E.coli* bakterileri tarafından salgılanan ve konak organizmada dizanteriye sebep olan toksin [241] salgılayan çubuk şekilli gram(-) bir bakteridir. Salgılanan güçlü toksin, konak organizmada ishal ile birlikte abdominal kramplar, idrar yolu enfeksiyonları, menenjit, peritonit, mastit, septisemi ve gram(-) pnömoni gibi ağır hastalıklara sebep olur.

Kirby-Bauer disk difüzyonu metodu, temelde, aerobik mikroorganizmaların antibiyotik duyarlılıklarını test etmek amacıyla uygulanan bir yöntemdir. Yöntemde, ekimi yapılacak mikroorganizma süspansiyonu (inokülum), 18-24 saat inkübe edilmiş agar tabağında tek düşmüş bir koloninin alınarak doğrudan sıvı besi yeri içerisinde süspanse edilmesi yoluyla hazırlanır. Süspansiyon 16-18 saat süreyle 37°C'da çalkalayıcılı su banyosunda inkübe edilir. Bu süre ardından süspansiyonun hücre konsantrasyonunu ayarlamak için fotometrik bir cihaz kullanılır ve ekimi yapılacak inokülum, sıvı besiyeri ile seyreltme yoluyla hazırlanır.

Yöntemde, 6mm çaplı filtre kağıdı diskleri, bilinen konsantrayonda bir antimikrobial madde (antibiyotik vs.) ile yüklenir. Antibiyotik emdirilmiş diskler agar üzerine yerleştirilmeden önce inoküle edilen bakteri süspansiyonunun agar yüzeyinden absorplanması için onbeş dakikayı geçmeyecek şekilde beklenir. Bekleme süresinin ardından, antibiyotik yüklenmiş kağıt diskler, duyarlılığı test edilecek mikroorganizmanın inoküle edildiği agar tabak üzerine, aralarında en az 24 mm mesafe bulunacak ve tabağa tam olarak temas edecek şekilde yerleştirilirler. Filtre kağıdı disklerinden antibiyotik difüzyonu oldukça hızlı olduğundan, diskler agar üzerine dikkatlice yerleştirilir ve yerleştirmenin ardından yerinden oynatılmaz. Agar tabaklar 16-18 saatlik inkübasyonun ardından makroskopik olarak değerlendirilir. Tam inhibisyonun gözlendiği alanın çapı “inhibisyon çapı" ya da "zon çapı” olarak isimlendirilir. İnokülum yoğunluğu iyi ayarlanmış ve mikroorganizma ekimi doğru yapılmış bir agar tabakta, homojen bir mikroorganizma üremesi gözlenir ve inhibisyon zonu düzgün bir daire şeklinde oluşur.

Antibakteriyel özellikli ya da bakterisit etkili bir molekülün yüklenmiş olduğu bir polimerik ağyapı tarafından oluşturulacak inhibisyon çapları da, Kirby – Bauer disk difüzyonu metodu takip edilerek, ağyapının disk şekilli ve ihmal edilebilir yükseklik değerlerine (~1mm) sahip numuneleri ile gerçekleştirilir.

E.coli kaynaklı hastalıklar gıda yoluyla bulaşan hastalıklar sınıfına girer. Hastalık etkeni bakterinin başlıca yayılma kaynakları, çiğ ya da iyi pişirilmemiş et, pastörize edilmemiş süt ve süt ürünleri, iyi temizlenmemiş ya da *E.coli* ile kontamine olmuş sularla temizlenmiş çiğ sebze-meyve, *E.coli* içeren göl ve havuzlar ile yeteri kadar klorlanmamış içme sularıdır. Bakteri insandan insana da bulaşabildiğinden, hijyen kurallarına dikkat edilmediği takdirde, toplu yaşam alanlarında bulaşımı oldukça kolaydır.

Günümüz koşullarında bile ciddi mikrop enfeksiyonları önemli bir sosyal problemdir. Kimyasal biositler, yiyecek ve içeceklerin, kozmetikler ve tıbbi malzemelerin hastalık yapıcılarla kontamine olmadan saklanmasında önemli rol oynar ve birçok endüstriyel ve çevresel uygulamada bozulmalara/çürümelere karşı koruma sağlar. Günümüzde kullanılan antimikrobiyal reaktifler 4 başlık altında incelenebilirler;

1- Klor ve peroksitler gibi oksidanlar [242]

2- Hücre içinde ya da üzerindeki nükleofilik gruplar ile reaksiyona girme yoluyla koruma sağlayan gümüş, bakır, civa gibi elektrofiller [243],

3- Formaldehit ve izotiazolinler [244] gibi organik biositler,

4- Klorheksidin ve kuvaterner amonyum bileşikleri gibi katyonik biositler.

Ancak bu küçük moleküller çevresel açıdan yüksek toksik etkilere sahiptir ve difüzyon hızlarının kontrolünün zor oluşu sebebiyle sağladıkları koruma kısa sürelidir [245]. Polimerik antimikrobiyaller ise uçucu olmayışları, kimyasal kararlılıkları ve cilde nüfuz etmemeleri sebebiyle avantajlıdırlar. Antimikrobiyal polimerler gıda endüstrisinde ambalaj malzemesi olarak [246,247], biyomedikal ürünlerde [248], filtrasyon sistemlerinde [249] kullanılabilmektedir. Katyonik antimikrobiyal polimerler, kateterler [248] ve benzeri implantların bakteriyel ataklara karşı korunmasında, hastane duvarları, günlük kullanım malzemeleri ya da oyuncaklara uygulanan boyalarda kullanılabilir. Böylece antiseptik özellik kazanan yüzeyler, bakteriyel enfeksiyonların yayılım riskini azaltır.

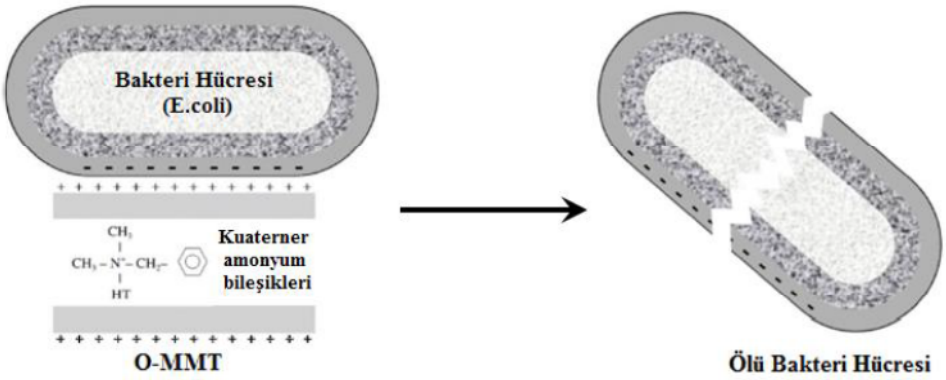
Antibakteriyel özeliklere sahip çeşitli polimerik yapıların bakterisit özelliklerinin incelendiği literatür çalışmalarından bazıları Çizelge 2.6 ile özetlenmiştir. Ağyapı özelliklerinden kaynaklanan bakterisit etkiler yanında, ağyapılara Ag^{o}, MgO gibi nanoparçacıklar, kurkumin gibi doğal kaynaklardan elde edilen özütler ya da antibiyotik etkili moleküller yerleştirilerek de antibakteriyel etkiler elde edilebilir. Bunun yanında, nanokompozit hidrojellerin sentezinde kullanılan bazı kil yapılar da antibakteriyel özellikler gösterebilmektedir.

Çizelge 2.6 : Çeşitli polimerik malzemelerin antibakteriyel özelliklerinin incelendiği çalışmalara ait bulgular.

Polimer	İlaç Yükleme	Zon çapı (mm)	Kaynak
PEGMA	Gentamisin	17.0	[250]
PEGMA-SSNa	Gentamisin	17.8	[250]
PEGMA-SSNa-GO	Gentamisin	18.0	[250]
HEMA	Gentamisin	15.0	[250]
HEMA-SSNa	Gentamisin	16.4	[250]
HEMA-SSNa-GO	Gentamisin	17.0	[250]
Kitosan	Vankomisin	25.0	[251]
PAAm	-	-	[252]
PAAm/NaCMC	-	23.99	[252]
PAAm/NaCMC/MgO(0.01)	-	29.99	[252]
PAAm/NaCMC/MgO(0.03)	-	43.98	[252]
PNIPAAm - 0.1621mM BIS	-	-	[253]
PNIPAAm - 0.1621mM BIS	Ag^o	20.0	[253]
PNIPAAm - 0.1621mM BIS	Ag^o + Kurkumin	29.0	[253]
PNIPAAm - 0.6648mM BIS	-	-	[253]
PNIPAAm - 0.6648mM BIS	Ag^o	9.5	[253]
PNIPAAm - 0.6648mM BIS	Ag^o + Kurkumin	12.3	[253]
Montmorillonit/kitosan biyonanokompozit	Ag	8.2 - 8.8	[254]

PEGMA : Poli(etilen glikol) metil eter metakrilat **HEMA :** 2-hidroksietil metakrilat
GO : Grafen oksit **SSNa :** Sodyum stiren sülfonat
AAm : Akrilamit **NaCMC:** Sodyum karboksimetilselüloz
MgO : Magnezyum oksit nanotoz **Ag^o :** Gümüş nanopartikül

Örneğin, Maryan ve Montazer tarafından literatüre sunulmuş olan çalışmada [255], MMT tabaka yüzeyleri kuvaterner amonyum tuzları ile katyonik olarak modifiye edilmiş, çok tabakalı kil yapının toplam yüzey yükü arttırılmıştır. Araştırmacılar, katyonik olarak modifiye edilmiş MMT'nin (O-MMT), MMT'ye kıyasla, negatif yüklü bakteri hücre zarı ile daha etkin bir şekilde etkileştiğini (Şekil 2.17), bu etkileşimin hücre zarı geçirgenliğini azalttığını ve bakteri hücrelerinin ölümüne sebep olduğunu belirtmişlerdir. Aynı çalışmada toz ve kolloidal (1g kil/100ml DDS) şekilde besiyeri üzerine dağıtılmış MMT'nin de bir miktar antibakteriyel özellik gösterdiği tespit edilmiştir.



Şekil 2.17 : O-MMT – bakteri hücre zarı etkileşiminin şematik gösterimi.

2.9. Hidrojellerde Ağyapı Analizleri ve Yapısal Karakterizasyon Yöntemleri

2.9.1. Tek Eksenli Sıkıştırma Testleri

Tek eksenli sıkıştırma testleri, bir malzemenin yük uygulaması karşısındaki davranışının en basit ve doğru şekilde anlaşılmasını sağlar. Malzeme tek eksenli ve sabit hızlı bir kontrollü yük uygulamasına maruz bırakılır ve yük uygulaması boyunca malzemenin boyutlarındaki değişim kaydedilir. Test sonunda, numunenin başlangıç boyutlarından da yararlanılarak malzeme için bir gerilim gerinim profili oluşturulur.

Hidrojel örneklere ait sıkıştırma modülleri (E), örnek için oluşturulan gerilim – gerinim eğrilerinin doğrusal başlangıç bölgesine (~%10 gerinim) ait eğim değerine eşittir. Tek eksenli bir sıkıştırma testi süresince malzemenin yüksekliğinde azalma ile birlikte kesit alanında ugulanan kuvvet etkisi ile bir artış sözkonusu olur. Malzemenin test süresinde sergilediği boyut değişimlerinin anlık takibi oldukça zor olduğundan, gerilim gerinim eğrilerinin mühendislik değerleri kullanılarak oluşturulması çok daha pratiktir.

Hidrojel örneklerin sıkıştırma modülü değerleri Eşitlik 2.43 yardımı ile hesaplanmıştır;

$$E = -\frac{\tau}{\lambda - 1} = \frac{F/A_o}{\frac{l}{l_o} - 1} = \frac{F/A_o}{\frac{l - l_o}{l_o}} = \frac{\tau_{mühendislik}}{\varepsilon_{mühendislik}} \qquad (2.43)$$

Eşitlikte, τ hidrojel disk üzerine uygulanan gerilim (N/m^2) ve λ munumenin uygulanan kuvvet doğrultusundaki deformasyon oranıdır. λ, numunenin uygulanan kuvvet sonrası (deformasyon sonrası) boyutunun (l), başlangıç (deformasyon öncesi)

boyutuna (l_o) oranı olup, (λ-1) mühendislik gerinimi ($\varepsilon_{mühendislik}$) olarak tanımlanır. Sıkışma gerilimi (τ) ise, numune üzerine uygulanan yükün (F) deformasyon öncesi yüzey alanına (A_o) oranıdır ve aynı zamanda mühendislik gerilimi ($\tau_{mühendislik}$) olarak da tanımlanır. Tek eksenli bir çekme ya da basma testi ile belirlenen mühendislik gerilim ve gerinim değerleri, sıkıştırma testi süresince malzemenin hacminin sabit kalacağı düşünülerek aşağıdaki denklemler ile gerçek gerilim ($\tau_{gerçek}$) ve gerçek gerinim ($\varepsilon_{gerçek}$) değerlerine dönüştürülebilir (Eşitlik 2.44-2.49).

$$V = A \times l = A_o \times l_o \qquad \tau_{gerçek} = \frac{F}{A} = \frac{F}{A} \times \frac{A_o}{A_o} = \frac{F}{A_o} \times \frac{A_o}{A} \tag{2.44}$$

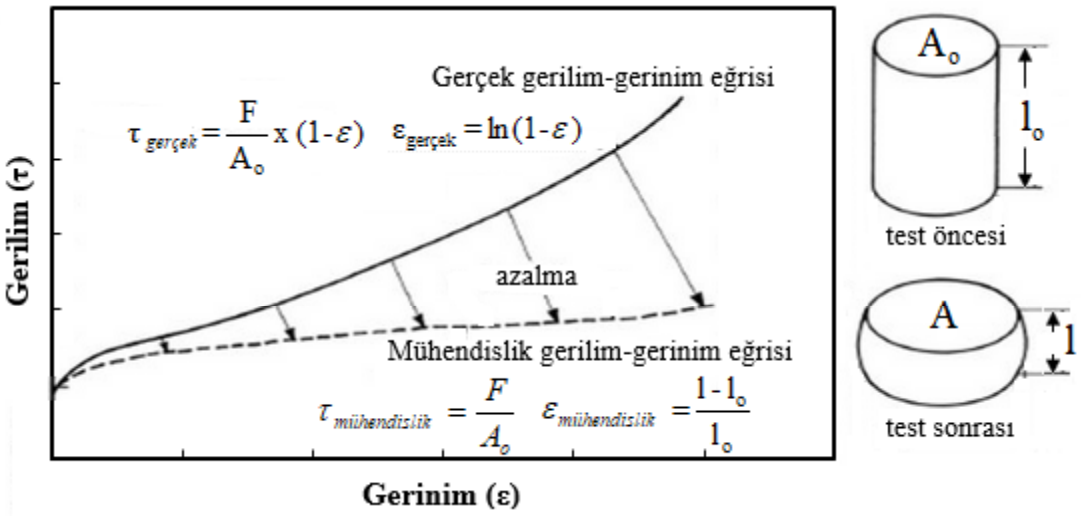
$$\frac{A_o}{A} = \frac{l}{l_o} = \frac{l_o - \Delta l}{l_o} = 1 - \frac{\Delta l}{l_o} = (1-\varepsilon) \tag{2.45}$$

$$\tau_{gerçek} = \frac{F}{A_o} \times (1-\varepsilon) = \tau_{mühendislik} \times (1-\varepsilon) \tag{2.46}$$

$$\varepsilon_{gerçek} = \int \frac{dl}{l} = \ln\left(\frac{l}{l_o}\right) \tag{2.47}$$

$$\varepsilon_{gerçek} = \ln\left(\frac{l_o - \Delta l}{l_o}\right) = \ln\left(\frac{l_o}{l_o} - \frac{\Delta l}{l_o}\right) \tag{2.48}$$

$$\varepsilon_{gerçek} = \ln(1-\varepsilon) \tag{2.49}$$



Şekil 2.18 : Tek eksenli sıkıştırma testi için gerçek ve mühendislik gerilim gerinim eğrileri.

Tek eksenli sıkıştırma testleri için, mühendislik gerilimi değerleri, test süresince numune alanı genişlediğinden ve birim alana uygulanan kuvvet azaldığından gerçek gerilim değerlerinden bir miktar daha düşük olarak gözlenir (Şekil 2.18) [256].

2.9.2. Fourier Transform Infrared (FTIR) Analizleri

Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR), bir molekülün yapısındaki fonksiyonel grupların belirlenmesinde kullanılan aletsel bir analiz yöntemidir. IR spektroskopi, atom ve moleküllerin belirli enerji seviyelerindeki (dalga boylarındaki) elektromanyetik radyasyonu absorplayabilmeleri temeline dayanır. Molekülde en kararlı elektron konfigürasyonu, en düşük enerjiye sahip elektron diziliminde elde edilir ki bu hal temel hal elektron konfigürasyonu olarak tanımlanır.

Spektrumun görünür bölge (400-800 nm) ve UV bölge (100-400 nm) enerji seviyelerine karşılık gelen elektromanyetik radyasyon, temel hal elektron konfigürasyonuna sahip bir elektronu yüksek enerji seviyeli orbitallere (uyarılmış hale) geçişe zorlar. X ışınları gibi daha yüksek enerjili fotonlar molekülden bir elektronun kopmasına (iyonizasyon) sebep olabilirken, IR bölge enerji seviyelerine sahip fotonlar sadece molekül içerisindeki atomların dönme ve titreşim hareketlerine sebep olurlar. IR radyasyona maruz kalan molekülde, atomların kütlelerine, bağ kuvvetine ve molekül geometrisine bağlı olarak titreşim genlikleri değişir.

Çizelge 2.7 : Elektromanyetik spektrumda IR bölge aralıkları.

	Dalga boyu, μm	**Dalga sayısı, cm^{-1}**	**Frekans, Hz**
Yakın IR	0.78 – 2.5	12800- 4000	$3.8x10^{14} – 1.2x10^{14}$
Orta IR	2.5 – 50	4000 – 200	$1.2x10^{14} – 6.0x10^{12}$
Uzak IR	50 – 1000	200 – 10	$6.0x10^{12} – 3.0x10^{11}$

IR spektrofotometrede elektromanyetik radyasyon kaynağı ile dedektör arasındaki sinyal farkı, molekül içerisindeki grupların dönme ve titreşim hareketleri için harcanan enerjiye karşılık gelir. IR spektroskopide, çeşitli dalga boylarına sahip foton demetlerinin numune üzerine tek tek gönderilmesi yoluyla tarama yapılabileceği gibi, IR frekansına sahip tüm fotonların eş anlı olarak numuneye gönderilmesi ile de oldukça kısa sürede sonuç alınabilmektedir. IR spektrofotometrelerde, interferometre adı verilen basit bir optik parça tüm IR frekansların kodlanmış olduğu tek tip sinyal üretir. Birçok interferometre, gelen IR ışın demetini iki ayrı demete ayıran bir bölücü (beam splitter) içerir. Bir ışın demeti cihaz içerisindeki sabit pozisyonlu bir aynadan

yansırken diğer ışın demeti, hareketli bir düz aynadan yansır. Bu iki aynadan yansıyarak ışın bölücüye geri dönen ışın ile orijinal ışının bir bölümü, önce numune üzerine daha sonra da dedektöre ulaşır. İnterferometrenin iki kolu arasındaki optik yol uzunluğu gecikme ya da optik yol farkı olarak isimlendirilir. Optik yol farkı değişimine bağlı olarak dedektörden gelen sinyallerden yararlanılarak interferogramlar oluşturulur. Ancak bir interferogram molekül içerisindeki grupların tespiti için yeteri kadar açık bilgi sunmaz. Fourier dönüşümü adı verilen matematiksel bir işlem ile interferogramlar spektrumlara dönüştürülür ve yorumlanır.

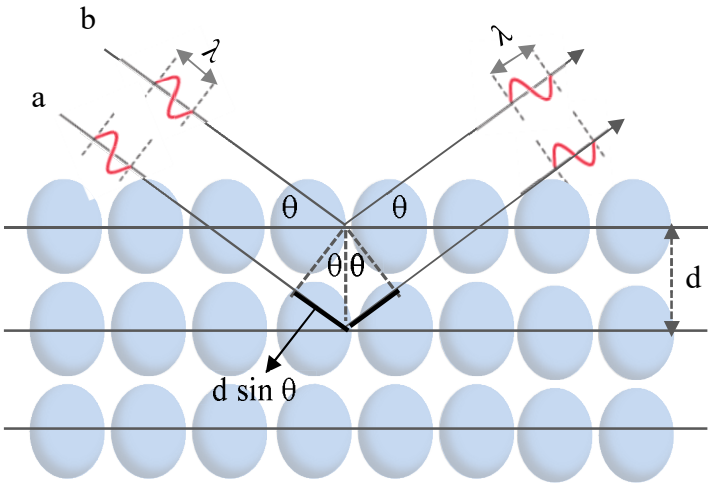
İnfrared (IR) spektroskopisi, molekül içerisindeki bağların titreşim frekanslarını tespit etmek yoluyla, sözkonusu molekül içerisindeki atomların ve fonksiyonel grupların cinsi hakkında bilgi verir. Elektromanyetik spektrumda IR bölge, dalga sayısı 12800 – 10 cm^{-1} bölgesini kapsar [257]. Spektrumun bu bölgesi, uygulama ve cihaz yönünden ise Çizelge 2.7'de görüldüğü şekilde sınıflanır.

2.9.3. X-Işını Kırınımı (XRD) Analizleri

X ışınları molekül içerisindeki bağlar ile eşdeğer uzunlukta dalga boylarına (~100pm) sahiptirler [258]. Bu sebeple kristal yapı analizinde, yapıdaki atomların yerlerinin net şekilde belirlenebilmesi amacıyla X ışınları kırınım (XRD) analizi kullanılır [259]. X ışınları kristal yapıları oluşturan düzlemler üzerindeki atomlara çarptığında, çeşitli yönlerde kırılır ve girişim etkisi ile farklı şiddetlerde saçılmaya uğrar. Farklı düzlemler üzerindeki atomlardan kırılarak yansıyan X ışınları arasındaki girişim, elektromanyetik radyasyon şiddetinde çeşitli maksimum ve minimumlar göstererek bir spektrum oluşturmasını sağlar. Herbir kırılma spektrumu, X ışını dalga boyu ve kristal tabaka düzlemleri arasındaki mesafeye bağlı olarak şekillenir [260]. Bragg yasası, numune üzerine gönderilen X ışını dalga boyu (λ), kristal yapıyı oluşturan atomik düzlemler arası mesafe (d) ve kırılma açısı (θ) arasında ilişki kurarak, kristal yapılardaki kırınım olayı için fiziksel bir model oluşturur (Eşitlik 2.50).

$$n\,\lambda = 2d \sin\theta \tag{2.50}$$

Şekil 2.19, kristal bir katıda X ışınları kırılması ve Bragg değişkenleri arasındaki ilişkiyi göstermektedir. Bragg yasasına uygunluk için, a ışınının, dedektöre b ışını ile aynı fazda ulaşması, yani b ışınına kıyasla "$2d \sin\theta$" kadar daha hızlı hareket etmesi ve bu mesafenin λ'nın bir tam katı (n) olması gereklidir.



Şekil 2.19 : Kristal bir katıda X ışınları kırılması ve Bragg değişkenleri arasındaki ilişki.

X ışınları kırınımı yöntemi ile incelenecek numuneler, yapısal ve fiziksel özelliklerine bağlı olarak dar açı (0-10°) ve geniş açı (10°-90°) X ışınları kırınımı yöntemleri ile analiz edilir. Dar açı X ışınları kırınımı, heterojen sistemler ile, çözelti içerisindeki makromoleküler komplekslerin analizi için uygun bir yöntemdir [261]. Moleküller içerisindeki atomların düzenlenmelerini tespit etmek amacıyla kullanılan yöntem, küçük peptitlerden (~5 kDa) proteinler gibi büyük (~100 MDa) makromoleküllere kadar çok çeşitli moleküllere uygulanabilen bir tekniktir. Kristal yapılarda düzlemler arası mesafelerin belirlenmesi amacıyla uygulanan geniş açı X ışınları kırınımı yönteminden farklı olarak, saçılan ışının şiddeti sadece saçılma açısına bağlıdır. Dar açı X ışınları kırınımı analizlerinden elde edilen veri, saçılan ışın yoğunluğu-krılma açısı grafikleri şeklinde düzenlenir ve çözelti içerisinde bulunan kompleks moleküllerin şekil ve boyutu hakkında bilgi verir. Yöntem, yapı hakkında düşük çözünürlüklü bilgi sağlayabiliyor olmakla birlikte, çeşitli biyomoleküllerin çözelti içerisindeki durumları ile ilgili bilgi vermesi bakımından önemlidir.

2.9.4. Taramalı Elektron Mikroskobu – Energy Dağılımlı Spektroskopi (SEM-EDS) Analizleri

Taramalı elektron mikroskopisi, yüzeylerin yüksek çözünürlüklü görüntülerinin alınabilmesini sağlayan bir analiz yöntemidir. Altın ya da altın/palladyum gibi metallerle nano kalınlıklarda kaplanarak iletken hale getirilen yüzeylere, zayıf bir akım uygulanarak hızlandırılmış bir elektron demeti gönderilir. Elektronların hareketini sağlamak için SEM analizleri vakum ortamında gerçekleştirilir. Numune yüzeyine

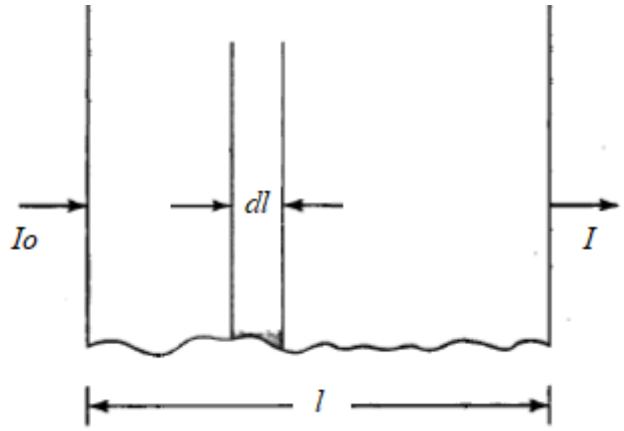
çarparak geri dönen elektronlar bir dedektör ile tespit edilerek, üç boyutlu bir yüzey görüntüsü elde etmek üzere uygun yazılım tarafından işlenir [262].

Bir numunenin elementel analizi ya da yapısal karakterizasyonu için uygulanan SEM-EDS analizi ise, numunenin yüksek enerjili yüklü partiküller (elektron veya protonlar) veya X ışınları ile bombardıman edilmesi ve bu şekilde atomun temel enerji seviyelerinde bulunan elektronların uyarılması temeline dayanır. Bombardıman, temel hal elektron konfigürasyonuna sahip bir iç kabuk elektronunu, uyarılmış hal elektron konfigürasyonuna geçmeye zorlar ve temel hal elektron düzeninde oluşan boşluk üst enerji seviyelerinden bir elektron tarafından doldurulur. Bu sırada, üst ve temel hal seviyeleri arasındaki enerji farkına eşit enerjiye sahip bir X ışını oluşur. X ışınlarının sayısı ve enerji yoğunluğu tespit edilerek, numune içerisinde bulunan ve atom numarası 4'den (Be) 92'ye (U) kadar olan atomik türler kalitatif ve kantitatif olarak tespit edilir [263,264].

2.9.5. Ultraviyole-görünür alan (UV-vis) Spektroskopi Analizleri

Ultraviyole-görünür alan spektroskopisi, çözelti içerisinde bulunan moleküller tarafından absorplanan belirli dalga boyuna sahip ışın miktarından (absorbans) yararlanarak çözelti içerisindeki madde konsantrasyonunun bulunmasını amaçlayan aletsel bir yöntemdir. Ultraviyole-görünür alan (UV-vis) spektroskopisi, elektromanyetik spektrumun 200-800 nm dalga boyu aralığındaki ışınlarını kullanır. Bu aralıktaki ışınlar, atom ve moleküllerdeki temel hal elektronlarını uyarılmış hal enerji seviyelerine geçişe zorlar. Geçişler çoğunlukla molekülün en yüksek enerjili dolu orbitalinden (HOMO) en düşük enerji seviyeli boş orbitaline (LUMO) geçiş şeklinde gerçekleşir. Yüksel enerji seviyelerine geçişe zorlanmış elektronlar bu seviyede kararlı halde kalamaz ve temel hal elektron seviyelerine geri dönerler. Bu sırada absorplanmış olan enerji elektron tarafından geri verilir.

I_o şiddetine sahip bir ışın demeti numune üzerine gönderildiğinde, numune içerisindeki moleküller tarafından gönderilen elektromanyetik radyasyonun bir kısmı absorplanır bir kısımı ise şiddeti azalmış (I) bir ışın demeti olarak numuneyi terk eder. Numune genişliği (l), numuneden ayrılan ışının şiddeti ve numunenin konsantrasyonu (c) ile doğru orantılıdır (Şekil 2.20).



Şekil 2.20 : Işığın *l* kalınlıklı çözelti içerisinden geçişi.

$$\frac{dI}{I} = -\sigma c dl \tag{2.51}$$

$$\int_{Io}^{I} \frac{dI}{I} = -\int_{o}^{l} \sigma c dl \tag{2.52}$$

$$\ln \frac{Io}{I} = -\sigma c l \tag{2.53}$$

$$-\log \frac{Io}{I} = -\log T = 2.303 \sigma c l \tag{2.54}$$

$$A = \varepsilon c l \tag{2.55}$$

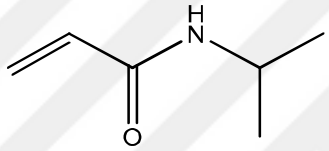
Eşitlik 2.51'in $I = I_o \quad l = 0$ ve $I = I \quad l = l$ limit değerleri ile integre edilmesi sonucu Eşitlik 2.52 elde edilir. Eşitlik 2.54'de $\frac{Io}{I}$ transmittans (T), $-\log \frac{Io}{I}$ ise absorbans (A) olarak tanımlanır. Lambert-Beer yasası olarak tanımlanan Eşitlik 2.55'de ε molar absorpsiyon katsayısıdır.

3. DENEYSEL KISIM

3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Çözeltiler

3.1.1. N-izopropilakrilamit (NIPAAm)

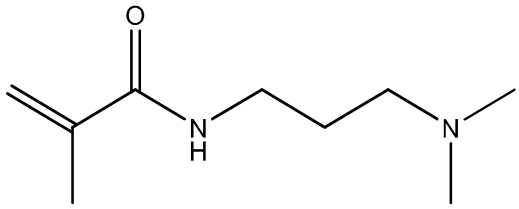
Tez çalışması süresince gerçekleştirilen sentezlerde kullanılan temel bileşen olan NIPAAm Aldrich ürünü olarak temin edilmiştir. Monomer %97 saflıkta olup, sentezlerde doğrudan kullanılmıştır (M_{NIPAAm} = 113.16 g/mol).



Şekil 3.1 : N-izopropilakrilamit molekül yapısı.

3.1.2. N-[3-(dimetilamino)propil] metakrilamit (DMAPMAAm)

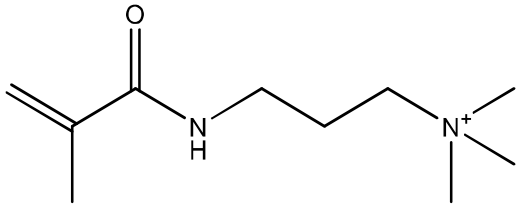
Çalışmada kullanılan komonomerlerden biri olan DMAPMAAm, Aldrich (St Louis, ABD) ürünüdür. Zayıf katyonik (pKa = 8 – 9) yapıda olan monomer oda sıcaklığında sıvı halde (d = 0.94 g/ml) bulunmaktadır. Sentez saflığında olan ürün doğrudan kullanılmıştır ($M_{DMAPMAAm}$ = 170.25 g/mol).



Şekil 3.2 : N-[3-(dimetilamino)propil] metakrilamit molekül yapısı.

3.1.3. 3-(metakrilamido) propil trimetilamonyum klorür (MAPTAC)

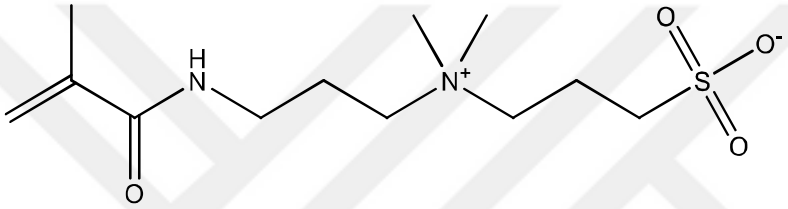
Çalışmada kullanılan komonomerlerden bir diğeri MAPTAC, Aldrich (St Louis, ABD) ürünüdür. %50'lik sulu çözeltisi halinde ve sentez saflığında olan monomer doğrudan kullanılmıştır (M_{MAPTAC} = 220.74 g/mol).



Şekil 3.3 : 3-(metakrilamido) propil trimetilamonyum klorür molekül yapısı.

3.1.4. N,N-dimetil-N-(3-metakrilamidopropil)-N-(3-sülfopropil) amonyum betain (SBMAAm)

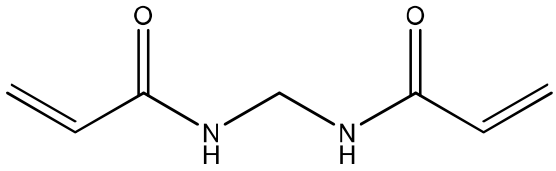
Çalışmada kullanılan komonomerlerden biri olan SBMAAm, Aldrich (St Louis, ABD) ürünü olup, sentez saflığındadır ve doğrudan kullanılmıştır. (M_{SBMAAm} = 292.39 g/mol)



Şekil 3.4 : N,N-dimetil-N-(3-metakrilaminopropil)-N-(3-sülfopropil) amonyum betain molekül yapısı.

3.1.5. N,N'-metilenbisakrilamit (BIS)

Geleneksel homopolimer ve kopolimer hidrojellerin sentezlenmelerinde kullanılan dört fonksiyonlu organik çapraz bağlayıcı BIS, Merck (Darmstadt, Almanya) ürünüdür. Sentez saflığında olan ürün doğrudan kullanılmıştır. (M_{BIS} = 154.17 g/mol)



Şekil 3.5 : N,N'-metilenbisakrilamit molekül yapısı.

3.1.6. Na^+-Montmorillonit (MMT)

$Na_{0.19}K_{0.20}Ca_{0.04}(Mg_{0.36}Fe_{0.10}Al_{1.14})Si_4O_{10}(OH)_2$ molekül formülüne sahip Na^+-Montmorillonit (MMT), (M_{MMT} = 349.229 g/mol) Süd-Chemie AG, (Germany) ürünü olup doğrudan kullanılmıştır. Ürünün ticari adı Nanofil 757'dir.

3.1.7. Oktadesilamin Montmorillonit (ODA-MMT)

$CH_3(CH_2)_{17}NH_2$ grupları ile %30-35 oranında yüzey modifikasyonu yapılmış oktadesilamin montmorillonit (ODA-MMT), Aldrich, (St Louis, ABD) ürünü olup doğrudan kullanılmıştır ($M_{ODA-MMT}$ = 360.941 g/mol).

3.1.8. Laponit (LP-RD)

$Na^{+0.7}[Si_8(Mg_{5.5}Li_{0.3})O_{20}(OH)_4]^{-0.7}$ formülüne sahip Laponit (LP-RD) Rockwood Additive Limited (UK) ürünü olup doğrudan kullanılmıştır (M_{LP-RD} = 771.460 g/mol).

3.1.9. Potasyum Persülfat (KPS)

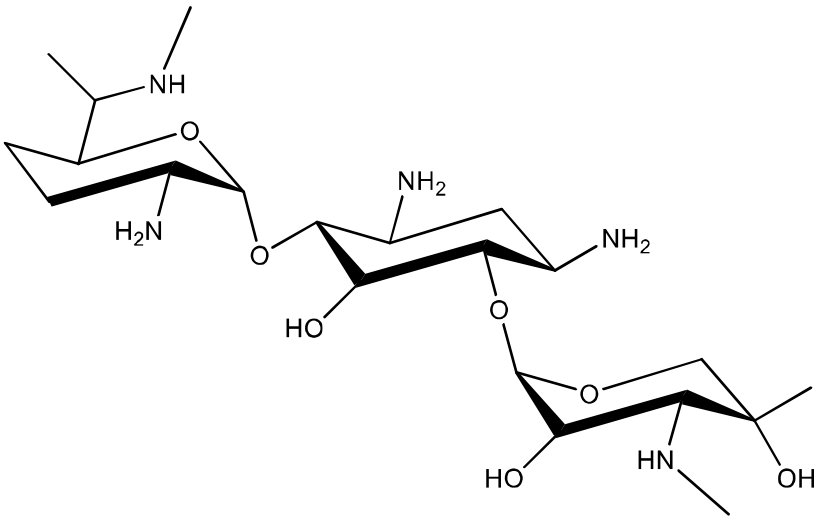
Polimerizasyon başlatıcısı olarak kullanılan KPS, Merck (Darmstadt, Almanya) ürünü olup sentez saflığındadır (M_{KPS} = 270.322 g/mol). Hidrojel sentezlerinde KPS, $1.5x10^{-2}$ M konsantrasyondaki sulu çözeltisi halinde kullanılmıştır.

3.1.10. N,N,N',N'-tetrametiletilendiamin (TEMED)

Kontrol grubu olarak seçilen NIPAAm homopolimer geleneksel hidrojellerin DDS içerisindeki sentezinde polimerizasyon hızlandırıcısı olarak kullanılan TEMED, Sigma – Aldrich (Steinheim, Almanya) ürünü olup %99 saflıktadır (M_{TEMED} = 116.205 g/mol, d = 0.770 g/ml). TEMED, polimerizasyon ortamındaki konsantrayonu $1.5x10^{-2}$ M olacak şekilde polimerizasyon ortamına ilave edilmiştir.

3.1.11. Gentamisin Sülfat (GS)

Gentamisin sülfat gram(-) bakteri enfeksiyonlarının tedavisinde oldukça etkili [262], duyarlı mikroorganizmalarda protein sentezini inhibe etmek yoluyla bakterisit etki gösteren aminoglikozid grubu geniş spektrumlu bir antibiyotiktir. Şekil 3.6'da molekül formülü verilmiş olan GS (pKa=8.2) [258], uygun konsantrasyon aralığında memeli hücreleri ve virüsler üzerinde düşük toksik etkiye sahiptir. Ürün Sigma – Aldrich (Steinheim, Almanya)'dan temin edilmiş olup, sudaki çözünürlük değeri 25°C'da 115 mg/ml'dir. Ürün, *Micromonospora purpurea*'dan özütlenmiş olup, ~600 µg Gentamicin/mg konsantrasyondadır ve doğrudan kullanılmıştır.



Şekil 3.6 : Gentamisin sülfat molekül yapısı.

3.1.12. Sodyum Klorür (NaCl)

Ürün Sigma – Aldrich (Fransa)'dan temin edilmiş olup > 99.0 % saflıktadır (M_{NaCl} = 58.44 g/mol)

3.1.13. Potasyum Klorür (KCl)

Tuzlu fosfat tampon çözelti (PBS) hazırlanmasında kullanılmış olan ürün Merck (Darmstadt, Almanya) firmasından temin edilmiş olup 99 % saflıktadır. (M_{KCl} = 74.55 g/mol)

3.1.14. Potasyum dihidrojen fosfat (KH_2PO_4)

PBS hazırlanmasında kullanılmış olan ürün ≥ 99.5 % saflıkta olup Merck (Darmstadt, Almanya) firmasından temin edilmiştir. ($M_{KH_2PO_4}$ = 136.09g/mol)

3.1.15. Disodyum hidrojen fosfat dihidrat ($Na_2HPO_4.2H_2O$)

PBS hazırlanmasında kullanılmış olan ürün ürün Merck (Darmstadt, Almanya) firmasından temin edilmiş olup 98 % saflıktadır ve doğrudan kullanılmıştır. ($M_{Na_2HPO_4.2H_2O}$ = 177.99 g/mol)

3.1.16. Tuzlu Fosfat Tampon Çözelti (PBS)

İlaç salım denemeleri ile disk difüzyonu testlerinde kullanılmış olan PBS, AfCS protokolü uyarınca (protokol no: PS00000041) Bölüm 3.1.12 - 3.1.15 aralığında

verilen kimyasallar kullanılarak Çizelge 3.1 ile verilen bileşimde hazırlanmıştır. Hazırlanan PBS son pH değeri 7.35'dir.

Çizelge 3.1 : Tuzlu fosfat tampon çözelti (PBS) hazırlanmasında kullanılan kimyasallar.

Kimyasal	Mol tartısı (g/mol)	Miktar (g/L)	Son konsantrasyon (M)
NaCl	58.44	8.00	1.4 M
KCl	74.56	0.20	26.8 mM
$Na_2HPO_4.2H_2O$	177.99	1.78	0.1 M
KH_2PO_4	136.10	0.24	17.6 mM

3.1.17. Besiyeri ve İnokülum

Çalışmada kullanılan besiyerleri, 90mm'lik tek kullanımlık petriler içerisine bileşimi kazein pepton 15.0 g/L; soya pepton 5.0 g/L; NaCl 5.0 g/L; agar-agar 15.0 g/L olan Tyriptic Soy Agar (TSA - Merck 1.05458) kullanılarak hazırlanmıştır. Besiyeri Merck (Darmstadt, Almanya) ürünü olup, 40g/L konsantrasyonda olacak şekilde DDS içerisinde hazırlanmıştır. Bir manyetik karıştırıcı ile besiyerinin gerekli tartımının oda sıcaklığında DDS içerisinde tamamen dağılması sağlandıktan sonra, çözelti otoklavda su buharı ile doyurulmuş ortamda, 121°C ve 1 atmosfer basınçta 15 dakika süre ile sterilize edilmiştir. Otoklavdan alınan besiyeri 40°-45°C'a kadar manyetik karıştırıcıda karıştırılarak soğutulduktan sonra, steril petriler içerisine 25ml/petri olarak dökülmüş, steril ortamda petri kapakları açık şekilde besiyerinin soğuyarak katılaşması sağlanmıştır. Hazırlanmış besiyeri berrak ve sarımsı kahve renktedir. Sterilizasyon sonrası 25°C'da pH'sı ise 7.3±0.2'dir. Kapakları kapatılan ve şirinklenen besiyerleri +4°C'da kullanıma kadar muhafaza edilmişlerdir.

E.coli K12 inokülumu 18-24 saatlik inkübasyonun ardından +4°C'da muhafaza edilmekte olan agar tabağında tek düşmüş bir koloniden alınarak doğrudan sıvı besi yeri (broth) içerisinde süspanse edilmiştir. Süspansiyon 16-18 saat süreyle 37°C'da çalkalayıcılı su banyosunda inkübe edilmiş, bu süre ardından 1'e 10 seyreltilmiş ve süspansiyonun hücre konsantrasyonu UV-vis spektrofotometre (Shimadzu UV mini-1240) ile fotometrik olarak tespit edilmiştir. 600nm'deki OD (optic density) değeri ~0.4-0.6 aralığında olan bu süspansiyondan (1 OD = $1x10^9$ kob) sıvı besiyeri ile seyreltme yoluyla, $1x10^6$ kob/1ml (kob:koloni oluşturucu birim) konsantrasyonda inokülasyon süspansiyonları hazırlanmıştır.

3.2. Kullanılan Cihaz ve Donanımlar

3.2.1. Mekanik Test Cihazı

Hidrojel disklerin tek eksenli sıkıştırma testleri, Hounsfield HK5-S mekanik test cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Test öncesi hidrojel diskler DDS içerisinde test sıcaklığında (30º, 33º, 37º, 40º veya 45ºC) bir hafta süre ile bekletilerek, ağyapının test sıcaklığındaki denge koşullarına ulaşması sağlanmıştır. Sıkıştırma test hızı 10.0 mm/dk ve sıkıştırma kuvvet aralığı 0.0 – 5.0 N olarak seçilmiştir. Her bir örnek için tek eksenli sıkıştırma test sonucu bir kuvvet (Newton) – sıkışma (mm) grafiği olarak elde edilmiştir.

Şekil 3.7 : Hounsfield HK5-S mekanik test cihazı.

3.2.2. SEM-EDS

Oda sıcaklığında sabit tartıma kadar kurutulmuş ve öğülmüş örneklere, SEM-EDS incelemelerinden önce, Quorum SC7620 kaplama cihazı kullanılarak altın/palladyum (Ag/Pd) yüzey kaplaması yapılmıştır. Uygulanan kaplama 3-4 µm kalınlıkta olup, incelenen numuneye yüzey iletkenliği kazandırmak amacıyla gerçekleştirilmiştir. Hidrojel ağyapıların incelenen bölgelerine ait EDS haritaları ise, elektron mikroskobuna adapte edilmiş bir AMETEK EDAX Apollo X ünitesi ile oluşturulmuştur.

3.2.3. XRD

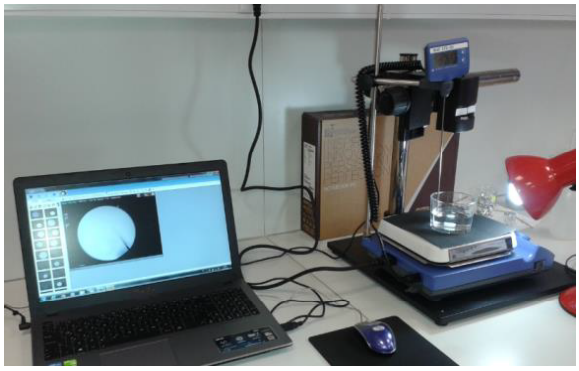
Kompozit hidrojellerde çapraz bağlayıcı olarak kullanılan inorganik çok tabakalı kil yapıların, hidrojel ağyapı içerisindeki dağılımları Bruker D8 Advanced X-ışını difraktometresi ile incelenmiştir. X ışını kaynağı olarak, 0.154 nm dalga boylu CuKα lambası kullanılmış olup, uygulanan voltaj ve akım değerleri sırasıyla 40 kV ve 40 mA'dir. Öçümler 2θ = 2.00° - 12.00° (θ kırılma açısı olmak üzere) aralığında gerçekleştirilmiştir. Numune, 2θ'nın 0.02°'lik değişimleri ile ve 0.2°dk^{-1} tarama hızı ile incelenmiştir.

3.2.4. FT-IR Spektrofotometre

Hidrojellerin yapısal karakterizasyonları, Perkin Elmer marka FTIR spektrofotometre ile 650-4000 cm^{-1} dalga sayısı aralığında gerçekleştirilmiştir.

3.2.5. Dino-Lite Görüntüleme Sistemi

Hidrojel disklerin pH'a bağlı şişme davranışları, Dino-Lite AM4113TL model dijital video mikroskop ve sisteme uygun yazılımı (DinoCapture 2.0.) taşıyan Asus X550V bilgisayar sistemi ile izlenmiştir. Video mikroskop 1.3 mega piksel kameraya sahip olup, 10x – 92x büyütme ölçeğinde çalışabilmektedir.



Şekil 3.8 : Dino-Lite AM4113TL model dijital video mikroskop.

3.2.6. BIORAD Görüntüleme Sistemi

Bölüm 3.3.1'de belirtilen yöntem ile hazırlanan hidrojel diskler, *E.coli* inoküle edilmiş TSA agar petriler içerisinde inkübe edilmelerinin ardından, petriler BIORAD ChemiDoc MP görüntüleme sistemi ile incelenerek inhibisyon alanlarının varlığı tespit edilmiştir.

Şekil 3.9 : BIORAD ChemiDoc MP görüntüleme sistemi.

3.2.7. UV-Visible Spektrofotometre

GS yüklenmiş hidrojel disklerin ilaç salım denemeleri ile hemotoksisite testlerinde Shimadzu marka UV-mini 1240 model UV-vis spektrofotometre kullanılmıştır.

3.2.8. pH metre ve Kondüktometre

pH ölçümleri ve kondüktometrik titrasyonlar sırasıyla WTW 523 model pH metre ve WTW-LF 2000 model kondüktometre kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

3.2.9. Etüv

Hidrojel sentezleri ile, sabit sıcaklıkta tek eksenli sıkıştırma testleri ve pH'a bağlı boyut değişimleri takip edilen örneklerin ilgili sıcaklıklarda şişme dengelerine ulaşmaları, dijital sıcaklık kontrol sistemi ve ±1 ºC duyarlılığa sahip, 5º-300ºC aralıkta çalışabilen BINDER marka ED23 model etüv içerisinde bekletme yoluyla sağlanmıştır.

3.2.10. Vakum Etüvü

Hidrojel örneklerin ilaç salım denemeleri öncesinde sabit tartıma kadar kurutulmaları işlemi, 0.5 bar basınç altında 45ºC'da NÜVE marka EV018 model vakum etüvü içerisinde gerçekleştirilmiştir.

Şekil 3.10 : NÜVE marka EV018 model vakum etüvü.

3.2.11. Manyetik Isıtıcı Karıştırıcı

Başta hidrojel sentezleri olmak üzere tüm denemelerde Heidolph MRhei-standard ısıtıcı karıştırıcılar kullanılmıştır.

3.2.12. Santrifüj

XRD analizleri yapılacak kil örnekler polimerizasyon ortamı olarak kullanılan NaOH çözeltileri ile muamele edilmelerinden sonra, Nüve NF400 model santrifüj ile 4000rpm'de 5 dakika süreyle santirüjlenerek çöktürülmüş, ardından üst faz dekante edilerek kil örnekleri sabit tartıma kadar kurutulmuştur.

3.2.13. Mikro Santrifüj

Hidrojel örneklerin hemolitik aktivitelerinin belirlenmesi denemelerinde Thermo Scientific marka 11210801 model 12x2ml kapasiteli mikro santrifüj kullanılmıştır.

3.2.14. Dijital Kumpas

Disk şeklindeki örneklerin boyutları INSIZE marka kalibreli dijital kumpas ile tespit edilmiştir. Ekipman 0-150 mm aralığında ±0.02 mm duyarlılıkla ölçüm yapabilmektedir.

3.3. Hidrojel Sentezi

DDS içerisinde KPS(APS)/TEMED redoks çifti varlığında ve PEGMEA, TEGDA, BIS gibi organik çapraz bağlayıcılar ile sentezlenen geleneksel PNIPAAm hidrojelleri, mekanik özellikler bakımından zayıf olup şişmiş halde sert ve kırılgan bir yapıya sahiptirler. Bununla birlikte PNIPAAm hidrojelleri, ilaç yüklemesi de yapılabilen,

vücut sıvılarını absorplama yeteneği yüksek, cilt yüzeyine iyi yapışma ve kolay ayrılabilme özelliklerine sahip yara örtülerinde [264], hücre kültür tabakları ve biyomedikal ürünlerde biyouyumlu bir malzeme olarak kullanılabilir [265,266]. Bu nedenle, PNIPAAm hidrojellerinde, kullanım alanına uygun yapısal ve mekanik özelliklere sahip ağyapılar elde etmek amacıyla çeşitli yapısal ve sentez prosedürü modifikasyonları yapılır.

Bu çalışmada, literatürde polimerizasyon çözücüsü olarak sıklıkla kullanılmış olan DDS, 0.1N ve 0.2N NaOH çözeltileri ile değiştirilmiş, böylece OH uç grupları ile sonlanmış ve geleneksel PNIPAAm hidrojellerine kıyasla daha hidrofilik ve mekanik özellikler bakımından iyileşmiş "modifiye geleneksel PNIPAAm hidrojelleri (mgNH)" elde edilmiştir. Geleneksel PNIPAAm sentezlerinde kullanılan polimerizasyon hızlandırıcısı, TEMED, bu çalışmada DDS içerisinde gerçekleşen sentezlerde dahi kullanılmamış (kontrol grubu hariç), 1 ve 2 haftalık uzun reaksiyon süreleri ile daha temiz bir "modifiye sentez ortamında" çalışılarak biyouyumluluğu yüksek hidrojeller sentezlenmiştir. Yeni sentez ortamında gerçekleştirilen polimerizasyonlarda, ikinci bir modifikasyon olarak, çapraz bağlayıcı organik molekül inorganik çok tabakalı smektit yapılar (LP, MMT, ODA-MMT) ile değiştirilerek "modifiye kompozit PNIPAAm hidrojelleri (mkNH)" sentezlenmiştir.

Modifiye sentez ortamında, yapısında kalıcı yüklü gruplar bulunan katyonik (MAPTAC) ve zwitteriyonik (SB) komonomerler ile pH'a bağlı olarak iyonize olabilen DMAPMAAm komonomerleri kullanılarak BIS varlığında "modifiye geleneksel kopolimer PNIPAAm hidrojelleri (mgkNH)", inorganik çapraz bağlayıcılar varlığında ise "modifiye kompozit kopolimer PNIPAAm hidrojelleri (mkkNH)" sentezlenmiştir. Geleneksel PNIPAAm hidrojellerinin sentez ortamı ve çapraz bağlayıcısı değiştirilerek elde edilen yeni ağyapı özellikleri, PNIPAAm kopolimer hidrojeller ile kıyaslamalı olarak incelenmiş, mekanik ve yapısal özellikler bakımından yeterli iyileşmenin sağlanamadığı mkkNH'ler tam-IPN'leri şeklinde sentezlenerek bir kez daha modifiye edilmişlerdir.

Bu çalışma kapsamında sentezlenen tüm geleneksel ve modifiye hidrojel grupları, isimlendirme sistematikleri, sentez parametreleri, gruplara uygulanan yapısal analiz ve karakterizasyonlar ile birlikte Çizelge 3.2'de özetlenmiştir.

Çizelge 3.2 : Özellikleri değiştirilmiş PNIPAAm hidrojellerinin isimlendirme sistematiği, sentez parametreleri ile uygulanan yapısal analiz ve karakterizasyonlar.

Geleneksel NIPAAm Hidrojeller (Kontrol Grubu) (gNH)	**Modifiye Geleneksel NIPAAm Hidrojeller (mgNH)**	**Modifiye Kompozit NIPAAm Hidrojeller (mkNH)**	**Modifiye Geleneksel Kopolimer NIPAAm Hidrojeller (mgkNH)**	**Modifiye Kompozit Kopolimer NIPAAm Hidrojeller (mkkNH)**	**Tam-İçiçe Geçmiş Ağyapılar (Tam-IPN)**
Sentez Parametreleri					
BIS/DDS KPS-TEMED	BIS/DDS; BIS/NaOH KPS	Kil/DDS; Kil/NaOH KPS	BIS/DDS; BIS/NaOH KPS	ODA-MMT/NaOH KPS	1.Ağyapı: ODA-MMT/NaOH;KPS 2.Ağyapı: BIS/NaOH;KPS
Hidrojeller					
		M10/0.1/1 M3/0.1/1	D/B/0/1 SB/B/0/1		
	BIS/0/1	M10/0.1/2 M3/0.1/2	D/B/0.1/1 SB/B/0.1/1	D/O10/0.1/1	
BIS/0/1gT+	BIS/0/2	M10/0.2/1 L3/0/1	D/B/0.2/1 SB/B/0.2/1	D/O10/0.2/1	IPN D/O10-B
BIS/0/1T+	BIS/0.1/1	M10/0.2/2 L3/0.1/1	M/B/0/1	M/O10/0.1/1	IPN M/O10-B
BIS/0/2T+	BIS/0.1/2	O10/0.1/1 L10/0.1/1	M/B/0.1/1	M/O10/0.2/1	IPN SB/O10-B
	BIS/0.2/1	O10/0.1/2 L10/0.1/2	M/B/0.2/1	SB/O10/0.1/1	
	BIS/0.2/2	O10/0.2/1 M10/0/1		SB/O10/0.2/1	
		O10/0.2/2 M10/0/2			
Yapısal analiz ve karakterizasyonlar					
Tek eksenli sıkıştırma, Kondüktometrik titrasyonlar Antibakteriyel aktivite, İlaç salım, Kan uyumluluk pH'a bağlı denge şişme PBS içerisinde dinamik şişme			Tek eksenli sıkıştırma Antibakteriyel aktivite, İlaç salım pH'a bağlı denge şişme PBS içerisinde dinamik şişme		Tek eksenli sıkıştırma Antibakteriyel aktivite, İlaç salım PBS içerisinde dinamik şişme

PNIPAAm hidrojellerin sentezinde kullanılan çapraz bağlayıcı moleküller basitçe L (LP-RD), M (MMT), O (ODA-MMT) ve BIS (organik çapraz bağlayıcı) olarak ifade edilmiştir. İnorganik çok tabakalı çapraz bağlayıcı miktarı (NIPAAm'a kıyasla ağırlıkça % olarak), polimerizasyon çözücüsü (DDS, 0.1N veya 0.2N NaOH) ve reaksiyon süreleri ise sırasıyla, 3 veya 10; 0, 0.1 veya 0.2 ve 1 veya 2 olarak ifade edilmiştir. mgkNH, mkkNH ve m(IPN)kNH'lerinde kullanılan komonomerler olan DMAPMAAm, MAPTAC ve SBMAAm ise sırasıyla D, M ve SB olarak ifade edilmişlerdir.

3.3.1. Modifiye Geleneksel ve Modifiye Kompozit Homopolimer ve Kopolimer PNIPAAm Hidrojellerinin Sentezi

Modifiye kompozit PNIPAAm homopolimer hidrojeller (mkNH), temel bileşen olan NIPAAm'a kıyasla ağırlıkça %3 ve %10 oranında LP, Na-MMT veya ODA-MMT'nin çapraz bağlayıcı olarak kullanılmasıyla sentezlenmiştir. Bu miktarlar sırasıyla, LP için $0.5x10^{-2}$ ve $1.5x10^{-2}$ mol/L çözücü, Na-MMT için $1.1x10^{-2}$ ve $3.2x10^{-2}$ mol/L çözücü ve ODA-MMT için $1.05x10^{-2}$ ve $3.1x10^{-2}$ mol/L çözücü konsantrasyonlarına karşılık gelmekte olup, Haraguchi ve Lee tarafından kompozit PNIPAAm hidrojellerinin sentezlerinde kullanılan düşük inorganik çapraz bağlayıcı konsantrasyonlarının da bir miktar daha altındadır [267]. İnorganik çok tabakalı çapraz bağlayıcılar, iki farklı konsantrasyonda DDS, 0.1N NaOH veya 0.2N NaOH çözeltileri (4.5ml) içerisinde dağıtılmış, oluşan süspansiyon 17 saat süreyle manyetik karıştırıcıda karıştırılarak, kil tabakalarının hidratasyonu ve tabakalar arası mesafelerin açılması sağlanmıştır. Karıştırma süresi sonunda NIPAAm, kil süspansiyonuna ilave edilmiş ve NIPAAm-kil karışımı 1 saat daha manyetik karıştırıcıda bırakılmıştır. Son olarak, KPS'in polimerizasyon çözücüsü ile $1.5x10^{-2}$mol/L konsantrasyonda olacak şekilde hazırlanmış çözeltisi (0.5 ml) polimerizasyon ortamına ilave edilmiştir. Sentezler, sabit NIPAAm (1.0 mol/L) ve KPS konsantrasyonları ile, 25ºC'da, iki farklı polimerizasyon süresi (1 veya 2 hafta) ile gerçekleştirilmiştir.

Sentezi ilk defa bu çalışma ile gerçekleştirilen modifiye kompozit PNIPAAm hidrojellerin (mkNH) değiştirilmiş/iyileştirilmiş özelliklerinin kıyaslamalı olarak incelenebilmesi amacıyla, NIPAAm'a kıyasla ağırlıkça %2 oranında olacak şekilde dört fonksiyonlu organik bir molekül olan BIS kullanılarak ($1.5x10^{-2}$ mol/L çözücü) modifiye geleneksel PNIPAAm hidrojeller (mgNH) de sentezlenmiştir. mgNH sentezleri, mkNH sentezleri ile aynı sıcaklık ve sentez süresi koşullarında gerçekleştirilmiştir.

Çalışmanın kontrol grubu olarak düşünülebilecek geleneksel PNIPAAm homopolimer hidrojeller (gNH) ise, DDS içerisinde, 1gün, 1 ve 2 haftalık polimerizasyon süreleri ile, TEMED-KPS redoks çifti varlığında sentezlenmişlerdir. 25ºC'da gerçekleştirilen sentezlerde TEMED ve KPS, DDS içerisinde hazırlanmış $1.50x10^{-2}$ mol/L konsantrasyonlu çözeltileri şeklinde kullanılmıştır.

Hazırlanan her bir polimerizasyon çözeltisi, cam deney tüpleri içerisine alınarak daha büyük çaplı bir diğer deney tüpü içerisine yerleştirilmiş, ağzı kauçuk kapak ile kapatılmış bu tüpten, giriş ve çıkış olmak üzere iki enjektör iğnesi yardımıyla 15 dakika süreyle azot gazı geçirilmiştir. Sentez süresi sonunda, içerisinde polimerizasyonun gerçekleştiği cam tüpler kırılarak silindirik şekilli ve çapraz bağlı hidrojel ağyapılar elde edilmiştir. Hidrojeller ~ 0.5 cm'lik diskler şeklinde kesilerek bol miktar DDS içerisinde bir hafta süre ile bekletilmiş, bu süre içerisinde hidrojellerin içinde bulunduğu DDS sıklıkla değiştirilerek, ağyapı içerisinde oluşabilecek doğrusal polimerlerin, reaksiyona girmemiş monomer, başlatıcı ve çapraz bağlayıcının yapıdan uzaklaşması sağlanmıştır.

Bu çalışmada sentezi gerçekleştirilmiş tüm gNH, mgNH ve mkNH'ler, bileşimleri ve hidrojellere ait kısaltmalar ile Çizelge 3.3'de verilmiştir.

PNIPAAm/ODA-MMT mkNH'lerinin vücut sıcaklığı olan 37ºC'da sahip oldukları yüksek modül değerleri sebebiyle (Şekil 4.11), modifiye kompozit kopolimer PNIPAAm hidrojellerinin (mkkNH) sentezinde de inorganik çok fonksiyonlu çapraz bağlayıcı olarak ODA-MMT tercih edilmiştir. NIPAAm'a kıyasla ağırlıkça %10 oranında, ODA-MMT, polimerizasyon çözücüsü (0.1N veya 0.2N NaOH) içerisinde 17 saatlik manyetik karıştırma yoluyla dağıtılmış, ardından, temel bileşen olan NIPAAm (molce % 97.5) ile birlikte DMAPMAAm, SB veya MAPTAC % 2.5 mol oranında polimerizasyon çözeltisine ilave edilmiş, homojen bir çözelti elde etmek amacıyla bir saatlik ilave manyetik karıştırma gerçekleştirilmiştir. ODA grupları ile hidrofobik yüzey modifikasyonu gerçekleştirilmiş ODA-MMT, DDS içerisinde dağıtılamamış, PNIPAAm/kil hidrojeller sadece 0.1N ve 0.2N NaOH çözeltileri içerisinde sentezlenebilmişlerdir. mkkNH'leri toplam monomer konsantrasyonu 1.0 mol/L olacak şekilde, 25ºC'da 1 haftalık polimerizasyon süresi ile sentezlenmişlerdir. Polimerizasyon çözücüsü içerisinde hazırlanmış $1.5x10^{-2}$mol/L konsantrasyonlu KPS'in başlatıcı olarak kullanıldığı ve TEMED kullanılmadan gerçekleştirilen sentezler sonunda, sentez tüplerinden alınan hidrojeller ~0.5cm'lik diskler şeklinde kesilerek DDS içerisinde 1 hafta süreyle bekletme yoluyla saflaştırılmışlardır.

Çizelge 3.3 : gNH, mgNH ve mkNH'lerinin bileşimleri ve kısaltmaları.

Kısaltma	Hidrojel	x10^{-2}mol/L (m_{kil}/m_{NIPAAm})								TEMED (T)	Sentez çözücüsü	Kaynak
		BIS		MMT (M)		ODA-MMT (O)		LP RD (L)				
		Bu çalışmada	Literatür	Bu çalışmada	Literatür	Bu çalışmada	Literatür	Bu çalışmada	Literatür			
gNH	BIS/0/1gün	1.5	1.05-2.23							1.5	DDS	[268]
	BIS/0/1T+	1.5	-							1.5	DDS	
	BIS/0/2T+	1.5	-							1.5	DDS	
mgNH	BIS/0/1	1.5	-								DDS	
	BIS/0/2	1.5	-								DDS	
	BIS/0.1/1	1.5	-								0.1 N NaOH	
	BIS/0.1/2	1.5	-								0.1 N NaOH	
	BIS/0.2/1	1.5	-								0.2 N NaOH	
	BIS/0.2/2	1.5	-								0.2 N NaOH	
mkNH	M3/0.1/1			1.1 (3%)	-						0.1 N NaOH	
	M3/0.1/2			1.1 (3%)	-						0.1 N NaOH	
	L3/0/1							0.5 (3%)	5 (33%)		DDS	[267]
	L3/0.1/1							0.5 (3%)	-		0.1 N NaOH	
	L10/0.1/1							1.5 (10%)	-		0.1 N NaOH	
	L10/0.1/2							1.5 (10%)	-		0.1 N NaOH	
	M10/0/1			3.2 (10%)	5 (15%)						DDS	[269]
	M10/0/2			3.2 (10%)	5 (15%)						DDS	[269]
	M10/0.1/1			3.2 (10%)	-						0.1 N NaOH	
	M10/0.1/2			3.2 (10%)	-						0.1 N NaOH	
	M10/0.2/1			3.2 (10%)	-						0.2 N NaOH	
	M10/0.2/2			3.2 (10%)	-						0.2 N NaOH	
	O10/0.1/1					3.1 (10%)	-				0.1 N NaOH	
	O10/0.1/2					3.1 (10%)	-				0.1 N NaOH	
	O10/0.2/1					3.1 (10%)	-				0.2 N NaOH	
	O10/0.2/2					3.1(10%)	-				0.2 N NaOH	

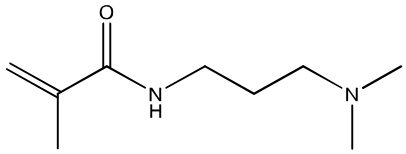
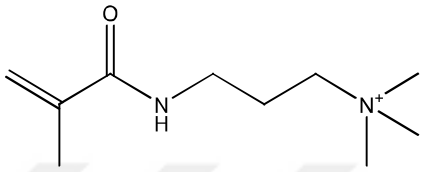
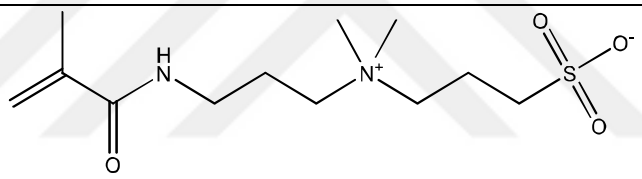
Çizelge 3.4 : mgkNH ve mkkNH'lerine ait kısaltmalar.

Kısaltma	Hidrojel	BIS x10^{-2}mol/L		ODA-MMT (O) x10^{-2}mol/L (m_{kil}/m_{NIPAAM})		Sentez çözücüsü
		Bu çalışmada	Literatür	Bu çalışmada	Literatür	
mgkNH	**D/B/0/1**	1.5	[270]			DDS
	D/B/0.1/1	1.5	-			DDS
	D/B/0.2/1	1.5	-			DDS
	M/B/0/1	1.5	[271]			DDS
	M/B/0.1/1	1.5	-			DDS
	M/B/0.2/1	1.5	-			0.1 N NaOH
	SB/B/0/1	1.5	[272]			0.1 N NaOH
	SB/B/0.1/1	1.5	-			0.2 N NaOH
	SB/B/0.2/1	1.5	-			0.2 N NaOH
mkkNH	**D/O10/0.1/1**			3.1 (10%)	-	0.1 N NaOH
	D/O10/0.2/1			3.1 (10%)	-	DDS
	M/O10/0.1/1			3.1 (10%)	-	0.1 N NaOH
	M/O10/0.2/1			3.1(10%)	-	0.1 N NaOH
	SB/O10/0.1/1			3.1 (10%)	-	0.1 N NaOH
	SB/O10/0.2/1			3.1 (10%)	-	DDS

Modifiye geleneksel kopolimer PNIPAAm hidrojellerin (mgkNH) sentezleri de, mgNH sentezlerine benzer bir prosedür takip edilerek gerçekleştirilmiştir. Temel bileşen NIPAAm'ın (0.975 mol/L) polimerizasyon çözücüsü (4.5 ml) içerisinde tamamen çözünmesinin ardından, komonomer (DMAPMAAm, SB veya MAPTAC) (0.025 mol/L) ve 1.5x10^{-2} mol/L konsantrasyonda olacak şekilde BIS ilavesi yapılmış, bir saatlik ilave manyetik karıştırma ile homojen bir polimerizasyon çözeltisi elde edilmiştir. Hidrojel sentezleri KPS'in polimerizasyon çözücüsü içerisinde hazırlanmış 0.5 ml'lik çözeltisinin (1.5x10^{-2} mol/L) polimerizasyon ortamına ilave edilmesi ile başlatılmıştır.

Sentezlenen geleneksel ve kompozit homopolimer ve kopolimer hidrojellere ait sentez parametreleri ile geleneksel ve kompozit kopolimer hidrojellerin sentezinde kullanılan komonomerlere ait temel özellikler sırayla Çizelge 3.4 ve Çizelge 3.5 ile verilmiştir.

Çizelge 3.5 : mgkNH ve mkkNH'lerinin sentezinde kullanılan komonomerler ve özellikleri.

DMAPMAAm	 N-[3-(dimetilamino)propil] metakrilamit ➢ pH'a bağlı olarak kuvaternize amonyum grupları oluşturan komonomer. ➢ Düşük mekanik dayanımlı homopolimer, PDMAPMAAm oluşturur [273].
MAPTAC	 3-(metakrilamido) propil trimetilamonyum klorür ➢ Kuvvetli katyonik komonomer. ➢ Süperabsorban hidrojellerin hazırlanmasında kullanılan komonomer [274].
SBMAAm	 N,N-dimetil-N-(3-metakrilaminopropil)-N-(3-sülfopropil) amonyum betain ➢ Zwitteriyonik yapıda komonomer. ➢ Doku implantlarının ve biyolojik malzemelerin hazırlanmasında kullanılabilecek komonomer [275]

3.3.2. PNIPAAm hidrojellerinin içiçe geçmiş ağyapılarının (IPN) Sentezi

Süperabsorban özellikli malzemelerin sentezinde kullanılan katyonik bir monomer olan MAPTAC içeren mkkNH (M/O10/0.1/1) oldukça zayıf mekanik dayanıma sahip olduğundan sıcaklığa bağlı sıkıştırma modülü ölçümleri alınamamıştır. 30°-45°C aralığında tek eksenli sıkıştırma testleri ile modül değerleri belirlenen SBMAAm içeren mkkNH (SB/O10/0.1/1) modül değerlerinin ise tüm sıcaklık noktalarında modifiye geleneksel kopolimer (SB/B/0.1/1) modül değerlerinden düşük olduğu gözlenmiştir. Bu sebeple, MAPTAC ve SB içeren mkkNH'leri sıkıştırma modülü değerlerinin yükseltilmesi, diğer bir ifade ile mekanik

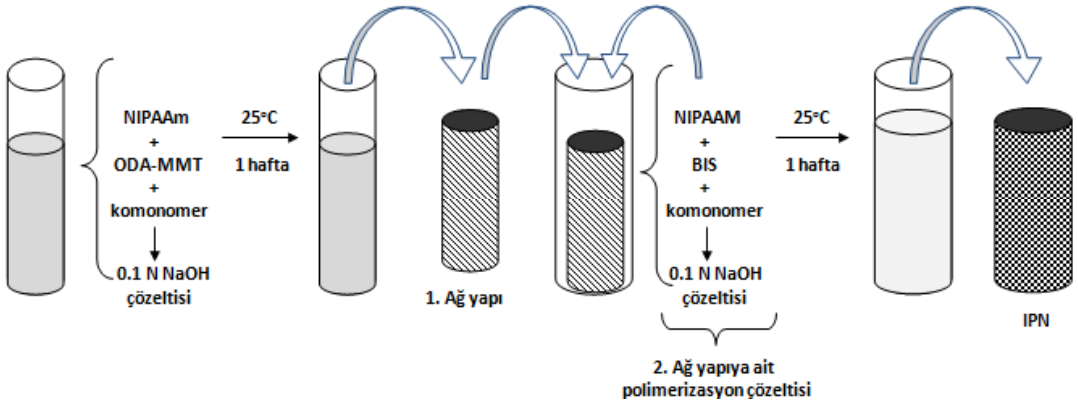
özelliklerinin iyileştirilmesi, D/O10/0.1/1 hidrojeli ise kıyaslamanın tüm grup için sağlıklı şekilde yapılabilmesi amacıyla tam-IPN'leri şeklinde sentezlenmişlerdir.

PNIPAAm tam-IPN hidrojellerin sentezinde, ilk adım, birinci çapraz bağlı hidrojel ağ yapının hazırlanmasıdır. Bunun için ilk polimer şebekesi, temel bileşen olan NIPAAm, inorganik çapraz bağlayıcı (O), komonomer (MAPTAC, DMAPMAAm veya SB) ve başlatıcıyı (KPS) içeren polimerizasyon ortamında, mkkNH hazırlanması prosedürü uyarınca sentezlenmiştir. Tam-IPN sentezinde kullanılacak ilk ağyapı olan mkkNH, sentezlenmesinin ardından;

(I) sabit tartıma kadar kurutularak veya

(II) kurutma yapılmadan

olmak üzere iki farklı şekilde, daha büyük çaplı bir diğer test tüpü içerisinde bulunan NIPAAm (0.975 mol/L), komonomer (0.025 mol/L) ve çapraz bağlayıcı olarak BIS ($1.5x10^{-2}$mol/L) içeren ikinci ağyapıya ait çözelti (4.5 ml) içerisine bırakılarak, 1 hafta süre ile 4°C'da bekletilmiştir. Bu şekilde, ikinci ağyapıya ait bileşenleri içeren çözeltinin, daha önce sentezlenmiş olan çapraz bağlı kompozit ağyapı içerisine nüfuz etmesi sağlanmıştır. Tam-IPN'lerin sentezinde, literatür çalışmalarından farklı olarak, ilk ağyapı diskler şeklinde hazırlanmamış ve ilk ağyapı üzerine herhangi bir saflaştırma işlemi uygulanmamıştır. 1 haftalık bekleme süresi sonunda, KPS'in polimerizasyon çözücüsü içerisinde hazırlanmış $1.5x10^{-2}$mol/L konsantrasyonlu çözeltisi (0.5 ml) de ilave edilerek tam-IPN yapıyı elde etmek üzere polimerizasyon başlatılmıştır. 25°C'da gerçekleştirilen bir haftalık polimerizasyonun ardından tam-IPN hidrojel test tüpü içerisinden çıkarılarak, saflaştırılmak üzere DDS içerisine alınmıştır. Tam-IPN hidrojellerin sentez akış şeması ve örneklere ait kısaltmalar sırasıyla Şekil 3.11 ve Çizelge 3.6 ile verilmiştir.

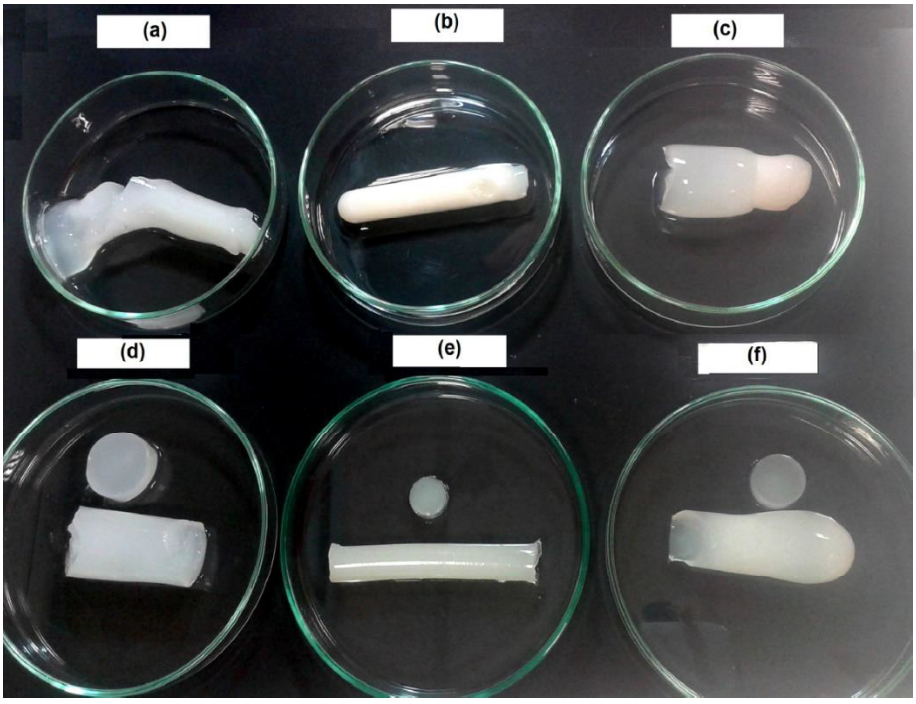


Şekil 3.11 : Tam- IPN hidrojellerin sentezi.

Çizelge 3.6 : Sentezlenen tam-IPN yapılı hidrojellere ait kısaltmalar.

Hidrojel	1. Ağ Yapı		2. Ağ Yapı	
	Komonomer	**Çapraz Bağlayıcı (O) x10^{-2}mol/L (m_{kil}/m_{NIPAAM})**	**Komonomer**	**Çapraz Bağlayıcı (B) x10^{-2}mol/L**
IPN D/O10-B	DMAPMAAm	3.1 (10%)	DMAPMAAm	1.5
IPN M/O10-B	MAPTAC	3.1 (10%)	MAPTAC	1.5
IPN SB/O10-B	SB	3.1 (10%)	SB	1.5

BIS (B) = 1.50 mol/L ; ODA-MMT (O) = % 10 (NIPAAm'a kıyasla % ağırlıkça)



Şekil 3.12 : Kurutularak (a, b, c) ve kurutulmadan (d, e, f) sentezlenmiş IPN hidrojellerin oda sıcaklığındaki fotoğrafları.

İkinci ağyapıyı oluşturacak bileşenlerin, sabit tartıma kadar kurutulmuş birinci çapraz bağlı yapıya emdirilmesi ile sentezlenen tam-IPN'lerin, ikinci polimer şebekesine ait çözeltiyi absorplamakta zorlandığı, polimerizasyon sonunda oldukça heterojen bir görünüme sahip oldukları ve saflaştırma işlemi boyunca parçalandıkları gözlenmiştir (Şekil 3.12 a,b,c). Buna karşılık, 2. ağyapı bileşenlerinin ilk ağyapıya kurutma ve saflaştırma yapılmadan emdirilerek hazırlandığı tam-IPN hidrojellerin ise oldukça homojen bir görünümde oldukları ve saflaştırma süresi sonunda yapısal bütünlüklerini korudukları gözlenmiştir (Şekil 3.12 d,e,f). İlaveten birinci ağyapı, BIS'e kıyasla daha

büyük bir molekül olan ve ağyapı içerisine difüzyonunun daha zor olacağı tahmin edilen ODA-MMT ile çapraz bağlanmıştır.

3.4. Hidrojellerin Karakterizasyonu

3.4.1. Tek Eksenli Sıkıştırma Testleri

PNIPAAm esaslı geleneksel ve kompozit homopolimer ve kopolimer hidrojellerin sabit sıcaklıktaki tek eksenli sıkıştırma modülleri, Hounsfield HK-5S model mekanik test cihazı ile, 5N'luk sabit kuvvet uygulaması altında belirlenmiştir. Bu amaçla, sentez tüplerinden alınan ve DDS içerisinde saflaştırılan hidrojel diskler, yine DDS içerisinde sırasıyla 30°, 33°, 37°, 40° ve 45°C'da etüv içerisinde 1 hafta süre ile bekletilerek, test sıcaklığındaki şişme dengelerine ulaşmaları sağlanmıştır. Tek eksenli sıkıştırma testi öncesi hidrojel disklerin çap ve yükseklik değerleri, bir dijital kumpas yardımıyla disk üzerine herhangi bir yük uygulaması yapılmadan belirlenmiştir. Ardından test cihazının sıkıştırma çenesinin sabit kısmına yerleştirilen diske, 10mm/dk sıkıştırma hızı ve 0.0 - 5.0N kuvvet aralığında bir kuvvet uygulaması ile tek eksenli sıkıştırma testi gerçekleştirilmiştir.

Sonuçlar kısmında detaylı şekilde açıklanacağı üzere, her bir hidrojel örneği için ağyapı heterojenliğinin E modüller üzerindeki etkisini azaltmak amacıyla eşit yüksekliklerde ve sentez tüpünün orta bölgesine karşılık gelen noktalardan sistematik şekilde dört ayrı disk şekilli örnek alınmıştır.

Her bir hidrojel örneği için dört ayrı disk üzerine uygulanan tek eksenli sıkıştırma testleri, 1-4, 2-3 ve 1,2,3,4 disklerinin modül değerleri ortalamasının oldukça yakın değerlerde olduğunu göstermiş, bu sebeple, sıkıştırma testleri her bir hidrojel örneğin test tüpünün orta noktasına karşılık gelen bölgesinden alınan iki disk üzerine uygulanmıştır. Hounsfield HK5S test cihazı ve uygun yazılım ile gerçekleştirilen sıkıştırma testleri öncesinde, her bir diske ait çap ve yükseklik değeri yazılıma tanıtılarak, gerilim – gerinim grafikleri ve sıkıştırma modülleri elde edilmiş, sonuçlar iki farklı test sonucunun ortalaması şeklinde rapor edilmiştir.

3.4.2. Hidrojellerin pH'a bağlı Boyut Değişimlerinin Belirlenmesi

Seçilen homopolimer ve kopolimer geleneksel ve kompozit örneklerinin pH'a bağlı boyut değişimleri, 1.3MP çözünürlük ve 10x – 92x büyütme oranı sağlayan Dino-Lite AM4113TL model dijital video mikroskop ile pH 2.0, 4.0, 6.0, 8.11, 9.20, 10.74 ve 11.66'da izlenmiştir. Sabit pH değerine sahip çözeltiler, ağyapıların tampon çözelti bileşenleriyle etkileşimlerinin önüne geçmek amacıyla, 0.1N NaOH veya 0.1 N HCl çözeltilerinden seyreltme yoluyla hazırlanmışlardır.

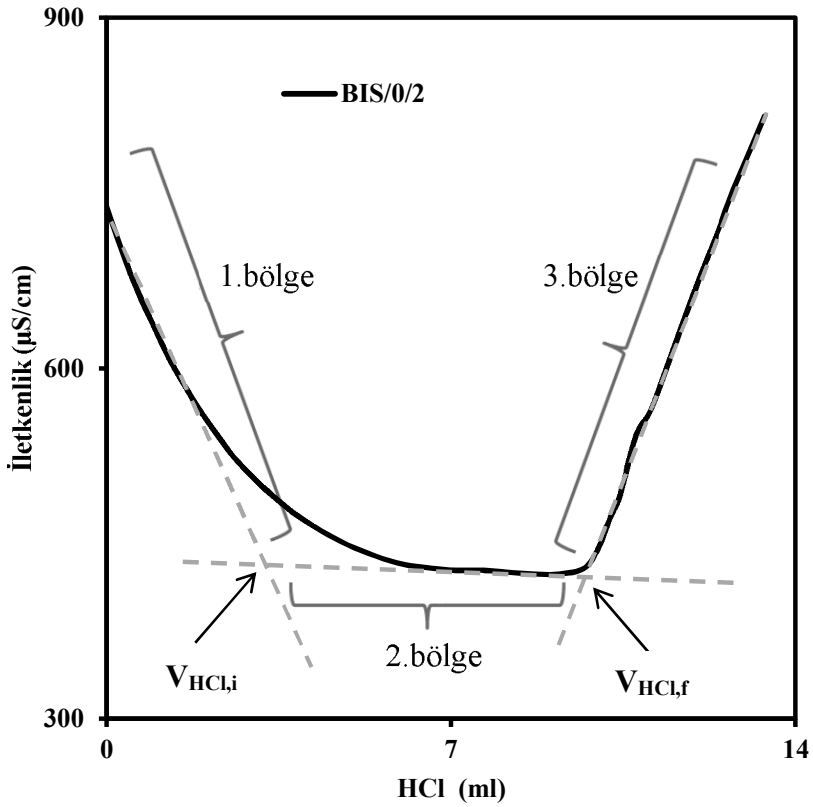
3.4.3. Kondüktometrik titrasyonlar

Kondüktometrik titrasyon, titrantın reaksiyon karışımına ilave edilmesi süreci boyunca reaksiyon çözeltisinin iletkenlik değerinin takip edildiği bir titrasyon türüdür. Bir çözeltinin iletkenlik değeri, çözelti konsantrasyonu, çözünenin dissosiasyon kuvveti, çözelti içerisindeki iyonların yükleri, iyon hareketlilikleri ve sıcaklık gibi parametrelere bağlıdır [276].

Sentezlenmeleri sonrası, DDS içerisinde saflaştırma ve kurutma işlemlerine tabi tutularak kuru diskler şeklinde elde edilmiş geleneksel ve kompozit homopolimer ve kopolimer hidrojeller arasından seçilen örnekler, kondüktometrik titrasyonlardan önce mekanik öğütme ile toz haline getirilmişlerdir. Hidrojel ağyapıların şişme ve çözücü içerisinde denge haline ulaşmaları difüzyon esaslı ve zaman gerektiren bir proses olduğundan, hidrojel ağyapı içerisinde bulunabilecek –COOH gruplarının analizinde doğrudan titrasyon güvenilir bir method olarak kabul görmemektedir [277]. Bu sebeple yürütülmüş olan bu çalışmada, sentezlenmiş olan hidrojel örneklerin –COOH grup analizleri geri titrasyon metodu ile belirlenmeye çalışılmıştır. 0.01N HCl çözeltisi ile yapılan geri titrasyonların kondüktometrik takibine geçilmeden evvel, her bir hidrojel örneğinin ~0.1 g'lık kısmı, 0.005N NaOH'ın fazlası ile 12 saat süre ile muamele edilmiş, böylece, hidrojel ağyapı içerisinde bulunabilecek -COOH gruplarının NaOH ile tamamen deprotone/nötralize olmaları sağlanmıştır.

0.005N NaOH fazlası ile muamele edilerek –COOH gruplarının nötralizasyonu sağlanan şişmiş hidrojel örneklerini içeren çözeltiye, 12 saatlik sürenin ardından, titrant (0.01N HCl) oda sıcaklığında, kontrollü şekilde ilave edilmeye başlanmış ve çözeltinin iletkenlik değerleri, WTW-LF 2000 model iletkenlik ölçer ile takip edilmiştir. Titrant sarfiyatına (ml) karşı hidrojel çözeltisinin iletkenlik değerleri

(µS/cm) arasında çizilen kondüktometrik titrasyon grafiğinde (Şekil 3.13), iki dönüm noktası ve üç ayrı titrasyon aşamasına ait bölgeler işaretlenmiştir.



Şekil 3.13 : BIS/0/2 hidrojeli için kondüktometrik geri titrasyon grafiğinde dönüm noktaları.

Şekil 3.13'de BIS/0/2 kodlu hidrojel için verilen kondüktometrik geri titrasyon eğrisi üzerinde ilk bölge (0-$V_{HCl,i}$), ağyapı içerisindeki –COOH gruplarını nötralize etmek için kullanılan NaOH dışında, çözelti içerisinde kalan serbest NaOH'ın nötralizasyonunun gerçekleştiği titrasyon bölümü, ikinci bölge ($V_{HCl,i}$ - $V_{HCl,f}$), hidrojel ağyapı içerisindeki karboksilat gruplarının (-COONa) protonizasyonundan kaynaklanan plato bölgesi ve üçüncü bölge ($V>V_{HCl,f}$) ise, çözeltiye ilave edilen HCl moleküllerinden kaynaklanan bölgedir. Geleneksel ve modifiye sentez prosedürleri kullanılarak sentezlenen hidrojel örnekler içerisindeki –COOH grubu miktarları, hidrojellere ait kondüktometrik geri titrasyon eğrileri üzerindeki iki dönüm noktasına karşılık gelen HCl sarfiyatlarından yararlanılarak hesaplanmıştır. Eğriler üzerinde, her üç titrasyon bölgesini ifade eden bölüm birer doğru ile belirlenmiş olup, bu doğruları tanımlayan matematiksel ifadeler aşağıdaki şekilde oluşturulmuştur;

$$\sigma_{OH^-} = A_{OH^-} + B_{OH^-} . V_{HCl} \qquad (3.1)$$

$$\sigma_{COO^-} = A_{COO^-} + B_{COO^-} . V_{HCl} \quad (3.2)$$

$$\sigma_{H^+} = A_{H^+} + B_{H^+} . V_{HCl} \quad (3.3)$$

Kondüktometrik geri titrasyon eğrisi üzerindeki ilk dönüm noktası, Eşitlik 3.1 ve 3.2'nin kesim noktasına karşılık gelen titrant hacmini ($V_{HCl,i}$) ifade etmektedir. Bu noktadaki titrant hacmi, çözelti içerisindeki serbest NaOH moleküllerinin tamamının titrasyon ortamına ilave edilen 0.01N HCl tarafından nötralize edildiği noktaya karşılık gelmektedir. Bu noktadan itibaren ilave edilen titrant hidrojel ağyapı içerisindeki –COONa gruplarının protonizasyonu için harcanır. Eşitlik 3.2 ve 3.3'ün kesim noktasına karşılık gelen titrant hacmi, ($V_{HCl,f}$) ise, ağyapı içerisindeki –COONa gruplarının 0.01N HCl tarafından tamamen protone edildiği noktaya kadar olan titrant hacmine karşılık gelir. Geri titrasyon eğrisinin 1., 2. ve 3. bölgelerini belirten doğrulara ait doğru denklemlerinin kesişme noktaları sırasıyla,

$$\sigma_{OH^-} = \sigma_{COO^-} \; ve \; V_{HCl,i} = \frac{A_{OH^-} - A_{COO^-}}{B_{COO^-} - B_{OH^-}} \quad (3.4)$$

$$\sigma_{COO^-} = \sigma_{H^+} \; ve \; V_{HCl,f} = \frac{A_{COO^-} - A_{H^+}}{B_{H^+} - B_{COO^-}} \quad (3.5)$$

eşitlikleri ile matemetiksel olarak ifade edilir. Hidrojel ağyapılar içerisindeki –COOH grubu miktarları, kitosan deasetilasyonunun kondüktometrik titrasyon ile belirlenmiş olduğu Santos ve arkadaşlarına ait çalışma [278] tarafından literatüre sunulmuş eşitlik modifiye edilerek Eşitlik 3.6 yardımıyla hesaplanmıştır.

$$n_{COOH} = \Delta V . C_{HCl} \quad (3.6)$$

Eşitlik 3.6'da ΔV ($V_{HCl,i} - V_{HCl,f}$) ağyapı içerisindeki COOH gruplarını nötralize etmek için kullanılan HCl hacmini ve C_{HCl} titrant olarak kullanılan HCl çözeltisinin konsantrasyonunu ifade etmektedir.

3.4.4. PNIPAAm Hidrojellerinin FTIR Analizleri

Modifiye sentez ortamının çapraz bağlayıcı olarak kullanılan kil yapılar ile, ağyapıları oluşturan monomer birimleri üzerine etkilerinin ve ağyapılardaki fonksiyonel grupların belirlenmesi amacıyla orijinal ve modifiye kil yapılar ile mgNH ve mkNH'lerin FTIR spektrumları alınmıştır. Sentez çözücüsü ile sentez süresi boyunca muamele edilerek hazırlanmış modifiye killer, santrifüjlenmelerinin ardından sabit

tartıma kadar kurutularak, hidrojel örnekler ise, sabit tartıma kadar kurutulduktan sonra öğütülerek analize hazır hale getirilmiştir. Analizler Perkin Elmer FTIR spektrofotometre ile 650–4000 cm^{-1} aralığında gerçekleştirilmiştir.

3.4.5. PNIPAAm Hidrojellerinin XRD Analizleri

Sentez çözücüsü ile sentez süresi boyunca muamele edilerek hazırlanmış modifiye killer ile bazı PNIPAAm/kil mkNH'lerinin XRD analizleri Bruker D8 Advanced X ışını difraktometresi ile gerçekleştirilmiştir. X ışını kaynağı olarak λ=0.154 nm dalga boylu CuKα kullanılmıştır. Uygulanan voltaj ve akım değerleri sırasıyla, 40 kV ve 40 mA'dir. Ölçümler 2θ = 2.00° - 12.00° aralığında gerçekleştirilmiş olup, spektrum taraması 0.02°'lik artışlar ile 0.2°/dk'lık tarama hızı ile gerçekleştirilmiştir.

3.4.6. PNIPAAm Hidrojellerinin SEM-EDS Analizleri

mkNH'lerinin morfolojik yapıları ve inorganik çapraz bağlayıcının ağyapıdaki dağılımı, FEI Quanta FEG 200 taramalı elektron mikroskobu ve sisteme ilave edilmiş AMETEK EDAX Apollo X ünitesi ile incelenmiştir. SEM-EDS analizleri öncesi sabit tartıma kadar kurutularak öğütülen hidrojel örnekler, Quorum SC7620 kaplama ünitesi kullanılarak 3–4 nm kalınlıklı altın/palladyum (Ag/Pd) ile kaplanmış böylece yüzeylere iletkenlik özelliği kazandırılmıştır.

3.4.7. PNIPAAm Hidrojellerinin Antibakteriyel Özelliklerinin Kirby-Bauer Disk Difüzyonu Metodu ile Belirlenmesi

Bu tez çalışmasında, geleneksel ve kompozit homopolimer ve kopolimer PNIPAAm hidrojellerinin antibakteriyel özelliklerinin incelenmesi denemelerinde, ortak yaşam alanlarında görülme yaygınlığı ve sindirim sistemi florasının doğal bir üyesi oluşu yanında patojen etki de gösterebilmesi sebebiyle, gram(-) bir bakteri olan *Escherichia coli* (*E.coli*) K12 suşu kullanılmıştır. Gentamisin sülfat (GS), gram(-) *E.coli* yanında, gram(+) *Staphylococcus aureus* ve bazı mikoplazmalara karşı aktivitesi çeşitli çalışmalarla ortaya konmuş aminoglikozit türevi bir antibiyotiktir [279]. Şekil 3.6'da molekül formülü verilmiş olan GS, uygun konsantrasyon aralığında memeli hücreleri ve virüsler üzerinde düşük toksik etkiye sahip olup, uzun süreli doku kültürü çalışmaları için de uygun bir antibiyotiktir.

Hidrojellerin antibakteriyel özelliklerinin belirlenmesi çalışmalarında, modifiye Kirby-Bauer disk difüzyonu metodu kullanılarak, geleneksel ve kompozit homopolimer ve kopolimer hidrojellerin antibakteriyel özellikleri incelenmiştir. Hidrojel diskler, sentezlenmelerinin ardından DDS içerisinde saflaştırılmış ve ~1.5 mm'lik diskler şeklinde kesilerek oda sıcaklığında sabit tartıma ulaşıncaya kadar kurutulmuşlardır. Ardından, hidrojel diskler, bileşimi Çizelge 3.1 ile verilen steril tuzlu fosfat tampon çözelti (PBS) (AFCS-Protokol) [280] veya Şekil 3.6'da molekül yapısı verilen antibiyotik GS'ın, PBS içerisindeki %0.2'lik çözeltisi ile 48 saat süreyle muamele edilmiş, hidrojel disklerin bu ortamda şişme dengesine ulaşmaları sağlanmıştır. 48 saatlik süre sonunda, PBS veya PBS + GS çözeltisi içerisinde şişme dengesine ulaşmış olan hidrojel diskler, inkübasyon sıcaklığı olan 37°C'daki su banyosu içerisine alınmış ve 24 saat süre ile bekletilerek bu sıcaklıktaki şişme dengesine ulaşmaları sağlanmıştır. Ardından, $1x10^{-6}$ kob/1ml (kob:koloni oluşturucu birim) konsantrasyonda hazırlanan inokülumun (300µl) TSA besiyeri üzerine ekimi yapılmış, hidrojel diskler ekim yapılmış TSA besiyeri üzerine bölgeler işaretlenerek yerleştirilmiş ve 37°C'da 16-18 saat inkübe edilmiştir. Tüm besiyeri ve inokülum hazırlama, inokülasyon, disk transferi ve inkübasyon süresi ardından yapılan görüntüleme işlemleri steril ortamda gerçekleştirilmiştir. Tüm örnekler için deneyler iki kez tekrarlanmış ve ortalama inhibisyon çapları belirlenmiştir.

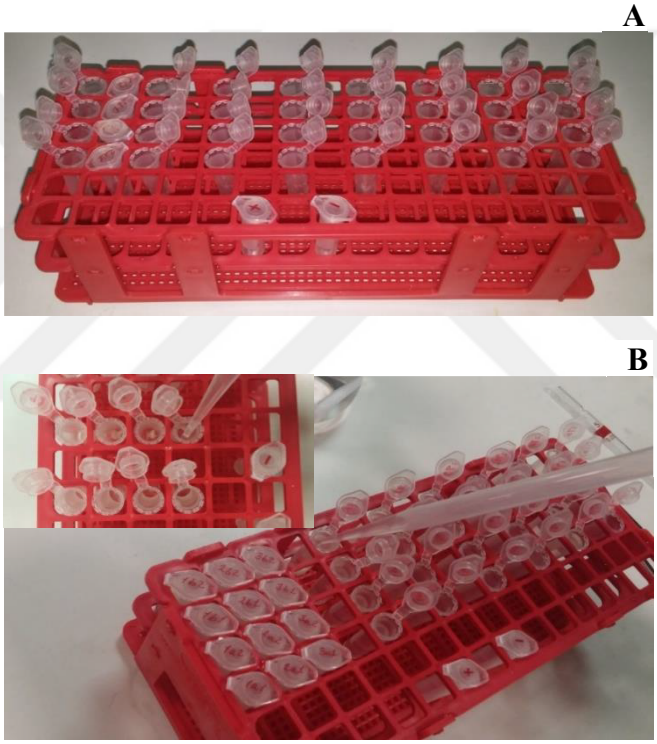
3.4.8. PNIPAAm Hidrojellerinin Kan Uyumluluklarının İncelenmesi

Kan uyumluluğu (hemolitik aktivite) testlerinde sağlıklı yetişkin gönüllüden alınan kan örneği kullanılmıştır. Trisodyum sitrat (0.108 mM ya da 3.2% w/v) ile antikoagüle edilmiş 2.7ml'lik tam kan örneği 5ml kalsiyum ve magnezyum içermeyen tuzlu fosfat tampon çözelti (PBS) ile seyreltilmiştir (kan:antikoagülan oranı; 9:1). Ardından çözelti 2000 rpm'de 5 dakika süreyle üç defa santrifüjlenerek, eritrositlerin (kırmızı kan hücreleri) kan plazmasından ayrılmaları sağlanmıştır. Plazmadan ayrılmış olan eritrositler kalsiyum ve magnezyum içermeyen PBS ile 50 ml'ye seyreltilmiş, böylece eritrosit stok çözeltisi hazırlanmıştır. Hazırlanan eritrosit süspansiyonunun 0.4 ml'si 1.6 ml hidrojel (veya modifiye edilmiş kil) süspansiyonu ile karıştırılmıştır. Hidrojel süspansiyonları, her bir hidrojel örneğin gerekli tartımının PBS içerisinde dispers edilerek 48 saat süre ile bekletilmesi yoluyla hazırlanmıştır. Hidrojel süspansiyonları 1.0 mg/ml ve 5.0 mg/ml konsantrasyonlarda hazırlanmışlardır. Eritrosit süspansiyonunun DDS içerisinde dağıtıldığı bir pozitif kontrol (%100 hemoliz) testi

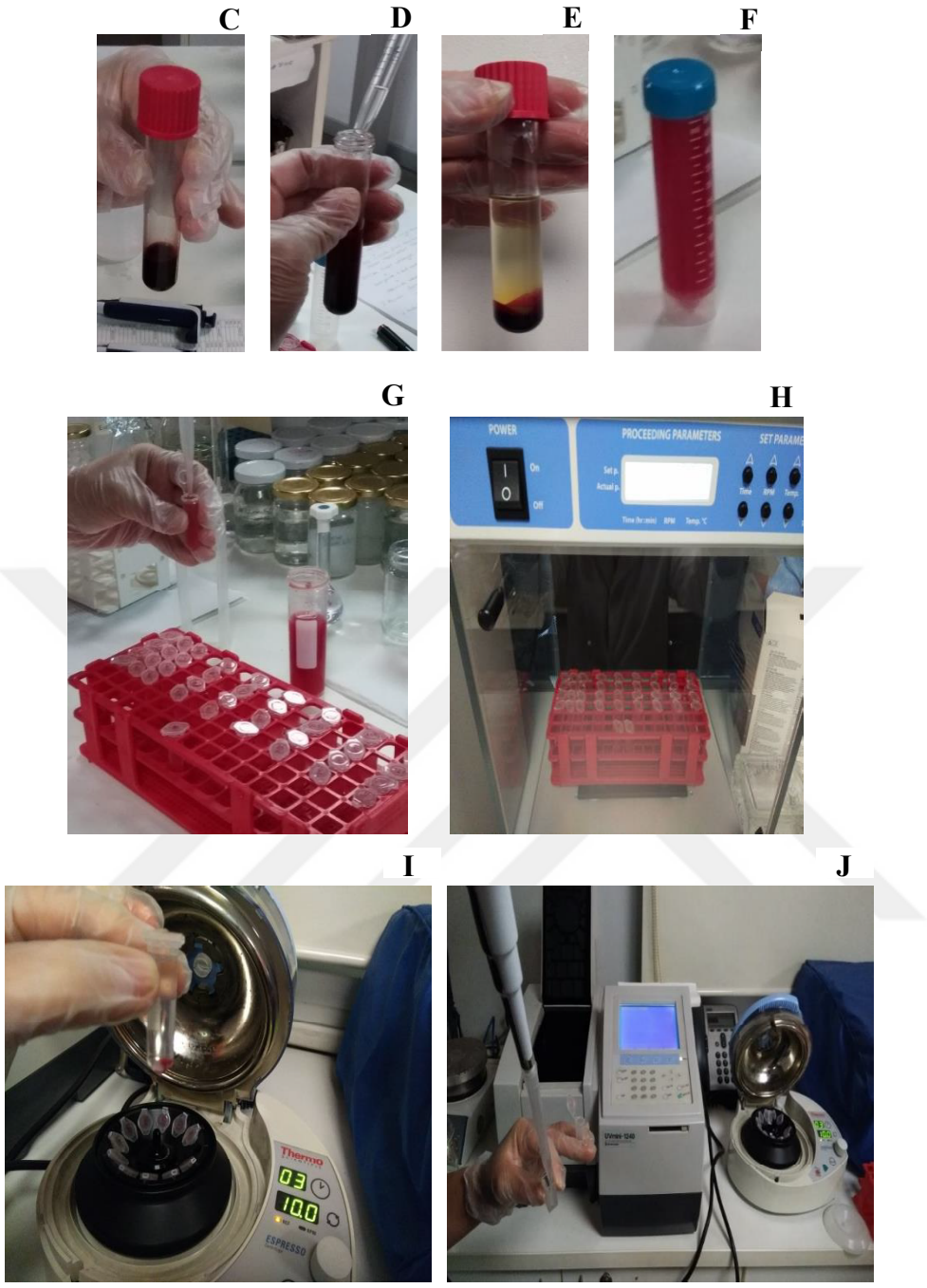
ile eritrosit süspansiyonunun PBS içerisinde dağıtıldığı bir negatif kontrol testi (%0 hemoliz) de gerçekleştirilmiştir.

Tüm süspansiyonlar bir karıştırıcılı çalkalayıcı içerisinde 37ºC'da üç saat süreyle inkübe edilmiş, ardından bir mikrosantrifüj ile 10000g'de 3 dakika süreyle santrifüjlenmişlerdir. Santrifüjleme sonrası, çözeltilerin 540nm'deki absorbans değerleri bir UV-vis spektrofotometre yardımıyla okunarak eritrosit tahribatları incelenmiştir. Hemoliz yüzdeleri Eşitlik 3.7 [281] yardımıyla hesaplanmıştır.

$$\%\ \text{Hemoliz} = \frac{\text{Testörneği}_{abs} - \text{Negatif kontrol}_{abs}}{\text{Pozitif kontrol}_{abs} - \text{Negatif kontrol}_{abs}} \qquad (3.7)$$



Şekil 3.14 : (A) 2 ml'lik eppendorf tüpleri içerisine gerekli hidrojel tartımlarının alınması. (B) Kuru öğütülmüş herbir hidrojel örneği üzerine 1.6 ml PBS ilave edilmesi. (C) Trisodyum sitrat ile antikoagüle edilmiş 2.7ml'lik tam kan örneği. (D) Antikoagüle kan örneğinin 5ml PBS ile seyreltilmesi. (E) 2000 rpm'de 5 dakika süreyle santrifüjlenmiş kan örneği. (F) Plazma fazı ayrıldıktan sonra PBS ile 50 ml'ye seyreltilmiş eritrosit stok çözeltisi. (G) PBS içerisinde oda sıcaklığında şişme dengesine ulaşmış hidrojel örneklerin herbiri üzerine 0.4 ml eritrosit stok çözelti ilave edilmesi. (H) Hidrojel süspansiyonlarının karıştırıcılı çalkalayıcı içerisinde 37ºC'da üç saat süreyle inkübasyonu. (I) Hidrojel süspansiyonlarının inkübasyon ardından 10000g'de 3 dakika süreyle santrifüjlenmeleri. (J) Santrifüjleme sonrası, çözeltilerin 540nm'deki absorbans değerlerinin belirlenmesi.



Şekil 3.14 (devam) : (A) 2 ml'lik eppendorf tüpleri içerisine gerekli hidrojel tartımlarının alınması. (B) Kuru öğütülmüş herbir hidrojel örneği üzerine 1.6 ml PBS ilave edilmesi. (C) Trisodyum sitrat ile antikoagüle edilmiş 2.7ml'lik tam kan örneği. (D) Antikoagüle kan örneğinin 5ml PBS ile seyreltilmesi. (E) 2000 rpm'de 5 dakika süreyle santrifüjlenmiş kan örneği. (F) Plazma fazı ayrıldıktan sonra PBS ile 50 ml'ye seyreltilmiş eritrosit stok çözeltisi. (G) PBS içerisinde oda sıcaklığında şişme dengesine ulaşmış hidrojel örneklerin herbiri üzerine 0.4 ml eritrosit stok çözelti ilave edilmesi. (H) Hidrojel süspansiyonlarının karıştırıcılı çalkalayıcı içerisinde 37°C'da üç saat süreyle inkübasyonu. (I) Hidrojel süspansiyonlarının inkübasyon ardından 10000g'de 3 dakika süreyle santrifüjlenmeleri. (J) Santrifüjleme sonrası, çözeltilerin 540nm'deki absorbans değerlerinin belirlenmesi.

Modifiye geleneksel ve modifiye kompozit homopolimer PNIPAAm hidrojellerin kan uyumluluklarının incelendiği çalışmanın bazı bölümlerine ait dijital fotoğraflar Şekil 3.14 ile sunulmuştur.

3.4.9. PNIPAAm Hidrojellerinin Dinamik Şişme ve İlaç Salım Kinetiklerinin İncelenmesi

Tez çalışması süresince sentezi gerçekleştirilmiş örnekler arasından, Çizelge 3.7 ile verilmiş olan homopolimer ve kopolimer geleneksel ve kompozit hidrojeller ile IPN yapılı PNIPAAm hidrojellerin, bileşimi Çizelge 3.1 ile verilmiş olan pH 7.4 tuzlu fosfat tampon çözelti (PBS) içerisinde oda sıcaklığındaki volumetrik şişme davranışları, Dino-Lite AM4113TL model dijital video mikroskop ile incelenmiştir.

Çizelge 3.7 : Dinamik şişme ve ilaç salım kinetiğinin belirlenmesi denemelerinde kullanılan hidrojeller.

Geleneksel homopolimer hidrojeller	**Geleneksel kopolimer hidrojeller**	**IPN hidrojeller**	**Kompozit kopolimer hidrojeller**
BIS/0/1	SB/B/0.1/1	IPN SB/O10-B	D/O10/0.1/1
BIS/0.1/1	M/B/0.1/1	IPN M/O10-B	
BIS/0.2/1	D/B/0.1/1	IPN D/O10-B	

Sentez süresi sonunda DDS içerisinde 1 hafta süreyle bekletme yoluyla saflaştırılmış ve diskler şeklinde kesilmiş hidrojel örnekler, oda sıcaklığında sabit tartıma kadar kurutulmuşlardır. Kuru hidrojel diskler, çap ve yükseklik ölçümlerinin eşzamanlı olarak alınmasını sağlayan özel düzenekte, Dino-Lite dijital görüntüleme sistemi ile izlenmişlerdir. Çizelge 3.7 ile verilen hidrojellerin, PBS içerisinde denge şişme değerlerine ulaşmalarına kadar geçen süreç sık aralıklarla fotoğraflanmış, dijital görüntüleme sisteminden elde edilmiş fotoğraflar ve sisteme ait yazılım kullanılarak, hidrojel disklerin boyutları (disk çap (d) ve yükseklik değerleri (h)) belirlenmiş ve volumetrik şişme dereceleri (Q_v) aşağıda verilen eşitlik ile hesaplanmıştır.

$$Q_v = \frac{\pi d_t^2 h_t - \pi d_0^2 h_0}{\pi d_0^2 h_0} \tag{3.8}$$

Hidrojellerin zamana bağlı şişme davranışları Q_v – t grafikleri ile sunulmuş, çözücü absorpsiyonunu tanımlayan, difüzyon üstelleri (n), difüzyon hız sabitleri (k, sn^{-1}) ve difüzyon katsayıları (D, $cm^2.sn^{-1}$) güç yasası eşitliği (Eşitlik 2.30), ve Çizelge 2.4 ile verilen kinetik modeller yardımıyla hesaplanmıştır.

Çizelge 3.7 ile verilen hidrojel örneklerin, PBS içerisinde oda sıcaklığında gerçekleştirilen dinamik şişme denemelerine ilaveten, tez çalışması süresince sentezi gerçekleştirilmiş olan geleneksel ve kompozit homopolimer ve kopolimer hidrojellerin kullanım alanlarını netleştirmek amacıyla, seçilen örneklerin, 37°C'da ilaç salım kinetikleri incelenmiştir. Bu amaçla, seçilen hidrojel örneklere ait disk şeklindeki parçalar, gentamisinin (GS) PBS'deki %0.2'lik çözeltisi içerisinde, oda sıcaklığında 48 saat bekletmek yoluyla GS yüklenmişlerdir. Ardından sabit tartıma kadar kurutulan GS yüklü hidrojel disklerden, yine PBS içerisinde, fizyolojik sıcaklık olan 37°C'da GS salımı spektrofotometrik yöntemle takip edilmiştir. GS 202nm'de absorpsiyon maksimumu veren bir organik moleküldür. Hidrojellerden GS salımı, UV-vis spektrofotometre yardımıyla ve daha önceden oluşturulmuş olan GS kalibrasyon grafiğinden yararlanılarak hesaplanmıştır.

4. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Literatüre sunulmuş olan çok sayıdaki çalışmada, geleneksel PNIPAAm hidrojelleri, DDS içerisinde, APS/TEMED (ya da KPS/TEMED) başlatıcı/hızlandırıcı çifti arasında gerçekleşen redoks reaksiyonundan yararlanarak ve BIS gibi en az iki fonksiyonlu organik bir molekülü çapraz bağlayıcı olarak kullanmak yoluyla, PNIPAAm'in hacim faz geçiş sıcaklığının altındaki sıcaklıklarda sentezlenmişlerdir.

PNIPAAm hidrojeller yara örtüleri, ilaç salım sistemleri ve doku mühendisliği alanlarında kullanım potansiyeline sahip olduklarından insan vücudu için zehir etkisi gösterebilecek bileşenlerden olabildiğince arındırılmış olmaları oldukça önemlidir. Geleneksel PNIPAAm hidrojellerinin sentezinde kullanılan organik çözücüler ve sentetik çapraz bağlayıcı/başlatıcı çiftleri, malzemelerin biyouyumlulukları üzerinde sınırlayıcı etkiler yaratabilir. Yukarıda ana hatları ile tanımlanan uygulama alanlarında, biyouyumluluk ve şişme dereceleri ile birlikte PNIPAAm hidrojellerinin mekanik özellikleri de oldukça önemlidir. Hidrojellerin mekanik dayanımlarını arttırmak için kullanılan deneysel yöntemlerden bir tanesi sentetik iki fonksiyonlu monomerin başlangıç konsantrasyonunu arttırmaktır. Ancak, geleneksel PNIPAAm hidrojellerdeki yüksek çapraz bağlayıcı miktarı hidrojelin esnekliğinde azalma ile birlikte malzemenin kırılganlığında da artışa sebep olur. Özellikle son yıllarda, PNIPAAm hidrojellerin mekanik dayanımlarını iyileşmek için, çok fonksiyonlu çapraz bağlayıcılar olarak inorganik kil nano parçacıklar kullanılmaktadır. LP ve MMT gibi biyouyumluluğu yüksek olan silikatlar kozmetik, eczacılık ve tıp alanlarında kullanılmaktadır [282-285]. Ayrıca, özellikle fosfonyum ve kuvaternize amonyum gruplarıyla modifiye edilmiş kil tabakalarının antibakteriyel özellikleri de bulunmaktadır [286]. Bu tez çalışmasında sentezlenen modifiye PNIPAAm hidrojelleri ile literatürde mevcut olan geleneksel PNIPAAm hidrojelleri arasındaki temel fark, değişik bir çapraz bağlanma/polimerizasyon ortamının kullanılmasıdır. gNH'lerinin hızlandırıcı olarak kullanılan TEMED olmaksızın sentezlenebilmesi hem

geleneksel hem de kompozit PNIPAAm hidrojellerinin kan uyumluluklarını iyileştirebilir.

Geleneksel PNIPAAm hidrojellerin özelliklerinin değiştirilmesi/iyileştirilmesi amacıyla uygulanan temel modifikasyonlar aşağıdaki şekilde özetlenmektedir:

- polimerizasyon çözücüsü olarak DDS yerine 0.1 ve 0.2 N NaOH çözeltilerinin kullanılması (mgNH),
- çapraz bağlayıcı olarak, BIS yerine MMT, ODA-MMT ve LP gibi inorganik çok tabakalı smektitlerin kullanılması (mkNH),
- sentez çözücüsü ve tabakalı silikatların dispersiyon ortamı olarak kullanılan 0.1N ve 0.2N NaOH çözeltilerinin aynı zamanda polimerizasyon hızlandırıcısı olarak da görev yapması böylece, geleneksel PNIPAAm hidrojellerin sentezinde sıklıkla kullanılmış olan polimerizasyon hızlandırıcı bileşenin (TEMED) reaksiyon ortamından çıkarılması,
- katyonik ve zwitteriyonik komonomerler kullanılarak modifiye geleneksel (mgkNH) ve modifiye kompozit (mkkNH) PNIPAAm kopolimer hidrojellerin sentezlenmesi ve
- mekanik özellikler bakımından yeterli değişmenin/iyileşmenin sağlanamadığı mkkNH'lerin tam-IPN'leri şeklinde sentezlenmesi.

Bu modifikasyonlar sonucunda elde edilmiş olan mgNH, mkNH, mgkNH, mkkNH ve m(IPN)kNH'lerin özellikleri,

- 30^{o}-45^{o}C aralığındaki tek eksenli sıkıştırma testlerinden elde edilen sıkıştırma modülü değerleri,
- aynı sıcaklık aralığında hidrojel disklerin çap ve yükseklik ölçümlerinden yararlanılarak hesaplanan V/V_o değerleri,
- XRD, FTIR, SEM-EDS ve kondüktometrik titrasyonlar ile belirlenen yapısal ve yüzeysel özellikleri,
- kan uyumlulukları,
- *E.coli*'ye karşı antibakteriyel aktiviteleri,
- PBS (pH 7.4) içerisindeki dinamik şişme davranışları,
- pH'a bağlı (pH 2.0, 4.0, 6.0, 8.11, 9.20, 10.74 ve 11.66) hacimsel şişme davranışları ve

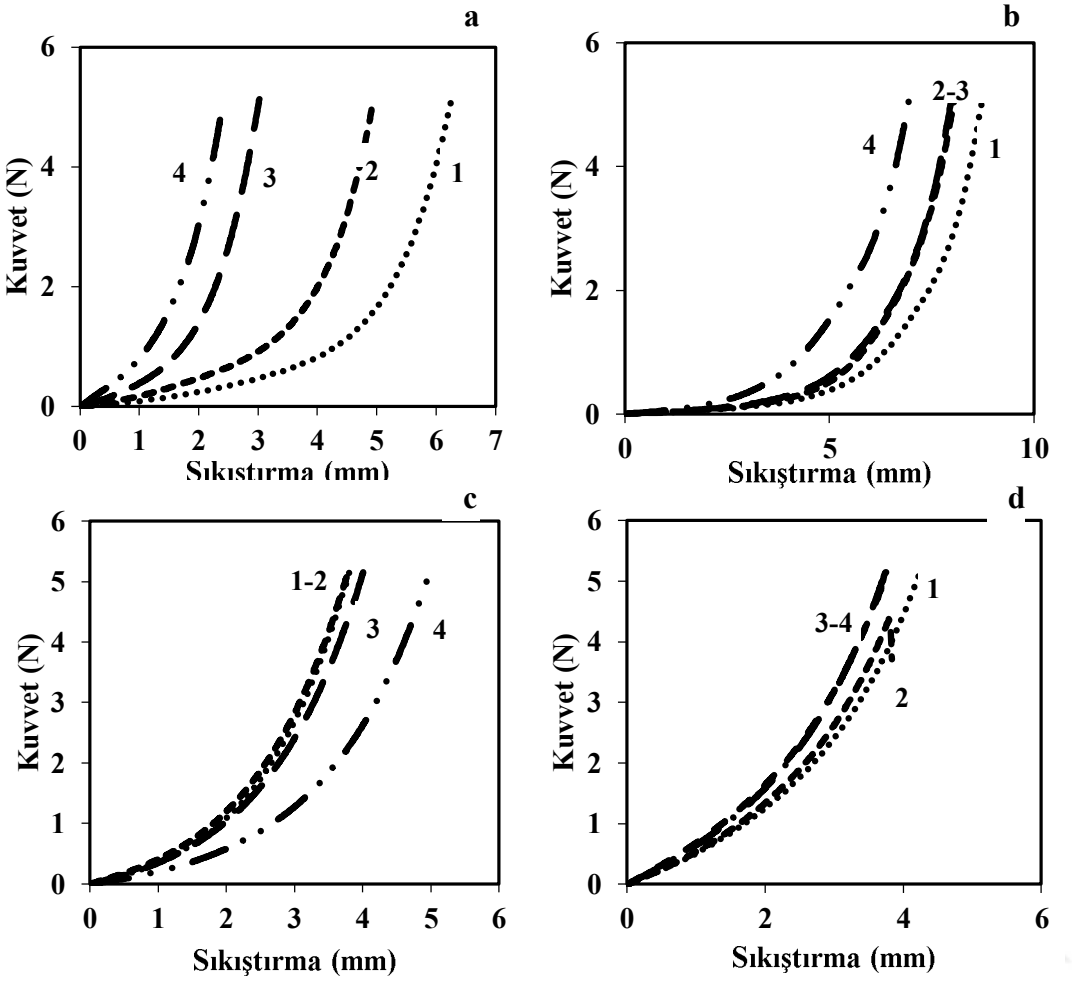
- Gentamisin (GS) salım özellikleri karşılaştırmalı olarak incelenmiş, gerekli durumlarda elde edilen bulgular geleneksel PNIPAAm hidrojeller ile de karşılaştırılmış ve sonuçlar Bölüm 4'de ayrıntılı şekilde sunulmuştur.

4.1. mgNH ve mkNH'lerin Mekanik, Yapısal, Yüzeysel ve Biyolojik Özelliklerinin İncelenmesi

Tez çalışmasının ilk bölümünde, DDS içerisinde ve BIS varlığında KPS/TEMED redoks çifti ile sentezlenen geleneksel PNIPAAm hidrojellerinin, başta mekanik özelliklerinin değiştirilmesi/iyileştirilmesi olmak üzere, şişme, ilaç salım ve biyouyumluluk gibi özelliklerinin de geliştirilmesi amacıyla, sentez çözücüsünün türü ve bileşiminde çeşitli modifikasyonlar yapılmıştır. Sentez çözücüsü olarak kullanılan DDS'in 0.1N ve 0.2N NaOH çözeltileri ile değiştirilmesi ve NaOH'in aynı zamanda reaksiyon hızlandırıcısı olarak kullanılması ilk ve temel modifikasyondur. gNH'ler üzerine yapılan bir diğer önemli modifikasyon, organik çapraz bağlayıcı BIS'in ağyapıdan çıkarılması, bunun yerine farklı özelliklerde üç tip inorganik çok tabakalı kilin (LP, MMT ve ODA-MMT) kullanılmasıdır. Sentez çözücüsü, sentez süresi, polimerizasyon hızlandırıcısı ve çapraz bağlayıcı bileşen değişimi, aşağıda ayrıntılarıyla açıklanacağı üzere, NH'lerinin tek eksenli sıkıştırma testleriyle belirlenen sıcaklığa bağlı modül değerlerini, pH ve sıcaklık duyarlılıklarını ve diğer yapısal özelliklerini kuvvetle değiştirmiştir.

Hidrojel disklerin tek eksenli sıkıştırma testleri, 30°, 33°, 37°, 40° ve 45°C'da gerçekleştirilmiştir. Test öncesi, DDS ya da NaOH çözeltileri içerisinde sentezlenmiş geleneksel ve kompozit homopolimer hidrojeller arasından seçilen bazı örneklerden, ağyapı heterojenliğinin sıkıştırma modülleri (E modül) üzerine etkisini görebilmek amacıyla, eşit yüksekliklerde ve sentez tüpünün orta bölgesine karşılık gelen noktalardan 4 ayrı disk alınmıştır.

DDS içerisinde test sıcaklığında bir hafta süre ile bekletilen ve test sıcaklığındaki denge koşullarına ulaşması sağlanan hidrojel disklere tek eksenli sıkıştırma testleri uygulanmıştır. Çizelge 3.2'de verilen hidrojel örnekler arasından seçilen M10/0.1/1, M10/0.2/2, BIS/0.1/2 ve BIS/0/2 kodlu hidrojellerin 4'er diski için 25°C'da gerçekleştirilen sıkıştırma testlerinden elde edilmiş kuvvet (N) - sıkıştırma (mm) eğrileri her bir test diski için aşağıdaki grafik grubu ile verilmiştir (Şekil 4.1).



E (Pa)			
a	**b**	**c**	**d**
M10/0.1/1	**M10/0.2/2**	**BIS/0.1/2**	**BIS/0/2**
30762	3623	10067	42922
13090	1367	17043	35535
5531	1255	24087	28302
3056	1079	16275	32583
Ortalama 13110	**Ortalama 1831**	**Ortalama 16868**	**Ortalama 34836**

Şekil 4.1 : (a) M10/0.1/1, (b) M10/0.2/2, (c) BIS/0.1/2 ve (d) BIS/0/2, hidrojellerinin her bir diski için kuvvet (N) – sıkıştırma (mm) eğrileri.

Çalışma kapsamında sentezlenmiş 43 farklı hidrojel örneği arasından şeçilen bu dört örnek üzerine uygulanan tek eksenli sıkıştırma testleri ile, yapısal heterojenliğin modül değerleri üzerine ne ölçüde yansıdığı belirlenmeye çalışılmıştır. Seçilen bu hidrojellerin her bir diski için gerçekleştirilen tek eksenli sıkıştırma testlerinden elde edilen modül değerleri incelendiğinde, örneklere ait 1.-4. ve 2.-3. disklerin modül ortalamalarının oldukça yakın değerlerde olduğu görülmüştür. Bununla birlikte 1.-4.

ve 2.-3. disk ortalamaları, her dört diskin ortalama E modül değeri ile de uyumludur. Seçilen bu dört hidrojel örneğin (geleneksel, modifiye geleneksel ve modifiye kompozit) ayrıntılı sıkıştırma test sonuçlarından yola çıkılarak, çalışma kapsamında sentezlenen tüm hidrojel örnekleri için, sentez tüpü orta bölgesine karşılık gelen 2. ve 3. disklerin kullanılmasına karar verilmiştir.

Tez çalışmasında sentezlenen IPN hidrojeller ile modifiye geleneksel ve modifiye kompozit homopolimer ve kopolimer tüm hidrojellere ait E modül – sıcaklık ve V/V_o – sıcaklık grafikleri üzerindeki her bir veri noktası, hidrojel disklerin ilgili sıcaklıklardaki çapları, denge şişme oranları ve iki farklı tek eksenli sıkıştırma testine ait sonuçlar değerlendirilerek oluşturulmuştur. E modül değerleri Hounsfield HK5S mekanik test cihazı ve uygun yazılım kullanılarak tespit edilmiş, bunun için her bir hidrojel diskinin ilgili sıcaklıktaki denge halinin çap ve yükseklik değerleri, test öncesinde yazılıma tanıtılmıştır. V_o ve V ise, sırasıyla hidrojelin sentez sonrası ve belli sıcaklıktaki denge halinin hacim değerleridir. Her bir sıcaklıktaki V/V_o değerleri, hidrojel disklerin sentez sonrası (d_o) ve ilgili sıcaklıkta denge halindeki disk çapı (d) değerlerinden yola çıkarak aşağıdaki şekilde hesaplanmıştır.

$$\frac{V}{V_o} = \left(\frac{d}{d_o}\right)^3 \tag{4.1}$$

4.1.1. Tek Eksenli Sıkıştırma Testleri

4.1.1.1. Modifiye Geleneksel PNIPAAm Homopolimer Hidrojellerin (mgNH) Sıkıştırma Modülleri

DDS içerisinde KPS(APS)/TEMED redoks çifti ile BIS varlığında ve hacim faz geçiş sıcaklığının altındaki sıcaklık değerlerinde sentezlenen geleneksel PNIPAAm hidrojelleri, yüksek şişme oranları/düşük büzülme hızları, opak görünümleri ve zayıf mekanik özellikleri sebebiyle sınırlı kullanım alanına sahiptir. Bu çalışmada, yüksek büzülme hızı ile birlikte yüksek modül değerlerine sahip mgNH'leri, BIS kullanılarak KPS/NaOH redoks çifti varlığında sentezlenmişlerdir. Sentez reaksiyonlarında, polimerizasyon hızlandırıcısı olarak TEMED yerine NaOH kullanılmıştır. Sentez çözücüsü bileşiminin ve reaksiyon süresinin mgNH'lerinin şişme davranışları ve mekanik özelliklerine etkilerinin incelenebilmesi için iki farklı NaOH konsantrasyonu (0.1N ve 0.2N) ve iki farklı sentez süresi (1 ve 2 hafta) ile çalışılmıştır.

Şekil 4.2'de sırasıyla, KPS/DDS, KPS/TEMED, KPS/0.1N NaOH ve KPS/0.2N NaOH redoks sistemleri ile sentezlenmiş PNIPAAm/BIS hidrojellerinin sentez sonrası dijital fotoğrafları verilmiştir. Dört farklı PNIPAAm hidrojeli arasından sadece KPS/DDS sistemi içerisinde sentezlenmiş hidrojel, 2 haftalık sentez süresi sonunda bile tamamen saydam görünümde olup şişmiş halde mekanik özellikler bakımından oldukça zayıf ve kırılgandır. Buna karşılık, DDS içerisinde KPS/TEMED redoks çifti kullanılarak ve NaOH çözeltileri içerisinde KPS/NaOH redoks çifti kullanılarak gerçekleştirilen sentezlerden elde edilen PNIPAAm hidrojelleri ise, başlatıcının reaksiyon ortamına ilave edilmesini takiben kısa süre içerisinde jelleşmelerini tamamlayarak tamamen opak şekilde elde edilmişlerdir.

Şekil 4.2 : (a) BIS/0/2, (b) BIS/0/2 T+, (c) BIS/0.1/2 ve (d) BIS/0.2/2 hidrojellerinin sentez sonrası dijital fotoğrafları.

Artan polimerizasyon hızına bağlı olarak kısa sürede jelleşmesini tamamlayan hidrojel sistemlerinde, polimer zincirlerinin gelişi güzel bağlanması ile daha heterojen ağyapıların elde edildiği, bunun sonucu olarak, hidrojel örneklerin opak görünüme sahip oldukları literatüre sunulmuş çalışmalar tarafından ifade edilmektedir [287].

PNIPAAm hidrojellerinin, fiziksel özellikleri ile hacim faz geçiş sıcaklıkları üzerine komonomerlerin yapısal özelliklerini ve uç grup etkilerini vurgulayan çeşitli çalışmalar literatüre sunulmuştur [288-291]. Hidrojel sentezinin DDS içerisinde, serbest radikal çözelti polimerizasyonu yöntemi ve polimerizasyon başlatıcısı olarak KPS ($K_2S_2O_8$) kullanılarak gerçekleştirildiği çok sayıdaki literatür çalışmasında, polimerizasyon ortamındaki temel radikalik tür, sülfat radikalleridir (SO_4^{-*}). Literatüre sunulmuş olan çalışmalarda persülfat aktivasyonu için ısı, ışık, gamma radyasyonu ve

geçiş metallerinin kullanımı gibi çeşitli mekanizmalar önerilmektedir [292-295]. Sülfat radikallerinin oluşumu ile sonuçlanan bu başlama reaksiyonları aşağıdaki şekildedir.

$$S_2O_8^{2-} \rightarrow 2SO_4^{-*}$$

$$SO_4^{-*} + H_2O \rightarrow HSO_4^- + {}^*OH$$

$$S_2O_8^{2-} + Co(II) \rightarrow Co(III) + SO_4^{2-} + SO_4^{-*}$$

Sülfat radikallerinin oluşumunu aktive etmede bir diğer yol ise reaksiyon ortamında bir bazın bulunmasıdır [293]. Bu koşullar altında sülfat anyon radikali, aşağıdaki reaksiyon dizisinden görüldüğü üzere, hidroksil iyonlarının bulunduğu ortamda hidroksil radikaline dönüşmektedir.

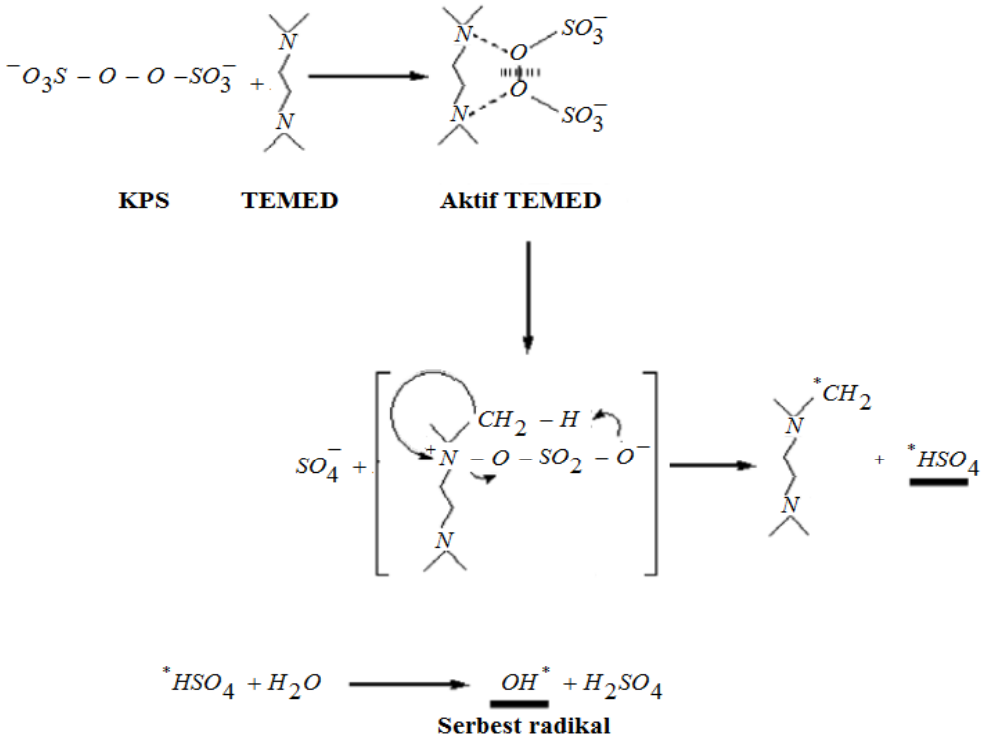
$$S_2O_8^{2-} \rightarrow 2SO_4^{-*}$$

$$S_2O_8^{2-} + {}^*OH \rightarrow HSO_4^- + SO_4^{-*} + \frac{1}{2}O_2$$

$$SO_4^{-*} + OH^- \rightarrow {}^*OH + SO_4^{2-}$$

Dolayısıyla, polimerizasyon ortamı olarak DDS'in kullanıldığı sentezlerde birincil radikalik tür sülfat anyon radikali (SO_4^{-*}) iken bazik ortamda ağırlıklı olarak OH^* radikalleri bulunmaktadır. Sentez ortamındaki temel radikalik türün OH^* olduğu durumlarda, polimer zincir uçları ağırlıklı olarak -OH grupları ile sonlanır [296,297]. Öte yandan, ortamda TEMED hızlandırıcısının bulunduğu durumlarda ise $(CH_3)_2N$-CH_2-CH_2-$(CH_3)NCH_2^*$ gibi ikincil radikaller de oluşmaktadır [298]. KPS/TEMED redoks çiftlerinin kullanımı ile sentezlenen hidrojeller için başlangıç adımı aşağıdaki şekildedir.

PNIPAAm hidrojelleri ile ilgili literatüre sunulmuş olan çeşitli çalışmalarda, özellikle düşük molekül ağırlıklı polimerler için, uç grup etkisinin oldukça baskın olduğu ifade edilmektedir. Hidrofilik uç grupların hidrojen bağları oluşturmak yoluyla doğrusal polimer zincirlerinin çözünürlüğünü destekleyici ve alt kritik çözelti sıcaklığını yükseltici etki gösterdiği, hidrofobik uç grupların ise, çözücü ortamında biraraya gelerek hidrofobik özelliği desteklediği vurgulanmıştır [299].

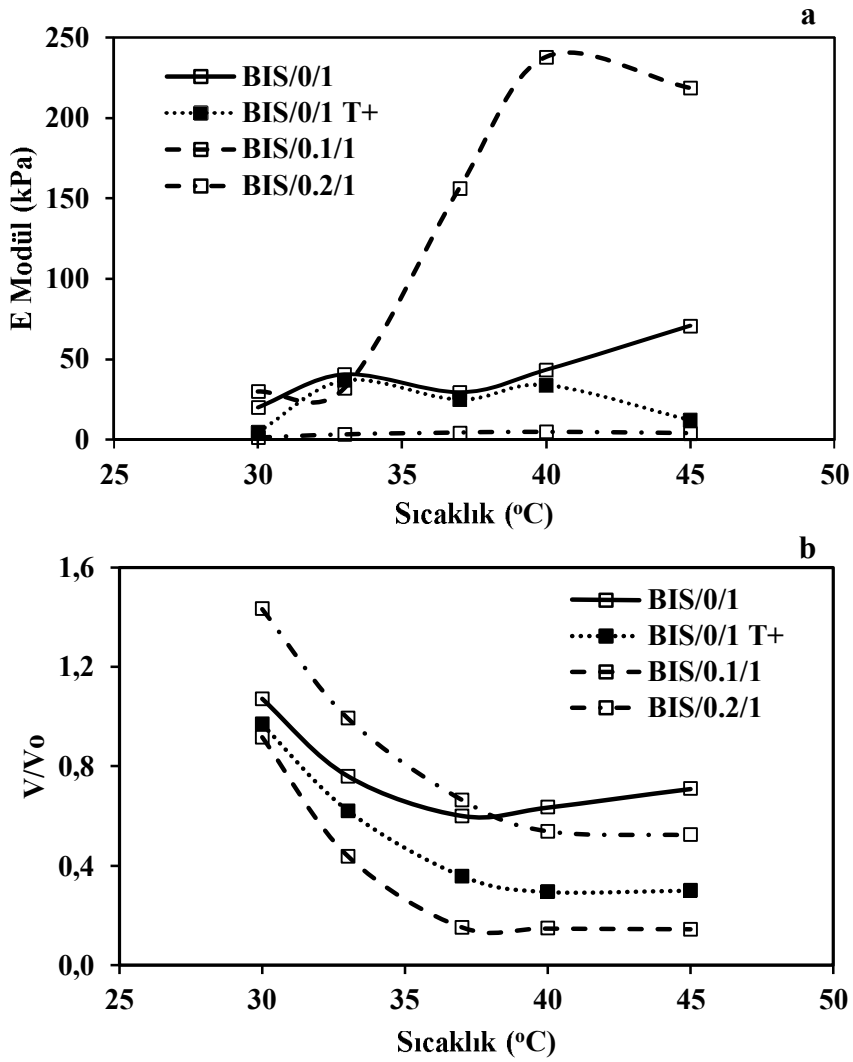


Şekil 4.3 : KPS/TEMED redoks çiftlerinin kullanımı ile sentezlenen hidrojeller için başlangıç adımı.

Literatüre sunulmuş olan çalışmalar ve bu tez çalışmasında elde edilmiş olan sonuçlar değerlendirildiğinde, polimerizasyon çözücü-başlatıcı çiftleri esas alınarak, reaksiyon ortamında ağırlıklı olarak bulunması beklenen radikalik türler aşağıdaki şekilde sınıflanabilir;

- KPS/DDS çözücü sistemi içerisinde SO_4^{-*},
- KPS/0.1N NaOH ve KPS/0.2N NaOH çözücü sistemleri içerisinde OH^*ve
- DDS içerisinde KPS/TEMED redoks sistemi için TEMED*

Şekil 4.4 (a) ve (b)'de, DDS, 0.1N ve 0.2N NaOH çözeltileri içerisinde sentezlenmiş PNIPAAm/BIS hidrojellerinin 30º-45ºC aralığındaki sıkıştırma modülü – sıcaklık ve V/V_o – sıcaklık eğrileri verilmiştir. Şekil 4.4 (a), polimerizasyon çözücüsü dışındaki tüm sentez parametrelerinin sabit tutulduğu hidrojeller arasında, sıkıştırma modülleri bakımından en belirgin iyileşmenin BIS/0.1/1'de elde edilmiş olduğunu göstermektedir. PNIPAAm hidrojellerinde, VPTT altında izopropil gruplarının su molekülleriyle çevrelenmesi ve amit (NH-C=O) gruplarıyla su molekülleri arasında hidrojen bağları kurulması (NH----H_2O ve C=O----H_2O) yoluyla oluşan hidrofilik etkileşimler mevcuttur.



Şekil 4.4 : Farklı polimerizasyon çözücüleri içerisinde sentezlenmiş PNIPAAm/BIS hidrojellerinin 30°-45°C aralığında (a) modül – sıcaklık ve (b) V/V_o – sıcaklık eğrileri.

Su moleküllerinin hidrofobik polimer zincirlerini çevreleyerek buz benzeri düzenli yapılar oluşturması, sistemin hem entalpisini hem de entropisini düşüren ekzotermik bir olaydır. VPTT'na ulaşıldığında, bu düzenli yapılar bozulur, amit grupları ile su molekülleri arasındaki hidrojen bağları kırılır ve hidrofobik izopropil grupları arasındaki etkileşimler baskın hale gelerek ağyapının büzülmesine sebep olur. BIS/0.1/1 hidrojelinde, VPTT gNH'lere kıyasla yükselmiş ve fizyolojik sıcaklık olan ~37°C'a yaklaşmış, aynı zamanda T>37°C sıkıştırma modül değerleri de kıyaslandığı hidrojellere göre oldukça yüksek değerlere ulaşmıştır. BIS/0.1/1 hidrojelinde yükselen VPTT ile birlikte kuvvetle artan modül değerlerinin, yukarıda belirtilen hidrofilik/hidrofobik etkileşimlere ek olarak, zincir uçlarında KPS/0.1N NaOH

çözücü/başlatıcı çifti etkisi ile oluştuğu varsayılan -OH uç grupları arasında kurulan hidrojen bağlarından da kaynaklandığı düşünülmektedir.

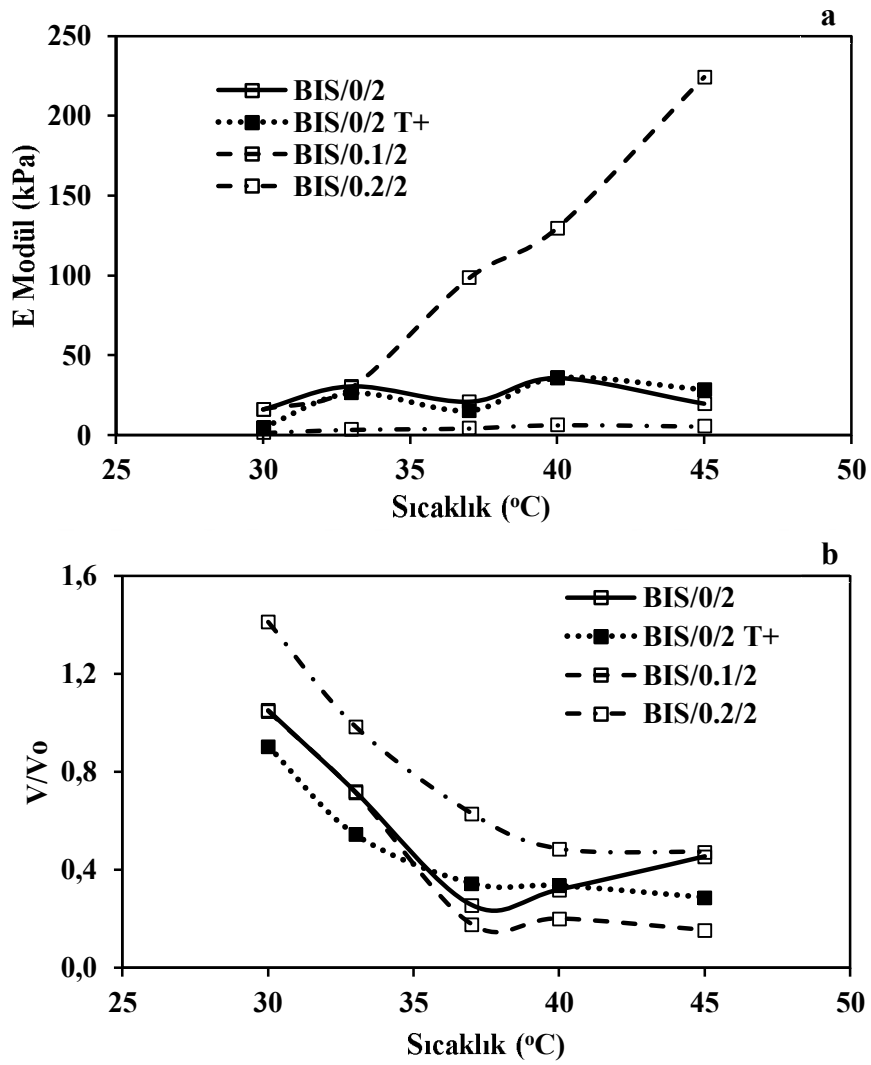
Şekil 4.4 (a)'da verilen BIS/0/1 ve BIS/0.2/1 hidrojelleri ise sırasıyla DDS ve 0.2 N NaOH çözeltileri içerisinde sentezlenmiştir. Bu hidrojellerde serbest zincir uçlarının sırasıyla sülfat ve hidroksil grupları ile sonlanması beklenmektedir. KPS/0.2N NaOH çözücü sistemi içerisinde gerçekleşen sentezlerde, polimerizasyon ortamında yüksek miktarda OH^* radikali bulunması olasıdır. Bu çalışmada NIPAAm konsantrasyonu sabit tutulduğundan ve artan NaOH konsantrasyonu ile birlikte (OH^*)/NIPAAm oranı da artacağından, ağyapıda çok sayıda kısa PNIPAAm zinciri oluşacaktır. Ağırlıklı olarak -OH grupları ile sonlanması beklenen bu kısa PNIPAAm zincirleri su molekülleriyle hidrojen bağları aracılığıyla etkileşeceğinden, 0.2N NaOH içerisinde sentezlenmiş BIS/0.2/1 hidrojeli, BIS/0.1/1 hidrojeline kıyasla daha hidrofilik bir yapı haline gelir. Ayrıca, 30°-37°C aralığında, BIS/0.1/1 absorplamış olduğu çözücünün (H_2O) % 85'ini bırakırken, BIS/0/1 ve BIS/0.2/1 ağyapılarından aynı sıcaklık aralığında sırasıyla % 44 ve % 54 oranlarında çözücü çıkışı söz konusu olmuştur. Bu bulgu, BIS/0/1 ve BIS/0.2/1 hidrojellerindeki hidrofilik karakterin BIS/0.1/1'e kıyasla daha yüksek olduğunu göstermektedir. Ek olarak, BIS/0.2/1 hidrojelinin 30°-45°C aralığındaki sıkıştırma modül değerlerinin diğer hidrojellere kıyasla çok düşük ve VPTT'nın da T>45°C bölgesine kaymış olması, zincir uçlarında oluştuğu varsayılan --OH gruplarının, ağyapıya hidrofilik bir komonomer ilave edilmesine benzer etki göstererek hidrofilik karakteri güçlendiğini de göstermektedir.

Çizelge 4.1 : KPS/DDS ve KPS/TEMED redoks çiftleri ile sentezlenmiş PNIPAAm/BIS hidrojelleri için 30°-45°C aralığında çapraz bağ yoğunluğu ve Q_v değerleri.

Hidrojel	Çapraz bağ yoğunluğu (mol/m^3) ve Q_v değerleri									
	30°C		33°C		37°C		40°C		45°C	
	v_e	Q_v	v_e	Q_v	v_e	Q_v	v_e	Q_v	v_e	Q_v
BIS/0/1	53.1	10.4	94.7	7.4	62.3	5.8	92.8	6.2	54.7	6.9
BIS/0.1/1	69.3	8.9	62.0	4.3	209.8	1.5	313.5	1.4	280.3	1.4
BIS/0.2/1	3.9	13.9	10.3	9.7	10.0	6.5	10.5	5.2	11.0	5.1
BIS/0/1T+	12.1	9.4	78.9	6.1	44.3	3.5	55.3	2.9	20.0	2.9

Şekil 4.4 ile verilmiş olan sıkıştırma modülleri ve hacim şişme oranları Çizelge 4.1'de verilen çapraz bağ yoğunlukları ve Q_v değerleri ile birlikte incelendiğinde, BIS/0/1

hidrojelinde gNH'lerine benzer şekilde 30°-33°C aralığında gerçekleşen hacim faz geçişinin, BIS/0.1/1 hidrojelinde, yapıya hidrofilik bir komonomer ilave edilmesine benzer etki yaratan KPS/0.1N NaOH redoks sistemi sebebiyle, ~37°C bölgesine kaydığı görülmektedir. BIS/0.2/1 hidrojeli için, Çizelge 4.1 ile verilen ν_e değerleri ile, ν_e değerlerinin bir yansıması olan sıkıştırma modülü değerleri (Şekil 4.4) ise, incelenen sıcaklık aralığında sabit ve en düşük değerlerdir. Bu bulgu, BIS/0.2/1 hidrojelinde BIS/0.1/1 hidrojeline kıyasla artan -OH uç grupları oluşumu ile hidrofilik karakterin güçlendiği yorumunu desteklemektedir.



Şekil 4.5 : KPS, KPS/TEMED ve KPS/NaOH redoks çiftleri ile sentezlenmiş PNIPAAm/BIS hidrojelleri için 30°-45°C aralığında (a) modül – sıcaklık ve (b) V/V_o – sıcaklık eğrileri.

Geleneksel ve modifiye geleneksel PNIPAAm hidrojellerinin, yukarıda incelenmiş olan sıcaklığa bağlı sıkıştırma modülleri ve V/V_o değişimleri dikkate alındığında, sentez ortamındaki radikalik türlerin polimer zincir uçlarının yapısını doğrudan

etkilediği ve tez çalışmasının hem ilk hem de ikinci kısmında sentezlenen modifiye PNIPAAm hidrojelleri için 0.1N NaOH çözeltisinin en uygun sentez ortamı olduğu görülmüştür.

Şekil 4.5'de, KPS/DDS, KPS/TEMED ve KPS/NaOH redoks çiftleri kullanılarak, iki haftalık polimerizasyon süresiyle sentezlenmiş PNIPAAm/BIS hidrojellerinin 30°-45°C aralığındaki modül – sıcaklık ve V/V_o – sıcaklık eğrileri verilmiştir. Şekil 4.4 ve Şekil 4.5 birlikte incelendiğinde, PNIPAAm/BIS modifiye geleneksel homopolimer hidrojeller için 1 haftadan 2 haftaya değişen sentez süresinin hidrojellerin sıkıştırma modül değerleri ile sıcaklığa bağlı V/V_o değerleri üzerinde belirgin bir etkisi olmadığı görülmektedir. Ancak, TEMED kullanılmadan sentezlenen modifiye geleneksel PNIPAAm/BIS hidrojelinde (BIS/0/1), polimerizasyon süresinin 1 haftadan 2 haftaya artışı ile, 33°C'dan itibaren V/V_o değerlerinin belirgin şekilde düştüğü gözlenmiştir.

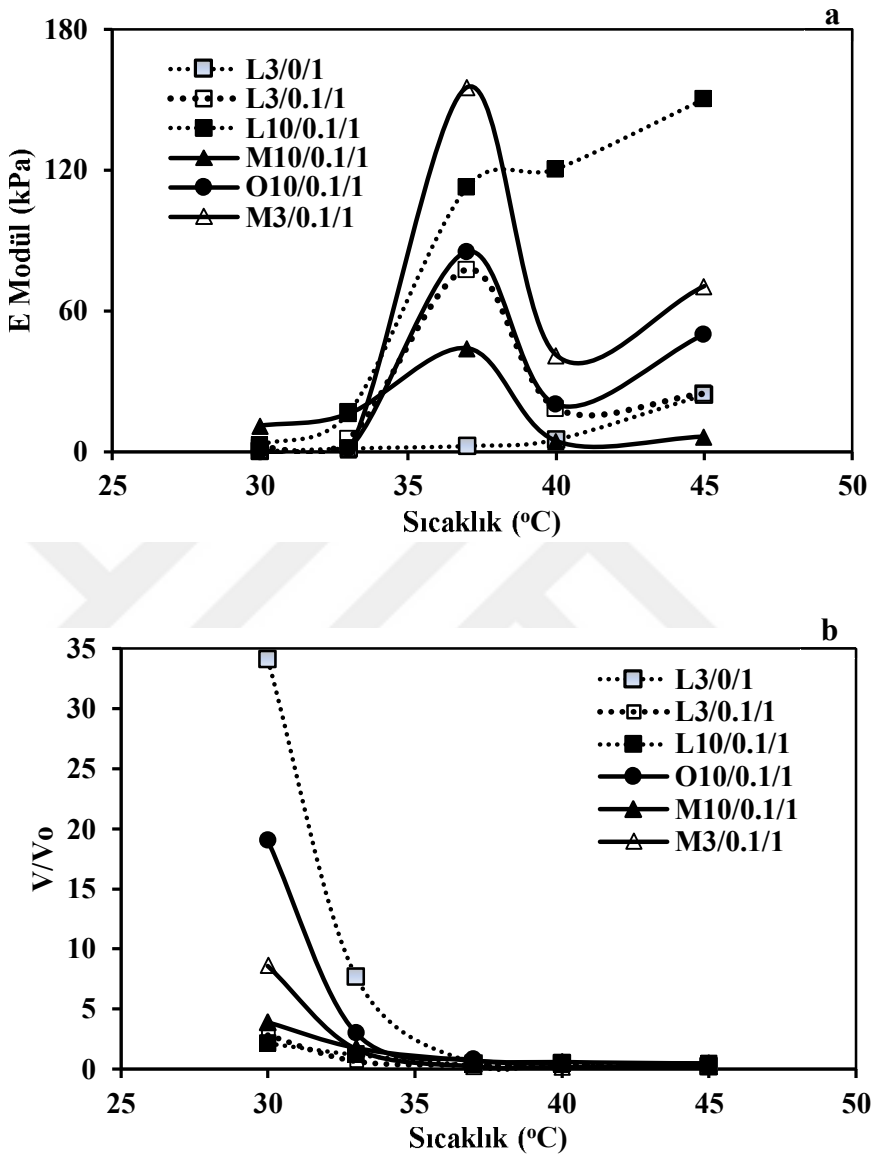
Bu sonuç PNIPAAm/BIS hidrojelleri için, polimerizasyon hızlandırıcısının kullanılmadığı durumlarda polimerizasyon reaksiyonunun bir haftadan iki haftaya kadar olan süre içerisinde de devam etmekte olduğunu, polimerizasyonun yavaş ve kontrollü ilerlediğini ve oldukça saydam hidrojellerin elde edilebildiğini kanıtlamıştır. Buna karşılık TEMED varlığında veya NaOH çözeltileri içerisinde gerçekleşen sentezlerde ise polimerizasyon kısa sürede başlarken, iki haftalık polimerizasyon süresi sonunda opak görünümlü hidrojeller elde edilmektedir (Şekil 4.2).

4.1.1.2 Modifiye Kompozit PNIPAAm Homopolimer Hidrojellerin (mkNH) Sıkıştırma Modülleri

Haraguchi ve Takehisha tarafından PNIPAAm/kil hidrojelleri için literatüre sunulmuş olan geleneksel sentez prosedüründe polimerizasyon hızlandırıcısı ve reaksiyon ortamı olarak sırasıyla TEMED ve DDS kullanılmıştır. Bu tezdeki mkNH'leri ise, TEMED kullanılmadan hem hızlandırıcı hem de çözücü görevi yapan 0.1N ve 0.2N NaOH çözeltileri içerisinde sentezlenmiştir [300-302].

İnorganik çok fonksiyonlu çapraz bağlayıcılar olarak, hidrofilik sentetik hektorit yapısı olan LP-RD, laponite kıyasla daha hidrofobik ve smektit bir yapı olan MMT ve ODA ile hidrofobik olarak modifiye edilmiş MMT (ODA-MMT) kullanılmıştır. NIPAAm'e göre ağırlıkça % 3.0 ve % 10.0 oranlarında kil varlığında gerçekleştirilen polimerizasyon reaksiyonları, 25°C'da ve KPS'in radikal oluşum hızını arttıran bir reaksiyon ortamında gerçekleştirilmiştir.

Böylece, KPS/DDS sistemi içerisinde, TEMED kullanılmadan, ağırlıkça % 3 oranında MMT ile iki haftalık polimerizasyon süresi sonunda bile sentezi gerçekleşememiş PNIPAAm/MMT hidrojelleri, 0.1N NaOH çözeltisi içerisinde bir haftalık polimerizasyon süresi sonunda sentezlenebilmişlerdir (Şekil 4.6 - M3/0.1/1).



Şekil 4.6 : PNIPAAm/kil hidrojellerinin (a) sıkıştırma modül-sıcaklık ve (b) V/V_o – sıcaklık grafikleri. (37°C'da E modül sıralaması: M3/0.1/1 > L10/0.1/1 > O10/0.1/1≈L3/0.1/1 > M10/0.1/1 > L3/0/1).

Buna karşılık, yine DDS içerisinde ve TEMED yokluğunda, ağırlıkça % 3 oranında LP-RD kullanılarak çapraz bağlı PNIPAAm/LP hidrojelleri elde edilebilmiştir. Bu durum, LP-RD yapısı ve nano tabakaların DDS içerisindeki düzenlenmeleri ile ilişkilidir ve eşdeğer sentez koşullarında LP-RD'nin çapraz bağlama vasıtası olarak MMT'ye kıyasla daha yüksek etkinliğe sahip olduğu şeklinde yorumlanabilir.

PNIPAAm/LP XLG ve PNIPAAm/LP XLS nanokompozit hidrojeller, çok sayıdaki literatür çalışmasında KPS(APS)/TEMED redoks çifti kullanılarak sentezlenmiştir [302,303, 304-306]. İki LP yapısı arasındaki temel fark, LP XLS'in tabaka uçlarındaki pozitif yüklerin yapıdaki pirofosfat iyonları tarafından modifiye edilmiş olmasıdır. Böylece LP XLS tabakaları arasındaki yüzey/uç etkileşimi azalmıştır (Şekil 2.13). Bu tez çalışmasında kullanılmış olan LP-RD ise, LP XLG ile aynı yapısal özelliklerde olmasına rağmen, 0.1N NaOH çözeltileri içerisinde, hidroksil iyonlarının varlığı sayesinde %10 gibi yüksek bir konsantrasyonda bile kolaylıkla dağılabilmektedir. Bu etki, LP XLS için pirofosfat iyonları tarafından yaratılan etki ile benzerdir.

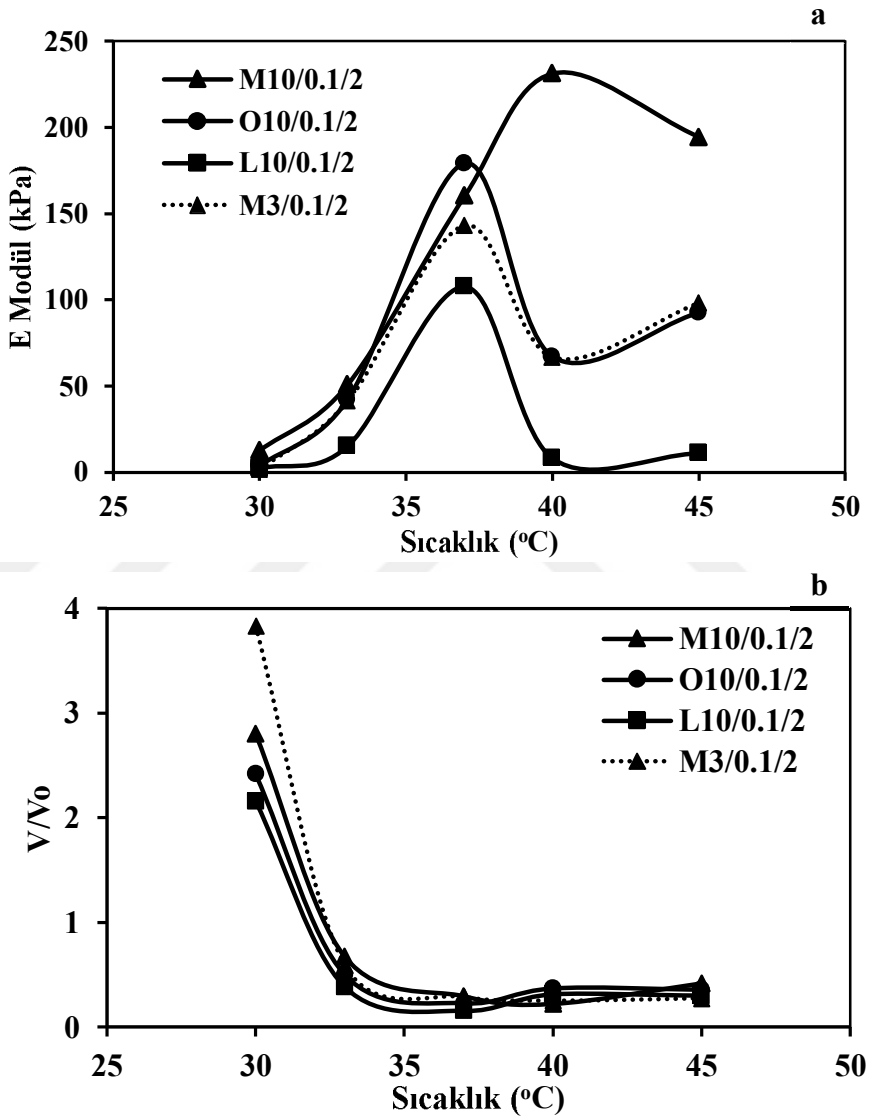
Ayrıca, yapısındaki ODA gruplarının hidrofobik katkısı sebebiyle DDS içerisinde dağıtılamayan ODA-MMT de, KPS/0.1N NaOH ve KPS/0.2N NaOH çözücü sistemleri içerisinde kolaylıkla dağıtılabilmiştir. Ancak, NaOH çözeltileri içerisinde ağırlıkça %3 oranında olacak şekilde dağıtılan ODA-MMT, karıştırma süresi sonunda kararlı dispersiyonlar oluşturamayıp çökmüş, bu sebeple sadece ağırlıkça %10 oranında ODA-MMT içeren PNIPAAm/ODA-MMT hidrojellerinin sentezi gerçekleştirilebilmiştir.

LP-RD, MMT veya ODA-MMT ile çapraz bağlanmış modifiye kompozit PNIPAAm/kil hidrojellerinin 30°-45°C aralığındaki sıkıştırma modül değerleri ile V/V_o oranları, mgNH'lerine ait değerlerle karşılaştırmalı olarak Şekil 4.6'da incelenmiştir.

Şekil 4.6 ve Şekil 4.7, M3/0.1/1, L3/0/1 ve L3/0.1/1 hidrojelleri ile ağırlıkça % 10 oranında LP, MMT veya ODA-MMT'nin 0.1 N NaOH'deki dispersiyonları içerisinde 1 ve 2 haftalık reaksiyon süreleri ile sentezlenen hidrojellerin sıkıştırma modülleri ve V/V_o oranlarının sıcaklığa bağlı değişimini göstermektedir. Şekil 4.6 ve Şekil 4.7, PNIPAAm/LP hidrojelleri için, 37°C sıkıştırma modülünün artan inorganik çapraz bağlayıcı miktarı (L3/0.1/1 78kPa'dan L10/0.1/1 113 kPa'a) ve değişen polimerizasyon çözücüsü ile yükseldiğini göstermektedir (L3/0/1 2kPa'dan L3/0.1/1 78 kPa'a). 0.1N NaOH içerisinde sentezlenen PNIPAAm/MMT hidrojelleri için de, artan polimerizasyon süresi ile 37°C'daki sıkıştırma modülü değeri yükselmektedir (M10/0.1/1 44 kPa'dan M10/0.1/2 160 kPa'a).

Şekil 4.6 (a), incelenen sıcaklık aralığında, 0.1 N NaOH çözeltisi içerisinde sentezlenmiş PNIPAAm/LP-RD (L3/0.1/1) hidrojelinin L3/0/1 hidrojeline kıyasla

daha yüksek modül değerlerine sahip olduğunu göstermektedir. Diğer bir ifadeyle, NaOH çözeltisi içerisinde bulunan LP-RD, DDS içerisinde dağıtılmış LP-RD'ye göre çapraz bağlayıcı olarak daha yüksek aktivite sahiptir. Bu durum, OH^- iyonlarının, LP-RD tabaka uçlarındaki pozitif yüklü bölgeleri nötralize ederek yüzey-uç etkileşimlerini azalttığı, böylece tabakaların daha etkin şekilde ayrılmalarını sağladığı şeklinde yorumlanabilir.



Şekil 4.7 : Üç farklı smektit kil ile fiziksel olarak çapraz bağlanmış PNIPAAm kompozit hidrojellerin (a) sıkıştırma modül-sıcaklık ve (b) V/V_o – sıcaklık grafikleri. (37°C'de E modül sıralaması: O10/0.1/2 > M10/ 0.1/2 > M3/0.1/2 > L10/0.1/2).

Ek olarak, hidrojel disklerinin 30°-45°C aralığındaki tek eksenli sıkıştırma test sonuçları, 0.1N NaOH içerisinde sentezlenmiş PNIPAAm/LP-RD hidrojellerine ait modül değerlerinin, kil konsantrasyonunun %3'den %10'a artışı ile de yükseldiğini göstermektedir. Bununla birlikte, LP-RD hidrofilik yapısı sebebiyle ~37°C'a kaymış

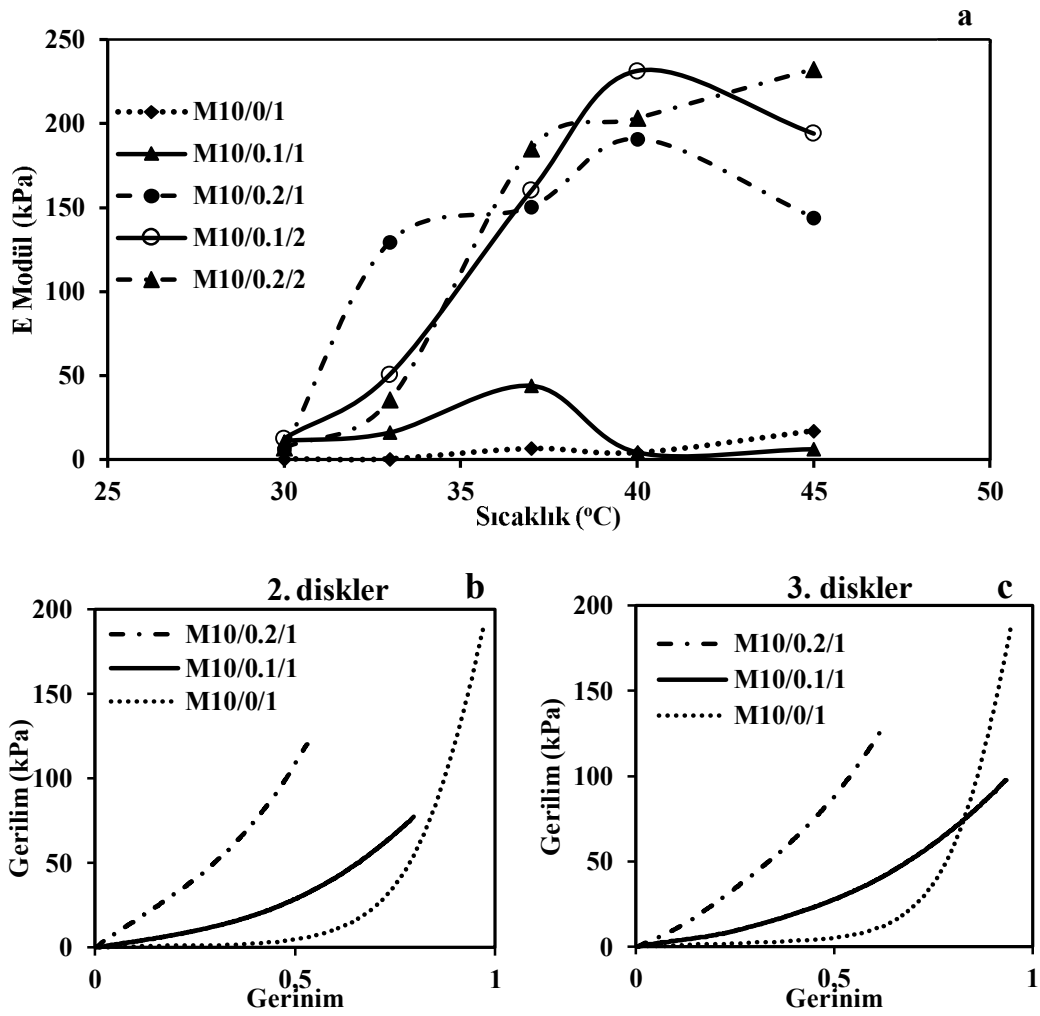
olan VPTT noktasına kadar, hem L10/0.1/1 hem de L3/0.1/1 modül değerlerinin hızla yükseldiği, bu sıcaklık değerinin üzerinde ise sadece L10/0.1/1 modül değerlerinin yüksek seyrini koruduğu gözlenmiştir. Bu durum, artan LP-RD konsantrasyonu ile PNIPAAm/LP-RD hidrojellerinin yapısal homojenliğinin artmış olduğunu ifade eder. Sonuç olarak bu çalışma, serbest radikal katılma polimerizasyonu yöntemi ile sentezlenen modifiye PNIPAAm/kil hidrojelleri için, DDS yerine 0.1 N NaOH çözeltisi kullanmak yoluyla LP-RD çapraz bağlama etkinliğinin arttırılabildiğini/iyileştirilebildiğini göstermektedir.

Şekil 4.6 ve Şekil 4.7 birlikte incelendiğinde, üç farklı tip kil ve iki farklı polimerizasyon süresi ile sentezlenen mkNH'lerinin, tek eksenli sıkıştırma testleri ve disk çapı ölçümleri ile elde edilen sırasıyla sıkıştırma modül-sıcaklık ve V/V_o-sıcaklık eğrilerinin benzer bir davranış izlediği görülmektedir. Hidrojeller 33°C üzerinde keskin bir faz geçişi gösterirken, 37°C üzerinde yeniden şişmektedirler. İlaveten düşük kil konsantrasyonuna sahip hidrojellerde, T>33°C bölgesinde çözücü kaybı daha yüksektir.

İncelenen üç farklı tip smektit kil arasından çapraz bağlayıcı olarak en düşük reaktiviteye sahip yapı ODA-MMT'dir. 1 haftalık polimerizasyon süresi ile sentezlenen PNIPAAm/ODA-MMT hidrojelinin T≤33°C şişme oranları, kıyaslandığı diğer aynı konsantrasyonlu ve daha hidrofilik yapılı killerle çapraz bağlanmış kompozit hidrojellere göre yaklaşık dört kat daha yüksektir (Şekil 4.6 (b)). Bununla birlikte, sentez süresinin iki haftaya yükseltilmesi ile, PNIPAAm/ODA-MMT hidrojelinin 30°C V/V_o değerinin düştüğü ve ağırlıkça %10 oranında kil içeren tüm kompozit PNIPAAm hidrojellerinin düşük sıcaklıktaki şişme değerleri hemen hemen aynı noktaya ulaştığı görülmüştür (Şekil 4.7 (b)). Bu durum, PNIPAAm/ODA-MMT hidrojeli için 1 haftadan iki haftaya kadar olan sürede polimerizasyon reaksiyonun devam ettiğini göstermektedir.

DDS, 0.1N ve 0.2N NaOH çözeltileri içerisinde sentezlenmiş PNIPAAm/MMT hidrojellerinin sıcaklığa bağlı sıkıştırma modülleri (a) ile, aynı örneklerin 2. ve 3. disklerinin 37°C'daki tek eksenli sıkıştırma testlerinden elde edilmiş gerilim-gerinim grafikleri (b ve c) Şekil 4.8 ile verilmiştir. Şekil 4.8 (a)'da her bir sıcaklık için verilen modül değerleri, örneklere ait iki farklı diske (2. ve 3. diskler), ilgili sıcaklıkta uygulanan tek eksenli sıkıştırma testinden elde edilmiş gerilim-gerinim eğrilerinin doğrusal bölge eğimlerinin ortalaması şeklinde hesaplanmıştır.

Grafikte, 37ºC'daki en yüksek sıkıştırma modülü değerinin M10/0.2/2 hidrojeline ait olduğu ve bu hidrojelin 37º-45ºC aralığındaki modül değerlerinin sürekliliğini koruduğu görülmektedir. Bu durum, M10/0.2/2 hidrojelinin T≥37ºC M10/0.2/1 ve M10/0.1/2 hidrojellerine kıyasla daha homojen bir yapıya sahip oluğunu gösterir. Şekil 4.8 (b) ve (c)'de ise, hidrojellerin sıkıştırma modül değerlerinin artan NaOH konsantrasyonu ile yükseldiği ve aynı örneğe ait farklı disklerin birbiriyle uyumlu sonuçlar verdikleri görülmektedir. mkNH'lerinin modül değerlerinin, NaOH konsantrasyonu, inorganik çok fonksiyonlu çapraz bağlayıcı (kil) miktarı ve polimerizasyon süresindeki artışla yükseldiği sonuçlarına ulaşılmıştır.



Şekil 4.8 : PNIPAAm/ MMT hidrojellerinde, çözücü konsantrasyonunun modül değerleri üzerine etkileri (a) ve örneklerin 37ºC gerilim-gerinim grafikleri (b,c).

Hidrojel yapısında bulunan uç grupların VPTT üzerine etkilerinin araştırıldığı çeşitli çalışmalar literatüre sunulmuştur [288-291]. Bu çalışmalarda, hidroksil uç gruplarına sahip hidrojellerdeki hidrofilik karakterin, -OH grupları ile su molekülleri arasında

kurulan güçlü hidrojen bağları sebebiyle oldukça baskın olduğu vurgulanmaktadır. Ağyapıda hidroksil uç grupları bulunmasının, hidrojellerin VPTT değerlerini, hidrofilik komonomer varlığına kıyasla çok daha etkili şekilde yükseltebildiği de literatür tarafından vurgulanan bir diğer önemli noktadır.

Bu tez çalışmasında kullanılan KPS/0.1N NaOH ve KPS/0.2N NaOH çözücü sistemleri içerisinde, NaOH varlığından kaynaklanan hidroksil grupları ile KPS'in bozunmasından kaynaklanan sülfat anyon radikalleri birarada bulunmaktadır. 0.1N ve 0.2N NaOH çözeltileri içerisinde gerçekleştirilen polimerizasyonlarda, bu iki tür arasında gerçekleşebilecek reaksiyonlar sonucu, polimerizasyon ortamında ağırlıklı olarak hidroksil radikallerinin bulunması yüksek olasılıktır. Yüksek pH'lı sentez çözücüleri içerisinde var olduğu düşünülen hidroksil radikalleri, kil tabakalarının yüzeylerinde ve uçlarında Si-O^* radikalleri oluşturabilir ve bu aktif merkezler üzerinde oluşan PNIPAAm zincirleri karşılıklı olarak ya da çifte bağlarla sonlanmak yerine -OH grupları ile sonlanabilir [307]. Ayrıca, polimerizasyon çözeltisi olarak kullanılan NaOH'den kaynaklanan OH^- iyonları, LP ve MMT tabaka uçlarında bulunan Mg-OH ve Al-OH gruplarından proton ayrılmasına sebep olarak (Eşitlik 4.2 ve 4.3), negatif yüklü bölgeler de oluşturur [308]. Oktahedral tabakaların yüzeylerinde Al^{3+} iyonlarının Mg^{2+} veya Fe^{2+} iyonları ile yer değiştirmesi yoluyla oluşmuş negatif yüklere ilaveten gerçekleşen bu proton kaybı tabakalar arasındaki elektrostatik itmeyi kuvvetlendirir ve kil tabakalarının ayrılması DDS içerisinde dağıtılmış MMT'ye kıyasla daha etkin şekilde gerçekleşir.

$$Mg\text{-}OH + OH^- \leftrightarrow Mg\text{-}O^- + H_2O \quad (4.2)$$

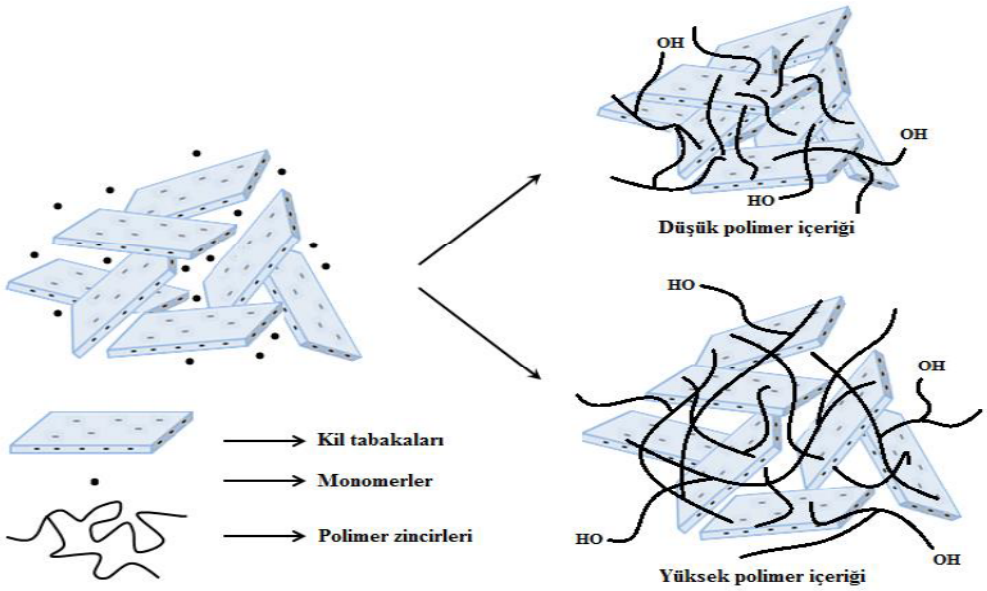
$$Al\text{-}OH + OH^- \leftrightarrow Al\text{-}O^- + H_2O \quad (4.3)$$

Proton ayrılması sonucu negatif şekilde yüklenmiş LP ve MMT tabakalarının hidroksil radikalleri ile etkileşimi yoluyla tabaka yüzeylerinde aktif merkezler (Si-O^*) oluşabilir ve bu aktif merkezler PNIPAAm zincirlerinin oluşacağı/bağlanacağı bölgeleri oluşturur. Strachota tarafından literatüre sunulmuş olan geleneksel NIPAAm/kil kompozit hidrojellerinin sentez mekanizmalarını öngören çalışmada [309], TEMED moleküllerinin kil tabakaları tarafından kuvvetle adsorplandığı ve başlatıcı moleküllerinden oluşan anyonlar ile kompleks oluşturarak, polimerizasyon reaksiyonlarını başlatacak radikalleri oluşturduğu ifade edilmiştir. Bu çalışmada ise hızlandırıcı olarak TEMED kullanılmadığından, ağyapı oluşumun sentez çözücüsü

içerisinde bulunan OH^* tarafından kil tabakaları üzerinde oluşturulduğu varsayılan aktif merkezlerde başlayıp ilerlediği öngörülmüştür.

Polimerizasyon ortamı olarak kullanılan çözücüler, mgNH ve mkNH'lerinin hacim faz geçiş sıcaklıkları üzerine kuvvetle etki etmiş, VPTT'nin gNH'lerine kıyasla daha yüksek sıcaklık noktalarına kaymasına sebep olmuştur (Şekil 4.5 ve 4.8 (a)). Hidrojellerin geleneksel sentez proseslerinde gerçekleşen redoks reaksiyonları ile, başlatıcı/hızlandırıcı çifti arasındaki oranın, sentezlenen polimer zincirlerinin molekül ağırlıkları üzerinde oldukça etkili olduğu bilinmektedir. Bu çalışmada, polimerizasyon çözücüsü ve hızlandırıcısı olarak sırasıyla DDS ve TEMED yerine NaOH çözeltileri kullanılmıştır. Reaksiyon çözücüsü içerisinde bulunan KPS ($1.5x10^{-2}$mol/L)/NaOH (0.1N veya 0.2N) redoks çifti tarafından üretilen temel radikalik tür, OH^*'dır ve [NaOH]/[KPS] oranının 6.67 ile 13.34 arasında olması beklenmektedir. Ayrıca, sabit NIPAAm ve düşük inorganik çapraz bağlayıcı konsantrasyonlarının (sırasıyla 1.0 mol/L ve $0.5x10^{-2}$ – $3.0x10^{-2}$ mol/L) bir sonucu olarak da, ağyapıda -OH grupları ile sonlanmış çok sayıda ve kısa PNIPAAm zincirinin bulunduğu düşünülmektedir.

Özetle, bu çalışmada sentezlenen modifiye kompozit PNIPAAm/kil hidrojelleri için, polimerizasyon çözücüsü olarak literatür çalışmalarında sıklıkla kullanılmış olan DDS yerine NaOH çözeltileri kullanılmıştır. Ayrıca, TEMED kullanmak yerine NaOH'in KPS'den radikal oluşum hızını arttırıcı etkisinden yararlanılarak modifiye bir polimerizasyon yöntemi uygulanmıştır. mkNH'lerinde, polimerizasyon çözücüleri olarak kullanılan 0.1N ve 0.2N NaOH, hidrojellerin sıkıştırma modül değerlerini yükseltmiş/iyileştirmiştir. Ancak örneklerin incelenen sıcaklık aralığı içerisinde iki farklı noktada hacim faz geçişi ve heterojen modül değerleri göstermelerine sebep olmuştur. Bu durum, çapraz bağlayıcı olarak kullanılan inorganik çok fonksiyonlu killerin yapısal özelliklerinden ve kil tabakalarının alkali polimerizasyon ortamında uğradıkları modifikasyondan kaynaklanmakta olup, modifiye sentez işleminin ağyapı içerisinde NIPAAm bakımından zengin ve inorganik bileşen (kil) bakımından zengin farklı bölgeler oluşturduğu şeklinde yorumlanmıştır (Şekil 4.9).



Şekil 4.9 : Modifiye kompozit PNIPAAm/kil hidrojellerinde düşük ve yüksek polimer içeriğine sahip bölgeler.

Örneğin, modifiye PNIPAAm/MMT hidrojellerinde, tabakalar arası mesafeleri daha etkin şekilde artan ve PNIPAAm ağyapısı içerisine daha etkin şekilde dağılabilen MMT'nin, 30º-45ºC aralığında yüksek modül değerleri gözlenmesine sebep olduğu (Şekil 4.8), 37ºC ve 40ºC'da gözlenen hacim faz geçişlerinin ise, NaOH etkisiyle oluşan -OH uç grupların hidrojelin hidrofilik karakterine pozitif katkısından kaynaklandığı düşünülmektedir.

Haraguchi ve çalışma arkadaşları tarafından literatüre sunulmuş olan çalışmalarda, redoks çiftleri tarafından oluşturulan radikallerin kil yüzeylerinde yoğunlaştığı ve kil yüzeylerinden oluşan PNIPAAm zincirlerinin komşu kil tabakaları ile kolaylıkla bağlanabileceği ifade edilirken, bir diğer çalışmada, APS-TEMED redoks çifti ile gerçekleştirilen reaksiyonlarda TEMED-kil etkileşimlerinin NIPAAm-kil ve PNIPAAm-kil etkileşimlerinden çok daha kuvvetli olduğu spektroskopik olarak ortaya konmuştur [309,310]. Okano ve arkadaşları tarafından yapılan bir başka çalışmada ise, PNIPAAm zincirlerinde bulunan hidroksil uç gruplarının, su ile hidrojen bağları kurmak yoluyla polimerin hacim faz geçiş sıcaklığını yükselttiği ve bunun, yapıda hidrofilik komonomerlerin bulunmasına kıyasla çok daha etkili olduğu vurgulanmıştır [304].

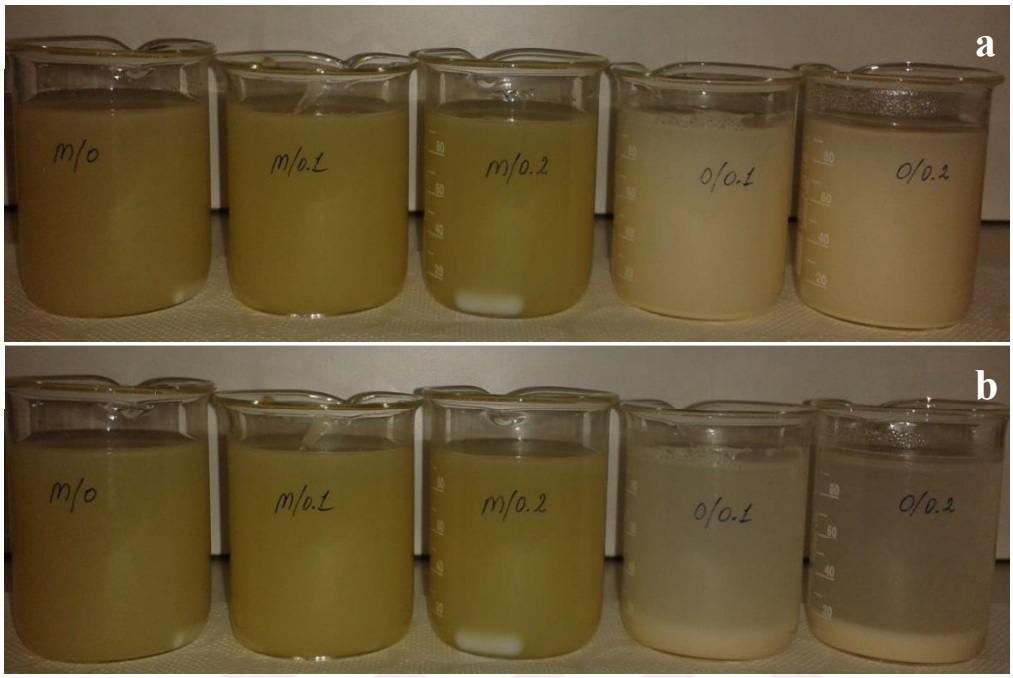
PNIPAAm-kil hidrojelleri tarak şeklinde (comb-type) hidrojeller olarak düşünülebilir. Yapının, LP, MMT ya da ODA-MMT temel tabakaları üzerinde gelişmiş ve OH

grupları ile sonlanmış çok sayıda PNIPAAm zinciri şeklinde olduğu varsayılmaktadır. Yapıyı oluşturan birtakım PNIPAAm zincirleri ise, (i) farklı kil tabakaları üzerindeki zincirlerin fiziksel dolaşıklıkları, (ii) büyümekte olan bir zincir ile kil tabakası üzerindeki aktif Si-O* reaksiyonu ya da (iii) farklı kil tabakaları üzerinde büyümekte olan PNIPAAm* zincirlerinin karşılıklı olarak sonlanması yoluyla ağyapı oluşumuna destek olmaktadır.

Literatüre sunulmuş olan çalışmalarda, çapraz bağlayıcı miktarının arttırılması ya da ağyapıya hidrofobik komonomer(ler) ilave edilmesinin hidrojellerin mekanik özelliklerini güçlendirdiği buna karşılık şişme derecelerini ise düşürdüğü ifade edilmektedir [311,312]. Bu tez çalışmasında ise, yüksek modül değerleri ile birlikte yüksek şişme derecelerine de sahip PNIPAAm/kil hidrojellerinin sentezi amaçlanmıştır. Bu doğrultuda, hidrofobik bir komonomer kullanmak yerine, bir diğer inorganik çok tabakalı kil yapı olarak, oktadesilamin ile yüzey modifikasyonu gerşekleştirmek yoluyla hidrofobik olarak modifiye edilmiş MMT yani ODA-MMT kullanılmıştır. Ancak ODA-MMT, hidrofobik olarak modifiye edilmiş olması sebebiyle, Na-MMT ve LP-RD'den farklı olarak DDS içerisinde dağıtılamamış, ODA-MMT dispersiyonları sadece 0.1N ve 0.2N NaOH çözeltileri içerisinde hazırlanabilmiştir. İlaveten ODA-MMT, modifiye kompozit ağyapıya sadece ağırlıkça %10 oranında ilave edilebilmiştir. Ağırlıkça %3 ODA-MMT içerecek hidrojeller sentezlemek üzere hazırlanmış polimerizasyon çözeltilerinde, kararlı dispersiyon oluşturamayan ODA-MMT tabakaları çökmüş, polimerizasyon gerçekleşememiştir. ODA-MMT'nin 0.1N ve 0.2N NaOH çözeltileri içerisinde, moleküller arası hidrofobik etkileşimler ile kararlı dispersiyonlar oluşturabileceği ve bunun için çözeltinin bir kritik kil konsantrasyonu değerine sahip olması gerektiği sonucuna ulaşılmıştır.

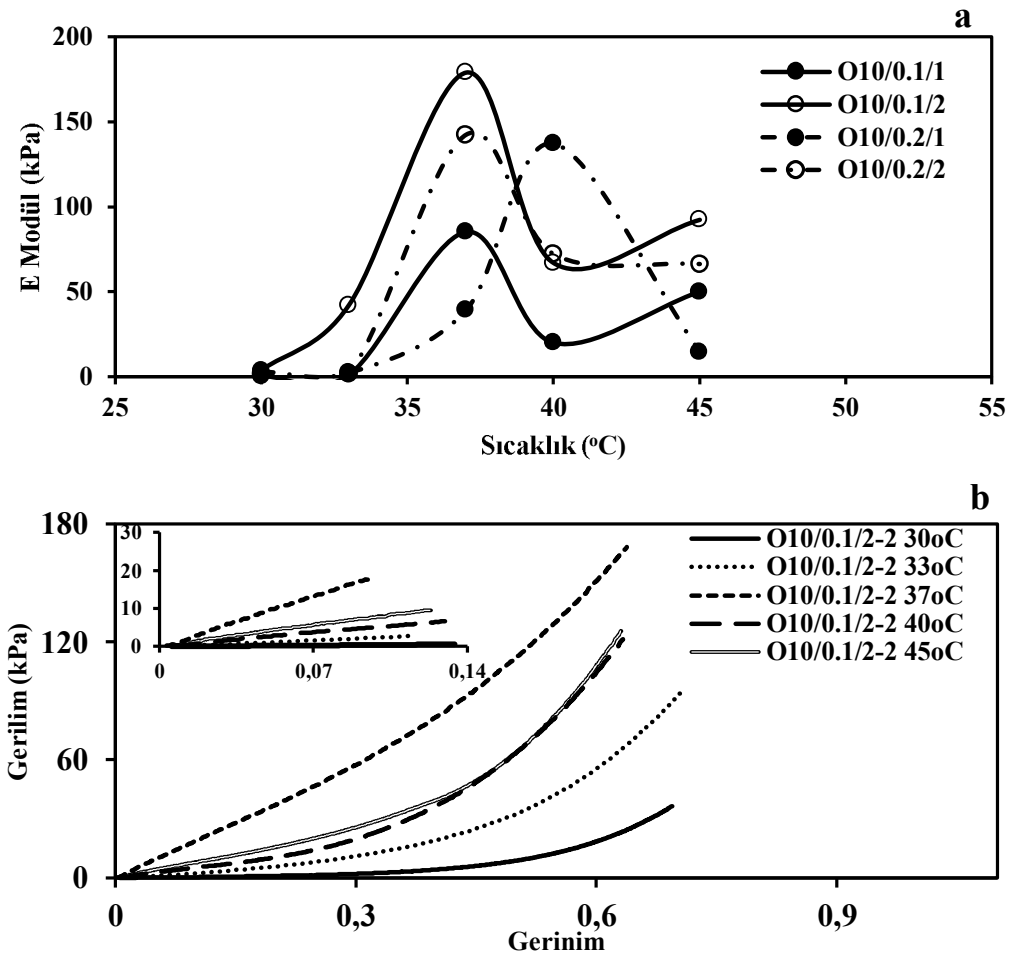
Polimerizasyon çözeltilerinin hazırlanması sürecinde, 17 saatlik manyetik karıştırma ile kil dispersiyonları hazırlanmıştır. Şekil 4.10'da DDS, 0.1N ve 0.2N NaOH çözeltileri içerisinde dağıtılmış MMT ile (sırasıyla M/0, M/0.1 ve M/0.2), 0.1N ve 0.2N NaOH çözeltileri içerisinde manyetik karıştırma ile dağıtılmış ODA-MMT (sırasıyla O/0.1 ve O/0.2) dispersiyonlarına ait fotoğraflar verilmiştir. Dispersiyonlar ağırlıkça %10 oranında inorganik bileşen içerecek şekilde hazırlanmışlardır. Şekil 4.10 incelendiğinde, her üç çözeltide de MMT (M) dispersiyonlarının 17 saatlik manyetik

karıştırma süreci tamamlandığı anda (a) ve süreci takip eden bir saatlik bekletme süresi sonunda (b) kararlılıklarını korumakta oldukları gözlenmektedir.



Şekil 4.10 : DDS, 0.1N ve 0.2N NaOH çözeltileri içerisinde dağıtılmış Na-MMT ve 0.1N ve 0.2N NaOH çözeltileri içerisinde dağıtılmış ODA-MMT dispersiyonlarına ait fotoğraflar. Mekanik karıştırma süreci tamamlandığı anda (a) ve bir saatlik bekletme süresi sonunda (b).

Buna karşılık, karıştırma sürecinin tamamlanmasından sonra bir saat bekletilen ODA-MMT (O) dispersiyonlarında çökme gözlenmiştir. 0.2N NaOH çözeltisi içerisinde dispers edilmiş ODA-MMT tabakalarında kararlılık daha zayıf olup çöken tabaka miktarı daha fazladır. Ancak, 17 ssatlik karıştıma süreci sonunda, monomer (NIPAAm) ve başlatıcı (KPS) ilavelerinin ardından derhal azot atmosferine alınarak polimerizasyonu başlatılan kompozit PNIPAAm/ODA-MMT hidrojellerde, NaOH'in katalitik etkisi ile oldukça kısa sürede başlayan ve hızlı ilerleyen bir polimerizasyon gerçekleşmiş, hızlı jelleşme (~10 dk.'da tamamlanan) sonucu polimerizasyon çözeltisi içerisindeki ODA-MMT tabakalarında çökme gözlenmemiştir.



Şekil 4.11 : O10/0.1/2 hidrojeli için 30°-45°C aralığında gerilim-gerinim eğrileri (a) ve PNIPAAm/ODA-MMT hidrojelleri için modül-sıcaklık ilişkisi (b).

Kompozit PNIPAAm/ODA-MMT hidrojellerinin modül değerlerinin sıcaklığa bağlı değişimleri Şekil 4.11 (a) ile verilmiştir. Hidrojellerin modül değerleri üzerine sentez süresi (1 veya 2 hafta) ve NaOH konsantrasyonun etkilerinin de incelendiği bu grafikte, aynı miktarda inorganik çapraz bağlayıcı içeren ve dört farklı reaksiyon koşulunda sentezlenmiş PNIPAAm/ODA-MMT hidrojellerinin 37°C civarında bir hacim faz geçişi sergiledikleri görülmektedir. O10/0.2/1 hidrojelinde 40°C'da gözlenen hacim faz geçişinin ise, sentez süresinin 1 haftadan 2 haftaya uzatılması ile 37°C'a gerilediği tespit edilmiştir. 40°C civarında gözlenen hacim faz geçişinin, PNIPAAm/ODA-MMT ağyapısı içerisinde bulunan ve düşük polimer içeriğine sahip bölgelerden, 37°C'da gözlenen geçişin ise, yüksek polimer konsantrasyonuna sahip ağyapı bölgelerinin varlığından kaynaklandığı düşünülmektedir (Şekil 4.9).

Şekil 4.11 (b)'de, O10/0.1/2 hidrojelinin 2 nolu diski üzerine 30°-45°C aralığında uygulanan tek eksenli sıkıştırma testlerinden elde edilen gerilim – gerinim eğrileri

verilmiştir. O10/0.1/2 hidrojeli için gerilim-gerinim eğrilerinin, Şekil 4.11 (a) ile verilen modül-sıcaklık eğrisi ile uyumlu başlangıç eğimlerine sahip oldukları gözlenmektedir.

Özetle, LP ve MMT'nin çok fonksiyonlu inorganik çapraz bağlayıcılar olarak etkinliklerinin ve bu killerin çapraz bağlayıcı olarak kullanıldığı ağyapıların homojenliklerinin, reaksiyon süresinin 1 haftadan 2 haftaya uzatılması, polimerizasyon çözücüsünün DDS'den 0.1N NaOH'a değiştirilmesi ve kil konsantrasyonunun %3'den %10'a yükseltilmesi ile arttığı sonuçlarına ulaşılmıştır.

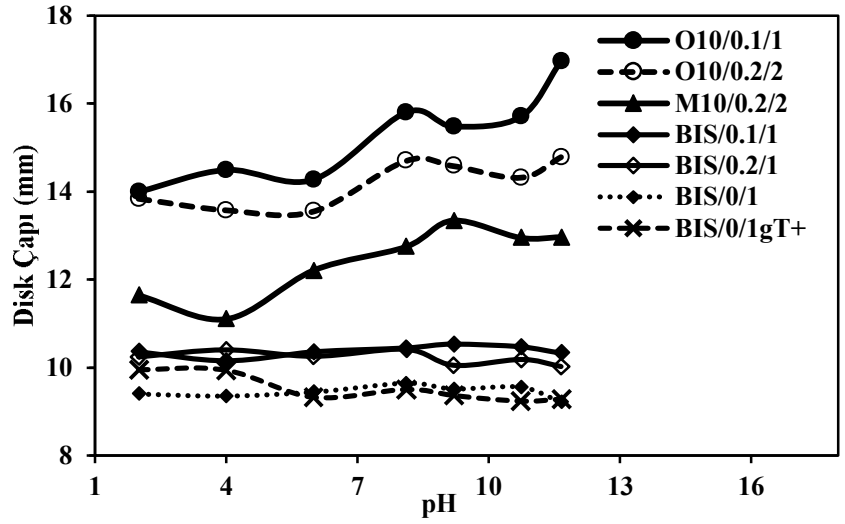
Modifiye kompozit PNIPAAm/kil hidrojellerinin sıkıştırma modül değerleri T=37°C'da incelenen sıcaklık aralığındaki en yüksek değerlere ulaşmaktadır. 37°-40°C aralığında daha düşük değerlerde seyreden sıkıştırma modüllerinin, T>40°C üzerinde tekrar yükselmesi, T>45°C bölgesinde, ağyapıların düşük polimer (=yüksek inorganik bileşen) içeriğine sahip hidrofilik bölümlerinden kaynaklanan ikinci bir faz geçişinin gerçekleşebileceğini göstermektedir. Bu sonuç, sabit inorganik çok fonksiyonlu çapraz bağlayıcı miktarı ile, iki farklı sentez süresi ve iki farklı NaOH konsantrasyonunda sentezlenen PNIPAAm/kil ağyapıları içerisinde, Şekil 4.9 ile tasvir edilen şekilde düşük ve yüksek polimer içeriğine sahip farklı özelliklerde bölgelerin bulunduğu yorumunu desteklemektedir.

4.1.2. pH'a Bağlı Şişme Davranışları

Nötral bir nomomer olan NIPAAm, pH duyarlılığına sahip olmayan doğrusal veya çapraz bağlı homopolimer yapılar oluşturur. [313]. Bu çalışmada, polimerizasyon hızlandırıcısı olarak kullanılan TEMED reaksiyon ortamından çıkarılmış, literatür çalışmalarında sıklıkla kullanılmış olan DDS yerine, sentez ortamı ve polimerizasyon hızlandırıcısı olarak NaOH çözeltileri kullanılmış, çapraz bağlayıcı organik molekül (BIS) inorganik çok tabakalı smektitlerle değiştirilmiş, sentezler bir ve iki haftalık uzun polimerizasyon süreleriyle gerçekleştirilmiştir. Özellikleri değiştirilmiş/iyileştirilmiş PNIPAAm hidrojelleri elde etmek amacıyla gerçekleştirilen bu modifikasyonların, ağyapıyı oluşturan polimer zincirlerinin uç gruplarını değiştirmek veya ağyapıda hidrolize sebep olmak yoluyla, PNIPAAm hidrojellerine pH duyarlılığı kazandırabileceği öngörülmüştür. Sentez çözücüsü, sentez süresi ve çapraz bağlayıcı bileşen modifikasyonlarının ağyapılarda pH duyarlılığına sebep olup olmadığını belirlemek amacıyla, seçilen bazı hidrojellere ait disklerin 30°C ve pH 2-

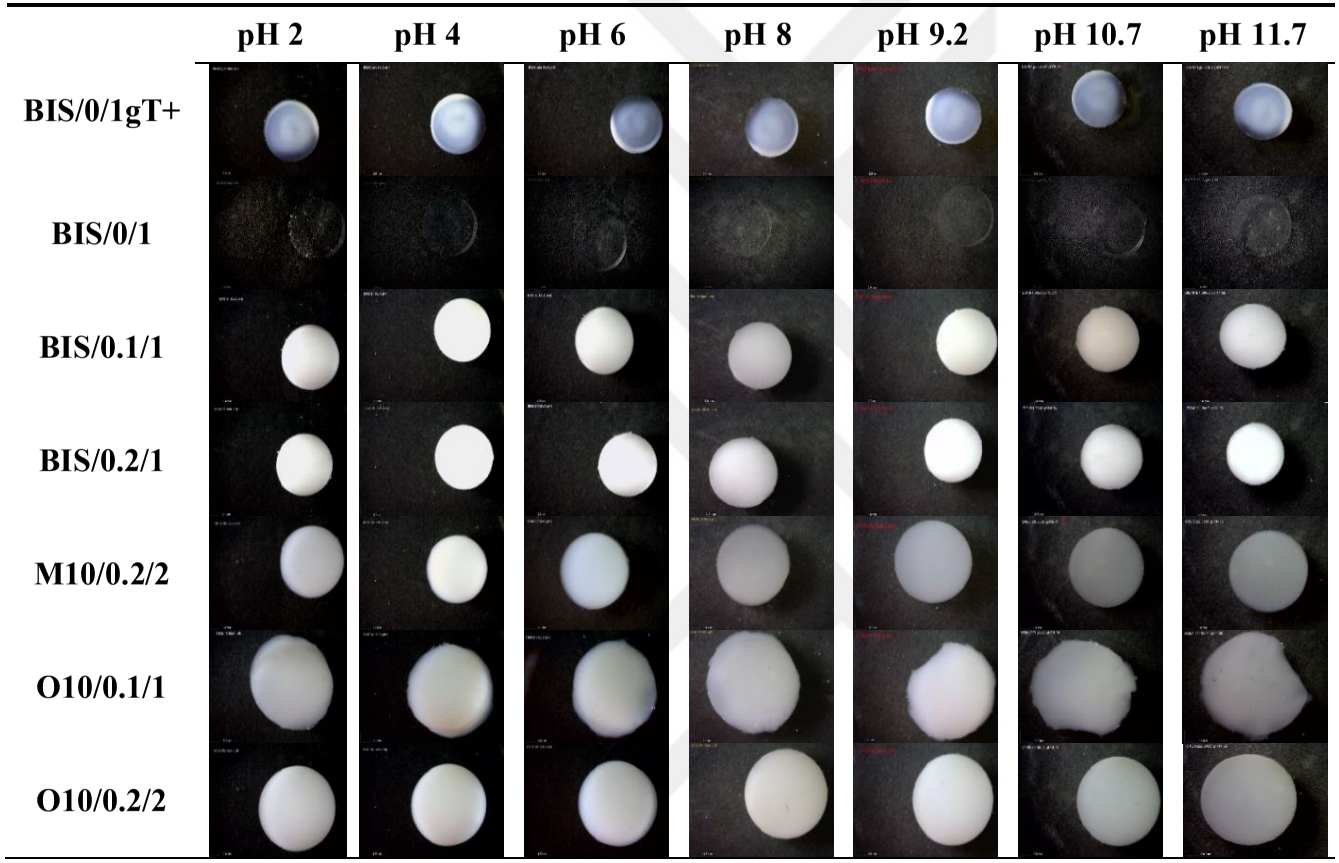
12 aralığındaki çap değişimleri incelenmiştir. pH'a bağlı şişme davranışının belirlenmesi deneylerinde kullanılacak çözeltilerin pH değerleri, ağyapılar ile tampon çözelti bileşenleri arasında kurulabilecek moleküller arası etkileşimlerin önüne geçmek amacıyla, seyreltik HCl veya NaOH çözeltileri ile ayarlanmıştır.

Geleneksel (BIS/0/1gT+) ve modifiye geleneksel (BIS/0/1, BIS/0.1/1, BIS/0.2/1) PNIPAAm homopolimer hidrojelleri ile kompozit homopolimer O10/0.1/1, O10/0.2/2 ve M10/0.2/2 hidrojellerinin pH'a bağlı şişme davranışları, 30ºC'da pH 2 – 12 aralığında incelenmiş, sonuçlar pH'a bağlı disk çapı değişimi eğrileri şeklinde ve görsel olarak sırasıyla Şekil 4.12 ve Çizelge 4.2 ile verilmiştir.



Şekil 4.12 : gNH ile mgNH'leri ve mkNH'leri için 30ºC'da pH'a bağlı disk çapı değişimleri.

Çizelge 4.2 : gNH ile mgNH'leri ve mkNH'lerinden seçilen örneklerin 30ºC'da dijital mikroskop ile belirlenen pH'a bağlı disk çapı değişimleri.



Şekil 4.12'de TEMED/KPS redoks çifti varlığında sentezlenen BIS/0/1gT+ jeli ile, BIS/0/1, BIS/0.1/1 ve BIS/0.2/1 hidrojellerinin pH'a bağlı disk çapı değişimleri mkNH'leriyle kıyaslamalı olarak verilmiştir. DDS içerisinde, TEMED kullanılmadan 1 haftalık polimerizasyon süresi ile sentezlenen BIS/0/1 hidrojelinde beklendiği üzere incelenen aralıkta pH duyarlılığı gözlenmemiştir. 0.1N ve 0.2N NaOH çözeltileri içerisinde sentezlenmiş BIS/0.1/1 ve BIS/0.2/1 hidrojellerinde ise yine pH'dan bağımsız, ancak, incelenen aralıkta BIS/0/1 hidrojeline kıyasla daha yüksek disk çapları sözkonusudur.

TEMED/KPS redoks çifti kullanılarak gerçekleştirilen geleneksel hidrojel sentezlerinde SO_4^{-*} ve TEMED* radikalleri üzerinden yürüyen serbest radikal katılma polimerizasyonlarının, bu çalışmada ağırlıklı olarak hidroksil radikalleri üzerinden ilerlediği düşünülmektedir. TEMED kullanılmaksızın NaOH çözeltilerinde (pH>12) sentezlenmiş hidrojellerde, polimerizasyonların ağırlıklı olarak OH^* tarafından oluşturulmuş aktif merkezler üzerinden gerçekleştiği ve reaksiyon sonunda bir kısım polimer zincir ucunun, hidroksil grupları ile sonlandığı söylenebilir. Bu durum, BIS/0.1/1 ve BIS/0.2/1 hidrojelleri için gözlenen, BIS/0/1 hidrojeline kıyasla daha yüksek disk çapı değerlerini açıklar niteliktedir. BIS/0.1/1 hidrojelinde, zincir uçlarındaki OH gruplarının ağırlıklı olarak zincirler arası hidrojen bağları kurarak birbirleriyle etkileştikleri Şekil 4.3 ile verilen sıcaklığa bağlı modül değerlerindeki yükseliş ile de desteklenmektedir. BIS/0.2/1 hidrojelinde ise, yine Şekil 4.3'de verilen V/V_o değerleri de gözönüne alınarak, zincir uçlarındaki OH gruplarının ağırlıklı olarak H_2O molekülleri ile etkileştiği söylenebilir. pH>8 bölgesinde, artan NaOH konsantrasyonuyla polimer zincirleri etrafındaki serbest su moleküllerinin sayısı ve PNIPAAm-H_2O etkileşimlerinin kuvveti azalmakta, böylece polimer zincirlerini oluşturan NIPAAm birimlerindeki hidrofobik gruplar arasındaki etkileşimler baskın hale gelmektedir. Bu durum, pH>8 bölgesinde BIS/0.2/1 hidrojelinin disk çaplarında düşüş olarak ortaya çıkmıştır.

TEMED/KPS redoks çifti varlığında ve bir günlük polimerizasyon süresiyle sentezlenen geleneksel PNIPAAm hidrojelinde (BIS/0/1gT+) ise, pH $\leq$ 4 bölgesinde, pH > 4 bölgesine kıyasla yüksek disk çapları gözlenmiştir. Bu durumun, TEMED molekülündeki amin gruplarının asidik ortam etkisi ile protonlanması ve bu gruplar

arasında oluşan elektrostatik itme kuvvetlerinden kaynaklanmış olabileceği düşünülmektedir [314].

Şekil 4.12'de mkNH'lerinin, incelenen pH aralığında geleneksel ve modifiye geleneksel PNIPAAm hidrojellerine kıyasla daha yüksek şişme değerlerine sahip olduğu ve ayrıca mkNH'lerinin sentezinde kullanılan MMT ve ODA-MMT'nin ağyapılara pH'a bağlı bir şişme davranışı da kazandırdığı görülmektedir. Daha önce de ifade edildiği gibi, NaOH çözeltileri içerisinde bulunan yüksek konsantrasyondaki hidroksil iyonlarının, başta polimerizasyon ortamındaki temel radikalik türlerin cinsi olmak üzere, polimer zincirleri etrafındaki serbest su moleküllerinin sayısını, polimer zincir uçlarını ve kullanılan çok fonksiyonlu çapraz bağlayıcıları yapısal olarak değiştirdiği düşünülmektedir. Tombacz ve Szekeres tarafından yapılan çalışmada bu değişimin, mkNH'lerinin sentezinde kullanılan MMT ve ODA-MMT tabakalarının yüzey ve uç kısımlarında bulunan Si-OH gruplarının, pH'a bağlı olarak (pH > 6–6.5) aşağıdaki şekilde negatif yüklenmesi şeklinde gerçekleştiği ifade edilmektedir [315].

$$Si\text{-}OH + OH^- \leftrightarrow Si\text{-}O^- + H_2O$$

İncelenen pH aralığında benzer bir davranış gösteren O10/0.1/1, O10/0.2/2 ve M10/0.2/2 hidrojelleri için pH > 6-6.5 bölgesinde mgNH'lerine kıyasla artmış olan disk çaplarının, yukarıda da ifade edildiği gibi, kil yüzeyleri ve tabaka uçlarında pH'a bağlı olarak oluşmuş negatif yüklü bölgeler arasındaki elektostatik itme kuvvetlerinden kaynaklandığı varsayılmıştır. Yukarıda verilen bulgular ışında, çapraz bağlayıcı olarak BIS yerine inorganik smektitlerin kullanılmasının ve NaOH varlığında polimer zincir uçları ve kil yapısında gerçekleşen değişimlerin ağyapıya hidrofilik özellikli veya yüklü gruplar taşıyan konomerlerin ilave edilmesine benzer bir etki yarattığı söylenebilir.

Aynı grafikte, incelenen pH aralığında kompozit homopolimer hidrojellere ait disk çaplarının aşağıdaki sırada değiştiği görülmektedir.

$$O10/0.1/1 > O10/0.2/2 > M10/0.2/2$$

Disk çaplarındaki pH'a bağlı bu sıralanma, mkNH'lerinin artan NaOH konsantrasyonu ve polimerizasyon süresi ile daha düşük şişme değerlerine sahip hale geldiklerini göstermektedir. 30°C'da hidrojel disk çaplarının pH'a bağlı değişiminin incelendiği bu kısımdan elde edilen bir diğer önemli bulgu, polimerizasyon ortamında TEMED

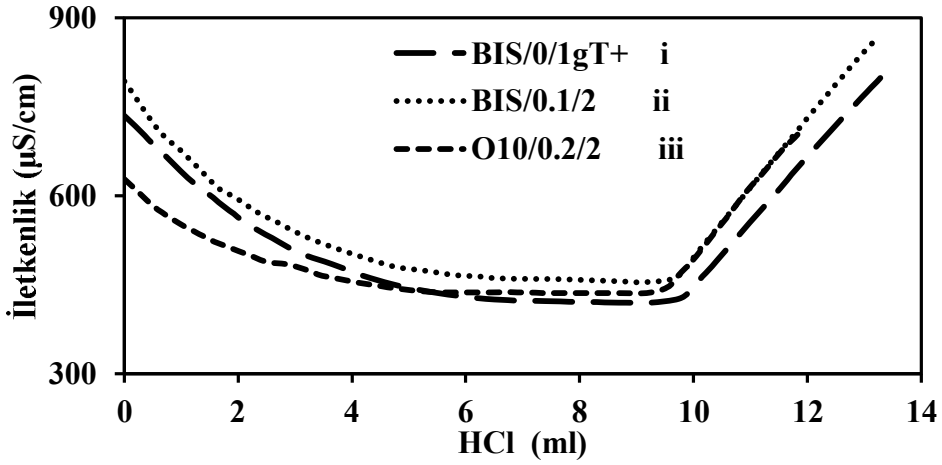
gibi bir polimerizasyon hızlandırıcısının bulunmadığı sentezlerde, polimerizasyon reaksiyonlarının bir haftadan iki haftaya kadar olan süreçte devam ettiği şeklindedir. Şekil 4.6 (b) ve Şekil 4.7 (b) ile verilen deneysel bulgular da bu yorumu destekler niteliktedir. Örneğin, O10/0.1/1 hidrojeli için 30°C V/V_o değeri 19 iken, O10/0.1/2 hidrojeli için aynı sıcaklıktaki V/V_o değeri 2'dir. Bu yorum ayrıca, hidrojellerin sıkıştırma modül-sıcaklık eğrileri ile de desteklenmektedir. Şekil 4.11 (b), O10/0.2/2 hidrojelinde, O10/0.1/1 hidrojeline kıyasla incelenen tüm sıcaklıklarda daha yüksek modül değerleri elde edildiğini göstermektedir.

İlaveten, elde edilen sonuçlar, 0.2N NaOH içerisinde iki haftalık polimerizasyon süresi ile sentezlenen kompozit hidrojellerde, MMT'nin çapraz bağlayıcı olarak ODA-MMT'ye kıyasla daha yüksek aktiviteye sahip olduğunu, ayrıca polimerizasyon hızlandırıcısı olarak da görev yapan NaOH'in konsantrasyonundaki artışın PNIPAAm/ODA-MMT hidrojellerinde polimerizasyon reaksiyonu üzerine pozitif etkisi olduğunu göstermektedir.

4.1.3. Kondüktometrik Titrasyonlar ile Yapı Analizi

Tanaka ve arkadaşları tarafından literatüre sunulmuş olan bir çalışmada, alkali reaksiyon ortamında sentezlenmiş poli(akrilamit) (PAAm) hidrojellerindeki amit gruplarının, karboksil iyonları oluşumu ile sonuçlanan bir hidrolize uğradığı belirtilmiştir [316]. Çalışmada, PAAm hidrojellerinin hacim faz geçiş davranışlarının, alkali sentez ortamında gerçekleşen hidroliz reaksiyonlarının sonucu olarak, AAm/AA (akrilik asit) hidrojelleri ile benzer hale geldiği bulgusuna da ulaşılmıştır. Polimerizasyon ortamında bulunan TEMED'in, PAAm hidrojelleri üzerine hidroliz edici etkisinin bulunup bulunmadığının araştırıldığı bir diğer literatür çalışmasında, serbest radikal katılma polimerizasyonu yoluyla TEMED varlığında ve yokluğunda sentezlenmiş PAAm hidrojellerinin şişme denge değerleri kıyaslamalı olarak incelenmiştir. Çalışmada, polimerizasyon ortamında bulunan TEMED'in sentez süresine bağlı olarak artan bir PAAm hidrolizine sebep olduğu ifade edilmektedir. Aynı çalışmada, NIPAAm molekülüne izopropil grubu tarafından kazandırılan ilave kararlılığın bir sonucu olarak, PNIPAAm yapısında bu tip bir hidrolizin gerçekleşme olasılığının oldukça zayıf olduğu da vurgulanmıştır [317,318].

Bu tez çalışmasında ise, BIS ya da inorganik çok fonksiyonlu kil yapılar olan MMT, ODA-MMT veya LP-RD ile çapraz bağlanmış geleneksel ve kompozit PNIPAAm hidrojelleri, NaOH çözeltileri içerisinde ve literatür çalışmalarında belirtilen prosedürlere kıyasla oldukça uzun sayılabilecek reaksiyon süreleri ile sentezlenmişlerdir. Bu sebeple, literatüre ilk defa sunulmuş olan KPS/NaOH başlatıcı/hızlandırıcı çifti ile gerçekleştirilen sentezlerde, NIPAAm ve BIS moleküllerindeki amit gruplarının bir miktar yapısal hidrolize uğrayarak –COOH gruplarına dönüşmüş olabilecekleri gözönünde bulundurulmuş, olası hidroliz varlığını tespit etmek amacıyla, seçilen hidrojel örneklerde, fonksiyonel grup (-COOH) miktarını belirlemek amacıyla kondüktometrik geri titrasyonlar gerçekleştirilmiştir.
Kontrol hidrojeli olarak seçilen, DDS içerisinde TEMED varlığında ve 1 günlük reaksiyon süresi ile sentezlenmiş BIS/0/1gT+ hidrojeli (i) ile, 0.1N NaOH içerisinde 2 haftalık reaksiyon süresi ile sentezlenmiş BIS/0.1/2 (ii) ve 0.2N NaOH içerisinde 2 haftalık reaksiyon süresi ile sentezlenmiş O10/0.2/2 hidrojellerinin (iii) kondüktometrik titrasyon eğrileri Şekil 4.13 ile verilmiştir.



Şekil 4.13 : BIS/0/1gT+, BIS/0.1/2 ve O10/0.2/2 hidrojellerinin kondüktometrik titrasyon eğrileri.

Titrant (0.01N HCl) hacmine karşılık iletkenlik değerlerinin takip edildiği kondüktometrik titrasyon prosesinden elde edilen veriler ile oluşturulmuş eğriler iki dönüm noktası göstermektedir. İlk ve ikinci dönüm noktaları sırasıyla, titrasyon ortamındaki serbest NaOH'in ve ağyapı içerisindeki karboksilat gruplarının tam nötralizasyonlarına karşılık gelmektedir. Eğriler üzerindeki ilk ve ikinci dönüm noktaları arasında kalan bölgeye karşılık gelen iletkenlik değerleri ise, ağyapıdaki karboksilat gruplarının nötralize olduğu titrasyon süreci boyunca hemen hemen sabit kalmaktadır. BIS/0/1gT+, BIS/0.1/2 ve O10/0.2/2 hidrojellerinin karboksil grubu

miktarları, HCl sarfiyatı - iletkenlik eğrilerinin ilk ve ikinci dönüm noktaları arasında kalan sarfiyat değerlerinden yararlanılarak Eşitlik 3.6 yardımıyla hesaplanmıştır.

Eşitlik 3.6 ile hesaplanan kondüktometrik geri titrasyon sonuçları, ikinci bir hesaplama prosedürü takip edilerek (Eşitlik 4.4 ve 4.5) tekrarlanmış ve sonuçların doğrulukları teyit edilmiştir.

$$n_{NaOH\,(başlangıç)} - n_{NaOH\,(serbest)} = n_{NaOH\,(COOH\,grupları\,için\,harcanan)} \tag{4.4}$$

$$\frac{(V_{NaOH}\,x\,C_{NaOH}) - (V_{HCl,i}\,x\,C_{HCl})}{m} = n_{NaOH}\,/\,g\,hydrogel \tag{4.5}$$

Eşitliklerde, V_{NaOH} ve C_{NaOH}, ağyapı içerisindeki -COOH gruplarını nötralize etmek için kullanılan NaOH çözeltisinin sırasıyla hacim ve konsantrasyonunu ifade etmektedir. m, geri titrasyonu gerçekleştirilen hidrojel örneğin gram biriminde kütlesidir.

Çizelge 4.3 : mgNH'leri ve mkNH'lerinde karboksil grubu miktarları.

Örnek	**ΔV (ml)**	**n_{COOH} /g hidrojel (Eşitlik 3.6)**	**n_{NaOH} /g hidrojel (Eşitlik 4.5)**
BIS/0/1gT+	5.80	$5.80x10^{-4}$	$6.25x10^{-4}$
BIS/0/2	6.12	$6.12x10^{-4}$	$6.42x10^{-4}$
BIS/0.1/2	6.70	$6.70x10^{-4}$	$7.05x10^{-4}$
BIS/0.2/2	7.75	$7.75x10^{-4}$	$7.20x10^{-4}$
O10/0.2/2	6.75	$13.5x10^{-4}$	$14.3x10^{-4}$

Çapraz bağlayıcı olarak ağırlıkça %10 (3.10×10^{-2} mol/L) ODA-MMT veya 1.50×10^{-2} mol/L BIS'in çapraz bağlayıcı olararak kullanıldığı hidrojeller için, Eşitlik 3.6 ve Eşitlik 4.5 ile hesaplanan -COOH grubu miktarları Çizelge 4.3'de verilmiştir. Buna göre incelenen hidrojellerde -COOH grubu miktarlarının

BIS/0/1dT+ < BIS/0/2 < BIS/0.1/2 < BIS/0.2/2 < O10/0.2/2

sırasında arttığı bulgusuna ulaşılmıştır. Bu sonuç, KPS/NaOH çözücü sistemi içerisinde iki haftalık polimerizasyon süresiyle sentezlenen mgNH'lerinde düşük miktarda hidrolizin gerçekleşmiş olduğunu göstermiştir. PNIPAAm/ODA-MMT hidrojelinde, kondüktometrik geri titrasyon ile belirlenen COOH grubu miktarının

DDS, 0.1N ve 0.2N NaOH çözeltilerinde sentezlenen PNIPAAm/BIS hidrojellerinden daha yüksek olduğu da bulgular arasındadır. PNIPAAm/ODA-MMT hidrojelindeki yüksek -COOH grubu miktarının, sentez çözücüsü olarak 0.2N NaOH kullanılmasından çok, ağyapıda inorganik çok fonksiyonlu ODA-MMT tabakalarının bulunmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Daha önce de ifade edildiği gibi, pH>6-6.5 bölgesinde MMT ve ODA-MMT tabakalarındaki Si-OH gruplarından proton ayrılması sonucu $Si\text{-}O^-$ gruplarının oluşması muhtemeldir. Kondüktometrik geri titrasyonların ilk adımında, ağyapıdaki -COOH gruplarının tam iyonizasyonunu sağlamak için kullanılan 0.005N NaOH çözeltisinin pH değeri ise ~pH11.7'dir. Dolayısıyla, O10/0.2/2 hidrojelinde bir miktar NaOH ağyapıdaki -COOH gruplarının iyonizasyonu için harcanırken bir miktar NaOH'ın da Si-OH gruplarının iyonizasyonu için harcanması beklenir. Titrasyon eğrilerinin ilk ve ikinci dönüm noktaları arasında kalan bölgede harcanan HCl ise, $-COO^-$ ve $Si\text{-}O^-$ gruplarının nötralizasyonunu gerçekleştirmek için kullanılır.

Seçilen mgNH ve mkNH'lerinde -COOH grubu varlığının ve miktarının belirlenmesi amacıyla gerçekleştirilen kondüktometrik geri titrasyon deneylerinin uygulama doğruluklarını test etmek amacıyla, ilave bir kontrol deneyi grubu olarak, farklı çalışmalar kapsamında [319] sentezlenmiş PNIPAAm/itakonik asit (IA) hidrojellerinin kondüktometrik titrasyonları da gerçekleştirilmiştir. Bu kontrol deneylerinde, komonomer olarak %5 mol IA içeren, $1.25x10^{-2}$mol/L ve $2.5x10^{-2}$mol/L BIS ile çapraz bağlanmış hidrojeller kullanılmıştır. PNIPAAm/IA hidrojellerinin kondüktometrik geri titrasyonları bu tez çalışması kapsamında sentezlenmiş hidrojellere uygulanan geri titrasyonlarla eşdeğer koşullarda gerçekleştirilmiştir. Bilinen IA içeriğine sahip hidrojeller ile gerçekleştirilen kontrol deneylerinden elde edilen sonuçlar, PNIPAAm/ODA-MMT ve PNIPAAm/BIS hidrojelleri için elde edilmiş sonuçları doğrulamıştır.

4.1.4. FTIR Spektrumları

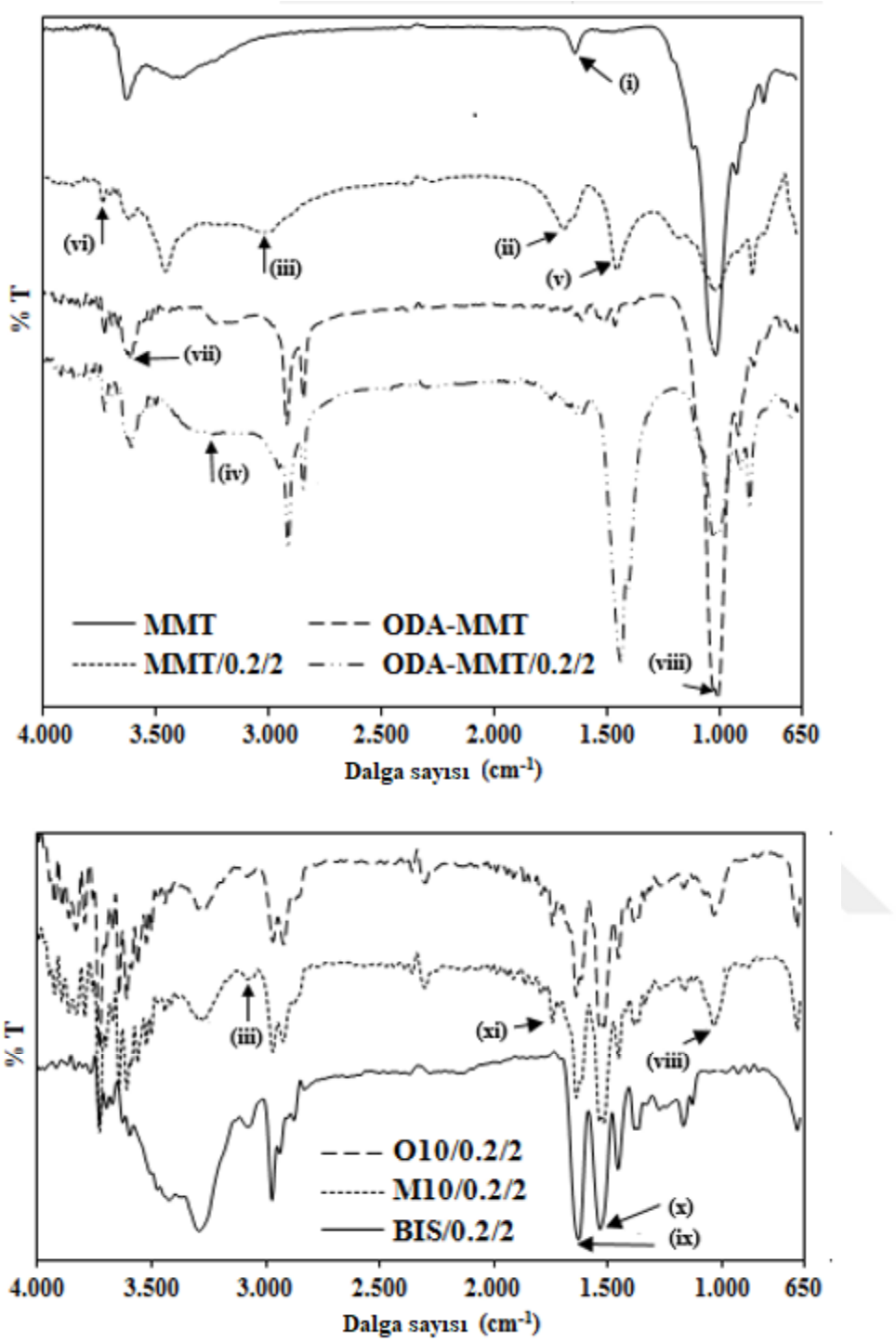
Bu tez çalışmasında sentezlenen modifiye geleneksel ve modifiye kompozit PNIPAAm hidrojellerinden (Çizelge 3.2) seçilen örneklerin FTIR analizleri yapılarak, 0.1N ve 0.2N NaOH çözeltilerinin, mkNH'lerinin sentezinde çapraz bağlayıcı bileşen olarak kullanılan inorganik çok tabakalı kil yapılar üzerine etkileri ve ağyapılardaki temel yapısal grupların varlığı belirlenmeye çalışılmıştır.

FTIR analizleri gerçekleştirilen hidrojel örnekleri oda sıcaklığında sabit tartıma kadar kurutulmuş, ardından mekanik öğütme ile analize hazır hale getirilmişlerdir. 0.2N NaOH içerisinde (%10 ağırlıkça) 17 saat süre ile manyetik karıştırma yoluyla hazırlanmış MMT/0.2/2 ve ODA/0.2/2 dispersiyonları ise (Şekil 4.10), seçilen en uzun polimerizasyon süresi olan iki hafta boyunca atmosferik koşullarda bekletilmiş, ardından santrifüjlenerek kurutulmuş ve FTIR analizlerine hazır hale getirilmişlerdir.

Kil mineralojisi ve kristal yapısının belirlenmesi için en uygun analitik yöntemlerden biri olan IR spektroskopisi, çok tabakalı kil yapılardaki kimyasal kompozisyon, eşbiçimli yerdeğiştirmeler ve tabakaların yığışma durumu hakkında bilgi verir. [320]. Örneğin, inorganik çok tabakalı killerde, tabakalar arasında bulunan değişebilen katyonlar, oldukça düşük frekanslarda ve uzak IR bölgede (50-150 cm^{-1}) absorpsiyon pikleri oluştururlar. Bununla birlikte, sadece susuz kil yapılardaki düşük hidrasyon enerjisine sahip katyonlar bu düşük frekans bölgesinde belirgin bir spektrum oluşturabilirler [321]. Bu tez kapsamında sentezlenmiş mgNH ve mkNH'lerinden seçilen örnekler ile orijinal ve modifiye edilmiş killere ait FTIR spektrumları, önemli absorpsiyon pikleri oklarla işaretlenmiş ve parantez içindeki romen rakamlarıyla belirtilmiş olarak Şekil 4.14'de, çeşitli bağların titreşim frekansları ile ilgili literatüre sunulmuş bazı veriler ise Çizelge 4.4'de verilmiştir.

Şekil 4.14 (a) ile verilen MMT spektrumunda 3400cm^{-1} ve 1640cm^{-1}'deki absorpsiyon pikleri su moleküllerinin sırasıyla gerilme ve eğilme titreşim bantlarını işaret etmektedir. MMT ile gösterilen orijinal kil örneğinde 1640cm^{-1}'de gözlenen pik (i), MMT/0.2/2 örneğinde kil tabaka uçlarındaki/yüzeylerindeki -OH grupları ile H_2O molekülleri arasında kurulan hidrojen bağları sebebiyle 1690cm^{-1} noktasına (ii) kaymış ve 3000cm^{-1}'de (iii) yine hidrojen bağları varlığının göstergesi olan yeni bir -OH gerilme titreşim bandı ortaya çıkmıştır.

ODA-MMT ve ODA-MMT/0.2/2 örneklerinde, serbest su moleküllerine ait gerilme ve titreşim bant şiddetleri, bu iki yapının hidrofobik karakteri sebebiyle belirgin derecede düşüktür. Bununla birlikte, 3200cm^{-1}'de gözlenen geniş bant (iv), birbirleriyle hidrojen bağları aracılığıyla etkileşim halinde bulunan -OH gruplarının varlığını göstermektedir.



Şekil 4.14 : MMT, MMT-0.2, ODA-MMT ve ODA-MMT-0.2 örneklerine ait FTIR spektrumları.

MMT/0.2/2 ve ODA-MMT/0.2/2 spektrumlarında 1440cm^{-1}'de gözlenen keskin bant (v) ise, 0.2N NaOH çözeltisi içerisinde hazırlanan kil dispersiyonlarının 17 saatlik mekanik karıştırmanın ardından atmosferik koşullarda bekletilmesi sebebiyle oluşmuş karbonat türlerine (kalsit-$CaCO_3$, magnesit-$MgCO_3$ ve/veya siderit-$FeCO_3$) aittir. Ca, Fe ve Mg iyonları içeren sulu çözeltilerde, kalsit, magnesit ve siderit türlerinin

oluşumu, CO_2'in karbonik asit (H_2CO_3) oluşturmak üzere suda çözünmesi ile başlar. Karbonik asit dissosiasyonu ile karbonat türlerinin oluşumunu açıklayan reaksiyon basamakları aşağıdaki şekildedir.

$$CO_2(g) \rightleftharpoons CO_2(aq)$$
$$CO_2(aq) + H_2O \rightleftharpoons H_2CO_3(aq)$$
$$H_2CO_3(aq) \rightleftharpoons HCO_3^-(aq) + H^+(aq)$$
$$HCO_3^-(aq) \rightleftharpoons CO_3^{2-}(aq) + H^+(aq)$$

$$HCO_3^-(aq) + Ca^{2+}(aq) \rightleftharpoons CaCO_3(k) + H^+(aq)$$
$$HCO_3^-(aq) + Mg^{2+}(aq) \rightleftharpoons MgCO_3(k) + H^+(aq)$$
$$HCO_3^-(aq) + Fe^{2+}(aq) \rightleftharpoons FeCO_3(k) + H^+(aq)$$

2850cm^{-1} ve 2910cm^{-1}'de gözlenen iki keskin bant ODA yapısındaki sırasıyla metilen (-CH_2-) ve metil (-CH_3) grupları grupları üzerindeki C-H gerilme titreşimleridir. MMT, ODA-MMT, MMT/0.2/2 ve ODA-MMT/0.2/2 örneklerinin 3720cm^{-1} (vi) ve 920cm^{-1} noktalarında sırasıyla kil yüzeyindeki ve Al-Al-OH yapısındaki -OH gruplarının gerilme ve eğilme titreşim bantları mevcuttur. 3620cm^{-1} yakınında (vii) tetrahedral ve oktahedral tabakalardaki iç hidroksil gruplarına ait titreşim bantları da görülmektedir.

MMT ve ODA-MMT'nin tetrahedral tabakalarındaki Si-O gerilme titreşimlerine ait bant şiddeti (1020cm^{-1}) (viii), tetrahedral tabakadaki Si atomlarıyla kuvvetle etkileşen ve bu atomları yapıdan uzaklaştıran NaOH çözeltileri ile muamele edilmiş smektitlerde (MMT/0.2/2 ve ODA-MMT/0.2/2) oldukça azalmıştır [322]. İnorganik çok tabakalı kil yapılar, mikrodalga [323] ya da ısıl muamele [324] gibi fiziksel yöntemler veya bir asit, baz ya da organik çözücü ile muamele etme gibi kimyasal uygulamalarla modifiye edilebilirler. Modifikasyon, yüzeye bağlı fonksiyonel grupların ayrılması, yüzey alanının değişmesi veya kimyasal ya da kristal yapıdaki değişiklikler şeklinde gerçekleşebilir [325]. İnorganik çok tabakalı kil yapıların kimyasal modifikasyonları ile ilgili olarak literatüre sunulmuş olan bazı çalışmalarda, smektit yapısının asitle muamele edilmesi sonucunda, alkali ve toprak alkali metaller ile demir ve aluminyumun kil mineral yapısından ayrılabileceği ifade edilirken, alkali çözeltiler ile muamelenin, yapıdan silika ayrılmasına sebep olacağı ifade edilmektedir [326,327]. Grim tarafından literatüre sunulmuş olan bir çalışmada [328], MMT'nin

alkali çözeltiler ile muamele edilmesi işleminin ilk basamağında, alkali çözelti tarafından tetrahedral tabakaya bir atak gerçekleşeceği, yeteri kadar uzun ve agresif koşullarda mineral yapının değişebileceği ifade edilmektedir. Ancak yine aynı çalışmada, montmorillonit mineral yapısının tamamen bozulmasından önce yapıdaki toplam aluminyumun %75-85'inin yapıdan ayrılmasının gerekli olduğu da vurgulanmaktadır.

Şekil 4.14 (b)'de sentez çözücüsü ve polimerizasyon hızlandırıcısı olarak kullanılan 0.2N NaOH çözeltisi içerisinde 25ºC'da gerçekleştirilen polimerizasyondan elde edilen mgNH'leri ile mkNH'lerinin FTIR spektrumları verilmiştir. BIS/0.2/2 spektrumunda 1640cm^{-1} (ix), 1550cm^{-1} (x) ve 1385/1370cm^{-1} dalga sayılarında sırasıyla, sekonder amit -C=O gerilme ve -NH eğilme titreşimleri ile izopropil grubuna ait karakteristik ikili bant görülmektedir. mkNH'lerinde de mgNH'lerinin tüm karakteristik bantları görülmektedir. 1050cm^{-1} ve 1750cm^{-1}'de (xi) ortaya çıkmış olan iki yeni bant sırasıyla tetrahedral tabakadaki Si-O dönme titreşimlerini ve karbonil grubu -C=O gerilme titreşimini ifade etmekte olup, M10/0.2/2 ve O10/0.2/2 hidrojellerinde kompozit yapının oluştuğunu, aynı zamanda bir kısım NIPAAm biriminin de bu reaksiyon koşulunda hidroliz olduğunu göstermektedir.

İnorganik çok tabakalı kil yapıların spektrofotometrik analizleri ile ilgili olarak literatüre sunulmuş çeşitli çalışmalarda gözlenen karakteristik absorpsiyon bantları Çizelge 4.4 ile özetlenmiştir.

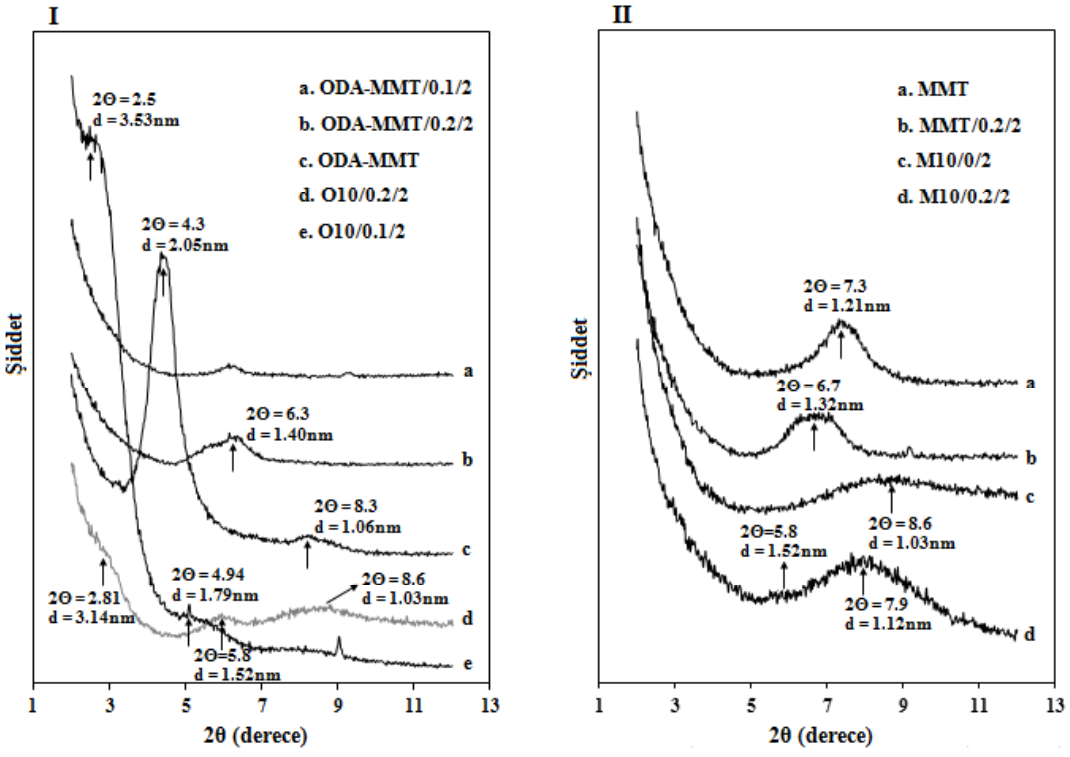
Çizelge 4.4 : Çeşitli bağların titreşim frekansları ile ilgili literatüre sunulmuş bazı veriler.

Dalga sayısı (cm^{-1})	Açıklama	Referans
1630 ve 3400–3500	H_2O titreşim bantları	[329]
450-529	SiO eğilme bandı	[330]
755	SiOAl gerilme bandı	[331]
790	Kristobalit	[332]
793	Tridimit	[330]
795	AlMgOH gerilme	[331]
798	Amorf silika SiO dönme bandı	[333]
841	AlMgOH eğilme bandı	[334]
874	kalsit kaynaklı CO_3 eğilme titreşimi	[333]
882	AlFeOH titreşim bandı	[334]
912	AlAlOH gerilme bandı	[331]
913	Kil tabakalar arası OH grupları titreşim bandı	[335]
920	Al_2OH'da OH eğilme bandı	[336]
936	Kil tabaka yüzeyi OH gruplarına ait titreşim bandı	[335,337]
1033	Tetrahedral tabaka SiO grupları titreşim bandı	[338]
1113	Düzlem dışı SiO gerilme bandı	[330]
1200	Amorf silika SiO titreşim bandı	[332]
1430	CO_3 gerilme bandı	[332,329]
1634	HOH gerilme bandı	[331,335]
1650	HOH eğilme bandı	[339]
3607	AlFeOH gerilme bandı	[335]
1711, 1557 ve 1403	–COO titreşim bandı	[337]
3620, 3653 ve 3695	Yapısal AlOH gerilme titreşim bantları	[339]
3652, 3671 ve 3694	Smektit yüzey hidroksil grupları titreşim bandı	[335]

4.1.5. XRD Spektrumları

Modifiye PNIPAAm/kil hidrojellerinin sentezinde polimerizasyon ortamı ve reaksiyon hızlandırıcısı olarak kullanılan 0.1N ve 0.2N NaOH çözeltilerinin, çapraz bağlayıcı olarak kullanılan inorganik çok tabakalı kil yapıların ve dolayısıyla mkNH'lerinin yapısal özellikleri üzerine etkilerinin incelenmesi amacıyla XRD analizleri gerçekleştirilmiştir. mkNH'lerinden seçilen örnekler, sentezlenmelerinin ardından DDS içerisinde saflaştırılmış, oda sıcaklığında kurutulmuş ve öğütülmüş, 0.1N ve 0.2N NaOH çözeltileri içerinde en uzun sentez süresi olan iki hafta süreyle bekletilerek modifiye edilen kil örnekleri ise bu süre sonunda santrifüjlenerek kurutulmuş ve XRD analizlerine hazır hale getirilmişlerdir.

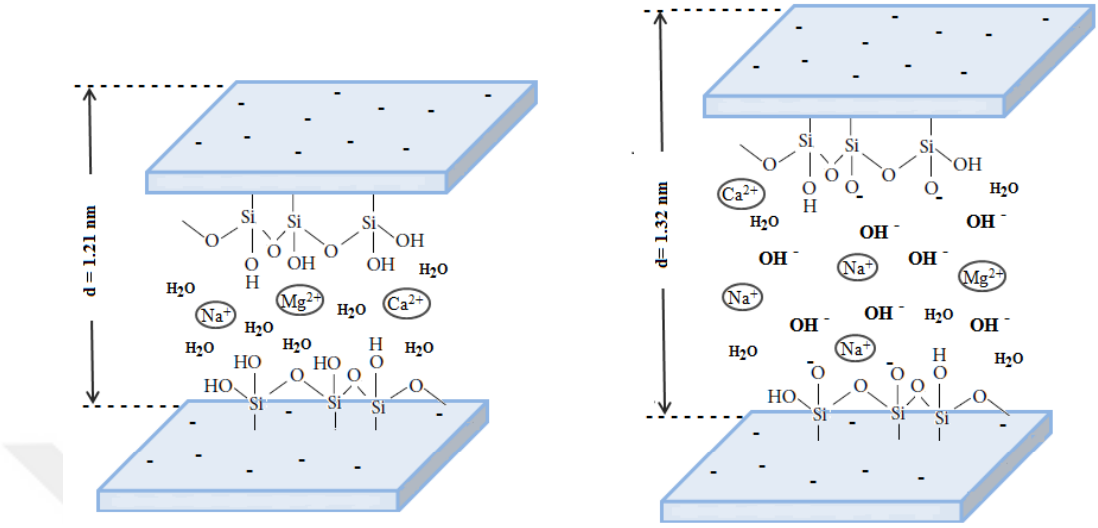
Şekil 4.15'de, orijinal (MMT, ODA-MMT) ve modifiye (ODA-MMT/0.1/2, ODA-MMT/0.2/2, MMT/0.2/2) kil örnekleri ile modifiye killerin çapraz bağlayıcı olarak kullanıldığı mkNH'lerinin XRD spektrumları verilmiştir.



Şekil 4.15 : (I) ODA-MMT, ODA-MMT/0.1/2, ODA-MMT/0.2/2 O10/0.1/2 O10/0.2/2 ve (II) MMT, MMT/0.2/2, M10/0/2, M10/0.2/2 yapılarının XRD spektrumları.

Modifiye killerde, sentez çözücüsü olarak kullanılan NaOH çözeltileri içerisinde bulunan OH^- iyonları ile kil yüzeylerinde NaOH etkisi ile oluştuğu varsayılan OH^-

grupları ($M\text{-}OH + OH^- \rightarrow M\text{-}O^- + H_2O$) arasındaki etkileşimlerin tabakalar arası mesafeleri arttırdığı düşünülmektedir (Şekil 4.16).



Şekil 4.16 : MMT (d =1.21 nm) ve MMT/0.2/2 (d =1.32 nm)'de yüzey grupları ve tabakalar arası katyon etkileşimlerinin şematik gösterimi.

İnorganik çok tabakalı smektitlerde tabakalar arası mesafelere karşılık gelen d_{001} değerleri Bragg yasası eşitliği ile ($n\lambda=2d\sin\theta$) hesaplanmıştır. MMT'de 1.21 nm, ODA-MMT'de ise 2.05 nm ve 1.06 nm olan d_{001} değerleri, MMT/0.2/2, ODA-MMT/0.1/2 ve ODA-MMT/0.2/2'de sırasıyla 1.32 nm, 1.44 nm ve 1.40 nm olarak ölçülmüştür. Ayrıca, $2\theta = 4.3^o$'ye karşılık gelen ODA-MMT bandının (Şekil 4.13 I c), ODA-MMT/0.1/2 ve ODA-MMT/0.2/2 modifiye kil yapılarında $2\theta = 2 - 12^o$ aralığında gözlenemez hale geldiği görülmüştür. Bu durum, MMT ve ODA-MMT'de tabakalar arası mesafelerin NaOH çözeltileri etkisiyle açılmış olduğunu göstermektedir. ODA-MMT'de $2\theta=8.3^o$ (Şekil 4.15 I c) bölgesinde ortaya çıkan düşük şiddetli ikinci pikin ise, ODA grupları ile modifikasyonu gerçekleşmemiş MMT tabakalarından kaynaklandığı düşünülmektedir.

M10/0/2, M10/0.2/2 ve O10/0.2/2 hidrojellerinin, $2\theta = 2 - 12^o$ aralığında alınan XRD spektrumlarında iki önemli bant mevcuttur. Yüksek 2θ değerleri silika tabakalarındaki yığışmaları, düşük 2θ değerleri ise, farklı tabakalar arası mesafelere sahip kil tabakalarının gelişi güzel dağılımını işaret eder [340-343]. Modifiye edilmemiş MMT'nin çapraz bağlayıcı olarak kullanıldığı DDS içerisinde gerçekleştirilen sentezden elde edilmiş M10/0/2 XRD spektrumunun $d \approx 1.1$nm bölgesinde görülen oldukça geniş pik, bir kısım MMT'nin yığışmaya uğradığını ifade ederken, $2\theta \approx 6^o$

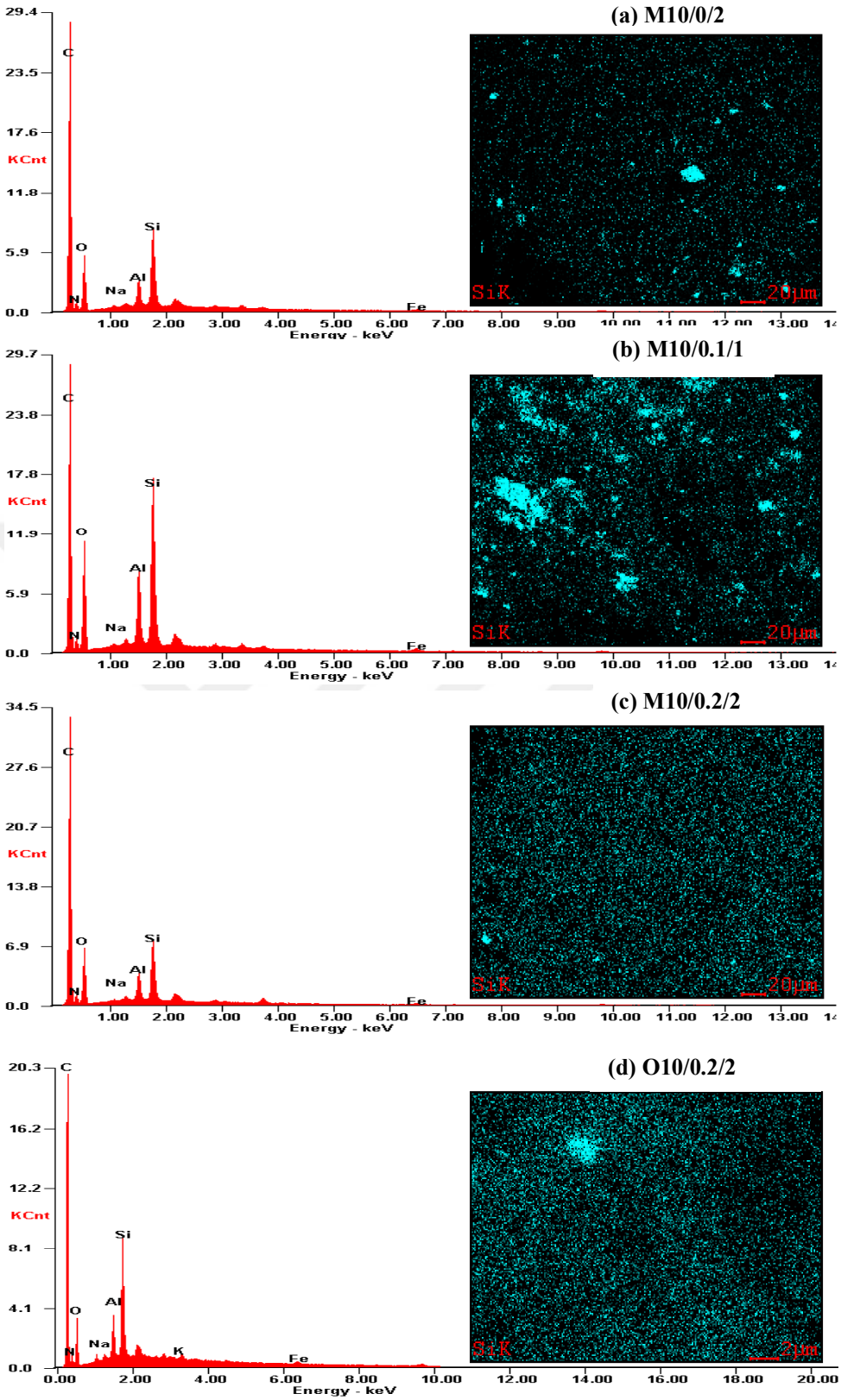
bölgesinde oluşmuş bant homojen şekilde dağılarak çapraz bağlı bir ağyapı oluşturacak etkinliği gösteren MMT tabakalarının varlığını ifade etmektedir. Orijinal ODA-MMT'de (Şekil 4.15 I c) 2θ=4.3°'de ortaya çıkan, ODA-MMT/0.1/2 ve ODA-MMT/0.2/2'de 2θ=2-12° aralığında gözlenemeyen ve PNIPAAm/ODA-MMT örneklerinde (Şekil 4.15 I d,e) yeniden ortaya çıkan sırasıyla 2θ=2.5° ve 2θ=2.81° bantları, modifiye edilmiş kil tabakalarının polimer zincirleri ile bağlandığını ve mofidiye PNIPAAm/ODA-MMT kompozitlerinin oluştuğunu kanıtlamıştır.

Sonuç olarak, 2θ = 5 – 7° aralığında oldukça benzer birer spektrum oluşturan O10/0.2/2 ve M10/0.2/2 hidrojelleri, ağyapılarda gelişigüzel dağılmış kil tabakalarının varlığını göstermiştir. İlaveten, 2θ = 8° bölgesinde görülen geniş bandın ise, PNIPAAm zincirleri üzerindeki hidrofobik izopropil gruplarının etkileşimlerinden kaynaklanan bir yığışma sonucu ortaya çıktığı düşünülmektedir [267].

4.1.6. SEM-EDS Analizleri

Özellikleri değiştirilmiş/iyileştirilmiş PNIPAAm hidrojelleri elde etmek amacıyla gerçekleştirilen, sentez çözücüsü, sentez süresi ve çapraz bağlayıcı modifikasyonlarının inorganik çok tabakalı silikatların ağyapıdaki dağılımları üzerindeki etkilerinin incelenebilmesi amacıyla, mkNH'lerinden seçilen örnekler, SEM-EDS (Energy-dispersive X-ray spectroscopy) analizleri ile incelenmişlerdir. Örnekler oda sıcaklığında sabit tartıma kadar kurutulmalarının ardından öğütülerek analize hazır hale getirilmişlerdir. Şekil 4.17, M10/0/2, M10/0.1/1, M10/0.2/2 ve O10/0.2/2 hidrojellerinde C, N, O, Na, Al, Si ve Fe elementleri için bu elementlerin analiz edilen yüzeydeki miktarlarının bir göstergesi olan pik şiddetlerini ve Si elementi için oluşturulmuş SEM-EDS haritalarını göstermektedir.

M10/0/2, M10/0.1/1, M10/0.2/2 ve O10/0.2/2 hidrojellerine ait SEM-EDS haritaları incelendiğinde, Si ve Al elementlerine ait pik şiddetlerinin tüm mkNH'lerinde hemen hemen aynı değerlerde (~2.0-2.2) olduğu, M10/0.1/1'de ise özellikle silisyumun yüzeydeki birikiminin kıyaslandığı diğer hidrojellere göre daha belirgin olduğu görülmektedir. Bu bulgu, M10/0.1/1 hidrojelinin kıyaslandığı mkNH'lerinden daha heterojen bir yapıya sahip olduğunu gösterir. M10/0/2 ve O10/0.2/2 EDS haritaları, yüzeydeki MMT ve ODA-MMT tabaka yoğunluklarının oldukça yakın olduğunu göstermektedir.



Şekil 4.17 : (a) M10/0/2, (b) M10/0.2/2, (c) O10/0.1/2 ve (d) O10/0.2/2 hidrojellerinde seçili alanlarda Si elementi için SEM-EDS haritaları.

Ancak DDS içerisinde NIPAAm'a kıyasla ağırlıkça %10 oranında modifiye edilmemiş MMT kullanılarak sentezlenen M10/0/2 hidrojelinde bir miktar kil tabakasının yığın

oluşturarak yüzeyde biriktiği de görülmektedir. Bu bulgu Şekil 4.15 II(c) ile verilen XRD analiz sonucunu doğrulamaktadır. O10/0.2/2 yüzeyine ait EDS haritası (Şekil 4.17 (d)), bu hidrojelde silisyum bakımından M10/0/2 ve M10/0.1/1 hidrojellerine kıyasla çok daha homojen bir dağılım olduğunu göstermiş olup, ODA-MMT tabakalar arası mesafelerinin 2.05nm'den 3.14nm'ye arttığı tespitinin yapıldığı XRD analiz sonucu ile de uyumludur (Şekil 4.15 I(d)). İlaveten, O10/0.2/2 ve M10/0.2/2 için 2θ = 5–7^{o} aralığındaki XRD incelemeleri ile Si element haritaları, kil tabakalarında NaOH konsantrasyonuna bağlı olarak artan Si-O^{-} miktarının tabakalar arasındaki mesafeleri arttırdığı, böylece kil tabakalarının PNIPAAm ağyapısına daha homojen şekilde dağılabildiği yorumunu desteklemektedir. Sonuç olarak, incelenen hidrojellerin sıcaklığa bağlı sıkıştırma modül değişimleri ile XRD ve EDS analizleri, 0.2N NaOH çözeltileri içerisinde iki haftalık polimerizasyon süresi ile sentezlenen PNIPAAm/MMT ve PNIPAAm/ODA-MMT hidrojellerinde, kil tabakalarının homojen şekilde dispers olarak homojen mkNH'leri oluşturabildiğini göstermiştir.

4.1.7. Antibakteriyel Özellikler ve Kan Uyumlulukları

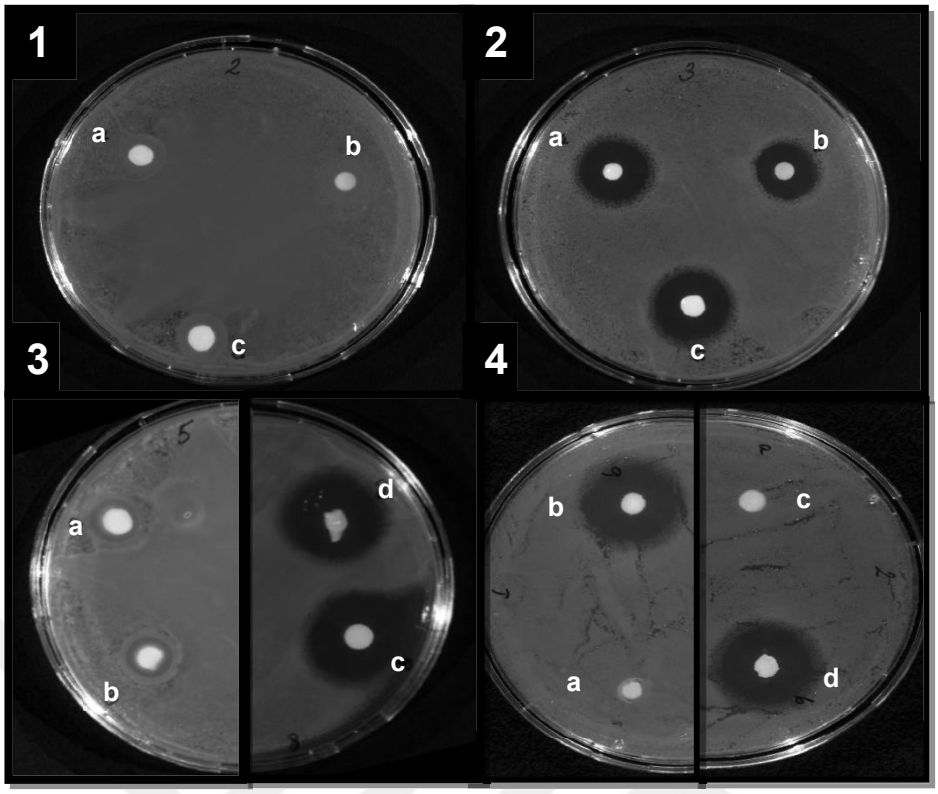
Periferal sinirler, kan damarları [344], kıkırdak [345-347] ve kemik [348] dokular ile, karaciğer [349], cilt [350] ve pankreas [351] gibi organlardaki hasarlı bölümlerin iyileştirilmesi çalışmaları son 20 yıllık doku mühendisliği çalışmalarının odak noktasını oluşturmaktadır. Hasarlı ya da hasta doku ya da organların tedavisinde tercih edilebilecek bir yaklaşım, vücut içi (in vivo) ve vücut dışında (in vitro) doku gelişimini destekleyici üç boyutlu polimerik ağyapılar kullanmaktır. Bu yaklaşımda, kaynağından izole edilmiş hücreler polimerik ağyapı ya da "yapı iskelesi" üzerine yerleştirilir. Bu şekilde, doku ve organları oluşturmak üzere gelişen ve organize olan hücreler için üç boyutlu bir şebeke oluşturulur [352,353].

APS ve TEMED varlığında, serbest radikal çözelti polimerizasyonu yöntemi ile sentezlenmiş PNIPAAm/BIS hidrojelinin sığır eklem kıkırdağı dokusu gelişimini destekleyici bir ağyapı olarak kullanımı araştırılmıştır [354]. Hücre histolojisi ve hücre canlılığı test sonuçları, DDS içerisinde ve oda sıcaklığında sentezlenmiş PNIPAAm/BIS hidrojelinin, doku mühendisliği çalışmalarında enjekte edilebilir bir polimer yapı iskelesi olarak önemli potansiyele sahip olduğunu göstermiştir. PNIPAAm hidrojel filmlerin hücre kültürü çalışmalarında kültür tabağı kaplama malzemesi olarak ve üzerinde memeli hücre gelişiminin sağlanacağı poröz

membranlar olarak kulanılabileceği de çeşitli literatür çalışmaları ile vurgulanmıştır [355]. Bir diğer çalışmada ise, inkübasyon ortamında hidroksil radikalleri varlığının *E. coli* üzerindeki antibakteriyel etkileri vurgulanmıştır [356].

Tetrahedral ve oktahedral tabakalardan oluşan bir alümina silikat yapısı olan Na-MMT, aynı zamanda antimikrobiyal bir taşıyıcı olarak yara örtülerinde, kan pıhtılaştırıcı sistemlerde ve cilt temizleyici ürünlerde de kullanılmaktadır [357-361]. Ancak, yapısında Al ve Si bulunan doğal Na-MMT, gümüş, bakır veya çinko ile modifiye edilmiş MMT'lere kıyasla antibakteriyel özellikler bakımından daha zayıftır [362].

Çizelge 3.2 ile verilen hidrojellerden seçilen örneklerin, GS varlığında ve yokluğunda oluşturdukları inhibisyon alanları ile 37°C'daki sıkıştırma modül değerleri Çizelge 4.5'de verilmiştir. Hidrojeller için yüksek sıkıştırma modül değerleri, yüksek çapraz bağ yoğunluğunu işaret eden önemli bir parametredir [363]. Çizelge 4.5 ve Şekil 4.18 (2b), 0.1N NaOH içerisinde sentezlenmiş mgNH'nin kıyaslandığı hidrojellere göre en yüksek sıkıştırma modül değeri ile birlikte en düşük inhibisyon alanına sahip olduğunu göstermektedir. Bu sonuç, KPS/0.1N NaOH başlatıcı/hızlandırıcı çiftinin yüksek etkinliğinden kaynaklanmış olabilir. BIS/0.1/1 hidrojelinde 0.1N NaOH etkisiyle oluştuğu varsayılan hidroksil sonlu zincirlerin hidrojen bağları aracılığıyla ilave fiziksel çapraz bağlanmalar oluşturduğu, böylelikle ağyapıdan GS salımını zorlaştırdığı, bunun sonucu olarak ise daha küçük bir inhibisyon alanı oluştuğu düşünülmektedir. Sentez çözücüsü içerisindeki hidroksil iyonu konsantrasyonunun 0.1N'den 0.2N'e artmasıyla, hidroksil grupları ile sonlanmış PNIPAAm zinciri sayısının da arttığı Şekil 4.5 ile verilmiş analiz test sonuçları ile gösterilmiştir. Zincir uçlarındaki -OH grupları, zincirler arası hidrojen bağları oluşturmak yerine H_2O molekülleri ile etkileşebilir ve bunun sonucu olarak şişme dereceleri yükselir, sıkıştırma modül değerleri ise düşer (Şekil 4.5). Buna bağlı olarak GS'in ağyapıdan ayrılması kolaylaşır ve daha yüksek bir inhibisyon alanı oluşur.



Şekil 4.18 : GS yüklü ve GS yüklenmemiş mgNH'leri ile mkNH'lerinin *E.coli*'ye karşı oluşturdukları inhibisyon alanları.

Aynı Si/Al bileşimine sahip smektit yapılar kullanılarak, farklı çözücüler içerisinde (DDS ve 0.2N NaOH) sentezlenen GS yüklenmiş mkNH'lerinin antibakteriyel aktiviteleri arasında belirgin bir fark gözlenememiştir. Ancak, MMT ve 0.2N NaOH ile modifiye edilmiş MMT'nin çapraz bağlayıcı olarak kullanıldığı GS yüklenmemiş mkNH'lerinde ise (Şekil 4.18 petri (3a) ve (3b), *E.coli*'ye karşı bir miktar antibakteriyel aktivitenin varlığı tespit edilmiştir [359,364]. Bu hidrojellerin GS yüklenmiş örnekleri de, karşılık gelen BIS ya da ODA-MMT ile çapraz bağlanmış PNIPAAm hidrojellerine kıyasla, 37ºC sıkıştırma modüllerinden bağımsız olarak, daha yüksek inhibisyon alanları oluşturmuşlardır. Na-MMT ve ODA-MMT'nin çapraz bağlayıcı olarak kullanıldığı GS yüklenmiş mkNH'lerinde, mgNH'lerine kıyasla daha yüksek inhibisyon alanlarının oluşması, smektit yapıların PNIPAAm hidrojellerinin antibakteriyel aktivitesini bir miktar yükselttiği şeklinde yorumlanmıştır.

Çizelge 4.5 : mgNH'leri ile mkNH'lerinin inhibisyon alanları ve inhibisyon sıcaklığındaki sıkıştırma modülü değerleri.

Petri	Örnek kodu	Hidrojel	GS	Zon alanı (mm^2)	37ºC'daki Sıkıştırma Modülü (kPa)
1	a	BIS/0/1	-	0.0	29.5
	b	BIS/0.1/1	-	0.0	156.5
	c	BIS/0.2/1	-	0.0	4.5
2	a	BIS/0/1	+	238.9	-
	b	BIS/0.1/1	+	172.4	-
	c	BIS/0.2/1	+	249.9	-
3	a	M10/0/2	-	52.1	3.3
	b	M10/0.2/2	-	43.6	185.2
	c	M10/0/2	+	340.7	-
	d	M10/0.2/2	+	331.1	-
4	a	O10/0.1/2	-	0.0	179.0
	b	O10/0.1/2	+	302.0	-
	c	O10/0.2/2	-	0.0	142.5
	d	O10/0.2/2	+	269.8	-

Özellikle biyolojik uygulamalarda kullanılması planlanan yeni hidrojel malzemelerin tasarımında temel amaç, bu malzemeleri biyolojik sistemler ile uyumluluğu en yüksek şekilde elde edebilmektir.

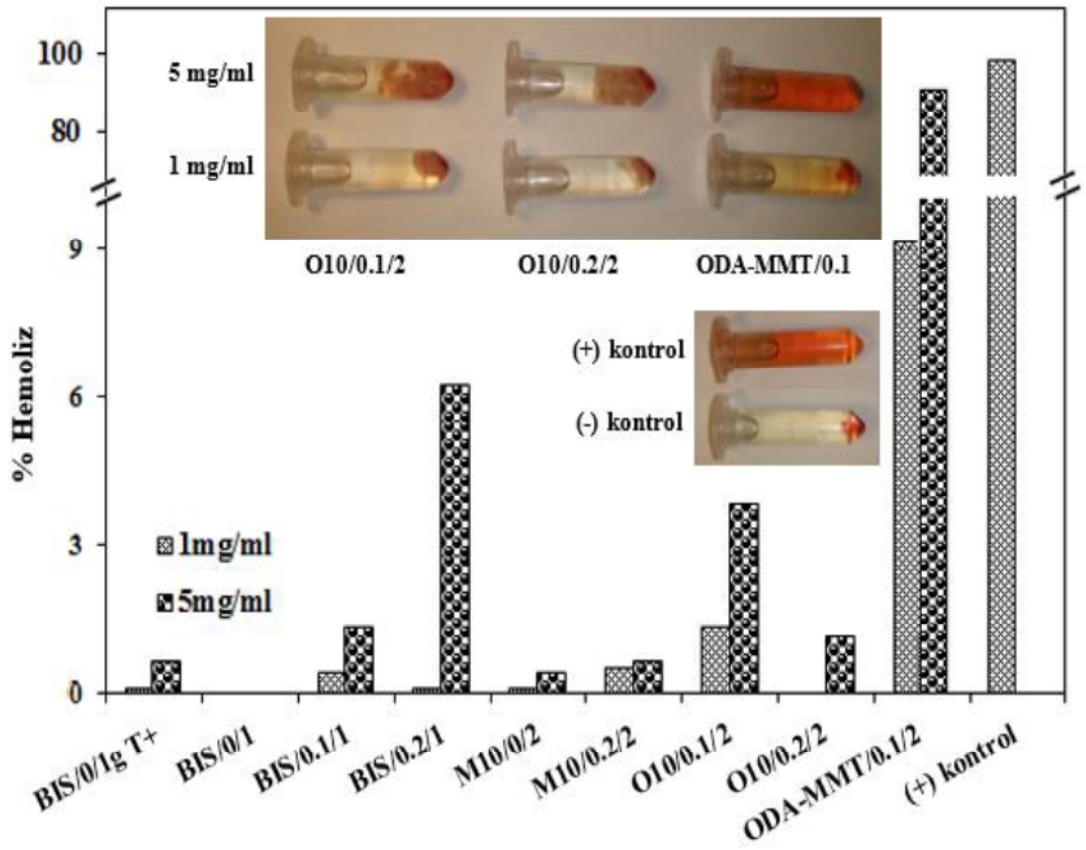
Kan ile temas halinde bulunan sentetik malzemeler eritrosit hücre duvarlarının tahribatına sebep olabilecekleri gibi, malzeme yüzeyinde kan pıhtılaşması ya da trombüs oluşumu gibi çeşitli hücre reaksiyonlarını da tetikleyebilirler [365,366]. Hemoliz, eritrositlerin hasar görmesi olarak tanımlanır. Bir malzemenin hemolitik potansiyeli ise, kan ile teması halinde bu malzemenin sebep olacağı hemolizin bir ölçüsüdür.

Kardiyovasküler implantlar, kateterler, tıbbi mebranlar ve diğer tıbbi/biyolojik malzemeler için kan uyumluluğu birincil öneme sahip bir özelliktir. Aksi halde, malzeme yüzeyinde koagülasyon ya da doku-malzeme arası olumsuz etkileşimlerden kaynaklanan bağışıklık sistemi reaksiyonları gözlenebilir [367]. Kan-biyomalzeme uyumluluğunun kanıtlanmasında en önemli nokta, malzemenin kan uyumluluğunun

deneysel olarak kanıtlanabilmesidir. Kan uyumluluğu yüksek malzemelerin, kan proteinleri ve trombositler ile etkileşimleri zayıf ve yerleştirildikleri dokular ile biyolojik uyumları daha yüksek olacaktır.

Bu çalışmada, biyolojik bir membran sistemi olarak, sağlıklı yetişkin insan eritrositleri kullanılmıştır. Şekil 4.19, 37°C'da 180 dakika süreyle gerçekleştirilen inkübasyonun ardından, hidrojellerle temas halinde bulunan eritrositlerin % hemoliz oranlarını göstermektedir. Şekil içerisindeki fotoğraflar, test örneklerinin inkübasyon ve santrifüjleme sonrası dijital fotoğraflarıdır. Çözeltideki kırmızı renk, eritrosit tahribatı ve bunun sonucu olarak hücre dışına hemoglobin çıkışını ifade etmektedir.

0.2N NaOH içerisinde sentezlenmiş BIS/0.2/1 hidrojeli dışındaki tüm örneklerin, kabul edilebilir seviye olan %5'in altında hemoliz oranlarına sahip oldukları görülmektedir [368]. BIS/0.2/1 kodlu hidrojelde gözlenen yüksek hemolitik aktivite ise sadece 5mg/ml'lik yüksek hidrojel konsantrasyonunda gözlenmiştir.



Şekil 4.19 : gNH'i (BIS/0/1g T+), mgNH'leri ve mkNH'leriyle inkübasyonun ardından eritrosit hemoliz oranları.

Tez çalışmasının bu bölümünde yapılan deneylerde öne çıkan bir diğer önemli nokta, 0.1N NaOH çözeltisi içerisinde iki hafta süreyle muamele edilen ODA-MMT çok

tabakalı kil yapısının (ODA-MMT/0.1/2), her iki konsantrasyonda da belirgin bir hemolitik aktivite göstermiş olmasıdır (1mg/ml - %9.6 ve 5mg/ml - %95). Bu durum, hidrofobik özellikli ODA grupları ile hücre zarı etkileşimlerinden kaynaklanabileceği gibi, kil tabakalarının yüzeylerinde -OH gruplarının varlığından da kaynaklanabilir [369,370]. Tek başına güçlü bir hemolitik aktiviteye sahip olan ODA-MMT/0.1/2'nin çapraz bağlayıcı olarak kullanıldığı mkNH'lerinde gözlenen düşük hemoliz yüzdeleri (O10/0.1/2'de %1.3 ve %3.8, O10/0.2/2'de %0.0 ve %1.1), ağyapı içerisine giren ODA-MMT'nin hemolitik aktivitesinin kabul edilebilir seviyelere indiğini göstermektedir.

Çalışmanın bu bölümünde incelenmiş olan modifiye geleneksel ve modifiye kompozit PNIPAAm hidrojelleri, %5'den daha düşük hemoliz oranlarına sahiptir (5mg/ml konsantrasyonunda BIS/0.2/1 hariç) ve bu hidrojellerin yüksek kan uyumluluğuna sahip olduklarını söylemek mümkündür.

4.2. mgkNH, mkkNH ve m(IPN)kNH'lerinin Mekanik, Antibakteriyel ve Kan Uyumluluk Özellikleri ile pH'a Bağlı Şişme, Dinamik Şişme ve İlaç Salım Davranışlarının İncelemesi

Tez çalışmasının ikinci kısmını oluşturan bu bölümde, mgNH ve mkNH'lerinin başta şişme ve ilaç salım davranışları olmak üzere, antibakteriyel ve kan uyumluluk özellikleri ile mekanik özelliklerinin değiştirilmesi/iyileştirilmesine çalışılmıştır. Bu amaçla, çalışmanın ilk bölümünde sentezlenmiş mgNH ve mkNH'lerine, her biri birer NIPAAm türevi olan üç farklı komonomer temel bileşen olan NIPAAm'a göre %2.5 mol oranında ilave edilerek, modifiye geleneksel kopolimer PNIPAAm hidrojelleri (mgkNH) ve modifiye kompozit kopolimer PNIPAAm hidrojelleri (mkkNH) sentezlenmiştir. Çalışmada kullanılan komonomerler, pH'a bağlı olarak iyonize olabilen DMAPMAAm, kuvvetli katyonik MAPTAC ve zwitteriyonik bir yapı olan SBMAAm'dir. Tez çalışmasının ilk bölümünde gerçekleştirilen mkNH'lerinin sıcaklığa bağlı sıkıştırma modül ve V/V_o ölçümlerinde, fizyolojik sıcaklık olan 37°C'daki yüksek sıkıştırma modül değerleri ve 30°-45°C aralığındaki büzülme davranışları bakımından PNIPAAm/ODA-MMT hidrojelleri öne çıkmaktadır. Bundan yola çıkılarak, mkkNH'lerinin sentezinde inorganik çapraz bağlayıcı olarak, hidrofobik olarak modifiye edilmiş ODA-MMT kullanılmıştır. Ayrıca mekanik özellikler bakımından yeterli değişmenin/iyileşmenin sağlanamadığı mkkNH'leri,

modifiye tam-IPN kopolimer PNIPAAm hidrojelleri (m(IPN)kNH) şeklinde sentezlenmiştir.

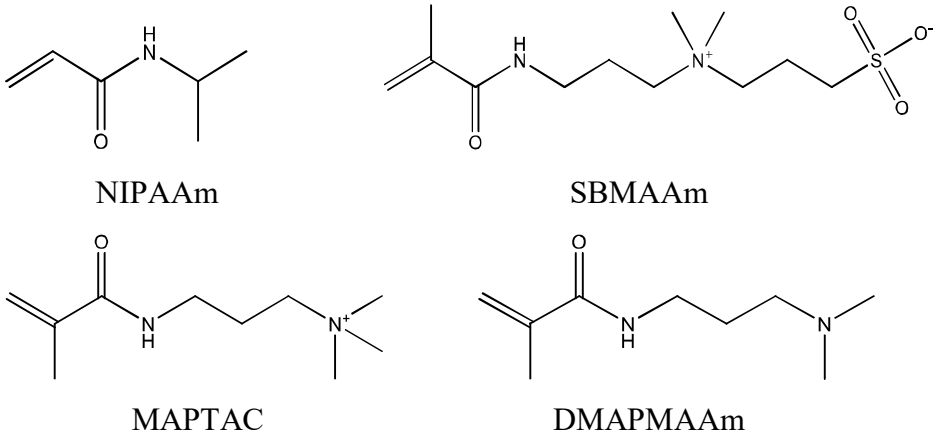
Her bir mgkNH, mkkNH ve m(IPN)kNH'i, sentez çözücüsü, sentez süresi, polimerizasyon başlatıcı/hızlandırıcı çiftleri ve çapraz bağlayıcı bileşen bakımından, çalışmanın ilk bölümünde sentezlenen mgNH ve mkNH'leriyle eşdeğer koşullarda sentezlenmiştir.

4.2.1. Tek Eksenli Sıkıştırma Testleri

mgkNH ve mkkNH'lerinin tek eksenli sıkıştırma testleri 30°, 33°, 37°, 40° ve 45°C'da, m(IPN)kNH'lerinin tek eksenli sıkıştırma testleri ise fizyolojik sıcaklıkta (37°C) gerçekleştirilmiştir. İlgili sıcaklıklarda ve DDS içerisinde bir hafta süreyle bekletilerek denge koşullarına ulaşması sağlanan hidrojellerin sıkıştırma modül değerleri, Hounsfield HK5S model mekanik test cihazı ve uygun yazılım kullanılarak belirlenmiştir. Test öncesinde her bir hidrojel diskinin ilgili sıcaklıktaki denge halinin çap ve yükseklik değeri kumpas ile ölçülmüş ve test cihazıyla uyumlu çalışan yazılıma tanıtılmıştır. Test örnekleri, tez çalışmasının ilk bölümünde sistematik şekilde gerçekleştirilen sıkıştırma modül analizlerinin sonuçlarına dayanarak (Syf. 90 – Şekil 4.1) eşit yüksekliklerde ve sentez tüpünün orta bölgesine karşılık gelen noktalardan 2 ayrı disk şeklinde alınmıştır. Sıkıştırma modül-sıcaklık ve V/V_o-sıcaklık grafikleri üzerindeki her bir veri noktası iki farklı test sonucunun ortalaması alınarak hesaplanmıştır.

4.2.1.1. Modifiye Geleneksel PNIPAAm Kopolimer Hidrojellerin Sıkıştırma Modülleri

mgkNH'lerinin sentezinde kullanılan komonomerler birer amid türevi olup, NIPAAm molekül yapısına benzer şekilde tersiyer amin grupları taşımaktadır (Şekil 4.20). DDS, 0.1N NaOH ve 0.2N NaOH çözeltileri içerisinde sentezlenmiş mgkNH'lerinin sentez sonrası fotoğrafları Şekil 4.21 ve bu hidrojellerin sentez reaksiyonlarına ait % reaksiyon verimi değerleri Çizelge 4.6 ile verilmiştir.

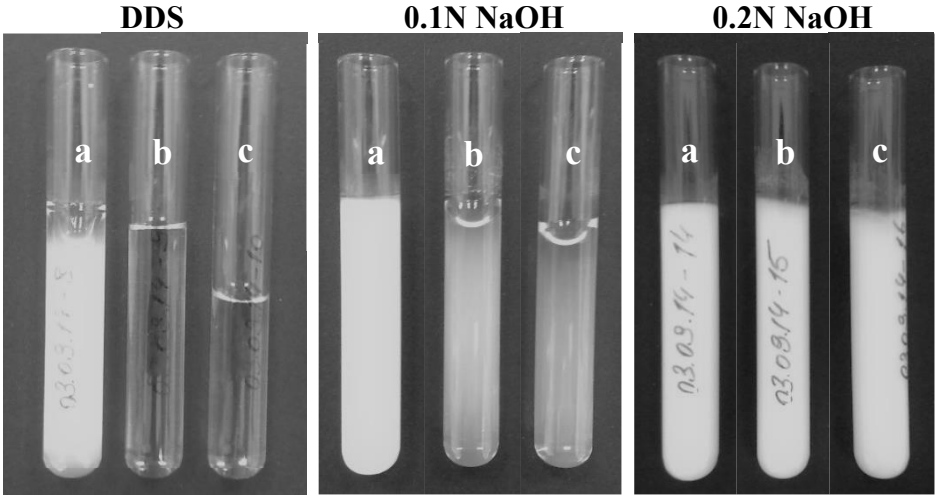


Şekil 4.20 : Çalışmada kullanılan komonomerlerin molekül yapıları.

Sentez reaksiyonlarının % verim değerleri aşağıda verilen eşitlik kullanılarak hesaplanmıştır.

$$\%verim = \frac{m_{sentez\ sonrası}}{m_{sentez\ çözeltisi}} x100 \qquad (4.6)$$

Eşitlikte, $m_{sentez\ çözeltisi}$, polimerizasyon çözeltisi içerisindeki bileşenlerin (NIPAAm, komonomer, BIS, KPS) toplam kütlesi ve $m_{sentez\ sonrası}$, sentez sonrası saflaştırılarak sabit tartıma kadar kurutulmuş örneğin kütlesidir.



Şekil 4.21 : Üç farklı sentez çözücüsü (DDS, 0.1N NaOH ve 0.2N NaOH) içerisinde sentezlenmiş mgkNH'leri (a) PNIPAAm/DMAPMAAm, (b) PNIPAAm/MAPTAC, (c) PNIPAAm/SBMAAm.

Çizelge 4.6 : Üç farklı sentez çözücüsü (DDS, 0.1N NaOH ve 0.2N NaOH) içerisinde sentezlenmiş mgkNH'lerinin sentez reaksiyonlarında % reaksiyon verimi değerleri.

	Polimerizasyon reaksiyonunun % verimi		
	PNIPAAm/DMAPMAAm	**PNIPAAm/MAPTAC**	**PNIPAAm/SBMAAm**
DDS	99.1	88.4	74.4
0.1N NaOH	93.4	94.8	97.2
0.2N NaOH	100.0	100.5	103.2

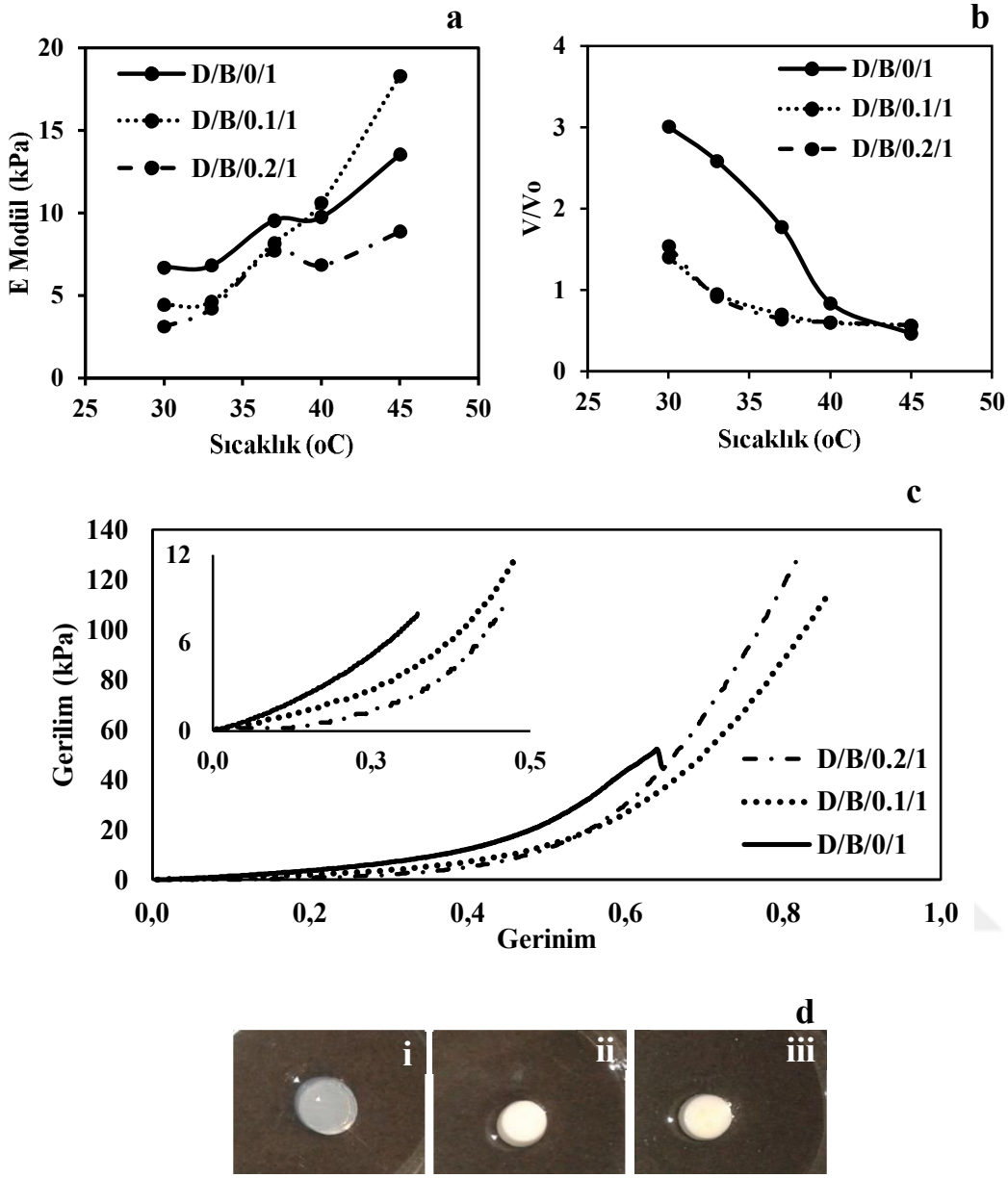
Şekil 4.21 ile verilen DDS içerisinde sentezlenmiş PNIPAAm/MAPTAC ve PNIPAAm/SBMAAm hidrojelleri 1 haftalık sentez süresi sonunda tamamen saydam görünümdedir. KPS'den radikal oluşum hızını arttıran KPS/0.1N NaOH ve KPS/0.2N NaOH çözücü sistemleri içerisinde ise sırasıyla, yarı-opak ve tam-opak hidrojeller elde edilmiştir. mgkNH'lerinin sentez reaksiyonları için % verim değerlerinin verildiği Çizelge 4.6'da polimerizasyon verimlerinin artan NaOH konsantrasyonu ile yükseldiği ve her üç hidrojel için de en yüksek verim değerinin KPS/0.2N NaOH sistemi içerisindeki hidrojellere ait olduğu görülmektedir.

Şekil 4.22 (a), (b) ve (c)'de %2.5 DMAPMAAm (mol cinsinden) varlığında DDS, 0.1N NaOH ve 0.2N NaOH çözeltileri içerisinde sentezlenmiş mgkNH'leri için sırasıyla sıkıştırma modül-sıcaklık, V/V_o – sıcaklık ve 37°C'daki gerilim-gerinim eğrileri verilmiştir. DDS içerisinde sentezlenmiş D/B/0/1 hidrojelinin 33°-37°C aralığındaki sıkıştırma modül değerlerinin 0.1N ve 0.2N NaOH çözeltilerinde sentezlenen hidrojellerden daha yüksek olduğu, ayrıca şişme değerlerinin kıyaslanan hidrojellerden daha yüksek ve şişme-büzülme sürecinin de (Şekil 4.22 (b)) daha belirgin olduğu görülmektedir. Hoffman tarafından yapılan bir çalışmada, Na-sitrat/NaCl tamponu içerisinde (pH 5.3) % 3 mol oranında DMAPMAAm kullanılarak sentezlenmiş NIPAAm/DMAPMAAm hidrojelinin pH (pH 7.4) ve sıcaklığa (37°C) bağlı hacim faz geçişleri gösterdiği belirtilmektedir [371]. Park ve Hoffman tarafından yapılan diğer bir çalışmada da, oda sıcaklığında, DDS içerisinde ve APS/TEMED redoks çifti varlığında % 0-20 mol DMAPMAAm içeren PNIPAAm/DMAPMAAm hidrojelleri sentezlenmiştir. Hidrojellerin 25°-60°C aralığındaki pH'a bağlı hacim faz geçişlerinin izlendiği çalışmada, artan sıcaklıkla birlikte faz geçişlerinin daha keskin şekilde gerçekleştiği ve geçişin daha düşük pH değerlerine kaydığı belirtilmiştir [372]. Bu tez çalışmasında DDS ve NaOH çözeltileri (pH ≥ 12) içerisinde sentezlenmiş

PNIPAAm/DMAPMAAm hidrojelleri DDS içerisinde (pH 5.5) [373] 37ºC civarında hacim faz geçişi göstermektedirler.

Serbest radikal katılma polimerizasyonu ile pH ≥ 12 koşulunda ve TEMED yokluğunda sentezlenmiş bir ağyapının, daha önce de ifade edildiği gibi, yüksek oranda hidroksil radikalleri tarafından yaratılmış aktif merkezler üzerinde oluşması ve reaksiyon sonunda bir kısım polimer zinciri ucunun da OH grupları ile sonlanması beklenir. Zincir uçlarında bulunduğu varsayılan OH grupları su molekülleriyle etkileşebilecekleri gibi, hidrojen bağları aracılığıyla birbirleriyle de etkileşebilirler. Hidrojel disklerin DDS içerisinde 37ºC'daki denge hallerini gösteren fotoğraflar (Şekil 4.22 (d)), molekül içi ve moleküller arası hidrojen bağlarının var olduğu düşünülen D/B/0.1/1 ve D/B/0.2/1 hidrojellerinin D/B/0/1 hidrojeline kıyasla daha düşük disk çaplarına sahip olduklarını göstermektedir. Ayrıca Şekil 4.22 (c)'de D/B/0.1/1 ve D/B/0.2/1 hidrojellerinin başlangıç modül değerlerinin D/B/0/1 hidrojeline kıyasla daha düşük olduğu görülmektedir. Bu durum hidroksil uç gruplarının molekül içi ve moleküller arasındaki etkileşimlerinin D/B/0.1/1 ve D/B/0.2/1 ağyapılarının esnekliklerine katkıda bulunduğunu gösterir. Şekil 4.22 (c) ile verilmiş olan gerilim-gerinim eğrileri sentez çözücüsü olarak kullanılan NaOH'in PNIPAAm/DMAPMAAm hidrojellerinin mekanik özelliklerini iyileştirici etkisini de göstermektedir. D/B/0/1 hidrojeli 37ºC'da D/B/0.1/1 ve D/B/0.2/1 hidrojellere göre daha yüksek başlangıç modül değerine sahip olmakla birlikte ~50kPa'lık gerilim altında kırılırken, NaOH çözeltileri içerisinde sentezlenmiş PNIPAAm/DMAPMAAm hidrojellerinin aynı gerinime karşılık gelen gerilim değerlerinin azaldığı görülmektedir. Hidrojellerin başlangıç modül değerleri artan NaOH konsantrasyonu ile azalmış, D/B/0/1 hidrojeli sert ve kırılganken, D/B/0.1/1 ve D/B/0.2/1 hidrojelleri esnek ve dayanıklı hale gelmişlerdir.

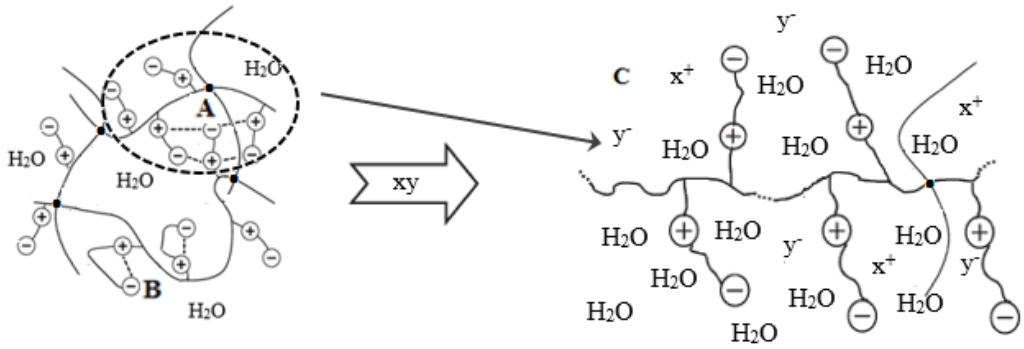
Şekil 4.22 (b)'de üç farklı polimerizasyon çözücüsü içerisinde sentezlenmiş PNIPAAm/DMAPMAAm hidrojellerinin sıcaklığa bağlı V/V_o değişimleri verilmiştir. PNIPAAm/DMAPMAAm hidrojellerinin 30ºC'daki V/V_o değerleri, kıyaslandıkları mgNH'lerine göre (Şekil 4.4) daha yüksektir. Elde edilen bulgular, sentez çözücüsü olarak NaOH çözeltileri kullanılmasının ve yapıya % 2.5 mol oranında DMAPMAAm komonomerinin ilave edilmesinin PNIPAAm/DMAPMAAm ağyapılarının hidrofilik özelliklerine katkıda bulunduğunu göstermektedir.



Şekil 4.22 : PNIPAAm/DMAPMAAm hidrojelleri için 30° – 45°C aralığında (a) E modül – sıcaklık, (b) V/V_o – sıcaklık ve (c) 37°C'daki gerilim-gerinim eğrileri ile (d) 37°C'daki DDS içerisinde şişme dengesine ulaşmış PNIPAAm/DMAPMAAm hidrojellerinin dijital fotoğrafları (i) D/B/0/1, (ii) D/B/0.1/1, (iii) D/B/0.2/1.

Zwitteriyonik bir monomer olan SBMAAm, yapısındaki metakrilamidopropil-N-(3-sülfopropil) birimleri üzerinde katyonik bir kuvaterner amonyum grubu ile anyonik bir sülfonat grubu taşır. Sülfobetainler genellikle, tersiyer amin grubu taşıyan bir monomer ya da polimerin, 1,3-propansulton ya da 1,4-bütansulton ile alkilsülfonasyonu yoluyla sentezlenirler [374-377]. Aynı monomer birimi üzerinde bulunan zıt yüklü bu gruplar, zincir içi ve zincirler arası elektrostatik etkileşimler

oluşturarak, ağyapının hidrofobik özelliğini kuvvetlendirebilir [378] (Şekil 4.23 (a) ve (b)).



Şekil 4.23 : Zwitteriyonik hidrojellerde, DDS içerisinde, A. gruplar-arası, B. grup-içi elektrostatik etkileşimler ve C. tuz çözeltileri ya da tampon bileşenleri varlığında elektrostatik etkileşimlerin bozulması ve şişme derecesinin artışına sebep olan zincir relaksasyonu [379].

Literatüre sunulmuş bazı çalışmalarda zwitteriyonik polimerlerin düşük sıcaklıklarda sulu çözeltiler içerisinde çözünmedikleri ve üst kritik çözelti davranışı (UCST) gösterdikleri ifade edilmektedir [379]. Örneğin zwitteriyonik bir polimer olan poli-3-dimetil(metakriloiloksietil)amonyum propan sülfonat (PDMAPS)'ın, polimerin molekül ağırlığına ve sulu çözelti içerisindeki elektrolit konsantrasyonuna kuvvetle bağlı olan bir UCST davranışı gösterdiği belirtilmiştir [380] Lee ve Yeh tarafından yapılan bir çalışmada ise, zwitteriyonik komonomer miktarının VPTT üzerine etkileri incelenmiş ve N,N-dimetil(akrilamidopropil) amonyum propan sülfonat (SBMAAm)'ın % 3 mol oranında kullanıldığı PNIPAAm/SBMAAm hidrojellerinin 35°-40°C aralığında güçlü bir faz geçişi gösterdiği, % 12 mol oranında SBMAAm içeren hidrojellerin VPTT değerlerinin ise 80°C üzerine kadar yükseldiği ifade edilmiştir [381].

Şekil 4.24 (a) ve Şekil 4.25 (a)'da, KPS/DDS başlatıcı/çözücü sistemi içerisinde sentezlenmiş mgkNH'leri için sırasıyla sıkıştırma modül-sıcaklık ve V/V_o – sıcaklık eğrileri ile örneklerin 37°C'daki DDS içerisinde şişme dengesine ulaşmış hallerinin dijital fotoğrafları BIS/0/1 hidrojeli ile kıyaslamalı olarak verilmiştir. Şekil 4.24 (a), incelenen sıcaklık aralığında BIS/0/1 hidrojeline oldukça yakın sıkıştırma modül değerlerine sahip olan SB/B/0/1 hidrojelindeki hacim faz geçişinin, literatür bulguları ile uyumlu şekilde, BIS/0/1'e (30°-33°C) kıyasla daha yüksek bir sıcaklıkta (37°-40°C) gerçekleştiğini göstermektedir.

SBMAAm, hidrofilik yapıya sahip zwitteriyonik bir moleküldür ve monomer birimleri arasında Şekil 4.23 ile gösterilen şekilde molekül içi ve moleküller arası elektrostatik etkileşimler bulunur. Bu etkileşimler, ağyapı içerisinde ilave fiziksel çapraz bağlanma noktaları oluşturur ve bu durum SB/B/0/1 hidrojelinde aynı miktarda DMAPMAAm içeren (%2.5 mol) D/B/0/1 hidrojeline göre daha yüksek modül değerleri gözlenmesine sebep olur. Yin ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada [382], poli(2-akrilamido-2-metilpropansülfonikasit) (PAMPS) / Poli(N-(karboksimetil)-N,N-dimetil-2-(metakriloksi) etanaminyum) (PCDME) ikili ağyapılarının mekanik özellikleri incelenmiş, % 10, % 25 ve % 38 mol oranlarında CDME kullanılarak sentezlenen ikili ağyapıların (AC10, AC25, AC38), şişme derecelerinin artan CDME konsantrasyonuyla düştüğü ve Young modül değerlerinin ise yükseldiği belirtilmiştir. Ayrıca, zwitteriyonik CDME bileşeninin artan miktarının malzemelerin dayanıklılığını belirgin derecede yülselttiği, AC10, AC25 ve AC38 ağyapıları için kırılma gerinimlerinin sırasıyla, 2.2, 5.1 ve 6.0 (mm/mm) olarak ölçüldüğü de ifade edilmiştir. Bu çalışmada sentezlenen D/B/0/1, SB/B/0/1 ve BIS/0/1 hidrojellerinin Şekil 4.26 ve Şekil 4.27 ile verilen sırasıyla 30° ve 37°C'daki gerilim-gerinim eğrileri, D/B/0/1 hidrojelinin esnek ve kırılgan, SB/B/0/1 hidrojelinin ise daha sert ve dayanıklı olduğunu göstermektedir. Bu durum, SBMAAm yapısının hem temel bileşen olan NIPAAm'den hem de komonomer olarak kullanılan DMAPMAAm'den farklı olduğunu ve SBMAAm yapısındaki elektrostatik etkileşimlerin PNIPAAm/SBMAAm hidrojellerinin mekanik özellikleri üzerine iyileştirici etkilerini vurgulamaktadır.

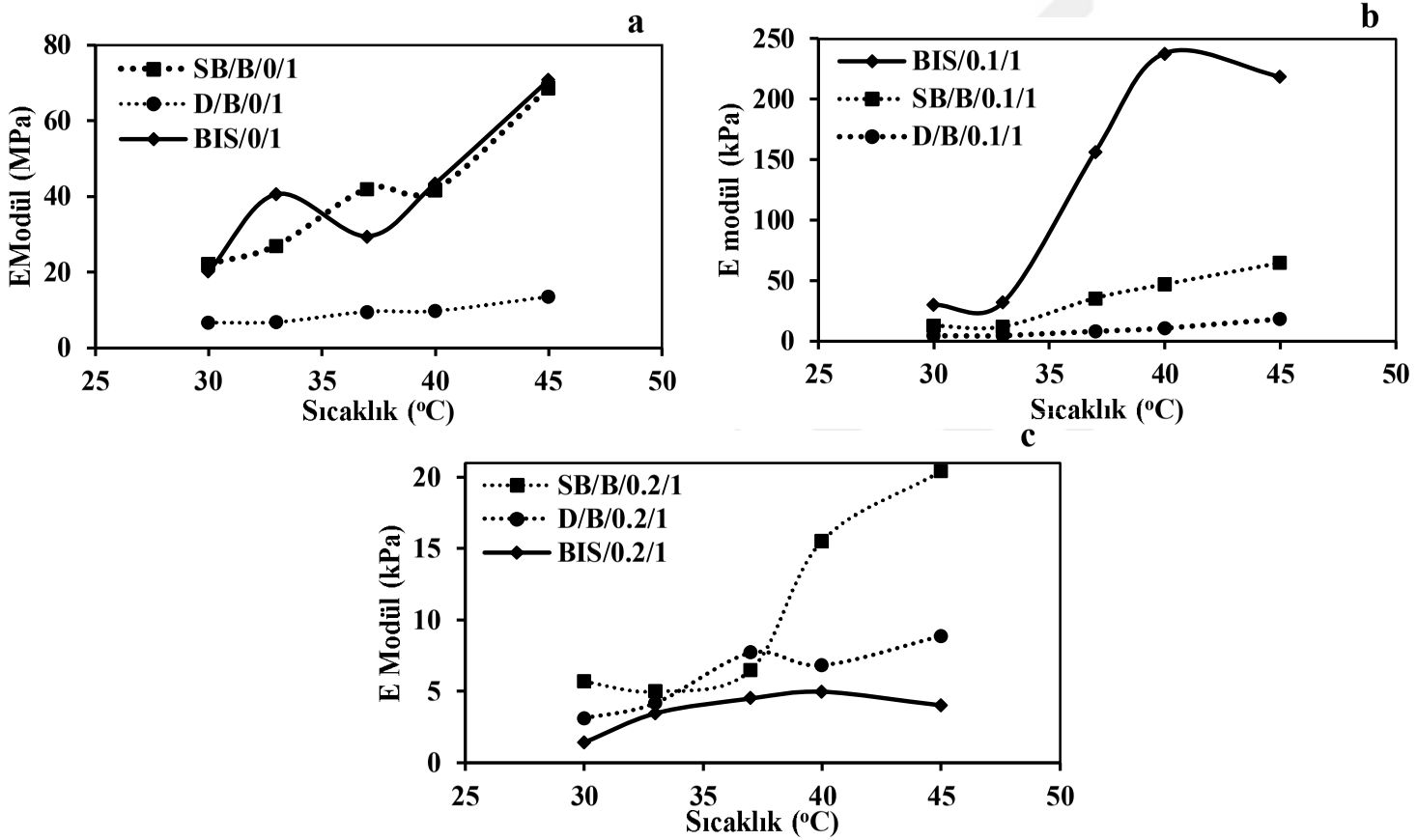
DMAPMAAm'deki dimetilamino grubu pH'a bağlı olarak iyonize olur (pKa~8-9). Das ve ark. tarafından rapor edilen bir çalışmada [383], 40°C'da su içerisinde, APS/TEMED redoks çifti kullanılarak ve çapraz bağlayıcı bileşen yokluğunda sentezlenmiş AAc/DMAPMAAm (87:13 mol) hidrojel membranların yapısal bütünlüklerinin monomer birimleri üzerindeki yüklü grupların elektrostatik etkileşimleri ile korunduğu ifade edilmektedir. 25°C'da pH=1.0 ve pH=7.0 tampon çözeltileri içerisinde denge haline ulaşmış AAc/DMAPMAAm membranlarının 1.00 mm/s'lik sıkıştırma hızı ile gerçekleştirilen tek eksenli sıkıştırma testlerinde, örneklerin sırasıyla 24 kPa ve 16 kPa'lık modül değerlerine sahip oldukları gözlenmiştir. Ayrıca örneklerin tek eksenli sıkıştırma testlerinde, pH=1.0'da ~85kPa, pH=7.0'da ise 34kPa'lık kırılma gerilimlerine sahip oldukları da belirtilmiştir.

Sonuçlar, AAc/DMAPMAAm membranların artan pH'a bağlı olarak sert ve dayanıklıdan esnek ve kırılgan bir yapıya geçiş yaptığını göstermektedir.

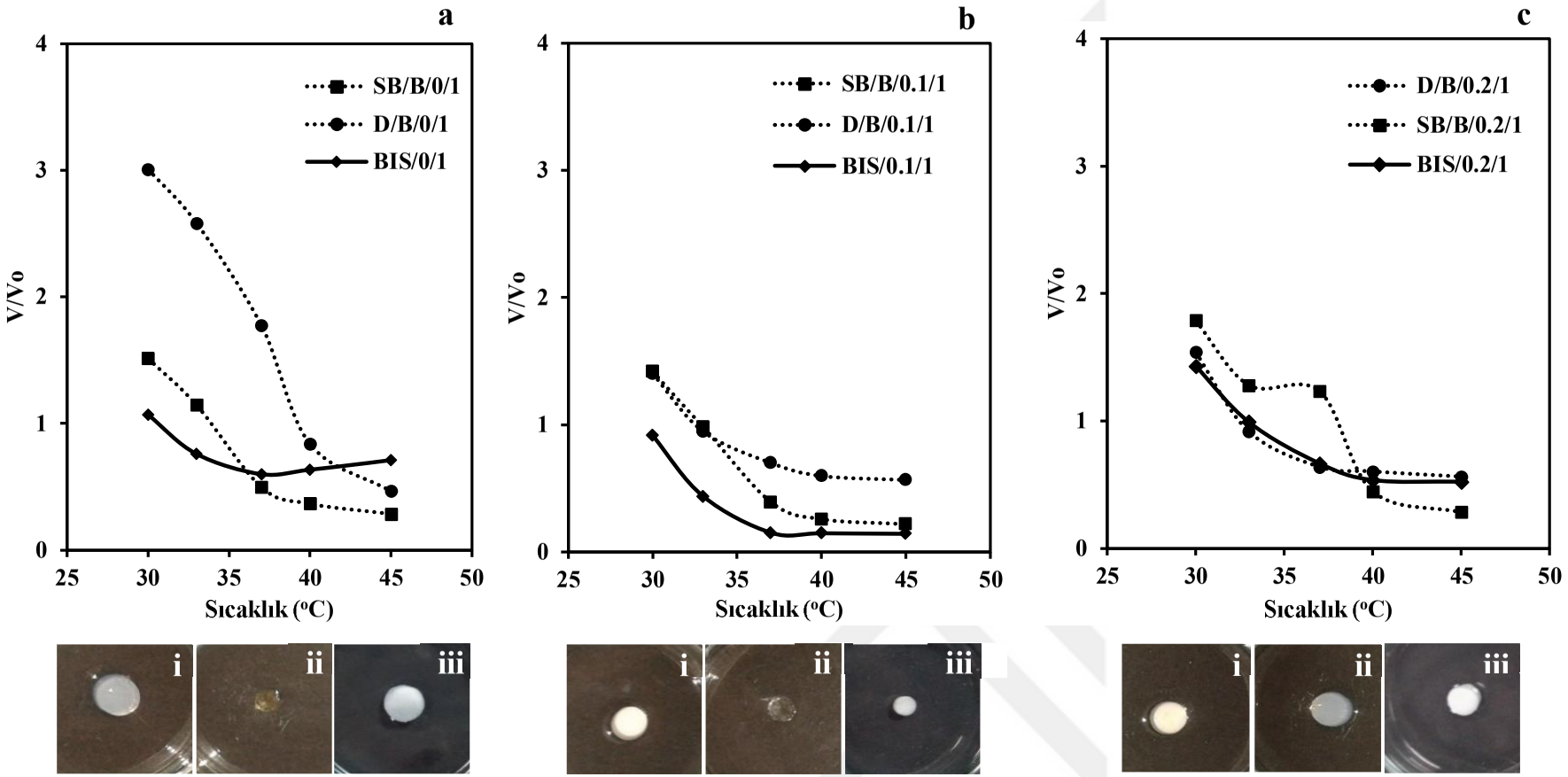
Bu çalışmada ise, kimyasal çapraz bağlanma noktalarına ilaveten, Das tarafından yapılmış olan çalışmada var olduğu ifade edilen moleküler etkileşimlere benzer şekilde SBMAAm birimlerinin zincir içi ve zincirler arası etkileşimleri ile sağlanan ilave çapraz bağlanma noktaları da bulunmaktadır. DDS içerisinde sentezlenmiş D/B/0/1 hidrojelinin 30° ve 37°C'da gerçekleştirilen tek eksenli sıkıştırma testlerinde sırasıyla 27.7kPa ve 47.6kPa'lık sıkıştırma dayanımlarına sahip olduğu gözlenmiştir. Eşdeğer miktarda SBMAAm'in konomomer olarak kullanıldığı SB/B/0/1 hidrojelinin 30° ve 37°C sıkıştırma gerilimi değerleri ise D/B/0/1 hidrojeline kıyasla yaklaşık üç kat daha yüksektir (sırasıyla 77kPa ve 128kPa). Ayrıca, D/B/0/1 hidrojeli, her iki test sıcaklığında da kırılırken, daha sert ve dayanıklı bir yapıya sahip olan SB/B/0/1 hidrojeli yapısal bütünlüğünü korumaktadır (Şekil 4.26 ve Şekil 4.27).

PNIPAAm'in VPTT değerinin altında ve NIPAAm birimlerinden kaynaklanacak hidrofobik etkileşimlerin baskın olmadığı bir sıcaklık olan 30°C, ağyapıdaki moleküler etkileşimlerin hidrofobik etkilerden uzak şekilde değerlendirilebilmesi bakımından önemlidir. 37°C'da gerçekleştirilen tek eksenli sıkıştırma testlerinden elde edilen sonuçlar ise, ağyapıların fizyolojik sıcaklıktaki davranışlarının anlaşılabilmesi bakımından önemli bilgiler sağlar.

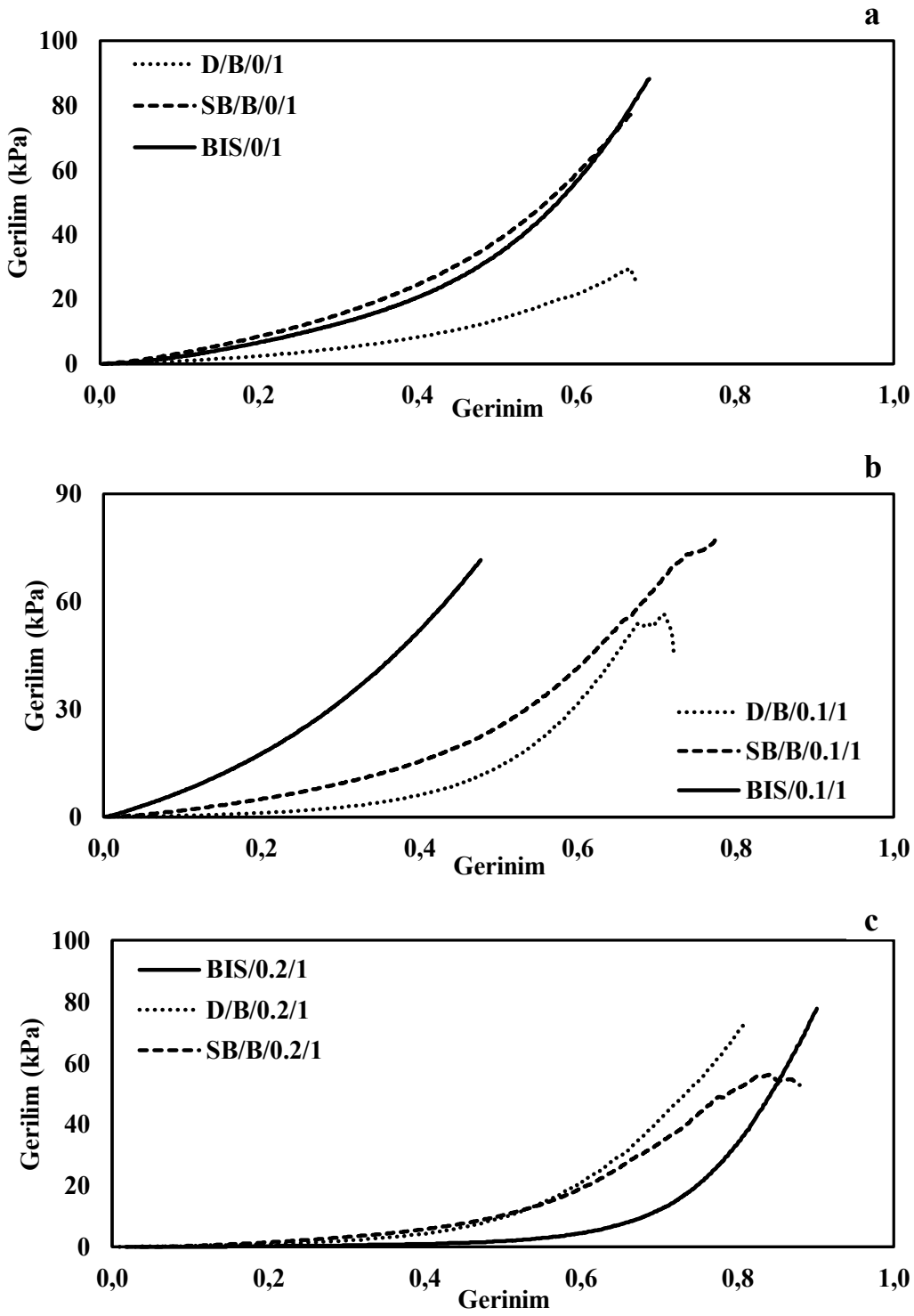
Şekil 4.24 (b) ve Şekil 4.25 (b)'de SBMAAm ve DMAPMAAm komonomerlerinin % 2.5 mol oranında kullanıldığı mgkNH'lerinin sıcaklığa bağlı sıkıştırma modül değerleri ve V/Vo değişimleri BIS/0.1/1 ile kıyaslamalı olarak verilmiştir. Şekil 4.24 (b), SB/B/0.1/1 hidrojelinin de SB/B/0/1 hidrojeline benzer şekilde zwitteriyonik komonomer birimleri arasındaki zincirler arası elektrostatik etkileşimler sonucu, incelenen sıcaklık aralığında D/B/0.1/1 hidrojelinden daha yüksek sıkıştırma modül değerlerine sahip olduğunu göstermektedir.



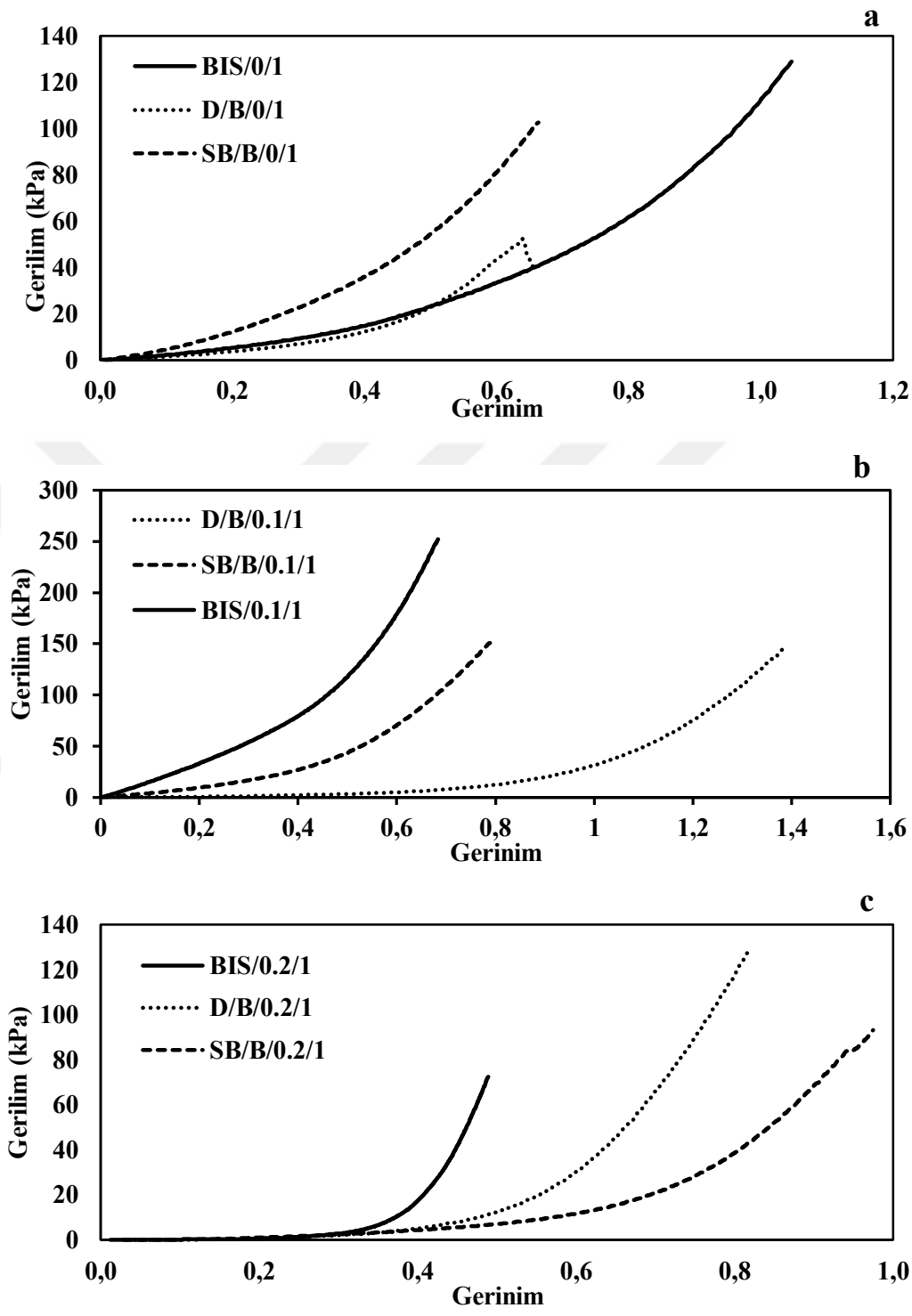
Şekil 4.24 : (a) KPS/DDS, (b) KPS/0.1N NaOH ve (c) KPS/0.2N NaOH başlatıcı/çözücü sistemleri içerisinde sentezlenmiş PNIPAAm/DMAPMAAm, PNIPAAm/SBMAAm ve PNIPAAm/BIS hidrojelleri için 30° – 45°C aralığındaki E modül – sıcaklık eğrileri.



Şekil 4.25 : (a) KPS/DDS, (b) KPS/0.1N NaOH ve (c) KPS/0.2N NaOH başlatıcı/çözücü sistemleri içerisinde sentezlenmiş PNIPAAm/DMAPMAAm, PNIPAAm/SBMAAm ve PNIPAAm/BIS hidrojelleri için 30° – 45°C aralığındaki V/V_o – sıcaklık eğrileri ile 37°C'daki DDS içerisinde şişme dengesine ulaşmış hidrojellerin dijital fotoğrafları (i) PNIPAAm/DMAPMAAm (ii) PNIPAAm/SBMAAm (iii) PNIPAAm/BIS.



Şekil 4.26 : (a) KPS/DDS, (b) KPS/0.1N NaOH ve (c) KPS/0.2N NaOH başlatıcı/çözücü sistemleri içerisinde sentezlenmiş PNIPAAm/DMAPMAAm, PNIPAAm/SBMAAm ve PNIPAAm/BIS hidrojelleri için 30°C'daki gerilim-gerinim eğrileri.



Şekil 4.27 : (a) KPS/DDS, (b) KPS/0.1N NaOH ve (c) KPS/0.2N NaOH başlatıcı/çözücü sistemleri içerisinde sentezlenmiş PNIPAAm/DMAPMAAm, PNIPAAm/SBMAAm ve PNIPAAm/BIS hidrojelleri için 37ºC'daki gerilim-gerinim eğrileri.

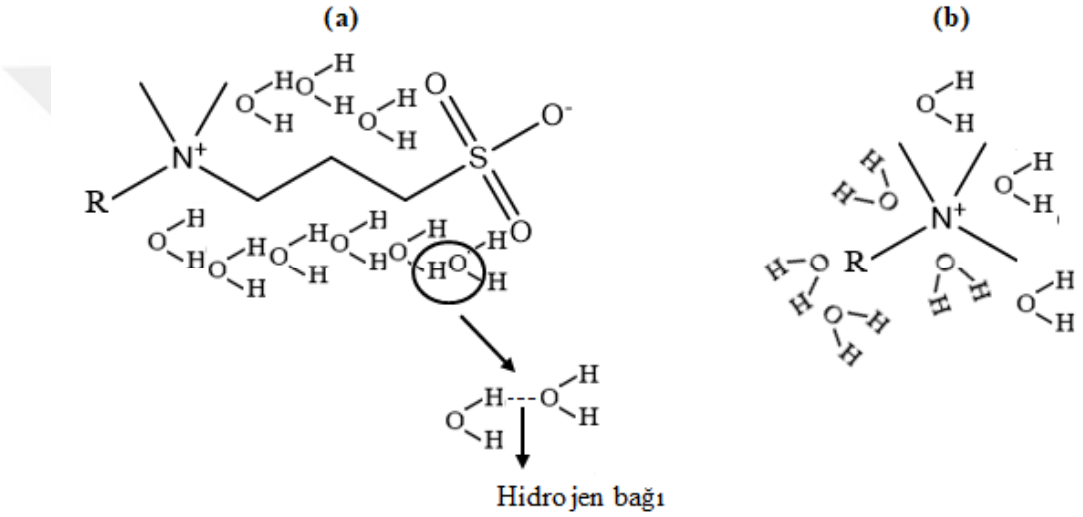
Sıvı fazda bulunan su molekülleri, hidrojen bağları aracılığıyla etkileşirler (Şekil 4.28) [384]. Hareketli iyonlar veya suda çözünebilen polimer zincirleri üzerindeki iyonik ya da polar gruplar, su molekülleri arasındaki hidrojen bağlarının kırılmasına sebep olarak, su moleküllerinin pertürbasyon değerini (N) yükseltir. Su moleküllerinin pertürbasyonu, sulu çözelti içerisinde bulunan bir molekül sebebiyle su molekülleri arasında bozulan hidrojen bağı sayısıdır [385].

Formamit, N-metil formamit (NMF) ve N,N-dimetilformamit (DMF)'in H_2O molekülleriyle etkileşiminin incelendiği bir çalışmada, su moleküllerinin amit yapısındaki karbonil grubu tarafından bozulduğu, hidrofobik metil grupları çevresinde ise, su moleküllerinin entropiyi düşürecek şekilde yeniden düzenlenmeleri sonucu buz benzeri yapıların oluştuğu ifade edilmiştir. Çalışmada, metil grupları etrafında oluşan bu düzenli yapıların (hidrofobik hidrasyon), metil grubu sayısı arttıkça, farklı boyutlarda ve farklı geometrilere sahip şekilde oluştuğu, ayrıca metil gruplarının oluşturduğu kafes etkisiyle, düzenli yapı oluşturmuş su molekülleri arasında kurulan hidrojen bağlarının kuvvetinin arttığı da ifade edilmektedir. Çalışmada ayrıca, amit yapısındaki -N-H ve -C=O gruplarının -OH gruplarıyla hidrojen bağları aracılığıyla etkileştiği ve amit-H_2O sistemlerinde hidrojen bağı oluşumunun oldukça yaygın olduğu da ifade edilmektedir [386]. Bir diğer çalışmada ise, PDMAPMAAm için su içerisinde ve 25°C'da N değerinin 5.4 olduğu, DMAPMAAm monomeri ile 1,3-propansulton veya 1,4-bütansulton reaksiyonundan sentezlenen polimerik sülfobetanlerin su molekülleri üzerindeki pertürbasyon etkisinin ise PDMAPMAAm'e kıyasla daha düşük olduğu (N: 1.1-3.8) ifade edilmiştir.

Bu çalışmada, DDS, 0.1N NaOH ve 0.2N NaOH çözeltileri içerisinde sentezlenmiş PNIPAAm/DMAPMAAm hidrojellerinin 30°C'da % 40 gerinim değerine karşılık gelen gerilim değerleri, sırasıyla 8.3kPa, 6.1kPa ve 4.4kPa'dır. Diğer bir ifade ile, PNIPAAm/DMAPMAAm hidrojelleri artan NaOH konsantrasyonuyla daha esnek ve dayanıklı hale gelmişlerdir. Şekil 4.25 ile verilen V/V_o grafiklerinde ise, D/B/0.1/1 in D/B/0/1'den daha düşük V/V_o değerlerine sahip olduğu yani daha hidrofobik olduğu görülmektedir. Bu bulgular, D/B/0/1 hidrojelinde, DMAPMAAm yapısındaki -N-H ve -C=O gruplarıyla su molekülleri arasında kurulan etkileşimlerin, D/B/0.1/1 hidrojelinde yerini belirli ölçüde bu gruplarla zincir uçlarında bulunan -OH grupları arasındaki etkileşimlere bıraktığı şeklinde yorumlanmıştır. D/B/0.2/1 hidrojelinde ise,

zincir uçlarında bulunduğu varsayılan hidroksil gruplarının artan miktarı, V/V_o değerlerinin D/B/0.1/1 hidrojeline kıyasla bir miktar yükselmesine sebep olmuştur.

Eşdeğer konsantrasyonda zwitteriyonik bileşen varlığında sentezlenmiş SB/B/0/1, SB/B/0.1/1 ve SB/B/0.2/1 hidrojellerinin 30ºC'da % 40 gerinim değerine karşılık gelen gerilim değerleri sırasıyla 25.1kPa, 16.0kPa ve 6.1kPa, % 10 gerinim değerine karşılık gelen gerilim değerleri ise sırasıyla 3.3kPa, 1.9kPa ve 0.4kPa'dır. PNIPAAm/SBMAAm hidrojelleri için, artan NaOH konsantrasyonu hidrojelin esnekliğini arttırmış ancak, mekanik dayanımını azaltmış ve hidrojelin kırılgan hale gelmesine sebep olmuştur.



Şekil 4.28 : Su moleküllerinin (a) zwitteriyonik ve (b) katyonik bir molekül etrafındaki düzenlenmeleri.

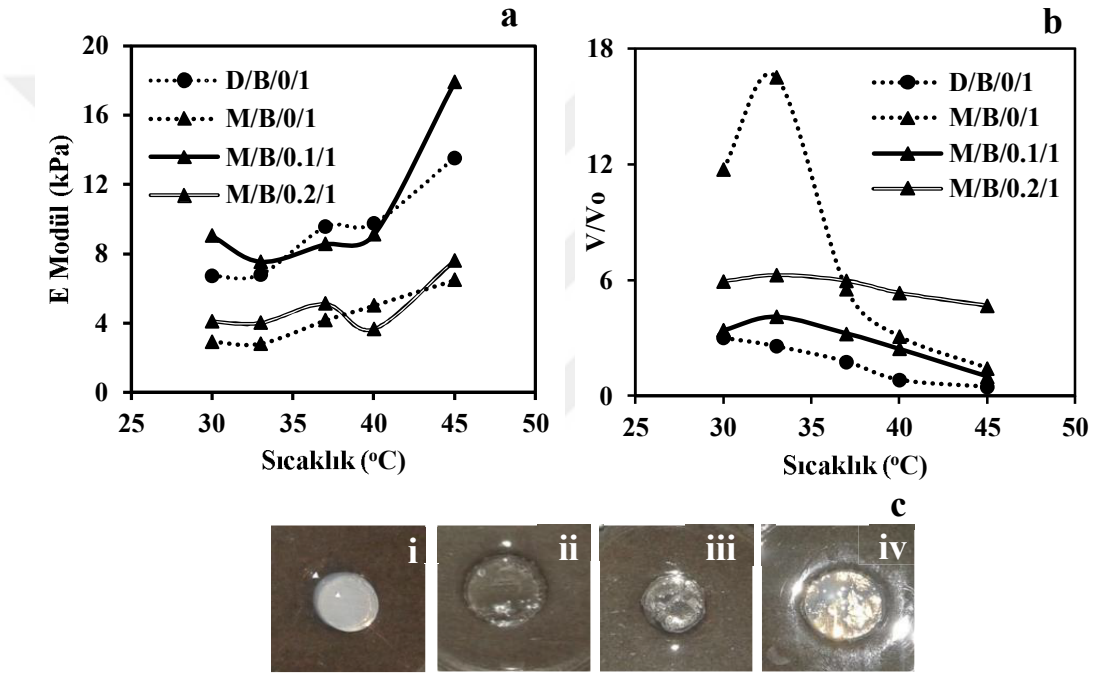
Zwitteriyonik moleküller su moleküllerinin hidrojen bağlı yapısının bozulmadan kalmasına izin verirken, tek yük taşıyan moleküller su moleküllerini daha düzensiz ve daha az hidrojen bağlı bir duruma yönlendirir [387]. Bu çalışmada kullanılan komonomerlerden kalıcı katyonik yükler taşıyan MAPTAC ve pH'a bağlı olarak iyonize olabilen DMAPMAAm Şekil 4.28 (b) ile belirtilen iyonik grup-su molekülü etkileşimlerini oluştururken, su moleküllerinin zwiteriyonik SBMAAm birimleri çevresinde Şekil 4.28 (a) ile gösterilen düzenli yapıları oluşturması beklenmektedir. 0.1N NaOH ve 0.2N NaOH içerisinde sentezlenmiş PNIPAAm/SBMAAm hidrojellerinde ise, SBMAAm birimleri çevresinde su molekülleri tarafından oluşturulan düzenli yapıların bozulduğu ve yapının Şekil 4.23 (c)'de gösterildiği şekilde (xy : NaOH) zwitteriyonik birimler arasındaki zincirler arası etkileşimlerin oldukça azalmış olduğu bir hale geçtiği varsayılmaktadır. Sentez sırasında oluşan bu

yapının DDS dengesinde eski haline dönebileceği varsayılmıştır. Bunun sonucu olarak PNIPAAm/SBMAAm hidrojelleri artan NaOH konsantrasyonu ile daha esnek ve kırılgan hale gelmişlerdir. Hidrofilik polimerlerde artan -OH grubu miktarının, ağyapının daha esnek hale gelmesine sebep olduğu [388] literatüre sunulmuş çalışmalar tarafından da ifade edilmektedir.

Nötral monomerlerden sentezlenen ağyapılara iyonik gruplar taşıyan komonomerlerin ilave edilmesi, jel içerisindeki hareketli iyonların yaratacağı ek osmotik basınç sebebiyle şişme derecesini yükseltir [389]. Ancak, hidrojel yapısındaki iyonik grupların tamamen (MAPTAC) ya da kısmen (DMAPMAAm) iyonize durumda olması, diğer bir ifade ile ağyapı üzerindeki elektrostatik yüklerin sabit ya da hareketli oluşu hidrojelin şişme davranışını doğrudan değiştirir [390]. Hidrojel yapısındaki iyonik gruplar kısmen iyonize haldeyken, yapıdaki elektriksel yükler zincir boyunca hareket edebilir ve hidrojel sıcaklık uyaranı karşısında, faz geçiş sıcaklığına ulaşıldığında büzülme ile sonuçlanan bir tepki verir. Buna karşılık sözkonusu grupların tamamen iyonize halde olması, elektriksel yüklerin zincir boyunca hareketsiz olması ve bunun sonucu olarak da jelin büzülmeye karşı direnç göstermesi ile sonuçlanır.
DDS içerisinde, 10ºC'da ve amonyum persülfat-sodyum metabisülfit başlatıcı sistemi kullanılarak sentezlenen PNIPAAm/MAPTAC hidrojellerinin DDS ve NaCl çözeltileri içerisindeki şişme davranışlarının incelendiği bir çalışmada [391], PNIPAAm/MAPTAC hidrojellerinin düşük NaCl konsantrasyonuna (<0.1M) sahip çözeltiler içerisinde, keskin bir faz geçişi gösterdikleri ve faz geçiş sıcaklıklarının katyonik komonomer miktarındaki artışla yükseldiği sonuçlarına ulaşılmıştır. Çalışmada vurgulanan bir diğer önemli nokta, NaCl konsantrasyonunun 0.1M'dan daha yüksek olduğu çözeltiler içerisinde, ağyapı üzerindeki yük yoğunluğunun şişme dereceleri üzerindeki etkisinin çok düşük olduğu şeklindedir. Lee ve Hsu tarafından literatüre sunulmuş olan çalışmada [392] ise, PNIPAAm ve komonomer olarak akrilamidopropil trimetil amonyum iyodür (TMAAI)'ün % 1-6 mol oranında kullanıldığı PNIPAAm/TMAAI hidrojelleri DDS içerisinde APS/TEMED redoks çifti varlığında sentezlenmiştir. Kopolimer hidrojellerin hacim faz geçiş sıcaklıklarının, artan TMAAI yüzdesi ile yükseldiği belirtilen çalışmada, % 2 TMAAI içeren kopolimer hidrojelde 45º-50ºC, % 3 TMAAI içeren kopolimer hidrojelde ise 55º-60ºC aralığında bir VPT tespit edilmiş olup, % 5 ve üzeri TMAAI içeren kopolimer hidrojellerde VPTT gözlenememiştir. Ayrıca, saf su içerisinde ve 30ºC'da, PNIPAAm

hidrojeli için 6 g/g, % 3 mol oranında TMAAI içeren hidrojelde 38 g/g, % 6 mol oranında TMAAI içeren hidrojelde ise 55 g/g denge şişme değerleri tespit edilmiş olup, % 3 mol oranında TMAAI içeren hidrojelin 25ºC'da 0.1M ve 1.0M KI çözeltileri içerisindeki denge şişme değerleri ise yaklaşık olarak eşit ve 16 g/g civarındadır.

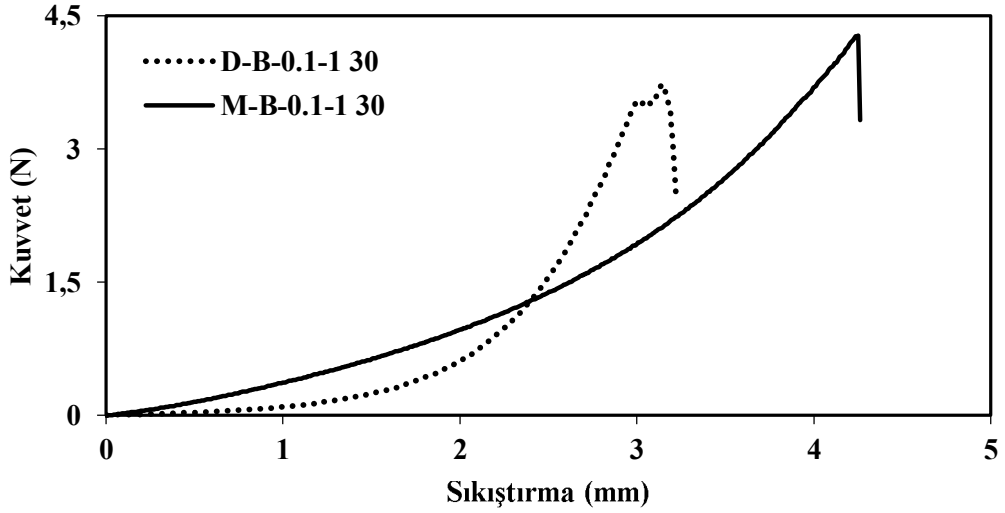
% 2.5 mol oranında MAPTAC varlığında sentezlenmiş mgkNH'leri ile D/B/0/1 hidrojeli için sıkıştırma modül-sıcaklık (a) ve V/Vo – sıcaklık (b) eğrilerinin verildiği Şekil 4.29, ağyapıyı oluşturan zincirler üzerinde hareketsiz ve kalıcı katyonik gruplar taşıyan M/B/0/1 hidrojelinin D/B/0/1 hidrojeline kıyasla daha düşük sıkıştırma modül değerlerine ve daha yüksek V/V_o oranlarına sahip olduğunu göstermektedir.



Şekil 4.29 : PNIPAAm/MAPTAC hidrojelleri için 30º – 45ºC aralığında (a) E modül – sıcaklık ve (b) V/V_o – sıcaklık eğrileri ile (c) 37ºC'daki DDS içerisinde şişme dengesine ulaşmış PNIPAAm/MAPTAC hidrojellerinin dijital fotoğrafları (i) D/B/0/1, (ii) M/B/0/1, (iii) M/B/0.1/1, (iv) M/B/0.2/1.

PNIPAAm/MAPTAC hidrojellerinin 30º-33ºC aralığında D/B/0/1 hidrojeline göre 4-6 kat daha yüksek olan V/V_o değerlerinin (Şekil 4.29 (b)), süperabsorban hidrojellerin sentezinde kullanılan ve kuvvetli katyonik yapıda bir komonomer olan MAPTAC'ın katyonik grupları arasındaki elektrostatik itme kuvvetleri etkisi ile gözlendiği sonucuna varılmıştır. Ayrıca, keskin bir faz geçişinin gözlenemediği M/B/0/1 hidrojelinde, incelenen sıcaklık aralığında sıkıştırma modül değerlerinin hafifçe arttığı gözlenmiştir.

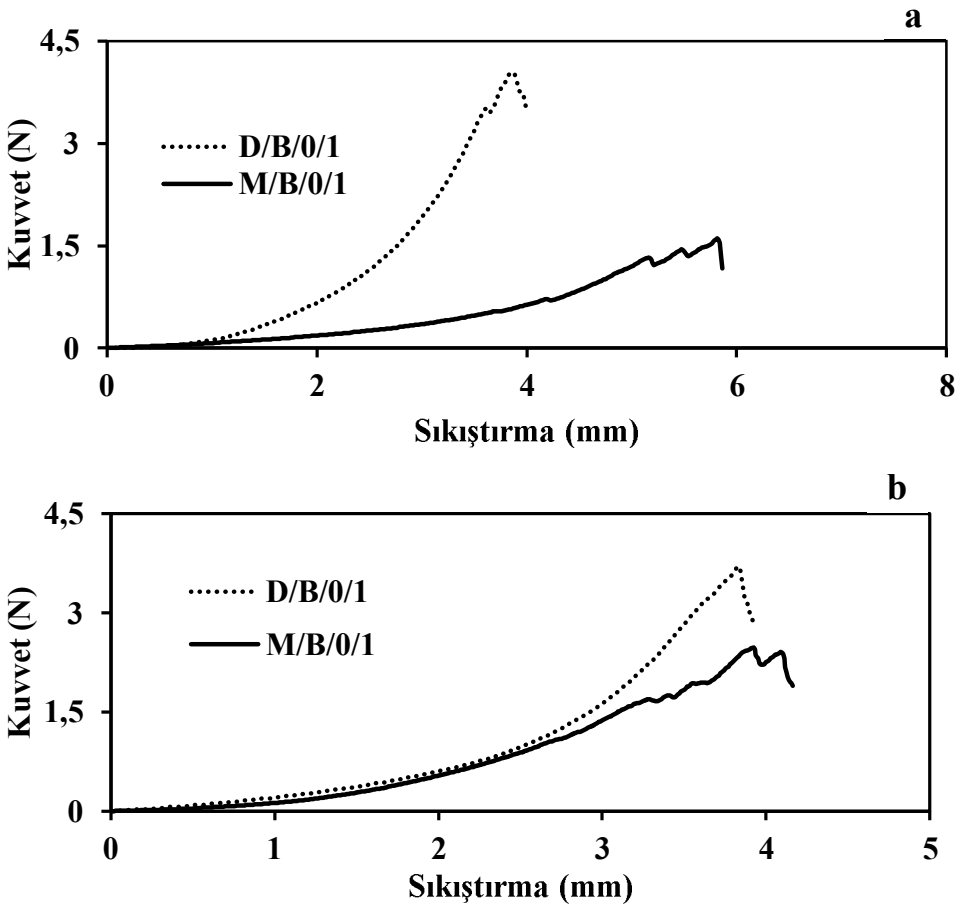
Perera ve Berkowitz, sulu çözelti içerisindeki Na^+ ve Cl^- iyonlarının su molekülleri ile etkileşerek $Na^+(H_2O)_n$ (n=4,5,6,14) ve $Cl^-(H_2O)_n$ (n=4,5,6,7,8,14) yapılarının oluşabildiğini ifade etmişlerdir [393]. Poli(akrilamit) (PAAm), PMAPTAC ve P(AAm/MAPTAC) kopolimer hidrojellerinin sentezlendiği, Hajighasem ve Kabiri tarafından yapılan bir diğer çalışmada ise [394], beklenenin aksine hidrojellerin saklama modülü (G - storage modulus) değerlerinin artan MAPTAC miktarıyla yükseldiği rapor edilmiştir. Çalışmada, MAPTAC yapısında bulunan ve su molekülleri ile çevrelenen hareketli iyonların (Cl^-) çapraz bağlanma noktaları şeklinde etki ettiği ve bu durumun hidrojellerin G modül değerlerinde yükselişe sebep olduğu ifade edilmiştir. Bu çalışmada sentezlenen M/B/0.1/1 hidrojelinde de, M/B/0/1 ve M/B/0.2/1 hidrojellerine kıyasla daha yüksek sıkıştırma modül değerleri ve daha düşük V/V_o değerleri ortaya çıkmıştır. Bu durumun, MAPTAC birimlerindeki hareketli Cl^- iyonlarının su molekülleriyle çevrelenmesi sonucu ağyapı içerisindeki serbest su moleküllerinin sayısındaki azalmaya ilaveten (salting-out effect), Hajighasem ve Kabiri tarafından yapılan çalışmada ifade edildiği şekilde hidrojelin çapraz bağ yoğunluğunun arttırmasından da (cluster effect) kaynaklandığı sonucuna varılmıştır. M/B/0.1/1 hidrojelinde Cl^- iyonlarının su molekülleriyle çevrelenmesi (cluster oluşumu) ve bunun hidrojelin sıkıştırma modülü ve dayanım özelliklerine katkısı Şekil 4.30 ile verilen kuvvet sıkıştırma eğrilerinde de açık şekilde görülmektedir.



Şekil 4.30 : D/B/0.1/1 ve M/B/0.1/1 hidrojellerinin 30°C'daki kuvvet-sıkıştırma eğrileri.

Çizelge 4.7 : KPS/DDS ve KPS/NaOH redoks çiftleri ile sentezlenmiş PNIPAAm/MAPTAC hidrojelleri ile D/B/0/1 hidrojeli için 30°-45°C aralığında çapraz bağ yoğunluğu ve Qv değerleri.

Hidrojel	Çapraz bağ yoğunluğu (mol/m^3) ve Q_v değerleri									
	30°C		33°C		37°C		40°C		45°C	
	ν_e	Q_v	ν_e	Q_v	ν_e	Q_v	ν_e	Q_v	ν_e	Q_v
D/B/0/1	39.9	29.2	23.7	25.1	26.5	17.2	22.8	8.2	25.5	4.5
D/B/0.1/1	12.8	13.6	11.5	9.2	18.1	6.8	22.3	5.8	37.2	5.5
M/B/0/1	16.9	114.3	18.2	160.6	18.5	53.8	18.5	30.1	18.2	14.0
M/B/0.1/1	43.6	33.2	30.6	39.8	31.1	31.4	29.6	23.8	43.1	9.7
M/B/0.2/1	26.5	59.1	21.1	60.9	23.4	58.0	15.9	52.0	31.1	45.4



Şekil 4.31 : D/B/0/1 ve M/B/0/1 hidrojellerinin (a) 30°C ve (b) 37°C'daki kuvvet-sıkıştırma eğrileri.

KPS/DDS ve KPS/NaOH redoks çiftleri ile sentezlenmiş PNIPAAm/MAPTAC hidrojelleri ile D/B/0/1 hidrojeli için 30°-45°C aralığında çapraz bağ yoğunluğu ve Qv değerlerinin verildiği Çizelge 4.7'de M/B/0.1/1 hidrojelinin ν_e değerlerinin M/B/0/1

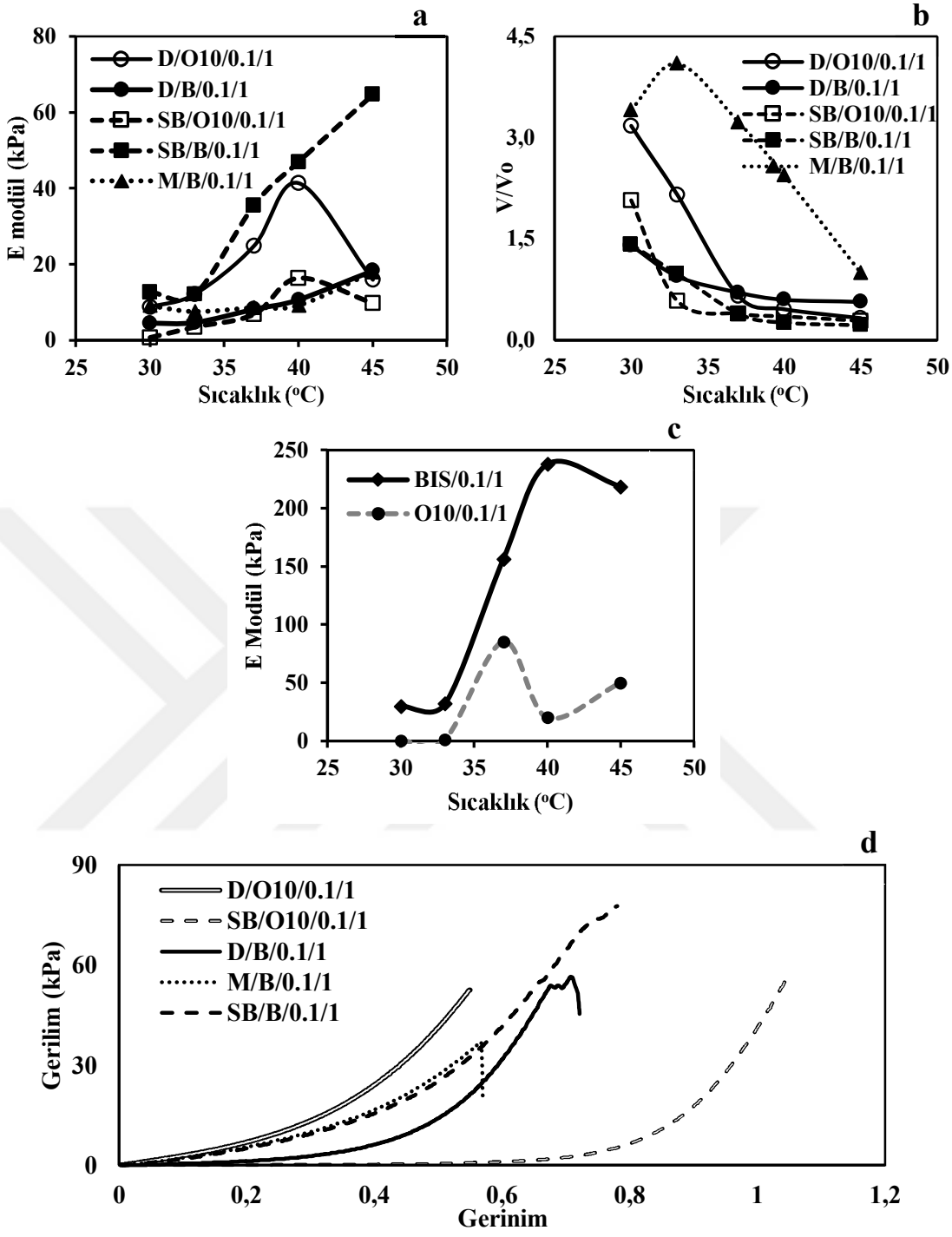
ve M/B/0.2/1 hidrojellerine kıyasla daha yüksek olduğu görülmektedir. M/B/0.2/1 hidrojelinde ise, sentez çözeltisi içerisindeki artan NaOH miktarına bağlı olarak, ağırlıklı olarak hidroksil gruplarıyla sonlanmış olduğu varsayılan daha hidrofilik bir yapı ve M/B/0.1/1 hidrojeline kıyasla daha yüksek Q_v değerleri sözkonusudur.

Üç farklı sentez çözücüsü içerisinde ve BIS varlığında sentezlenmiş PNIPAAm/MAPTAC hidrojelleri arasından M/B/0.1/1 hidrojeli sıkıştırma modül değerleri bakımından en yüksek iyileşmeyi göstermiş olmakla birlikte, D/B/0/1 ve M/B/0/1 hidrojellerinin 30°C ve 37°C'daki kuvvet sıkıştırma eğrileri kıyaslandığında (Şekil 4.31) PNIPAAm/MAPTAC ağyapısının aynı koşullarda sentezlenmiş PNIPAAm/DMAPMAAm hidrojeline göre mekanik özellikler bakımından daha zayıf olduğu görülmektedir.

Özetle, tez çalışmasının ilk bölümünde geçekleştirilen analiz ve karakterizasyonlar sonucu, modifiye PNIPAAm hidrojelleri için en uygun sentez çözücüsü olduğu sonucuna varılan 0.1N NaOH içerinde sentezlenmiş mgkNH'lerinde, BIS/0/1 hidrojeli ile kıyaslandığında, başlangıç modül değerleri ve esnekliklerinde belirgin artma ve iyileşmeler olduğu gözlenmiştir. (Şekil 4.26 ve Şekil 4.27). İlaveten, mgkNH'lerinin sentez sonrası fotoğrafları ve polimerizasyon reaksiyonlarının % verim değerleri, KPS/0.1N NaOH ve KPS/0.2N NaOH modifiye çözücü sistemlerinin mgkNH'lerinin sentez reaksiyonları üzerindeki katalitik etkisini ortaya koymuştur.

4.2.1.2. Modifiye Kompozit PNIPAAm Kopolimer Hidrojellerin (mkkNH) Sıkıştırma Modülleri

NIPAAm'e göre ağırlıkça % 3.0 ve % 10.0 oranlarında ODA-MMT varlığında gerçekleştirilen polimerizasyon reaksiyonları, 25°C'da KPS'den radikal oluşumu reaksiyonunun aktivasyon enerjisini düşüren ve radikal oluşum hızını arttıran başlatıcı/çözücü sistemleri içerisinde gerçekleştirilmiştir. Tez çalışmasının ilk bölümünde gerçekleştirilen mkNH'lerinin sıcaklığa bağlı sıkıştırma modül ve V/V_o ölçümlerinde, fizyolojik sıcaklık olan 37°C'daki yüksek sıkıştırma modül değerleri ve 30°-45°C aralığındaki büzülme davranışları bakımından PNIPAAm/ODA-MMT hidrojelleri öne çıkmaktadır. Bundan yola çıkılarak, mkkNH'lerinin sentezinde inorganik çapraz bağlayıcı olarak ODA-MMT kullanılmıştır.



Şekil 4.32 : KPS/0.1N NaOH başlatıcı/çözücü sistemi içerisinde sentezlenmiş geleneksel ve kompozit PNIPAAm/DMAPMAAm ve PNIPAAm/SBMAAm hidrojellerinin (a) sıkıştırma modül-sıcaklık ve (b) V/V_o-sıcaklık eğrileri ile (d) 30°C'daki gerilim-gerinim eğrileri. (c) BIS/0.1/1 ve O10/0.1/1 hidrojellerinin sıkıştırma modül-sıcaklık eğrileri.

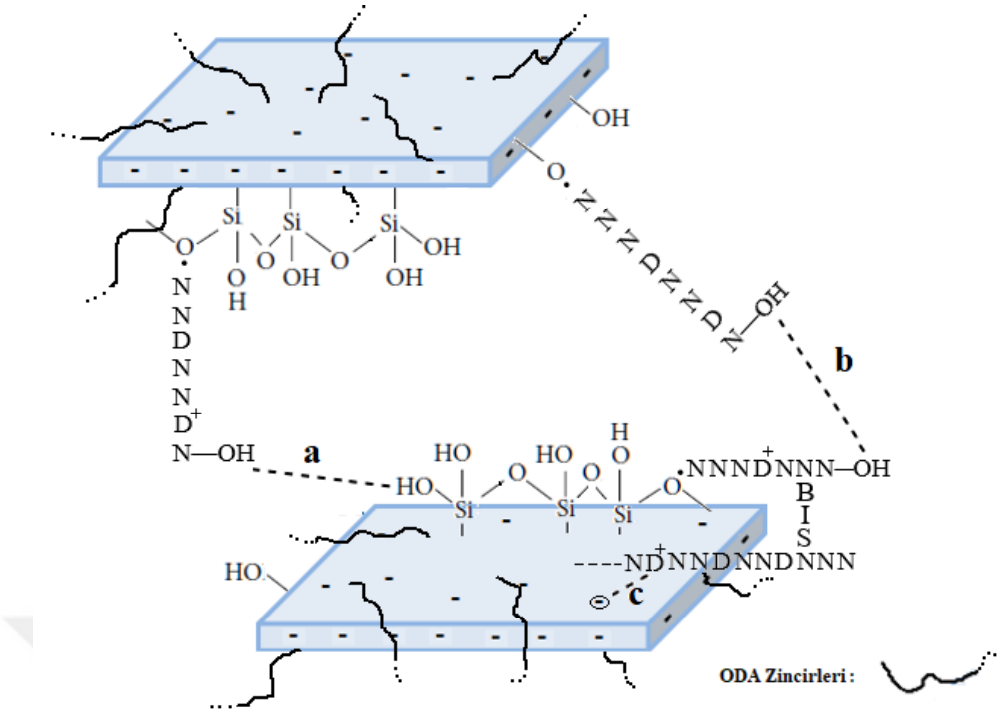
ODA-MMT'nin çapraz bağlayıcı olarak kullanıldığı, KPS/0.1N NaOH başlatıcı/çözücü sistemi içerisinde % 2.5 mol oranında DMAPMAAm veya SBMAAm komonomerleri varlığında sentezlenmiş PNIPAAm hidrojelleri, bu hidrojellerin BIS

kullanılarak çapraz bağlanmış eşdeğerleri ve M/B/0.1/1 hidrojeli için, 30°-45°C aralığındaki sıkıştırma modül-sıcaklık ve V/V_o-sıcaklık grafikleri Şekil 4.32 (a) ve Şekil 4.32 (b) ile verilmiştir.

D/O10/0.1/1 ve SB/O10/0.1/1 hidrojellerinin 30°C'daki V/V_o değerleri (Şekil 4.32 (b)) D/B/0.1/1 ve SB/B/0.1/1 hidrojellerine kıyasla yükselmiş ve 30°-45°C arasındaki sıcaklığa duyarılık davranışları da geleneksel hidrojellerden belirgin derecede farklanmıştır. D/O10/0.1/1 hidrojelinde 30°-37°C aralığında tamamlanan ve % 77.9 çözücü kaybı ile sonuçlanan büzülme, D/B/0.1/1 hidrojelinde 30°-45°C aralığı boyunca devam etmekte ve ağyapıdan % 53.6 oranında çözücü çıkışı olmaktadır.

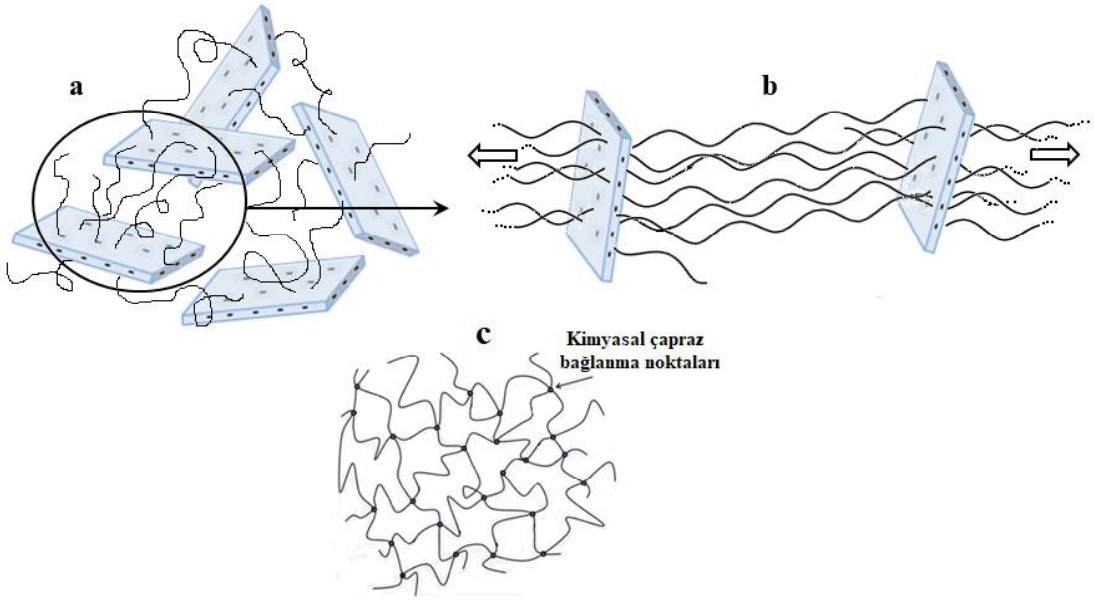
D/O10/0.1/1 hidrojeli için 30°-45°C aralığındaki sıkıştırma modül değerlerinin de D/B/0.1/1 hidrojeline kıyasla daha yüksek olduğu görülmektedir. D/O10/0.1/1 hidrojelinde, D/B/0.1/1 hidrojeline benzer şekilde, -N-H ve -C=O gruplarının su molekülleri ve zincir uçlarında bulunan -OH gruplarıyla olan etkileşimlerine ilaveten, bir kısım -N-H ve -C=O grubunun da ODA-MMT tabakaları (uçlarda ve yüzeyde) üzerindeki hidroksil gruplarıyla etkileşmesi olasıdır. Ayrıca, D/O10/0.1/1 hidrojelinde zincir uçlarında bulunduğu varsayılan -OH grupları birbirleriyle ve kil tabakaları üzerindeki OH gruplarıyla da etkileşebilirler (Şekil 4.33 (a) ve (b)). Bunun yanında, DDS içerisindeki (pH 5.5) denge haline ulaşmış PNIPAAm/DMAPMAAm hidrojellerinde DMAPMAAm birimlerinin kısmen iyonize halde olduğu varsayılmaktadır. Dolayısıyla sıkıştırma testi koşullarında pozitif yüklü olan DMAPMAAm birimlerinin ODA-MMT tabaka uçlarında ve tabaka yüzeylerinde bulunan negatif yüklerle etkileşmesi de mümkündür (Şekil 4.33 (c)).

Sonuç olarak, PNIPAAm/DMAPMAAm hidrojellerinde gerçekleştirilen çapraz bağlayıcı bileşen modifikasyonu, çapraz bağlaycı bileşenin hidrofilik tabaka yapısı ve yukarıda belirtilen ikincil etkileşimlerin sonucu olarak, ağyapının hem şişme derecelerini iyileştirmiş, hem de sıkıştırma modül değerlerini yükseltmiştir. Bu nedenlerle D/O10/0.1/1, D/B/0.1/1 hidrojeline kıyasla daha sert ve dayanıklı hale gelmiştir.



Şekil 4.33 : NaOH çözeltileri içerisinde sentezlenmiş PNIPAAm/DMAPMAAm ağyapısında olduğu varsayılan ikincil kuvvetlerin şematik gösterimi.

Literatüre sunulmuş çok sayıdaki çalışmada, organik çapraz bağlayıcılar varlığında sentezlenmiş kimyasal olarak çapraz bağlı geleneksel hidrojellerin mekanik ve yapısal özellikler bakımından zayıf oldukları ifade edilmektedir [395,396]. Geleneksel hidrojeller ağyapıdaki sabit ve çok sayıdaki kimyasal çapraz bağlanma noktasının varlığı sebebiyle (Şekil 4.34 (c)), esneklik ve mekanik etki altında yönlenebilirlik bakımından zayıftır [397]. İnorganik çok tabakalı killerin çapraz bağlayıcı olarak kullanıldığı nanokompozit hidrojellerde ise, polimerizasyonun kil tabakaları üzerinde oluşan aktif merkezler üzerinde başladığı ve ilerlediği ifade edilmektedir. Herbiri çok fonksiyonlu büyük bir çapraz bağlayıcı molekül olarak düşünülebilecek kil tabakaları üzerinde oluşan polimer zincirlerinin, kimyasal çapraz bağlanma noktaları gibi kısıtlayıcı etkiler olmadan, serbest ve esnek şekilde hareket ederek kolayca yönlenebildiği kabul edilir (Şekil 4.34 (b)) [71]. Böylece, nanokompozit hidrojeller sıkışma ve uzama davranışları bakımından geleneksel hidrojellere göre iyileşmiş özelliklere sahip olurlar. Şekil 4.32 (c)'de O10/0.1/1 hidrojelinin hareketli çapraz bağlanma noktaları şeklinde davranan kil tabakalarının varlığı sebebiyle BIS/0.1/1'e kıyasla daha esnek olduğu görülmektedir.

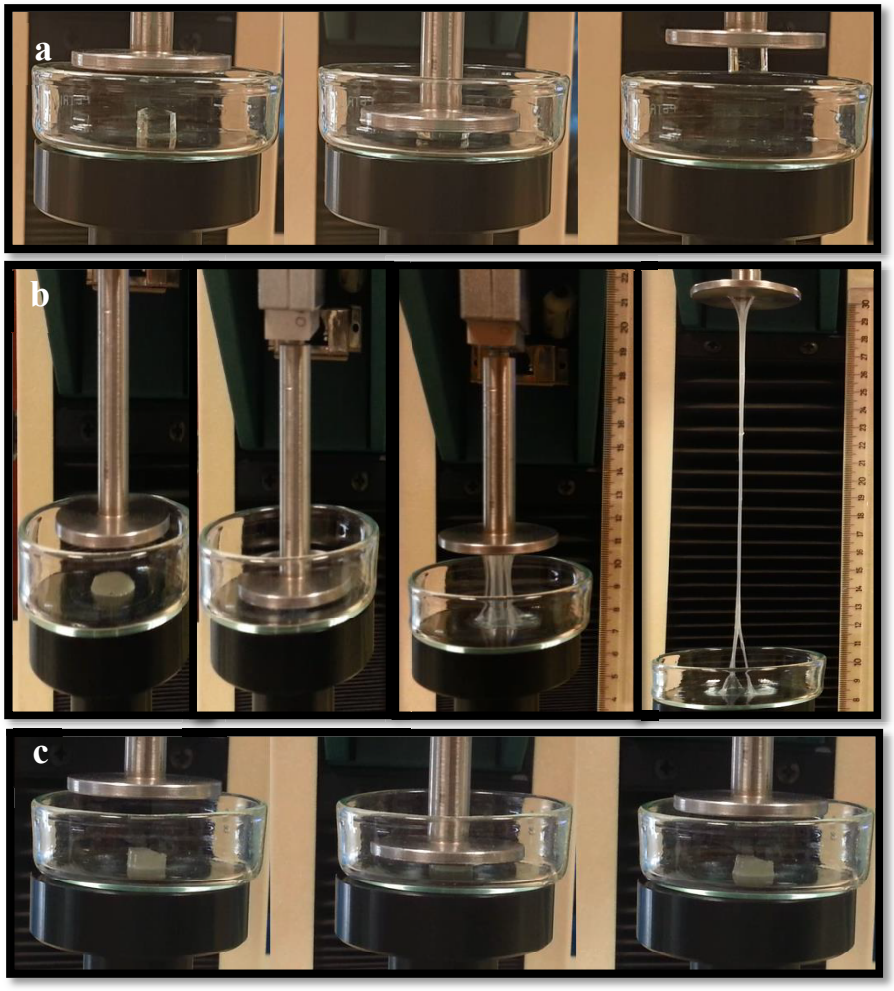


Şekil 4.34 : Nanokompozit hidrojellerde (a) ağyapının şematik gösterimi, (b) ağyapıyı oluşturan zincirlerin çekme sonucu uzamaları ve yönlenmeleri ve (c) kimyasal olarak çapraz bağlı geleneksel hidrojel yapısının şematik gösterimi.

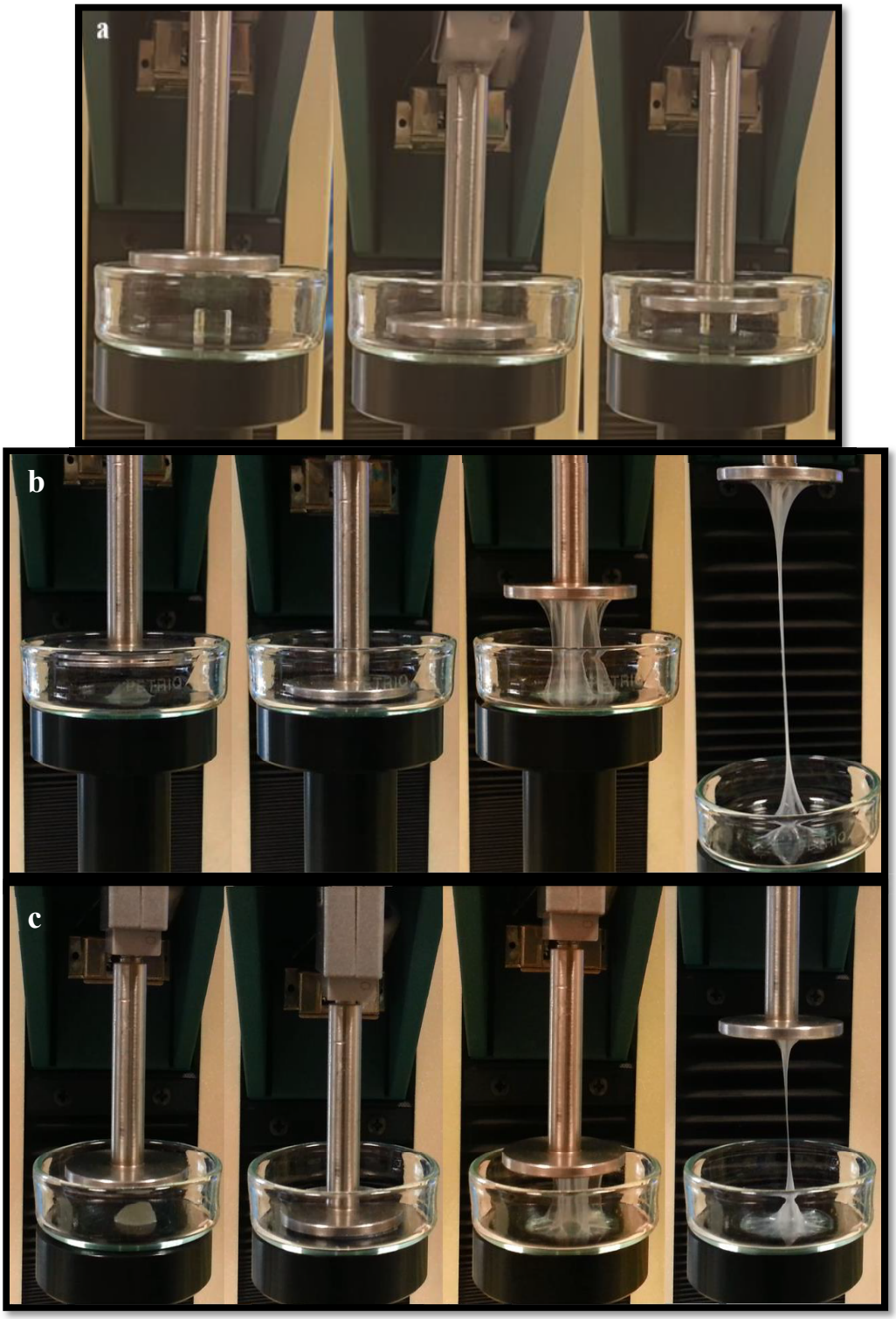
Bu çalışmada, KPS/0.1N NaOH sistemi içerisinde sentezlenmiş PNIPAAm/SBMAAm hidrojellerinde, organik çapraz bağlayıcı BIS'in ODA-MMT ile değiştirilmesi, hidrojelin sıkıştırma modül değerlerinde azalmaya ve esnekliğinde belirgin artışa sebep olmuştur. 50kPa'lık yük altında SB/B/0.1/1 ve SB/O10/0.1/1 hidrojelleri sırasıyla % 64 ve % 100 gerinim değerlerine sahiptir (Şekil 4.32 (c)). Kompozit PNIPAAm/SBMAAm hidrojellerinin sentezinde kullanılan ODA-MMT, MMT tabakaları (d=1.21 nm) üzerine aşılanmış ODA gruplarının varlığı sebebiyle yüksek tabakalar arası mesafeye sahiptir (d=2.05 nm - Bkz. Şekil 4.15). SB/B/0.1/1 hidrojelinde sıkıştırma modül değerlerinin yükselmesinde etkili olduğu varsayılan zwitteriyonik grup etkileşimlerinin, SB/O10/0.1/1 hidrojelinde yüksek tabakalar arası mesafeler ve bunun sonucu olarak tabakalar üzerinde oluştuğu düşünülen PNIPAAm/SBMAAm zincirlerinin birbirlerinden kısmen uzak oluşu sebebiyle zorlaştığı ve etkinliklerinin azaldığı varsayılmaktadır.

SB/O10/0.1/1 ve SB/O10/0.2/1 ağyapılarını oluşturan birimler arasında bulunduğu varsayılan bu ikincil etkileşimlerin önemi, tek eksenli sıkıştırma testleri sırasında ortaya çıkmıştır (Şekil 4.25). SB/O10/0.1/1, SB/B/0.1/1 ve D/O10/0.1/1 hidrojelleri için Şekil 4.35 ile verilmiş olan sentez sonrası tek eksenli sıkıştırma testi görüntülerinde, SB/O10/0.1/1 hidrojelindeki esneklik ve uzama gibi canlı doku benzeri fiziksel özellikler belirgin şekilde görülmektedir. SB/O10/0.1/1 hidrojelindeki

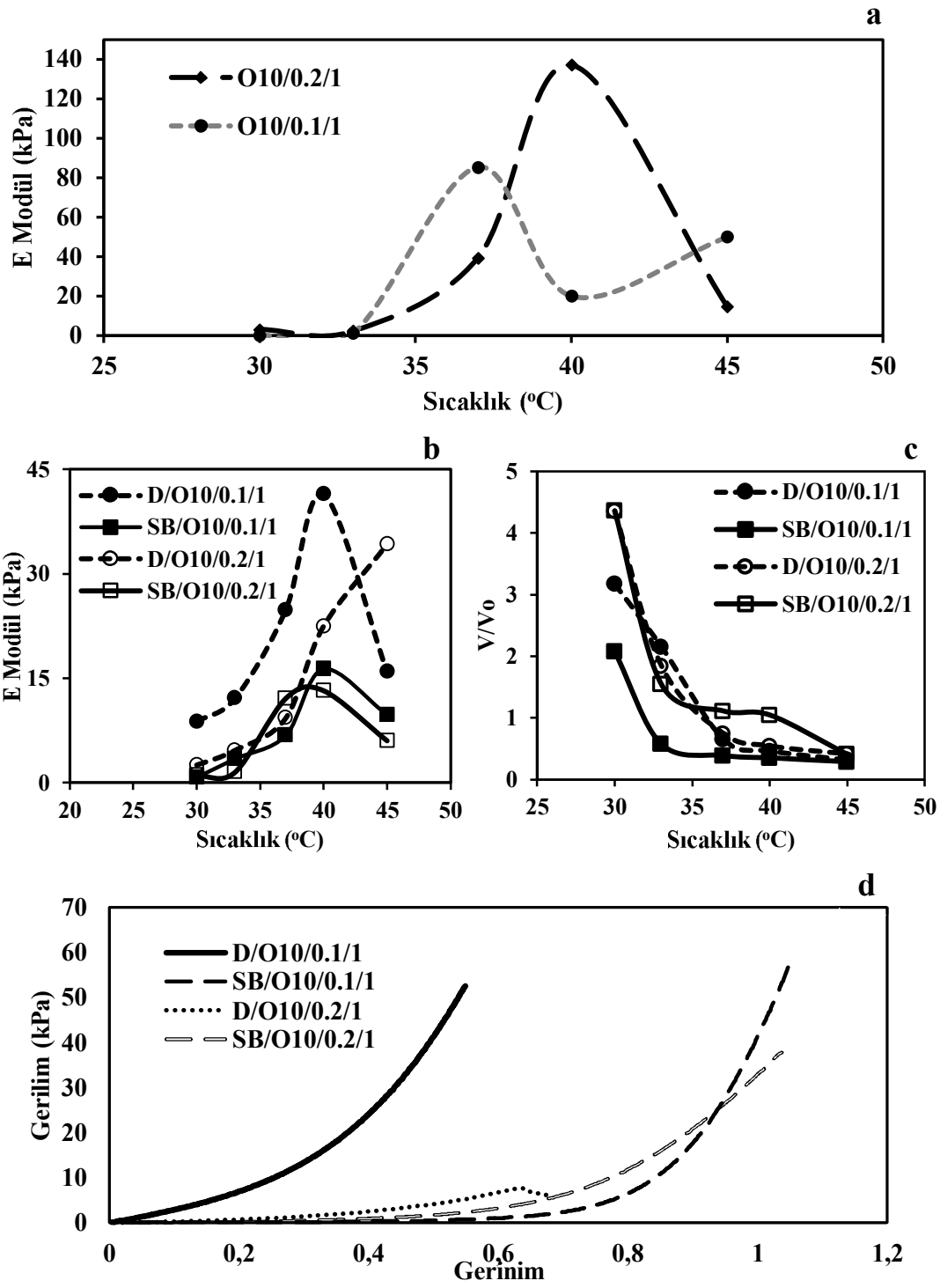
sıkıştırma modül değerlerinin SB/B/0.1/1 hidrojeline kıyasla daha düşük olmasına sebep olan azalmış zwitteriyonik grup etkileşimlerinin, sıkıştırma testi sonunda test başlığının geri çekilmesi sırasında, polimer zincirlerinin ve kil tabakalarının yönlenmesi sonucu yeniden etkin hale geldiği sonucuna varılmıştır (Şekil 4.34 (b)). SB/O10/0.1/1 hidrojelinin oldukça düşük olan başlangıç modülü (1.10 kPa) ve test başlığının geri çekilmesi sırasında göstermiş olduğu uzama, bu örneğin biyolojik amaçlarla kullanılmaya uygun malzemelere fiziksel ve mekanik özellikler bakımından benzer olduğunu göstermektedir.



Şekil 4.35 : (a) SB/B/0.1/1, (b) SB/O10/0.1/1 ve (c) D/O10/0.1/1 hidrojellerinin sentez sonrası tek eksenli sıkıştırma testlerinin başlangıcı, test süreci ve test sonunda test başlığının geri çekilmesi sırasında örneklere ait disklerin gösterdiği davranış.



Şekil 4.36 : (a) M/B/0.1/1, (b) M/O10/0.1/1 ve (c) M/O10/0.2/1 hidrojellerinin sentez sonrası tek eksenli sıkıştırma testinin tamamlanmasının ardından test başlığının geri çekilmesi ve örneklere ait disklerin gösterdiği davranış.



Şekil 4.37 : 0.1 ve 0.2N NaOH ortamlarında sentezlenmiş PNIPAAm/DMAPMAAm ve PNIPAAm/SBMAAm hidrojellerinin (a) modül-sıcaklık ve (b)V/V_o-sıcaklık eğrileri ile (c) 30°C'daki gerilim-gerinim eğrileri.

M/O10/0.1/1 ve M/O10/0.2/1 hidrojelleri ise, çapraz bağlayıcı olarak kullanılan ODA-MMT'nin yapıya hidrofilik katkısı ve süperabsorban hidrojellerin sentezinde kullanılan kuvvetli katyonik bir monomer olan MAPTAC birimleri arasındaki elektrostatik itme kuvvetlerinin etkisiyle mekanik özellikler bakımından oldukça zayıf

şekilde elde edilebilmiştir. M/O10/0.1/1 ve M/O10/0.2/1 hidrojellerinin DDS içerisinde saflaştırılmış ve denge haline gelmiş disklerinin tek eksenli sıkıştırma testleri gerçekleştirilememiş, sıkıştırma modül ve V/V_o değerlerinin sıcaklığa bağlı değişimleri incelenememiştir. Bununla birlikte, örneklerin sentez sonrası herhangi bir saflaştırma yapılmadan kullanılan disklerinde SB/O10/0.1/1 hidrojeline benzer bir uzama davranışı gözlenmiştir. Bu durumun [395] MAPTAC yapısında bulunan ve su molekülleri ile çevrelenen hareketli iyonların (Cl^-) hareketli çapraz bağlanma noktaları şeklinde etki etmesinden kaynaklandığı sonucuna varılmıştır.

0.1N ve 0.2N NaOH çözeltileri içerisinde sentezlenmiş PNIPAAm/ODA-MMT, PNIPAAm/DMAPMAAm ve PNIPAAm/SBMAAm hidrojelleri için modül-sıcaklık ve V/V_o-sıcaklık eğrileri ile, kompozit kopolimer hidrojellerin 30°C'daki gerilim-gerinim eğrileri Şekil 4.37 ile verilmiştir. Şekil 4.37 (a)'da verilen, iki farklı sentez çözücüsü içerisinde sentezlenmiş PNIPAAm/ODA-MMT hidrojellerine bakıldığında, yüksek NaOH konsantrasyonu sebebiyle O10/0.1/1 hidrojeline kıyasla daha hidrofilik bir yapıya sahip olan O10/0.2/1 hidrojelinde faz geçiş sıcaklığı 40°C'a kaymış ve -OH grupları ile sonlanmış çok sayıdaki zincir uçlarının birbirleriyle etkileşimi sonucu da daha yüksek sıkıştırma modül değerleri gözlenmiştir. KPS/0.1N NaOH sistemi içerisinde sentezlenmiş D/O10/0.1/1 ve SB/O10/0.1/1 hidrojelleri sentez sonrası gerçekleştirilen sıkıştırma testlerinde bu örneklere ait disklerin sırasıyla sert ve oldukça esnek yapıda olduğu Şekil 4.35'de verilen fotoğraflarda görülmüştür. Şekil 4.37 ile verilen gerilim-gerinim eğrilerinde, bu örneklerin saflaştırma işlemi ardından uygulanan sıkıştırma testlerinde de benzer davranış gösterdikleri, D/O10/0.1/1 hidrojelinin sert ve dayanıklı, SB/O10/0.1/1 hidrojelinin ise esnek ve dayanıklı olduğu görülmektedir.

D/O10/0.2/1 ve SB/O10/0.2/1 hidrojelleri ise, yüksek NaOH konsantrasyonunun sonucu olarak artan hidrofilik özellik sebebiyle KPS/0.1N NaOH sistemi içerisinde sentezlenmiş eşdeğerlerine göre daha düşük dayanıma ve daha yüksek V/V_o değerlerine (30°C'da) sahiptir (Şekil 4.37).

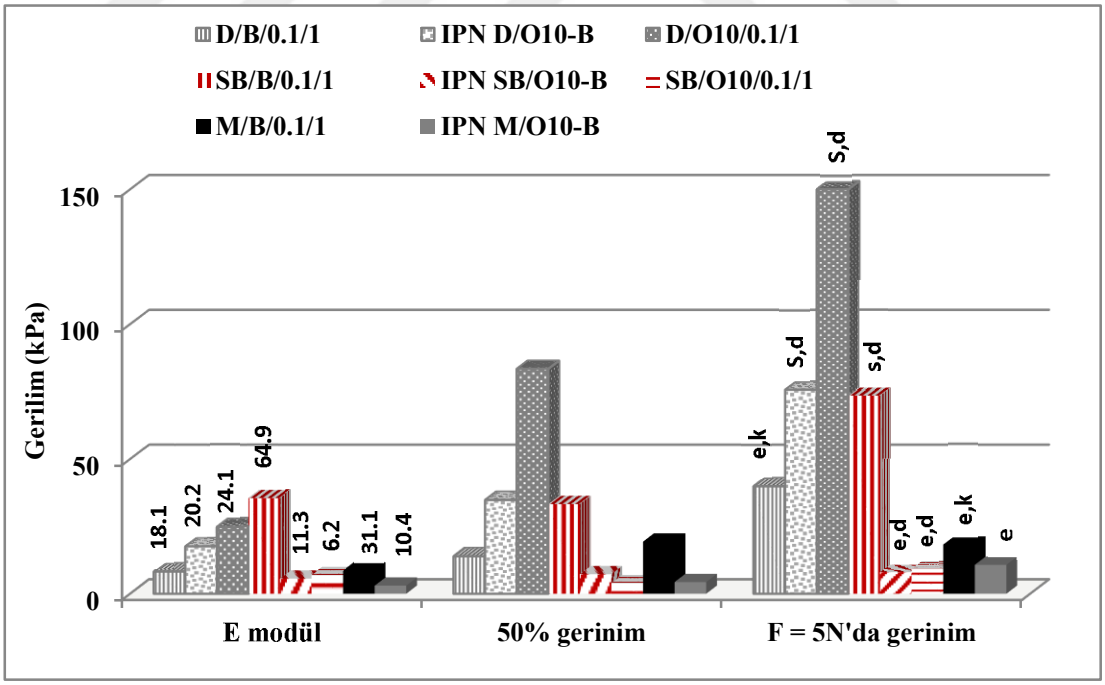
4.2.1.3. PNIPAAm Esaslı tam-IPN Hidrojellerin Tek Eksenli Sıkıştırma Testleri

Tam-IPN'ler, herbiri ayrı ayrı çapraz bağlı olan iki ya da daha fazla polimer şebekesinin polimerik boyutta içiçe geçmiş halde olduğu, birbirlerine kimyasal bağlarla bağlı olmamalarına rağmen birbirlerinden ayrılmayan ağ yapılar bütünüdür.

Tam-IPN örgüsünü oluşturan herbir çapraz bağlı polimer kendine ait yapısal özellikleri korur ve farklı ağyapıların birarada oluşu ile oluşan sinerjik etki, bireysel polimer zincirlerine kıyasla yapısal özellikler bakımından iyileşmiş bir polimer şebekesi elde edilmesini sağlar.

Bu çalışmada sentezlenmiş esnek ve kırılgan özelliğe sahip D/B/0.1/1 hidrojelleri, çapraz bağlayıcı bileşenin BIS'den ODA-MMT'ye değiştirilmesi ile sert ve dayanıklı hale gelmişlerdir (Şekil 4.22, Şekil 4.38). SB/O10/0.1/1 ve SB/O10/0.2/1 hidrojellerinin 30°-45°C aralığında gerçekleştirilen tek eksenli sıkıştırma testleri ise, bu örneklerin BIS ile çapraz bağlanmış eşdeğerlerine kıyasla (SB/B/0.1/1 ve SB/B/0.2/1) dayanım ve modül değerleri bakımından daha zayıf olduğunu göstermiştir.

M/O10/0.1/1 ve M/O10/0.2/1 hidrojellerinde, kuvvetli katyonik MAPTAC varlığı ve ODA-MMT tabakalarının hidrofilik etkileri sebebiyle çok yüksek şişme dereceleri ve zayıf mekanik özellikler ortaya çıkmıştır. Bu sebeple M/O10/0.1/1 ve M/O10/0.2/1 hidrojellerin 30°-45°C aralığındaki hiçbir sıcaklık değerinde V/V_o değerleri belirlenememiş, tek eksenli sıkıştırma testleri gerçekleştirilememiştir.



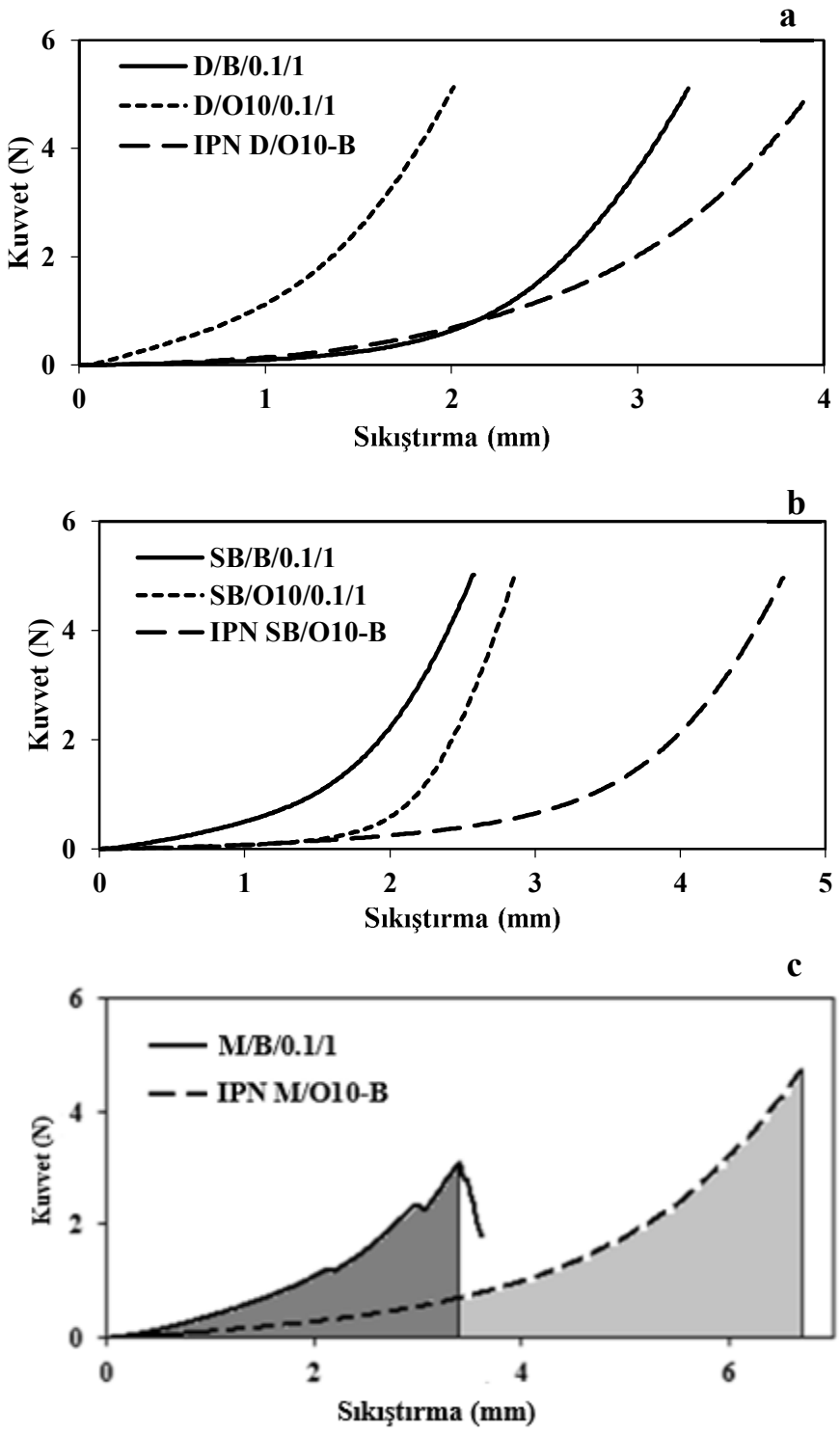
Şekil 4.38 : mgkNH, mkkNH ve m(IPN)kNH'lerinin 37°C'daki sıkıştırma modül değerleri ile, %50 gerinim değerlerine karşılık gelen gerilim değerleri ve 5N'luk yük altındaki gerilim değerleri. Barlar üzerindeki değerler, örneklerin 37°C'daki çapraz bağ yoğunluğu (mol/m^3) değerleridir. (e: esnek s: sert d: dayanıklı k: kırılgan)

Bu çalışmanın temel amaçlarından biri, mekanik özellikleri değiştirilmiş/iyileştirilmiş kompozit PNIPAAm hidrojellerinin sentezlenmesidir. Bu sebeple, PNIPAAm/MAPTAC ve PNIPAAm/SB mkkNH'leri sıkıştırma modülü ve dayanım gibi mekanik özelliklerinin iyileştirilmesi, PNIPAAm/DMAPMAAm hidrojeli ise kıyaslamanın tüm grup için sağlıklı şekilde yapılabilmesi amacıyla tam-IPN'leri şeklinde sentezlenmişlerdir. Şekil 4.38'de, NIPAAm esaslı modifiye tam-IPN kopolimer hidrojellerin (m(IPN)kNH) 37ºC'da gerçekleştirilen tek eksenli sıkıştırma testlerinden elde edilen sıkıştırma modül değerleri, geleneksel ve kompozit kopolimer hidrojellerin modül değerleri ile karşılaştırmalı olarak verilmiştir.

Şekil 4.39'da, NIPAAm esaslı tam-IPN hidrojellerin 37ºC'da gerçekleştirilen tek eksenli sıkıştırma testlerinden elde edilen kuvvet-sıkıştırma eğrileri geleneksel ve kompozit kopolimer hidrojellerin kuvvet- sıkıştırma eğrileri ile karşılaştırmalı olarak sunulmuştur.

Buna göre; D/B/0.1/1, D/O10/0.1/1 ve IPN/DO10-B hidrojelleri için Şekil 4.39 (a) ile verilen kuvvet- sıkıştırma eğrileri, IPN/DO10-B'nin, BIS ve ODA-MMT ile çapraz bağlanmış eşdeğerlerine kıyasla uygulanan kuvvet etkisiyle ($F \geq 1N$) daha fazla sıkıştırılabildiğini göstermektedir. Yapısında her iki çapraz bağlayıcı bileşeni de bulunduran IPN/DO10-B hidrojelinde, içiçe geçmiş ağ yapıyı oluşturan polimer zincirlerinin hareketi sonucu, D/B/0.1/1 ve D/O10/0.1/1 hidrojellerine kıyasla daha yüksek sıkıştırma yapılabilmektedir.

Şekil 4.39 (b), IPN/SBO10-B, SB/B/0.1/1 ve SB/O10/0.1/1 hidrojelleri için 37ºC kuvvet-sıkıştırma eğrilerini sunmaktadır. IPN/SBO10-B hidrojeli, 37ºC'da SB/B/0.1/1, SB/O10/0.1/1 hidrojellerinden daha düşük sıkıştırma modül değerlerine sahip olmakla birlikte (Şekil 4.38), kıyaslandığı geleneksel ve kompozit PNIPAAm/SBMAAm hidrojellerinden belirgin şekilde daha dayanıklıdır (Şekil 4.39 (b), Şekil 4.38). Şekil 4.39 (c)'de ise, IPN/MO10-B ve M/B/0.1/1 hidrojellerine ait kuvvet-sıkıştırma eğrileri verilmiştir. Bir kuvvet-sıkıştırma grafiğinde, eğrinin elastik deformasyon bölgesini ifade eden doğrusal kısmının altında kalan alan malzemenin rezilyansı (esneklik, toparlanma) olarak ifade edilir. Rezilyans, malzemenin uygulanan kuvvet karşısında elastik deformasyon limitleri içerisinde absorplayabildiği maksimum enerji miktarıdır [32].



Şekil 4.39 : (a) IPND/O10-B, D/B/0.1/1 ve D/O10/0.1/1, (b) IPNSB/O10-B, SB/B/0.1/1 ve SB/O10/0.1/1, (c) IPNM/O10-B ve M/B/0.1/1 hidrojellerinin 37°C'daki kuvvet-sıkıştırma eğrileri.

Malzeme üzerine elastik deformasyon limiti içerisinde uygulanan kuvvet kaldırıldığında, malzeme absorplamış olduğu enerjiyi sıkıştırılmış bir yayın gevşemesine benzer şekilde bırakır ve orijinal haline geri döner. Kuvvet sıkıştırma

grafiğinde eğri altında kalan toplam alan ise, dayanım (toughness) olarak adlandırılır. Dayanım, malzemenin test süresi boyunca absorplayabildiği toplam enerji miktadır. Şekil 4.39 (c) ile verilen kuvvet-sıkıştırma eğrilerinde, eğri altındaki toplam alanlar için;

$$A_{M/B/0.1/1} < A_{IPN/MO10}$$

ilişkisi mevcuttur. Bu veri IPN/MO10-B hidrojelinin dayanımının geleneksel M/B/0.1/1 jeline kıyasla daha yüksek olduğunu gösterir.

IPN/MO10-B hidrojelinin M/B/0.1/1 hidrojeline kıyasla daha düşük olan 37°C modül değeri de gözönüne alındığında, IPN/MO10-B'nin bu sıcaklıkta ~3N'luk kuvvet etkisi ile kırıldığı gözlenen geleneksel M/B/0.1/1 hidrojeline göre daha esnek ve daha dayanıklı olduğu da görülmektedir.

4.3. PNIPAAm Hidrojellerinin Dinamik Şişme ve İlaç Salım Kinetiklerinin İncelenmesi

4.3.1. mgNH, mgkNH ve m(IPN)kNH'lerinin Dinamik Şişme Davranışlarının İncelenmesi

Hidrojellerin şişme dereceleri, zamanla artar ve sabit bir değere ulaşır. Bu nokta hidrojelin şişme denge değeri (Q) olarak kabul edilir [229]. Tez çalışması süresince sentezlenmiş hidrojeller arasından seçilen örneklerin PBS içerisinde (pH 7.4) oda sıcaklığındaki dinamik şişme davranışları Dino-Lite AM4113TL model dijital video mikroskop ile incelenmiş, disk şeklindeki hidrojel örneklerin çap ve yükseklik değerlerinden yararlanılarak ve Çizelge 2.4 ile verilen dört farklı matematiksel model kullanılarak şişme kinetikleri belirlenmeye çalışılmıştır.

Hidrojellerin şişme davranışları, bu malzemelerin birer kontrollü ilaç salım sistemi olarak ne şekilde kullanılabileceklerini aydınlatan önemli bir parametredir. Çizelge 4.8'de, seçilen hidrojellerin uygulanan herbir matematiksel modele uygunlukları, ilgili matematiksel modeli tanımlayan doğru denkleminin korelasyon katsayısı (r) ile verilmiştir. En yüksek korelasyon katsayısını veren metematiksel model, madde taşınımını tanımlamada en uygun model olarak kabul edilir.

Çizelge 4.8 : Dinamik şişme verilerinin Çizelge 2.4 ile verilen matematiksel modellere uygunluklarını gösteren korelasyon sabitleri (r).

Örnek	Sıfırıncı mertebe	Birinci mertebe	Higuchi	Korsmayer-Peppas
BIS/0/1	0.941	0.968	**0.994**	0.990
BIS/0.1/1	0.990	0.987	0.987	**0.995**
BIS/0.2/1	0.944	0.974	0.992	**0.994**
M/B/0.1/1	0.983	0.989	0.973	**0.992**
SB/B/0.1/1	0.911	**0.941**	0.934	0.896
D/B/0.1/1	0.905	0.950	0.995	**0.995**
D/O10/0.1/1	0.981	0.992	0.936	**0.993**
IPN/DO10-B	0.978	**0.979**	0.954	0.971
IPN/MO10-B	0.933	**0.985**	0.947	0.983
IPN/SBO10-B	0.953	**0.993**	0.992	0.990

Çizelge 4.9 : Hidrojel ağyapıların PBS (pH 7.4) içerisinde ve oda sıcaklığındaki dinamik şişme proseslerine ait Korsmayer-Peppas difüzyon parametreleri ve korelasyon sabitleri.

Örnek	n	k (1/sn) ($x10^{-3}$)	D (cm^2/sn) ($x10^{-6}$)	Korelasyon sabiti (r)
BIS/0/1	0.546	9.17	1.27	0.990
BIS/0.1/1	0.817	0.74	5.78	0.995
BIS/0.2/1	0.568	5.28	1.81	0.994
M/B/0.1/1	0.682	4.24	1.96	0.991
SB/B/0.1/1	0.926	0.65	4.49	0.896
D/B/0.1/1	0.431	35.5	1.99	0.995
D/O10/0.1/1	0.939	0.69	6.49	0.993
IPN/DO10-B	0.770	0.43	2.03	0.971
IPN/MO10-B	0.627	1.41	2.05	0.983
IPN/SBO10-B	0.610	2.21	2.20	0.990

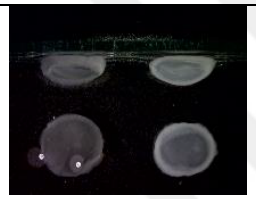
Çizelge 4.8 ile verilen m(IPN)kNH'leri birinci mertebe kinetiğine, BIS/0/1 ise Higuchi modeline uygun bir difüzyon davranışı göstermiş olmakla birlikte bu hidrojellerin Korsmayer-Peppas modeline de yüksek oranda uygunluk gösterdikleri görülmüştür.

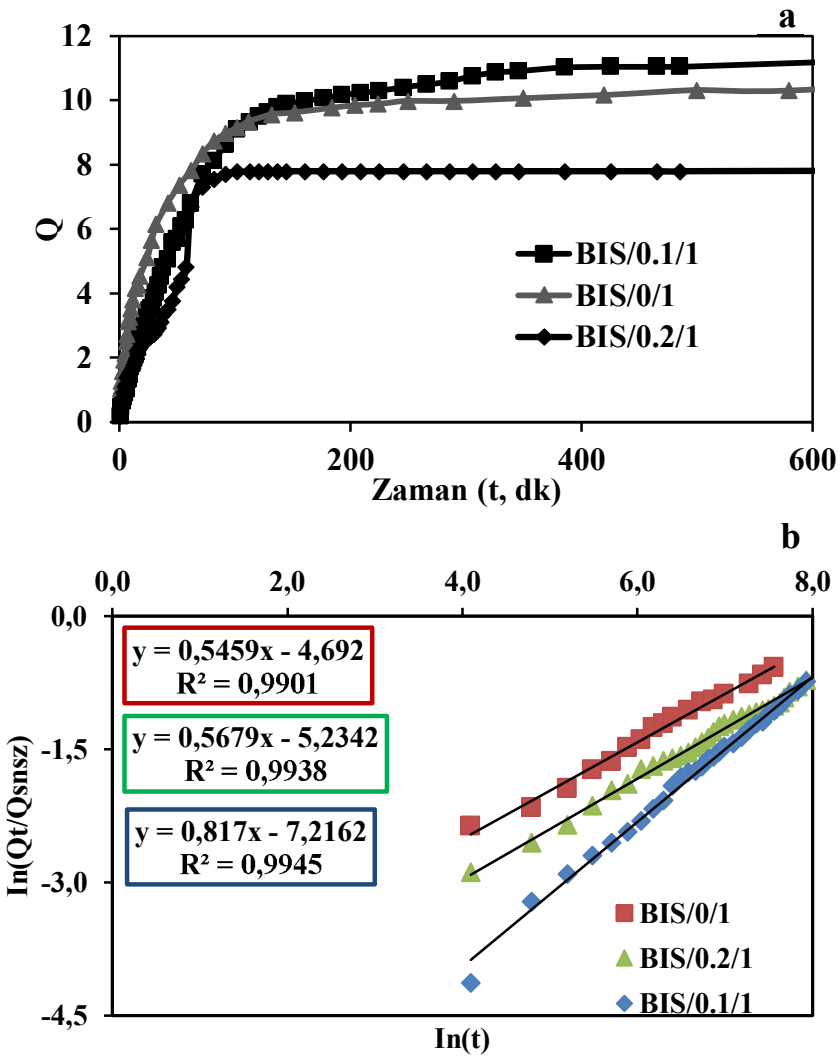
mgNH'lerinin PBS (pH 7.4) içerisindeki şişme prosesi için, BIS/0/1 ve BIS/0.2/1 hidrojellerine ait n değerleri ~0.5'dir. Dolayısıyla, bu hidrojeller için difüzyon kontrollü bir şişme sözkonusudur. BIS/0.1/1 hidrojelinde ise sentez, mgNH'leri için en uygun sentez ortamı olduğu belirlenen 0.1N NaOH çözeltisi içerisinde gerçekleşmiştir. Bu sentez ortamı, serbest radikal çözelti polimerizasyonu ile ilerleyen ve APS ya da

KPS'in başlatıcı olarak kullanıldığı polimerizasyon reaksiyonlarında, sentez ortamındaki radikalik türlerin cinsini önemli ölçüde değiştirmektedir [292-294]. 0.1N NaOH'in sentez çözücüsü olarak kullanıldığı polimerizasyon raksiyonlarında bir kısım PNIPAAm zincir ucunun -OH grupları ile sonlanması beklenir. BIS/0.1/1 hidrojelinde, zincir uçlarında bulunabilecek -OH grupları arasında kurulması beklenen hidrojen bağları BIS/0.1/1 hidrojelinde relaksasyon kontrollü bir davranışın gözlenmesine sebep olmuştur. Bu yorum, BIS/0.1/1 hidrojeli için, DDS içerisinde 37ºC'da gerçekleştirilmiş tek eksenli sıkıştırma testlerinden elde edilen oldukça yüksek modül değerleri ile de desteklenmektedir. Öte yandan, BIS/0.2/1 hidrojelinde 30º-45ºC aralığındaki oldukça düşük sıkıştırma modülü değerleri, bu ağyapıdaki -OH sonlu PNIPAAm zincir uçlarının, hidrojen bağları aracılığıyla etkileşerek ağyapının hidrofobik karakterine katkıda bulunmaktan çok su molekülleri ile etkileştiği şeklinde yorumlanmıştır. BIS/0.2/1 hidrojelinde gözlenen difüzyon kontrollü şişme davranışının bu etkileşimlerin sonucu olarak ortaya çıktığı sonucuna varılmıştır.

BIS/0/1, BIS/0.1/1 ve BIS/0.2/1 hidrojellerinin, oda sıcaklığında PBS içerisindeki zamana bağlı şişme davranışları ve disk şeklindeki örneklerin çap-yükseklik ölçümlerinin eşzamanlı olarak alınmasını sağlayan özel düzenekte, Dino-Lite dijital görüntüleme sistemi ile elde edilmiş fotoğrafları sırasıyla Şekil 4.40 ve Çizelge 4.10'da verilmiştir.

Çizelge 4.10 : BIS/0.1/1 ve BIS/0.2/1 hidrojellerinin oda sıcaklığında Dino-Lite görüntüleme sistemi ile belirlenen zamana bağlı boyut değişimleri.

	t_{0dk}	t_{30dk}	t_{60dk}	t_{90dk}
BIS/0.1/1 – BIS/0.2/1				
	t_{120dk}	t_{240dk}	t_{480dk}	t_{600dk}
				



Şekil 4.40 : BIS/0/1, BIS/0.1/1ve BIS/0.2/1 hidrojelleri için; (a) zamana bağlı şişme davranışları ve (b) $In\left(\frac{Q_t}{Q_\infty}\right)$-In(t) eğrileri.

Şekil 4.40, hidrojellerin denge halindeki şişme derecelerinin;

BIS/0.1/1 > BIS/0/1 > BIS/0.2/1

sırasında değiştiğini göstermektedir.

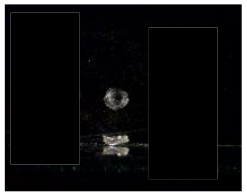
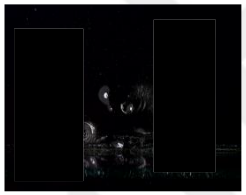
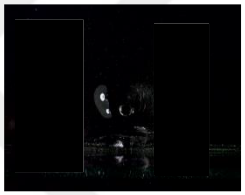
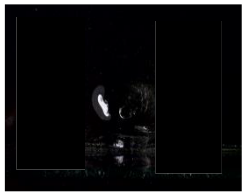
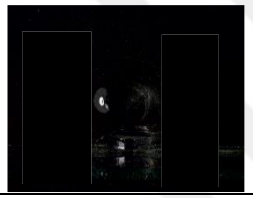
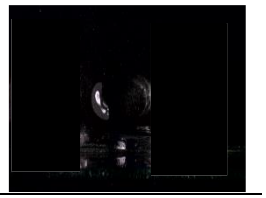
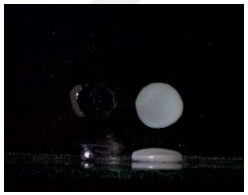
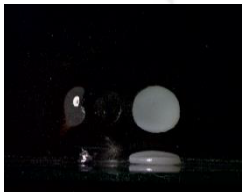
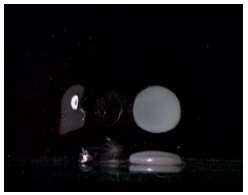
Çizelge 4.10 ile verilmiş olan fotoğraflarda ise, özellikle BIS/0.2/1 hidrojeli için, non-Fickian difüzyon modeli teorisinde, kuru haldeki polimerde çözücü absorpsiyonu süresince, kuru ve şişmiş polimer bölgelerini ayıran keskin bir hattın zamanla doğrusal şekilde hareket etmekte olduğu varsayımını görsel olarak vurgulayan bir şişme dinamiğinin sözkonusu olduğu açık şekilde görülebilmektedir. BIS/0.2/1 hidrojelinde, BIS/0.1/1 hidrojeline kıyasla daha opak bir görünüm olup, bu fiziksel bulgu 0.2 N NaOH ortamında sentezlenmiş PNIPAAm hidrojelinin 0.1 N NaOH ortamında sentezlenmiş BIS/0.1/1 hidrojeline kıyasla daha heterojen bir yapıya sahip olduğu

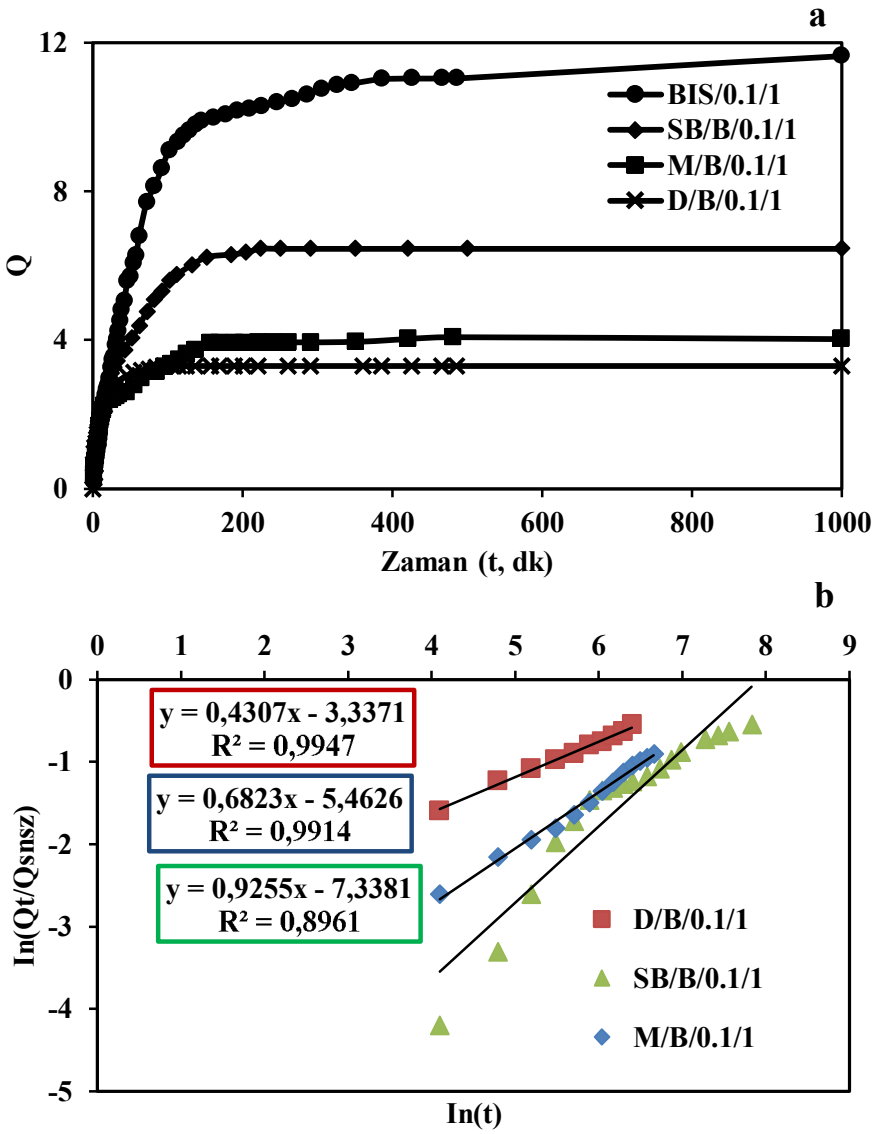
şeklinde yorumlanabilir. Teori tarafından vurgulanan, kuru ve şişmiş polimer bölgelerini ayıran hattın, daha homojen bir ağyapıya sahip olması sebebiyle BIS/0.1/1 hidrojelinde gözlenemediği sonucuna varılmıştır.

Şekil 4.2 (Bölüm 4.1.1.1 (Syf. 92)) ile verilen, 2 haftalık polimerizasyon süresi ile sentezlenmiş PNIPAAm hidrojellerine ait sentez sonrası fotoğraflar, bu ifadeyi destekler fiziksel görünümü göstermektedir. Şekil 4.2 ve Çizelge 4.10, NaOH çözeltilerinin polimerizasyon reaksiyonlarının başlama sürecini hızlandırdığı ve ekzotermik polimerizasyon reaksiyonu sonucu yarı opak ya da tam opak görünüme sahip heterojen ağyapılar oluşturduğunu göstermektedir. BIS/0/2, BIS/0.1/2, BIS/0.2/2 ve hidrojelleri için fiziksel görünümler sırasıyla, saydam, yarı opak, opak şeklindedir.

D/B/0.1/1, M/B/0.1/1 ve SB/B/0.1/1 hidrojelleri için Çizelge 4.9 ve Şekil 4.41 (b) ile verilen n değerleri sırasıyla 0.43, 0.68 ve 0.93'tür. pKa değeri = 8 – 9 olan DMAPMAAm komonomerinin % 2.5 (mol) oranında kullanıldığı D/B/0.1/1 hidrojelinde Fick'e uygun yani şişmenin çözücü difüzyonu tarafından belirlendiği bir difüzyon davranışı gözlenirken, M/B/0.1/1 ve SB/B/0.1/1 hidrojellerinde, Fick'e uygun olmayan ($0.5 < n < 1.0$) yani hem difüzyon hem de relaksasyon kontrollü bir davranışın varlığı gözlenmiştir. M/B/0.1/1 hidrojeli için, $0.5 < n < 1$ olup ağyapı relaksasyonu ve çözücü difüzyonunun birlikte etkin olduğu bir durumun varlığını ifade ederken, SB/B/0.1/1 hidrojelinde, difüzyon hızının ağyapının relaksasyon hızından daha büyük olduğu ve şişmenin ağyapı relaksasyonuna kuvvetle bağlı olduğu bir şişme dinamiği sözkonusudur. Zwitteriyonik yapılı SBMAAm'in komonomer olarak kullanıldığı modifiye kopolimer hidrojelin SBMAAm birimlerindeki pozitif ve negatif yüklü bölgelerin zincir içi etkleşimleri hidrofobik bir etki yaratırken, bu birimlerin zincirler arası etkileşimleri ikincil çapraz bağ etkisi yaratır. Bu yolla SB/B/0.1/1 hidrojelinin şişmesi zorlaşır ve M/B/0.1/1 hidrojeline kıyasla daha relaksasyon kontrollü bir davranışa sahip olur. Kalıcı katyonik gruplar taşıyan MAPTAC komonomeri varlığında sentezlenmiş M/B/0.1/1 hidrojelinde ise, katyonik grupların birbirlerine uyguladıkları itme kuvvetinin sonucu olarak hem difüzyon kontrollü hem de relaksasyon kontrollü bir şişme davranışı gözlenmiştir.

Çizelge 4.11 : SB/B/0.1/1, M/B/0.1/1 ve D/B/0.1/1 hidrojellerinin oda sıcaklığında Dino-Lite görüntüleme sistemi ile belirlenen zamana bağlı boyut değişimleri.

	t_{0dk}	t_{30dk}	t_{60dk}	t_{90dk}
SB/B/0.1/1				
	t_{120dk}	t_{240dk}	t_{480dk}	t_{600dk}
				
	t_{0dk}	t_{30dk}	t_{60dk}	t_{90dk}
M/B/0.1/1 - D/B/0.1/1				
	t_{120dk}	t_{240dk}	t_{480dk}	t_{600dk}
				



Şekil 4.41 : D/B/0.1/1, SB/B/0.1/1 ve M/B/0.1/1 hidrojelleri için; (a) zamana bağlı şişme davranışları ve (b) $In\left(\frac{Q_t}{Q_\infty}\right)$-In(t) eğrileri.

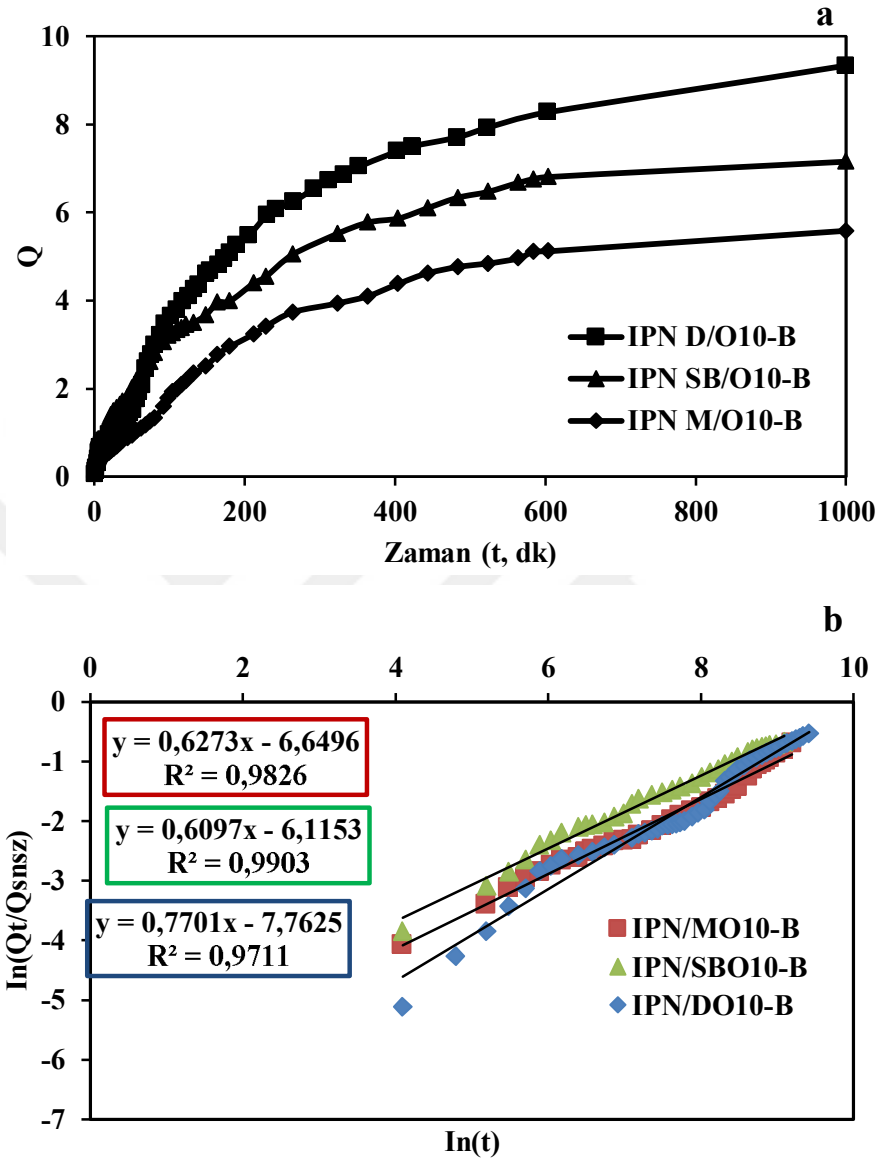
D/B/0.1/1 hidrojelinde ise, amit yapısının serbest su molekülleri üzerindeki pertürbasyon etkisine ilaveten, yapıdaki -N-H ve -C=O gruplarıyla zincir uçlarında bulunan -OH grupları arasındaki etkileşimler bu hidrojelde M/B/0.1/1 ve SB/B/0.1/1 hidrojellerine kıyasla daha düşük Q değeri gözlenmesine sebep olmuştur.

Şekil 4.41 (a)'da BIS/0.1/1, D/B/0.1/1, SB/B/0.1/1 ve M/B/0.1/1 hidrojellerinin PBS içerisinde oda sıcaklığındaki dinamik şişme eğrileri verilmiştir. BIS/0.1/1 hidrojeli mgkNH'lerinden daha yüksek şişme denge değerine sahipken, zwitteriyonik yapıdaki SBMAAm'in komonomer olarak kullanıldığı SB/B/0.1/1 hidrojeli mgkNH'leri arasında en yüksek şişme denge değerine sahiptir.

Ninni ve ark. tarafından yapılan çalışmada, PNIPAAm/AMPS/MAPTAC hidrojellerinin NaCl çözeltileri içerisindeki büzülme davranışları incelenmiş, PNIPAAm/AMPS/MAPTAC – 0.95:0.05:0 (mol/mol) hidrojelinin 5.10^{-3}M'lık NaCl konsantrasyonunda hacim faz geçişi gösterdiği, ayrıca artan MAPTAC konsantrasyonu ile faz geçişinin gözlendiği tuz konsantrasyonunda yükseliş gözlendiği ifade edilmiştir [398]. Bu çalışmada aynı zamanda, 0.95:0.025:0.025 (mol/mol) hidrojelinin de 5.10^{-1}M NaCl konsantrasyonunda hacim faz geçişi gösterdiği rapor edilmiştir. P(AAm/MAPTAC) hidrojellerinin DDS, NaCl ve $CaCl_2$ çözeltileri (0.15M) içerisindeki şişme davranışlarının incelendiği bir diğer çalışmada ise, hidrojellerin NaCl çözeltisi içerisindeki şişme değerlerinin $CaCl_2$ çözeltisi içerisindeki şişme değerlerinden daha yüksek olduğu ve bunun aynı konsantrasyonlu tuz çözeltileri arasındaki iyonik şiddet farkından kaynaklandığı ifade edilmiştir [394]. Çalışmada, yüksek iyonik şiddete sahip çözeltilerde, MAPTAC'ın kuvaterner amin grubu ile tuz çözeltisi içerisindeki iyonlar arasında oluşan iyonik komplekslerin hidrojelin çapraz bağ yoğunluğunu arttırdığı, bunun sonucu olarak şişme derecelerinin düştüğü ifade edilmiştir. Bu çalışmada sentezlenen M/B/0.1/1 hidrojeli, 0.15M konsantrasyonlu PBS içerisinde BIS/0.1/1 ve SB/B/0.1/1 hidrojellerine kıyasla daha düşük denge şişme değerine sahiptir. Bu durumun MAPTAC kuvaterner amin grupları ile tampon çözelti iyonları arasındaki iyonik kompleks oluşumundan kaynaklandığı sonucuna varılmıştır. Bu sonuç, M/B/0.1/1 hidrojelindeki hareketli Cl^- iyonlarının su molekülleri ile çevrelenmesi yoluyla oluşan kafeslerin, sıkıştırma modülü değerlerinde yükselişe sebep olduğu yorumunu da desteklemektedir.

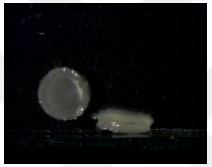
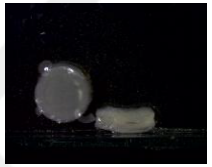
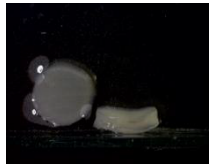
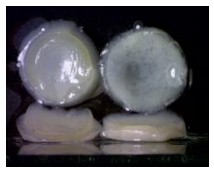
IPN M/O10-B, IPN SB/O10-B ve IPN D/O10-B hidrojellerinin zamana bağlı şişme davranışları ile bu hidrojellerin oda sıcaklığında Dino-Lite görüntüleme sistemi ile belirlenen zamana bağlı boyut değişimleri sırasıyla Şekil 4.42, Çizelge 4.12 ile verilmiştir. m(IPN)kNH'lerinde, PBS içerisinde 1. mertebe kinetiğe uygun bir difüzyon davranışı gözlenmiştir. IPN D/O10-B, IPN M/O10-B ve IPN SB/O10-B hidrojelleri için 1. mertebe şişme hız sabitleri (K_1) sırasıyla, $0.004sn^{-1}$, $0.022sn^{-1}$ ve $0.102sn^{-1}$'dir. Dolayısıyla K_1 şişme hız sabitleri dikkate alınarak IPN D/O10-B, IPN M/O10-B ve IPN SB/O10-B sırasında relaksasyon kontrollü davranıştan difüzyon kontrollü davranışa doğru bir geçiş olduğu sonucuna varılmıştır. m(IPN)kNH'leri için 1.mertebe kinetiğine göre daha düşük doğruluk dereceleri vermiş olan Korsmayer-Peppas modelinde de, IPN D/O10-B, IPN M/O10-B ve IPN SB/O10-B hidrojelleri için

n değerleri sırasıyla, 0.770, 0.627 ve 0.610 olarak bulunmuştur. Bu değerler, hidrojellerin şişme davranışları üzerindeki relaksasyon katkısının azaldığı ve difüzyon kontrollü davranışa doğru bir geçiş olduğu yorumunu doğrulamaktadır.



Şekil 4.42 : IPN M/O10-B, IPN SB/O10-B ve IPN D/O10-B hidrojelleri için; (a) zamana bağlı şişme davranışları ve (b) $In\left(\frac{Q_t}{Q_\infty}\right)$-In(t) eğrileri.

Çizelge 4.12 : IPN D/O10-B, IPN M/O10-B ve IPN SB/O10-B hidrojellerinin oda sıcaklığında Dino-Lite görüntüleme sistemi ile belirlenen zamana bağlı boyut değişimleri.

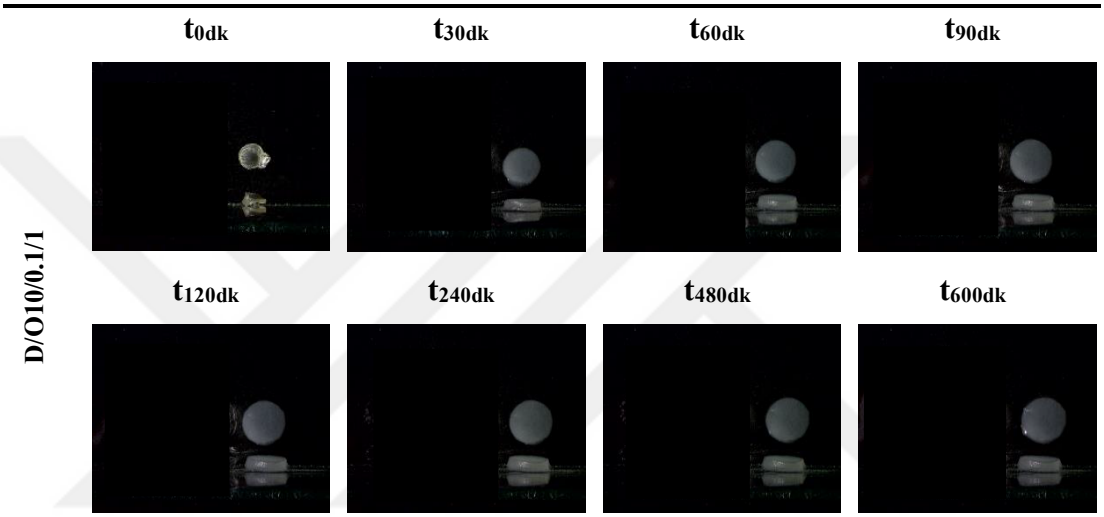
IPND/O10-B	t_{0dk}	t_{30dk}	t_{60dk}	t_{90dk}
				
	t_{120dk}	t_{240dk}	t_{480dk}	t_{600dk}
				
IPNM/O10-B, IPNSB/O10-B	t_{0dk}	t_{30dk}	t_{60dk}	t_{90dk}
				
	t_{120dk}	t_{240dk}	t_{480dk}	t_{600dk}
				

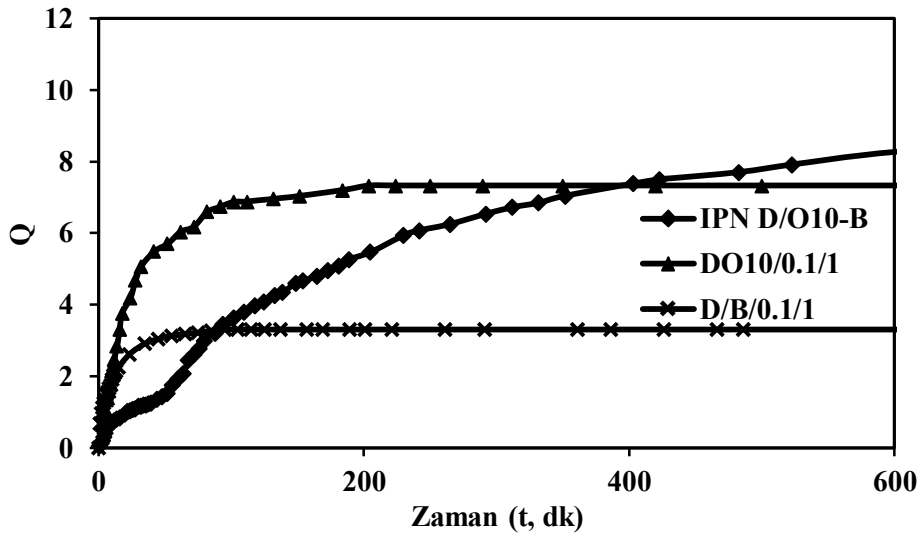
IPN D/O10-B, DO10/0.1/1 ve D/B/0.1/1 hidrojelleri için; zamana bağlı şişme davranışlarının kıyaslandığı Şekil 4.43, denge şişme değerlerinin;

IPN D/O10-B > DO10/0.1/1 > D/B/0.1/1

sıralamasında değiştiğini ve IPN D/O10-B'nin her iki ağyapının da özelliklerini birarada gösteren bir şişme davranışına sahip olduğunu göstermektedir.

Çizelge 4.13 : D/O10/0.1/1 hidrojelinin oda sıcaklığında Dino-Lite görüntüleme sistemi ile belirlenen zamana bağlı boyut değişimleri.





Şekil 4.43 : IPN D/O10-B, DO10/0.1/1 ve D/B/0.1/1 hidrojelleri için; zamana bağlı şişme davranışları.

DO10/0.1/1 kodlu kompozit kopolimer hidrojelde, N,N'-metilenbisakrilamit'in çapraz bağlayıcı olarak kullanıldığı D/B/0.1/1 hidrojeline kıyasla daha yüksek denge şişme

değeri elde edilmiştir. Bununla birlikte, D/O10/0.1/1 ve D/B/0.1/1 hidrojellerinde IPN D/O10-B hidrojeline kıyasla daha yüksek başlangıç hızına sahip ve ~120 dakikada denge değerine oldukça yakın Q değerlerine ulaşan bir şişme davranışı gözlenirken, en kontrollü şişme davranışı IPN D/O10-B hidrojeli tarafından sergilenmektedir. İncelenen hidrojeller arasında en belirgin relaksasyon kontrollü davranışı sergileyen D/O10/0.1/1'de (n=0.939), inorganik çok fonksiyonlu ve hidrofobik özellikli bir çapraz bağlayıcı olan ODA-MMT'nin kullanılmış olması, ağyapının gevşeme/şişme hızının çözücünün ağyapıya difüzyon hızından daha düşük olmasına sebep olurken, BIS ile çapraz bağlanmış D/B/0.1/1 hidrojeli (n=0.431) tamamen difüzyon kontrollü bir şişme davranışına sahiptir. BIS ve ODA-MMT ile çapraz bağlanmış iki farklı ağyapının birarada bulunduğu IPN/DO10-B hidrojelinde ise, farklı ağyapıların şişme özelliklerini birarada gösteren, şişme prosesi üzerinde ağyapı relaksasyonu ve çözücü difüzyonunun aynı ölçüde etkili olduğu (n=0.770) bir şişme davranışı gözlenmiştir.

Çizelge 2.4 ile verilen matematiksel modeller deneysel verilerin sadece ilk % 60'lık kısmına uygulanmıştır. Tüm deneysel verilerin değerlendirildiği Schott modeli kullanılarak yapılan hesaplamalar Korsmayer-Peppas modelinden elde edilen sayısal değerlerle kıyaslamalı olarak Çizelge 4.14 ile verilmiştir.

Çizelge 4.14 : Hidrojel ağyapıların Schott, Korsmayer-Peppas ve 1.mertebe kinetik modelleri uygulanarak hesaplanan difüzyon katsayıları ile M_∞ değerleri (T= 25ºC, PBS pH (7.4)).

Örnek	Korsmayer-Peppas Modeli	Schott Modeli		1.Mertebe	Schott Modeli		
	D (cm^2/sn) ($x10^{-6}$)	D_i (cm^2/sn) ($x10^{-6}$)	D_L (cm^2/sn) ($x10^{-6}$)	D_L (cm^2/sn) ($x10^{-6}$)	D_{ort} (cm^2/sn) ($x10^{-6}$)	M_∞ (teorik)	M_∞ (deneysel)
BIS/0/1	1.27	0.92	0.17	0.29	0.81	10.97	10.99
BIS/0.1/1	5.78	1.43	0.63	1.07	1.12	12.58	11.65
BIS/0.2/1	1.81	1.20	10.30	17.50	1.20	8.48	7.86
M/B/0.1/1	1.96	0.66	0.03	0.05	0.26	4.12	5.21
SB/B/0.1/1	4.49	0.63	0.54	0.92	0.52	6.78	6.46
D/B/0.1/1	1.99	3.61	2.97	5.07	4.28	3.34	3.30
D/O10/0.1/1	6.49	1.20	0.64	1.10	0.96	7.60	7.33
IPN/DO10-B	2.03	0.62	0.47	0.81	0.50	11.25	9.33
IPN/MO10-B	2.05	1.15	1.48	2.53	1.04	6.55	5.58
IPN/SBO10-B	2.20	1.06	1.25	2.14	0.96	7.56	7.16

Çizelge 4.14'de verilen şişme prosesinin başlangıç dönemine ait Schott difüzyon sabiti (D_i) değerleri, ikincil etkileşimlerin ağyapı özellikleri üzerindeki etkilerinin yoğun şekilde gözlendiği BIS/0.1/1, SB/B/0.1/1 ve D/O10/0.1/1 hidrojelleri dışında, Korsmayer-Peppas modeli kullanılarak hesaplanan D değerleri ile uyumludur. Aynı zamanda, deneysel olarak bulunan ağyapı tarafından absorplanmış maksimum çözücü miktarı değerleri (M_∞(deneysel)), Schott modeli ile hesaplanan ve ağyapının absorplayabileceği maksimum çözücü miktarına karşılık gelen M_∞(teorik) değerleri de birbirlerine oldukça yakındır. Sonuç olarak deneysel şişme verilerinin ilk %60'lık kısmına uygulanabilen Korsmayer-Peppas modeli ile tüm şişme prosesi verilerine uygulanabilen Schott kinetik modeli kullanılarak yapılmış hesaplamalar, relaksasyon kontrollü şişme davranışlarının sözkonusu olduğu BIS/0.1/1, SB/B/0.1/1 ve D/O10/0.1/1 hidrojelleri dışında birbiri ile uyumlu sonuçlar vermiş ve sonuçların doğruluğu ile kullanılan kinetik modellerin uygulanabilirliği teyit edilmiştir.

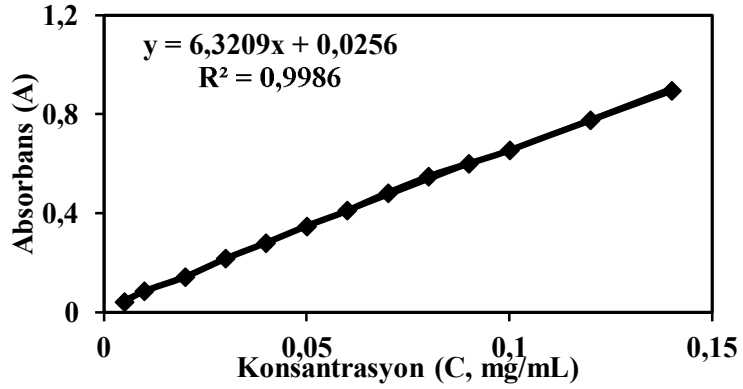
4.3.2. mgNH, mgkNH ve m(IPN)kNH'lerinin Gentamisin Salım Kinetiklerinin İncelenmesi

Tez çalışması süresince sentezi gerçekleştirilmiş olan hidrojeller arasından seçilen, Bölüm 4.3.1'de PBS içindeki şişme davranışları incelenmiş olan hidrojellerin kullanım alanlarının netleştirilebilmesi amacıyla, fizyolojik sıcaklık olan 37°C'daki gentamisin salım davranışları da incelenmiştir. Bu amaçla, seçilen hidrojel örneklere ait disk şeklindeki parçalar, gentamisinin (GS) PBS'deki % 0.2'lik çözeltisi içerisinde, oda sıcaklığında 48 saat bekletmek yoluyla GS yüklenmişlerdir. Ardından sabit tartıma kadar kurutulan GS yüklü hidrojel disklerden, yine PBS içerisinde ve 37°C'daki GS salımı spektrofotometrik yöntemle takip edilmiştir (λ=202 nm).

Ağyapılardan ayrılan GS miktarlarının belirlenmesinde kullanılan GS kalibrasyon grafiği ile bu grafiğin hazırlanmasında kullanılmış olan kalibrasyon çözeltilerinin konsantrasyon ve absorbans değerleri sırasıyla Şekil 4.44 ve Çizelge 4.15 ile verilmiştir. 37°C'da gerçekleştirilen ilaç salım denemelerinden elde edilmiş olan sonuçlar, ağyapıdan ayrılan GS konsantrasyonunun zamana bağlı değişimini gösteren grafikler ile aşağıdaki şekilde sunulmuştur.

Çizelge 4.15 : Gentamisin kalibrasyon grafiğinin hazırlanmasında kullanılan kalibrasyon çözeltilerinin konsantrasyon ve 202nm'de ölçülen absorbans değerleri.

Kalibrasyon çözeltileri			
Konsantrasyon (mg/ml)	**Absorbans**	**Konsantrasyon (mg/ml)**	**Absorbans**
0.005	0.042	0.070	0.482
0.010	0.086	0.080	0.548
0.020	0.143	0.090	0.601
0.030	0.217	0.100	0.655
0.040	0.281	0.120	0.776
0.050	0.348	0.140	0.895
0.060	0.411	0.070	0.482



Şekil 4.44: Gentamisin kalibrasyon grafiği.

Çizelge 4.16 : İlaç salım verilerinin Çizelge 2.4 ile verilen matematiksel modellere uygunlukları.

Örnek	Sıfırıncı mertebe	Birinci mertebe	Higuchi	Hixon Crowell	Korsmayer-Peppas
BIS/0/1	0.870	0.938	0.987	0.978	**0.990**
BIS/0.1/1	0.848	0.911	0.943	**0.990**	0.968
BIS/0.2/1	0.737	0.840	0.900	0.877	**0.995**
M/B/0.1/1	0.848	0.927	0.979	0.922	**0.996**
SB/B/0.1/1	0.676	0.775	0.913	0.638	**0.987**
D/B/0.1/1	0.648	0.772	0.872	0.980	**0.998**
D/O10/0.1/1	0.888	0.948	**0.990**	0.911	**0.992**
IPN/DO10-B	0.641	0.782	0.897	0.933	**0.994**
IPN/MO10-B	0.845	0.985	**0.991**	0.941	**0.991**
IPN/SBO10-B	0.805	0.956	0.976	0.891	**0.997**

Çizelge 2.4 ile verilen matematiksel modellere uygun olarak oluşturulan grafikler için doğruluk dereceleri (r) ve modellerin her bir hidrojel için uygunluğu Çizelge 4.16 ile verilmiştir.

Buna göre 37ºC'da PBS (pH 7.4) içerisinde gentamisin salım kinetikleri incelenen hidrojeller arasından sadece 0.1N NaOH içerisinde 1 haftalık reaksiyon süresi ile sentezlenmiş BIS/0.1/1 kodlu modifiye geleneksel PNIPAAm hidrojeli Hixon Crowell modeline daha yüksek uyum göstermektedir. Hixon Crowell modeli, hidrojel içerisinde mevcut olan ilaç moleküllerinin, madde taşınımı prosesinin başlangıcındaki (t=0) ve taşınım prosesinin sonundaki (t=∞) miktarlarından yola çıkarak, ağyapı için bir madde taşınımı mekanizması ortaya koyar. Ağyapılara yüklenmiş olan GS miktarları, yükleme süresi sonunda, yükleme çözeltilerinin 202nm'deki absorbans değerleri ölçülerek belirlenmiştir. Ağyapılara yüklenen ve ağyapılardan salınan GS miktarları, daha önceden oluşturulmuş olan GS kalibrasyon grafiğinden (Şekil 4.44) yararlanılarak hesaplanmıştır. Gentamisin salım kinetiği incelenen diğer tüm hidrojeller ise Korsmayer-Peppas modeline en yüksek uygunluğu göstermektedirler. Çizelge 4.17'de PNIPAAm hidrojellerinin, PBS içerisinde 37ºC'da kontrollü gentamisin salım prosesine ait Korsmayer-Peppas difüzyon parametreleri ve korelasyon sabitleri verilmiştir.

Çizelge 4.17 : Hidrojel ağyapıların PBS (pH 7.4) içerisinde 37ºC'da GS kontrollü salım prosesine ait Korsmayer-Peppas difüzyon parametreleri ve korelasyon sabitleri.

Örnek	n	k (1/sn) ($x10^{-2}$)	D (cm^2/sn) ($x10^{-7}$)	Korelasyon sabiti (r)
BIS/0/1	0.388	1.73	1.100	0.990
BIS/0.1/1	0.250	3.64	0.016	0.968
BIS/0.2/1	0.210	6.17	0.002	0.995
M/B/0.1/1	0.354	1.71	0.315	0.996
SB/B/0.1/1	0.270	6.55	0.853	0.987
D/B/0.1/1	0.228	7.77	0.091	0.998
D/O10/0.1/1	0.411	1.45	2.800	0.992
IPN/DO10-B	0.266	5.14	0.261	0.994
IPN/SBO10-B	0.366	2.38	1.160	0.997
IPN/MO10-B	0.416	1.73	4.160	0.991

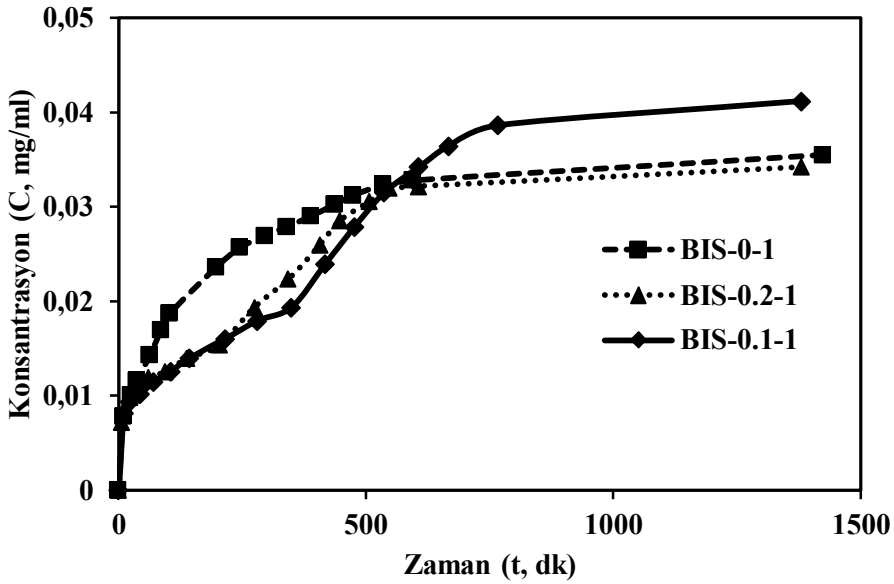
Literatüre sunulan çalışmalarda, kontrollü ilaç salım sistemi olarak kullanılması planlanan ağyapılardan ilaç moleküllerinin difüzyonu prosesi için difüzyon katsayılarının (D) 10^{-6} – 10^{-7} mertebelerinde olduğu [399,400], bir kısım çalımada ise,

düşük difüzyon katsayısına sahip ağyapıların kontrollü bir ilaç salım sistemi olarak daha başarılı olacağı ifade edilmiştir [401]. Kitosan filmlerden gentamisin ve sefotaksim salımının incelendiği bir çalışmada, Korsmayer-Peppas modeline uygun salım davranışı gösteren kitosan filmlerin, oldukça düşük n (0.21-0.31) ve D ($1.5x10^{-11}$ - $91.4x10^{-11}$) değerlerine sahip oldukları rapor edilmiştir. Araştırmacılar bunun, kitosan ve antibiyotik molekülleri arasında hidrojen bağları aracılığıyla kurulan komplekslerden kaynaklandığını ifade etmişlerdir [402].

Bu çalışmada, fizyolojik koşullarda (T=37°C, pH 7.4) GS kontrollü salımı incelenen her üç mgNH'i için n değerlerinin 0.5'in altında olduğu, diğer bir ifade ile bu hidrojellerde difüzyon kontrollü bir GS salım davranışı olduğu görülmüştür. BIS/0/1, BIS/0.1/1 ve BIS/0.2/1 hidrojellerinin sırasıyla 0.388, 0.250 ve 0.210 olan n değerleri, bu hidrojeller için verilen sırada difüzyon kontrollü davranışın belirginleştiğini ve ağyapıdan GS salımının zorlaştığını göstermektedir. mgNH'leri için hesaplanmış olan D değerleri de oldukça düşük olup, bu yorumu destekler şekilde BIS/0/1, BIS/0.1/1 ve BIS/0.2/1 sırasında azalmaktadır.

Sentez çözücüsü ve polimerizasyon hızlandırıcısı olarak kullanılan NaOH çözeltilerinin konsantrasyon artışı ile birlikte GS salımının zorlaşması, ağyapı ile GS molekülleri arasındaki etkileşimin kuvvetlenmesinden kaynaklanabilir. Şekil 3.6 ile verilen GS molekül yapısındaki -NH_2 ve -OH grupları, PNIPAAm zincir uçlarında NaOH etkisi ile oluşmuş ve miktarı NaOH konsantrasyonuna bağlı olan -OH grupları ile hidrojen bağları kurmak yoluyla etkileşebilir ve bu etkileşim ilaç moleküllerinin ağyapıdan ayrılmasını zorlaştırabilir.

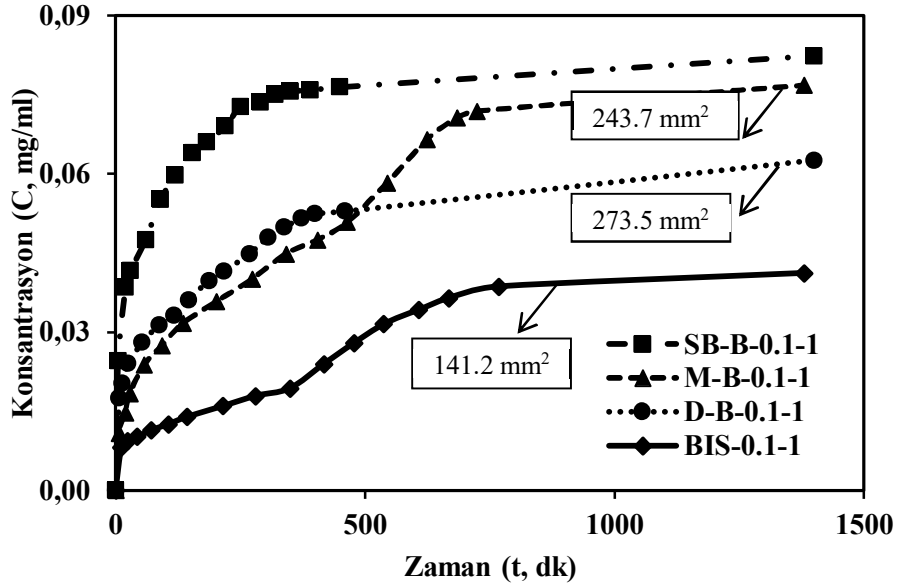
Şekil 4.45 BIS/0.1/1 ve BIS/0.2/1 hidrojellerinde iki basamaklı bir salım davranışının varlığını göstermektedir. NaOH çözeltileri içerisinde sentezlenmiş PNIPAAm/BIS hidrojelleri içerisindeki serbest ve -OH gruplarıyla etkileşim halinde olan GS moleküllerinin iki basamaklı salım davranışlarına sebep olduğu sonucuna varılmıştır. Bununla birlikte, BIS/0/1, BIS/0.1/1ve BIS/0.2/1 hidrojellerinden GS'ın kontrollü salımına ait konsantrasyon – zaman eğrileri (Şekil 4.45) geleneksel sentez prosedürlerinde kullanılan polimerizasyon çözücüsünün (DDS) NaOH olarak modifiye edilmesi yoluyla sentezlenen BIS/0.1/1 ve BIS/0.2/1 hidrojellerinin BIS/0/1 hidrojeline kıyasla daha yavaş ve daha kontrollü bir GS salımı gerçekleştirdiğini de göstermektedir.



Şekil 4.45 : BIS/0/1, BIS/0.1/1ve BIS/0.2/1 hidrojelleri için 37°C'da GS salımına ait konsantrasyon - zaman grafiği.

BIS/0.1/1 hidrojelinin tek eksenli sıkıştırma testleri ile tespit edilmiş 37°C modül değeri (156kPa), yavaş/kontrollü ve yüksek miktarda GS salımı yapabilmesi, PBS içerisindeki şişme davranışının Korsmayer-Peppas modeline en yüksek uygunluğu (r=0.995) göstermekle birlikte sıfırıncı mertebe kinetik modeline de uygun (r=0.990) olması yani konsantrasyondan bağımsız bir şişme davranışına sahip olması, $1.6x10^{-9}$ mertebesindeki düşük ilaç difüzyon katsayısı gibi özellikleri gözönünde bulundurulduğunda, bu hidrojelin kıyaslandığı diğer mgNH'lerine göre bir kontrollü ilaç salım sistemi olarak daha avantajlı olduğu sonucuna varılmıştır.

Şekil 4.46'da, 0.1N NaOH çözeltisi içerisinde sentezlenmiş PNIPAAm geleneksel homopolimer hidrojel ile aynı sentez çözücüsünde, SBMAAm, MAPTAC ve DMAPMAAm komonomerleri varlığında sentezlenmiş mgkNH'lerinden, kontrollü GS salımına ait konsantrasyon – zaman eğrileri verilmiştir. Şekil 4.46, kıyaslandığı kopolimer PNIPAAm hidrojelleri içerisinde en düşük GS salımının BIS/0.1/1 kodlu hidrojele ait olduğunu göstermektedir. Ayrıca, kıyaslanan hidrojeller arasında en düşük inhibisyon alanı da yine bu hidrojel tarafından oluşturulmuştur (141.2 mm^2). mgNH'lerindeki salım etkinlikleri, %15-17 iken yapıda katyonik türlerin bulunduğu SB/B/0.1/1, M/B/0.1/1 ve D/B/0.1/1 hidrojelleri için GS salım etkinlikleri sırasıyla %45.9, %43.6 ve %35.6'dır.



Şekil 4.46 : SB/B/0.1/1, M/B/0.1/1ve D/B/0.1/1 hidrojelleri için 37ºC'da GS salımına ait konsantrasyon - zaman grafiği (inhibisyon alanları ile birlikte).

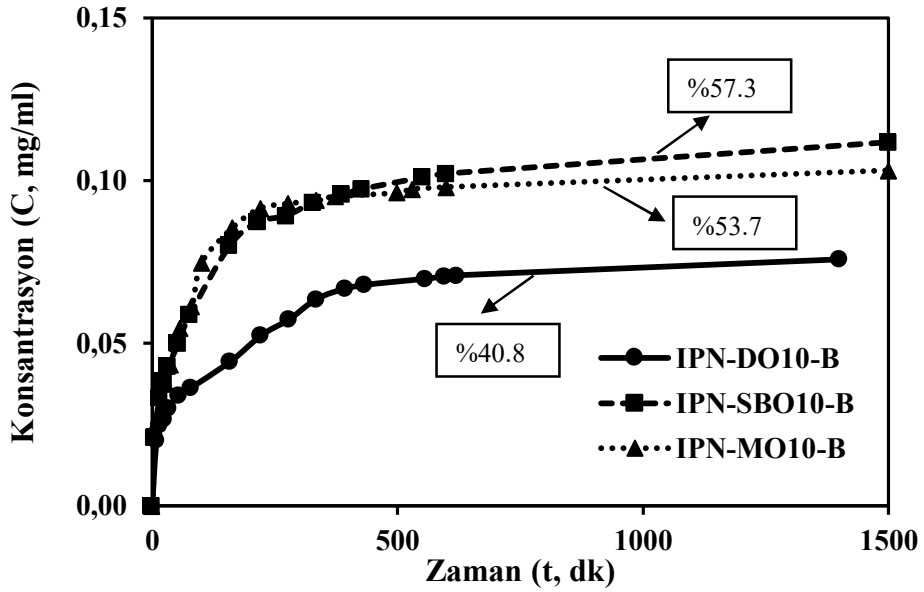
Ayrıca, kıyaslanan hidrojeller arasında en düşük inhibisyon alanı da yine bu hidrojel tarafından oluşturulmuştur (141.2 mm^2). mgNH'lerindeki salım etkinlikleri, %15-17 iken yapıda katyonik türlerin bulunduğu SB/B/0.1/1, M/B/0.1/1 ve D/B/0.1/1 hidrojelleri için GS salım etkinlikleri sırasıyla %45.9, %43.6 ve %35.6'dır. Aminoglikozit türevi geniş spektrumlu bir antibiyotik olan GS'in PBS içerisindeki %0.2'lik çözeltisinde denge haline ulaşmış M/B/0.1/1 ve D/B/0.1/1 hidrojel disklerinin, *E.coli* ekimi yapılmış TSA besiyeri üzerinde oluşturdukları inhibisyon alanları da kıyaslandıkları BIS/0.1/1 hidrojelinden daha yüksek olup sırasıyla 240 mm^2 ve 273 mm^2'dir.

Ayrıca, mgkNH'lerinin Şekil 4.41 ile verilen Q – t grafiğinde görülen denge şişme değerleri sıralanmasına paralel (Q_∞(SB/B/0.1/1) > Q_∞(M/B/0.1/1) > Q_∞(D/B/0.1/1)) bir kontrollü GS salımı yaptığı, PBS içerisinde oda sıcaklığında en yüksek denge şişme değerinin elde edilmiş olduğu SB/B/0.1/1 hidrojelinde, en yüksek ilaç salımının gerçekleştiği görülmüştür. Bununla birlikte en kontrollü ve yavaş GS salımı M/B/0.1/1 hidrojeli tarafından gerçekleştirilmektedir.

Bu çalışmada, NIPAAm molekül yapısına benzer şekilde tersiyer amin grupları taşıyan, kuvvetli katyonik (MAPTAC), zwitteriyonik (SBMAAm) ve pH'a bağlı olarak katyonik özellik gösteren (DMAPMAAm – pKa=8.8) komonomerleri ile katyonik özellikli bir antibiyotik olan GS (pKa=8.2) kullanılmıştır. Bunun sonucu

olarak beklendiği şekilde mgkNH'lerinin ilaç salım etkinlikleri ve inhibisyon alanları mgNH'lerinden daha yüksektir. M/B/0.1/1 hidrojelinin D/B/0.1/1 hidrojeline kıyasla daha düşük olan inhibisyon alanının ise, MAPTAC yapısındaki su molekülleriyle çevrelenmiş Cl^- iyonlarının oluşturduğu ikincil etkileşimlerden kaynaklandığı sonucuna varılmıştır. Şekil 4.46 ile verilen Q – t grafiğinde de, M/B/0.1/1 ve D/B/0.1/1 hidrojelleri için 0-500 dk aralığında benzer bir ilaç salım davranışı gözlenirken, ikincil etkileşimlerin var olduğu düşünülen M/B/0.1/1 ve BIS/0.1/1 hidrojellerinde iki basamaklı bir salım davranışı gözlenmiştir.

Şekil 4.47'de, sentezi 0.1 N NaOH çözeltisi içerisinde gerçekleştirilmiş m(IPN)kNH'lerinin kontrollü GS salımlarına ait konsantrasyon zaman eğrileri verilmiştir.



Şekil 4.47 : IPN/DO10-B, IPN/SBO10-B, IPN/MO10-B hidrojelleri için 37°C'da GS salımına ait konsantrasyon - zaman grafiği (GS salım etkinlikleri ile birlikte (%)).

Şekil 4.47, m(IPN)kNH'leri içerisinde en kontrollü salımı gerçekleştiren IPN/DO10-B hidrojelinin aynı zamanda en düşük denge GS salım değerine de sahip olduğunu göstermektedir.

mgkNH'leri ile m(IPN)kNH'lerinin Çizelge 4.17 ile verilen n değerleri,

M/B/0.1/1 (0.354) > SB/B/0.1/1 (0.270) > D/B/0.1/1 (0.228) ve

IPN M/O10-B (0.416) > IPN SB/O10-B (0.366) > IPN D/O10-B (0.266)

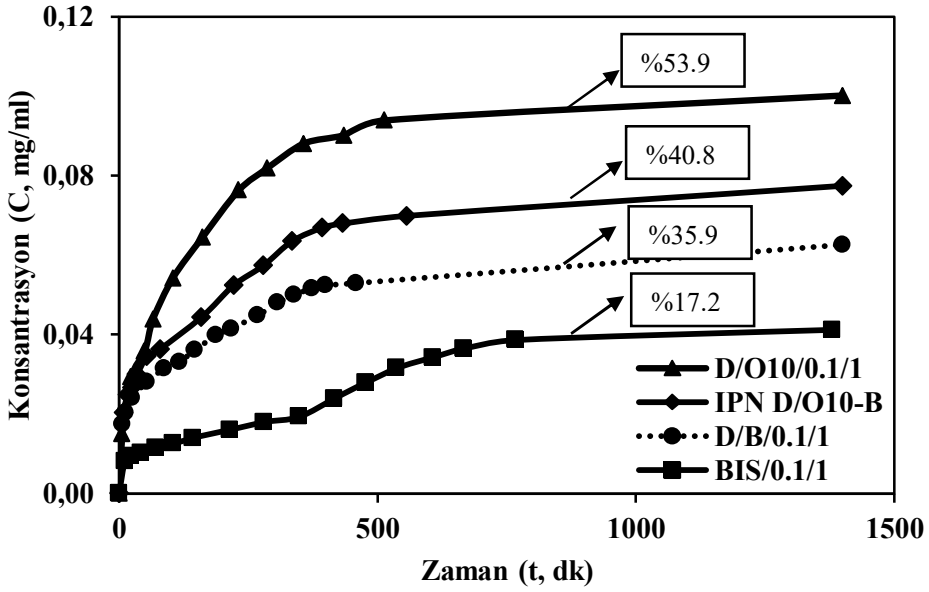
sırasında azalmaktadır. GS (pKa=8.2), PBS (pH 7.4) içerisinde kısmen pozitif yüklü halde bulunacaktır. PNIPAAm/MAPTAC modifiye geleneksel ve modifiye IPN

hidrojellerde, katyonik MAPTAC birimleri ile GS molekülleri arasındaki itme kuvvetlerinin, ilacın ağyapıdan ayrılmasını kolaylaştırdığı sonucuna varılmıştır. PNIPAAm/SBMAAm hidrojellerinde ise, zwitteriyonik komonomer birimleri birbirleriyle zincir içi ve zincirler arası etkileşimlerde bulunabilecekleri gibi GS molekülleri ile de etkileşebilirler. Bunun sonucu olarak, PNIPAAm/SBMAAm hidrojellerinde, GS salımı PNIPAAm/MAPTAC hidrojellerine kıyasla bir miktar daha zorlaşmış olmakla birlikte, PNIPAAm/DMAPMAAm hidrojellerine kıyasla daha kolaydır. IPN D/O10-B hidrojelinde ise, D/B/0.1/1 hidrojeline benzer şekilde su moleküllerinin pertürbasyonu sonucu oluşan ikincil çapraz bağlanmalar sebebiyle GS moleküllerinin ağyapıdan çıkışının zorlaştığı sonucuna varılmıştır.

BIS/0.1/1, IPN D/O10-B, DO10/0.1/1 ve D/B/0.1/1 hidrojelleri için; ilaç salım davranışlarının kıyaslandığı Şekil 4.48, ağyapılardan salınan GS miktarlarının;

DO10/0.1/1> IPN D/O10-B> D/B/0.1/1> BIS/0.1/1

sıralamasında değiştiğini göstermektedir.



Şekil 4.48 : BIS/0.1/1, D/B/0.1/1, IPN D/O10-B ve D/O10/0.1/1 ve hidrojelleri için; 37°C'da GS salımına ait konsantrasyon - zaman grafiği (GS salım etkinlikleri ile birlikte (%)).

Salınan maksimum GS miktarları gözönünde bulundurulduğunda, GS'in salım özelliklerinin mgkNH ve m(IPN)kNH'lerinde, BIS/0.1/1 hidrojeline kıyasla iyileşmiş olduğu sonucuna varılmıştır.

4.4. Geleneksel ve Kompozit Kopolimer Hidrojellerin pH ve Bileşime Bağlı Hacim Faz Geçişleri

Herhangi bir ilacın oral yoldan uygulanacağı tedavilerde, gastrointestinal sistemi oluşturan bölümlerin asidik (mide, pH=2) ve bazik (bağırsaklar, pH=5-8) olmak üzere farklı pH değerlerine sahip bölgelerden oluştuğu mutlak gözönünde bulundurulmalı ve bu amaca yönelik polimer şebekelerinin tasarımına çalışılmalıdır. Bunun dışında, iltihaplı ve yaralı dokuların yanısıra bazı kanserli dokular da oluşum ve ilerleme döngüleri süresince 7.4'den farklı pH değerlerine sahip olabilmektedirler. Örneğin kronik yaraların pH 5.4 -7.4 aralığında pH değerlerine sahip olduğu [403], kanserli dokuların ise hücre dışında asidik özellik gösterdikleri [404,405] literatüre sunulmuş çeşitli çalışmalarda vurgulanmıştır.

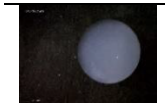
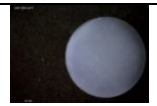
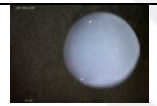
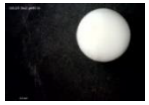
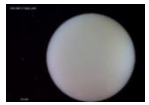
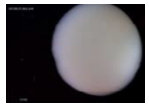
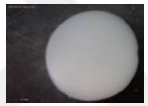
Çizelge 4.18 : Çeşitli dokuların pH değerleri.

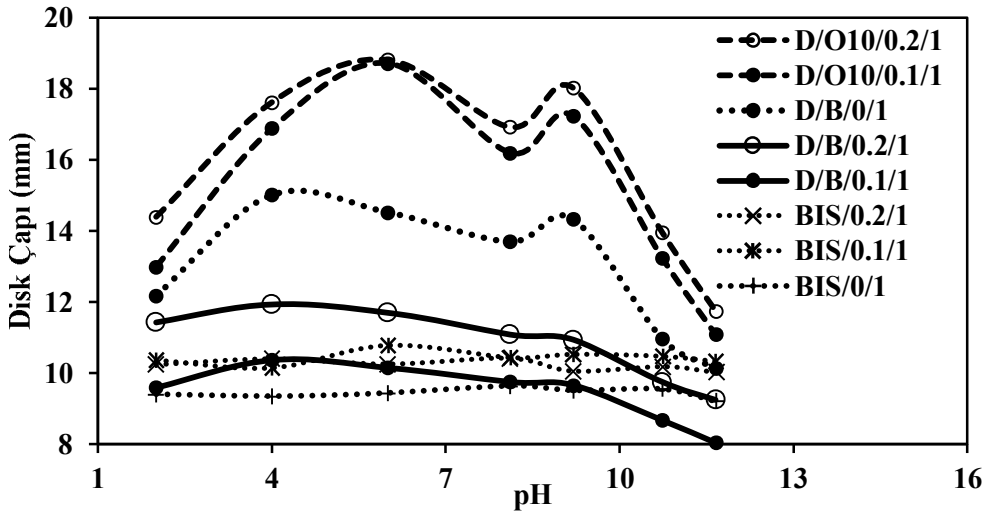
Doku Bölümü	pH
Kan	7.4-7.5
Miğde	1.0-3.0
Duodenum	4.8-8.2
Kolon	7.0-7.5
Kanserli doku, hücre dışı	6.5-7.2

Tez çalışması süresince sentezi gerçekleştirilmiş hidrojeller arasından seçilen örneklerin 30°C'daki pH'a bağlı şişme davranışları pH 2-12 aralığında incelenerek hidrojellerin potansiyel kullanım alanları netleştirilmeye çalışılmıştır. Sabit pH çözeltilerinin hazırlanmasında, ağyapıların tampon çözelti bileşenleri ile etkileşimlerinin önüne geçmek amacıyla NaOH ve HCl çözeltileri kullanılmış, çözeltiler seyreltme yoluyla hazırlanmışlardır.

Çizelge 4.19'da geleneksel ve kompozit kopolimer hidrojellerden seçilen örneklerin oda sıcaklığında dijital mikroskop ile belirlenen pH'a bağlı çap değişimleri verilmiştir (M/B/0/1, M/B/0.1/1, M/B/0.2/1, SB/B/0/1, SB/B/0.1/1 hidrojelleri saydam görünümdedir).

Çizelge 4.19 : mg ve mk kopolimer hidrojellerden seçilen örneklerin oda sıcaklığında dijital mikroskop ile belirlenen pH'a bağlı çap değişimleri.

	pH 2	pH 4	pH 6	pH 8	pH 9.2	pH 10.7	pH 11.7
D/B/0/1							
D/B/0.1/1							
D/B/0.2/1							
D/O10/0.1/1							
D/O10/0.2/1							
SB/B/0.2/1							
SB/O10/0.1/1							
SB/O10/0.2/1							



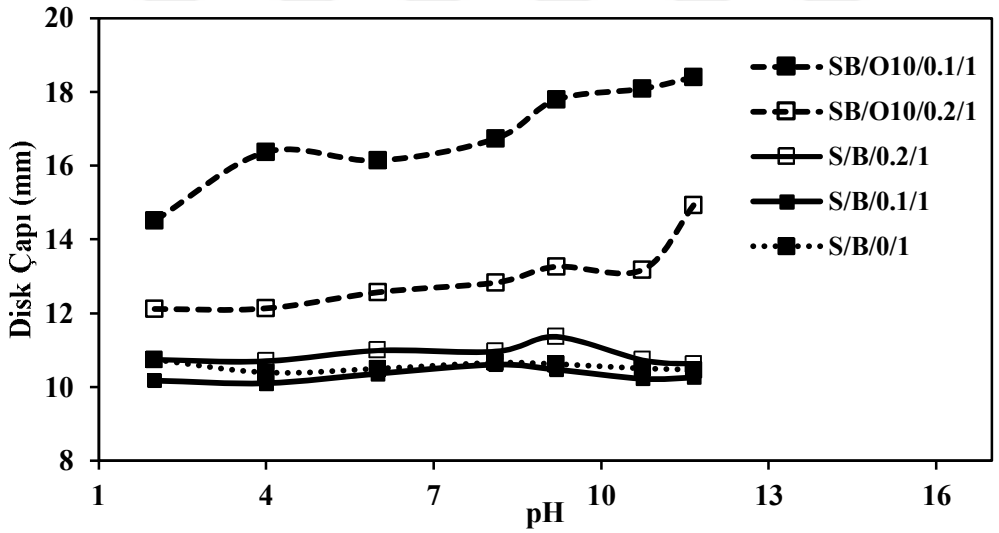
Şekil 4.49 : mgNH'leri ile geleneksel ve kompozit PNIPAAm/DMAPMAAm kopolimer hidrojelleri için 30ºC'da pH'a bağlı disk çapı değişimleri.

Şekil 4.49'da mgNH'leri ile geleneksel ve kompozit PNIPAAm/DMAPMAAm kopolimer hidrojelleri için 30ºC'da pH'a bağlı disk çapı değişimleri verilmiştir. D/B/0/1 hidrojelinin şişme değerleri, pH'a bağlı olarak iyonlaşabilen DMAPMAAm gruplarının elektrostatik itme etkisi ve hidrofilik amit gruplarının da katkısıyla, DMAPMAAm'in pKa değerinin (~8) altındaki pH değerlerinde PNIPAAm/BIS hidrojellerinin şişme değerlerinin üzerinde seyretmektedir. 0.1N ve 0.2N NaOH çözeltileri içerisinde sentezlenmiş D/B/0.1/1 ve D/B/0.2/1 hidrojellerinin disk çapı değerleri de D/B/0/1 hidrojeline göre daha düşüktür (Çizelge 4.19). H_2O moleküllerinin VPTT altında bulunan PNIPAAm hidrojellerindeki izopropil gruplarını düzenli yapılar oluşturacak şekilde çevreledikleri, VPTT üzerinde ise bu düzenli yapıların bozulması ve izopropil grupları arasındaki hidrofobik etkileşimlerin baskın hale gelmesi sonucu PNIPAAm hidrojellerinin hacim faz geçişi gösterdikleri bilinmektedir [386]. Bir başka çalışmada, insülin varlığında sentezlenen pH ve sıcaklığa duyarlı PNIPAAm/DMAPMAAm hidrojellerinin şişme davranışlarının ve su tutma kapasitelerinin pH artışına bağlı olarak bir miktar azaldığı ve pH 8 civarında şişme derecelerinde keskin bir düşüş olduğu rapor edilmiştir [372,406].

D/B/0.1/1 ve D/B/0.2/1 hidrojellerinin özellikle yüksek pH değerlerinde (pH>9) gözlenen düşük disk çapı değerlerinin, zayıf katyonik $-N^+(CH_3)_2H$ gruplarının deprotone olması, amit gruplarıyla zincir uçlarında bulunduğu varsayılan -OH grupları arasında kurulan hidrojen bağlarının hidrofobik etkisi ve DMAPMAAm'in izopropil grupları etrafındaki düzenli H_2O moleküllerini pertürbe edici etkisinin birleşiminden

kaynaklandığı sonucuna varılmıştır. Bu etkileşimlerin sonucu olarak PNIPAAm/DMAPMAAm ağyapıları pH>9 bölgesinde kuvvetle büzülerek, PNIPAAm/BIS hidrojellerinden daha düşük disk çapı değerlerine sahip hale gelmişlerdir.

Şekil 4.49 ile verilen örneklerin pH'a bağlı disk çapı değişimleri, 0.1N ve 0.2N NaOH içerisinde sentezlenmiş kompozit hidrojellerin (D/O10/0.1/1 ve D/O10/0.2/1), D/B/0/1 hidrojeline benzer bir pH duyarlılığına ve daha yüksek şişme değerlerine sahip olduklarını göstermektedir. Ayrıca, ODA-MMT'nin çapraz bağlayıcı olarak kullanıldığı D/O10/0.1/1 ve D/O10/0.2/1 hidrojelleri incelenen pH aralığında D/B/0.1/1 ve D/B/0.2/1 hidrojellerine kıyasla daha yüksek şişme değerlerine sahiptir. Bu durum, MMT hidrofilikliğinin ODA zincirlerinden gelen hidrofobik katkıya baskın gelmiş olabileceği şeklinde açıklanabilir.

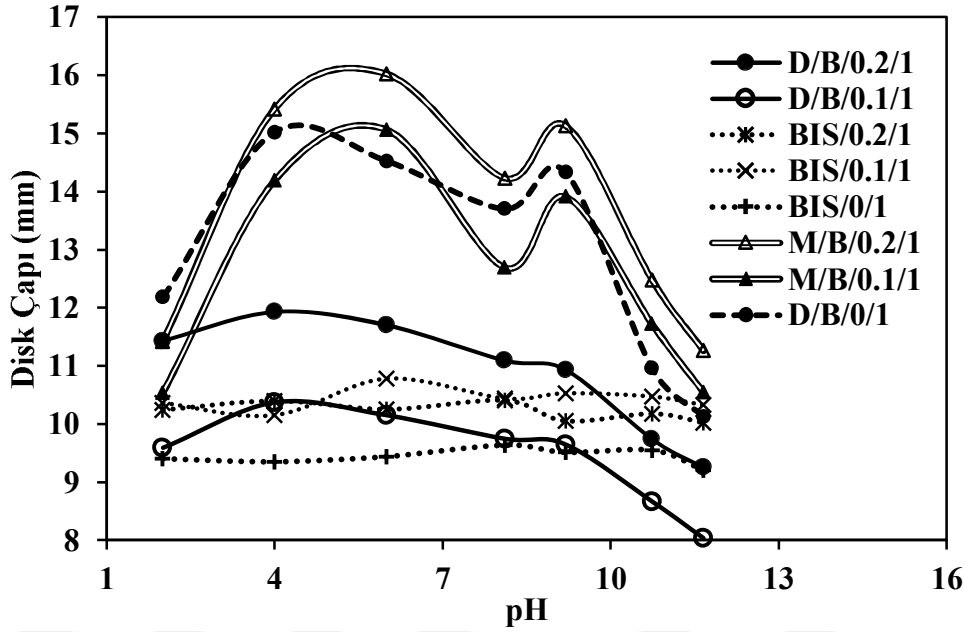


Şekil 4.50 : Geleneksel ve kompozit PNIPAAm/SBMAAm kopolimer hidrojelleri için 30°C'da pH'a bağlı disk çapı değişimleri.

Sülfobetainler, kuvvetli asidik sülfonat (pKa~0.7) [407] ve kuvvetli bazik kuvaterner amonyum gruplarının (pKa~13.1) [408] varlığı ve bu grupların tüm pH değerlerinde yüklü halde bulunması sebebiyle pH duyarlılığına sahip değildir. Sentezi DDS, 0.1N ve 0.2N NaOH içerisinde gerçekleştirilen PNIPAAm/SBMAAm hidrojellerinde, literatür bilgileri ile uyumlu şekilde [409,410] incelen pH aralığında herhangi bir pH duyarlılığı tespit edilmemiştir (Şekil 4.50).

Geleneksel ve kompozit PNIPAAm/SBMAAm kopolimer hidrojelleri için 30°C'da pH'a bağlı disk çapı değişimlerinin verildiği Şekil 4.50, kompozit

PNIPAAm/SBMAAm hidrojellerinin çapraz bağlayıcı olarak ağırlıkça %10 oranında kullanılan ODA-MMT'den kaynaklanan bir pH duyarlılığına sahip olduğunu göstermektedir. Şekil 4.50 ile verilmiş olan kompozit hidrojeller aynı zamanda, kıyaslandıkları geleneksel PNIPAAm/SBMAAm hidrojellerine göre daha yüksek çap değerlerine de sahiptir.



Şekil 4.51 : Modifiye geleneksel PNIPAAm/BIS hidrojelleri ile PNIPAAm/DMAPMAAm ve PNIPAAm/MAPTAC kopolimer hidrojelleri için 30ºC'da pH'a bağlı disk çapı değişimleri.

Şekil 4.51'de, modifiye geleneksel PNIPAAm/BIS hidrojelleri ile PNIPAAm/DMAPMAAm ve PNIPAAm/MAPTAC kopolimer hidrojelleri için 30ºC'da pH'a bağlı disk çapı değişimleri verilmiştir. DDS içerisinde BIS kullanılarak ve APS/TEMED redoks çifti varlığında sentezlenmiş PMAPTAC hidrojellerinin 25ºC'daki pH'a bağlı şişme davranışlarının incelendiği bir literatür çalışmasında, pH 3.0'da şişmiş halde bulunan ağyapının pH 3.0-7.0 aralığında büzüldüğü ve pH 7.0'da en düşük şişme değerine sahip olduğu, pH 7.0 üzerinde ise artan pH ile şişme değerlerinin yeniden yükseldiği rapor edilmiştir [411]. Çalışmada, düşük pH değerlerinde ağyapıdaki uç grupların protonlandığı, ağyapıdaki toplam yük yoğunluğunun arttığı, ayrıca hidrojel içerisindeki serbest hareketli iyon konsantrasyonunun arttığı ve bunun ağyapı içerisindeki osmotik basıncı yükselttiği, böylece yüksek şişme değerleri elde edildiği ifade edilmiştir. Yüksek pH değerlerinde ise, ağyapının tampon çözelti (Tris-HCl, pH 8-9) bileşenleri ile etkileştiği ve bu

etkileşim sonucu ağyapıdaki yük yoğunluğunun yeniden arttığı, böylece şişme değerlerinin de yeniden yükseldiği ifade edilmiştir. Akrilamidopropil trimetilamonyum klorür (APTAC) ve MAPTAC gibi katyonik akrilamitlerin pH 9-10 bölgesine kadar kararlılıklarını korudukları ve hidrolize uğramadıkları bilinmektedir [412,413]. Literatüre sunulmuş bir diğer çalışmada ise, poli(vinilprolidon)/MAPTAC hidrojellerinin yapısal kararlılıkları katyonik bileşenin 45°C'da pH10 ve pH12'deki hidrolizi takip edilerek incelenmiş, 30 gün sonundaki hidroliz yüzdelerinin sırasıyla %1 ve %3 olduğu rapor edilmiştir.

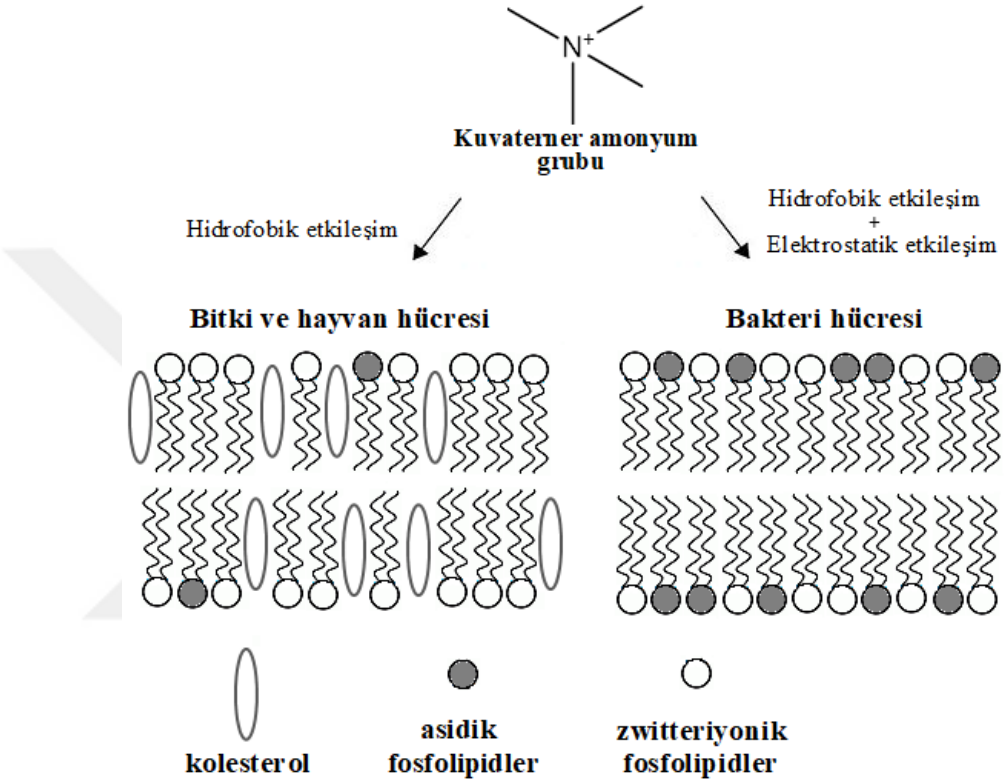
Bu çalışmada kalıcı katyonik gruplar taşıyan MAPTAC monomerinin %2.5 mol oranında kullanıldığı M/B/0.1/1 ve M/B/0.2/1 hidrojelleri, hareketli iyonik gruplara sahip DMAPMAAm komonomeri varlığında ve DDS içerisinde sentezlenmiş D/B/0/1 hidrojeline oldukça benzer bir pH'a bağlı şişme davranışı göstermektedir. Tek eksenli sıkıştırma test sonuçlarından ve V/V_o değerlerinin sıcaklığa bağlı değişimlerinden yola çıkarak (Şekil 4.29 (a) ve (b)), M/B/0.1/1 ve M/B/0.2/1 ağyapılarındaki hareketli iyonların (Cl^-) su molekülleri ile çevrelendiği, bu şekilde oluşan kafeslerin çapraz bağlanma noktaları şeklinde etki ettiği ve hidrojellerin hem sıkıştırma modül değerlerini yükselttiği hem de V/V_o değerlerinde düşüşe sebep olduğu sonucuna varılmıştır (Syf. 149, Bölüm 4.2.1.1). Tez çalışmasının bu bölümünden elde edilmiş sonuçlar ise, M/B/0.1/1 ve M/B/0.2/1 hidrojellerindeki su molekülleriyle çevrelenmiş Cl^- iyonlarının, farklı pH değerlerinde ortamda ağırlıklı olarak bulunan türlerle (H^+, H_2O veya OH^-) etkileşimleri sonucu ağyapıların şişme değerlerinin değiştiği şeklinde yorumlanmıştır [414,415].

4.5. Antibakteriyel Özellikler ve Kan Uyumlulukları

Geleneksel ilaç salım sistemlerine alternatif olarak tasarlanacak hidrojel esaslı kontrollü ilaç salım sistemlerinin ve bu sistemlerin tüm bozunma ürünlerinin yüksek biyouyumluluk göstermeleri, bununla birlikte toksik, alerjik ya da enflamatuar etki göstermemeleri gereklidir.

Kuvaterner amonyum grubu taşıyan yapılar, yüksek antibakteriyel aktiviteleri nedeniyle ilaç endüstrisi tarafından mantarlar, bakteriler, virüsler ve parazitlere karşı yaygın olarak kullanılmaktadır [416,417]. Bitki ve hayvan hücrelerinin zarı yüksek oranda zwitteriyonik fosfolipidlerden ve kolesterol temel bileşenlerinden oluşurken, bakteri hücre zarları daha yüksek miktarda asidik fosfolipid taşır (Şekil 4.52). Bunun

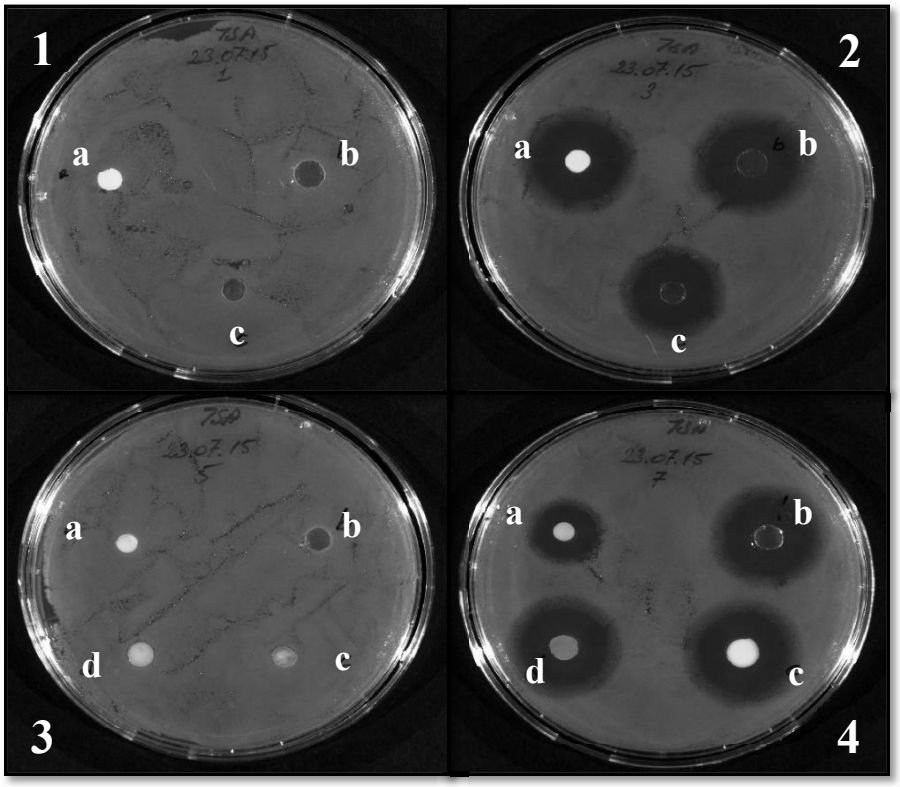
sonucu olarak bakteri hücre zarının negatif yük yoğunluğu yüksektir. Kuvaterner amonyum tuzları ve kuvaterner amonyum grupları taşıyan uzun hidrokarbon zincirli yapılar, negatif yük yoğunluğu yüksek olan bakteri hücre zarıyla elektrostatik olarak etkileşir, hücre zarını tahrip eder ve hücre ölümüne sebep olurlar. Hücre zarındaki negatif yük yoğunluğu düşük olan bitki ve hayvan hücreleri için ise düşük toksik etkilere sahiptirler [418].



Şekil 4.52 : Bitki, hayvan ve bakteri hücre zarlarının yapısal özellikleri ve kuvaterner amonyum bileşikleri ile etkileşimlerinin şematik gösterimi.

mgkNH'leri ile mkkNH'lerinin antibakteriyel aktivite test sonuçlarını gösteren fotograflar Şekil 4.53'de ve örneklerin inhibisyon alanları ve inhibisyon sıcaklığındaki sıkıştırma modülü değerleri Çizelge 4.20'de verilmiştir. KPS/DDS sistemi içerisinde sentezlenmiş kalıcı katyonik gruplar taşıyan M/B/0/1'in (Petri2 (b)) kıyaslandığı hidrojellerden daha büyük bir inhibisyon alanı oluşturduğu, M/B/0/1 hidrojelinin GS yüklenmemiş eşdeğerinde ise (Petri1 (b)) inhibisyon alanı oluşmadığı gözlenmiştir. İçme sularının dezenfeksiyonu için yaygın şekilde uygulanan yöntemlerden biri sulara 1ppm konsantrasyonda olacak şekilde klor ilave edilmesidir. Klor *E.coli* gibi gram negatif bakteriler ve virüsler başta olmak üzere çok sayıdaki patojene karşı etkili bir dezenfektandır [419]. Klor iyonlarının planktonik ve biyofilm şeklindeki *E.coli*'ye

karşı antibakteriyel etkilerinin incelendiği bir çalışmada, 1mg/L ve 10mg/L konsantrasyonlarında hazırlanan NaOCl çözeltileri kullanılmış, klor iyonlarının planktonik *E.coli* üzerinde biyofilm şeklindeki *E.coli* hücrelerine kıyasla 8300 kat daha etkili olduğu ifade edilmiştir [420]. *E.coli* üzerine ClO_2 etkilerinin incelendiği bir diğer çalışmada ise [421], ClO_2'in *E.coli* hücre zarı geçirgenliğini arttırmak ve hücrenin protein sentez mekanizmasını bozmak yoluyla ölümüne sebep olduğu ifade edilmiştir. GS yüklenmiş M/B/0/1 hidrojelinde gözlenen büyük inhibisyon alanının, MAPTAC birimleri üzerindeki bakterisit etkili kuvaterner amonyum gruplarının desteğinden, MAPTAC yapısındaki hareketli Cl^- iyonlarının varlığından ve hidrojelin 37ºC'daki düşük sıkıştırma modülü değerlerinin ağyapıdan GS çıkışını kolaylaştırmasından kaynaklandığı sonucuna varılmıştır.



Şekil 4.53 : GS yüklü ve GS yüklenmemiş mgkNH'ler ile mkkNH'lerinin E.coli'ye karşı oluşturdukları inhibisyon alanları.

Bu çalışmada sentezlenen hidrojellerin inhibisyon alanları, pH değeri 7.4 olan PBS-GS çözeltisi içerisinde GS yüklenmiş ve 37ºC'daki denge haline ulaşmış hidrojel disklerin modifiye Kirby-Bauer metoduna göre, *E.coli* inokülasyonu yapılmış pH değeri yine 7.4 olan TSA besiyeri üzerinde inkübe edilmesi yoluyla belirlenmiştir. D/B/0/1 ağyapısı üzerindeki pKa değeri yaklaşık 8.5 olan DMAPMAAm birimlerinin

belirtilen bu pH değerinde ağırlıklı olarak katyonik halde olduğu varsayılmaktadır. Bunun sonucu olarak, D/B/0/1 (Petri2 (c)) BIS/0/1 hidrojelinden daha yüksek ve kalıcı katyonik gruplar taşıyan M/B/0/1 hidrojelinden daha düşük bir inhibisyon alanı oluşturmuştur. KPS/0.1N NaOH sistemi içerisinde sentezlenmiş M/B/0.1/1 ve D/B/0.1/1 hidrojelleri de KPS/DDS sistemi içerisinde sentezlenmiş eşdeğerlerine benzer şekilde mgNH'inden (BIS/0.1/1) daha geniş inhibisyon alanları oluşturmuşlardır.

Çizelge 4.20 : mgkNH'leri ile mkkNH'lerinin inhibisyon alanları ve inhibisyon sıcaklığındaki sıkıştırma modülü değerleri.

Petri	Jel kodu	Hidrojel	GS	Zon alanı (mm^2)	37°C'daki Sıkıştırma Modülü (kPa)
1	a	BIS/0/1	-	0.0	-
	b	M/B/0/1	-	0.0	-
	c	D/B/0/1	-	0.0	-
2	a	BIS/0/1	+	238.9	29.50
	b	M/B/0/1	+	272.5	4.15
	c	D/B/0/1	+	262.8	9.55
3	a	BIS/0.1/1	-	0.0	-
	b	M/B/0.1/1	-	0.0	-
	c	D/B/0.1/1	-	0.0	-
	e	D/O10/0.1/1	-	0.0	-
4	a	BIS/0.1/1	+	141.3	156.50
	b	M/B/0.1/1	+	243.7	8.55
	c	D/B/0.1/1	+	273.5	8.15
	e	D/O10/0.1/1	+	272.0	24.78

Bununla birlikte, M/B/0/1 hidrojelinde 272.5mm^2 olan inhibisyon alanının M/B/0.1/1 hidrojelinde 243.7mm^2'ye azaldığı görülmektedir. Bu azalmanın, M/B/0.1/1 hidrojelinde sıkıştırma modül değerlerinin de artışına sebep olan hareketli iyonların su molekülleri ile çevrelenmesi sonucu oluşan H_2O-Cl^- kafeslerinin ilave çapraz bağlanma noktaları şeklinde etki etmesinden ve bu kafes etkisi sebebiyle Cl^- iyonlarının bakterisit etkisinin azalmasından kaynaklandığı sonucuna varılmıştır. D/O10/0.1/1 hidrojelinde ise, D/B/0.1/1 ve M/B/0.1/1 hidrojellerine kıyasla daha

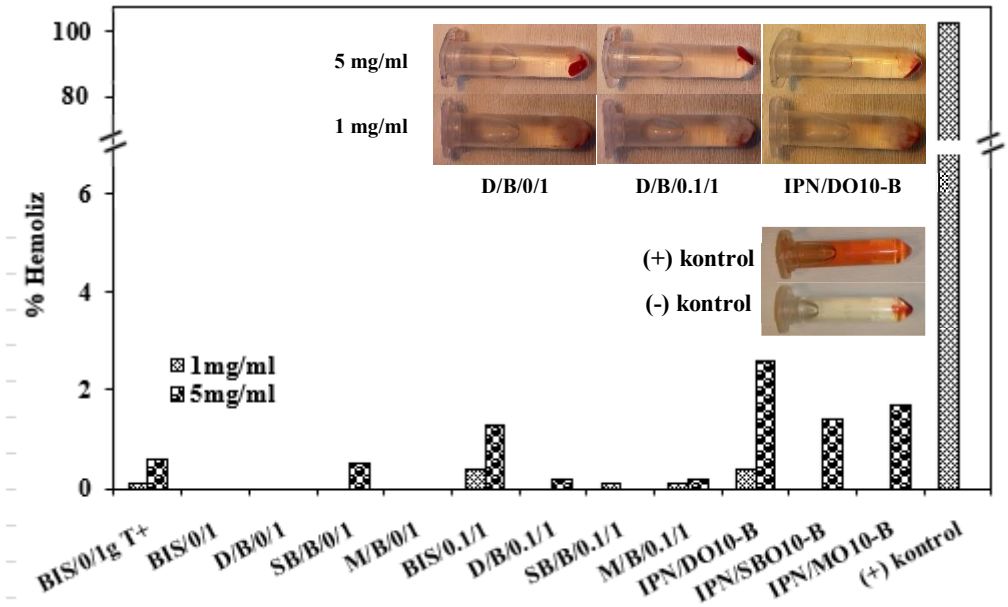
yüksek sıkıştırma modül değerleri ile birlikte yüksek bir inhibisyon alanı gözlenmiştir. Bu durum, mgNH ve mkNH'lerinin inhibisyon alanları için Çizelge 4.5 ile verilen yapılan değerlendirmeye benzer şekilde, ODA-MMT'nin çapraz bağlayıcı olarak kullanılmasının D/O10/0.1/1 hidrojelinin antibakteriyel aktivitesini bir miktar yükselttiği şeklinde yorumlanmıştır.

Hücre zarı, çeşitli proteinler ve osmolitlerin yapısında doğal olarak bulunan zwitteriyonik moleküller, biyolojik uygulamalar bakımından yüksek uygunluğa sahip yapılardır [422]. Örneğin, glisin ve taurin gibi zwitteriyonik aminoasitlerin kan plazmasındaki miktarı, depresyon ve anksiyete gibi psikosomatik hastalıkların ortaya çıkışı ile direkt ilişkilidir [423,424]. Literatüre sunulmuş olan bir çalışmada, 1,3-propan sulton ve polietileniminden (PEI) mikroemülsiyon polimerizasyonu yöntemiyle sentezlenen betainlenmiş PEI mikrojellerinin (bPEI) antibakteriyel ve toksik özellikleri ile biyouyumlulukları araştırılmıştır. Güçlü antibakteriyel etkiye sahip olan ve memeli hücreleri için toksik etki gösteren PEI mikrojellerinin, betainleme reaksiyonu sonrası antibakteriyel etkilerinin zayıfladığı, ancak biyouyumluluklarının yükseldiği gözlenmiştir. Çalışmada, bPEI mikrojellerinin 400µg/ml konsantrasyona kadar memeli hücreleri için herhangi bir toksik etki göstermediği, betainlenmemiş PEI mikrojellerinin ise bu konsantrasyonda %50 toksik etkiye sahip olduğu ifade edilmiş, bPEI mikrojellerinin gen terapisi gibi biyomedikal uygulamalarda güvenli şekilde kullanılabileceği belirtilmiştir [425,426].

AAm, DMAAm ve DMAPMAAm'in polipropilen (PP) filmler üzerine graft edilmesi yoluyla sentezlenen kopolimerlerin biyouyumluluklarının incelendiği bir çalışmada [427], kopolimerlerin kan uyumluluklarının kullanılan her üç amid yapısı için de orijinal PP filme kıyasla iyileştiği ifade edilmiştir. Çalışmada, en düşük trombosit adsorpsiyonunun PP/AAm kopolimerinde, en düşük trombüs oluşum yüzdesinin ise PP/DMAPMAAm kopolimerinde elde edildiği rapor edilmiştir.

Hoffman tarafından yapılan bir çalışmada, metilmekakrilat(MMA)/MAPTAC ve MMA/Trimetilamonyummetilmetakrilat (TMAMMA) nanoparçacıklarının insan bağ dokusu ve maymun karaciğer hücreleri üzerindeki toksik etkileri hücre canlılığı testleri ile incelenmiştir [428]. Çalışmada, 250µg/ml konsantrasyonlu MMA/MAPTAC ve MMA/TMAMMA nanoparçacıkları için sırasıyla ~%80 ve ~%0 hücre canlılığı gözlenmiştir. Araştırmacılar, MMA/MAPTAC yapısındaki pozitif yüklü kuvaterner amonyum grubunun, amit azotu üzerindeki serbest elektron çifti ile etkileşerek kararlı

bir yapı oluşturduğunu, bunun sonucu olarak MMA/MAPTAC kopolimer nanoparçacıklarının beklenenin aksine oldukça düşük hücre toksisitesi gösterdiğini ifade etmişlerdir.



Şekil 4.54 : gNH'i (BIS/0/1g T+), mgNH'leri, mgkNH'leri ve m(IPN)kNH'leriyle inkübasyonun ardından eritrosit hemoliz oranları.

Bu çalışmada, biyolojik bir membran sistemi olarak, sağlıklı yetişkin insan eritrositleri kullanılmıştır. Şekil 4.54, 37°C'da 180 dakika süreyle gerçekleştirilen inkübasyonun ardından, hidrojellerle temas halinde bulunan eritrositlerin % hemoliz oranlarını göstermektedir. Şekil içerisindeki fotoğraflar, test örneklerinin inkübasyon ve santrifüjleme sonrası dijital fotoğraflarıdır. Çözeltideki kırmızı renk, eritrosit tahribatı ve bunun sonucu olarak hücre dışına hemoglobin çıkışını ifade etmektedir.

Şekil 4.54, D/B/0.1/1, SB/B/0.1/1 ve M/B/0.1/1 hidrojellerinin eşdeğer koşullarda sentezlenmiş homopolimer hidrojele (BIS/0.1/1) kıyasla her iki konsantrasyonda da daha düşük hemolitik aktiviteye sahip olduklarını göstermektedir. Benzer şekilde KPS/DDS sistemi içerisinde sentezlenmiş kopolimer hidrojeller de kontrol hidrojeli olarak kabul edilen BIS/0/1gT+'ya kıyasla azalmış hemoliz yüzdelerine sahiptirler. Bu sonuçlar, komonomer olarak kullanılan MAPTAC, SBMAAm ve DMAPMAAm'in literatür bulgularıyla uyumlu şekilde geleneksel PNIPAAm hidrojellerinin biyolojik özelliklerini iyileştirdiğini göstermektedir.

Çalışmanın bu bölümünde incelenmiş olan mgkNH ve mkkNH'leri kan uyumluluğuna sahip polimerik malzemeler için kabul edilebilir en yüksek seviye olan %5'in altında

hemoliz oranlarına sahiptir ve bu hidrojellerin yüksek kan uyumluluğuna sahip olduklarını söylemek mümkündür.

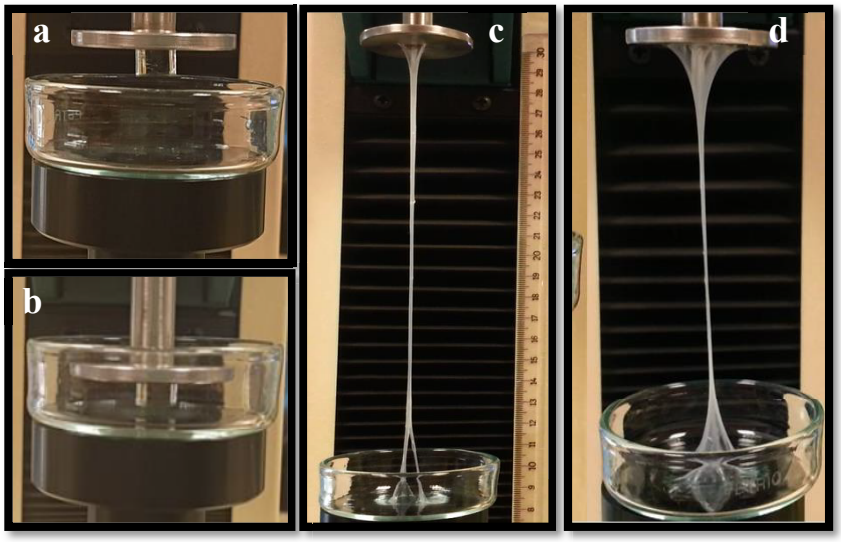
5. TARTIŞMA

Bu tez çalışmasında, geleneksel PNIPAAm hidrojellerinin (gNH) başta mekanik özellikleri olmak üzere, şişme, ilaç salım ve biyouyumluluk özelliklerinin geliştirilmesi amacıyla, PNIPAAm hidrojellerinin geleneksel sentez yönteminde sıklıkla kullanılan polimerizasyon çözücüsü olan DDS, başlatıcı/hızlandırıcı sistemi (APS/TEMED veya KPS/TEMED) ve çapraz bağlayıcı bileşen (BIS) değiştirilmiş, bu şekilde özellikleri değiştirilmiş/iyileştirilmiş modifiye PNIPAAm hidrojelleri sentezlenmiştir.

Sentez çözücüsü olarak DDS yerine kullanılan 0.1N ve 0.2N NaOH çözeltileri, polimerizasyon başlatıcısı olarak kullanılan KPS'den radikal oluşumu reaksiyonunun aktivasyon enerjisini düşürerek radikal oluşum hızını arttırmış ve jelleşmenin oldukça kısa sürede ve TEMED kullanılmadan gerçekleşmesini sağlamıştır. Bu yeni sentez metodu, geleneksel sentez prosedürlerinde kullanılan ve akut toksik etki gösteren (Kategori 4) organik bir molekül olan TEMED'in kullanılma gerekliliğini ortadan kaldırmıştır. Bir diğer temel modifikasyon olarak, organik çapraz bağlayıcı BIS de ağyapıdan çıkarılmış, bunun yerine farklı özelliklerde üç tip inorganik çok tabakalı kil (LP, MMT ve ODA-MMT) kullanılmıştır.

%2.5 mol oranında DMAPMAAm, MAPTAC veya SBMAAm komonomerleri varlığında gerçekleştirilen polimerizasyonlar ile modifiye geleneksel PNIPAAm hidrojellerine iyonik özellik kazandırılmış, çapraz bağlayıcı bileşenin BIS'den ODA-MMT'ye değiştirilesi ile ise hem mekanik özellikler değiştirilmiş hem de özellikle PNIPAAm/SBMAAm ve PNIPAAm/MAPTAC hidrojellerine yumuşak doku benzeri fiziksel ve mekanik özellikler kazandırılmıştır (Şekil 5.1).

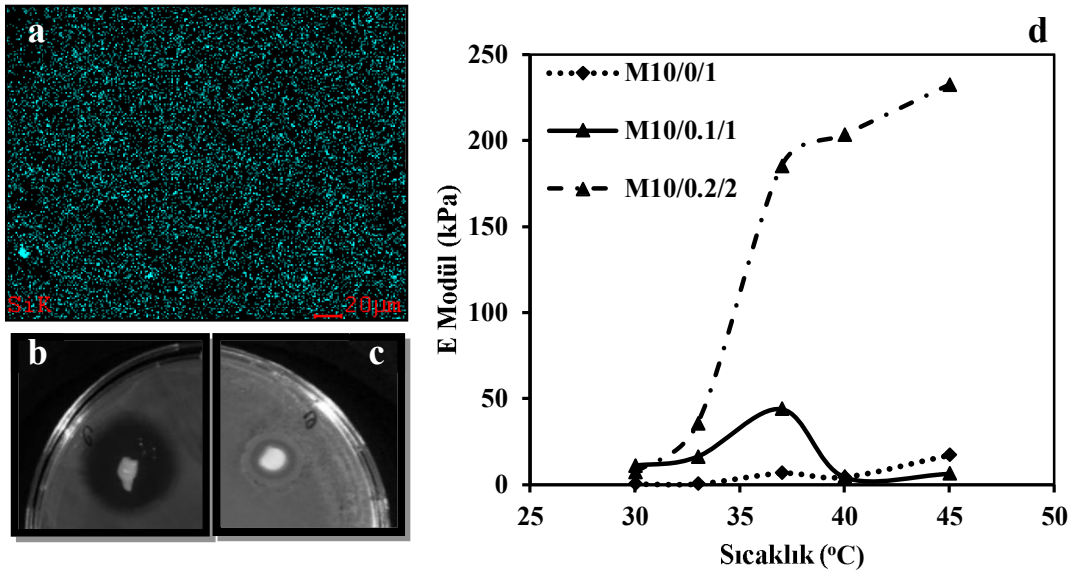
Esnek ve kırılgan özelliğe sahip PNIPAAm/DMAPMAAm geleneksel hidrojeller ise, çapraz bağlayıcı bileşenin BIS'den ODA-MMT'ye değiştirilmesi ile sert ve dayanıklı hale gelmişlerdir.



Şekil 5.1 : (a) SB/B/0.1/1, (b) M/B/0.1/1, (c) SB/O10/0.1/1 ve (d) M/O10/0.1/1 hidrojellerinin sentez sonrası tek eksenli sıkıştırma testinin tamamlanmasının ardından test başlığının geri çekilmesi ve örneklere ait disklerin gösterdiği davranış.

Modifiye sentez prosedürü kullanılarak ve her iki çapraz bağlayıcı bileşeni de içerecek şekilde sentezlenen m(IPN)kNH'leri ise, çalışma kapsamında sentezlenmiş 43 farklı hidrojel arasında en yüksek dayanıma sahip örnekler olmuşlardır.

FTIR ve XRD analizleri ile, mgNH ve mkNH'leri arasından seçilen örneklerdeki amit, hidroksil, izopropil ve silanol (kompozit hidrojellerde) gibi temel fonksiyonel gruplarının varlığı gösterilmiş, bunun yanında alkali polimerizasyon çözeltilerinin ağyapı bileşenleri üzerindeki etkileri de açıklanmıştır. FTIR analizleri, MMT ve ODA-MMT'nin tetrahedral tabakalarındaki Si-O gerilme titreşimlerine ait bant şiddetinin NaOH çözeltileri ile muamele edilmiş smektitlerde (MMT/0.2/2 ve ODA-MMT/0.2/2) azalmış olmakla birlikte varlığını koruduğunu göstermiştir. XRD analizleri ise, NaOH çözeltileriyle muamele edilmiş MMT ve ODA-MMT'deki tabakalar arası mesafelerin orijinal kil örneklerine kıyasla daha yüksek olduğunu, tabakalar arası mesafe artışının ODA gruplarıyla yüzey modifikasyonu gerçekleştirilmiş MMT örneğinde %46'ya ulaştığını göstermiştir. Modifiye PNIPAAm hidrojellerinin yapısal (FTIR, XRD, SEM-EDS) analizleri ve tek eksenli sıkıştırma test sonuçları, örneklerin dijital fotoğraflarıyla birarada değerlendirildiğinde, BIS/0.1/1 ve M10/0.2/2 örneklerinin yüksek modül değerlerine sahip ve oldukça homojen yapıda oldukları görülmüştür (Şekil 5.2).

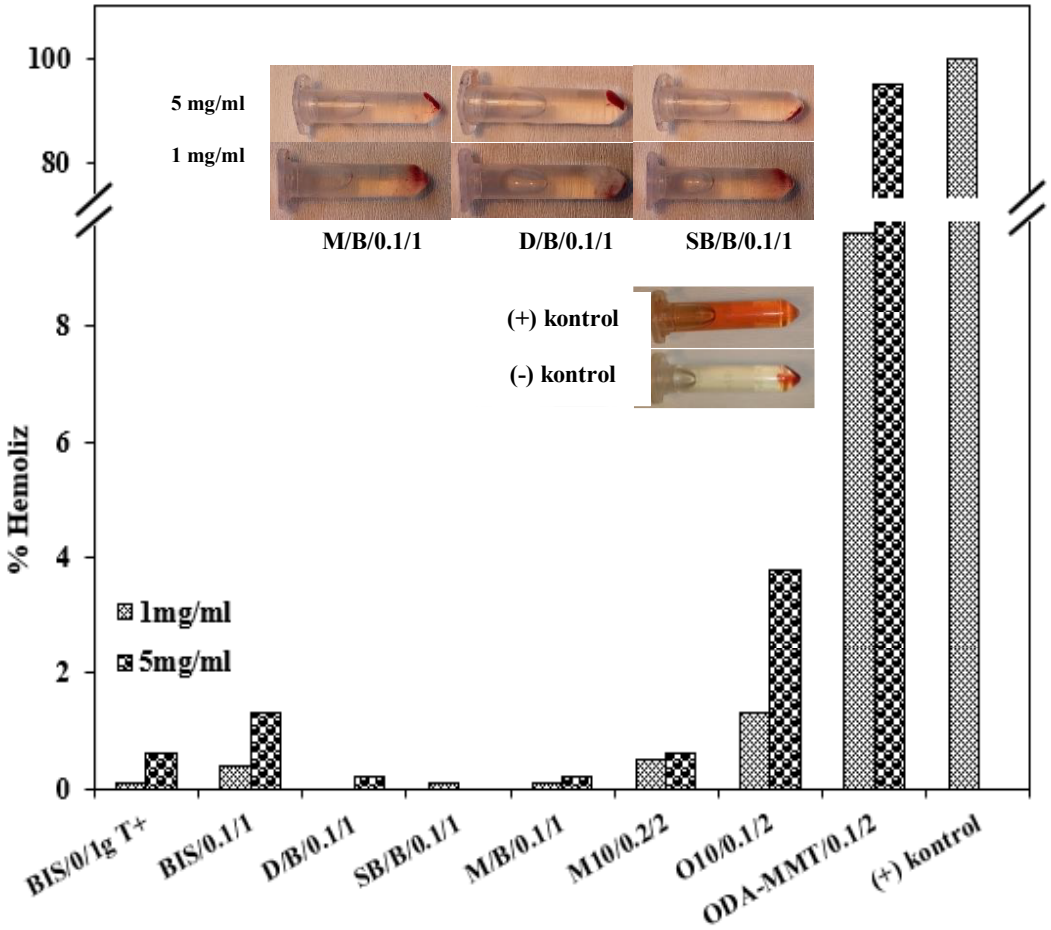


Şekil 5.2 : (a) M10/0.2/2 hidrojelinin seçili alanında Si elementinin dağılımını gösteren SEM-EDS haritası ile M10/0.2/2 hidrojelinin (b) GS yüklü ve (c) GS yüklenmemiş disklerine ait inhibisyon alanları. (c) Üç farklı sentez çözücüsü içerisinde sentezlenmiş PNIPAAm/MMT hidrojellerinin modül-sıcaklık eğrileri.

Ayrıca, KPS/0.1N NaOH sistemi içerisinde sentezlenmiş PNIPAAm/BIS hidrojeli, 37°C'daki yüksek sıkıştırma modül değeri (156kPa), yavaş/kontrollü ve yüksek miktarda Gentamisin salımı yapabilmesi, PBS içerisindeki şişme davranışının Korsmayer-Peppas modeline en yüksek uygunluğu (r=0.995) göstermekle birlikte sıfırıncı mertebe kinetik modeline de uygun (r=0.990) olması yani konsantrasyondan bağımsız bir şişme davranışına sahip olması, $1.6x10^{-9}$ (cm^2/sn) mertebesindeki düşük ilaç difüzyon katsayısı gibi özellikleri bakımından öne çıkmıştır ve bu hidrojelin etkili bir ilaç salım sistemi olacağı sonucuna varılmıştır.

mgNH, mkNH, mgkNH ve mkkNH'lerinden seçilen örnekler ve 0.1N NaOH çözeltisi ile muamele edilmiş ODA-MMT örneklerinin hemolitik aktiviteleri, biyolojik bir membran sistemi olarak, sağlıklı insan eritrositleri kullanılarak incelenmiş, hidrojel örnekler ile temas halinde bulunan eritrositlerin % hemoliz oranları, UV-görünür alan spektrofotometre ile belirlenen absorbans değerleri kullanılarak hesaplanmıştır. Sonuçlar, 0.1N NaOH çözeltisi ile muamele edilmiş ODA-MMT'nin oldukça yüksek bir hemolitik aktiviteye sahip olduğunu, ancak bu modifiye kilin çapraz bağlayıcı olarak kullanıldığı kompozit hidrojelde (O10/0.1/2) bu etkinin %96 oranında azaldığını ve incelenen PNIPAAm hidrojel örnekleri için, hemoliz oranlarının kan uyumluluğuna sahip polimerik malzemeler için kabul edilebilir en yüksek seviye olan %5'in altında olduğunu göstermektedir. Ek olarak, KPS/0.1N NaOH sistemi içerisinde

sentezlenmiş kopolimer hidrojeller de, kontrol hidrojelleri olarak kabul edilen BIS/0/1gT+ ve BIS/0.1/1'e kıyasla azalmış hemoliz yüzdelerine sahiptir. Bu sonuçlar, komonomer olarak kullanılan MAPTAC, SBMAAm ve DMAPMAAm'in literatür bulgularıyla uyumlu şekilde PNIPAAm hidrojellerinin biyolojik özelliklerini iyileştirdiğini göstermektedir (Şekil 5.3).



Şekil 5.3 : gNH'i (BIS/0/1g T+), mgNH'i (BIS/0/1) ve mgkNH'leri için 37°C'daki inkübasyonun ardından eritrosit hemoliz oranları.

Özetle, oldukça az sayıda bileşen içeren, herhangi bir yüzey aktif madde ya da polimerizasyon hızlandırıcısı içermeyen ve oldukça "temiz" olarak nitelendirilebilecek modifiye bir polimerizasyon ortamında sentezlenmiş modifiye PNIPAAm hidrojellerinin, mekanik özellikler bakımından iyileşmiş, kan uyumluluğu yüksek, kontrollü şişme ve ilaç salımı yapabilen, antibakteriyel ilaç taşıyıcı ağyapılar olarak kullanılmaya uygun oldukları sonucuna varılmıştır.

Çalışma kapsamında sentezlenen hidrojeller, biyomedikal alanda kullanılacak biyouyumluluğu yüksek, özellikle fizyolojik sıcaklıktaki modül ve dayanımı

iyileştirilmiş malzemelerin geliştirilmesi bakımından önemli bir başlangıç çalışmasıdır.

KAYNAKLAR

[1] **Smeriglio, P., Lai, J. H., Yang, F., ve Bhutani, N.** (2015). 3D hydrogel scaffolds for articular chondrocyte culture and cartilage generation. *Journal of Visualized Experiments: JoVE*, (104).

[2] **Manikas, A. C., Aliberti, A., Causa, F., Battista, E., ve Netti, P. A.** (2015). Thermoresponsive PNIPAAm hydrogel scaffolds with encapsulated AuNPs show high analyte-trapping ability and tailored plasmonic properties for high sensing efficiency. *Journal of Materials Chemistry B*, *3*(1), 53-58.

[3] **Mellati, A., Kiamahalleh, M. V., Madani, S. H., Dai, S., Bi, J., Jin, B., ve Zhang, H.** (2016). Poly (N-isopropylacrylamide) hydrogel/chitosan scaffold hybrid for three-dimensional stem cell culture and cartilage tissue engineering. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, *104*(11), 2764-2774.

[4] **Khang, G.** (2012). *Handbook of intelligent scaffold for tissue engineering and regenerative medicine*. Pan Stanford Publishing.

[5] **Kramer, F., Griesemer, D., Bakker, D., Brill, S., Franke, J., Frotscher, E., ve Friauf, E.** (2014). Inhibitory glycinergic neurotransmission in the mammalian auditory brainstem upon prolonged stimulation: short-term plasticity and synaptic reliability. *Frontiers in Neural Circuits*, *8*, 14.

[6] **Duarte, A. R. C., Mano, J. F., ve Reis, R. L.** (2015). Polymer Processing Using Supercritical Fluid–Based Technologies for Drug Delivery and Tissue Engineering Applications. *Supercritical Fluid Nanotechnology: Advances and Applications in Composites and Hybrid Nanomaterials*, 273-296.

[7] **Gandhi, A., Paul, A., Sen, S. O., ve Sen, K. K.** (2015). Studies on thermoresponsive polymers: Phase behaviour, drug delivery and biomedical applications. A*sian Journal of Pharmaceutical Sciences*, *10*(2), 99-107.

[8] **Zhu, J., ve Marchant, R. E.** (2011). Design properties of hydrogel tissue-engineering scaffolds. *Expert Review of Medical Devices, 8*(5), 607-626.

[9] **Fujimoto, K. L., Ma, Z., Nelson, D. M., Hashizume, R., Guan, J., Tobita, K., ve Wagner, W. R.** (2009). Synthesis, characterization and therapeutic efficacy of a biodegradable, thermoresponsive hydrogel designed for application in chronic infarcted myocardium. *Biomaterials*, *30*(26), 4357-4368.

[10] **Tan, H., ve Marra, K. G.** (2010). Injectable, biodegradable hydrogels for tissue engineering applications. *Materials*, *3*(3), 1746-1767.

[11] **Kretlow, J. D., Klouda, L., ve Mikos, A. G.** (2007). Injectable matrices and scaffolds for drug delivery in tissue engineering. *Advanced Drug Delivery Reviews*, *59*(4), 263-273.

[12] **Choi, B., Loh, X. J., Tan, A., Loh, C. K., Ye, E., Joo, M. K., ve Jeong, B.** (2015). Introduction to in situ forming hydrogels for biomedical applications. *In-Situ Gelling Polymers*, 5-35.

[13] **Olalde, B., Garmendia, N., Sáez-Martínez, V., Argarate, N., Nooeaid, P., Morin, F., ve Boccaccini, A. R.** (2013). Multifunctional bioactive glass scaffolds coated with layers of poly (d, l-lactide-co-glycolide) and poly (n-isopropylacrylamide-co-acrylic acid) microgels loaded with vancomycin. *Materials Science and Engineering: C*, *33*(7), 3760-3767.

[14] **Temtem, M., Barroso, T., Casimiro, T., Mano, J. F., ve Aguiar-Ricardo, A.** (2012). Dual stimuli responsive poly (N-isopropylacrylamide) coated chitosan scaffolds for controlled release prepared from a non residue technology. *The Journal of Supercritical Fluids*, *66*, 398-404.

[15] **Tiwari, A., Sharma, Y., Hattori, S., Terada, D., Sharma, A. K., Turner, A. P., ve Kobayashi, H.** (2013). Influence of poly (n-isopropylacrylamide) –CNT–polyaniline three-dimensional electrospun microfabric scaffolds on cell growth and viability. *Biopolymers*, *99*(5), 334-341.

[16] **Cho, J. H., Kim, S. H., Park, K. D., Jung, M. C., Yang, W. I., Han, S. W., ... ve Lee, J. W.** (2004). Chondrogenic differentiation of human mesenchymal stem cells using a thermosensitive poly (N-isopropylacrylamide) and water-soluble chitosan copolymer. *Biomaterials*, *25*(26), 5743-5751.

[17] **Klouda, L., Perkins, K. R., Watson, B. M., Hacker, M. C., Bryant, S. J., Raphael, R. M., ... ve Mikos, A. G.** (2011). Thermoresponsive, in situ cross-linkable hydrogels based on N-isopropylacrylamide: Fabrication, characterization and mesenchymal stem cell encapsulation. *Acta Biomaterialia*, *7*(4), 1460-1467.

[18] **Li, Z., Guo, X., Matsushita, S., ve Guan, J.** (2011). Differentiation of cardiosphere-derived cells into a mature cardiac lineage using biodegradable poly (N-isopropylacrylamide) hydrogels. *Biomaterials*, *32*(12), 3220-3232.

[19] **Zhang, J. P., Li, A., ve Wang, A. Q.** (2005). Study on superabsorbent composite. V. Synthesis, swelling behaviors and application of poly (acrylic acid-co-acrylamide)/sodium humate/attapulgite superabsorbent composite. *Polymers for Advanced Technologies*, *16*(11-12), 813-820.

[20] **Gugliuzza, A., ve Drioli, E.** (2013). A review on membrane engineering for innovation in wearable fabrics and protective textiles. *Journal of Membrane Science, 446,* 350-375.

[21] **Su, P. G., ve Huang, S. C.** (2005). Humidity sensing and electrical properties of a composite material of SiO_2 and poly-[3-(methacrylamino) propyl] trimethyl ammonium chloride. *Sensors and Actuators B: Chemical*, *105*(2), 170-175.

[22] **Tavakoli, J., ve Tang, Y.** (2017). Hydrogel Based Sensors for Biomedical Applications: An Updated Review. *Polymers*, *9*(8), 364.

[23] **Peppas, N. A., ve Van Blarcom, D. S.** (2016). Hydrogel-based biosensors and sensing devices for drug delivery. *Journal of Controlled Release*, *240*, 142-150.

[24] **Gant, R. M., Abraham, A. A., Hou, Y., Cummins, B. M., Grunlan, M. A., ve Coté, G. L.** (2010). Design of a self-cleaning thermoresponsive nanocomposite hydrogel membrane for implantable biosensors. *Acta Biomaterialia*, *6*(8), 2903-2910.

[25] **Gupta, P., Vermani, K., Garg, S.** (2002). Hydrogels: From Controlled Release to pH-responsive Drug Delivery, *Drug Discovery Today*, 7(10) 569–579.

[26] **Paradkar, A. R.** (2008). *Biopharmaceutics ve Pharmacokinetics*. Pragati Books Pvt. Ltd..

[27] **Ishihara, K., Nomura, H., Mihara, T., Kurita, K., Iwasaki, Y., ve Nakabayashi, N.** (1998). Why do phospholipid polymers reduce protein adsorption?. *Journal of Biomedical Materials Research: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and the Australian Society for Biomaterials*, *39*(2), 323-330.

[28] **Glowacki J, Mizuno S.** (2007). Collagen scaffolds for tissue engineering. *Biopolymers*. 89(5):338– 344. [PubMed: 17941007].

[29] **Sakai S, Hirose K, Taguchi K, Ogushi Y, Kawakami K.** (2009). An injectable, in situ enzymatically gellable, gelatin derivative for drug delivery and tissue engineering. *Biomaterials*. *30*(20): 3371–3377.

[30] **Alberts, B., Johnson, A., Lewis, J., et al.** (2002). *Molecular Biology of the Cell.* 4th edition. New York: Garland Science.

[31] **Mano, J.F., Silva, G.A., Azevedo, H.S., Malafaya, P.B., Sousa, R.A., Silva, S.S., Boesel, L.F., Oliveira, J.M., Santos, T.C., Marques, A.P., Neves, N.M., Reis, R.L.** (2007). Natural origin biodegradable systems in tissue engineering and regenerative medicine: present status and some moving trends. *J R Soc Interface, 4*(17):999-1030.

[32] **Szycher, M.** (1991). *High Performance Biomaterials: A Complete Guide to Medical and Pharmceutical Applications*. CRC Press. 346.

[33] **Censi, R., Martino, P.D., Vermonden, T., Hennink, W.E.** (2012). Hydrogels for Protein Delivery in Tissue Engineering, *Journal of Controlled Release, 161,* 680–692.

[34] **Bhalla, A. S., ve Siegel, R. A.** (2014). Mechanistic studies of an autonomously pulsing hydrogel/enzyme system for rhythmic hormone delivery. *Journal of Controlled Release*, *196,* 261-271.

[35] **Islam, M. R., Gao, Y., Li, X., ve Serpe, M. J.** (2014). Responsive polymers for biosensing and protein delivery. *Journal of Materials Chemistry B, 2*(17), 2444-2451.

[36] **Zhang, X.Z., Zhou, R.X.** (2000). Preparation of Fast Responsive, Thermally Sensitive Poly(N-isopropylacrylamide) Gel, *European polymer Journal, 36,* 2301-2303.

[37] **Sandby-Moller, J., Poulsen, T., ve Wulf, H. C.** (2003). Epidermal thickness at different body sites: relationship to age, gender, pigmentation, blood content, skin type and smoking habits. *Acta Dermato Venereologica*, *83*(6), 410-413.

[38] **Url-1** <http://umdberg.pbworks.com/>, erişim tarihi 15.09.2016.

[39] **Url-2** http://www.slideshare.net/coachademia/tendon-mechanics-lecture, erişim tarihi 15.09.2016.

[40] **Agache, P.G., Monneur, C., Leveque, J.L., de Rigal, J.** (1980). Mechanical Properties and Young's Modulus of Human Skin in vivo. *Arch Dermatol Res*, *269*, 127–33.

[41] **Pailler-Mattei, C., Beca, S., Zahouani, H.** (2008). In Vivo Measurements of the Elastic Mechanical Properties of Human Skin by Indentation Tests. *Medical Engineering and Physics*, *30*, 599–606.

[42] **Manschot, J.F., Brakkee, A.J.** (1986). The Measurement and Modelling of the Mechanical Properties of Human Skin in vivo. I. The measurement. *J Biomech*, *19*, 511–515.

[43] **Diridollou, S., Patat, F., Gens, F., Vaillant, L., Black, D., Lagarde, J.M.** (2000). In vivo Model of the Mechanical Properties of the Human Skin Under Suction, *Skin Res Technol*, *6*, 214–221.

[44] **Hendriks, F.M., Brokken, D., Van Eemeren, J., Oomens, C.W.J., Baaijens, F.P.T., Horsten, J.B.A.M.** (2003). A Numerical–Experimental Method to Characterize the Non Linear Mechanical Behaviour of Human Skin, *Skin Res Technol*, *9*, 274–283.

[45] **Ottenio, M., Tran, D., Annaidh, A. N., Gilchrist, M. D., ve Bruyère, K.** (2015). Strain rate and anisotropy effects on the tensile failure characteristics of human skin. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, *41*, 241-250.

[46] **Ankersen, J., Birkbeck, A. E., Thomson, R. D., ve Vanezis, P.** (1999). Puncture resistance and tensile strength of skin simulants. *Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part H: Journal of Engineering in Medicine*, *213*(6), 493-501.

[47] **Jacquemoud, C., Bruyere-Garnier, K., ve Coret, M.** (2007). Methodology to determine failure characteristics of planar soft tissues using a dynamic tensile test. *Journal of Biomechanics, 40*(2), 468-475.

[48] **Gallagher, A. J., Ní Annaidh, A., ve Bruyère, K.** (2012). Dynamic tensile properties of human skin. *In International Research Council on the Biomechanics of Injury (IRCOBI) Conference,* Dublin (Ireland).

[49] **Wichterle, O., Lim, D.** (1960). Hydrophilic Gels For Biological Use, *Nature*, *185*, 117–8.

[50] **Chiantore, O., Guaita, M., Trossarelli, L.** (1979). Solution properties of poly(N-isopropylacrylamide), *Makromol. Chem*. *180*, 969–973.

[51] **Hennink, W. E., ve van Nostrum, C. F.** (2012). Novel crosslinking methods to design hydrogels. *Advanced Drug Delivery Reviews*, *64*, 223-236.

[52] **Giammona, G., Pitarresi, G., Cavallaro, G., ve Spadaro, G.** (1999). New biodegradable hydrogels based on an acryloylated polyaspartamide cross-linked by gamma irradiation. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, *10*(9), 969-987.

[53] **Kiatkamjornwong, S.** (2007). Superabsorbent polymers and superabsorbent polymer composites. *Sci. Asia, 33*(1), 39-43.

[54] **W. Ming, Y. Zhao, J. Cui, S. Fu, F.N.** (1999). Jones, Formation of irreversible nearly transparent physical polymeric hydrogels during a modified microemulsion polymerization, *Macromolecules, 32*, 528–530.

[55] **Sun, Q. ve Deng, Y.** (2005). In situ synthesis of temperature-sensitive hollow microspheres via interfacial polymerization. *Journal of the American Chemical Society*, *127*(23), 8274-8275.

[56] **Landfester K., Musyanovych A.** (2010). Hydrogels in Miniemulsions. In: Pich A., Richtering W. (eds) Chemical Design of Responsive Microgels. *Advances in Polymer Science*, vol 234. Springer, Berlin, Heidelberg.

[57] **Haraguchi, K., Farnworth, R., Ohbayashi, A., Takehisa, T.** (2003). Compositional Effects on Mechanical Properties of Nanocomposite Hydrogels Composed of Poly(N,N-dimethylacrylamide) and Clay, *Macromolecules, 36*, 5732-5741.

[58] **Aguilar, M. R., Elvira, C., Gallardo, A., Vázquez, B., ve Román, J. S.** (2007). Smart polymers and their applications as biomaterials. *Topics in Tissue Engineering*, *3*(6).

[59] **Zhang, J. T., Cheng, S. X., Huang, S. W., ve Zhuo, R. X.** (2003). Temperature-Sensitive Poly (N-isopropylacrylamide) Hydrogels with Macroporous Structure and Fast Response Rate. *Macromolecular Rapid Communications, 24*(7), 447-451.

[60] **Shibayama, M., ve Nagai, K.** (1999). Shrinking kinetics of poly (N-isopropylacrylamide) gels T-jumped across their volume phase transition temperatures. *Macromolecules*, *32*(22), 7461-7468.

[61] **Wong, R. S. H., Ashton, M., ve Dodou, K.** (2015). Effect of crosslinking agent concentration on the properties of unmedicated hydrogels. *Pharmaceutics*, *7*(3), 305-319.

[62] **Xia, L. W., Xie, R., Ju, X. J., Wang, W., Chen, Q., ve Chu, L. Y.** (2013). Nano-structured smart hydrogels with rapid response and high elasticity. *Nature Communications*, *4*, 2226.

[63] **Sridhar, V., Kalahastı, S., Rao, B. S., Indira, S., Rao, K. G. K., ve Rao, T. A.** (2010). Spectroscopic Studies On Degradation Of Poly N, N'-Methylene Bisacrylamide. *Int.J. Chem. Sci. 8*(4), 2795-2800.

[64] **Park, H., Park, K., ve Shalaby, W. S.** (2011). *Biodegradable Hydrogels For Drug Delivery*. CRC Press.

[65] **Langer, R. S.** (1984). *Medical Applications of Controlled Release*. CRC.

[66] **Bando, A., Kasahara, R., Kayashima, K., Okumura, Y., Kato, K., Sakai, Y., ... ve Ito, K.** (2016). Volume Phase Transitions of Slide-Ring Gels. *Polymers*, *8*(6), 217.

[67] **ITO K.** (2007). Novel Cross-Linking Concept of Polymer Network:Synthesis, Structure, and Properties of Slide-Ring Gels with Freely Movable Junctions, *Polymer, 6*(19), 489–499.

[68] **Fleury, G., Schlatter, G., Brochon, C., ve Hadziioannou, G.** (2005). From high molecular weight precursor polyrotaxanes to supramolecular sliding networks. The 'sliding gels'. *Polymer*, *46*(19), 8494-8501.

[69] **Fleury, G., Schlatter, G., Brochon, C., ve Hadziioannou, G.** (2006). Unveiling the sliding motion in topological networks: Influence of the swelling solvent on the relaxation dynamics. *Advanced Materials*, *18*(21), 2847-2851.

[70] **Fleury, G., Schlatter, G., Brochon, C., Travelet, C., Lapp, A., Lindner, P., ve Hadziioannou, G**. (2007). Topological polymer networks with sliding cross-link points: The "sliding gels". Relationship between their molecular structure and the viscoelastic as well as the swelling properties. *Macromolecules*, *40*(3), 535-543.

[71] **Haraguchi, K., Takehisa, T., ve Ebato, M.** (2006). Control of cell cultivation and cell sheet detachment on the surface of polymer/clay nanocomposite hydrogels. *Biomacromolecules*, *7*(11), 3267-3275.

[72] **Haraguchi, K.** (2007, September). Nanocomposite gels: new advanced functional soft materials. *In Macromolecular Symposia* (Vol. 256 (1), 120-130). WILEY-VCH Verlag.

[73] **Haraguchı K., Uyama K., Tanımoto H.** (2011). Self-healing in Nanocomposite Hydrogels, *Macromol. Rapid Commun*., *32*, 1253–1258.

[74] **Changez, M., Burugapalli, K., Koul, V., ve Choudhary, V**. (2003). The effect of composition of poly (acrylic acid)–gelatin hydrogel on gentamicin sulphate release: in vitro. *Biomaterials*, *24*(4), 527-536.

[75] **Jesionowski, T., Zdarta, J., ve Krajewska, B.** (2014). Enzyme immobilization by adsorption: a review. *Adsorption, 20*(5-6), 801-821.

[76] **Milašinović, N., Knežević-Jugović, Z., Milosavljević, N., Lučić Škorić, M., Filipović, J., ve Kalagasidis Krušić, M.** (2014). Stimuli-sensitive hydrogel based on N-isopropylacrylamide and itaconic acid for entrapment and controlled release of Candida rugosa lipase under mild conditions. *BioMed Research International*, 2014.

[77] **Wang, L., Chen, S., Zhou, J., Yang, J., Chen, X., Ji, Y., ... ve Zha, L.** (2017). Silver Nanoparticles Loaded Thermoresponsive Hybrid Nanofibrous Hydrogel as a Recyclable Dip-Catalyst with Temperature-Tunable Catalytic Activity. *Macromolecular Materials and Engineering*, *302*(10).

[78] **Xue, Y., Xiao, H., ve Zhang, Y.** (2015). Antimicrobial polymeric materials with quaternary ammonium and phosphonium salts. *International journal of molecular sciences, 16*(2), 3626-3655.

[79] **Nonaka, T., Hua, L., Ogata, T., ve Kurihara, S.** (2003). Synthesis of water-soluble thermosensitive polymers having phosphonium groups from methacryloyloxyethyl trialkyl phosphonium chlorides–N-isopropylacrylamide copolymers and their functions. *Journal of Applied Polymer Science, 87*(3), 386-393.

[80] **Zhu, W., Wang, Y., Sun, S., Zhang, Q., Li, X., ve Shen, Z.** (2012). Facile synthesis and characterization of biodegradable antimicrobial poly (ester-carbonate). *Journal of Materials Chemistry*, *22*(23), 11785-11791.

[81] **Siepmann, J., Siegel, R. A., ve Rathbone, M. J.** (Eds.). (2011). *Fundamentals and applications of controlled release drug delivery*. Springer Science and Business Media.

[82] **Peppas, N. A., ve Khare, A. R.** (1993). Preparation, structure and diffusional behavior of hydrogels in controlled release. *Advanced Drug Delivery Reviews*, *11*(1-2), 1-35.

[83] **Wennink, J. W., Feijen, J., Dijkstra, P. J., ve Karperien, M.** (2013). Injectable Hydrogels for Articular Cartilage Tissue Engineering. *Biodegradable Hydrogels by Physical and Enzymatic Crosslinking of Biomacromolecules*, 9.

[84] **Flory, P. J. ve Rehner Jr, J.** (1943). Statistical mechanics of cross-linked polymer networks I. Rubberlike elasticity. *The Journal of Chemical Physics*, *11*(11), 512-520.

[85] **Flory, P.J.** (1953). *Principles of Polymer Chemistry*, Cornell Univ. Press, Ithaca, NY, p. 672.

[86] **Barbucci, H.** (2009). *Biological Properties and Applications.* Springer: Berlin, Germany.

[87] **McGeerver, B., Andrews, G., ve Jones, D**. (2018). Mechanisms of Drug Release from Hydrogels in Medical Applications. *Hydrogels: Design, Synthesis and Application in Drug Delivery and Regenerative Medicine*, 74.

[88] **Zarzycki, R., Modrzejewska, Z., ve Nawrotek, K.** (2010). Drug release from hydrogel matrices. *Ecol. Chem. Enginer.*, *17*, 117-136.

[89] **Ganji, F., Vasheghanı, F. S., ve Vasheghanı, F. E.** (2010). Theoretical description of hydrogel swelling: a review. A vailable online at: http://journal.ippi.ac.ir

[90] **Geever, L. M., Cooney, C. C., Lyons, J. G., Kennedy, J. E., Nugent, M. J., Devery, S., ve Higginbotham, C. L.** (2008). Characterisation and controlled drug release from novel drug-loaded hydrogels. *European journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutic*s, *69*(3), 1147-1159.

[91] **Konovalova, V., Samchenko, Y., Pobigai, G., Burban, A., ve Ulberg, Z.** (2013). Thermo-and pH-Responsive Hydrogels Based on N-Isopropylacrylamide and Allylamine Copolymers. *Scientific Research Publishing., 2*(4), 19.

[92] **Emileh, A., Vasheghani-Farahani, E., ve Imani, M.** (2007). Swelling behavior, mechanical properties and network parameters of pH-and temperature-

sensitive hydrogels of poly ((2-dimethyl amino) ethyl methacrylate-co-butyl methacrylate). *European Polymer Journal*, *43*(5), 1986-1995.

[93] **Oyen, M. L.** (2014). Mechanical characterisation of hydrogel materials. *International Materials Reviews*, *59*(1), 44-59.

[94] **Lohia, R., ve Brannigan, G.** (2018). Conformational Effects of Various Hydrophobic-to-Hydrophobic Substitution Located at the Midpoint of the Intrinsically Disordered Region of ProBDNF. *Biophysical Journal*, *114*(3), 591.

[95] **Patterson, J. P., Kelley, E. G., Murphy, R. P., Moughton, A. O., Robin, M. P., Lu, A., ... ve Epps III, T. H.** (2013). Structural characterization of amphiphilic homopolymer micelles using light scattering, SANS, and cryo-TEM. *Macromolecules*, *46*(15), 6319-6325.

[96] **Poorahmary Kermany, B.** (2010). *Carbopol hydrogels for topical administration: treatment of wounds*. (Master's thesis) Universitetet i Tromsø.

[97] **Wang, X., Ding, Z., Wang, C., Chen, X., Xu, H., Lu, Q., ve Kaplan, D.** (2018). Bioactive Silk Hydrogels with Tunable Mechanical Properties. *Journal of Materials Chemistry B*. *6*(18), 2739-2746.

[98] **Yoshida, M., Kamei, N., Muto, K., Kunisawa, J., Takayama, K., Peppas, N. A., ve Takeda-Morishita, M.** (2017). Complexation hydrogels as potential carriers in oral vaccine delivery systems. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, *112*, 138-142.

[99] **Url-3** <*http://goldbook.iupac.org/I03117.html*>, erişim tarihi 29.09.2016.

[100] **Kulshreshtha, A.K., Vasile, C.,** (2003). Advanced polymers: interpenetrating polymer networks, *Handbook of Polymer Blends and Composites*, *3*, 275– 280.

[101] **Gong, J.P., Katsuyama, Y., Kurokawa, T., Osada, Y.,** (2003). Double Network Hydrogels with Extremely High Mechanical Strength, *Adv. Mater*, 14, 15.

[102] **Url-4** <https://www.intechopen.com/books/emerging-concepts-in-analysis-and-applications-of-hydrogels/an-introduction-to-hydrogels-and-some-recent-applications>, erişim tarihi 24.05.2017.

[103] **Schreyer, H. B., Gebhart, N., Kim, K. J., ve Shahinpoor, M.** (2000). Electrical activation of artificial muscles containing polyacrylonitrile gel fibers. *Biomacromolecules, 1*(4), 642-647.

[104] **Shahinpoor, M., ve Kim, K. J.** (2002). Novel ionic polymer–metal composites equipped with physically loaded particulate electrodes as biomimetic sensors, actuators and artificial muscles. *Sensors and Actuators A: Physical, 96*(2-3), 125-132.

[105] **Shahinpoor, M., ve Kim, K. J.** (2004). Ionic polymer–metal composites: III. Modeling and simulation as biomimetic sensors, actuators, transducers, and artificial muscles. *Smart Materials and Structures, 13*(6), 1362.

[106] **Brazel, C. S., ve Peppas, N. A.** (1996). Pulsatile local delivery of thrombolytic and antithrombotic agents using poly (N-isopropylacrylamide-co-

methacrylic acid) hydrogels. *Journal of Controlled Release*, *39*(1), 57-64.

[107] **Taira, K., Kataoka, K., Takuro, N.** (2005). *Non-viral Gene Therapy: Gene Design and Delivery*, Springer Japan.

[108] **Zhang, S., Yang, X., Tang, B., Yuan, L., Wang, K., Liu, X., ... ve Chen, S.** (2018). New insights into synergistic antimicrobial and antifouling cotton fabrics via dually finished with quaternary ammonium salt and zwitterionic sulfobetaine. *Chemical Engineering Journal*, *336*, 123-132.

[109] **Asri, L. A., Crismaru, M., Roest, S., Chen, Y., Ivashenko, O., Rudolf, P., ... ve Busscher, H. J.** (2014). A Shape-Adaptive, Antibacterial-Coating of Immobilized Quaternary-Ammonium Compounds Tethered on Hyperbranched Polyurea and its Mechanism of Action. *Advanced Functional Materials*, *24*(3), 346-355.

[110] **Kenawy, E. R., Abdel-Hay, F. I., El-Shanshoury, A. E. R. R., ve El-Newehy, M. H.** (1998). Biologically active polymers: synthesis and antimicrobial activity of modified glycidyl methacrylate polymers having a quaternary ammonium and phosphonium groups. *Journal of Controlled Release*, *50*(1-3), 145-152.

[111] **Arslan, M., Saraydin, D., Öztop, A. Y., ve Şahiner, N.** (2017). Radiation-Induced Acrylamide/4-Vinyl Pyridine Biocidal Hydrogels: Synthesis, Characterization, and Antimicrobial Activities. *Polymer-Plastics Technology and Engineering*, *56*(12), 1295-1306.

[112] **Lowe, A. B., ve McCormick, C. L.** (2002). Synthesis and solution properties of zwitterionic polymers. *Chemical review*s, *102*(11), 4177-4190.

[113] **Tanaka, T.** (2000). *Experimental methods in polymer science: modern methods in polymer research and technology*. Academic Press.

[114] **Mah, E., ve Ghosh, R.** (2013). Thermo-responsive hydrogels for stimuli-responsive membranes. *Processes*, *1*(3), 238-262.

[115] **Georgiev, G. S., Mincheva, Z. P., ve Georgieva, V. T.** (2001). *Temperature-sensitive polyzwitterionic gels*. In Macromolecular Symposia (Vol. 164, No. 1, pp. 301-312). WILEY-VCH Verlag GmbH.

[116] **Azzaroni, O., Brown, A. A., ve Huck, W. T.** (2006). UCST Wetting Transitions of Polyzwitterionic Brushes Driven by Self-Association. *Angewandte Chemie International Edition*, *45*(11), 1770-1774.

[117] **Holmlin, R. E., Chen, X., Chapman, R. G., Takayama, S., ve Whitesides, G. M.** (2001). Zwitterionic SAMs that resist nonspecific adsorption of protein from aqueous buffer. *Langmuir*, *17*(9), 2841-2850.

[118] **Chen, S., Zheng, J., Li, L., ve Jiang, S.** (2005). Strong resistance of phosphorylcholine self-assembled monolayers to protein adsorption: insights into nonfouling properties of zwitterionic materials. *Journal of the American Chemical Society*, *127*(41), 14473-14478.

[119] **Chang, Y., Chen, S., Zhang, Z., ve Jiang, S.** (2006). Highly protein-resistant coatings from well-defined diblock copolymers containing sulfobetaines. *Langmuir*, *22*(5), 2222-2226.

[120] **Zhang, Z., Chao, T., Chen, S., ve Jiang, S.** (2006). Superlow fouling sulfobetaine and carboxybetaine polymers on glass slides. *Langmuir*, *22*(24), 10072-10077.

[121] **Chen, S., ve Jiang, S.** (2008). An new avenue to nonfouling materials. *Advanced Materials*, *20*(2), 335-338.

[122] **Wu, J., Xiao, Z., Chen, A., He, H., He, C., Shuai, X., ... ve Zheng, J.** (2018). Sulfated zwitterionic poly (sulfobetaine methacrylate) hydrogels promote complete skin regeneration. *Acta biomaterialia*, *71*, 293-305.

[123] **Chang, Y., Chen, W. Y., Yandi, W., Shih, Y. J., Chu, W. L., Liu, Y. L., ... ve Higuchi, A.** (2009). Dual-thermoresponsive phase behavior of blood compatible zwitterionic copolymers containing nonionic poly (N-isopropyl acrylamide). *Biomacromolecules*, *10*(8), 2092-2100.

[124] **Setälä, H., Mäkinen, K., Ruuskanen, P., ve Tenhu, H.** (2005). LCST adjusting by copolymerisation of N-alkylacrylamides and characterization by DSC. *Polymers for Advanced Technologies*, Budapest, 13-16.

[125] **Gandhi, A., Paul, A., Sen, S. O., ve Sen, K. K.** (2015). Studies on thermoresponsive polymers: Phase behaviour, drug delivery and biomedical applications. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, *10*(2), 99-107.

[126] **Conley, G. M., Nöjd, S., Braibanti, M., Schurtenberger, P., ve Scheffold, F.** (2016). Superresolution microscopy of the volume phase transition of pNIPAM microgels. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, *499*, 18-23.

[127] **Klouda, L., ve Mikos, A. G.** (2008). Thermoresponsive hydrogels in biomedical applications. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, *68*(1), 34-45.

[128] Gürdağ, G., ve Kurtuluş, B. (2010). Synthesis and Characterization of Novel Poly (N-isopropylacrylamide-co-N, N′-dimethylaminoethyl methacrylate sulfate) Hydrogels. *Industrial ve Engineering Chemistry Research*, *49*(24), 12675-12684.

[129] **Feil, H., Bae, Y. H., Feijen, J., ve Kim, S. W.** (1993). Effect of comonomer hydrophilicity and ionization on the lower critical solution temperature of N-isopropylacrylamide copolymers. *Macromolecules*, *26*(10), 2496-2500.

[130] **Yoo, M. K., Sung, Y. K., Lee, Y. M., ve Cho, C. S.** (2000). Effect of polyelectrolyte on the lower critical solution temperature of poly (N-isopropyl acrylamide) in the poly (NIPAAm-co-acrylic acid) hydrogel. *Polymer*, *41*(15), 5713-5719.

[131] **Messersmith, P.B. ve Znidarsich, F.** (1996). *Synthesis and Lcst Behavior of Thermally Responsive Poly(N-Isopropylacrylamide)/Layered Silicate Nanocomposites.* MRS Proceedings, 457, 507 doi:10.1557/PROC-457-507.

[132] **Kara, S., ve Pekcan, Ö.** (2003). Phase transitions of N-isopropylacrylamide gels prepared with various crosslinker contents. *Materials Chemistry and Physics*, *80*(2), 555-559.

[133] **Suzuki, A., Yoshikawa, S.** (2000). Nucleation and Spinodal Decomposition of Neutral Poly(N-isopropylacrylamide) Gels. *Jpn. J. Appl. Phys*., 39, 5195-5201.

[134] **Shibayama, M., Morimoto, M., Nomura, S.** (1994). Phase-seperation Induced Mechanical Transition of Poly(N-isopropylacrylamide) Water Isochore Gels. *Macromolecules*, *27*, 5060-5066.

[135] **Liang, L., Rieke, P.C., Liu, J., Fryxell, G.E., Young, J.S., Engelhard, M.H., KL Alford, K.L.** (2000). Surfaces with Reversible Hydrophilic/Hydrophobic Characteristics on Cross-linked Poly(N-Isopropylacrylamide) Hydrogels. *Langmuir*, *16*, 8016-8023.

[136] **Li, S. K., ve D'Emanuele, A.** (2001). On–off transport through a thermoresponsive hydrogel composite membrane. *Journal of Controlled Release*, *75*(1-2), 55-67.

[137] **Nakamoto, C., Motonaga, T., Shibayama, M.** (2001). Preparation pressure dependence of structure inhomogeneities and dynamic fluctuations in poly(N-isopropylacrylamide) gels. *Macromolecules*, *34*, 911-917.

[138] **Nie, J., Du, B., Oppermen, W.** (2004). Influence of Formation Conditions on Spatial Inhomogeneities in Poly(N-isopropylacrylamide) Hydrogels. *Macromolecules, 37*(17), 6558-6566.

[139] **Kabiri K, Omidian H, Hashemi SA, Zohuriaan-Mehr MJ.** (2003). Synthesis of fast-swelling superabsorbent hydrogels: Effect of crosslinker type and concentration on porosity and absorption rate. *European Polymer Journal, 39*, 1341–8.

[140] **Lake, G. J. ve Thomas, A. G.** (1967). The strength of highly elastic materials. *Proc. R. Soc. Lond. A*, *300*(1460), 108-119.

[141] **Okumura, Y., ve Ito, K.** (2001). The polyrotaxane gel: A topological gel by figure-of-eight cross-links. *Advanced Materials*, *13*(7), 485-487.

[142] **Tanaka, Y., Gong, J. P., ve Osada, Y.** (2005). Novel hydrogels with excellent mechanical performance. *Progress in Polymer Science*, *30*(1), 1-9.

[143] **Haq, M. A., Su, Y., ve Wang, D.** (2017). Mechanical properties of PNIPAM based hydrogels: A review. *Materials Science and Engineering: C*, *70*, 842-855.

[144] **Mujumdar, S. K., ve Siegel, R. A.** (2008). Introduction of pH-sensitivity into mechanically strong nanoclay composite hydrogels based on N-isopropylacrylamide. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*, *46*(19), 6630-6640.

[145] **Haraguchi, K.** (2011). Synthesis and properties of soft nanocomposite materials with novel organic/inorganic network structures. *Polymer Journal*, *43*(3), 223.

[146] **Haraguchi, K., ve Song, L.** (2007). Microstructures formed in co-cross-linked networks and their relationships to the optical and mechanical properties of PNIPA/clay nanocomposite gels. *Macromolecules*, *40*(15), 5526-5536.

[147] **Olad, A.** (2011). *Polymer/clay nanocomposites.* In Advances in diverse industrial applications of nanocomposites. InTech.

[148] **Krupskaya, V. V., Zakusin, S. V., Tyupina, E. A., Dorzhieva, O. V., Zhukhlistov, A. P., Belousov, P. E., ve Timofeeva, M. N.** (2017). Experimental study of montmorillonite structure and transformation of its properties under treatment with inorganic acid solutions. *Minerals*, *7*(4), 49.

[149] **Mittal, V.** (2009). Polymer layered silicate nanocomposites: a review. *Materials*, *2*(3), 992-1057.

[150] **Lin, F.H., Lee, Y.-H., Jian, C.H.,Wong, J.M., Shieh, M.J.,Wang, C.Y.,** (2002). A study of purified montmorillonite intercalated with 5-fluorouracil as drug carrier. *Biomaterials, 23*,1981–1987.

[151] **Dong, Y., Feng, S.-S.** (2005). Poly(d, l-lactide-co-glycolide)/montmorillonite nanoparticles for oral delivery of anticancer drugs. *Biomaterials, 26*, 6068–6076.

[152] **Kevadiya, et al.,** (2012). Montmorillonite/poly-(e-caprolactone) composites as versatile layered material: reservoirs for anticancer drug and controlled release property. *Eur. J. Pharm. Sci., 47*, 265–272.

[153] **Calabrese, I., Cavallaro, G., Scialabba, C., Licciardi, M., Merli, M., Sciascia, L. Turco, Liveri, M.L.** (2013). Nanodevices for the colon metronidazole delivery. *Int. J. Pharm., 457*, 224–236.

[154] **Chang, P. H., Jiang, W. T., Li, Z., Kuo, C. Y., Jean, J. S., Chen, W. R., ve Lv, G.** (2014). Mechanism of amitriptyline adsorption on Ca-montmorillonite (SAz-2). *Journal of Hazardous Materials*, *277*, 44-52.

[155] **Seki, Y.S., Kadir, Y.C.,**(2006). Adsorption of promethazine hydrochloride with KSF montmorillonite. *Adsorption, 12*, 89–100.

[156] **Kollar, T., Palinko, I., Konya, Z., Kiricsi, I.** (2003). Intercalating amino acid guests into montmorillonite host. *J. Mol. Struct., 651,* 335–340.

[157] **Zhu, S., Lu, H., Xiang, J., Tang, K., Zhang, B., Zhou, M., ... ve Li, G.** (2002). A novel nonviral nanoparticle gene vector: Poly-L-lysine-silica nanoparticles. *Chinese Science Bulletin*, *47*(8), 654-658.

[158] **Cobo, I., Li, M., Sumerlin, B. S., ve Perrier, S.** (2015). Smart hybrid materials by conjugation of responsive polymers to biomacromolecules. *Nature Materials*, *14*(2), 143.

[159] **Gardner, C. M., ve Gunsch, C. K.** (2017). Adsorption capacity of multiple DNA sources to clay minerals and environmental soil matrices less than previously estimated. *Chemosphere*, *175*, 45-51.

[160] **Lee, Y. H., Kuo, T. F., Chen, B. Y., Feng, Y. K., Wen, Y. R., Lin, W. C., & Lin, F. H.** (2005). Toxicity assessment of montmorillonite as a drug carrier for pharmaceutical applications: yeast and rats model. *Biomedical Engineering: Applications, Basis and Communications*, *17*(02), 72-78.

[161] **Daniel, S. K., Tharmaraj, V., Sironmani, T. A., ve Pitchumani, K.** (2010). Toxicity and immunological activity of silver nanoparticles. *Applied Clay Science*, *48*(4), 547-551.

[162] **Cox, J.C., Coulter, A.R.** (1997). Adyuvants—a classification and review of their modes of action. *Vaccines, 15*, 248–256

[163] **Yu, J., Baek, M., Chung, H. E., ve Choi, S. J.** (2010). Physicochemical properties affecting the potentialin vitro cytotoxicity of inorganic layered nanoparticles. *Toxicology and Environmental Health Sciences*, *2*(3), 149-152.

[164] **Salcedo, I., Sandri, G., Aguzzi, C., Bonferoni, C., Cerezo, P., Sánchez-Espejo, R., ve Viseras, C.** (2014). Intestinal permeability of oxytetracycline from chitosan-montmorillonite nanocomposites. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, *117*, 441-448.

[165] **Kevadiya, B. D., Patel, T. A., Jhala, D. D., Thumbar, R. P., Brahmbhatt, H., Pandya, M. P., ... ve Tripathi, C. B.** (2012). Layered inorganic nanocomposites: a promising carrier for 5-fluorouracil (5-FU). *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, *81*(1), 91-101.

[166] **Dong, Y., ve Feng, S. S.** (2005). Poly (d, l-lactide-co-glycolide)/montmorillonite nanoparticles for oral delivery of anticancer drugs. *Biomaterials, 26*(30), 6068-6076.

[167] **Baek, M., Lee, J. A., ve Choi, S. J.** (2012). Toxicological effects of a cationic clay, montmorillonite in vitro and in vivo. Molecular ve Cellular *Toxicology*, *8*(1), 95-101.

[168] **Win, K. Y., ve Feng, S. S.** (2005). Effects of particle size and surface coating on cellular uptake of polymeric nanoparticles for oral delivery of anticancer drugs. *Biomaterials, 26*(15), 2713-2722.

[169] **Tiwari, R. R., Khilar, K. C., ve Natarajan, U.** (2008). Synthesis and characterization of novel organo-montmorillonites. *Applied Clay Science, 38*(3-4), 203-208.

[170] **Weian, Z., Wei, L., ve Yue'e, F.** (2005). Synthesis and properties of a novel hydrogel nanocomposites. *Materials Letters*, 59(23), 2876-2880.

[171] **Osman, M. A., Ploetze, M., ve Suter, U. W.** (2003). Surface treatment of clay minerals—thermal stability, basal-plane spacing and surface coverage. *Journal of Materials Chemistry, 13*(9), 2359-2366.

[172] **Shahin, A., Joshi, Y. M., ve Ramakrishna, S. A.** (2011). Interface-induced anisotropy and the nematic glass/gel state in jammed aqueous laponite suspensions. *Langmuir, 27*(23), 14045-14052.

[173] **Kroon, M., Wegdam, G. H., ve Sprik, R.** (1996). Dynamic light scattering studies on the sol-gel transition of a suspension of anisotropic colloidal particles. *Physical Review E, 54*(6), 6541.

[174] **Tawari, S. L., Koch, D. L., ve Cohen, C.** (2001). Electrical double-layer effects on the brownian diffusivity and aggregation rate of laponite clay particles. *Journal of Colloid and Interface Science, 240*(1), 54-66.

[175] **Cousin, F., Cabuil, V., ve Levitz, P.** (2002). Magnetic colloidal particles as probes for the determination of the structure of laponite suspensions. *Langmuir, 18*(5), 1466-1473.

[176] **Kosmulski, M.** (2001). *Chemical Properties of Material Surfaces* (Vol. 102). CRC press.

[177] **Jatav, S., ve Joshi, Y. M.** (2014). Chemical stability of Laponite in aqueous media. *Applied Clay Science,* 97, 72-77.

[178] **Fornaro, T., Brucato, J. R., Branciamore, S., ve Pucci, A.** (2013). Adsorption of nucleic acid bases on magnesium oxide (MgO). *International Journal of Astrobiology*, *12*(1), 78-86.

[179] **Mourchid, A., ve Levitz, P.** (1998). Long-term gelation of laponite aqueous dispersions. *Physical Review E,* 57(5), R4887.

[180] **Shukla, N. B., ve Madras, G.** (2011). Reversible swelling/deswelling characteristics of ethylene glycol dimethacrylate cross-linked poly (acrylic acid-co-sodium acrylate-co-acrylamide) superabsorbents. *Industrial and Engineering Chemistry Research, 50*(19), 10918-10927.

[181] **Haraguchi, K., Takehisa, T., ve Fan, S.** (2002). Effects of clay content on the properties of nanocomposite hydrogels composed of poly (N-isopropylacrylamide) and clay. *Macromolecules*, *35*(27), 10162-10171.

[182] **Haraguchi, K., ve Li, H. J.** (2006). Mechanical properties and structure of polymer− clay nanocomposite gels with high clay content. *Macromolecules, 39*(5), 1898-1905.

[183] **Haraguchi, K., Li, H. J., Matsuda, K., Takehisa, T., ve Elliott, E.** (2005). Mechanism of forming organic/inorganic network structures during in-situ free-radical polymerization in PNIPA−clay nanocomposite hydrogels. *Macromolecules*, *38*(8), 3482-3490.

[184] **Cussler, E. L.** (2009). *Diffusion: mass transfer in fluid systems*. Cambridge university press.

[185] **Yao, K., Li, J., Yao, F., ve Yin, Y.** (2011). *Chitosan-based hydrogels: functions and applications*. CRC Press. Page 290

[186] **Sharpe, L. A., Daily, A. M., Horava, S. D., ve Peppas, N. A.** (2014). Therapeutic applications of hydrogels in oral drug delivery. *Expert Opinion on Drug Delivery*, *11*(6), 901-915.

[187] **Zhigaltsev, I. V., Tam, Y. K., Leung, A. K., ve Cullis, P. R.** (2015). Production of limit size nanoliposomal systems with potential utility as ultra-small drug delivery agents. *Journal of Liposome Research*, *26*(2), 96-102.

[188] **Duong, A. D., Collier, M. A., Bachelder, E. M., Wyslouzil, B. E., ve Ainslie, K. M.** (2015). One Step Encapsulation of Small Molecule Drugs in Liposomes via Electrospray-Remote Loading. *Molecular Pharmaceutics*, *13*(1), 92-99.

[189] **Xue, J. M., ve Shi, M.** (2004). PLGA/mesoporous silica hybrid structure for controlled drug release. *Journal of Controlled Release, 98*(2), 209-217.

[190] **Carta, G., ve Jungbauer, A.** (2010). *Protein Chromatography: Process Development and Scale-Up.* John Wiley ve Sons.

[191] **Lin, C. C., ve Metters, A. T.** (2006). Hydrogels in controlled release formulations: network design and mathematical modeling. *Advanced Drug Delivery Reviews*, *58*(12-13), 1379-1408.

[192] **Siepmann, J., ve Peppas, N. A.** (2012). Modeling of drug release from delivery systems based on hydroxypropyl methylcellulose (HPMC). *Advanced Drug Delivery Reviews, 64,* 163-174.

[193] **Hoare, T. R., ve Kohane, D. S**. (2008). Hydrogels in drug delivery: progress and challenges. *Polymer, 49*(8), 1993-2007.

[194] **Amsden, B.** (1998). Solute diffusion within hydrogels. Mechanisms and models. *Macromolecules, 31*(23), 8382-8395.

[195] **Lowman, A. M. ve Peppas, N. A.** (1999). Solute transport analysis in pH-responsive, complexing hydrogels of poly (methacrylic acid-g-ethylene glycol). *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, *10*(9), 999-1009.

[196] **Flynn, G. L., Yalkowsky, S. H., ve Roseman, T. J.** (1974). Mass transport phenomena and models: theoretical concepts. *Journal of Pharmaceutical Sciences, 63*(4), 479-510.

[197] **Vrentas, J. S., Vrentas, C. M., ve Huang, W. J.** (1997). Anticipation of anomalous effects in differential sorption experiments. *Journal of Applied Polymer Science*, *64*(10), 2007-2013.

[198] **Vrentas, J. S., ve Vrentas, C. M.** (1993). Evaluation of free-volume theories for solvent self-diffusion in polymer–solvent systems. *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics*, *31*(1), 69-76.

[199] **Alfrey, T., Gurnee, E. F., ve Lloyd, W. G.** (1966). Diffusion in glassy polymers. In Journal of Polymer Science Part C: Polymer Symposia (*12*(1), pp. 249-261). Wiley Subscription Services, Inc., A Wiley Company.

[200] **Singh, J.** (1993). Swelling of polymer gels (Doctoral dissertation, McGill University Libraries).

[201] **Fujita, H.** (1968). Organic vapors above the glass transition temperature. *Diffusion in Polymers*, 75-105.

[202] **Crank, J.** (1979). *The Mathematics of Diffusion*. Oxford university press.

[203] **Noyes, A. A., ve Whitney, W. R.** (1897). Massachusetts Institute of Technology. *Boston J Am Chem Soc*, *19*, 930-934.

[204] **Mauger, J. W., Chilko, D., ve Howard, S.** (1986). On the analysis of dissolution data. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, *12*(7), 969-992.

[205] **Polli, J. E., Rekhi, G. S., Augsburger, L. L., ve Shah, V. P.** (1997). Methods to compare dissolution profiles and a rationale for wide dissolution specifications for metoprolol tartrate tablets. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, *86*(6), 690-700.

[206] **Costa, P., ve Lobo, J. M. S.** (2001). Modeling and comparison of dissolution profiles. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, *13*(2), 123-133.

[207] **Shah, V. P., Lesko, L. J., Fan, J., Fleischer, N., Handerson, J., Malinowski, H., ... ve Singh, G. J. P.** (1997). FDA guidance for industry: dissolution testing of immediate release solid oral dosage forms. *Dissolution Technol, 4*, 15-22.

[208] **Costa, P.** (2001). An alternative method to the evaluation of similarity factor in dissolution testing. *International Journal of Pharmaceutics*, *220*(1-2), 77-83.

[209] **Upputuri, P., Theaj, R., Mandal, A., ve Kalam, A.** (2017). Sustained Release of Green Tea Polyphenols from Liposomal Nanoparticles; Release Kinetics and Mathematical Modelling. *Iranian Journal of Biotechnology*, *15*(4), 277-283.

[210] **Duan, J. Z., Riviere, K., ve Marroum, P.** (2011). In vivo bioequivalence and in vitro similarity factor (f2) for dissolution profile comparisons of extended release formulations: how and when do they match?. *Pharmaceutical Research*, *28*(5), 1144-1156.

[211] **Narasimhan, B., Mallapragada, S. K., ve Peppas, N. A.** (1999). Release kinetics, data interpretation. *Encyclopedia of Controlled Drug Delivery*, *2*, 921-935.

[212] **Dash, S., Murthy, P. N., Nath, L., ve Chowdhury, P.** (2010). Kinetic modeling on drug release from controlled drug delivery systems. *Acta Pol Pharm, 67*(3), 217-23.

[213] **Hixson, A. W., ve Crowell, J. H.** (1931). Ind Eng Chem, 23, 923. CrossRef| CAS.

[214] **Chen, S., Zhu, J., ve Cheng, J.** (2007). Preparation and in vitro evaluation of a novel combined multiparticulate delayed-onset sustained-release formulation of diltiazem hydrochloride. Die Pharmazie-An *International Journal of Pharmaceutical Sciences, 62*(12), 907-913.

[215] **Bravo, S. A., Lamas, M. C., ve Salomón, C. J.** (2002). In-vitro studies of diclofenac sodium controlled-release from biopolymeric hydrophilic matrices. *J Pharm Pharm Sci*, *5*(3), 213-219.

[216] **Ritger, P. L., ve Peppas, N. A.** (1987). A simple equation for description of solute release II. Fickian and anomalous release from swellable devices. *Journal of Controlled Release*, *5*(1), 37-42.

[217] **Libo, Y., ve Reza, F.** (1996). Pharmacokinetic profiles of two tablet formulations of Piroxicam. *J. Pharm. Sci, 85*, 170-176.

[218] **Freitas, M. N., ve Marchetti, J. M.** (2005). Nimesulide PLA microspheres as a potential sustained release system for the treatment of inflammatory diseases. *International Journal of Pharmaceutics*, *295*(1-2), 201-211.

[219] **Ramteke, K. H., Dighe, P. A., Kharat, A. R., ve Patil, S. V.** (2014). Mathematical models of drug dissolution: a review. *Sch. Acad. J. Pharm*, *3*(5), 388-396.

[220] **Luginbuhl, K. M., Schaal, J. L., Umstead, B., Mastria, E. M., Li, X., Banskota, S., ... ve Chilkoti, A.** (2017). One-week glucose control via zero-order release kinetics from an injectable depot of glucagon-like

peptide-1 fused to a thermosensitive biopolymer. *Nature Biomedical Engineering*, *1*(6), 0078.

[221] **Kotagale, N. R., Parkhe, A. P., Jumde, A. B., Khandelwal, H. M., ve Umekar, M. J.** (2011). Ranitidine hydrochloride-loaded ethyl cellulose and eudragit Rs 100 buoyant microspheres: Effect of ph modifiers. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, *73*(6), 626.

[222] **Bourne, D. W.** (2002). *Pharmacokinetics In: Modern Pharmaceutics*; Banker, GS, Rhodes, CT, Eds.

[223] **Higuchi, T.** (1963). Mechanism of sustained-action medication. Theoretical analysis of rate of release of solid drugs dispersed in solid matrices. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, *52*(12), 1145-1149.

[224] **Grassi, M., ve Grassi, G.** (2005). Mathematical modelling and controlled drug delivery: matrix systems. *Current Drug Delivery*, *2*(1), 97-116.

[225] **Shoaib, M. H., Tazeen, J., Merchant, H. A., ve Yousuf, R. I.** (2006). Evaluation of drug release kinetics from ibuprofen matrix tablets using HPMC. *Pakistan journal of pharmaceutical sciences*, *19*(2), 119-124.

[226] **Arhewoh, I. M., ve Okhamafe, A. O.** (2004). An overview of site-specific delivery of orally administered proteins/peptides and modelling considerations. *JMBR: A Peer-review Journal of Biomedical Sciences 3*(1), 7–20.

[227] **Higuchi, W. I.** (1967). Diffusional models useful in biopharmaceutics. Drug release rate processes. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, *56*(3), 315-324.

[228] **Peppas, N. A., ve Korsmeyer, R. W.** (1987). Dynamically swelling hydrogels in controlled release applications. *Hydrogels in Medicine and Pharmacy, 3*, 109-136.

[229] **Gierszewska-Drużyńska, M., ve Ostrowska-Czubenko, J.** (2012). Mechanism of water diffusion into noncrosslinked and ionically crosslinked chitosan membranes. *PCACD (Poland*), *17*, 59-66.

[230] **Schott, H.** (1992). Swelling kinetics of polymers. *Journal of Macromolecular Science, Part B: Physics, 31*(1), 1-9.

[231] **Bajpai, S. K., ve Swarnkar, M. P.** (2014). New Semi-IPN hydrogels based on cellulose for biomedical application. *Journal of Polymers*, 2014.

[232] **Smith, P. M., ve Fisher, M. M**. (1984). Non-Fickian diffusion of water in melamine-formaldehyde resins. *Polymer, 25*(1), 84-90.

[233] **Bajpai, S. K., Shah, F. F., ve Bajpai, M.** (2017). Dynamic release of gentamicin sulfate (GS) from alginate dialdehyde (AD)-crosslinked casein (CAS) films for antimicrobial applications. *Designed Monomers and Polymers*, *20*(1), 18-32.

[234] **Kim, B., La Flamme, K., ve Peppas, N. A.** (2003). Dynamic swelling behavior of pH-sensitive anionic hydrogels used for protein delivery. *Journal of Applied Polymer Science, 89*(6), 1606-1613.

[235] **Botelho, R. G., Froes, C. M., ve Santos, J. B.** (2012). Toxicity of herbicides on Escherichia coli growth. *Brazilian Journal of Biology*, *72*(1), 141-146.

[236] **Fossum, S., Crooke, E., ve Skarstad, K.** (2007). Organization of sister origins and replisomes during multifork DNA replication in Escherichia coli. *The EMBO Journal*, *26*(21), 4514-4522.

[237] **Vitreschak, A. G., Rodionov, D. A., Mironov, A. A., ve Gelfand, M. S.** (2002). Regulation of riboflavin biosynthesis and transport genes in bacteria by transcriptional and translational attenuation. *Nucleic Acids Research*, *30*(14), 3141-3151.

[238] **Melton-Celsa, A. R.** (2014). Shiga toxin (Stx) classification, structure, and function. *Microbiology Spectrum*, *2*(2).

[239] **Wenk, J., Aeschbacher, M., Salhi, E., Canonica, S., Von Gunten, U., ve Sander, M.** (2013). Chemical oxidation of dissolved organic matter by chlorine dioxide, chlorine, and ozone: effects on its optical and antioxidant properties. *Environmental Science and Technology*, *47*(19), 11147-11156.

[240] **Koleske, J. V.** (1995). *Paint and coating testing manual.* Gardner-Sward handbook; Paint testing manual. ASTM.

[241] **Fink, J.** (2015). *Petroleum Engineer's Guide to Oil Field Chemicals And Fluids*. Gulf Professional Publishing.

[242] **Iconomopoulou, S. M., ve Voyiatzis, G. A.** (2005). The effect of the molecular orientation on the release of antimicrobial substances from uniaxially drawn polymer matrixes. *Journal of Controlled Release*, *103*(2), 451-464.

[243] **Guo, M., Jin, T. Z., Wang, L., Scullen, O. J., ve Sommers, C. H.** (2014). Antimicrobial films and coatings for inactivation of Listeria innocua on ready-to-eat deli turkey meat. *Food Control, 40*, 64-70.

[244] **Severino, R., Ferrari, G., Vu, K. D., Donsì, F., Salmieri, S., ve Lacroix, M.** (2015). Antimicrobial effects of modified chitosan based coating containing nanoemulsion of essential oils, modified atmosphere packaging and gamma irradiation against Escherichia coli O157: H7 and Salmonella Typhimurium on green beans. *Food Control*, *50,* 215-222.

[245] **Lim, K., Chua, R. R. Y., Ho, B., Tambyah, P. A., Hadinoto, K., ve Leong, S. S. J.** (2015). Development of a catheter functionalized by a polydopamine peptide coating with antimicrobial and antibiofilm properties. *Acta biomaterialia*, *15,* 127-138.

[246] **La, Y. H., McCloskey, B. D., Sooriyakumaran, R., Vora, A., Freeman, B., Nassar, M., ... ve Allen, R.** (2011). Bifunctional hydrogel coatings for water purification membranes: Improved fouling resistance and antimicrobial activity. *Journal of membrane science, 372*(1-2), 285-291.

[247] **Salim, R., Nazir, F., Amin, F., ve Nissar, J.** (2017). Antimicrobial Food Packaging. *International Journal of Engineering Technology Science and Research*., *4*(12), 310-312.

[248] **Hu, L., Zhao, P., Deng, H., Xiao, L., Qin, C., Du, Y., ve Shi, X.** (2014). Electrical signal guided click coating of chitosan hydrogel on conductive surface. *Rsc Advances*, *4*(26), 13477-13480.

[249] **Muhamad, I. I., Asgharzadehahmadi, S. A., Zaidel, D. N. A., ve Supriyanto, E.** (2013). Characterization and Evaluation of Antibacterial Properties of Polyacrylamide Based Hydrogel Containing Magnesium Oxide Nanoparticles. *Int. J. Biol. Biomed. Eng*, *7*, 108-113.

[250] **Ravindra, S., Varaprasad, K., Rajinikanth, V., Mulaba-Bafubiandi, A. F., ve Venkata Surya Ramam, K.** (2013). Studies on Curcumin Loaded Poly (N-isopropylacrylamide) Silver Nanocomposite Hydrogels for Antibacterial and Drug Releasing Applications. *Journal of Macromolecular Science, Part A*, *50*(12), 1230-1240.

[251] **Shameli, K., Ahmad, M. B., Yunus, W. M. Z. W., Rustaiyan, A., Ibrahim, N. A., Zargar, M., ve Abdollahi, Y.** (2010). Green synthesis of silver/montmorillonite/chitosan bionanocomposites using the UV irradiation method and evaluation of antibacterial activity. *International journal of nanomedicine, 5,* 875.

[252] **Maryan, A. S., ve Montazer, M.** (2015). Natural and organo-montmorillonite as antibacterial nanoclays for cotton garment. *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, *22*, 164-170.

[253] **Recht, R. F.** (1964). Catastrophic thermoplastic shear. *Journal of Applied Mechanics*, *31*(2), 189-193.

[254] **Colthup, N.** (2012). *Introduction to Infrared and Raman Spectroscopy*. Elsevier.

[255] **Atkins, P., ve De Paula, J.** (2013). *Elements of Physical Chemistry*. Oxford University Press, USA.

[256] **Pope, C. G.** (1997). X-ray diffraction and the Bragg equation. *J. Chem. Educ., 74*(1), 129.

[257] **Moore, J. W., ve Stanitski, C. L.** (2014). *Chemistry: The Molecular Science*. Cengage Learning.

[258] **Wang, X., Sharp, J. S., Handel, T. M., ve Prestegard, J. H.** (2013). Chemokine oligomerization in cell signaling and migration. *Progress in molecular biology and translational science, 117,* 531-578.

[259] **Attwood, D., ve Sakdinawat, A.** (2017). *X-rays and extreme ultraviolet radiation: principles and applications*. Cambridge university press.

[260] **Goldstein, J. I., Newbury, D. E., Michael, J. R., Ritchie, N. W., Scott, J. H. J., ve Joy, D. C.** (2017*). Scanning electron microscopy and X-ray microanalysis.* Springer.

[261] **Url-5** <http://cfamm.ucr.edu/documents/eds-intro.pdf>, erişim tarihi 17.02.2017.

[262] **Jakobsen, L., Sandvang, D., Jensen, V. F., Seyfarth, A. M., Frimodt-Møller, N., ve Hammerum, A. M.** (2007). Gentamicin susceptibility in

Escherichia coli related to the genetic background: problems with breakpoints. *Clinical Microbiology and Infection*, *13*(8), 830-832.

[263] **Riviere, J.E., Craigmill, A.L., Sundlof, S.F.** (1991). *Handbook of Comparative Pharmacokinetics and Residues of Veterinary Antimicrobials*. Boca Raton, FL: CRC Press, Inc. p. 263-75.

[264] **Lin, S. Y., Chen, K. S., ve Run-Chu, L.** (2001). Design and evaluation of drug-loaded wound dressing having thermoresponsive, adhesive, absorptive and easy peeling properties. *Biomaterials*, *22*(22), 2999-3004.

[265] **Shen, X., Hu, Y., Darcos, V., ve Li, S.** (2015). Biocompatibility of thermo-responsive PNIPAAm-PLLA-PNIPAAm triblock copolymer as potential drug carrier. *Polymers for Advanced Technologies*, *26*(12), 1567-1574.

[266] **Shakya, A. K., Kumar, A., ve Nandakumar, K. S.** (2011). Adjuvant properties of a biocompatible thermo-responsive polymer of N-isopropylacrylamide in autoimmunity and arthritis. *Journal of The Royal Society Interface*, *8*(65), 1748-1759.

[267] **Haraguchi, K., ve Li, H. J.** (2006). Mechanical properties and structure of polymer− clay nanocomposite gels with high clay content. *Macromolecules*, *39*(5), 1898-1905.

[268] **Suzuki, Y., Tomonaga, K., Kumazaki, M., ve Nishio, I.** (1996). Change in phase transition behavior of an NIPA gel induced by solvent composition: hydrophobic effect. *Polymer Gels and Networks*, *4*(2), 129-142.

[269] **Erbil, C., Topuz, D., Gökçeören, A. T., & Şenkal, B. F.** (2011). Network parameters of poly (N-isopropylacrylamide)/montmorillonite hydrogels: effects of accelerator and clay content. *Polymers for Advanced Technologies*, *22*(12), 1696-1704.

[270] **Caykara, T., ve Birlik, G.** (2005). Swelling and Adsorption Properties of Hydrophobic Poly [(N-(3-(dimethylamino) propyl) methacrylamide)-co-(lauryl acrylate)] Hydrogels in Aqueous Solutions of Surfactants. *Macromolecular Materials and Engineering*, *290*(9), 869-874.

[271] **Lee, W. F., ve Hsu, C. H.** (1998). Thermoreversible hydrogels: 3. Synthesis and swelling behavior of the (N-isopropylacrylamide-co-trimethylacrylamidopropyl ammonium iodide) copolymeric hydrogels. *Polymer*, *39*(22), 5393-5403.

[272] **Chang, Y., Yandi, W., Chen, W. Y., Shih, Y. J., Yang, C. C., Chang, Y., ... ve Higuchi, A.** (2010). Tunable bioadhesive copolymer hydrogels of thermoresponsive poly (N-isopropyl acrylamide) containing zwitterionic polysulfobetaine. *Biomacromolecules*, *11*(4), 1101-1110.

[273] **Çaykara, T., Demiray, M., & Güven, O.** (2006). Swelling behavior of poly {N-[3-(dimethylaminopropyl)] methacrylamide-co-acrylamide} hydrogels in aqueous solutions of surfactants. *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics*, *44*(12), 1645-1652.

[274] **URL-6** <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/pi.1405/full>, erişim tarihi 17.02.2017.

[275] **Chang, Y., Liao, S. C., Higuchi, A., Ruaan, R. C., Chu, C. W. ve Chen, W. Y.** (2008). A highly stable nonbiofouling surface with well-packed grafted zwitterionic polysulfobetaine for plasma protein repulsion. *Langmuir*, *24*(10), 5453-5458.

[276] **Farris, S., Mora, L., Capretti, G., ve Piergiovanni, L.** (2011). Charge density quantification of polyelectrolyte polysaccharides by conductometric titration: An analytical chemistry experiment. *Journal of Chemical Education*, *89*(1), 121-124.

[277] **Kumar, P., Ganure, A. L., Subudhı, B. B., ve Shukla, S.** (2014). Synthesis and characterization of pH sensitive ampiphillic new copolymer of methyl methacrylate grafted on modified starch: influences of reaction variables on grafting parameters. *Graft*, *3*, W1.

[278] **Santos, J. R., Alves, N. M., ve Mano, J. F.** (2010). New thermo-responsive hydrogels based on poly (N-isopropylacrylamide)/hyaluronic acid semi-interpenetrated polymer networks: swelling properties and drug release studies. *Journal of Bioactive and Compatible Polymers, 25*(2), 169-184.

[279] **Richards, F., McCall, C., ve Cox, C.** (1971). Gentamicin treatment of staphylococcal infections. *JAMA, 215*(8), 1297-1300.

[280] **Url-7** <http://www.signaling-gateway.org/>, erişim tarihi 22.02.2017.

[281] **He, C., Shi, Z. Q., Ma, L., Cheng, C., Nie, C. X., Zhou, M., ve Zhao, C. S.** (2015). Graphene oxide based heparin-mimicking and hemocompatible polymeric hydrogels for versatile biomedical applications. *Journal of Materials Chemistry B, 3*(4), 592-602.

[282] **Howell, A. L., Novack, C. D., Stagg, A. M., Patel, S., ve Rubinson, E. H.** (2015). *U.S. Patent Application No. 14/282,311*.

[283] **Sandewicz, R., Pagano, F., Patil, A., ve Calello, J.** (2006). *U.S. Patent Application No. 10/960,557*.

[284] **Chen, K., Guo, B., ve Luo, J.** (2017). Quaternized carboxymethyl chitosan/organic montmorillonite nanocomposite as a novel cosmetic ingredient against skin aging. *Carbohydrate polymers*, *173*, 100-106.

[285] **López-Galindo, A., Viseras, C., ve Cerezo, P.** (2007). Compositional, technical and safety specifications of clays to be used as pharmaceutical and cosmetic products. *Applied Clay Science*, *36*(1-3), 51-63.

[286] **Wang, X., Du, Y., Yang, J., Tang, Y., ve Luo, J.** (2008). Preparation, characterization, and antimicrobial activity of quaternized chitosan/organic montmorillonite nanocomposites. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, *84*(2), 384-390.

[287] **Bush, B. G., Shapiro, J. M., DelRio, F. W., Cook, R. F., ve Oyen, M. L.** (2015). Mechanical measurements of heterogeneity and length scale effects in PEG-based hydrogels. *Soft Matter*, *11*(36), 7191-7200.

[288] **Anipsitakis, G. P., & Dionysiou, D. D.** (2004). Radical generation by the interaction of transition metals with common oxidants. *Environmental Science & Technology*, *38*(13), 3705-3712.

[289] **Liang, C., Wang, Z. S. ve Bruell, C. J.** (2007). Influence of pH on persulfate oxidation of TCE at ambient temperatures. *Chemosphere*, *66*(1), 106-113.

[290] **Waldemer, R. H., Tratnyek, P. G., Johnson, R. L. ve Nurmi, J. T.** (2007). Oxidation of chlorinated ethenes by heat-activated persulfate: kinetics and products. *Environmental Science & Technology*, *41*(3), 1010-1015.

[291] **Gurdag, G., Sarmad, S.** (2013). Cellulose Graft Copolymers: Synthesis, Properties,and Applications, Polysaccharide Based Graft Copolymers, DOI 10.1007/978-3-642-36566- 9_2.

[292] **Liu, Z., Yang, S., Yuan, Y., Xu, J., Zhu, Y., Li, J., ve Wu, F.** (2017). A novel heterogeneous system for sulfate radical generation through sulfite activation on a CoFe2O4 nanocatalyst surface. *Journal of Hazardous Materials*, *324*, 583-592.

[293] **Feng, X. D., Guo, X. Q., Qiu, K. Y.** (1988). Study of the initiation mechanism of the vinyl polymerization with the system persulfate/N,N,N',N'-tetramethylethylenediamin. *Die Makromolekulare Chemie*, *189*, 77–83.

[294] **Mohan, Y. M. ve Geckeler, K. E.** (2007). Polyampholytic hydrogels: Poly (N-isopropylacrylamide)-based stimuli-responsive networks with poly (ethyleneimine). *Reactive and Functional Polymers*, *67*(2), 144-155.

[295] **Qiu, X., Koga, T., Tanaka, F., ve Winnik, F. M.** (2013). New insights into the effects of molecular weight and end group on the temperature-induced phase transition of poly (N-isopropylacrylamide) in water. *Science China Chemistry*, *56*(1), 56-64.

[296] **Haraguchi, K., ve Takehisa, T.** (2002). Nanocomposite hydrogels: a unique organic–inorganic network structure with extraordinary mechanical, optical, and swelling/de-swelling properties. *Advanced Materials*, *14*(16), 1120-1124.

[297] **Haraguchi, K., ve Takada, T.** (2010). Synthesis and characteristics of nanocomposite gels prepared by in situ photopolymerization in an aqueous system. *Macromolecules*, *43*(9), 4294-4299.

[298] **Haraguchi, K., Xu, Y., ve Li, G.** (2010). Molecular Characteristics of Poly (N-isopropylacrylamide) Separated from Nanocomposite Gels by Removal of Clay from the Polymer/Clay Network. *Macromolecular Rapid Communications*, *31*(8), 718-723.

[299] **T., Zhang, D. K., Grolman, J. M., Stafford, A. G., ve Mooney, D. J.** (2018). Injectable nanocomposite cryogels for versatile protein drug delivery. *Acta Biomaterialia*, *65*, 36-43.

[300] **Haraguchi, K., Uyama, K., ve Tanimoto, H.** (2011). Self-healing in Nanocomposite Hydrogels. *Macromolecular Rapid Communications*, *32*(16), 1253-1258.

[301] **Liu, Y., Zhu, M., Liu, X., Zhang, W., Sun, B., Chen, Y., ve Adler, H. J. P.** (2006). High clay content nanocomposite hydrogels with surprising

mechanical strength and interesting deswelling kinetics. *Polymer*, *47*(1), 1-5.

[302] **Zhu, M., Liu, Y., Sun, B., Zhang, W., Liu, X., Yu, H., ... ve Adler, H. J. P.** (2006). A novel highly resilient nanocomposite hydrogel with low hysteresis and ultrahigh elongation. *Macromolecular Rapid Communications*, *27*(13), 1023-1028.

[303] **Zhang, W., Zhang, G., Du, L., Zhang, C., Li, L., Zhu, J., ... ve Wu, J.** (2018). Synthesis of hydroxyl-terminated polybutadiene bearing pendant carboxyl groups by combination of anionic polymerization and blue light photocatalytic thiol-Ene reaction and its pH-triggered self-assemble behavior. *Reactive and Functional Polymers*, *127*, 161-167.

[304] **Furyk, S., Zhang, Y., Ortiz-Acosta, D., Cremer, P. S., ve Bergbreiter, D. E.** (2006). Effects of end group polarity and molecular weight on the lower critical solution temperature of poly (N-isopropylacrylamide). *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*, *44*(4), 1492-1501.

[305] **Chung, J. E., Yokoyama, M., Aoyagi, T., Sakurai, Y., ve Okano, T.** (1998). Effect of molecular architecture of hydrophobically modified poly (N-isopropylacrylamide) on the formation of thermoresponsive core-shell micellar drug carriers. *Journal of Controlled Release*, *53*(1-3), 119-130.

[306] **Xia, Y., Burke, N. A., ve Stöver, H. D.** (2006). End group effect on the thermal response of narrow-disperse poly (N-isopropylacrylamide) prepared by atom transfer radical polymerization. *Macromolecules*, *39*(6), 2275-2283.

[307] **Ruiz, J., Mantecon, A., ve Cadiz, V.** (2001). Synthesis and properties of hydrogels from poly (vinyl alcohol) and ethylenediaminetetraacetic dianhydride. *Polymer, 42*(15), 6347-6354.

[308] **Tombácz, E., ve Szekeres, M.** (2006). Surface charge heterogeneity of kaolinite in aqueous suspension in comparison with montmorillonite. *Applied Clay Scienc*e, *34*(1-4), 105-124.

[309] **Strachota, B., Matějka, L., Zhigunov, A., Konefał, R., Spěváček, J., Dybal, J., ve Puffr, R.** (2015). Poly (N-isopropylacrylamide)–clay based hydrogels controlled by the initiating conditions: evolution of structure and gel formation. *Soft Matter*, *11*(48), 9291-9306.

[310] **Miyazaki, S., Endo, H., Karino, T., Haraguchi, K., ve Shibayama, M.** (2007). Gelation mechanism of poly (N-isopropylacrylamide)− clay nanocomposite gels. *Macromolecules*, *40*(12), 4287-4295.

[311] **Lee, W. F., ve Yeh, Y. C.** (2005). Studies on preparation and properties of NIPAAm/hydrophobic monomer copolymeric hydrogels. *European Polymer Journal*, *41*(10), 2488-2495.

[312] **Singh, R., Deshmukh, S. A., Kamath, G., Sankaranarayanan, S. K., ve Balasubramanian, G.** (2017). Controlling the aqueous solubility of PNIPAM with hydrophobic molecular units. *Computational Materials Science*, *126*, 191-203.

[313] **Lanzalaco, S., ve Armelin, E.** (2017). Poly (n-isopropylacrylamide) and copolymers: A review on recent progresses in biomedical applications. *Gels*, *3*(4), 36.

[314] **Topuz, F., ve Okay, O.** (2009). Formation of hydrogels by simultaneous denaturation and cross-linking of DNA. *Biomacromolecules*, *10*(9), 2652-2661.

[315] **Tombácz, E., ve Szekeres, M.** (2006). Surface charge heterogeneity of kaolinite in aqueous suspension in comparison with montmorillonite. *Applied Clay Science*, *34*(1), 105-124.

[316] **Tanaka, T.** (1978). Collapse of gels and the critical endpoint. *Physical Review Letters*, *40*(12), 820.

[317] **Takata, S. I., Norisuye, T., ve Shibayama, M.** (1999). Preparation temperature dependence and effects of hydrolysis on static inhomogeneities of poly (acrylamide) gels. *Macromolecules*, *32*(12), 3989-3993.

[318] **Ilavsky, M., Hrouz, J., Stejskal, J., ve Bouchal, K.** (1984). Phase transition in swollen gels. 6. Effect of aging on the extent of hydrolysis of aqueous polyacrylamide solutions and on the collapse of gels. *Macromolecules*, *17*(12), 2868-2874.

[319] **Kozbekçi, C., Şenkal, B. F., ve Erbil, C.** (2017). Compressive moduli and network parameters of N-isopropylacrylamide hydrogels copolymerized by monoesters of itaconic acid and crosslinked with tetraallylammonium bromide. *Journal of Applied Polymer Science*, *134*(29).

[320] **Bergaya, F., ve Lagaly, G.** (2013). *Handbook of Clay Science* (Vol. 5). Newnes.

[321] **Chourabi, B., ve Fripiat, J. J.** (1981). Determination of tetrahedral substitutions and interlayer surface heterogeneity from vibrational spectra of ammonium in smectites. *Clays and Clay Minerals*, *29*(6), 260-268.

[322] **Carroll, D., ve Starkey, H. C.** (1971). Reactivity of clay minerals with acids and alkalies. *Clays and Clay Minerals*, *19*(5), 321-333.

[323] **Yu, Y.** (2010). Synthesis and characterization of montmorillonite inorgano-intercalation compound assisted by microwave irradiation. *Journal of Wuhan University of Technology-Mater. Sci. Ed.*, *25*(3), 444-448.

[324] **Heller-Kallai, L.** (2006). Developments in clay science: Handbook of clay science, in: L. Heller-Kallai (Ed.), Thermally Modified Clay Minerals, Else-vier, Oxford.

[325] **Hussin, F., Aroua, M. K., ve Daud, W. M. A. W.** (2011). Textural characteristics, surface chemistry and activation of bleaching earth: A review. *Chemical Engineering Journal*, *170*(1), 90-106.

[326] **Biswas, B., Sarkar, B., Rusmin, R., ve Naidu, R.** (2017). Mild acid and alkali treated clay minerals enhance bioremediation of polycyclic aromatic hydrocarbons in long-term contaminated soil: A 14C-tracer study. *Environmental Pollution*, *223*, 255-265.

[327] **Nutting, P. G.** (1943). *The Action of Some Aqueous Solutions on Clays of the Montmorillonite Group* (No. 197-F).

[328] **Grim, R. E.** (1953). Clay mineralogy. *Soil Science*, *76*(4), 317.

[329] **Temuujin, J., Okada, K., Jadambaa, T., Mackenzie, K. J., ve Amarsanaa, J.** (2002). Effect of grinding on the preparation of porous material from talc by selective leaching. *Journal of Materials Science Letters*, *21*(20), 1607-1609.

[330] **Tyagi, B., Chudasama, C. D., ve Jasra, R. V**. (2006). Determination of structural modification in acid activated montmorillonite clay by FT-IR spectroscopy. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, *64*(2), 273-278.

[331] **Kumar, S., Panda, A. K., ve Singh, R. K.** (2013). Preparation and Characterization of Acid and Alkaline Treated Kaolin Clay. *Bulletin of Chemical Reaction Engineering ve Catalysis*, *8*(1), 61-69.

[332] **Temuujin, J., Jadambaa, T., Burmaa, G., Erdenechimeg, S., Amarsanaa, J., ve MacKenzie, K. J. D.** (2004). Characterisation of acid activated montmorillonite clay from Tuulant (Mongolia). *Ceramics International*, *30*(2), 251-255.

[333] **Komadel P., Madejova, J., Janek, M., Gates, W.P., Kirkpatrick, R.J., Stucki, J. W.** (1996). Dissolution of hectorite in inorganic acids. *Clays and Clay Minerals*, *44*(2), 228-236.

[334] **Silva, S. M., Braga, C. R., Fook, M. V., Raposo, C. M., Carvalho, L. H., ve Canedo, E. L.** (2012). Application of infrared spectroscopy to analysis of chitosan/clay nanocomposites. *Infrared Spectroscopy-Materials Science, Engineering and Technology. Croatia: InTech*, 43-62.

[335] **Djomgoue, P., ve Njopwouo, D.** (2013). FT-IR spectroscopy applied for surface clays characterization. *Journal of Surface Engineered Materials and Advanced Technology*, *3*(04), 275.

[336] **Feng, Q., Honbu, C., Yanagisawa, K., Yamasaki, N., ve Komarneni, S.** (2000). Synthesis of $LiAl_2(OH)^{6+}$ intercalated montmorillonite by a hydrothermal soft chemical reaction. *Journal of Materials Chemistry*, *10*(2), 483-488.

[337] **Li, P., Kim, N. H., Hui, D., Rhee, K. Y., ve Lee, J. H.** (2009). Improved mechanical and swelling behavior of the composite hydrogels prepared by ionic monomer and acid-activated Laponite. *Applied Clay Science*, *46*(4), 414-417.

[338] **Long, H., Wu, P., ve Zhu, N.** (2013). Evaluation of Cs+ removal from aqueous solution by adsorption on ethylamine-modified montmorillonite. *Chemical Engineering Journal*, *225*, 237-244.

[339] **Taki, A., John, B., Arakawa, S., ve Okamoto, M.** (2013). Structure and rheology of nanocomposite hydrogels composed of DNA and clay. *European Polymer Journal*, *49*(4), 923-931.

[340] **Ray, S. S., ve Okamoto, M.** (2003). Polymer/layered silicate nanocomposites: a review from preparation to processing. *Progress in Polymer Science*, *28*(11), 1539-1641.

[341] **Chieng, B. W., Ibrahim, N. A., ve Wan Yunus, W. M. Z.** (2010). Effect of organo-modified montmorillonite on poly (butylene succinate)/poly (butylene adipate-co-terephthalate) nanocomposites. *Express Polym Lett*, 4(7), 404-414.

[342] **Thomas, V., Yallapu, M. M., Sreedhar, B., ve Bajpai, S. K.** (2007). A versatile strategy to fabricate hydrogel–silver nanocomposites and investigation of their antimicrobial activity. *Journal of Colloid and Interface Science*, *315*(1), 389-395.

[343] **Liang, L., Liu, J., ve Gong, X.** (2000). Thermosensitive poly (N-isopropylacrylamide)− clay nanocomposites with enhanced temperature response. *Langmuir*, *16*(25), 9895-9899.

[344] **Shinoka, T., Shum-Tim, D., Ma, P. X., Tanel, R. E., Isogai, N., Langer, R., ... & Mayer, J. E.** (1998). Creation of viable pulmonary artery autografts through tissue engineering. *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery*, *115*(3), 536-546.

[345] **Freed, L. E., Grande, D. A., Lingbin, Z., Emmanual, J., Marquis, J. C., & Langer, R.** (1994). Joint resurfacing using allograft chondrocytes and synthetic biodegradable polymer scaffolds. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, *28*(8), 891-899.

[346] **Kawamura, S., Wakitani, S., Kimura, T., Maeda, A., Caplan, A. I., Shino, K., & Ochi, T.** (1998). Articular cartilage repair: rabbit experiments with a collagen gel-biomatrix and chondrocytes cultured in it. *Acta Orthopaedica Scandinavica*, *69*(1), 56-62.

[347] **Paige, K. T., Cima, L. G., Yaremchuk, M. J., Vacanti, J. P., & Vacanti, C. A.** (1995). Injectable cartilage. *Plastic and Reconstructive Surgery*, *96*(6), 1390-8.

[348] **Whang, K., Tsai, D. C., Nam, E. K., Aitken, M., Sprague, S. M., Patel, P. K., & Healy, K. E.** (1998). Ectopic bone formation via rhBMP-2 delivery from porous bioabsorbable polymer scaffolds. *Journal of Biomedical Materials Research: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and the Australian Society for Biomaterials*, *42*(4), 491-499.

[349] **Cusick, R. A., Lee, H., Sano, K., Pollok, J. M., Utsunomiya, H., Ma, P. X., ... & Vacanti, J. P.** (1997). The effect of donor and recipient age on engraftment of tissue-engineered liver. *Journal of Pediatric Surgery*, *32*(2), 357-360.

[350] **Ellis, D. L. ve Yannas, I. V.** (1996). Recent advances in tissue synthesis in vivo by use of collagen-glycosaminoglycan copolymers. *Biomaterials*, *17*(3), 291-299.

[351] **Vernon, B., Gutowska, A., Wan Kim, S. ve Han Bae, Y.** (1996). Thermally reversible polymer gels for biohybrid artificial pancreas. In *Macromolecular Symposia 109*(1), pp. 155-167. Hüthig & Wepf Verlag.

[352] **Cima, L. G., Vacanti, J. P., Vacanti, C., Ingber, D., Mooney, D. ve Langer, R.** (1991). Tissue engineering by cell transplantation using degradable polymer substrates. *Journal of Biomechanical Engineering*, *113*(2), 143-151.

[353] **Hubbell, J. A. ve Langer, R.** (2013). Translating materials design to the clinic. *Nature Materials*, *12*(11), 963.

[354] **Stile, R. A., Burghardt, W. R. ve Healy, K. E.** (1999). Synthesis and characterization of injectable poly (N-isopropylacrylamide)-based hydrogels that support tissue formation in vitro. *Macromolecules*, *32*(22), 7370-7379.

[355] **Canavan, H. E., Cheng, X., Graham, D. J., Ratner, B. D. ve Castner, D. G.** (2005). Cell sheet detachment affects the extracellular matrix: a surface science study comparing thermal liftoff, enzymatic, and mechanical methods. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, *75*(1), 1-13.

[356] **Cho, M., Chung, H., Choi, W., ve Yoon, J.** (2004). Linear correlation between inactivation of E. coli and OH radical concentration in TiO2 photocatalytic disinfection. *Water Research*, *38*(4), 1069-1077.

[357] **Kokabi, M., Sirousazar, M., ve Hassan, Z. M.** (2007). PVA–clay nanocomposite hydrogels for wound dressing. *European Polymer Journal*, *43*(3), 773-781.

[358] **Ul-Islam, M., Khan, T., Khattak, W. A., ve Park, J. K.** (2013). Bacterial cellulose-MMTs nanoreinforced composite films: novel wound dressing material with antibacterial properties. *Cellulose*, *20*(2), 589-596.

[359] **Hu, C. H., Xu, Y., Xia, M. S., Xiong, L., ve Xu, Z. R.** (2007). Effects of Cu2+-exchanged montmorillonite on growth performance, microbial ecology and intestinal morphology of Nile tilapia (Oreochromis niloticus). *Aquaculture*, *270*(1-4), 200-206.

[360] **Bujdáková, H., Bujdáková, V., Májeková-Koščová, H., Gaálová, B., Bizovská, V., Boháč, P., ve Bujdák, J.** (2018). Antimicrobial activity of organoclays based on quaternary alkylammonium and alkylphosphonium surfactants and montmorillonite. *Applied Clay Science*, *158*, 21-28.

[361] **Li, Z., Liu, K., Sun, P., Mei, L., Hao, T., Tian, Y., ... ve Chen, D.** (2013). Poly (D, L-lactide-co-glycolide)/montmorillonite nanoparticles for improved oral delivery of exemestane. *Journal of Microencapsulation*, *30*(5), 432-440.

[362] **Varkey, A. J.** (2010). Antibacterial properties of some metals and alloys in combating coliforms in contaminated water. *Scientific Research and Essays*, *5*(24), 3834-3839.

[363] **Modjarrad, K., ve Ebnesajjad, S.** (2013). *Handbook of Polymer Applications in Medicine and Medical Devices*. Elsevier.

[364] **Hu, C. H., ve Xia, M. S.** (2006). Adsorption and antibacterial effect of copper-exchanged montmorillonite on Escherichia coli K88. *Applied Clay Science*, *31*(3-4), 180-184.

[367] **Dawlee, S., Sugandhi, A., Balakrishnan, B., Labarre, D., ve Jayakrishnan, A.** (2005). Oxidized chondroitin sulfate-cross-linked gelatin matrixes: a new class of hydrogels. *Biomacromolecules*, *6*(4), 2040-2048.

[366] **Morán, M. C., Jorge, A. F., ve Vinardell, M. P.** (2014). Sustainable DNA release from chitosan/protein based-DNA gel particles. *Biomacromolecules*, *15*(11), 3953-3964.

[367] **Url-8** http://www.ipfdd.de/en/departments/institute-of-biofunctional-polymer-materials/fields-of-research/hemocompatible-interfaces/, erişim tarihi 06.07.2017.

[368] **Ma, D., Tu, K., ve Zhang, L. M.** (2010). Bioactive supramolecular hydrogel with controlled dual drug release characteristics. *Biomacromolecules*, *11*(9), 2204-2212.

[369] **Zhao, Y., Sun, X., Zhang, G., Trewyn, B. G., Slowing, I. I., ve Lin, V. S. Y.** (2011). Interaction of mesoporous silica nanoparticles with human red blood cell membranes: size and surface effects. *ACS Nano*, *5*(2), 1366-1375.

[370] **Wang, Z., Zhu, W., Qiu, Y., Yi, X., von dem Bussche, A., Kane, A., ... ve Hurt, R.** (2016). Biological and environmental interactions of emerging two-dimensional nanomaterials. *Chemical Society Reviews*, *45*(6), 1750-1780.

[371] **Park, T. G.** (1999). Temperature modulated protein release from pH/temperature-sensitive hydrogels. *Biomaterials*, *20*(6), 517-521.

[372] **Park, T. G., ve Hoffman, A. S.** (1992). Synthesis and characterization of pH-and/or temperature-sensitive hydrogels. *Journal of Applied Polymer Science, 46*(4), 659-671.

[373] **Kulthanan, K., Nuchkull, P., ve Varothai, S.** (2013). The pH of water from various sources: an overview for recommendation for patients with atopic dermatitis. *Asia Pacific Allergy*, *3*(3), 155-160.

[374] **Hart, R., ve Timmerman, D.** (1958). New polyampholytes: the polysulfobetaines. *Journal of Polymer Science*, *28*(118), 638-640.

[375] **Chang, C. C., Letteri, R., Hayward, R. C., ve Emrick, T.** (2015). Functional Sulfobetaine Polymers: Synthesis and Salt-Responsive Stabilization of Oil-in-Water Droplets. *Macromolecules*, *48*(21), 7843-7850.

[376] **Gal, Y. S., Jin, S. H., Park, Y., Park, J., Lim, K. T., ve Kim, S. Y.** (2014). Uncatalyzed Synthesis and Characterization of a Water-Soluble Polyacetylene: Poly [2-ethynyl-N-(propylsulfonate) pyridinium betaine]. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, *14*(7), 5480-5484.

[377] **Zhou, M., Li, S., Zhang, Z., Wang, C., Luo, G., ve Zhao, J.** (2017). Progress in the Synthesis of Zwitterionic Gemini Surfactants. *Journal of Surfactants and Detergents*, *20*(6), 1243-1254.

[378] **Shao, Q., Mi, L., Han, X., Bai, T., Liu, S., Li, Y., ve Jiang, S.** (2014). Differences in cationic and anionic charge densities dictate zwitterionic associations and stimuli responses. *The Journal of Physical Chemistry B*, *118*(24), 6956-6962.

[379] **Schulz, D. N., Peiffer, D. G., Agarwal, P. K., Larabee, J., Kaladas, J. J., Soni, L., ... ve Garner, R. T.** (1986). Phase behaviour and solution properties of sulphobetaine polymers. *Polymer*, *27*(11), 1734-1742.

[380] **Chen, L., Honma, Y., Mizutani, T., Liaw, D. J., Gong, J. P., ve Osada, Y.** (2000). Effects of polyelectrolyte complexation on the UCST of zwitterionic polymer. *Polymer*, *41*(1), 141-147.

[381] **Lee, W. F., ve Yeh, P. L.** (1999). Thermoreversible hydrogels. VIII. Effect of a zwitterionic monomer on swelling behaviors of thermosensitive hydrogels copolymerized by N-isopropylacrylamide with N, N′-dimethyl (acrylamidopropyl) ammonium propane sulfonate. *Journal of Applied Polymer Science*, *74*(9), 2170-2180.

[382] **Yin, H., Akasaki, T., Sun, T. L., Nakajima, T., Kurokawa, T., Nonoyama, T., ... ve Gong, J. P.** (2013). Double network hydrogels from polyzwitterions: high mechanical strength and excellent anti-biofouling properties. *Journal of Materials Chemistry B, 1*(30), 3685-3693.

[383] **Das, A., Basu, S., Verma, A., ve Scott, K.** (2015). Characterization of Low Cost Ion Conducting Poly (AAc-co-DMAPMA) Membrane for Fuel Cell Application. *Materials Sciences and Applications*, *6*(03), 234.

[384] **Keutsch, F. N., ve Saykally, R. J.** (2001). Water clusters: untangling the mysteries of the liquid, one molecule at a time. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *98*(19), 10533-10540.

[385] **Kitano, H., Imai, M., Sudo, K., ve Ide, M.** (2002). Hydrogen-bonded network structure of water in aqueous solution of sulfobetaine polymers. *The Journal of Physical Chemistry B*, *106*(43), 11391-11396.

[386] **Nusrat Mafy, N., Muhibur Rahman, M., Mollah, M. Y. A., Susan, M., ve Hasan, A. B.** (2016). Temperature Perturbation on Hydrogen Bonding in Aqueous Solutions at Different Amide Concentrations. *ChemistrySelect*, *1*(18), 5789-5800.

[387] **Schlenoff, J. B.** (2014). Zwitteration: coating surfaces with zwitterionic functionality to reduce nonspecific adsorption. *Langmuir*, *30*(32), 9625-9636.

[388] **Cao, B., Tang, Q., Li, L., Humble, J., Wu, H., Liu, L., ve Cheng, G.** (2013). Switchable antimicrobial and antifouling hydrogels with enhanced mechanical properties. *Advanced Healthcare Materials*, *2*(8), 1096-1102.

[389] **Flory, P. J.** (1953). *Principles of polymer chemistry*. Cornell University Press.

[390] **Jean, B., Bokias, G., Lee, L. T., Iliopoulos, I., ve Cabane, B.** (2002). Microphase separation of cationic poly (N-isopropylacrylamide) copolymers in water: Effect of the migration of charges. *Colloid and Polymer Science*, *280*(10), 908-914.

[391] **Beltran, S., Hooper, H. H., Blanch, H. W., ve Prausnitz, J. M.** (1990). Swelling equilibria for ionized temperature-sensitive gels in water and in aqueous salt solutions. *The Journal of Chemical Physics*, *92*(3), 2061-2066.

[392] **Lee, W. F., ve Hsu, C. H.** (1998). Thermoreversible hydrogels: 3. Synthesis and swelling behavior of the (N-isopropylacrylamide-co-trimethylacrylamidopropyl ammonium iodide) copolymeric hydrogels. *Polymer*, *39*(22), 5393-5403.

[393] **Perera, L., ve Berkowitz, M. L.** (1993). Ion solvation in water clusters. *Zeitschrift für Physik D Atoms, Molecules and Clusters*, *26*(1), 166-168.

[394] **Hajighasem, A., ve Kabiri, K.** (2013). Cationic highly alcohol-swellable gels: synthesis and characterization. *Journal of Polymer Research*, *20*(8), 218.

[395] **Shibayama, M.** (1998). Spatial inhomogeneity and dynamic fluctuations of polymer gels. *Macromolecular Chemistry and Physics, 199*(1), 1-30.

[396] **Takigawa, T., Araki, H., Takahashi, K., ve Masuda, T.** (2000). Effects of mechanical stress on the volume phase transition of poly (N-isopropylacrylamide) based polymer gels. *The Journal of Chemical Physics*, *113*(17), 7640-7645.

[397] **Ebara, M., Aoyagi, T., Sakai, K., ve Okano, T.** (2001). The incorporation of carboxylate groups into temperature-responsive poly (N-isopropylacrylamide)-based hydrogels promotes rapid gel shrinking. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*, *39*(3), 335-342.

[398] **Ninni, L., Ermatchkov, V., Hasse, H., ve Maurer, G.** (2013). Swelling equilibrium of hydrogels of (N-isopropyl acrylamide+ anionic and cationic comonomers) in aqueous solutions of sodium chloride: Experimental results and modeling. *Fluid Phase Equilibria*, *337*, 137-149.

[399] **Basu, S., Samanta, H. S., ve Ganguly, J.** (2018). Green synthesis and swelling behavior of Ag-nanocomposite semi-IPN hydrogels and their drug delivery using Dolichos biflorus Linn. *Soft Materials*, *16*(1), 7-19.

[400] **Peppas, N. A., Keys, K. B., Torres-Lugo, M., ve Lowman, A. M.** (1999). Poly (ethylene glycol)-containing hydrogels in drug delivery. *Journal of Controlled Release*, *62*(1-2), 81-87.

[401] **Jiang, Y., Zhang, X., Mu, H., Hua, H., Duan, D., Yan, X., ... ve Liu, W.** (2018). Preparation and evaluation of injectable Rasagiline mesylate dual-controlled drug delivery system for the treatment of Parkinson's disease. *Drug Delivery*, *25*(1), 143-152.

[402] **Shurshina, A., Kulish, E., ve Lazdin, R.** (2015). Study of kinetics of medicinal substances release from chitosan films. *Chemistry & Chemical Technology, 9*(3), 319-323.

[403] **Dissemond, J., Witthoff, M., Brauns, T. C., Haberer, D., & Goos, M.** (2003). pH values in chronic wounds. Evaluation during modern wound

therapy. *Der Hautarzt; Zeitschrift fur Dermatologie, Venerologie, und verwandte Gebiete*, *54*(10), 959-965.

[404] **Vaupel, P., Kallinowski, F., & Okunieff, P.** (1989). Blood flow, oxygen and nutrient supply, and metabolic microenvironment of human tumors: a review. *Cancer Research*, *49*(23), 6449-6465.

[405] **Rofstad, E. K., Mathiesen, B., Kindem, K., & Galappathi, K.** (2006). Acidic extracellular pH promotes experimental metastasis of human melanoma cells in athymic nude mice. *Cancer Research*, *66*(13), 6699-6707.

[406] **Suhag, G. S., Bhatnagar, A., ve Singh, H.** (2008). Poly (hydroxyethyl methacrylate)-based co-polymeric hydrogels for transdermal delivery of salbutamol sulphate. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, *19*(9), 1189-1200.

[407] **Kudaibergenov, S., Jaeger, W., ve Laschewsky, A.** (2006). Polymeric betaines: synthesis, characterization, and application. *In Supramolecular Polymers Polymeric Betains Oligomers* (pp. 157-224). Springer, Berlin, Heidelberg.

[408] **Madura, J. D., Lombardini, J. B., Briggs, J. M., Minor, D. L., ve Wierzbicki, A.** (1997). Physical and structural properties of taurine and taurine analogues. *Amino Acids*, *13*(2), 131-139.

[409] **Thomas, D. B., Vasilieva, Y. A., Armentrout, R. S., ve McCormick, C. L.** (2003). Synthesis, characterization, and aqueous solution behavior of electrolyte-and pH-responsive carboxybetaine-containing cyclocopolymers. *Macromolecules*, *36*(26), 9710-9715.

[410] **Liu, R.** (2000). *Water-insoluble drug formulation*. CRC press.

[411] **Nisha, C. K., Dhara, D., ve Chatterji, P. R.** (2000). Superabsorbency and volume phase transition in crosslinked poly [[3-(methacryloylamino) propyl]-trimethylammonium chloride] hydrogels. *Journal of Macromolecular Science, Part A*, *37*(11), 1447-1460.

[412] **Reed, W. F., ve Alb, A. M.** (2013). *Monitoring Polymerization Reactions: From Fundamentals to Applications*. John Wiley ve Sons.

[413] **Amjad, Z.** (2010). *The Science and Technology of Industrial Water Treatment*. CRC Press.

[414] **Yu, Q., ve Bowman, J. M.** (2016). Ab Initio Potential for $H_3O^+ \rightarrow H^{++} H_2O$: A Step to a Many-Body Representation of the Hydrated Proton?. *Journal of Chemical Theory and Computation*, *12*(11), 5284-5292.

[415] **Headrick, J. M., Diken, E. G., Walters, R. S., Hammer, N. I., Christie, R. A., Cui, J., ... ve Jordan, K. D.** (2005). Spectral signatures of hydrated proton vibrations in water clusters. *Science*, *308*(5729), 1765-1769.

[416] **Xie, X., Cong, W., Zhao, F., Li, H., Xin, W., Hou, G., ve Wang, C.** (2018). Synthesis, physiochemical property and antimicrobial activity of novel quaternary ammonium salts. *Journal of Enzyme İnhibition and Medicinal Chemistry*, *33*(1), 98-105.

[417] **Duque-Benítez, S. M., Ríos-Vásquez, L. A., Ocampo-Cardona, R., Cedeño, D. L., Jones, M. A., Vélez, I. D., ve Robledo, S. M.** (2016). Synthesis

of novel quaternary ammonium salts and their in vitro antileishmanial activity and U-937 cell cytotoxicity. *Molecules*, *21*(4), 381.

[418] **Zhang, Y., Li, Y., Li, J., Gao, Y., Tan, H., Wang, K., ... ve Fu, Q.** (2015). Synthesis and antibacterial characterization of waterborne polyurethanes with gemini quaternary ammonium salt. *Science Bulletin*, *60*(12), 1114-1121.

[419] **Swathy, J. R., Sankar, M. U., Chaudhary, A., Aigal, S., ve Pradeep, T.** (2014). Antimicrobial silver: An unprecedented anion effect. *Scientific Reports*, *4*, 7161.

[420] **Kim, J., Pitts, B., Stewart, P. S., Camper, A., ve Yoon, J.** (2008). Comparison of the antimicrobial effects of chlorine, silver ion, and tobramycin on biofilm. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, *52*(4), 1446-1453.

[421] **Ofori, I., Maddila, S., Lin, J., ve Jonnalagadda, S. B.** (2017). Chlorine dioxide oxidation of Escherichia coli in water–A study of the disinfection kinetics and mechanism. *Journal of Environmental Science and Health, Part A*, *52*(7), 598-606.

[422] **Yancey, P. H.** (2005). Organic osmolytes as compatible, metabolic and counteracting cytoprotectants in high osmolarity and other stresses. *Journal of Experimental Biology*, *208*(15), 2819-2830.

[423] **Altamura, C., Maes, M., Dai, J., ve Meltzer, H. Y.** (1995). Plasma concentrations of excitatory amino acids, serine, glycine, taurine and histidine in major depression. *European Neuropsychopharmacology*, *5*, 71-75.

[424] **Altamura, C. A., Mauri, M. C., Ferrara, A., ve Moro, A. R.** (1993). Plasma and platelet excitatory amino acids in psychiatric disorders. *The American Journal of Psychiatry*, *150*(11), 1731.

[425] **Sahiner, N., ve Demirci, S.** (2017). Can PEI microgels become biocompatible upon betainization?. *Materials Science and Engineering: C*, *77*, 642-648.

[426] **Sun, J., Zeng, F., Jian, H., ve Wu, S.** (2013). Conjugation with betaine: a facile and effective approach to significant improvement of gene delivery properties of PEI. *Biomacromolecules*, *14*(3), 728-736.

[427] **Chen, J., Nho, Y. C., Kwon, O. H., ve Hoffman, A. S.** (1999). Grafting copolymerization of acrylamides onto preirradiated PP films. *Radiation Physics and Chemistry*, *55*(1), 87-92.

[428] **Cheng, T., Gebelein, C. G., ve Yang, V. C.** (2012). *Cosmetic and Pharmaceutical Applications of Polymers*. Springer Science and Business Media.

ÖZGEÇMİŞ

Ad-Soyad : **Bestenur YALÇIN**

Doğum Tarihi ve Yeri : **05.12.1984 - Eskişehir**

E-posta : **bestenur.yalcin@gmail.com**

ÖĞRENİM DURUMU:

- **Lisans** : 2006, İstanbul Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Kimya Mühendisliği Bölümü
- **Yükseklisans** : 2009, İstanbul Üniversitesi, Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı, Kimyasal Teknolojiler Programı

MESLEKİ DENEYİM VE ÖDÜLLER:

- 2006 – 2009 yılları arasında İstanbul Üniversitesi'nde polimer kimyası üzerine çalıştı.
- 2009 – 2018(devam) yılları arasında Bahçeşehir Üniversitesi'nde Arş.Gör. olarak çalıştı.
- 2018 yılında İstanbul Teknik Üniversitesi'nde doktorasını tamamladı.

DOKTORA TEZİNDEN TÜRETİLEN YAYINLAR, SUNUMLAR VE PATENTLER:

- **Yalçın, B., Erbil, C.** 2018. Effect of Sodium Hydroxide Solution as Polymerization Solvent and Activator on Structural, Mechanical and Antibacterial Properties of PNIPAAm and P(NIPAAm–Clay) Hydrogels, *Polymer Composites*, 39(S1), 386-406.
- **Kurtuluş, B., Erbil, C.** 2013. Synthesis of PNIPAAm-based composite hydrogels in NaOH solution. *International Porous and Powder Materials Symposium and Exhibition,* September 3-6, Çeşme-İzmir/TÜRKİYE (Poster Sunumu).
- **Yalçın, B., Erbil, C.** 2015. Effect of Cationic and Zwitterionic Comonomers on Mechanical Properties and Swelling Behaviours of Traditional and Composite

PNIPAAm Hydrogels. *4th. International Polymeric Composites Symposium, Exhibition & Brokerage Event*, May 7-9, İzmir/TÜRKİYE (Sözlü Sunum).

- **DİĞER YAYINLAR, SUNUMLAR VE PATENTLER:**

- **Gurdag, G., Kurtulus, B.** 2010. Synthesis and Characterization of Novel Poly (*N*-isopropylacrylamide-co-*N*,*N*'-dimethylaminoethyl methacrylate sulfate) Hydrogels, I*nd. Eng. Chem. Res.*, 49(24), 12675–12684.
- **Endeşav, Ç., Yalçın, B., Erbil, C.** 2015. Poly (N-isopropylacrylamide) Interpenetrating Networks Reinforced with Laponite RD. *4th. International Polymeric Composites Symposium, Exhibition & Brokerage Event*, May 7-9, İzmir/TÜRKİYE (Poster Sunumu).
- **Kozbekçi, C., Yalçın, B., Gürsel, Y., Erbil, C.** 2016. Influence of Polymerization Conditions on Nanostructure, Mechanical Strength and Antibacterial Activity of Poly(N-[3-(dimethylamino)propyl] methacrylamide) Hydrogels Templated from CTAB and TMSA-MMT. *2nd International Advanced and Functional Materials Technologies (AFMAT)*, October 20-22, Antalya/TÜRKİYE (Poster Sunumu).
- **Kozbekçi, C., Yalçın, B., Gürsel, Y., Erbil, C.** 2016. Poly (N-[3-(dimetylamino) propyl] methacrylamide) Hydogels Synthesized in the Presence of Cetyltrimethylammonium Bromide: Improvement in Compressive Moduli and Formation of Lyotrophic Liquid Crystal Mesophases. *IUPAC-sponsored 16th International Conference Polymers and Organic Chemistry (POC' 16),* June 13-16, Greece (Poster Sunumu).