

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ



**KONTROLLÜ İLAÇ SALIMI GÖSTEREN MONTMORİLLONİT İÇERİKLİ
AGAR / κ -KARAGENAN HİDROJEL YARA ÖRTÜSÜ HAZIRLANMASI VE
KARAKTERİZASYONU**

Tülin GÜRKAN POLAT

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KİMYA

ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ

OCAK 2018

ANTALYA

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ



**KONTROLLÜ İLAÇ SALIMI GÖSTEREN MONTMORİLLONİT İÇERİKLİ
AGAR / κ -KARAGENAN HİDROJEL YARA ÖRTÜSÜ HAZIRLANMASI VE
KARAKTERİZASYONU**

Tülin GÜRKAN POLAT

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KİMYA

ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ

OCAK 2018

ANTALYA

**T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**KONTROLLÜ İLAÇ SALIMI GÖSTEREN MONTMORİLLONİT
İÇERİKLİ AGAR / κ -KARAGENAN HİDROJEL YARA ÖRTÜSÜ
HAZIRLANMASI VE KARAKTERİZASYONU**

Tülin GÜRKAN POLAT

KİMYA

ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ

**(Bu tez Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon
Birimi tarafından FDK-2015-398 nolu proje ile desteklenmiştir.)**

OCAK 2018

T.C.
AKDENİZ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KONTROLLÜ İLAÇ SALIMI GÖSTEREN MONTMORİLLONİT İÇERİKLİ
AGAR / κ-KARAGENAN HİDROJEL YARA ÖRTÜSÜ HAZIRLANMASI VE
KARAKTERİZASYONU

Tülin GÜRKAN POLAT

KİMYA

ANABİLİM DALI

DOKTORA TEZİ

Bu tez 29.01./2018... tarihinde jüri tarafından Oybirliği / Oyçokluğu ile kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Sibel TUNÇ (Danışman)

Prof. Dr. Gülsen ASMAN

Prof. Dr. Pınar ÇAMURLU

Prof. Dr. Meltem ASILTÜRK

Doç. Dr. Ebru ÇUBUK DEMİRALAY



ÖZET

KONTROLLÜ İLAÇ SALIMI GÖSTEREN MONTMORİLLONİT İÇERİKLİ AGAR / κ -KARAGENAN HİDROJEL YARA ÖRTÜSÜ HAZIRLANMASI VE KARAKTERİZASYONU

Tülin GÜRKAN POLAT

Doktora Tezi, Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Sibel TUNÇ

Ocak 2018; 122 sayfa

Bu çalışmada, ideal bir yara örtüsünden beklenen hemen hemen tüm gereksinimleri karşılayan ağırlı kesici ve antibakteriyel özelliğe sahip agar/ κ -karagenan ve agar/ κ -karagenan/montmorillonit hidrojel yara örtüsü materyalleri hazırlanmıştır. Hidrojel formundaki yara örtüsü materyallerinin bazı özelliklerini iyileştirmek için fenilalanin amino asiti ile modifiye edilen montmorillonit kili (MMT) kullanılmıştır. Hidrojellerin şişme kapasitesi üzerine hidrojellerin hazırlanması esnasında başlatıcı olarak kullanılan amonyum persülfat (APS) konsantrasyonunun ve çapraz bağlayıcı olarak kullanılan tri(etilen glikol) divinil eter (TEGDE) konsantrasyonunun, reaksiyon sıcaklığının ve polisakkarit kütle oranının ($m_{\text{agar}}:m_{\kappa\text{-karagenan}}$) etkileri araştırılmış ve optimum reaksiyon koşulları belirlenmiştir. Deneysel sonuçlar, optimum koşullar altında hazırlanan hidrojinin ($[\text{APS}] = 5 \times 10^{-4}$ M, $[\text{TEGDE}] = 5 \times 10^{-4}$ M, reaksiyon sıcaklığı $T = 70$ °C ve $m_{\text{agar}}:m_{\kappa\text{-karagenan}} = 1:4$) denge şişme kapasitesinin % 2523 olduğunu göstermiştir. Hidrojel matriksi içerisindeki MMT konsantrasyonu artışıyla hidrojellerin şişme derecesi azalmıştır. Hidrojel matriksi içerisindeki MMT miktarının %0'dan %5'e çıkması, hidrojellerin şişme miktarının 300 dakika sonunda %2458'den %1250'ye düşmesine sebep olmuştur. Ayrıca, farklı formülasyonlar kullanılarak hazırlanan tüm hidrojeller Fick tipi olmayan şişme davranışı göstermiştir. Hidrojeller Fourier transform infrared (FTIR), X-ışını kırınımı (XRD), taramalı elektron mikroskopu (SEM), enerji dispersif spektroskopisi (EDS), geçirimli elektron mikroskopu (TEM) ve diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC) teknikleriyle karakterize edilmiştir. Hidrojel matriksi içerisindeki kil içeriğinin %0'dan %5'e artırılmasıyla hidrojinin bozunma sıcaklığı, 256,6 °C'den 262,1 °C'ye çıkarılmıştır. Hidrojeldeki kil konsantrasyonunun artmasıyla hidrojellerin transparanlığı bir miktar azalmıştır. Agar/ κ -karagenan ve agar/ κ -karagenan/%5 MMT hidrojellerinin opasite değerleri sırasıyla 0,051 ve 0,132 olarak saptanmıştır. Geliştirilen hidrojel yara örtüsü materyallerinin şişme performansları, çeşitli simüle fizyolojik sıvılar (tuzlu su, sentetik idrar, sentetik yara sıvısı ve glikoz çözeltisi) içerisinde sistematik olarak incelenmiştir. Hidrojinin, 240 dakika sonunda, glikoz çözeltisindeki şişme derecesinin (%2682) tuzlu sudaki (%937), sentetik idrardaki (%746) ve sentetik yara sıvısındaki (%563) şişme derecesine göre daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Hidrojel sistemlerden anti-inflamatuar lidokain hidroklorür (LDC) ve antibakteriyel kloramfenikol (CLP) ilaçlarının salımı UV-Visible spektrofotometre ve HPLC analizleri ile incelenmiştir. İlaç salım çalışmaları,

sentezlenen hidrojellerden salınan lidokain hidroklorür ve kloramfenikol miktarının, hidrojel matriksi içerisindeki montmorillonit konsantrasyonuyla kontrol edilebileceğini göstermiştir. Hidrojel matriksi içerisine kil ve ilaç ilavesiyle hidrojellerin nihai basma gerilimi artırılmıştır. Agar/ κ -karagenan ve agar/ κ -karagenan/%5 MMT hidrojellerinin (LDC ve CLP ile birlikte) nihai basma gerilimi sırasıyla 38,30 kPa ve 47,70 kPa olarak ölçülmüştür. Antibakteriyel testler, kloramfenikol içeren hidrojellerin *E. coli* ve *S. aureus*'a karşı yüksek antibakteriyel etkinliğe sahip olduğunu göstermiştir. Sitotoksikite deneylerinin sonuçlarına göre, hidrojeller MG-63 hücreleriyle biyolojik olarak uyumludur. Elde edilen deneysel sonuçlar, sentezlenen lidokain hidroklorür ve kloramfenikol içerikli agar/ κ -karagenan ve agar/ κ -karagenan/montmorillonit hidrojellerinin yara bakım uygulamaları için büyük potansiyele sahip olduğunu ortaya koymuştur.

ANAHTAR KELİMELER: Agar, Ağrı kesici, Antibakteriyel, Hidrojel, İlaç salımı, κ -Karagenan, Kil modifikasyonu, Montmorillonit, Nanokompozit, Yara örtüsü.

JÜRİ: Prof. Dr. Sibel TUNÇ

Prof. Dr. Gülsen ASMAN

Prof. Dr. Pınar ÇAMURLU

Prof. Dr. Meltem ASİLTÜRK

Doç. Dr. Ebru ÇUBUK DEMİRALAY

ABSTRACT

PREPARATION AND CHARACTERIZATION OF AGAR/ κ -CARRAGEENAN HYDROGEL WOUND DRESSING CONTAINING MONTMORILLONITE HAVING CONTROLLED DRUG RELEASE

Tülin GÜRKAN POLAT

PhD Thesis in Chemistry

Supervisor: Prof. Dr. Sibel TUNÇ

January 2018; 122 pages

In this study, agar/ κ -carrageenan and agar/ κ -carrageenan/montmorillonite hydrogel wound dressing materials with painkiller and antibacterial property, which supply almost all requirements expected from an ideal wound dressing, were prepared. Montmorillonite clay (MMT) modified with phenyl alanine amino acid was used to improve the some properties of wound dressing materials in hydrogel form. The effects of the concentrations of ammonium persulfate (APS) used as initiator and tri(ethylene glycol) divinyl ether (TEGDE) used as crosslinker, reaction temperature and polysaccharide weight ratio ($m_{\text{agar}}:m_{\kappa\text{-carrageenan}}$) on the swelling capacity of the hydrogels were investigated and the optimum reaction conditions were determined. The experimental results indicated that the equilibrium swelling capacity of the hydrogel prepared under optimum conditions ($[\text{APS}] = 5 \times 10^{-4}$ M, $[\text{TEGDE}] = 5 \times 10^{-4}$ M, reaction temperature $T = 70$ °C and $m_{\text{agar}}:m_{\kappa\text{-carrageenan}} = 1:4$) was 2523%. Swelling degree of hydrogels decreased with increasing MMT concentration within hydrogel matrix. An increase of the clay content within hydrogel matrix from 0% to 5% caused a decrease in the swelling amount of hydrogels from 2458% to 1250% at the end of 300 min. Besides, all hydrogels prepared using different formulations showed non-Fickian swelling behavior. The hydrogels were characterized by Fourier transform infrared (FTIR), X-ray diffraction (XRD), scanning electron microscope (SEM), energy dispersive spectroscopy (EDS), transmission electron microscope (TEM) and differential scanning calorimeter (DSC) techniques. As the content of clay increased from 0% to 5%, the hydrogel decomposition temperature increased from 256.6 °C to 262.1 °C. The transparency of the hydrogels was decreased slightly with increasing clay concentration within hydrogel. The opacity values of agar/ κ -carrageenan and agar/ κ -carrageenan/5% MMT hydrogels were determined as 0.051 and 0.132, respectively. The swelling performances of developed hydrogel wound dressing materials were systematically investigated in various simulated physiological fluids (saline water, synthetic urine, simulated wound fluid and glucose solution). It was observed that swelling degree of the hydrogel in glucose solution (2682%) was much higher than those of saline water (937%), synthetic urine (746%) and simulated wound fluid (563%) at the end of 240 min. The release of anti-inflammatory lidocaine hydrochloride (LDC) and antibacterial chloramphenicol (CLP) drugs from hydrogel systems was investigated by UV-Visible spectrophotometer and HPLC analyses. Drug release studies showed that the amount of

lidocaine hydrochloride and chloramphenicol released from synthesized hydrogels can be controlled by the concentration of montmorillonite in the hydrogel composition. Ultimate compressive strength of hydrogels was increased with addition of clay and drug into hydrogel matrix. Ultimate compressive strength of agar/ κ -carrageenan and agar/ κ -carrageenan/5% MMT hydrogels (with LDC and CLP) was measured as 38.30 kPa and 47.70 kPa, respectively. Antibacterial tests showed that hydrogels containing chloramphenicol have high antibacterial activity against *E. coli* and *S. aureus*. According to the results of cytotoxicity experiments, hydrogels are biocompatible with MG-63 cells. The obtained experimental results revealed that synthesized agar/ κ -carrageenan and agar/ κ -carrageenan/montmorillonite hydrogels containing lidocaine hydrochloride and chloramphenicol have great potential for wound care applications.

KEYWORDS: Agar, Analgesic, Antibacterial, Clay modification, Drug release, Hydrogel, κ -Carrageenan, Montmorillonite, Nanocomposite, Wound dressing.

COMMITTEE: Prof. Dr. Sibel TUNÇ

Prof. Dr. Gülsen ASMAN

Prof. Dr. Pınar ÇAMURLU

Prof. Dr. Meltem ASİLTÜRK

Assoc. Prof. Dr. Ebru ÇUBUK DEMİRALAY

ÖNSÖZ

Her geçen gün dünya çapında çeşitli sebeplere bağlı olarak farklı tipte yaralanmalar meydana gelmektedir. Doğal bir savunma mekanizması olan organizma, deride veya deri altındaki dokularda oluşan hasarı mümkün olan en kısa sürede kapatma eğilimi göstererek yara iyileşmesi adı verilen hemostaz, inflamasyon, proliferasyon ve maturasyon aşamalarını içeren kompleks ve dinamik süreci başlatır. Ancak; organizmanın tek başına yetersiz kaldığı durumlarda, yara iyileşme sürecini kısaltacak ve kolaylaştıracak materyallere ihtiyaç duyulmaktadır. Tüm dünyada yara bakımı konusunda yapılan çalışmalar arasında yara örtüleri önemli bir yer tutmaktadır. Etkin bir yara tedavisinin gerçekleştirilebilmesi için yaranın durumu ve kullanılacak yara bakım ürünlerinin fiziksel ve kimyasal özellikleri en iyi şekilde değerlendirilmeli ve hastanın ihtiyacına en uygun yara örtüsü seçilmelidir. Modern yara bakım anlayışına göre, canlı dokuların canlılığını sürdürebilmeleri için ılık ve nemli bir çevreye ihtiyaç duyduğu bilinmektedir. Son yıllarda, yaranın iyileşmesi için gerekli olan nem ortamını sağlayabilen, yüksek absorpsiyon kapasitesine sahip, yara yüzeyine yapışmayan, elastik ve yumuşak yapılı ve kontrollü ilaç salımı yapabilen hidrojel yara örtülerine olan ilgi artmıştır.

Bu tez çalışması kapsamında; ideal bir yara örtüsünden beklenen özellikleri büyük ölçüde karşılayabilen, doğal polimerler ve modifiye edilmiş montmorillonit kili kullanılarak hazırlanan, hem ağrı kesici hem de antibakteriyel ilaç salımını kontrollü bir şekilde gerçekleştirebilen hidrojel sistemlerin hazırlanması ve karakterize edilmesi amaçlanmaktadır. Tez çalışması, Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne "Kontrollü ilaç salımı gösteren montmorillonit içerikli agar/κ-karagenan hidrojel yara örtüsü hazırlanması ve karakterizasyonu" başlığı altında sunulmuş ve aynı birim tarafından FDK-2015-398 nolu proje ile desteklenmiştir.

Doktora eğitimim boyunca derin bilgi ve tecrübeleri ile bana yol gösteren, her türlü yardım ve desteğini daima yanımda hissettiğim, birlikte çalışmaktan onur duyduğum değerli danışman hocam Sayın Prof. Dr. Sibel TUNÇ'a (Akdeniz Üniversitesi, Fen Fakültesi), derin bilgisi, tecrübesi ve yardımlarıyla tez çalışmama çok büyük katkı sağlayan Sayın Prof. Dr. Osman DUMAN'a (Akdeniz Üniversitesi, Fen Fakültesi), çalışmam için gerekli olan HPLC cihazının kullanımına izin veren Sayın Prof. Dr. Erol AYRANCI'ya (Akdeniz Üniversitesi, Fen Fakültesi), FTIR ve zeta potansiyeli ölçüm cihazlarının kullanımına izin veren Sayın Prof. Dr. Ertuğrul ARPAÇ'a (Akdeniz Üniversitesi, Fen Fakültesi), antibakteriyel testlerde yardımcı olan Sayın Uzm. Dr. Ömer KESMEZ'e (Akdeniz Üniversitesi, Fen Fakültesi), sitotoksikite deneylerinde yardımcı olan Sayın Yrd. Doç. Dr. Ertan KÜÇÜKSAYAN'a (Alanya Alaaddin Keykubat Üniversitesi, Tıp Fakültesi), Kimya Bölümü değerli öğretim üyelerine ve araştırma görevlilerine, eşime, aileme ve FDK-2015-398 nolu proje ile çalışmaya destek veren Akdeniz Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca, doktora tez çalışmalarım aşamasında '2214-A-Yurt Dışı Doktora Sırası Araştırma Bursu' ile Case Western Reserve University'de (Amerika Birleşik Devletleri'nde) 6 ay süreyle çalışma yapmamı sağlayan TÜBİTAK'a teşekkür ederim. Bu

süre zarfında danışmanlığımı yapan, bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım Sayın Prof. Dr. Ozan AKKUŞ'a en derin şükranlarımı sunarım.

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
ABSTRACT	iii
ÖNSÖZ	v
İÇİNDEKİLER	vii
AKADEMİK BEYAN	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xiv
ÇİZELGELER DİZİNİ	xx
1. GİRİŞ	1
1.1. Yara İyileşmesi ve Yara Örtüleri	1
1.1.1. Yara iyileşmesi	1
1.1.2. Yara iyileşmesinin basamakları.....	2
1.1.3. Yara örtüleri.....	3
1.1.4. Yara örtülerinin sınıflandırılması	4
1.1.4.1. Gazlı bezler.....	4
1.1.4.2. Aljinat örtüler	4
1.1.4.3. Hidrokolloid örtüler.....	4
1.1.4.4. Köpük örtüler.....	5
1.1.4.5. Hidrolif örtüler.....	5
1.1.4.6. Biyolojik örtüler	5
1.1.4.7. Hidrojel örtüler	6
1.2. Kontrollü İlaç Salım Sistemleri.....	7
1.2.1. Kontrollü salım sistemlerinin sınıflandırılması	8
1.2.1.1. Çözücü kontrollü sistemler.....	8
1.2.1.2. Difüzyon kontrollü sistemler	8
1.2.1.3. Kimyasal kontrollü sistemler.....	9
1.3. Hidrojeller	9
1.3.1. Hidrojellerin hazırlanması	9
1.3.2. Hidrojellerin sınıflandırılması	12
1.3.2.1. Hidrojellerin yapısındaki polimerlerin kaynağına göre sınıflandırma	12

1.3.2.2. Hidrojellerin yapısındaki polimerlerin bileşimlerine göre sınıflandırma	12
1.3.2.3. Çapraz bağlanma durumuna göre sınıflandırma.....	13
1.3.2.4. Hidrojellerin fiziksel görünümüne göre sınıflandırılması.....	13
1.3.2.5. Hidrojellerin ağ yapı üzerindeki elektriksel yük durumuna göre sınıflandırılması	13
1.3.2.6. Hidrojellerin sahip oldukları konfigürasyonlara göre sınıflandırma ...	14
1.3.2.7. Hidrojellerin ortam koşullarına duyarlılıklarına göre sınıflandırılması	14
1.3.3. Hidrojellerin uygulama alanları.....	14
1.4. Agar	15
1.5. κ -Karagenan	15
1.6. Montmorillonit	16
1.7. Çalışmanın Amacı	17
2. KAYNAK TARAMASI	18
3. MATERYAL ve METOT	21
3.1. Materyal	21
3.1.1. Deneysel çalışmalarda kullanılan kimyasallar	21
3.1.2. Deneysel çalışmalarda kullanılan cihazlar ve sarf malzemeler	21
3.2. Metot	22
3.2.1. Montmorillonit içermeyen agar/ κ -karagenan hidrojel sistemlerinin hazırlanması	22
3.2.2. Montmorillonit kilinin modifiye edilmesi ve kil içeren agar/ κ -karagenan hidrojel sistemlerinin hazırlanması	22
3.2.3. Hidrojellerin şişme davranışlarının incelenmesi	24
3.2.4. Karakterizasyon testleri	25
3.2.4.1. Fourier transform infrared (FTIR) spektroskopisi analizi	25
3.2.4.2. Hidrojellerin XRD analizi	25
3.2.4.3. Taramalı elektron mikroskobu (SEM)/enerji dispersif spektroskopisi (EDS) analizleri	25
3.2.4.4. Geçirimli elektron mikroskobu (TEM) analizi.....	25
3.2.4.5. Diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC) analizi.....	26
3.2.4.6. Hidrojellerin transparanlık testleri.....	26

3.2.5. Hidrojellerin fizyolojik sıvılarda şişme testleri	26
3.2.6. Hidrojellere ağrı kesici ve/veya antibakteriyel ilaç yükleme ve salım çalışmaları	27
3.2.6.1. Lidokain hidroklorür (LDC) salımı	27
3.2.6.2. Kloramfenikol (CLP) salımı	27
3.2.6.3. Hidrojellere her iki ilacın bir arada yüklenmesi ve salım çalışmaları	28
3.2.7. Buzdolabında saklama süresinin hidrojelde yüklü ilaç konsantrasyonu üzerine etkisi	28
3.2.8. İlaç içeren ve içermeyen hidrojellerin mekanik dayanıklılık testleri	29
3.2.9. Hidrojellerin antibakteriyel testleri.....	29
3.2.10. Hidrojellerin XTT sitotoksitesite analizi	29
3.2.11. Hidrojellerin hücre morfolojisine etkisi	30
4. BULGULAR ve TARTIŞMA.....	31
4.1. Montmorillonit İçermeyen Agar/ κ -Karagenan Hidrojel Sistemlerinin Hazırlanması ve Şişme Davranışlarının İncelenmesi	31
4.1.1. Agar/ κ -karagenan hidrojellerin şişme davranışları üzerine hidrojellerin hazırlanması esnasında kullanılan başlatıcı konsantrasyonunun etkisi.....	32
4.1.2. Agar/ κ -karagenan hidrojellerin şişme davranışlarına hidrojellerin hazırlanması esnasında kullanılan çapraz bağlayıcı konsantrasyonunun etkisi	40
4.1.3. Agar/ κ -karagenan hidrojellerin şişme davranışları üzerine reaksiyon sıcaklığının etkisi	46
4.1.4. Agar/ κ -karagenan hidrojellerin şişme davranışları üzerine hidrojellerin hazırlanması esnasında kullanılan polisakkarit oranının etkisi.....	49
4.1.5. Hidrojellerin çapraz bağlanma mekanizması	51
4.2. Montmorillonit İçeren Agar/ κ -Karagenan Hidrojel Sistemlerinin Hazırlanması ve Şişme Davranışlarının İncelenmesi	53
4.2.1. Montmorillonit kilinin modifikasyonu ve karakterizasyonu	54
4.2.2. Montmorillonit içerikli agar/ κ -karagenan hidrojellerinin şişme davranışlarının incelenmesi.....	58
4.3. Karakterizasyon Testleri	62
4.3.1. FTIR analizi.....	62
4.3.2. Hidrojellerin XRD analizi	65
4.3.3. SEM ve EDS analizleri.....	66

4.3.4. TEM analizi	72
4.3.5. DSC analizi.....	73
4.3.6. Hidrojellerin transparan özelliğinin incelenmesi.....	74
4.4. Hidrojellerin Fizyolojik Sıvılarda Şişme Testleri	76
4.5. Hidrojellere Ağrı Kesici veya Antibakteriyel İlacın Yüklenmesi ve Salım Çalışmaları.....	81
4.5.1. Lidokain hidroklorür (LDC) salımı	81
4.5.2. Kloramfenikol (CLP) salımı.....	84
4.5.3. Hidrojellere her iki ilacın (LDC'nin ve CLP'nin) bir arada yüklenmesi ve salım çalışmaları.....	87
4.6. Saklama Süresinin Hidrojelde Yüklü İlaç Konsantrasyonu Üzerine Etkisi.....	93
4.7. İlaç İçeren ve İçermeyen Hidrojellerin Mekanik Özelliklerinin Ölçülmesi.....	94
4.8. Hidrojellerin Antibakteriyel Test Sonuçları.....	97
4.9. Hidrojellerin XTT Sitotoksite Analiz Sonuçları.....	101
4.10. Hidrojellerin Hücre Morfolojisine Etkisi	102
5. SONUÇLAR	104
6. KAYNAKLAR	106
ÖZGEÇMİŞ	

AKADEMİK BEYAN

Doktora Tezi olarak sunduğum "Kontrollü İlaç Salımı Gösteren Montmorillonit İçerikli Agar/ κ -Karagenan Hidrojel Yara Örtüsü Hazırlanması ve Karakterizasyonu" adlı bu çalışmanın, akademik kurallara ve etik değerlere uygun olarak yazıldığını belirtir, bu tez çalışmasında bana ait olmayan tüm bilgilerin kaynağını gösterdiğimi beyan ederim.

... /... /2018

.....

Tülin GÜRKAN POLAT

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

%	: Yüzde
°	: Derece
°C	: Santigrat derece cinsinden sıcaklık birimi
A	: Absorbans
Å	: Angström
C	: Konsantrasyon
C18	: Karbon 18
cm	: Santimetre
d ₀₀₁	: Bazal boşluk değeri
dk	: Dakika
F	: Şişme kesri
g	: Gram
I	: Işık yolu uzunluğu
k	: Fick sabiti
kPa	: Kilopaskal
kV	: Kilovolt
ln	: Doğal logaritma
M	: Molarite, konsantrasyon birimi
mA	: Miliamper
mL	: Mililitre
mm	: Milimetre
MPa	: Megapaskal
mV	: Milivolt
n	: Difüzyon üsteli
N	: Newton
nm	: Nanometre
ppb	: Milyarda bir cinsinden konsantrasyon birimi
ppm	: Milyonda bir cinsinden konsantrasyon birimi
Q _e	: Dengede gram cinsinden absorplanan su miktarı
Q _t	: Herhangi bir t anında gram cinsinden absorplanan su miktarı
r	: Korelasyon katsayısı
rpm	: Dakikadaki devir sayısı
s	: Saniye
t	: Zaman
v/v	: Hacim/hacim cinsinden yüzde

w/v	: Kütle/hacim cinsinden yüzde
w ₀	: Başlangıçtaki kuru hidrojelın kütlesi
w _t	: t anındaki şişmiş hidrojelın kütlesi
g	: Yer çekimi ivmesi
ε	: Molar absorptivite katsayısı
θ	: Teta, difraksiyon açısı
κ	: Kapa
μL	: Mikrolitre
μm	: Mikrometre

Kısaltmalar

APS	: Amonyum persülfat
ATCC	: Amerikan tipi kültür koleksiyonu
CEC	: Katyon değişim kapasitesi
CLP	: Kloramfenikol
DAD	: Diyot dizi (array) dedektörü
DSC	: Diferansiyel taramalı kalorimetre
<i>E. coli</i>	: <i>Escherichia coli</i>
EDS	: Enerji dispersif spektroskopisi
ELISA	: Enzim bağlı immunosorbent assay
FTIR	: Fourier transform infrared
HPLC	: Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
LDC	: Lidokain hidroklorür
MG-63	: İnsan Osteosarkom hücre hattı
MMT	: Montmorillonit
ODS	: Oktadesilsilil
PBS	: Fosfat tampon çözeltisi
<i>S. aureus</i>	: <i>Staphylococcus aureus</i>
SEM	: Taramalı elektron mikroskobu
TEGDE	: Tri(etilen glikol) divinil eter
TEM	: Geçirimli elektron mikroskobu
TEMED	: N,N,N',N'-tetrametilendiamin
UV-Visible	: Ultra viyole görünür bölge
XRD	: X-ışını difraksiyon
XTT	: 2,3-Bis-(2-metoksi-4-nitro-5-sülfofenil)-2H-tetrazolyum-5-karboksanilid tuzu

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Hidrojel yara örtüsü konusunda yapılan yayın sayısının yıllara göre dağılımı	7
Şekil 1.2. Fiziksel çapraz bağlı hidrojellerin oluşum metodlarının şematik gösterimi. a) İyonik etkileşimler, b) hidrofobik etkileşimler, c) stereokompleks oluşumu, d) heliks sarmal etkileşim, e) moleküler tanıma	10
Şekil 1.3. Üç boyutlu polimerizasyon tekniği ile hidrojel sentezi	11
Şekil 1.4. Suda çözünebilir polimerlerin çapraz bağlaması ile hidrojel sentezi	11
Şekil 1.5. Hidrojel içerisindeki etkileşimlerin şematik gösterimi.....	13
Şekil 1.6. Uyarı-cevap hidrojellerinin şematik gösterimi	14
Şekil 1.7. Agarın kimyasal yapısı	15
Şekil 1.8. κ -Karagenanın kimyasal yapısı	16
Şekil 1.9. Sodyum montmorillonit kilinin kimyasal yapısının şematik gösterimi	17
Şekil 4.1. Agar/ κ -karagenan hidrojeline ait görüntüler; a) ve b) hidrojin esnekliğini gösteren fotoğraflar; c) ve d) kuru hidrojel ve kütlege %2485 şişme derecesine kadar şişirilmiş hidrojeller.	32
Şekil 4.2. Farklı başlatıcı konsantrasyonları kullanılarak hazırlanan hidrojellerin % şişme değerlerinin zamanla değişimi (Reaksiyon koşulları: [TEGDE]= 5×10^{-4} M, $m_{\text{agar}}:m_{\kappa\text{-karagenan}}= 1:1$ ve $T= 70$ °C).	33
Şekil 4.3. Farklı başlatıcı konsantrasyonları kullanılarak hazırlanan hidrojellerin % şişme değerlerinin zamanla değişimi (Reaksiyon koşulları: [TEGDE]= 2×10^{-3} M, $m_{\text{agar}}:m_{\kappa\text{-karagenan}}= 1:1$ ve $T= 70$ °C).	34
Şekil 4.4. Farklı başlatıcı konsantrasyonları kullanılarak hazırlanan hidrojellerin % şişme değerlerinin zamanla değişimi (Reaksiyon koşulları: [TEGDE]= 8×10^{-3} M, $m_{\text{agar}}:m_{\kappa\text{-karagenan}}= 1:1$ ve $T= 70$ °C).	34
Şekil 4.5. Farklı başlatıcı konsantrasyonları kullanılarak hazırlanan hidrojellerin suda şişme kinetiğine ait $\ln F - \ln t$ grafikleri (Reaksiyon koşulları: [TEGDE]= 5×10^{-4} M, $m_{\text{agar}}:m_{\kappa\text{-karagenan}}= 1:1$ ve $T= 70$ °C).	36
Şekil 4.6. Farklı başlatıcı konsantrasyonları kullanılarak hazırlanan hidrojellerin suda şişme kinetiğine ait $\ln F - \ln t$ grafikleri (Reaksiyon koşulları: [TEGDE]= 2×10^{-3} M, $m_{\text{agar}}:m_{\kappa\text{-karagenan}}= 1:1$ ve $T= 70$ °C).	36
Şekil 4.7. Farklı başlatıcı konsantrasyonları kullanılarak hazırlanan hidrojellerin suda şişme kinetiğine ait $\ln F - \ln t$ grafikleri (Reaksiyon koşulları: [TEGDE]= 8×10^{-3} M, $m_{\text{agar}}:m_{\kappa\text{-karagenan}}= 1:1$ ve $T= 70$ °C).	37
Şekil 4.8. Farklı çapraz bağlayıcı konsantrasyonu kullanılarak hazırlanan hidrojellerin % denge şişme değerlerinin hidrojel hazırlama esnasında kullanılan başlatıcı konsantrasyonu ile değişimlerinin karşılaştırılması (Reaksiyon koşulları: $m_{\text{agar}}:m_{\kappa\text{-karagenan}}= 1:1$ ve $T= 70$ °C).	39

Şekil 4.9. Farklı çapraz bağlayıcı konsantrasyonları kullanılarak hazırlanan hidrojellerin % şişme değerlerinin zamanla değişimi (Reaksiyon koşulları: $[APS]= 5 \times 10^{-4} \text{ M}$, $m_{\text{agar}}:m_{\kappa\text{-karagenan}}= 1:1$ ve $T= 70 \text{ }^\circ\text{C}$).	40
Şekil 4.10. Farklı çapraz bağlayıcı konsantrasyonları kullanılarak hazırlanan hidrojellerin % şişme değerlerinin zamanla değişimi (Reaksiyon koşulları: $[APS]= 2 \times 10^{-3} \text{ M}$, $m_{\text{agar}}:m_{\kappa\text{-karagenan}}= 1:1$ ve $T= 70 \text{ }^\circ\text{C}$).	41
Şekil 4.11. Farklı çapraz bağlayıcı konsantrasyonları kullanılarak hazırlanan hidrojellerin % şişme değerlerinin zamanla değişimi (Reaksiyon koşulları: $[APS]= 8 \times 10^{-3} \text{ M}$, $m_{\text{agar}}:m_{\kappa\text{-karagenan}}= 1:1$ ve $T= 70 \text{ }^\circ\text{C}$).	41
Şekil 4.12. Farklı çapraz bağlayıcı konsantrasyonları kullanılarak hazırlanan hidrojellerin suda şişme kinetiğine ait $\ln F-\ln t$ grafikleri (Reaksiyon koşulları: $[APS]= 5 \times 10^{-4} \text{ M}$, $m_{\text{agar}}:m_{\kappa\text{-karagenan}}= 1:1$ ve $T= 70 \text{ }^\circ\text{C}$).	42
Şekil 4.13. Farklı çapraz bağlayıcı konsantrasyonları kullanılarak hazırlanan hidrojellerin suda şişme kinetiğine ait $\ln F-\ln t$ grafikleri (Reaksiyon koşulları: $[APS]= 2 \times 10^{-3} \text{ M}$, $m_{\text{agar}}:m_{\kappa\text{-karagenan}}= 1:1$ ve $T= 70 \text{ }^\circ\text{C}$).	43
Şekil 4.14. Farklı çapraz bağlayıcı konsantrasyonları kullanılarak hazırlanan hidrojellerin suda şişme kinetiğine ait $\ln F-\ln t$ grafikleri (Reaksiyon koşulları: $[APS]= 8 \times 10^{-3} \text{ M}$, $m_{\text{agar}}:m_{\kappa\text{-karagenan}}= 1:1$ ve $T= 70 \text{ }^\circ\text{C}$).	43
Şekil 4.15. Farklı başlatıcı konsantrasyonu kullanılarak hazırlanan hidrojellerin % denge şişme değerlerinin hidrojel hazırlama esnasında kullanılan çapraz bağlayıcı konsantrasyonu ile değişimlerinin karşılaştırılması (Reaksiyon koşulları: $m_{\text{agar}}:m_{\kappa\text{-karagenan}}= 1:1$ ve $T= 70 \text{ }^\circ\text{C}$).	45
Şekil 4.16. Farklı sıcaklıklarda hazırlanan hidrojellerin % şişme değerlerinin zamanla değişimi (Reaksiyon koşulları: $[APS]= 5 \times 10^{-4} \text{ M}$, $[TEGDE]= 5 \times 10^{-4} \text{ M}$ ve $m_{\text{agar}}:m_{\kappa\text{-karagenan}}= 1:1$).	46
Şekil 4.17. Farklı sıcaklıklarda hazırlanan hidrojellerin suda şişme kinetiğine ait $\ln F-\ln t$ grafikleri (Reaksiyon koşulları: $[APS]= 5 \times 10^{-4} \text{ M}$, $[TEGDE]= 5 \times 10^{-4} \text{ M}$ ve $m_{\text{agar}}:m_{\kappa\text{-karagenan}}= 1:1$).	47
Şekil 4.18. Farklı sıcaklıklarda hazırlanan hidrojellerin % denge şişme değerlerinin hidrojellerin hazırlanması esnasında kullanılan çözelti sıcaklığı ile değişim grafiği (Reaksiyon koşulları: $[APS]= 5 \times 10^{-4} \text{ M}$, $[TEGDE]= 5 \times 10^{-4} \text{ M}$ ve $m_{\text{agar}}:m_{\kappa\text{-karagenan}}= 1:1$)... ..	48
Şekil 4.19. Farklı polisakkarit oranları kullanılarak hazırlanan hidrojellerin % şişme değerlerinin zamanla değişimi (Reaksiyon koşulları: $[APS]= 5 \times 10^{-4} \text{ M}$, $[TEGDE]= 5 \times 10^{-4} \text{ M}$ ve $T= 70 \text{ }^\circ\text{C}$).	49
Şekil 4.20. Farklı polisakkarit oranlarında hazırlanan hidrojellerin suda şişme kinetiğine ait $\ln F-\ln t$ grafikleri (Reaksiyon koşulları: $[APS]= 5 \times 10^{-4} \text{ M}$, $[TEGDE]= 5 \times 10^{-4} \text{ M}$ ve $T= 70 \text{ }^\circ\text{C}$).	50

Şekil 4.21. Farklı polisakkarit oranlarında hazırlanan hidrojellerin % denge şişme değerlerinin gösterilmesi (Reaksiyon koşulları: [APS]= 5×10^{-4} M, [TEGDE]= 5×10^{-4} M ve T= 70 °C).	51
Şekil 4.22. Tri(etilen glikol) divinil eter (TEGDE) varlığında agar/ κ -karagenan karışımının radikalik çapraz bağlanması için genel mekanizma.	53
Şekil 4.23. Fenilalanin amino asiti ile muamele edilmemiş montmorillonit kilinin XRD spektrumu.	54
Şekil 4.24. Montmorillonitin CEC değerinin 0,5 katı fenilalanin amino asiti ile modifiye edilmiş montmorillonit kilinin XRD spektrumu.	55
Şekil 4.25. Montmorillonitin CEC değerinin 1,0 katı fenilalanin amino asiti ile modifiye edilmiş montmorillonit kilinin XRD spektrumu.	55
Şekil 4.26. Montmorillonitin CEC değerinin 1,5 katı fenilalanin amino asiti ile modifiye edilmiş montmorillonit kilinin XRD spektrumu.	56
Şekil 4.27. Montmorillonitin CEC değerinin 2,0 katı fenilalanin amino asiti ile modifiye edilmiş montmorillonit kilinin XRD spektrumu.	56
Şekil 4.28. Farklı oranlarda fenilalanin amino asiti ile modifiye edilmiş montmorillonit killerinin bazal boşluk değerlerinin karşılaştırılması.	57
Şekil 4.29. Farklı miktarlarda fenilalanin amino asiti ile modifiye edilen montmorillonit kilinin zeta potansiyeli grafiği.	58
Şekil 4.30. Farklı MMT konsantrasyonuna sahip hidrojellerin % şişme değerlerinin zamanla değişimi (Reaksiyon koşulları: [APS]= 5×10^{-4} M, [TEGDE]= 5×10^{-4} M, $m_{\text{agar}}:m_{\kappa\text{-karagenan}}= 1:4$ ve T= 70 °C).	59
Şekil 4.31. Farklı konsantrasyonlarda MMT içeren hidrojellerin suda şişme kinetiğine ait lnF-lnt grafikleri (Reaksiyon koşulları: [APS]= 5×10^{-4} M, [TEGDE]= 5×10^{-4} M, $m_{\text{agar}}:m_{\kappa\text{-karagenan}}= 1:1$ ve T= 70 °C).	60
Şekil 4.32. Farklı konsantrasyonlarda MMT içeren hidrojellerin % denge şişme değerlerinin montmorillonit miktarı ile değişimi (Reaksiyon koşulları: [APS]= 5×10^{-4} M, [TEGDE]= 5×10^{-4} M, $m_{\text{agar}}:m_{\kappa\text{-karagenan}}= 1:4$ ve T= 70 °C).	61
Şekil 4.33. Fenilalanin amino asitine ait FTIR spektrumu.	62
Şekil 4.34. Saf MMT ve fenilalanin amino asiti ile modifiye edilmiş MMT kilinin FTIR spektrumları.	63
Şekil 4.35. Saf agar ve saf κ -karagenana ait FTIR spektrumları.	64
Şekil 4.36. Optimum koşullara göre hazırlanmış kil içermeyen hidrojele (MMT-%0) ve %5 kil içeren hidrojele ait FTIR spektrumları.	65
Şekil 4.37. Modifiye edilmiş montmorillonit kilinin ve kil içeren hidrojellerin XRD spektrumları.	66

Şekil 4.38. Farklı büyütme oranlarında (50X, 100X ve 250X), kil içermeyen farklı şişme derecelerine sahip agar/ κ -karagenan hidrojellerine ait SEM görüntüleri.	67
Şekil 4.39. Farklı büyütme oranlarında (50X, 100X ve 250X), farklı konsantrasyonlarda kil içeren agar/ κ -karagenan/MMT hidrojellerine ait SEM görüntüleri.	68
Şekil 4.40. Kil içermeyen agar/ κ -karagenan hidrojeline ait EDS spektrumu.	69
Şekil 4.41. %1 Kil içeren agar/ κ -karagenan/MMT hidrojeline ait EDS spektrumu.	70
Şekil 4.42. %3 Kil içeren agar/ κ -karagenan/MMT hidrojeline ait EDS spektrumu.	70
Şekil 4.43. %5 Kil içeren agar/ κ -karagenan/MMT hidrojeline ait EDS spektrumu.	71
Şekil 4.44. %1 (a), %3 (b) ve %5 (c) kil içeren agar/ κ -karagenan/MMT hidrojellerinin elementel haritalamalarına ait görüntüler.	72
Şekil 4.45. Agar/ κ -karagenan ve agar/ κ -karagenan/montmorillonit hidrojellerine ait TEM görüntüleri.	73
Şekil 4.46. Saf κ -karagenana, saf agara ve agar/ κ -karagenan ve agar/ κ -karagenan/montmorillonit hidrojellerine ait DSC termogramları.	74
Şekil 4.47. Agar/ κ -karagenan ve agar/ κ -karagenan/%5 MMT hidrojellerinin transparanlığının karşılaştırılması.	75
Şekil 4.48. Agar/ κ -karagenan ve agar/ κ -karagenan/%5 MMT hidrojellerine ait absorban-dalga boyu grafiği.	76
Şekil 4.49. Kil içermeyen agar/ κ -karagenan hidrojelinin farklı fizyolojik sıvılarda 1.kullanım sonrası % şişme miktarlarının karşılaştırılması.	77
Şekil 4.50. Kil içeren ve içermeyen hidrojellerin NaCl çözeltisinde (0,9 g NaCl/100 mL çözelti) şişme-büzülme döngüsü.	78
Şekil 4.51. Kil içeren ve içermeyen hidrojellerin senterik idrar çözeltisinde ((0,1 g MgSO ₄ +0,06 g CaCl ₂ +2 g üre+0,8 g NaCl)/100 mL çözelti) şişme-büzülme döngüsü.	78
Şekil 4.52. Kil içeren ve içermeyen hidrojellerin sentetik yara sıvısında ((0,68 g NaCl+0,22 g KCl+2,5 g NaHCO ₃ +0,35 g NaH ₂ PO ₄)/100 mL çözelti) şişme-büzülme döngüsü.	79
Şekil 4.53. Kil içeren ve içermeyen hidrojellerin glukoz çözeltisinde (5 g glukoz/100 mL çözelti) şişme-büzülme döngüsü.	79
Şekil 4.54. 200 ppm lidokain HCl'ye ait HPLC kromatogramı. Enjeksiyon hacmi: 20 μ L, akış hızı: 1,2 mL/dk, kolon sıcaklığı: 28 °C, mobil faz bileşimi: asetonitril:amonyum asetat (70:30, pH 4,85), kolon: Hypersil ODS C ₁₈ ters faz kolon, uzunluk: 250 mm, iç çap: 4.6 mm, partikül büyüklüğü: 5 μ m, dedektör tipi: DAD dedektör, dalga boyu 262 nm.	82
Şekil 4.55. Lidokain HCl ilacının kalibrasyonu için HPLC'de alınmış pik alanına karşı konsantrasyon grafiği.	83

Şekil 4.56. Lidokain HCl yüklü farklı konsantrasyonlarda kil içeren ve kil içermeyen hidrojellerden lidokain HCl salımı (pH=7,4 ve T=37 °C).	83
Şekil 4.57. 20 ppm kloramfenikol ilacının UV-Visible absorpsiyon spektrumu.	85
Şekil 4.58. Kloramfenikol ilacının kalibrasyonu için 277 nm dalga boyunda UV-Visible spektrofotometre cihazında ölçülmüş absorbans değerlerine karşı konsantrasyon grafiği.	86
Şekil 4.59. Kloramfenikol yüklü farklı konsantrasyonlarda kil içeren ve kil içermeyen hidrojellerden kloramfenikol salımı (pH=7,4 ve T=37 °C).	86
Şekil 4.60. Tek ilaç yüklü ve iki ilaç yüklü, kil içermeyen hidrojellerden lidokain HCl salımlarının karşılaştırılması (pH=7,4 ve T=37 °C).	88
Şekil 4.61. Tek ilaç yüklü ve iki ilaç yüklü, %5 kil içeren hidrojellerden lidokain HCl salımlarının karşılaştırılması (pH=7,4 ve T=37 °C).	88
Şekil 4.62. 200 ppm kloramfenikole ait HPLC'de alınmış kromatogram örneği. Enjeksiyon hacmi: 20 µL, akış hızı: 0,8 mL/dk, kolon sıcaklığı: 28 °C, mobil faz bileşimi: asetonitril:amonyum asetat (70:30, pH 4,85), kolon: Hypersil ODS C ₁₈ ters faz kolon, uzunluk: 250 mm, iç çap: 4.6 mm, partikül büyüklüğü: 5 µm, dedektör tipi: DAD dedektör, dalga boyu 277 nm.	90
Şekil 4.63. CLP'ye ait HPLC'de alınmış kalibrasyon grafiği.	91
Şekil 4.64. Tek ilaç yüklü ve iki ilaç yüklü kil içermeyen hidrojellerden CLP salımlarının karşılaştırılması (pH=7,4 ve T=37 °C).	91
Şekil 4.65. Tek ilaç yüklü ve iki ilaç yüklü %5 kil içeren hidrojellerden CLP salımlarının karşılaştırılması (pH=7,4 ve T=37 °C).	92
Şekil 4.66. 4 °C'de saklanan agar/κ-karagenan hidrojeli içerisindeki ilaç konsantrasyonlarının zamana bağlı olarak değişim grafiği.	93
Şekil 4.67. 4 °C'de saklanan agar/κ-karagenan/%5 MMT hidrojeli içerisindeki ilaç konsantrasyonlarının zamana bağlı olarak değişim grafiği.	94
Şekil 4.68. Agar/κ-karagenan hidrojeline ait basma testi fotoğrafları.	95
Şekil 4.69. Agar/κ-karagenan/%5 MMT/LDC/CLP hidrojeline ait basma testi fotoğrafları.	95
Şekil 4.70. Hidrojellerin sıkıştırılması sonucu elde edilen gerilim-gerinim grafikleri.	96
Şekil 4.71. Hidrojellerin deformasyona uğradığı nihai basma gerilimleri.	96
Şekil 4.72. MMT içermeyen ve %5 MMT içeren hidrojellerin <i>E. coli</i> ve <i>S. aureus</i> 'a karşı antibakteriyel etkinlik görüntüleri.	98
Şekil 4.73. LDC veya CLP içeren agar/κ-karagenan hidrojellerinin <i>E. coli</i> ve <i>S. aureus</i> 'a karşı antibakteriyel etkinlik görüntüleri.	99
Şekil 4.74. LDC ve/veya CLP içeren agar/κ-karagenan/%5 MMT hidrojellerinin <i>E. coli</i> ve <i>S. aureus</i> 'a karşı antibakteriyel etkinlik görüntüleri.	100

Şekil 4.75. Hidrojellerin MG-63 hücrelerinin canlılığı üzerine etkisi.....	102
Şekil 4.76. 24 saatlik inkübasyon periyodu sonunda hidrojellerle muamele edilen hücrelerin morfolojileri.....	103

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 4.1. Agar/ κ -karagenan bazlı hidrojellerin sentez koşulları (toplam çözelti hacmi 100 mL'dir).....	31
Çizelge 4.2: Farklı başlatıcı konsantrasyonları kullanılarak hazırlanan hidrojellerin suda şişme kinetiğine ait Fick yasası kinetik parametreleri ile korelasyon katsayısı değerleri (r) (Reaksiyon koşulları: [TEGDE]= 5×10^{-4} M, $m_{\text{agar}}:m_{\kappa\text{-karagenan}}= 1:1$ ve $T= 70$ °C).....	37
Çizelge 4.3: Farklı başlatıcı konsantrasyonları kullanılarak hazırlanan hidrojellerin suda şişme kinetiğine ait Fick yasası kinetik parametreleri ile korelasyon katsayısı değerleri (r) (Reaksiyon koşulları: [TEGDE]= 2×10^{-3} M, $m_{\text{agar}}:m_{\kappa\text{-karagenan}}= 1:1$ ve $T= 70$ °C).....	38
Çizelge 4.4. Farklı başlatıcı konsantrasyonları kullanılarak hazırlanan hidrojellerin suda şişme kinetiğine ait Fick yasası kinetik parametreleri ile korelasyon katsayısı değerleri (r) (Reaksiyon koşulları: [TEGDE]= 8×10^{-3} M, $m_{\text{agar}}:m_{\kappa\text{-karagenan}}= 1:1$ ve $T= 70$ °C).....	38
Çizelge 4.5. Farklı çapraz bağlayıcı konsantrasyonları kullanılarak hazırlanan hidrojellerin suda şişme kinetiğine ait Fick yasası kinetik parametreleri ile korelasyon katsayısı değerleri (r) (Reaksiyon koşulları: [APS]= 5×10^{-4} M, $m_{\text{agar}}:m_{\kappa\text{-karagenan}}= 1:1$ ve $T= 70$ °C).	44
Çizelge 4.6. Farklı çapraz bağlayıcı konsantrasyonları kullanılarak hazırlanan hidrojellerin suda şişme kinetiğine ait Fick yasası kinetik parametreleri ile korelasyon katsayısı değerleri (r) (Reaksiyon koşulları: [APS]= 2×10^{-3} M, $m_{\text{agar}}:m_{\kappa\text{-karagenan}}= 1:1$ ve $T= 70$ °C).	44
Çizelge 4.7. Farklı çapraz bağlayıcı konsantrasyonları kullanılarak hazırlanan hidrojellerin suda şişme kinetiğine ait Fick yasası kinetik parametreleri ile korelasyon katsayısı değerleri (r) (Reaksiyon koşulları: [APS]= 8×10^{-3} M, $m_{\text{agar}}:m_{\kappa\text{-karagenan}}= 1:1$ ve $T= 70$ °C).....	44
Çizelge 4.8. Farklı sıcaklıklarda hazırlanan hidrojellerin suda şişme kinetiğine ait Fick yasası kinetik parametreleri ile korelasyon katsayısı değerleri (r) (Reaksiyon koşulları: [APS]= 5×10^{-4} M, [TEGDE]= 5×10^{-4} M $m_{\text{agar}}:m_{\kappa\text{-karagenan}}= 1:1$)	47
Çizelge 4.9. Farklı polisakkarit oranlarında hazırlanan hidrojellerin suda şişme kinetiğine ait Fick yasası kinetik parametreleri ve korelasyon katsayısı değerleri (r) (Reaksiyon koşulları: [APS]= 5×10^{-4} M, [TEGDE]= 5×10^{-4} M ve $T= 70$ °C).	50
Çizelge 4.10. Farklı konsantrasyonlarda montmorillonit katkılı hidrojellerin suda şişme kinetiğine ait Fick yasası kinetik parametreleri ve korelasyon katsayısı değerleri (r) (Reaksiyon koşulları: [APS]= 5×10^{-4} M, [TEGDE]= 5×10^{-4} M, $m_{\text{agar}}:m_{\kappa\text{-karagenan}}= 1:4$ ve $T= 70$ °C).	60
Çizelge 4.11. Hidrojellere yüklenen lidokain HCl miktarları ve salım yüzdeleri (pH=7,4 ve $T=37$ °C)	84

Çizelge 4.12. Hidrojellere yüklenen CLP miktarları ve salım yüzdeleri (pH=7,4 ve T=37 °C)	87
Çizelge 4.13. Kil içermeyen ve %5 oranında kil içeren hidrojellere yüklenen lidokain HCl miktarları ve salım yüzdeleri (pH=7,4 ve T=37 °C)	89
Çizelge 4.14. Kil içermeyen ve %5 oranında kil içeren hidrojellere yüklenen CLP miktarları ve salım yüzdeleri (pH=7,4 ve T=37 °C)	92
Çizelge 4.15. Hidrojellerin disk difüzyon yöntemiyle belirlenmiş inhibisyon zon çapları	101

1. GİRİŞ

Her yıl dünyada milyonlarca insan çeşitli yaralanmalara maruz kalmaktadır. Etkin bir yara tedavisi sağlanabilmesi amacıyla, yaranın türüne (akut ya da kronik oluşuna) ve yaralanma derecesine göre, yara bakım ürünlerinin etkinlikleri iyi bir şekilde değerlendirilmelidir. İyileşmesi 6 hafta ya da daha uzun süren yaralar kronik yara olarak tanımlanır. Dünya çapında kronik yaralardan muzdarip kişi sayısı yıllık yaklaşık 37 milyon olarak bildirilmiştir (Wild vd. 2010). Kronik yaralar; sadece hastayı psikososyal yönden etkilemekle kalmamakta, aynı zamanda hastaya ayrılan bakım süresini uzatmakta, sağlık giderlerini arttırmakta ve ülke ekonomisini olumsuz yönde etkilemektedir. Kronik yaraların tedavisinde yıllık 25 milyar dolardan fazla harcama yapıldığı ve yaşlanan nüfus, diyabetli hasta ve obez kişi sayısındaki artışa bağlı olarak bu bütçenin her geçen yıl daha da artacağı belirtilmektedir (Schreml vd. 2010; Sen vd. 2009). Geçmişte yara örtüsü olarak, farklı absorpsiyon kapasitesine sahip doğal veya sentetik sargı bezleri, hidrofik pamuk ve gazlı bez gibi geleneksel yara örtüleri kullanılmaktaydı. Günümüzde ise hastaya en az rahatsızlık vererek ideal pansuman sağlayabilecek, yara iyileşmesini hızlandıracak, düşük maliyetli yara örtülerinin geliştirilmesine yönelik çok sayıda çalışma yapılmaktadır. Yaralar, çok çeşitli formlarda olabilmektedirler. Bu nedenle, yara tedavisinde tek tip yara örtüsü kullanmak yerine yaranın türüne uygun bakım ürünleri seçilmelidir. Yara türlerindeki çeşitliliğe bağlı olarak hidrojeller, hidrokolloidler, aljinatlar, poliüretan, kollajen, kitosan, pektin ve hyalüronik asit gibi farklı türde yara örtülerinin ve polimerlerin kullanımına başvurulmaktadır (Dhivya vd. 2015).

1.1. Yara İyileşmesi ve Yara Örtüleri

1.1.1. Yara iyileşmesi

Organizmanın herhangi bir bölgesindeki doku bütünlüğünün bozulması sonucu yaralanma meydana gelir. Yara iyileşme süreci yaralanmadan hemen sonra başlayan, hemostaz, inflamasyon, proliferasyon ve maturasyon aşamalarını takip eden dinamik, kompleks ve biyolojik bir süreçtir (Coninck vd. 1996; Zaman vd. 2011). Yara iyileşme süreci sadece ilaç tedavisine değil, aynı zamanda yaranın bakımına da bağlıdır. Yara örtüleri, yara tedavisi uygulamalarında önemli bir yere sahiptir. Geçmişte kullanılan geleneksel yara örtülerinin temel görevi, yara eksudasını (sıvısını) uzaklaştırarak yarayı kuru tutmak, bu sayede bakterilerin yara ortamında üremesini engellemek ve yarayı dış etkenlerden korumaktır. Modern yara bakım anlayışına göre, canlı dokuların canlılıklarını koruyabilmeleri ve üreyebilmeleri için nemli ortama ihtiyaç duydukları bilinmektedir (Boateng vd. 2007). Yaralar akut, kronik, eksudalı, kuru veya enfekte türde olabilmektedirler. Etkin bir yara tedavisi için yaranın durumu iyi bir şekilde değerlendirilmeli ve gereksinimler doğrultusunda en uygun yara örtüsü seçilmelidir (Zahedi vd. 2009). Yara yüzeyinde yoğun bir akıntı olması durumunda, yüksek absorplama kapasitesine sahip olan bir yara örtüsünün seçilmesi gerekmektedir. Kuru tipteki yaralarda ise yara yüzeyini nemli tutabilecek bir ürün seçmek uygun olacaktır. Yara üzerine

uygulanan geleneksel yara örtülerinin kullanım sonrası değişimi sırasında hastaya acı vermesi ve hastada ikincil bir travma yaratması, bu materyallerin dezavantajları arasındadır. Bu dezavantajları gidermek için yapılan araştırmalar sonucu modern yara bakım ürünleri geliştirilmiştir. Modern yaklaşıma göre, yara bölgesinin nemli tutulmasının iyileşme sürecini büyük oranda kısalttığı kabul görmektedir (Stashak vd., 2004; Boateng vd., 2007; Fonder vd. 2008). Yara iyileşmesi sürecinde aktif bir role sahip olan antibiyotikler ve vitaminler gibi farmakolojik maddeler modern yara örtüleri sayesinde sistemik dolaşıma katılmadan direkt olarak yara bölgesine kontrollü bir şekilde salınabilmektedirler. Optimal yara iyileşmesine yönelik olarak araştırmacıların yıllarca süren çalışmaları sonucunda varılan ortak düşüncelere göre, ideal bir yara bakım ürünü materyalinden beklenen özellikler aşağıdaki gibi özetlenebilir (Abdelrahman ve Newton 2011):

- i. Yara yüzeyinde nemli bir çevre yaratmalıdır ve aynı zamanda sıvı birikimini engellemek için yüksek sıvı absorplama kapasitesine sahip olmalıdır.
- ii. Isı yalıtımı sağlamalıdır. Aksi halde, açık yarada deri yokluğu sebebiyle ısı kaybı meydana gelmektedir.
- iii. Yenisiyle değişimi esnasında ikincil bir travma yaratmamalıdır ve yaradan kolaylıkla uzaklaştırılabilir.
- iv. Su buharının dışarı ve oksijen gazının içeri geçişine izin vermelidir. Ayrıca, bakteri ve yabancı maddeler için bariyer görevi görmelidir.
- v. Yara çevresindeki sağlıklı dokulara zarar vermemelidir.
- vi. Esnek yapıda olmalıdır.
- vii. Ağrıyı azaltabilmelidir.
- viii. Mekanik bariyer oluşturmalıdır.
- ix. Biyouyumlu olmalıdır. Allerjik, toksik ya da kanserojenik etki göstermemelidir.
- x. Yaranın iyileşme sürecini izleyebilmek için transparan olmalıdır.
- xi. Doğaya geri dönüşümlü ve düşük maliyetli olmalıdır.

1.1.2. Yara iyileşmesinin basamakları

Yara iyileşmesi; hemostaz, inflamasyon, proliferasyon ve maturasyon aşamalarını kapsar. İyileşme süreci her ne kadar farklı basamaklar halinde değerlendirilse de, birbirini izleyen, kendi içerisinde bir bütünlük arz eden dinamik bir süreçtir. Prosesin ilk basamağı, doku yaralanmasının ilk bir kaç dakikası içinde ortaya çıkan ve yara iyileşme sürecinde oldukça önemli bir yere sahip olan hemostaz ve inflamasyon fazlarından oluşur. Hemostaz fazında, bağ dokunun ana bileşenlerinden biri olan fibrinojen yara sıvısının koagülasyonunu sağlar ve böylece bir fibrin ağı oluşturarak pıhtılaşma olayı meydana gelir. Hemostaz aşaması ile eşzamanlı olarak gelişen inflamatuvar fazı genellikle 24 saatten daha uzun sürer. Bu aşamada, nötrofiller ve ardından fagositler yara ortamına girer ve ölü hücrelere nüfuz eder. Migrasyon aşamasında, epitel olarak adlandırılan yeni ve canlı hücreler ölü hücrelerin yerini almak üzere harekete geçerler. Migrasyonla eş zamanlı olarak

veya migrasyonun hemen ardından proliferasyon evresi başlar. Bu evrede, kılcal ve lenfatik damarların yara içine büyümesiyle granülasyon meydana gelir ve fibroblastlar tarafından kollajen sentezlenir. Kollajen senteziyle birlikte cilt gerilir ve toparlanmaya başlar. Yeterli miktarda kollajen üretilene kadar fibroblast kalınlaşması devam eder. Ardından yara iyileşmesinin en uzun süren aşaması olan maturasyon (yeniden şekillenme ve olgunlaşma) evresi başlar. Bu evrede kollajen yapımı ve yıkımı arasında bir dengeye ulaşılır, hücresel bağ dokusu oluşur ve yeni epitel doku güçlenir. Maturasyon fazının süresi, yaradan yaraya değişmekle birlikte bir kaç aydan bir kaç yıla kadar sürebilir (Singh vd. 2017; Mayet vd. 2014; Schultz vd. 2003; Morgan 2002; Zahedi vd. 2009).

1.1.3. Yara örtüleri

1970'lerin ortalarına kadar, yara tedavisinde farklı absorplama özelliğine sahip doğal ve sentetik bandaj, polyester ve pamuk gibi elyaflarla dokunmuş sargı bezi ve gazlı bez gibi yara örtüleri kullanılmaktaydı. Geçmişte yaraların kuru ortamda en iyi şekilde iyileştigiğine inanılırken, günümüzde yara çevresinde uygulanan nemli bir ortamın daha etkili bir yara iyileşmesi sağladığı bilinmektedir. Modern yara örtüleri yarayı dış etkilerden ve bakterilerden korumasının yanında, yara çevresini ılık ve nemli tutarak epitelizasyonu arttırmakta ve yara iyileşme sürecini kısaltmaktadır (Elbadawy vd. 2014). 1867 yılında ilk antiseptik pansuman Lister tarafından ortaya konmuştur. Lister, pamuk tiftiği veya gazlı bezi yaraya örtmeden önce fenol içinde bekletmiştir (Lister 1867). 1962'de Winter, domuzlar üzerinde yaptığı çalışmada, polietilen filminden imal edilmiş sargı kullanarak yara iyileşmesinin nemli ortamda kuru ortama göre iki kat daha hızlı olduğunu kanıtlamış ve yeni nesil yara örtülerinin ortaya çıkmasına öncülük etmiştir (Winter 1962). Hinman ve Maibach (1963), Winter'ın çalışmasını insanlar üzerinde tekrarlamış ve epitelizasyon hızındaki artışın domuzlar üzerinde yapılan çalışmadakine benzer şekilde gerçekleştiğini belirtmişlerdir. Bu farkındalık sayesinde, pasif malzemelerden aktif ve fonksiyonel yara bakım ürünlerine geçişin yolu açılmıştır (Oh ve Philips 2012; Elbadawy vd. 2014). 1980'li ve 1990'lı yıllarda nemli ortam sağlayan yara bakım ürünlerinin geliştirilmesine yönelik çok sayıda çalışma yapılmıştır. Bu çalışmaların sonucunda, hidrokolloid, poliüretan köpük ve hidrojel formunda çeşitli yara bakım ürünleri geliştirilerek Avrupa ve Kuzey Amerika'da sağlık bakım ürünleri pazarına sunulmuştur (Qin 2007). Her geçen gün geliştirilen yara örtüleri sayesinde ideal yara örtüsünden beklenen özellikler büyük oranda karşılanmaktadır. Çeşitli yara örtüleriyle kıyaslandığında, yüksek su içeriğine sahip hidrojel yara örtüleri, doğal dokuya olan benzerlikleri ve elastik özellikleri sebebiyle pratik uygulamalar için oldukça uygundur. Son yıllarda yumuşak yapılı, esnek, biyouyumlu ve düşük maliyetli hidrojel yara örtüsü üretimine olan ilgi giderek artmaktadır.

1.1.4. Yara örtülerinin sınıflandırılması

1.1.4.1. Gazlı bezler

Gazlı bezler, iyi absorplama kapasitesine sahip olmaları, düşük maliyetleri ve kolay erişilebilir olmaları sebebiyle tarih boyunca yara bakımında yaygın olarak kullanılmıştır. Ancak; daha sonra yapılan araştırmalar, geleneksel pamuklu gazlı bezlerin yarada kuruma sağlaması nedeniyle uygun olmadığını ve yara yatağının nemli tutulması durumunda yaraların daha hızlı iyileştiğini göstermiştir. Bunun yanı sıra, kuruyan ve yaraya yapışan gazlı bezlerin yaradan uzaklaştırılması sırasında yenilenen dokuda yeniden hasara sebep olması ve hastaya büyük acı vermesi, bu malzemelerin dezavantajları arasında gösterilmektedir. Gazlı bezlerin diğer bir olumsuz yönü ise bakterilere karşı zayıf bariyer özelliği göstermesi ve sıklıkla değişim gerektirmesidir. Günümüzde gazlı bezler, daha çok derin boşluklu yaraların tedavisinde tampon görevi görmek amacıyla kullanılmaktadır (Boateng vd. 2007; Fonder vd. 2008; Zahedi vd. 2009).

1.1.4.2. Aljinat örtüler

Aljinat örtüler, mannüronik ve gulüronik asit moleküllerinden sentezlenmiş bir polisakkarit olan aljinik asitin sodyum ve kalsiyum tuzundan elde edilir (Balakrishnan ve Jayakrishnan 2005; Dhivya vd. 2015). Aljinatlar, yapılarında yer alan kalsiyum iyonları sayesinde kolaylıkla çözünmeyen, çapraz bağlı polimerik jel oluşturma kabiliyetine sahiptir (Kuo ve Ma 2001; Wang vd. 2003). Gözenekli yaprak veya esnek lif formunda bulunan aljinat örtüler, yara sıvısı ile temas etmeleri halinde jelleşerek yüksek miktarda sıvı absorplayabilme özelliğine sahiptir. Aljinatlar yara yüzeyine uygulandıklarında, aljinat elyafta bulunan iyonlar eksüdadaki iyonlarla yer değiştirerek, jelden oluşan koruyucu bir film tabaka oluşmasına neden olur. Oluşan bu jel örtü, yaranın iyileşmesi için uygun bir nem ortamı ve sıcaklık değeri sağlar (Kannon ve Garrett 1995). Aljinatların işlevlerini yerine getirebilmeleri için, yoğun ya da orta eksudalı yara tedavilerinde (bacak ülserleri, yanıklar, basınç ülserleri, cerrahi yaralar vb.) kullanılmaları uygundur. Maksimum sıvı absorplama kapasitesine ulaşıldığında örtünün değiştirilmesi gerekmektedir. Aljinat yara örtüleri yara yüzeyine yapışmaz ve biyobozunur yapıda oldukları için yara yüzeyinden acısız bir şekilde uzaklaştırılabilir. Kuru ve nekrotik yaralar üzerine uygulanmaları durumunda, yarayı nemsiz bırakarak iyileşmeyi olumsuz yönde etkilemektedir (Thomas 2000; Jones vd. 2006; Boateng vd. 2007; Fonder vd. 2008).

1.1.4.3. Hidrokolloid örtüler

Hidrokolloidler, karboksimetilselüloz, pektin veya jelatin gibi absorplama özelliğine sahip bileşenlerden oluşur (Boateng vd. 2007). İnce film ya da membran formunda kullanılan hidrokolloidler, modern yara örtüleri arasında oldukça sık kullanılan örtülerdendir. Hafif ya da orta akıntılı yaralarda kullanımları uygundur (Thomas 1992; Dhivya vd. 2015). Hidrokolloidler, hidrojel örtüler gibi epitelizasyon ve granülasyon

hızını arttırmanın yanı sıra nekrotik yaralarda acısız bir otolitik debridman sağlar. Bu örtüler, nem ve gaz geçişine izin verir, aynı zamanda bakteriyel kontaminasyona da engel olurlar (Jones vd. 2006; Fonder vd. 2008).

1.1.4.4. Köpük örtüler

Poliüretan ya da silikon bazlı, yarı geçirgen malzemelerdir. Yara çevresinde nemli bir ortam oluşturmasının yanı sıra termal yalıtım sağlar ve yaraya yapışmadığı için acı hissi vermez. Hidrofilik iç tabaka sıvıyı absorplarırken, hidrofobik dış tabaka sıvının dışarı çıkışını engeller ve bakterilere karşı bariyer görevi görür. Köpük örtülerin sıvı tutma kapasiteleri, kalınlık, tekstürel yapı ve gözenek boyutları gibi parametrelerle kontrol edilebilmektedir. Kuru epitelyal yaralar için uygun değildir (Thomson 2006; Marcia ve Castro 2002; Boateng vd. 2007; Dhivya vd. 2015).

1.1.4.5. Hidrolif örtüler

Tamamen sodyum karboksimetilselülozdan oluşmuş, yumuşak yapılı tekstil ürünleridir (Zahedi vd. 2009). Hidrolif yara örtüleri, sıvıyı doğrudan liflerin içine dikey fitilleme ile hapseder ve sıvıyı çevre deriden uzak tutarak maserasyon riskini azaltır. Orta ve ağır akıntılı yara tedavilerinde kullanım için uygun olmakla beraber ikincil bir örtü gerektirir (Robinson 2000; Fonder vd. 2008).

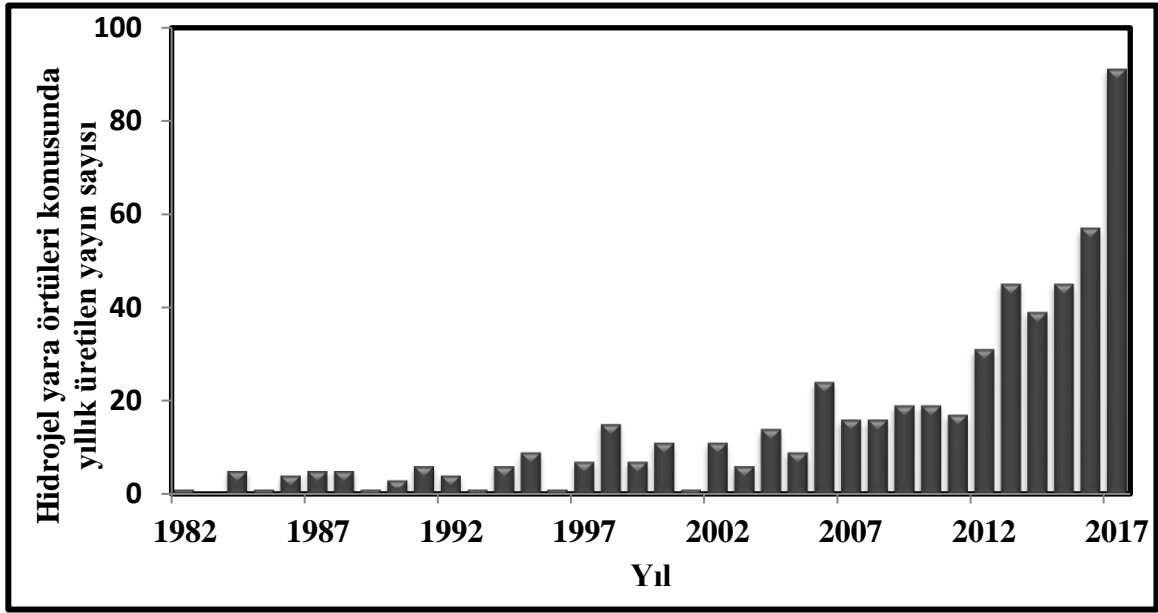
1.1.4.6. Biyolojik örtüler

Yara iyileşme sürecinde aktif role sahip biyomateryallerden üretilmiş olan yara örtüleridir. Biyoaktif örtüler olarak da adlandırılan, doku mühendisliğinde de sıklıkla kullanılan bu malzemeler doğal ya da sentetik kaynaklı olabilmektedir. Biyomateryaller; biyobozunur olup, doku matriksine doğrudan katılarak normal yara iyileşmesinde ve yeni doku oluşumunda etkin rol oynamaktadır (Boateng vd. 2007). Kollajen, kitosan, hyalüronik asit ve elastin bu alanda önemli yere sahip doğal polimerler arasındadır (Doillon ve Silver 1986; Ramshaw vd. 1995; Ishihara vd. 2002). Bu doğal polimerler, gerektiğinde yara bölgesine salınmak üzere antimikrobiyal madde veya büyüme faktörleri ile katkılanabilir. Kollajen bağ dokusunun önemli bir komponenti olmakla birlikte, organların da başlıca yapısal proteini. Yara iyileşmesinin başlamasından, skar oluşumuna kadar olan süreçte büyük etkiye sahiptir ve deriye mukavemet kazandırır (Kim vd. 2017). Kitosan inflamatuvar fazda hücrelerin yara bölgesine girmesini hızlandırır. Böylece, makrofajların mikroorganizmaları yok etmesini ve ölü hücreleri uzaklaştırmasını sağlar (Ueno vd. 1999). Kitosanın yara iyileşme sürecindeki diğer bir olumlu katkısı da antibakteriyel, antifungal ve hemostatik özelliğe sahip olmasıdır (Deng vd. 2007; Bano vd. 2017). Hyalüronik asit, ekstraselüler matriksin glikoaminoglikan bileşeni olup, inflamasyon tedavisinde eşsiz fizikokimyasal ve biyolojik fonksiyonlara sahiptir. Hidrofilik yapılı hyalüronik asit, yara üzerinde nemli bir çevre oluşturarak, yaranın iyileşme sürecini kısaltır. Ayrıca, kollajen matriks içinde fibroblast proliferasyonunu uyarıcı etkisi vardır (Sanad ve Bar 2017).

Elastin, ekstraselüler matrikste yer alan, cilde elastiklik kazandıran bir proteindir. Yüksek ölçüde çapraz bağlanmış doğası sebebiyle çözünmeyen yapıya sahiptir. Çözünme probleminden dolayı biyomalzemeler halinde işlenmesi zordur. Bu nedenle, elastin bazlı biyomateryallerin geliştirilmesinde, elastinin çözünebilir formları olan tropoelastin, α -elastin ve elastin benzeri polipeptidler kullanılmaktadır (Vasconcelos vd. 2012).

1.1.4.7. Hidrojel örtüler

Hidrojellerin 1950'lerde keşfinden yaklaşık 30 yıl sonra yara tedavisinde uygulamalarına başlanmış ve ilk hidrojel yara örtüsü materyali olarak agar/poliakrilamid çapraz bağlı polimeri sentezlenmiştir (Kennedy-Evans ve Lutz 2010). Hidrojel yara örtüleri amorf jel formunda uygulanabildikleri gibi, elastik yapılı membran ya da film halinde de uygulanabilir. Jel formunda kullanılan hidrojeller gazlı bez gibi ikincil bir örtü gerektirmesine rağmen, film ya da membran halinde kullanılan hidrojeller için ikincil bir örtüye ihtiyaç duyulmamaktadır. Bunun yanı sıra film ya da membran halindeki hidrojeller esnek bir özelliğe sahip olduğu için yaranın büyüklüğüne göre, istenilen boyutlarda kesilip kullanılabilir (Boateng vd. 2007). Hidrojel yara örtüleri gaz geçişine izin verirler ve yara yüzeyini nemli tutarlar. Yara üzerinde serinletici etkiye sahip olmaları sayesinde hastayı büyük ölçüde rahatlatması, hidrojel yara örtülerini alternatifleri arasında avantajlı kılmaktadır (Madaghiele vd. 2014). Hidrojel örtülerin bir diğer avantajı ise hedef bölgeye doğrudan kontrollü ilaç salımı yapabilmeleri ve arzu edilen etki elde edildiğinde, hastaya acı vermeden kolayca yara üzerinden uzaklaştırılabilmesidir (Bagshaw vd. 2015). Bu örtüler yara yüzeyinde kalıntı bırakmaz, yumuşaktır ve epitelizasyonu hızlandırıcı etkiye sahiptir (Magin vd. 2016). Morgan (2002), çok ağır akıntılı ve enfekte yaralar haricinde, hidrojellerin yara iyileşme sürecinin dört aşamasında da kullanımının uygun olduğunu belirtmiştir. Şekil 1.1'de sunulan grafikte son 35 yıl içerisinde hidrojel yara örtüleri konusunda yapılan çalışma sayıları yer almaktadır (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>). Bu durum, son yıllarda hidrojel örtüsü üretimine yönelik çalışmaların sayısının giderek arttığını göstermektedir (Şekil 1.1).



Şekil 1.1. Hidrojel yara örtüsü konusunda yapılan yayın sayısının yıllara göre dağılımı (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed>).

1.2. Kontrollü İlaç Salım Sistemleri

İlaç etken maddeleri; geleneksel olarak enjeksiyon yolu ile veya tablet ya da kapsüllerin ağız yoluyla alımı şeklinde taşınmaktadır. Klasik yöntemlerde ilaç, genel olarak vücuda dağılarak etki etmektedir. Ancak, bu arzu edilen bir durum değildir. Bu şekilde ilaç, etki etmesi istenilen bölgeye ulaşmaya kadar çok sayıda biyolojik bariyeri geçmek zorunda kalmakta ve bu sırada hedef organ dışındaki bölgelere de etki etmektedir (Blanco vd. 2015; Sanjay vd. 2017). Tedavi sürecinde yer almayan doku ve organlarda ilaç birikimi negatif etkilere sebep olmaktadır. Bunun yanı sıra, ilacın hedef bölgeye erişimi sırasında doku ve organların arasına bir miktar sızması sebebiyle de ihtiyaç olandan fazla miktarda ilaç alımı gerekmektedir (Uhrich vd. 1999; Boateng vd. 2007; Danhier vd. 2010; Kwon vd. 2012).

Kontrollü salım kavramının temeli, 1938 yılında Israel Lipowski tarafından gerçekleştirilen patentlenmiş bir çalışmaya dayanmaktadır (Lipowski 1938). Lipowski bu çalışmada, ilaç içeren küçük pelletleri farklı kalınlıklarda kaplayarak etken madde salımını geciktirmiş ve oral dozaj formunu tanımlamıştır. Bu çalışmanın ışığında, 1952 yılında Smith, Kline & French laboratories firması "Dexedrine Spansule" isimli geciktirilmiş ilaç salım ürününü piyasaya çıkarmıştır (Ullyot vd. 2000). Genellikle polimerlerin taşıyıcı olarak kullanıldığı, etken maddenin salım hızını kontrol eden, etken maddeyi hedef doku ve/veya organa ulaştıran sistemlere "kontrollü salım sistemleri" denilmektedir (Rogobete vd. 2016). Kontrollü ilaç salım sistemleri, geleneksel ilaç taşıyıcı sistemlerle karşılaştırıldığında pek çok avantaja sahiptir. Terapötik plazma konsantrasyonunun

istenilen süre boyunca istenilen düzeyde tutulabilmesi, sisteme yüklenen ilaç miktarının geleneksel taşıyıcılara yüklenenden daha az olması, ilacın hedef organ dışındaki bölgeler üzerinde meydana gelebilecek toksik veya yan etkilerinin ortadan kaldırılması kontrollü ilaç salım sistemlerinin başlıca avantajları arasında yer almaktadır (Ariga vd. 2011). Bu avantajlarının yanı sıra, kontrollü salım sistemleri ile hastanın yaşam kalitesi ve refahı artmakta ve hasta bakımı kolaylaşmaktadır.

1.2.1. Kontrollü salım sistemlerinin sınıflandırılması

Kontrollü ilaç salım sistemleri çözücü kontrollü, difüzyon kontrollü ve kimyasal kontrollü salım sistemi olmak üzere üç sınıfa ayrılır. Salım mekanizması kullanılan polimerin türüne göre değişiklik gösterir.

1.2.1.1. Çözücü kontrollü sistemler

Çözücü kontrollü sistemler, ozmotik kontrollü sistemler ve şişme kontrollü sistemler olmak üzere iki sınıfa ayrılır. Ozmotik kontrollü sistemlerde, ozmotik olarak aktif olan ilaç, biyouyumlu polimerden üretilmiş, yarı geçirgen bir membran (selüloz asetat gibi) içerisine yerleştirilmiş halde bulunur. Su veya vücut sıvısı, yarı geçirgen membrandan geçerek etken maddenin membran içerisinde çözünerek şişmesine yol açar ve ozmotik basıncın yükselmesini sağlar. Çözünmüş olan etken madde, ozmotik basıncın artmasıyla birlikte pompalanarak dış ortama çıkartılır. Bu sistemlerden ilaç salımı genellikle sıfıncı derecedendir ve salım dış ortamdan bağımsız olarak gerçekleşir (Siepmann vd. 1999; Holowka ve Bhatia 2014). Şişme kontrollü sistemlerde ise, başlangıçta kuru halde olan polimer vücuda yerleştirildiğinde ortam sıvısını (suyu veya vücut sıvısını) absorplayarak şişer. Ortamdaki sulu çözen içeriğinin yüksek olmasına ve polimerin gözenek boyutunun büyük olmasına paralel olarak şişme miktarı da artış gösterir. Böylelikle, ilaç molekülleri şişmiş polimer yapıdan ayrılarak difüzyon yoluyla dış ortama doğru salınır (Siepmann vd. 1999; Holowka ve Bhatia 2014).

1.2.1.2. Difüzyon kontrollü sistemler

Difüzyon kontrollü sistemler, rezervuar sistemler ve matriks sistemler olmak üzere iki sınıfa ayrılır. Rezervuar sistemlerde ilaç polimerik bir membran ile çevrelenmiştir. İlaç salım hızı polimerik membranın yapısı ile ilişkilidir. Rezervuar difüzyon sistemleri sıfıncı dereceden salım kinetiğine uyar. Yüksek molekül ağırlığına sahip bileşiklerin polimerik sistemden geçişi zor olabilmektedir (Fu ve Kao 2010; Stevenson vd. 2012). Matriks sistemlerde ise ilaç bir matriks içerisine homojen olarak dağılmış ve çözünmüş durumdadır. Matriks difüzyon sistemleri ile sıfıncı dereceden salım kinetiğine ulaşmamaktadır. Üretimi rezervuar sistemlere göre daha kolaydır ve yüksek molekül ağırlıklı bileşiklerin salımı yapılabilmektedir (Kranz vd. 2005; Nokhodchi vd. 2012).

1.2.1.3. Kimyasal kontrollü sistemler

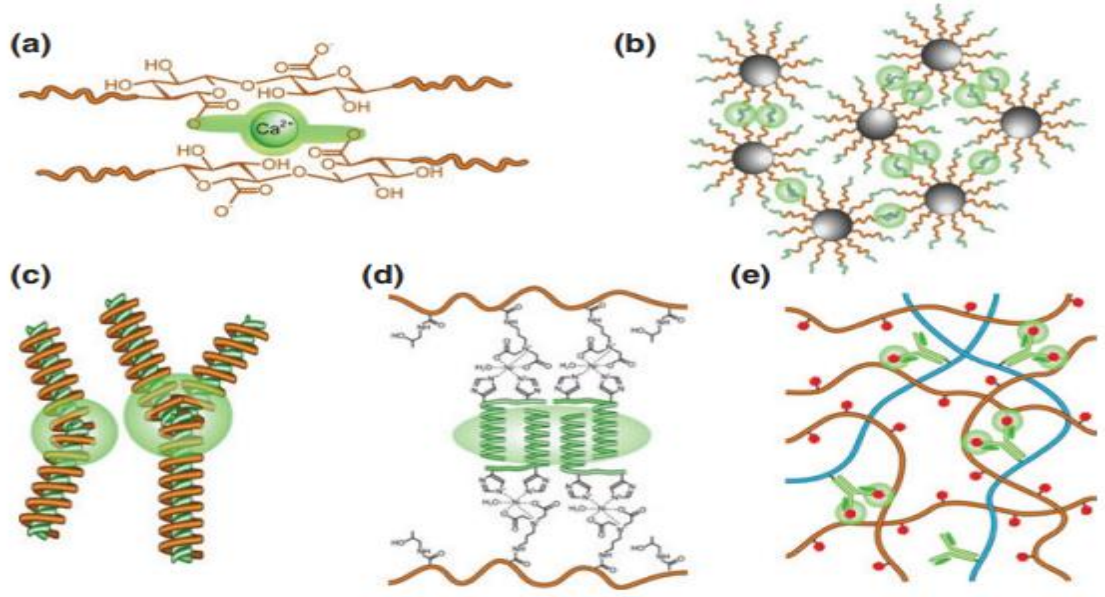
Kimyasal kontrollü ilaç salım sistemleri, biyolojik bozunabilir (aşınabilir) sistemler ve zincire takılı sistemler olarak gruplandırılmaktadır. Biyolojik bozunabilir sistemlerde, ilaç polimer matriks içerisinde dağıtılır, ancak; matriks sistemlerden farklı olarak ilaç salımıyla beraber polimer yapı da zamanla bozunmaya uğrar ve tamamen kaybolur. Bu nedenle, biyolojik bozunabilir sistemler kullanıldığında ilaç salımı tamamlandıktan sonra polimerin vücuttan alınmasına gerek kalmaz. Ancak, bozunma ürünlerinin toksik olmaması ve atılabilir olması gerekmektedir. İlacın difüzyonu, bozunmaya göre daha yavaş ise salım bozunma kontrollüdür. Eğer difüzyon, polimer matriksin bozunmasından daha hızlı ise salım difüzyon kontrollüdür. (Mathiowitz vd. 1997). Zincire takılı sistemlerde ise ilaç molekülü ile polimer zinciri arasındaki kimyasal bağın hidrolitik veya enzimatik olarak kırılması sonucu etken maddenin salımı gerçekleşir (Sintov ve Levy 1999; Ganji ve Farahani 2009).

1.3. Hidrojeller

Hidrojeller, hidrofilik yapıda olmaları sebebiyle yüksek miktarlarda su tutabilme özelliğine sahip, esnek yapılı, üç boyutlu, ağ yapılı polimerik malzemelerdir. İçerdikleri fiziksel ve/veya kimyasal çapraz bağlar sayesinde suda çözünmeyerek, yapısına çok fazla miktarda su ya da biyolojik sıvı alarak şişebilmekte ve şişme sonucunda üç boyutlu yapılarını koruyabilmektedir (Yue vd. 2015). Hidrojeller agar, aljinat, kitosan, kollajen, fibrin, jelatin ve hyalüronik asit gibi doğal polimerlerden ya da polietilen glikol (PEG), polietilen oksit (PEO), 2-hidroksietil metakrilat (HEMA), poliakrilamit (PAAM), poliakrilik asit (PAA), polivinil alkol (PVA) gibi sentetik polimerlerden sentezlenebildiği gibi doğal-sentetik polimer karışımlarından da elde edilebilmektedir (Drury ve Mooney 2003). Elastik ve yumuşak yapıda olmalarının yanı sıra sağlam mekanik özellik göstermeleri, hidrojelleri biyoteknolojik uygulamalar açısından önemli kılmaktadır (Sun vd. 2012; Sahiner 2013). Hidrojeller; ilaç salım sistemlerinde (Qiu ve Park 2001), yara örtülerinde (Du vd. 2012) ve çeşitli doku ve organların onarılmasında/yenilenmesinde (Erickson vd. 2012) kullanılmaktadır.

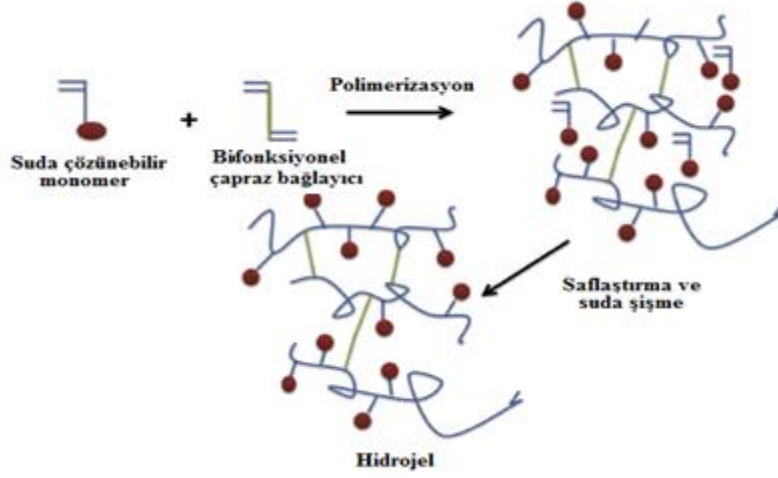
1.3.1. Hidrojellerin hazırlanması

Hidrojeller, fiziksel ve kimyasal çapraz bağlı olmak üzere iki şekilde hazırlanabilmektedir. Hidrojen bağları, iyonik ve hidrofobik etkileşimler gibi zayıf kuvvetlerle oluşan jeller, fiziksel hidrojeller diye adlandırılır (Şekil 1.2). Bu hidrojeller, sulu çözelti içerisinde kovalent etkileşim olmadan, çapraz bağlayıcı ve başlatıcıya gerek duyulmaksızın, yalnızca fiziksel etkileşimler sonucu meydana gelir. Fiziksel hidrojeller, mekanik özellikleri bakımından zayıf olan, çevresel faktörlerden etkilenerek sol ve jel fazları arasında geçiş gösterebilen tersinir sistemlerdir (Ebara vd. 2014).



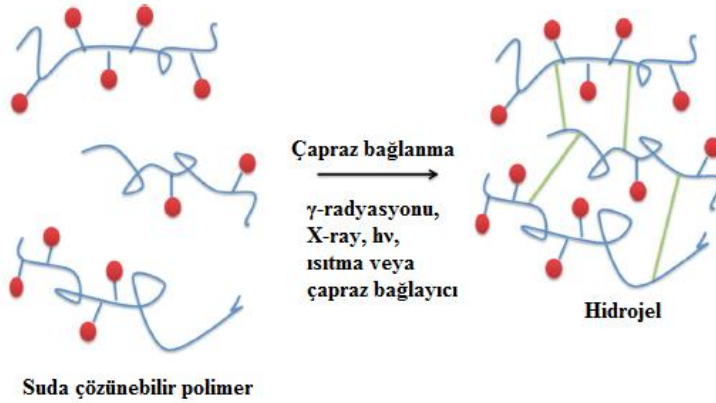
Şekil 1.2. Fiziksel çapraz bağlı hidrojellerin oluşum metodlarının şematik gösterimi. a) İyonik etkileşimler, b) hidrofobik etkileşimler, c) stereokompleks oluşumu, d) heliks sarmal etkileşim, e) moleküler tanıma (Ebara vd. 2014).

Polimer zincirlerinin birbirlerine kovalent bağlarla bağlandığı çözünmez ağ yapılar ise kimyasal hidrojeller olarak adlandırılır. Kimyasal çapraz bağlı hidrojellerin zincirleri arasında kuvvetli bağlar yer aldığı için, bu tür hidrojeller sıcaklık, çözücü bileşimi ya da pH değişimi ile çözünmez. Bu yüzden kalıcı bir ağ yapısına sahiptir. Kimyasal hidrojeller iki şekilde sentezlenebilmektedir. Bunlardan ilki, polifonksiyonel bir çapraz bağlayıcı varlığında hidrofilik monomerin polimerleşmesinin gerçekleştiği üç boyutlu polimerizasyon tekniğidir (Şekil 1.3).



Şekil 1.3. Üç boyutlu polimerizasyon tekniği ile hidrojel sentezi (Calo ve Khutoryanskiy 2015).

İkincisi ise suda çözünebilir polimerlerin uygun bir çapraz bağlayıcı varlığında, doğrudan çapraz bağlanması ile hidrojel sentezidir (Şekil 1.4).



Şekil 1.4. Suda çözünebilir polimerlerin çapraz bağlanması ile hidrojel sentezi (Calo ve Khutoryanskiy 2015).

Polimerizasyon genellikle benzoil peroksit, 2,2-azo-izobütironitril (AIBN), amonyum persülfat gibi serbest radikal oluşturucu ajanlar veya UV ve gama ışını yardımıyla başlatılır. Üç boyutlu polimerizasyon tekniğinde elde edilen madde reaksiyona girmemiş ve toksisiteye sebep olabilecek monomer kalıntısı içerebileceğinden, işlem sonunda saflaştırma basamağına ihtiyaç duyulmaktadır. Genellikle, saflaştırma aşamasında, elde edilen hidrojel su ile yıkama işlemine tabi tutularak reaksiyona girmeyen bileşenlerin uzaklaştırılması sağlanmaktadır (Mathur vd. 1996; Montoro vd. 2014; Ahmed

2015). Saflaştırma işlemini kolaylaştırmak ve hatta önlemek için bazı yöntemler mevcuttur. Eğer ısı veya ışınla polimerize olabilen bir hidrojel sentezlenmişse, elde edilen hidrojinin ısı veya ışınla kürlenmesi ile polimerizasyon derecesi artırılabilir ve bu sayede saflaştırma işlemine gerek duyulmamaktadır. Saflaştırma basamağından kaçınmanın bir diğer yolu da polivinil alkol (PVA), polietilen glikol (PEG) veya polisakkaritler gibi toksik olmayan ve suda kolayca çözünebilen polimerlerin kullanılmasıdır. Bu tür polimerler, toksisiteye sebep olmadıkları için, özellikle tıbbi uygulamalarda güvenle tercih edilmektedir (Rosiak vd. 1995; Park ve Nho 2003; Calo ve Khutoryanskiy 2015).

1.3.2. Hidrojellerin sınıflandırılması

1.3.2.1. Hidrojellerin yapısındaki polimerlerin kaynağına göre sınıflandırma

Hidrojellerin hazırlanmasında sentetik ve/veya doğal polimerlerden yararlanılmaktadır (Zhao vd. 2013). Sentetik polimerler, iyi termal ve mekanik özelliklere sahip olmasının yanı sıra dayanıklı ve kararlı yapıda olmasından dolayı cazip görünmektedir (Shah vd. 2008). Ancak, sentetik polimerler doğada bozunması uzun zaman aldığı için ciddi ekolojik problemlere yol açmaktadır (Rhim ve Ng 2007). Doğal hidrojeller biyoyumlu, biyobozunur ve non-toksik olması sebebiyle biyolojik uygulamalarda ağırlıklı olarak tercih edilmektedir (Zhao vd. 2013). Polivinil alkol (PVA), polietilen glikol (PEG), polietilen oksit (PEO) ve 2-hidroksietil metakrilat (HEMA) sentetik hidrojellerin üretiminde sıklıkla kullanılan polimerlerdendir (Ahmed 2015). Öte yandan, kollajen, jelatin, aljinat, selüloz, agar ve kitosan gibi doğal polimerler de son yıllarda hidrojel sentezinde sıklıkla kullanılan polimerler arasında yer almaktadır (Shi vd. 2016).

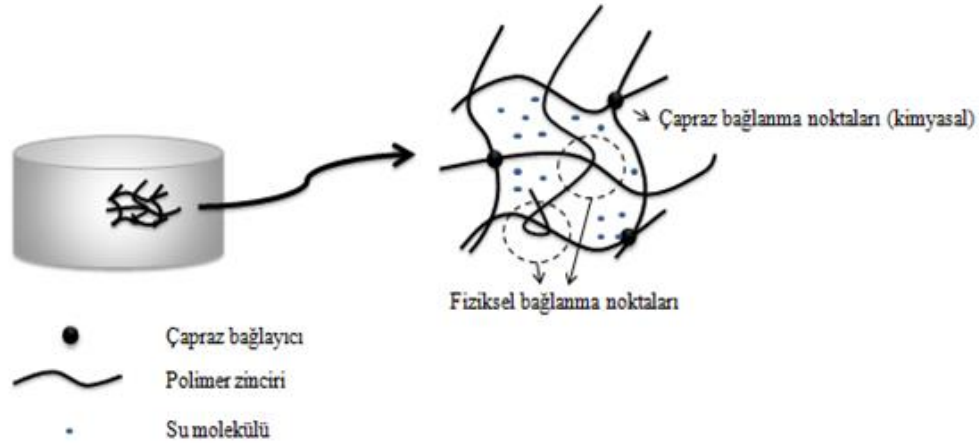
1.3.2.2. Hidrojellerin yapısındaki polimerlerin bileşimlerine göre sınıflandırma

Hidrojeller kendilerini oluşturan polimerlerin bileşimine göre, homopolimerik, kopolimerik ve çoklu polimerik hidrojeller olmak üzere üç sınıfa ayrılır:

- i. **Homopolimerik Hidrojeller:** Tek tür hidrofilik bir monomerin çapraz bağlanması ile oluşan hidrojellerdir (Takashi vd. 2007).
- ii. **Kopolimerik Hidrojeller:** Biri hidrofilik yapılı, iki tür monomerin zincir boyunca rastgele (random), blok veya alternatif konfigürasyonda düzenlenmesiyle oluşmuş polimerik ağı yapılarıdır (Yang vd. 2002).
- iii. **Çoklu Polimerik Hidrojeller:** İç içe geçmiş ağ yapılı hidrojeller (IPN) olarak da adlandırılır. Sentetik ve/veya doğal yapılı, çapraz bağlı iki polimerik ağın fiziksel olarak birleşmesi sonucu oluşan yapılarıdır. Bu polimerik ağlardan en az biri diğerinin varlığında sentezlenmektedir. IPN'yi oluşturan yapılar arasında yalnızca fiziksel etkileşim bulunduğu için polimerler kendi özelliklerini korur. Yarı-IPN hidrojellerde bileşenlerden biri çapraz bağlı iken, diğer bileşen çapraz bağlı değildir (Maolin vd. 2000).

1.3.2.3. Çapraz bağlanma durumuna göre sınıflandırma

Hidrojeller, çapraz bağlanma durumuna göre fiziksel ve kimyasal çapraz bağlı olmak üzere iki gruba ayrılırlar. Hidrojel sentezi sırasında iyonik etkileşim, hidrofobik etkileşim veya hidrojen bağı meydana geliyorsa oluşan hidrojel fiziksel çapraz bağlıdır. Fiziksel hidrojellerde geçici bağlanma noktaları mevcuttur ve aynı zincir üzerindeki molekül içi bağlarla bağlanabildikleri gibi farklı zincirler arasında moleküller arası bağlarla da bağlanabilirler. Kimyasal hidrojellerde ise zincirler birbirine kovalent bağlarla bağlandıkları için, üç boyutlu yapı fiziksel hidrojellere göre daha kararlıdır (Hacker ve Mikos 2011). Hidrojel içerisindeki etkileşimlerin şematik olarak gösterimi Şekil 1.5'te yer almaktadır.



Şekil 1.5. Hidrojel içerisindeki etkileşimlerin şematik gösterimi.

1.3.2.4. Hidrojellerin fiziksel görünümüne göre sınıflandırılması

Hidrojeller, sentezleri sırasında kullanılan polimerizasyon tekniğine göre matriks, film veya mikro küre görünümünde olabilmektedirler (Garg ve Garg 2016).

1.3.2.5. Hidrojellerin ağ yapısı üzerindeki elektriksel yük durumuna göre sınıflandırılması

Hidrojeller, ağ yapıları üzerindeki elektriksel yüke göre aşağıdaki şekilde sınıflandırılmaktadır (Ahmed 2015):

- i. **Nötral:** Yapılarında yüklü grup bulundurmeyen nötr hidrojellerdir.
- ii. **İyonik:** Anyonik veya katyonik gruplara sahip hidrojellerdir.
- iii. **Amfoterik:** Asidik ve bazik grupları bir arada bulunduran hidrojellerdir.

- iv. **Zwitter iyonik (çift kutuplu):** Tekrarlanan birimlerin her birinde asidik ve bazik grupları bir arada bulunduran hidrojelldir.

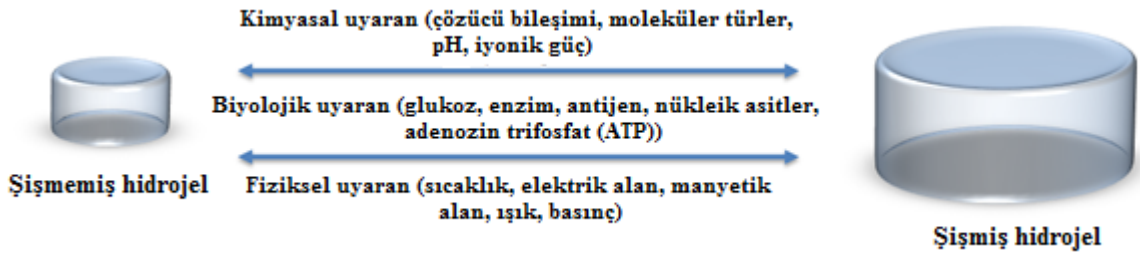
1.3.2.6. Hidrojellerin sahip oldukları konfigürasyonlara göre sınıflandırma

Hidrojelld; fiziksel yapı ve kimyasal bileşimleri bakımından üç gruba ayrılırlar (Ahmed 2015):

- i. Amorf hidrojelld,
- ii. Kristal hidrojelld,
- iii. Yarı kristal hidrojelld (amorf ve kristal fazların karışımı).

1.3.2.7. Hidrojellerin ortam koşullarına duyarlılıklarına göre sınıflandırılması

Ortam koşullarına göre şişme ya da büzülme davranışı göstererek tersinir olarak cevap veren hidrojelld kimyasal, biyolojik ve fiziksel uyarılara karşı duyarlı hidrojelld olarak üç sınıfa ayrılmaktadır (Ulijn vd. 2007). Uyarı-cevap hidrojelldlerinin şematik görünümü Şekil 1.6'da yer almaktadır.



Şekil 1.6. Uyarı-cevap hidrojelldlerinin şematik gösterimi.

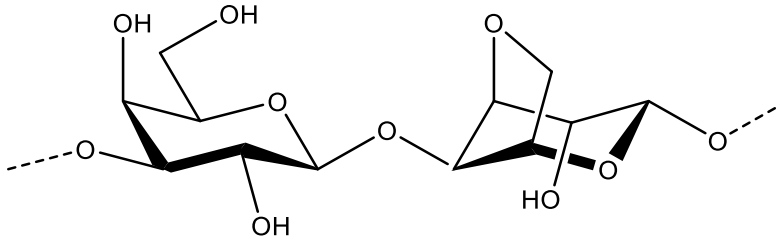
1.3.3. Hidrojellerin uygulama alanları

Hidrojelld, biyoyumlu olmaları sebebiyle biyomedikal alanda kontrollü ilaç salım sistemlerinde, kontak lens yapımında, yapay kan damarları/kas sistemleri yapımında, yara ve yanık tedavisinde, çeşitli uyarılara (sıcaklık, pH, elektriksel alan, ışık vb. uyarılara) duyarlı biyosensör yapımı gibi uygulamalarda geniş bir kullanım alanı bulmaktadır (Laftah vd. 2011; Sharma vd. 2014). Ayrıca, yüksek oranda su tutma kabiliyetine sahip olmalarından dolayı çocuk bezleri, hijyenik pedler ve tarım alanında süper absorban malzeme olarak kullanılmaktadır. Çevre mühendisliği alanında su saflaştırılmasında, ağır metal, boyar madde, petrol ve türevlerinin uzaklaştırılmasında; tarım alanında tarım

ilaçlarının ve gübrelerin kontrollü salımında yaygın olarak kullanılmaktadır (Guilherme vd. 2015).

1.4. Agar

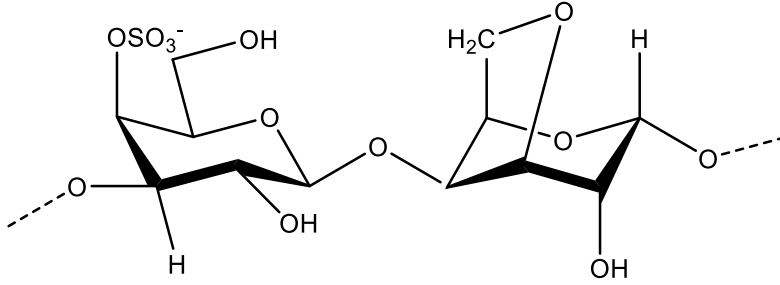
Agar, kırmızı alglerin veya deniz yosunlarının hücre duvarından elde edilen, β -1,3-D-galaktoz ve α -1,4-bağlı 3,6-anhidro-L-galaktopiranoz birimlerinin bir araya gelerek düz zincir halinde dizilmesi ile oluşan hidrofilik bir polisakkarittir (Şekil 1.7). Farklı konformasyonları ve yan zincir süstitüsyonlarını içeren agaroz ve agaropektin fraksiyonlarından oluşmaktadır. Agaroz nötral, yüksek şişme kapasitesine sahip bir polisakkaritken; agaropektin, sülfat ve pirüvat gibi asidik yan gruplar içeren düşük şişme kapasiteli bir polisakkarittir. Doğal polikasyonik bir polimer olan agar, 350 yıldan fazla süredir gıda alanında kullanılmaktadır (Imeson 2010; Lee vd. 2017). Gıda sektöründe kullanımının yanı sıra ilaç, kozmetik, medikal, kimya, biyoteknoloji gibi çok sayıda endüstriyel alanda, jelleştirici, kıvam arttırıcı, su tutucu ve stabilize edici olarak kullanılmaktadır. Ayrıca, biyouyumlu ve biyobozunur olması, ucuz olması ve termotersinir olması agarı alternatifleri arasında avantajlı kılmaktadır (Ortiz vd 2004; Boral vd 2010; Blanco-Fernandez vd. 2011).



Şekil 1.7. Agarın kimyasal yapısı.

1.5. κ -Karagenan

Karagenan, kırmızı deniz yosunlarından ekstrakte edilen 3,6-anhidro-D-galaktoz ve D-galaktoz birimlerinden meydana gelmiş, yüksek molekül ağırlıklı, lineer bir polisakkarittir (Şekil 1.8). Yapısında yer alan sülfat gruplarının pozisyonuna ve sayısına göre farklı fonksiyonel özelliğe sahip üç çeşit karagenan vardır. Disakkaritte tekrarlanan birim başına bir adet sülfat grubu içeriyorsa kapa (κ), iki adet sülfat grubu içeriyorsa iota (ι) ve üç adet sülfat grubu içeriyorsa lamda (λ) olarak isimlendirilir. κ -Karagenan; potasyum iyonları varlığında sert ve kırılğan bir yapıya sahipken ve ısıtıldığında çözünebilen jeller oluştururken (Mangione vd. 2005), ι -karagenan kalsiyum iyonları varlığında yumuşak, elastik yapılı ve su tutucu jel yapı oluşturmaktadır (Hennink ve Nostrum 2002). λ -karagenan ise jel özelliği göstermemektedir (Ruiter ve Rudolph 1997; Muhamad vd. 2011).

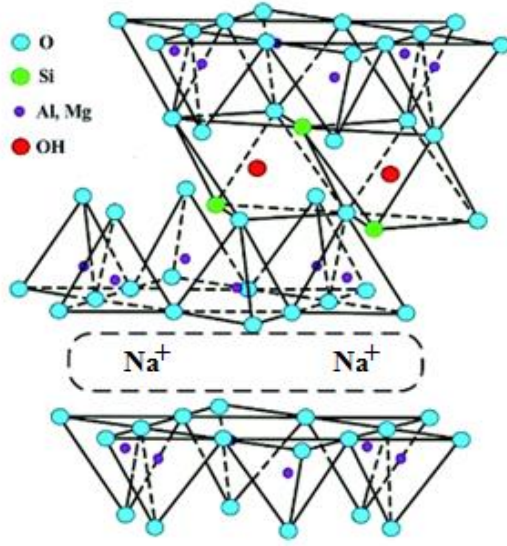


Şekil 1.8. κ -Karagenanın kimyasal yapısı.

κ -Karagenan; biyobozunur, biyouyumlu ve yenilebilir olması ve toksik olmaması sebebiyle et ve süt ürünlerinde, bebek mamalarında, gıda takviye ürünlerinde kıvam artırıcı ve stabilizatör olarak tercih edilmektedir. İyi jelleşebilme özelliği ve mekaniksel mukavemeti sebebiyle gıda endüstrisi dışında kozmetik, kişisel bakım, tekstil endüstrisi, tıbbi bakım ürünleri, kontrollü ilaç salım sistemlerinde de yaygın olarak kullanılmaktadır (Ribeiro vd. 2004; Li vd. 2014; Kafrani vd. 2016).

1.6. Montmorillonit

Kil ve biyobozunur doğal polimerlerin bir arada kullanılmasıyla hazırlanan iyi mekanik, termal ve bariyer özelliklere sahip nanokompozitlerin geliştirilmesi, çevre dostu materyallerin çeşitli alanlarda, çok yönlü kullanılması açısından umut vaat etmektedir. Montmorillonit, $[(Na,Ca)_{0.33}(Al,Mg)_2(Si_4O_{10})(OH)_2.nH_2O]$ genel formülüne sahip, smektit grubunda yer alan, polimer nanokompozitler arasında en yaygın olarak kullanılan bir mineraldir (Şekil 1.9). Montmorillonitin bulunduğu coğrafyaya bağlı olarak, yassı şekilli plakaların çapları 25-250 nm ve uzunlukları 35-400 nm arasında değişmektedir (Cadene vd. 2005). Doğada bol miktarda bulunabilir, kolay modifiye edilebilir ve ucuz olmasının yanı sıra, yüksek kimyasal ve termal kararlılığa sahiptir. Bunun yanı sıra, montmorillonit geniş spesifik yüzey alanına ve iyon değişim özelliğine sahip olması ve non-toksik olması sebebiyle medikal, kozmetik, gıda ambalajlama, ilaç taşıma sistemleri gibi bir çok alanda en çok kabul gören kildir (Martucci vd. 2007). Montmorillonit, tabakalar arasında yer alan yük dengeleyici katyonlar (Si^{4+} , Al^{3+} , Fe^{3+} , Mg^{2+} , Fe^{2+}) tarafından nötralize edildiği için kısmen negatif yüzey yüküne sahiptir (Nistor vd. 2015; Jayrajsinh vd. 2017).



Şekil 1.9. Sodyum montmorillonit kilinin kimyasal yapısının şematik gösterimi (Chen vd. 2015).

1.7. Çalışmanın Amacı

Bu çalışmada, yara tedavisinde kullanılmak üzere doğaya geri dönüşümlü, toksik olmayan, ağrı kesici ve antibakteriyel özellik taşıyan, kontrollü ilaç salımı yapabilen tri(etilen glikol) divinil eter ile çapraz bağlı agar/ κ -karagenan ve agar/ κ -karagenan/montmorillonit hidrojel yara örtüsü materyallerinin hazırlanması ve bu materyallerin çeşitli karakterizasyon testlerinin gerçekleştirilmesi, şişme davranışlarının ve ilaç salımlarının incelenmesi hedeflenmiştir.

2. KAYNAK TARAMASI

Yara tedavisi ve enfeksiyonu önlemeye yönelik çalışmaların temeli çok eski çağlara dayanmaktadır. Geçmişte bal, bitkisel lifler ve hayvan yağları gibi materyaller yara bakım ürünü olarak kullanılmıştır (Majno 1975). Lister, 1867 yılında ilk antiseptik pansumanı ortaya koymuştur (Lister 1867). 1960'lı yıllardan önce polimerik sargılar, iyileşme sürecinde minimum role sahip pasif malzemeler olarak biliniyordu. 1962 yılında Winter, ilk nesil polimerik sargı bezlerini tanıtarak, yara iyileşmesinin nemli ortamda kuru ortama göre daha iyi olduğunu kanıtlamıştır (Winter 1962). 1970'lerin ortalarında sentetik pansuman malzemelerinin geliştirilmesine yönelik polimerik membranlar üzerine çalışmalar yapılmış ve 1978'de, biyolojik aktiviteye sahip kitin bazlı polimerik materyaller ilk polimerik yara örtüleri olarak kullanılmaya başlanmıştır (Queen vd. 1987). 1980'lerde, insan epidermal keratinositlerinin kültüre edilmesi için substrat olarak kollajen ve glikosaminoglikan dermal membranlarla ilgili çalışmalar yapılmıştır (Boyce ve Hansbrough 1988). Yine aynı yıllarda Yannas ve arkadaşlarının, sentetik hidrojelleri kollajen gibi doğal polimerlerle modifiye ederek elde ettikleri örtüler yara ve yanık tedavisinde iyi sonuçlar vermiştir (Yannas vd. 1981; Yannas ve Forbes 1982; Yannas 1985). Böylelikle, "Geliperm®, Curasol® ve Tegagel®" gibi çok sayıda ticari hidrojel sargı malzemesi piyasada yerini almıştır. Bu hidrojeller, polisakkaritler de dahil olmak üzere akrilamid ve metilen-bis-akrilamidin kimyasal çapraz bağlanmasıyla sentezlenmiştir (Razzak vd. 1999; Gupta vd. 2010).

Kollajen, kitosan, elastin ve fibrinojen gibi doğal polimerler, insan vücudu tarafından tanınan makromoleküllere benzer özellik gösteren, biyoyumlu malzemelerdir (Guerra vd. 2009). Son dönemlerde piyasada yer alan ve yeni geliştirilen yara bakım ürünlerine bakıldığında doğal polimerlerin kullanımına yönelik çalışmaların hız kazandığı görülmektedir. Literatür incelendiğinde, özellikle biyoteknoloji alanında, selüloz ve türevleri (Hakkarainen vd. 2016; Capanema vd. 2017), kitosan ve türevleri (Dragostin vd. 2016; Ma vd. 2017), agar ve agaroz (Bao vd. 2010), guar gam (Jana vd. 2016), gellan gam (Cencetti vd. 2012), gellan gam ve kitosan karışımı (Shukla vd. 2016), kollajen (Fleck ve Simman 2010; Tort vd. 2017), γ -siklodekstrin (Wathoni vd. 2017), elastin ve ipek fibroini karışımı (Vasconcelos vd. 2012), fibrinojen (Seetharaman vd. 2011), aljinat (Kaygusuz vd. 2017), ipek fibroini ve sodyum aljinat karışımı (Li vd. 2017), ksiloglukan (Ajovalasit vd. 2018) gibi doğal polimerlerin kullanımında bir artışın olduğu görülmektedir. Wen vd. (2015), yanık yara tedavisi üzerinde bakteriyel selüloz membranlar ile geleneksel gazlı bezlerin etkisini karşılaştırmalı olarak incelemiştir. Yaptıkları bu çalışmanın sonucunda, yüksek biyoyumluluğa sahip bakteriyel selülozun epitelizasyonu hızlandırarak yarayı daha hızlı bir şekilde iyileştirdiğini tespit etmişlerdir. Ayrıca, bakteriyel selülozun gözenekli yapısı sayesinde yara çevresinde nemli bir ortam sağladığını ve hidrofilik özelliği ile yara sıvılarını iyi bir şekilde absorpladığını belirtmişlerdir.

Bu çalışmada, yara örtüsü olarak kullanılmak üzere, doğal birer polisakkarit olan agar ve κ -karagenan kullanılarak hidrojel sentezi gerçekleştirilmiştir. Doğal polisakkaritler deniz yosunları, bitkiler, bakteriler, mantarlar, böcekler, eklem bacaklı kabuklular,

hayvanlar ve hatta insanlar dahil olmak üzere birçok kaynaktan elde edilebilmektedir (Yuan vd. 2016). Karagenan kırmızı deniz yosunlarından elde edilen, sülfatlanmış lineer hidrofilik yapıda, anhidrogalaktoz ve galaktoz birimlerinden oluşmuş bir polisakkarittir (Coviello vd. 2007; Jiao vd. 2011). Karagenan özellikle gıda endüstrisinde jelleştirici, kıvam arttırıcı ve emülgatör olarak kullanılmaktadır (Kirsch 2002). Bunun yanı sıra; κ -karagenan iyi jelleşme özelliği ve biyoyoumluluğu nedeniyle doku mühendisliğinde (Mihaila vd. 2013), ilaç taşıma sistemlerinde (Li vd. 2014) ve farmasötik alanlarda (immünomodülatör, antikanser ve antikoagülant çalışmalarda) (Campo vd. 2009; Wijesekara vd. 2011) uygun materyal olarak karşımıza çıkmaktadır. Derkach vd. (2015), gerçekleştirdikleri çalışmada jelatini artan konsantrasyonlarda κ -karagenan kullanarak modifiye etmişler ve κ -karagenan/jelatin hidrojelleri hazırlamışlardır. Elde ettikleri bu hidrojelleri jelleşme kinetiği, termal stabilite ve reolojik özellikler açısından değerlendirmişlerdir. Jelatin üzerindeki pozitif yüklü gruplar ile karagenandaki sülfat iyonlarının etkileşimi sonucu polielektrolit komplekslerin oluştuğunu bildirmişlerdir. Derkach vd. (2015), κ -karagenan konsantrasyonunun artmasıyla elde edilen hidrojellerin jelleşme hızının, viskoelastik parametre değerlerinin, mukavemetinin ve erime sıcaklığının büyük ölçüde arttığını rapor etmişlerdir. Varghese vd. (2014), jelatin ve karagenan kullanarak hazırladıkları hidrojellerden antioksidan ve anti-enflamatuar özellik gösteren bir flavonoid olan kuersetinin salımı üzerine bir çalışma yapmışlardır. Hidrojellerin gözenek boyut dağılımlarını termoporometri yöntemiyle incelemişlerdir. Bu çalışma sonucunda, sadece karagenan kullanarak hazırladıkları hidrojellerin, sadece jelatin kullanarak hazırladıkları hidrojellere göre daha gözenekli yapıda olduğunu belirtmişlerdir. Jelatin/karagenan hidrojellerinde artan karagenan konsantrasyonu ile kuersetin salımının arttığını rapor etmişlerdir. Mihaila vd. (2013), doku mühendisliği uygulamalarında kullanılmak üzere κ -karagenanı metakrilik anhidrit yardımıyla metakrilatladıktan sonra fotoçapraz bağlayıcı varlığında UV ışınla muamele etmişler ve sentezledikleri hidrojelleri potasyum klorür çözeltisinde bekleterek dual çapraz bağlı hidrojeller elde etmişlerdir. Yin vd. (2018), ilaç taşıma sistemi olarak kullanılmak üzere, aljinat ve agar/aljinat bazlı Ca^{2+} iyonları ile çapraz bağlanmış, pH'a duyarlı, yarı-IPN kompozit hidrojel mikroküreler sentezlemişlerdir. Sentezledikleri hidrojel mikrokürelerden, anti-enflamatuar bir ilaç olan indometazin salımını incelemişlerdir. Agarın yapıya katılmasıyla elde ettikleri hidrojellerin şişme ve ilaç salım davranışları ile mekaniksel kuvvetlerinin iyileştiğini belirtmişlerdir. Liu vd. (2004), hazırladıkları agar hidrojelden bir antikanser ilacı olan kamptotesin ilacının, farklı sıcaklıklardaki salımını kararlı durum floresans (SSF) tekniği ile incelemişlerdir. Santoro vd. (2011), agar-karbomer polikondenzasyon reaksiyonunu mikrodalga etkisiyle gerçekleştirerek elde ettikleri hidrojelden sodyum floresein salımını incelemişlerdir. Yaptıkları bu çalışmada, çapraz bağlayıcı olarak gliserol ve propilen glikol kullanmışlardır.

Hidrojeller, üstün özelliklere sahip olmalarından dolayı çeşitli alanlarda tercih edilen çok yönlü malzemelerden biridir. Son yıllarda, hidrojeller özellikle kontrollü salım sistemleri için umut verici biyomalzemeler arasına girmiştir (Prokop vd. 2002; Calo ve Khutoryanskiy 2015). Farhat vd. (2017), ilaç salım sistemi olarak kullanılmak üzere, reaktif ekstrüzyon prosesiyle nişasta, hemiselüloz ve lignin bazlı, sitrik asit ile çapraz bağlanmış hidrojel sentezlemişlerdir. Neufeld ve Bianco-Peled (2017), fiziksel çapraz bağlı pektin-

kitosan hidrojel sentezlemişlerdir. Sentezledikleri bu hidrojelden mesalamin, kurkumin ve progesteron ilaçlarının fizyolojik koşullarda uzun süreli salımını gerçekleştirmişlerdir. Singh vd. (2017), yara bakımında kullanılmak üzere, akasya gamı ve poliakrilik asit ile non-hemolitik, muko yapışkan ve antioksidan özelliklere sahip hidrojel hazırlamışlardır. Bu hidrojelden antibiyotik bir ilaç olan moksifloksasinin salımını incelemişlerdir. Paukkonen vd. (2017), kontrollü ilaç salım matriksi olarak sentezledikleri anyonik nanofibril selüloz bazlı hidrojelleri liyofilizatörde kurutarak yüksek gözenekliliğe sahip aerojel yapı elde etmişlerdir. Ardından bu aerojel yapıyı tekrar hidrojel formuna dönüştürmüşler ve bu geçişler sırasında reolojik özelliklerdeki değişimler ile ilaç salım davranışlarını incelemişlerdir. İncelemeleri sonucunda aerojel veya hidrojel formu arasında reolojik özellikler ve ilaç salım davranışları bakımından önemli bir değişiklik olmadığını, bu sistemlerin hem aerojel formunda hem de hidrojel formunda kullanılmasının mümkün olduğunu bildirmişlerdir.

İdeal bir yara örtüsü, yara çevresinde nemli bir ortam sağlamalı, yüksek sıvı absorplama kapasitesine sahip olmalı, gaz geçişine izin vermeli, yara için uygun sıcaklığı sağlamalı, yarayı bakteriyel enfeksiyondan korumalı, doku rejenerasyonunu hızlandırmalı, yaraya yapışmamalı ve değişim esnasında yaradan kolaylıkla ayrılabilmesi, bulunduğu yerin şeklini kolayca alabilecek elastikliğe sahip olmalı, biyoyumlu olmalı, toksik ve alerjik etki göstermemelidir. Bu özelliklerinin yanı sıra, yaranın daha hızlı iyileşebilmesi için kullanılan yara örtülerinin antibakteriyel özelliğe sahip olması gerekmektedir (Dhivya vd. 2015; Vowden ve Vowden 2017). Son yıllarda yapılan çalışmalara bakıldığında, özellikle kronik yaraların tedavisinde, lokal enfeksiyonu önlemek amacıyla gümüş, bakır, çinko, kobalt, titanyum dioksit, magnezyum oksit gibi metaller ve metal oksitleri ile gümüş sülfadiazin, metilen mavisi, kristal viyole, bal, polihekzametilen biguanid (PHMB) ve kadeksomer iyodür antimikrobiyal madde olarak kullanılmaktadır (Zilberman ve Elsner 2008; Jovanovic vd. 2011; Mogoşanu ve Grumezescu 2014). Literatüre bakıldığında, özellikle yara tedavisinde en yaygın kullanılan antibakteriyel maddelerin gümüş nanopartikülleri (Ag NP), çinko oksit (ZnO) ve titanyum dioksit (TiO₂) olduğu göze çarpmaktadır (Bui vd. 2017). ZnO, TiO₂ ve Ag NP'lerin, sadece antimikrobiyal aktiviteyi arttırmakla kalmayıp aynı zamanda yara iyileştirme sürecini hızlandırdığı ve yara örtülerinin mekanik özelliklerini iyileştirdiği Bui vd. (2017) tarafından bildirilmiştir. Ancak, bu maddelerin antibakteriyel etki mekanizması reaktif oksijen türlerinin üretimi üzerinden yürümekte ve bunun sonucunda oksidatif stres ve hücrel hasar meydana gelmektedir (Zhang vd. 2008; Luther vd. 2011). Yara örtülerine antibakteriyel özellik kazandırmak için bu tür metal oksitlerin ve metal nanopartiküllerin yerine antibakteriyel özelliğe sahip bir ilacın yüklenmesi ve kontrollü bir şekilde salımı alternatif bir yol olarak görülmektedir. Bu tez çalışmasında, antibakteriyel ilaç olarak geniş spektrumlu bir antibiyotik olan kloramfenikolün ve ağrı kesici bir ilaç olan lidokain hidroklorürün hidrojelardan salımı incelenmiştir.

3. MATERYAL ve METOT

3.1. Materyal

3.1.1. Deneysel çalışmalarda kullanılan kimyasallar

Tez çalışması kapsamında, yara örtüsü materyali olarak geliştirilen hidrojellerin sentezinde monomer olarak kullanılan agar ve κ -karagenan, çapraz bağlayıcı ajan olarak kullanılan tri(etilen glikol) divinil eter (TEGDE) ve polimerizasyon başlatıcı-hızlandırıcı çifti olarak kullanılan amonyum persülfat (APS) ve N,N,N',N'-tetrametilendiamin (TEMED) Sigma firmasından satın alınmıştır. Kil içeren hidrojellerin hazırlanmasında kullanılan montmorillonit kili (MMT) Süd-Chemie AG isimli Alman firmasından tedarik edilmiştir. Montmorillonit kilinin modifikasyonunda kullanılan L-fenilalanin amino asiti Sigma firmasından alınmıştır. Çalışmada ağrı kesici ilaç olarak kullanılan lidokain hidroklorür (LDC) ve antibakteriyel ilaç olarak kullanılan kloramfenikol (CLP) Sigma firmasından temin edilmiştir. HPLC cihazı kullanılarak gerçekleştirilen ilaç salım çalışmaları sırasında, mobil faz hazırlamak için kullanılan asetonitril ve amonyum asetat Sigma firmasından alınmıştır. İlaç salım ortamı olarak kullanılan fosfat tampon çözeltisinin (PBS, pH=7,4) hazırlanmasında kullanılan sodyum fosfat ve sodyum dihidrojen fosfat tuzları ile pH ayarlamada kullanılan hidroklorik asit Sigma firmasından temin edilmiştir. Numunelerin antibakteriyel testlerini gerçekleştirmek için kullanılan nutrient broth ve nutrient agar Merck firmasından satın alınmıştır.

3.1.2. Deneysel çalışmalarda kullanılan cihazlar ve sarf malzemeler

Reaksiyonları gerçekleştirmek için kullanılan çift cidarlı cam reaktör Çalışkan Cam Ltd. Şti. tarafından üretilmiştir. Reaktörün sıcaklığının sabit tutulması işlemi termostatlı su banyosu (PolyScience 9100) ile gerçekleştirilmiştir. Reaksiyon kabındaki çözeltinin karıştırılması Yellow Line marka manyetik karıştırıcı ile sağlanmıştır. Hazırlanan hidrojellerin kurutulmasında Nüve marka EV 018 model vakum etüvü kullanılmıştır. İlaç salım çalışmaları Nüve marka ST 402 model çalkalamalı ve sıcaklık kontrollü su banyosu ile gerçekleştirilmiştir. İlaç salım çalışmalarında SEM marka Cary 100 model UV-Visible spektrofotometresi ile Agilent marka 1100 serisi HPLC cihazı ve Hypersil ODS C₁₈ ters faz kolonu (5 μ m, 250 x 4,6 mm) kullanılmıştır. HPLC'de analiz edilecek örneklerin ve mobil fazın ön hazırlık aşamasında Isolab marka vorteks cihazı kullanılmıştır. Çözeltilerin pH ölçümleri Jenway marka 3040 model kombine cam elektrot ile gerçekleştirilmiştir. Tartımlar 0,0001 g hassasiyete sahip Mettler Toledo marka ML204 model hassas terazide gerçekleştirilmiştir. Öğütme işlemlerinde Retsch marka 5657 model öğütücü kullanılmıştır. Karakterizasyon testleri Fourier transform infrared (FTIR) spektrometresi (Bruker-Tensor 27), üniversal test cihazı (Instron, 5944), zeta potansiyeli ölçüm cihazı (Malvern Nano-ZS), yüksek çözünürlüklü taramalı elektron mikroskobu (SEM, FEI QUANTA 400F), X-ışını difraksiyon (XRD) cihazı (Rigaku, D/Max 2200), diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC, Mettler Toledo marka, 823e model) ve geçirimli elektron mikroskobu (TEM, Zeiss-Leo

marka 906E model) ile gerçekleştirilmiştir. Numunelerin SEM, TEM ve XRD analizleri için hazırlanmasında Gyrozen marka liyofilizatör kullanılmıştır. Antibakteriyel testlerde Labnet marka 311 DS model orbital çalkalayıcı inkübatör kullanılmıştır. Sitotoksisite çalışmalarında Leica marka inverted mikroskop ve ELISA plak okuyucusu (Multiskan™ GO Microplate spektrofotometre) kullanılmıştır.

3.2. Metot

3.2.1. Montmorillonit içermeyen agar/ κ -karagenan hidrojel sistemlerinin hazırlanması

Hidrojellerin sentezi, sıcaklık kontrollü 500 mL'lik cam bir reaktör içerisinde gerçekleştirilmiştir. Her bir sistem için reaktör içerisine belirli hacimde deiyonize su koyularak, çözelti sıcaklığı çalışılmak istenen sıcaklığa getirilmiştir. İlk olarak optimum başlatıcı ve çapraz bağlayıcı konsantrasyonunu belirleyebilmek amacıyla 70 °C'ye ayarlanmış reaktöre 1,5 g agar ve 1,5 g κ -karagenan ilave edilerek homojen bir karışım elde edilene dek manyetik karıştırıcı ile çözeltinin sürekli olarak karıştırılması sağlanmıştır. Bu karışıma sırasıyla, katalizör olarak 0,5 mL N,N,N',N'-tetrametilendiamin (TEMED), çözelti içerisindeki konsantrasyonları 5×10^{-4} - 8×10^{-3} M olacak şekilde değişen miktarlarda amonyum persülfat (APS) ve tri(etilen glikol) divinil eter (TEGDE) 5'er dakika aralıklarla ilave edilmiştir (toplam çözelti hacmi 100 mL). Reaksiyon süresi sonunda, çözelti petri kabına dökülerek oda sıcaklığına gelmesi için beklenmiştir. Ardından bir gece boyunca buzdolabında (4 °C'de) bekletilen örnekler, reaksiyona girmeyen agar, κ -karagenan ve diğer bileşenlerin uzaklaştırılması amacıyla deiyonize su bulunan kaba koyularak 4 °C'de 6 saat boyunca bekletilmiştir. Bu süre sonunda belirli boyutlarda silindirik biçimde kesilen hidrojel örnekleri 37 °C'deki vakum etüvünde sabit tartıma gelinceye kadar kurutulmuştur. 9 adet farklı deney seti kullanılarak hazırlanan hidrojeller için gerçekleştirilen şişme testleri sonucunda optimum başlatıcı ve çapraz bağlayıcı konsantrasyonları belirlenmiştir. Daha sonra, şişme davranışı üzerinde sıcaklığın etkisini belirleyebilmek amacıyla 60 °C, 70 °C ve 80 °C sıcaklıklarda hidrojel sentezi gerçekleştirilmiştir. Bunun için agar/ κ -karagenan oranı 1:1 olan çözeltiye 0,5 mL TEMED eklendikten sonra, bir önceki aşamada belirlenen optimum konsantrasyondaki APS ve TEGDE eklenmiştir. Son olarak, polisakkarit oranının hidrojellerin şişme özelliği üzerindeki etkisini saptamak amacıyla optimum reaksiyon sıcaklığında, agar/ κ -karagenan oranı 1:1; 1:4 ve 4:1 olacak şekilde polisakkarit ilavesi yapılmış ve 0,5 mL TEMED eklendikten sonra, daha önceki deneyler sonucunda belirlenen optimum konsantrasyondaki APS ve TEGDE ilave edilmiştir.

3.2.2. Montmorillonit kilinin modifiye edilmesi ve kil içeren agar/ κ -karagenan hidrojel sistemlerinin hazırlanması

Hazırlanan agar/ κ -karagenan hidrojel sistemlerinin mekanik, termal ve bariyer özelliklerini iyileştirmek amacıyla amino asit ile modifiye edilmiş montmorillonit kili kullanılarak agar/ κ -karagenan/montmorillonit nanokompozit materyalleri hazırlanmıştır.

Bunun için ilk olarak katyon değişim metodundan yararlanılarak montmorillonit kilinin fenilalanin amino asiti ile modifikasyonu gerçekleştirilmiştir. Montmorillonit kilinin tabakaları arasında yer alan katyonların, eklenen amino asit molekülleriyle yer değiştirip değiştirmedini anlamak için hazırlanan numunelerin XRD ölçümleri yapılmıştır. Ayrıca, montmorillonitin modifikasyonu öncesinde ve sonrasında zeta potansiyeli ölçümleri yapılarak kilin yüzeyindeki yük dağılımı değerlendirilmiştir.

Na⁺-montmorillonit kili, katyon-değişim metodu kullanılarak toksik olmayan ve biyoyumlu olan fenilalanin amino asiti ile modifiye edilmiştir. Öncelikle, kili şişirmek için 2 g montmorillonit 100 mL suya eklenerek, 80 °C'de 8 saat manyetik karıştırıcı yardımıyla karıştırılmıştır. Aynı bir kaptaki, montmorillonitin katyon değişim kapasite (CEC) değerinin (95 meq/100 g) 0,5; 1,0; 1,5 ve 2,0 katı olacak şekilde farklı konsantrasyonlarda fenilalanin amino asiti ve stokiyometrik miktarda derişik hidroklorik asit içeren çözelti 80 °C'de 30 dakika karıştırılmıştır. Bu iki karışım bir araya getirilerek 60 °C'de 12 saat süreyle karıştırılarak bekletilmiştir. Ardından süzülerek yıkanmış ve 60 °C'deki etüvde kurutulduktan sonra öğütülerek ince toz haline getirilmiştir.

Montmorillonit kilinin tabakaları arasında yer alan katyonların, amino asit molekülleriyle yer değiştirip değiştirmedini anlamak Rigaku marka D/Max 2200 model Cu ışın tüpüne sahip XRD cihazı ($\lambda = 1.54051 \text{ \AA}$, 40 kV, 30 mA) kullanılarak 2° ile 80° 2 teta açı aralığında 1,2°/dk tarama hızında XRD ölçümleri gerçekleştirilmiştir. XRD ölçümlerinin yanı sıra, zeta potansiyeli ölçümleri gerçekleştirilerek modifikasyon öncesi ve modifikasyon sonrası montmorillonit yüzeyindeki yük dağılımı hakkında bilgi edinilmiştir. Bunun için, belirli bir konsantrasyondaki kil-su süspansiyonu ve kilin CEC değerinin 0,5; 1,0; 1,5 ve 2,0 katı olacak şekilde fenilalanin amino asiti ile modifiye edilmiş montmorillonit kili örneklerinin %1'lik (w/v) sulu süspansiyonları hazırlanmıştır. Süspansiyonlar 25 °C'de 24 saat süreyle çalkalamalı su banyosunda karıştırıldıktan sonra büyük partiküllerin çökmesi için bir süre beklenmiş ve süspansiyondan bir miktar ölçüm küvetlerine koyularak, 25 °C'de zeta potansiyeli değerleri ölçülmüştür. Bu ölçümler sonucunda, kil yüzeyindeki yük yoğunluğunun nasıl bir değişim gösterdiği belirlenmiştir.

Kil içeren hidrojel sistemleri, modifiye edilmiş montmorillonit kilinden 3 farklı konsantrasyonda (toplam polisakkarit miktarının kütlece %1'i, %3'ü ve %5'i oranında) tartılarak suyun içerisine eklendikten sonra manyetik karıştırıcıyla 24 saat karıştırılmıştır. Suda dispersiyeye edilmiş olan 3 farklı montmorillonit konsantrasyonuna sahip her bir kil-su karışımı, üç ayrı reaktöre boşaltılmıştır. Sonra, Bölüm 3.2.1'de bahsedilen optimum reaksiyon koşullarına göre reaktörün içerisine önce belirli miktarlarda polisakkarit karışımı (0,6 g agar ve 2,4 g κ -karagenan) ve su ilavesi yapılmıştır. Optimum reaksiyon sıcaklığında (70 °C'de) bir süre karıştırıldıktan sonra, sırasıyla 0,5 mL TEMED, optimum konsantrasyonlarda amonyum persülfat ($5 \times 10^{-4} \text{ M}$) ve tri(etilen glikol) divinil eter ($5 \times 10^{-4} \text{ M}$) eklenerek çapraz bağlanma reaksiyonları gerçekleştirilmiştir. Üç saatlik reaksiyon süresi sonunda, çözelti petri kabına dökülmüş ve çözeltinin oda sıcaklığına gelmesi için beklenmiştir. Ardından bir gece boyunca buzdolabında (4 °C'de) bekletilen örnekler içerisinde deiyonize su bulunan kaba koyularak 4 °C'de 6 saat bekletilmiştir. Bu süre

sonunda belirli boyutlarda silindirik olarak kesilen hidrojel örnekleri 37 °C'deki vakum etivünde sabit tartıma gelinceye kadar kurutulmuştur.

3.2.3. Hidrojellerin şişme davranışlarının incelenmesi

Kuru haldeki hidrojel örneği 0,0001 g duyarlılıkla tartım yapabilen elektronik terazi yardımıyla tartılmış ve 25 °C'deki deiyonize su içerisine koyularak şişmeye bırakılmıştır. Hidrojelin suya bırakıldığı an 0. dakika olarak kaydedilmiştir. Belirli zaman aralıklarında sudan çıkarılan hidrojel örneğinin çevresindeki fazla su kağıt havlu yardımıyla hafifçe kurulanıp tartılmış ve tekrar deiyonize su ortamına koyulmuştur. Zamanla değişmeyen kütle değerleri elde edilinceye kadar yani şişme dengesine ulaşıncaya kadar bu işleme devam edilmiştir. Deneyler sonucu elde edilen tartım verilerine göre hidrojinin t süre sonundaki şişme yüzdesi (% şişme) aşağıda verilen Eşitlik (3.1) kullanılarak hesaplanmıştır. Elde edilen veriler yardımıyla her bir hidrojel sistemi için % şişme-zaman grafikleri oluşturulmuştur.

$$\% \text{ Şişme} = \frac{(w_t - w_0)}{w_0} \times 100 \quad (3.1)$$

w_t : t anındaki şişmiş hidrojinin kütlesi (g).

w_0 : Başlangıçtaki kuru hidrojinin kütlesi (g).

Hidrojellerin difüzyon türünün ve mekanizmasının anlaşılabilmesi için, şişme kinetikleri Fick yasasından yararlanılarak incelenmiştir. Suyun jele difüzyonu, aşağıdaki bağıntı ile ifade edilmektedir (Peppas ve Franson 1983):

$$F = \frac{Q_t}{Q_e} = k.t^n \quad (3.2)$$

F: Şişme kesri

Q_t : Herhangi bir t anında absorplanan su miktarı (g)

Q_e : Dengeye absorplanan su miktarı (g)

k: Fick sabiti

n: Difüzyon üsteli

Eşitlik (3.2) yardımıyla çizilen $\ln F - \ln t$ grafiklerinin eğiminden ve kayım noktasından sırasıyla n ve k değerleri hesaplanmıştır. Bu değerler yorumlanarak difüzyon mekanizmasının türü açıklanmıştır. Hazırlanan bütün hidrojellerin şişme testleri üç tekrarlı olacak şekilde gerçekleştirilmiştir.

3.2.4. Karakterizasyon testleri

3.2.4.1. Fourier transform infrared (FTIR) spektroskopisi analizi

FTIR analizi ile polisakkarit matriksi içerisindeki etkileşimler hakkında bilgi edinilmiştir. FTIR ölçümlerinde Bruker-Tensor 27 model FTIR spektrometresi kullanılmıştır. Örnekler saf KBr içinde disk halinde hazırlanmış ve örneklerin 400-4000 cm^{-1} dalga sayısı aralığında ve 2 cm^{-1} çözünürlükte spektrumları alınmıştır.

3.2.4.2. Hidrojellerin XRD analizi

Kil içermeyen hidrojel örneği ile kütlece %1, %3 ve %5 oranında kil içeren hidrojel örnekleri $-80 \text{ }^\circ\text{C}$ 'deki buzdolabında dondurulduktan sonra liyofilizatörde kurutulmuş ve öğütülerek ince toz haline getirilmiştir. Toz halindeki numunelerin XRD ölçümleri gerçekleştirilmiştir. XRD ölçümlerinde Rigaku marka D/Max 2200 model Cu ışın tüpüne sahip XRD cihazı ($\lambda = 1.54051 \text{ \AA}$, 40 kV, 30 mA) kullanılmıştır. XRD desenleri, 2° - 80° aralığında $1,2^\circ/\text{dk}$ 'lık tarama hızında çalışılarak kaydedilmiştir.

3.2.4.3. Taramalı elektron mikroskobu (SEM)/enerji dispersif spektroskopisi (EDS) analizleri

Hidrojel örneklerinin yüzey morfolojisi SEM ile incelenmiştir. SEM analizleri, Orta Doğu Teknik Üniversitesi (ODTÜ) Merkezi Laboratuvarı'nda bulunan QUANTA marka 400F Field Emission yüksek çözünürlüklü taramalı elektron mikroskobu (SEM) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Analiz için öncelikle hidrojel formunda materyaller hazırlanmıştır. Hazırlanan materyaller $-80 \text{ }^\circ\text{C}$ 'de dondurulduktan sonra liyofilizatörde kurularak ara kesitler alınmış ve yüzeyleri altın ile kaplandıktan sonra SEM görüntüleri elde edilmiştir. Ayrıca; hidrojellerin atomik kompozisyonunu yüzde olarak gösteren SEM/EDS spektrumları, enerji dispersif x-ışını analizörlü taramalı elektron mikroskobu (Quanta 400F Field Emission SEM) ile elde edilmiştir.

3.2.4.4. Geçirimli elektron mikroskobu (TEM) analizi

Montmorillonit kilinin polisakkarit matriksleri içerisinde dağılımı hakkında bilgi edinmek amacıyla %0, %1, %3 ve %5 kil içeren agar/ κ -karagenan hidrojel sistemleri hazırlanmıştır. Hazırlanan hidrojeller $-80 \text{ }^\circ\text{C}$ 'de dondurulduktan sonra liyofilizatörde kurutulmuş ve öğütücü yardımıyla ince toz haline getirilmiştir. Elde edilen toz halindeki hidrojel örnekleri etanol içerisinde dağıtılarak süspansiyon haline getirilmiştir. Hazırlanan bu karışımdan karbon kaplı bakır grid üzerine 3-5 μL kadar damlatılarak, Zeiss-Leo marka 906E model mikroskop yardımıyla TEM görüntüleri alınmıştır.

3.2.4.5. Diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC) analizi

%0, %1, %3 ve %5 kil içeren agar/ κ -karagenan hidrojelleri hazırlandıktan sonra -80 °C'de dondurulmuş, ardından liyofilizatörde kurutulmuş ve öğütülerek toz haline getirilmiştir. Hidrojel materyalleri ile saf montmorillonitin, saf agarın ve saf κ -karagenanın termal davranışları Mettler Toledo marka 823e model DSC cihazı kullanılarak 10 °C/dk ısıtma hızında, 20 °C ile 320 °C sıcaklık aralığında ve azot atmosferinde incelenmiştir.

3.2.4.6. Hidrojellerin transparanlık testleri

Hidrojellerin transparanlığını değerlendirmek amacıyla numunelerin opasite değerleri belirlenmiştir. Kil içermeyen ve %5 oranında kil içeren hidrojel çözeltileri, kalınlığı 1 cm olan UV küvetlerinin içine dökülerek jel haline gelmesi için yaklaşık 10 dakika beklenmiştir. Hidrojel numunelerinin SEM marka Cary 100 model UV-Visible spektrofotometre cihazı ile absorpsiyon spektrumları kaydedilmiştir. Ardından hidrojellerin 600 nm dalga boyundaki absorbans değerleri, kalınlık değerlerine (mm) oranlanarak hidrojellerin opasite değerleri hesaplanmıştır (Tunç ve Duman, 2010). Hidrojellerin transparanlık testleri iki tekrarlı olacak şekilde gerçekleştirilmiştir.

3.2.5. Hidrojellerin fizyolojik sıvılarda şişme testleri

Hidrojellerin farklı fizyolojik ortamlardaki şişme özelliklerini ve su tutma kapasitelerini belirlemek amacıyla, 37 °C'de kurutularak sabit tartıma getirilmiş hidrojel örneklerinin çeşitli fizyolojik sıvılardaki şişme davranışları incelenmiştir. Fizyolojik çözelti olarak sentetik yara sıvısı (0,68 g NaCl+0,22 g KCl+2,5 g NaHCO₃+0,35 g NaH₂PO₄)/100 mL çözelti), sentetik idrar (0,1 g MgSO₄+0,06 g CaCl₂+2 g üre+0,8 g NaCl)/100 mL çözelti), fizyolojik tuzlu su (0,9 g NaCl/100 mL çözelti) ve D-glukoz çözeltisi (5 g glukoz/100 mL çözelti) hazırlanmıştır. %0, %1, %3 ve %5 oranında kil içeren agar/ κ -karagenan hidrojel örnekleri çözeltilere bırakıldıktan sonra, belirli zaman aralıklarında 25 °C'deki çözelti ortamından çıkarılarak örneklerin çevresindeki ıslaklık hafifçe kurulanmış, tartılmış ve tekrar çözelti ortamına koyulmuştur. Şişme dengesine ulaşıncaya kadar bu işleme devam edilmiştir. Böylece 1. kullanımdaki şişme miktarı belirlenmiştir. Daha sonra, şişirilmiş olan hidrojel örneği 37 °C'de tekrar kurutularak aynı koşullarda tekrar şişme işlemi gerçekleştirilmiştir. Bu işleme, aynı örneğin 5. kullanım sonundaki şişme miktarı belirleninceye kadar devam edilmiştir. Deneyler sonucu elde edilen tartım verilerine göre hidrojinin t süre sonundaki şişme yüzdesi (% şişme) hesaplanarak, % şişme-zaman grafikleri çizilmiştir. Hidrojellerin fizyolojik sıvılardaki şişme testleri üç tekrarlı olacak şekilde yürütülmüştür.

3.2.6. Hidrojellere ağrı kesici ve/veya antibakteriyel ilaç yükleme ve salım alışmaları

Montmorillonit kili içermeyen ve modifiye edilmiş montmorillonit kilinden 3 farklı konsantrasyonda (toplam polisakkarit miktarının kütlece %1'i, %3' ve %5'i oranında) içeren hidrojel sistemleri daha önce belirlenen optimum koşullara göre hazırlanmıştır.  saatlik reaksiyon süresinin bitmesine 15 dakika kala ağrı kesici ilaç olan lidokain hidroklorürden (LDC, %0,200 w/v) ve/veya antibakteriyel ilaç olan kloramfenikolden (CLP, %0,025 w/v) ilave edilerek karıştırma işlemine devam edilmiştir. Daha sonra, zltiler, her bir bölmesinin çapı 35 mm olan ve altı kuyucuk içeren plaklara dökülmüş ve zltilerin oda sıcaklığına gelmeleri için beklenmiştir. Ardından, bir gece boyunca buzdolabında (4 C'de) bekletilen örnekler plaklardan çıkartılmış ve deiyonize su ile yıkanmıştır. Hidrojel rnekleri 37 C'deki etüvde sabit tartıma gelinceye kadar kurutulmuştur.

İlaç salımlarını incelemek için kütlesi bilinen kuru hidrojel örnekleri pH'ı 7,4 olan fosfat tampon zltelerinde (10 mL), 37 C sabit sıcaklıktaki ve 100 rpm çalkalama hızındaki çalkalamalı su banyosunda bekletilmiştir. Bu zltilerden belirli zaman aralıklarında 1'er mL zlti alınarak, salım ortamıyla ilaç yüklü hidrojel rneği arasındaki konsantrasyon farkının sabit tutulması amacıyla her defasında yerine aynı miktarda taze zlti koyulmuştur. Her bir salım testi sonunda, kullanılan hidrojinin tamamı fosfat tamponu zltisi içerisinde dağıtılarak hidrojel içerisindeki toplam ilaç konsantrasyonu belirlenmiştir. Tüm ilaç salım çalışmalarında taze hazırlanmış hidrojjeller kullanılmış ve hidrojjellerden ilaç salımları  tekrarlı olacak şekilde gerçekleştirilmiştir.

3.2.6.1. Lidokain hidroklorür (LDC) salımı

Lidokain hidroklorür yüklü hidrojjellerden ilaç salımı HPLC cihazında analiz edilmiştir. Salınan ilaç miktarını belirleyebilmek için, öncelikle pH'ı 7,4 olan fosfat tampon zltisi (PBS) içerisinde 25-500 ppm konsantrasyon aralığında LDC zltileri hazırlanarak kalibrasyon grafiği oluşturulmuştur. Belirli süreler sonunda hidrojjellerden salınan LDC konsantrasyonları, 1,2 mL/dk akış hızında, 20 L enjeksiyon hacminde, 28 C kolon sıcaklığında ve 262 nm dalga boyunda Hypersil ODS C₁₈ ters faz kolon (5 m, 250 x 4,6 mm) kullanılarak, Agilent marka 1100 serisi HPLC cihazı ile belirlenmiştir. Mobil faz olarak asetonitril:amonyum asetat (70:30, pH=4,85) karışımı kullanılmıştır. Mobil faz cihazda kullanılmadan önce 15 dakika vortekslenerek mobil faz zltisinde kabarcık giderimi gerçekleştirilmiştir. Numuneler mobil faz ile 1:1 (v/v) oranında karıştırılmış ve 0,22 m'lik filtre ile szldkten sonra HPLC cihazında analiz edilmiştir.

3.2.6.2. Kloramfenikol (CLP) salımı

Kloramfenikol yüklü hidrojjellerden salınan ilaç konsantrasyonları UV-Visible spektrofotometre cihazı ile analiz edilmiştir. Kloramfenikol kalibrasyonu için 1-40 ppm konsantrasyon aralığında (PBS içerisinde, pH=7,4) CLP zltileri hazırlanmış ve bu

çözeltilerin 200-500 nm dalga boyu aralığında absorpsiyon spektrumları alınmıştır. Kloramfenikolün maksimum absorplamaya sahip olduğu 277 nm dalga boyundaki absorbans değerlerine karşı konsantrasyon grafiği çizilerek kalibrasyon grafiği oluşturulmuştur. Eşitlik (3.3)'te verilen Lambert-Beer eşitliği yardımıyla molar absorptivite (ϵ) değeri hesaplanmıştır (Skoog vd. 1998).

$$A=I.\epsilon.C \quad (3.3)$$

Buradaki A çözeltilerin absorbansını, I çözeltiden geçen ışık yolunu ve C çözelti konsantrasyonunu ifade etmektedir. Ölçümlerde 1 cm'lik ışık yoluna sahip kuartz küvetler kullanılmıştır.

3.2.6.3. Hidrojellere her iki ilacın bir arada yüklenmesi ve salım çalışmaları

Montmorillonit kili içermeyen ve toplam polisakkarit miktarının kütlece %5'i oranında modifiye edilmiş montmorillonit içeren hidrojel sistemleri daha önce belirlenen optimum proses koşullarına göre hazırlanmıştır. Üç saatlik reaksiyon süresinin bitmesine 15 dakika kala ortama LDC (%0,200 w/v) ve CLP (%0,025 w/v) ilave edilerek karıştırma işlemine devam edilmiştir. Çözeltiler altı kuyucuklu plaklara dökülerek oda sıcaklığına gelmeleri için beklenmiştir. Ardından, bir gece boyunca buzdolabında (4 °C'de) bekletilen numuneler deiyonize su ile yıkanarak 37 °C'deki etüvde sabit tartıma gelinceye kadar kurutulmuşlardır. LDC ve CLP yüklü hidrojellerden salınan ilaç miktarları, her iki ilacın da maksimum absorplama yaptığı dalga boyunun (lidokain hidroklorür için 262 nm ve kloramfenikol için 277 nm) birbirine çok yakın olması nedeniyle UV-Visible spektrofotometresi kullanılmaksızın HPLC cihazında tayin edilmiştir. Hidrojellerden salınan LDC konsantrasyon değerleri Bölüm 3.2.6.1'de anlatıldığı gibi 1,2 mL/dk akış hızında, 20 µL enjeksiyon hacminde ve 262 nm dalga boyunda belirlenirken, CLP konsantrasyon değerleri 0,8 mL/dk akış hızında, 10 µL enjeksiyon hacminde ve 277 nm dalga boyunda belirlenmiştir.

3.2.7. Buzdolabında saklama süresinin hidrojelde yüklü ilaç konsantrasyonu üzerine etkisi

Montmorillonit içermeyen ve %5 montmorillonit içeren agar/ κ -karagenan hidrojellerine, lidokain hidroklorür ve kloramfenikol ilaçları bir arada olacak şekilde yüklenmiştir. Hazırlanan hidrojel formundaki materyaller, ışık ve nem geçirmeyen kapalı bir kap içerisinde 4 °C'deki buzdolabına yerleştirilmiştir. 0, 3 ve 6 aylık süreler sonunda bu materyallerin içerisindeki ilaç miktarlarındaki değişim belirlenmiştir. Bu saklama süreleri sonunda hidrojel formundaki örnekler, pH'ı 7,4 olan fosfat tamponu çözeltileri içerisinde, 37 °C'de tamamen çözülerek, örneklerin içerisindeki toplam ilaç konsantrasyonları HPLC cihazı ile analiz edilerek belirlenmiştir.

3.2.8. İlaç içeren ve içermeyen hidrojellerin mekanik dayanıklılık testleri

Mekaniksel dayanıklılık testleri için on iki kuyucuklu plaklara dökülen hidrojel çözeltileri, bir gece boyunca buzdolabında (4 °C'de) bekletilmiştir. Ertesi gün plaklardan çıkartılan 22 mm çapındaki ve 16 mm yüksekliğindeki silindirik formdaki hidrojel örneklerinin mekanik dayanıklılıkları oda sıcaklığında, 1 mm/dk'lık hızda ve 500 N'luk yük hücresi varlığında test edilmiştir. Hidrojellerin basma (sıkıştırma) testleri sonucunda elde edilen verilerden yararlanılarak gerilim-gerinim grafikleri çizilmiştir. Çalışmada Instron marka 5944 model universal test cihazı kullanılmıştır. Hidrojellerin basma testleri üç tekrarlı olacak şekilde yapılmıştır.

3.2.9. Hidrojellerin antibakteriyel testleri

Hidrojel numunelerinin antibakteriyel aktivite testleri Gram-negatif bir bakteri olan *Escherichia coli* (*E. coli*, ATCC 11775) ve Gram-pozitif bir bakteri olan *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*, ATCC 25923) üzerinde gerçekleştirilmiştir. Antibakteriyel testler yapılmadan önce her iki bakterinin (*E. coli* ve *S. aureus*), nutrient broth ortamında bakteriyel popülasyon artış eğrileri oluşturulmuştur. Tek koloni ekiminden alınan bir koloni, öze ile 5 mL'lik besiyere ekilmiş ve 24 saat 37 °C'de inkübasyona bırakılmıştır. Bu kültürden, 100 µL alınarak 50 mL'lik sıvı besiyeri ortamı içeren 250 mL'lik erlene aktarılmıştır. Erlen 37 °C'de orbital çalkalayıcı inkübatöre yerleştirilerek 200 rpm dönme hızında inkübe edilmiş ve erlenlerdeki sıvıların optik yoğunlukları ölçülerek bakteriyel popülasyon artış eğrileri oluşturulmuştur. Bu eğriler yardımıyla bakterilerin popülasyon artışının optimum olduğu süre *E. coli* için 5 saat 30 dakika, *S. aureus* için 6 saat olarak belirlenmiştir. Sıvı besiyeri ortamı içinde bu noktaya kadar inkübe edilen bakteri inokulumları 10^{-5} 'e seyreltilerek, 100 µL alınmış ve katı besiyeri yüzeyine homojen dağılacak şekilde yayılmıştır. UV ışık altında sterilize edilmiş hidrojel örnekleri her bir petride üç adet olacak şekilde, belirli uzaklıklarda yerleştirilmiştir. Petriler 37 °C'deki inkübatöre yerleştirilmiş ve 20 saat sonra inhibisyon zonlarının çapları ölçülmüştür. Çalışmada geniş etki spektrumuna sahip antibakteriyel bir ilaç olan kloramfenikol ile çalışılmıştır. İlaç ve MMT içermeyen hidrojel numuneleri kontrol grubu olarak kullanılmıştır. Deneyler üç paralel örnek üzerinden yürütülmüştür.

3.2.10. Hidrojellerin XTT sitotoksosite analizi

Deneyler sırasında kullanılan kimyasalların hücrelerin çoğalması ve hücre canlılığına olan etkisini belirlemek için, XTT sitotoksosite testi Akdeniz Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde yapılmıştır. Açık sarı renkteki XTT (2,3-bis-(2-metoksi-4-nitro-5-sülfonil)-2H-tetrazolyum-5-karboksanilid tuzu), metabolik aktivitesi bozulmamış canlı hücreler tarafından parçalandığında turuncu renge sahip formazana dönüşür. Oluşan rengin yoğunluğu metabolik olarak aktif hücrelerin sayısı ile orantılıdır.

Çalışmanın bu aşamasında her iki ilacın yüklü olduğu kil içermeyen ve %5 oranında kil içeren agar/ κ -karagenan hidrojellerinin, osteoblastik kök hücre benzeri MG-63 hücreleri üzerine olan sitotoksik etkisi araştırılmıştır. Hidrojel içermeyen, sadece besiyeri ortamının eklendiği hücreler kontrol grubu olarak kullanılmıştır. Sitotoksisite deneyleri 2 gün sürmüştür. Deneyin ilk günü hücreler 96 kuyucuklu plaklara her kuyucukta 15.000 hücre olacak şekilde ekilmiştir. Bunun için hücreler tripsin ile flasklardan kaldırılmış, hücre kültür ortamı eklenerek tripsin inhibe edilmiş, ardından hücreler toplanarak 125 x g hızında, 5 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj işlemi sonrasında süpernatant kısım uzaklaştırılmış ve hücreler üzerine 1 mL PBS (pH 7,4) ilave edilerek tekrar süspansiyon edilmiştir. Seyreltilen hücre süspansiyonundan 10 μ L'lik kısım bir ependorf tüpüne alınarak üzerine 10 μ L tripan mavisinden eklenmiştir. Elde edilen 20 μ L'lik karışımdan 10 μ L alınarak hücreler hücre sayım cihazında sayılmıştır (hücre sayısı/mL). Daha sonra PBS içeren hücre karışımı tekrar santrifüj edilmiştir. Süpernatant atılmış, kalan kısım 100 μ L'de kuyu başına 15.000 hücre olacak şekilde hücre kültür ortamı ile seyreltilmiştir. Hücrelerin yüzeye yapışması için bir gece beklenmiş, daha sonra besiyeri taze besiyeri ile değiştirilmiştir. Kontrol grubu hariç tüm gruplara kuru hidrojel örnekleri eklenmiş ve 24 saat süreyle inkübatörde bekletilmiştir. İnkübasyon XTT protokolüne göre sonlandırılmıştır.

Çalışılan her kuyucuğa 100 μ L taze hücre kültürü ortamı ve 50 μ L XTT karışımından (XTT 1=5000 μ L + XTT 2=100 μ L) eklenmiştir. 3 saat 37 °C'de, %5 CO₂ ve %95 nemlendirilmiş hava içeren karbondioksit inkübatöründe inkübe edilmiştir. XTT eklendikten sonra 3 saat içinde, dalga boyu olarak 450-500 nm ve referans dalga boyu olarak da 630-690 nm'de, ELISA plak okuyucusunda plağın okuması yapılmıştır. Değerler kontrol grubuna oranlanarak yüzde canlılık olarak ifade edilmiştir. Absorbans değerlerine göre hesaplanan sitotoksisite değerleri hidrojel uygulanmayan kontrol grubuna oranlanarak yüzde canlılık olarak verilmiştir. Çalışma, dördü tekrar grupları halinde yapılmıştır.

3.2.11. Hidrojellerin hücre morfolojisine etkisi

Bu çalışma, hidrojellerin hücre morfolojisine etkisini inceleyebilmek amacıyla gerçekleştirilmiştir. Her iki ilacın yüklü olduğu, kil içermeyen ve % 5 oranında kil içeren agar/ κ -karagenan hidrojelleri ile çalışılmıştır. Deneyin birinci günü hücreler 24 kuyucuklu plaklara her bir kuyucukta 150.000 hücre olacak şekilde ekilmiştir. Hücrelerin yüzeye yapışması için bir gece beklenmiştir. Daha sonra besiyeri ortamı yeni ortamla değiştirilmiştir. Kontrol grubu hariç tüm gruplara kuru hidrojel örnekleri yerleştirilerek 24 saat süreyle inkübatörde bekletilmiştir. İnkübasyon sonrasında hücrelerin morfolojik incelemesi ışık mikroskopunda yapılmıştır. Görüntüler 4X büyütmeyle alınmıştır. Çalışmada, dördü tekrar grupları kullanılmıştır.

4. BULGULAR ve TARTIŞMA

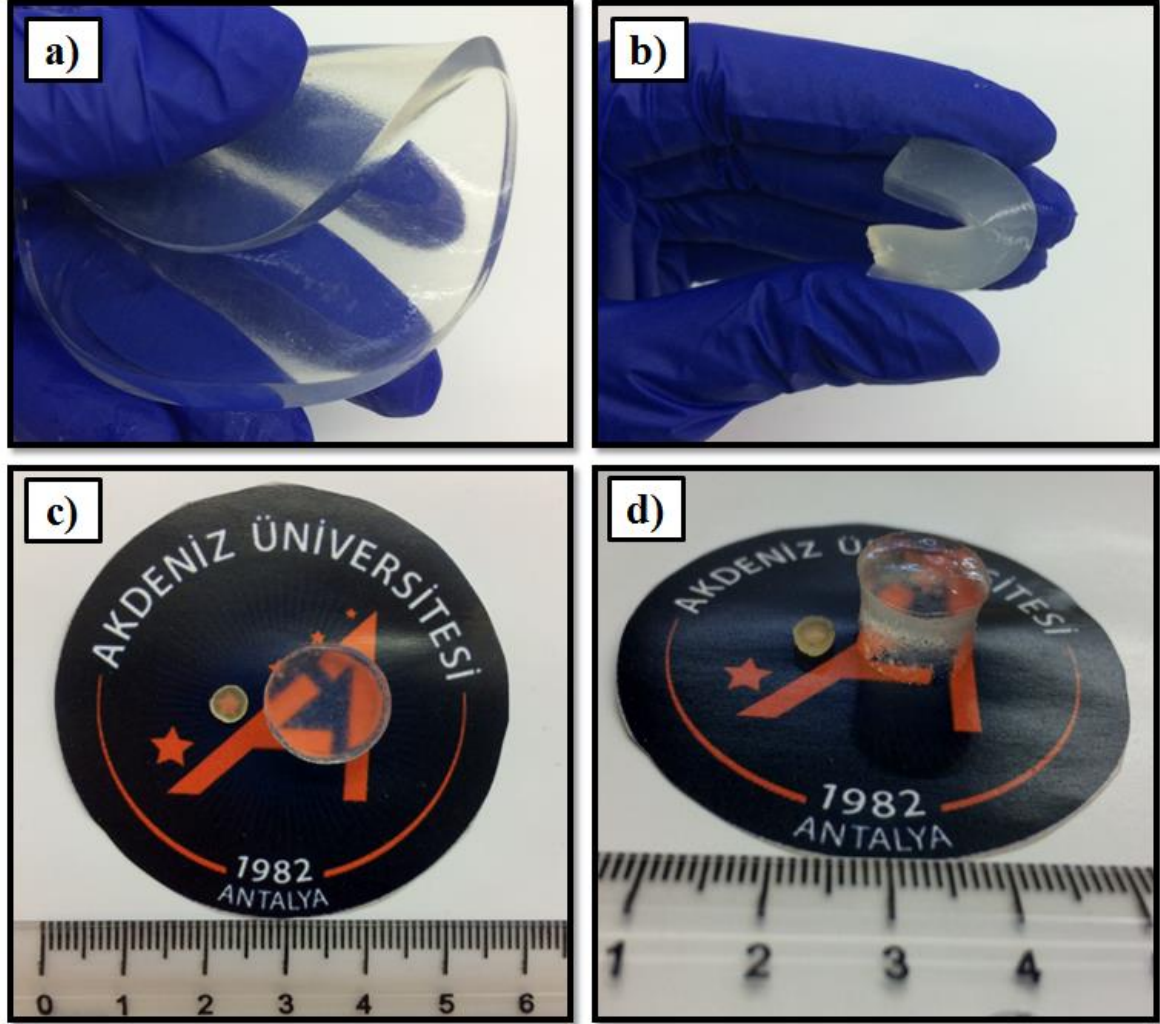
4.1. Montmorillonit İçermeyen Agar/ κ -Karagenan Hidrojel Sistemlerinin Hazırlanması ve Şişme Davranışlarının İncelenmesi

Montmorillonit içermeyen agar/ κ -karagenan hidrojel materyallerinin hazırlanması esnasında, agar ve κ -karagenan polisakkaritlerinin birbirlerine çapraz bağlanmasını gerçekleştirmek için serbest radikal başlatıcısı olarak amonyum persülfat (APS), hızlandırıcı olarak N,N,N',N'-tetrametilendiamin (TEMED) ve çapraz bağlayıcı olarak tri(etilen glikol) divinil eter (TEGDE) kullanılmıştır. Deneylede polisakkarit oranı, çapraz bağlayıcı ve başlatıcı konsantrasyonu ile ortam sıcaklığı değiştirilerek, farklı şişme özelliği gösteren hidrojel sistemleri hazırlanmıştır. Bu hidrojeller arasından en yüksek şişme derecesine sahip olan hidrojel sistemi için reaksiyon koşulları belirlenmiş ve sonraki tüm deneylede bu reaksiyon koşulları kullanılmıştır. Gerçekleştirilen 13 adet farklı deney setinde kullanılan reaksiyon koşulları Çizelge 4.1'de verilmektedir.

Çizelge 4.1. Agar/ κ -karagenan bazlı hidrojellerin sentez koşulları (toplam çözelti hacmi 100 mL'dir).

Deney No	Polisakkarit oranı ($m_{\text{agar}}:m_{\kappa\text{-karagenan}}$)	TEMED (mL)	APS (M)	TEGDE (M)	Sıcaklık ($^{\circ}\text{C}$)	Reaksiyon Süresi (dk)
1	1 : 1 (1,5 g : 1,5 g)	0,5	5×10^{-4}	5×10^{-4}	70	180
2	1 : 1 (1,5 g : 1,5 g)	0,5	5×10^{-4}	2×10^{-3}	70	180
3	1 : 1 (1,5 g : 1,5 g)	0,5	5×10^{-4}	8×10^{-3}	70	180
4	1 : 1 (1,5 g : 1,5 g)	0,5	2×10^{-3}	5×10^{-4}	70	180
5	1 : 1 (1,5 g : 1,5 g)	0,5	2×10^{-3}	2×10^{-3}	70	180
6	1 : 1 (1,5 g : 1,5 g)	0,5	2×10^{-3}	8×10^{-3}	70	180
7	1 : 1 (1,5 g : 1,5 g)	0,5	8×10^{-3}	5×10^{-4}	70	180
8	1 : 1 (1,5 g : 1,5 g)	0,5	8×10^{-3}	2×10^{-3}	70	180
9	1 : 1 (1,5 g : 1,5 g)	0,5	8×10^{-3}	8×10^{-3}	70	180
10	1 : 1 (1,5 g : 1,5 g)	0,5	Optimum APS miktarı	Optimum TEGDE miktarı	60	180
11	1 : 1 (1,5 g : 1,5 g)	0,5	Optimum APS miktarı	Optimum TEGDE miktarı	80	180
12	1 : 4 (0,6 g : 2,4 g)	0,5	Optimum APS miktarı	Optimum TEGDE miktarı	Optimum sıcaklık	180
13	4 : 1 (2,4 g : 0,6 g)	0,5	Optimum APS miktarı	Optimum TEGDE miktarı	Optimum sıcaklık	180

Gerçekleştirilen 13 adet deney seti içerisinde en yüksek şişme derecesine sahip hidrojel sistemine (Deney No: 12'ye) ait görüntüler Şekil 4.1'de yer almaktadır (Reaksiyon koşulları: $[APS]=5 \times 10^{-4} M$, $[TEGDE]=5 \times 10^{-4} M$, $m_{\text{agar}}:m_{\kappa\text{-karagenan}}=1:4$ ve $T=70^\circ C$).



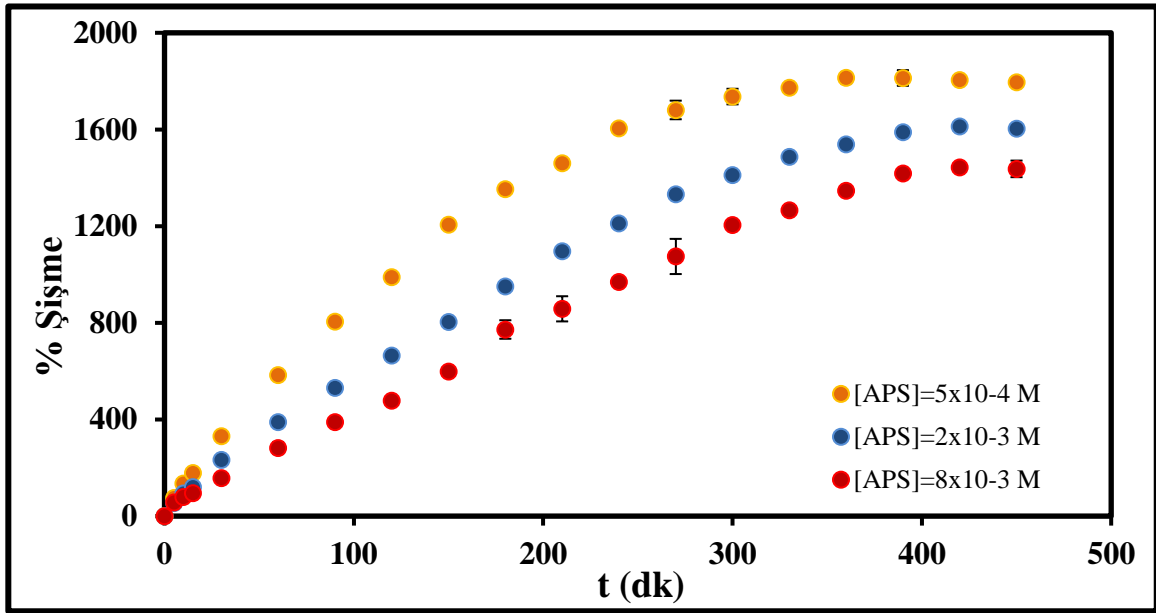
Şekil 4.1. Agar/κ-karagenan hidrojeline ait görüntüler; a) ve b) hidrojinin esnekliğini gösteren fotoğraflar; c) ve d) kuru hidrojel ve kütlece %2485 şişme derecesine kadar şişirilmiş hidrojeller.

4.1.1. Agar/κ-karagenan hidrojellerin şişme davranışları üzerine hidrojellerin hazırlanması esnasında kullanılan başlatıcı konsantrasyonunun etkisi

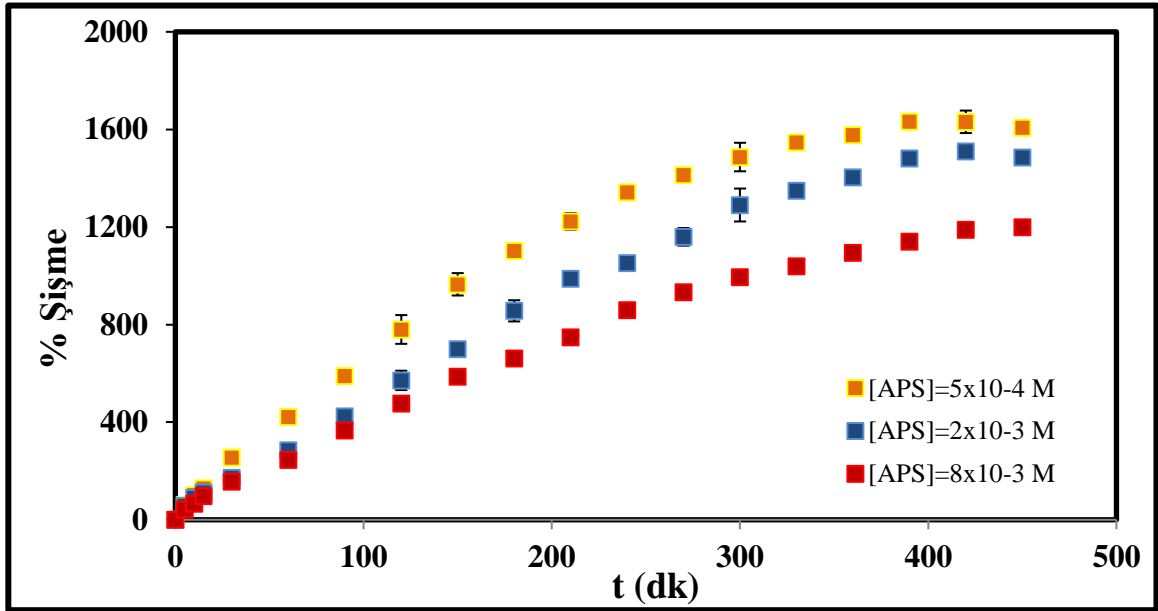
Hidrojellerin hazırlanması esnasında kullanılan farklı başlatıcı konsantrasyonunun hidrojellerin şişme miktarı üzerine etkisini belirlemek için sabit TEGDE konsantrasyonuna, sabit polisakkarit oranına ve sabit sıcaklığa sahip, üç farklı başlatıcı konsantrasyonunda

deney setleri (Deney No: 1, 4 ve 7; 2, 5 ve 8 ve 3, 6 ve 9) hazırlanmıştır. 1, 4 ve 7 nolu deney koşullarında (TEGDE= 5×10^{-4} M, polisakkarit oranı= 1:1 ve $T= 70$ °C), 2, 5 ve 8 nolu deney koşullarında (TEGDE= 2×10^{-3} M, polisakkarit oranı= 1:1 ve $T= 70$ °C) ve 3, 6 ve 9 nolu deney koşullarında (TEGDE= 8×10^{-3} M, polisakkarit oranı= 1:1 ve $T= 70$ °C) çapraz bağlayıcı konsantrasyonu, polisakkarit oranı ve sıcaklık değerleri sabit tutulmuş ve her bir üçlü deney setinde başlatıcı konsantrasyonu 5×10^{-4} M ile 8×10^{-3} M aralığında değiştirilmiştir.

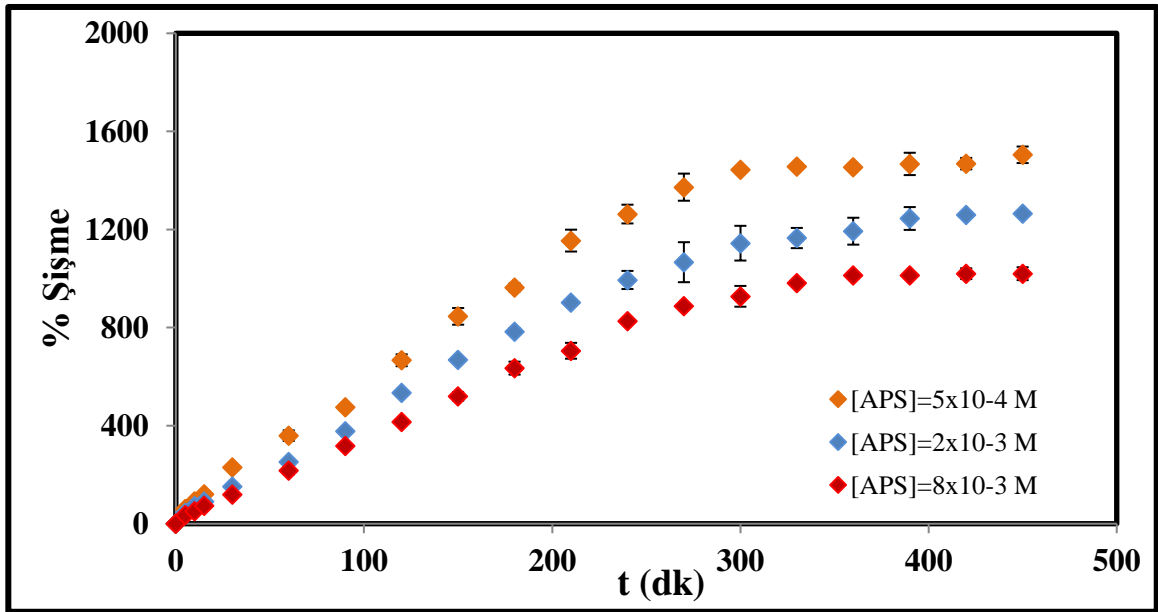
Farklı başlatıcı konsantrasyonu (5×10^{-4} M, 2×10^{-3} M ve 8×10^{-3} M) kullanılmasıyla 5×10^{-4} M'lık sabit çapraz bağlayıcı konsantrasyonu, 1:1'lik sabit polisakkarit oranı ve 70 °C'lik sabit sıcaklık değeri kullanılarak hazırlanan hidrojellerin % şişme miktarının zamanla değişimi Şekil 4.2'de; 2×10^{-3} M'lık sabit çapraz bağlayıcı konsantrasyonu, 1:1'lik sabit polisakkarit oranı ve 70 °C'lik sabit sıcaklık değeri kullanılarak hazırlanan hidrojellerin % şişme miktarının zamanla değişimi Şekil 4.3'te ve 8×10^{-3} M'lık sabit çapraz bağlayıcı konsantrasyonu, 1:1'lik sabit polisakkarit oranı ve 70 °C'lik sabit sıcaklık değeri kullanılarak hazırlanan hidrojellerin % şişme miktarının zamanla değişimi Şekil 4.4'te gösterilmektedir.



Şekil 4.2. Farklı başlatıcı konsantrasyonları kullanılarak hazırlanan hidrojellerin % şişme değerlerinin zamanla değişimi (Reaksiyon koşulları: [TEGDE]= 5×10^{-4} M, $m_{\text{agar}}:m_{\text{karagenan}}= 1:1$ ve $T= 70$ °C).



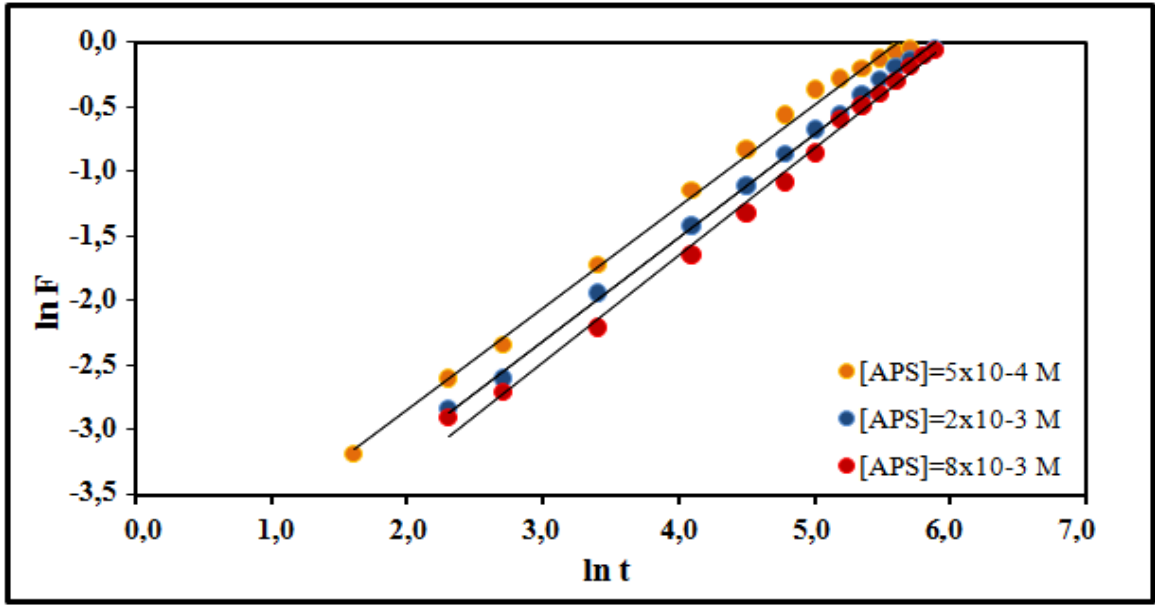
Şekil 4.3. Farklı başlatıcı konsantrasyonları kullanılarak hazırlanan hidrojellerin % şişme değerlerinin zamanla değişimi (Reaksiyon koşulları: [TEGDE]= 2×10^{-3} M, $m_{\text{agar}}:m_{\text{karagenan}}= 1:1$ ve $T= 70$ °C).



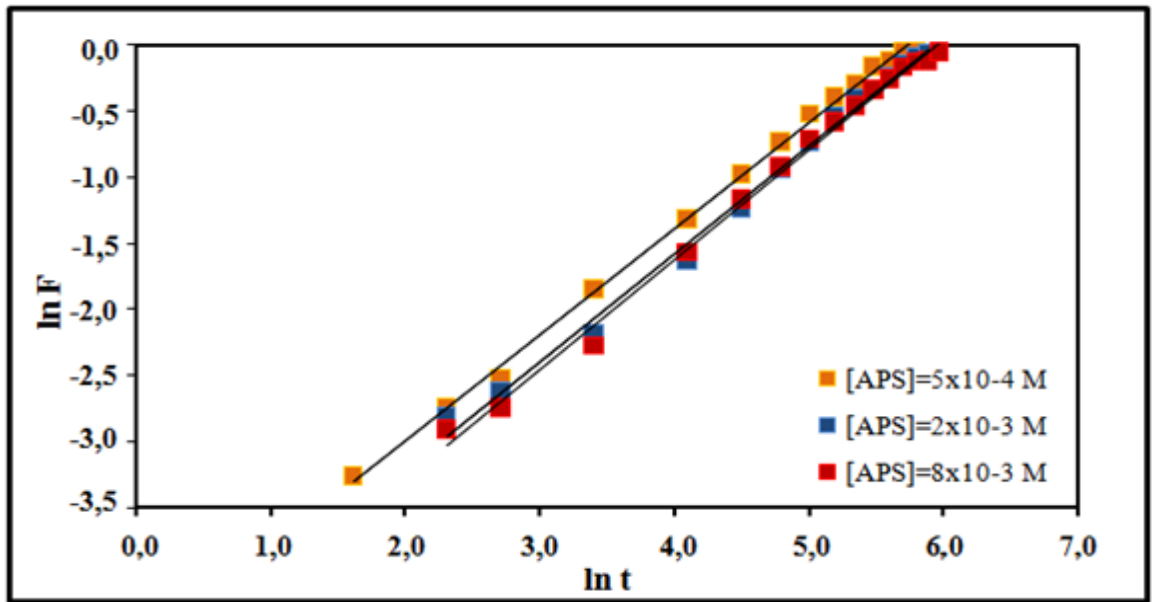
Şekil 4.4. Farklı başlatıcı konsantrasyonları kullanılarak hazırlanan hidrojellerin % şişme değerlerinin zamanla değişimi (Reaksiyon koşulları: [TEGDE]= 8×10^{-3} M, $m_{\text{agar}}:m_{\text{karagenan}}= 1:1$ ve $T= 70$ °C).

Şekil 4.2'den görüldüğü üzere, 5×10^{-4} M'lık sabit TEGDE konsantrasyonunda, 1:1'lik sabit polisakkarit oranında ve 70 °C'lik sabit sıcaklıkta hidrojel hazırlanması esnasında APS konsantrasyonunun 5×10^{-4} M'dan 8×10^{-3} M'a arttırılmasıyla hazırlanan hidrojellerin denge şişme değeri %1800'den %1433'e düşmektedir. Benzer şekilde, 2×10^{-3} M'lık sabit TEGDE konsantrasyonunda, 1:1'lik sabit polisakkarit oranında ve 70 °C'lik sabit sıcaklıkta hidrojel hazırlanması esnasında APS konsantrasyonunun 5×10^{-4} M'dan 8×10^{-3} M'a arttırılmasıyla hazırlanan hidrojellerin denge şişme değerinin %1612'den %1194'e düştüğü görülmektedir (Şekil 4.3). Aynı eğilim son deney setinde de elde edilmiştir. Şekil 4.4'ten görüldüğü üzere, 8×10^{-3} M'lık sabit TEGDE konsantrasyonunda, 1:1'lik sabit polisakkarit oranında ve 70 °C'lik sabit sıcaklıkta hidrojel hazırlanması esnasında APS konsantrasyonunun 5×10^{-4} M'dan 8×10^{-3} M'a arttırılmasıyla hazırlanan hidrojellerin denge şişme değeri %1466'dan %1012'ye düşmektedir.

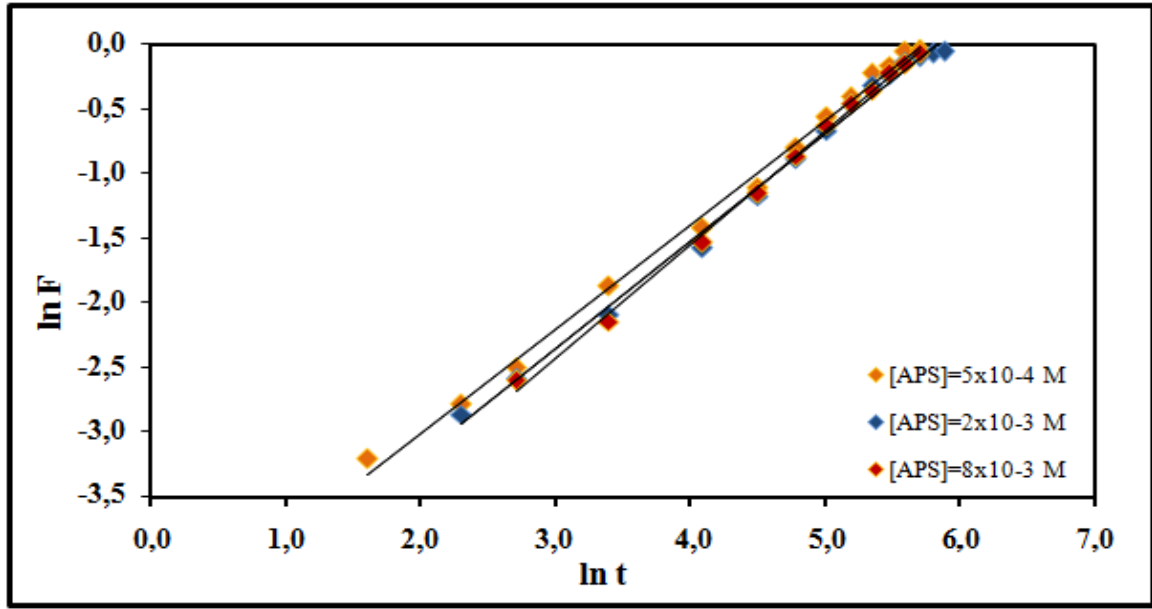
Hidrojellerin difüzyon türü ve şişme kinetiği, Bölüm 3.2.2'de verilen Eşitlik (3.2) yardımıyla incelenmiştir. Difüzyon türünü belirleyebilmek için n (difüzyon üsteli) parametresinin bilinmesi gerekmektedir. Difüzyon üsteli n , şişmenin tam olarak dengeye ulaşmadığı bölgede $\ln F$ 'ye karşı $\ln t$ grafiğinin eğiminden elde edilmektedir. Hidrojelin ağ yapısı hakkında bilgi veren k (difüzyon sabiti) parametresi ise $\ln F$ 'ye karşı $\ln t$ grafiğinin kayımından hesaplanarak bulunabilmektedir (Nizam El-Din vd. 2010). Farklı başlatıcı konsantrasyonları kullanılarak hazırlanan hidrojellere ait $\ln F$ - $\ln t$ grafikleri, 5×10^{-4} M'lık sabit çapraz bağlayıcı konsantrasyonu, 1:1'lik sabit polisakkarit oranı ve 70 °C'lik sabit sıcaklık değeri kullanılarak hazırlanan hidrojeller için Şekil 4.5'te, 2×10^{-3} M'lık sabit çapraz bağlayıcı konsantrasyonu, 1:1'lik sabit polisakkarit oranı ve 70 °C'lik sabit sıcaklık değeri kullanılarak hazırlanan hidrojeller için Şekil 4.6'da ve 8×10^{-3} M'lık sabit çapraz bağlayıcı konsantrasyonu, 1:1'lik sabit polisakkarit oranı ve 70 °C'lik sabit sıcaklık değeri kullanılarak hazırlanan hidrojeller için Şekil 4.7'de gösterilmektedir.



Şekil 4.5. Farklı başlatıcı konsantrasyonları kullanılarak hazırlanan hidrojenlerin suda şişme kinetiğine ait $\ln F$ - $\ln t$ grafikleri (Reaksiyon koşulları: $[TEGDE] = 5 \times 10^{-4} \text{ M}$, $m_{\text{agar}}:m_{\text{karagenan}} = 1:1$ ve $T = 70 \text{ }^\circ\text{C}$).



Şekil 4.6. Farklı başlatıcı konsantrasyonları kullanılarak hazırlanan hidrojenlerin suda şişme kinetiğine ait $\ln F$ - $\ln t$ grafikleri (Reaksiyon koşulları: $[TEGDE] = 2 \times 10^{-3} \text{ M}$, $m_{\text{agar}}:m_{\text{karagenan}} = 1:1$ ve $T = 70 \text{ }^\circ\text{C}$).



Şekil 4.7. Farklı başlatıcı konsantrasyonları kullanılarak hazırlanan hidrojellerin suda şişme kinetiğine ait $\ln F$ - $\ln t$ grafikleri (Reaksiyon koşulları: $[TEGDE]= 8 \times 10^{-3} \text{ M}$, $m_{\text{agar}}:m_{\kappa\text{-karagenan}}= 1:1$ ve $T= 70 \text{ }^\circ\text{C}$).

Şekil 4.5, 4.6 ve 4.7'de yer alan deneysel verilerin doğrusal regresyon analiziyle işlenmesi sonucu elde edilen farklı hidrojel sistemlerine ait Fick yasası suda şişme kinetiği parametreleri ve korelasyon katsayıları sırasıyla Çizelge 4.2, 4.3 ve 4.4'te verilmiştir.

Çizelge 4.2: Farklı başlatıcı konsantrasyonları kullanılarak hazırlanan hidrojellerin suda şişme kinetiğine ait Fick yasası kinetik parametreleri ile korelasyon katsayısı değerleri (r) (Reaksiyon koşulları: $[TEGDE]= 5 \times 10^{-4} \text{ M}$, $m_{\text{agar}}:m_{\kappa\text{-karagenan}}= 1:1$ ve $T= 70 \text{ }^\circ\text{C}$).

Deney No	APS Konsantrasyonu (M)	n	k	r
1	5×10^{-4}	0,788	0,01207	0,996
4	2×10^{-3}	0,799	0,00911	0,998
7	8×10^{-3}	0,826	0,00712	0,994

Çizelge 4.3: Farklı başlatıcı konsantrasyonları kullanılarak hazırlanan hidrojellerin suda şişme kinetiğine ait Fick yasası kinetik parametreleri ile korelasyon katsayısı değerleri (r) (Reaksiyon koşulları: [TEGDE]= 2×10^{-3} M, $m_{\text{agar}}:m_{\text{κ-karagenan}} = 1:1$ ve $T = 70$ °C).

Deney No	APS Konsantrasyonu (M)	n	k	r
2	5×10^{-4}	0,800	0,01013	0,998
5	2×10^{-3}	0,815	0,00794	0,993
8	8×10^{-3}	0,832	0,00710	0,995

Çizelge 4.4. Farklı başlatıcı konsantrasyonları kullanılarak hazırlanan hidrojellerin suda şişme kinetiğine ait Fick yasası kinetik parametreleri ile korelasyon katsayısı değerleri (r) (Reaksiyon koşulları: [TEGDE]= 8×10^{-3} M, $m_{\text{agar}}:m_{\text{κ-karagenan}} = 1:1$ ve $T = 70$ °C).

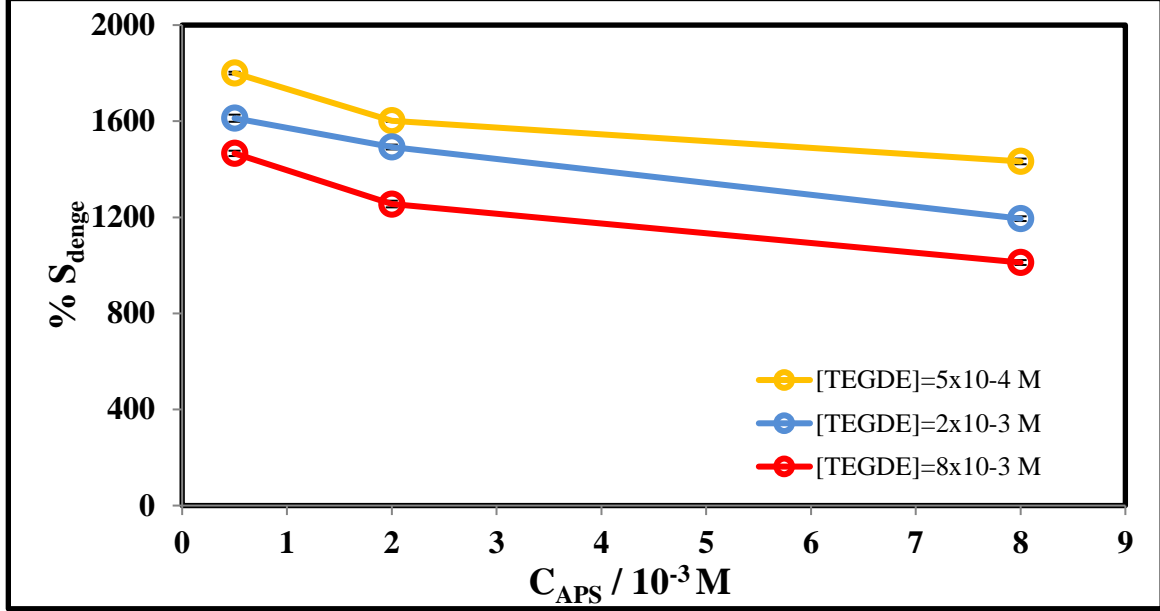
Deney No	APS Konsantrasyonu (M)	n	k	r
3	5×10^{-4}	0,806	0,00988	0,996
6	2×10^{-3}	0,831	0,00784	0,994
9	8×10^{-3}	0,878	0,00636	0,997

Relaksasyon (gevşeme veya durulma) hızının difüzyon hızından büyük olduğu difüzyon türü Fick tipi difüzyon ($n < 0,5$) olarak adlandırılır. Fick tipi difüzyonda şişme davranışı difüzyon ile kontrol edilir ve şişme dengesine kısa sürede ulaşılır. Non-Fickian yani Fick tipi olmayan difüzyon türünde ($0,5 < n < 1,0$) ise suyun jele difüzyonu polimer yapının relaksasyonundan daha hızlıdır. Bu durumda, hidrojelin şişme hızı polimer zincirlerinin relaksasyon hızı tarafından kontrol edilir (Nizam El-Din vd. 2010).

Çizelge 4.2 incelendiğinde, difüzyon üsteli (n) değerlerinin 0,5 ile 1 aralığında olduğu yani Fick tipi olmayan (non-Fickian) difüzyonun gerçekleştiği görülmektedir. Bu sonuç, suyun jele difüzyon hızının, polimer yapının gevşeme hızından daha büyük olduğunu belirtmektedir. Ayrıca polimerik yapıdaki artan başlatıcı konsantrasyonuyla difüzyon sabiti (k) 'nin azaldığı yani difüzyonun daha yavaş gerçekleştiği gözlenmiştir.

Çizelge 4.3'ten ve 4.4'ten görüldüğü üzere, farklı başlatıcı konsantrasyonu kullanılarak 2×10^{-3} M'lık sabit TEGDE konsantrasyonunda, 1:1'lik sabit polisakkarit oranında ve 70 °C'lik sabit sıcaklıkta hazırlanan hidrojel sistemlerinde ve 8×10^{-3} M'lık sabit TEGDE konsantrasyonunda, 1:1'lik sabit polisakkarit oranında ve 70 °C'lik sabit sıcaklıkta hazırlanan hidrojel sistemlerinde hidrojellerin suda şişme kinetiğine ait difüzyon üsteli (n) değerleri 0,5 ile 1 aralığındadır. Bu durum, hazırlanan hidrojel sistemlerinde Fick tipi olmayan difüzyonun meydana geldiğini belirtmektedir.

Farklı çapraz bağlayıcı konsantrasyonu ile hazırlanan hidrojellerin % denge şişme değerlerinin hidrojel hazırlama esnasındaki başlatıcı konsantrasyonu ile nasıl bir değişim gösterdiği karşılaştırmalı olarak Şekil 4.8'de verilmiştir.



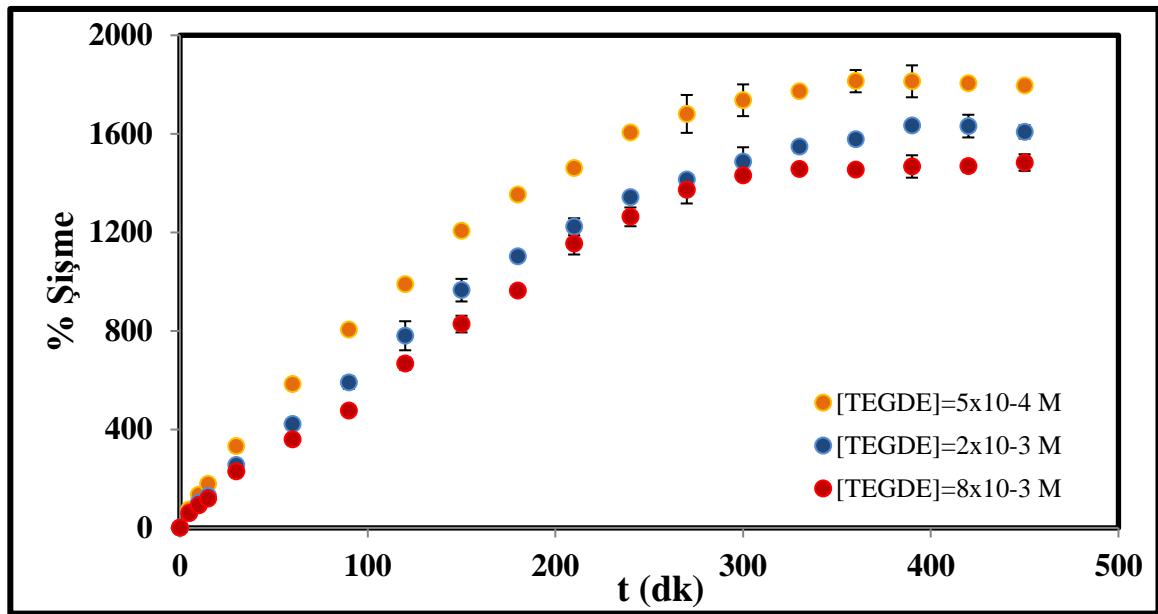
Şekil 4.8. Farklı çapraz bağlayıcı konsantrasyonu kullanılarak hazırlanan hidrojellerin % denge şişme değerlerinin hidrojel hazırlama esnasında kullanılan başlatıcı konsantrasyonu ile değişimlerinin karşılaştırılması (Reaksiyon koşulları: $m_{agar}:m_{\kappa\text{-karagenan}}=1:1$ ve $T=70\text{ }^{\circ}C$).

Şekil 4.8'deki grafikten görüldüğü üzere, her bir çapraz bağlayıcı (TEGDE) konsantrasyonunda hidrojel matrisi içerisindeki başlatıcı konsantrasyonunun artırılmasıyla birlikte hazırlanan hidrojellerin sudaki denge şişme miktarında bir azalma gerçekleşmektedir. Bu durum, hidrojel matrisi içerisinde APS konsantrasyonunun artması sonucu ortamda fazla miktarda radikal oluşumunun meydana gelmesi ve oluşan bu radikallerin bimoleküler çarpışmalar gerçekleştirerek çapraz bağlanma derecesini artırması ve zincir sonlanmasına yol açması şeklinde açıklanabilmektedir (Zhang vd. 2015).

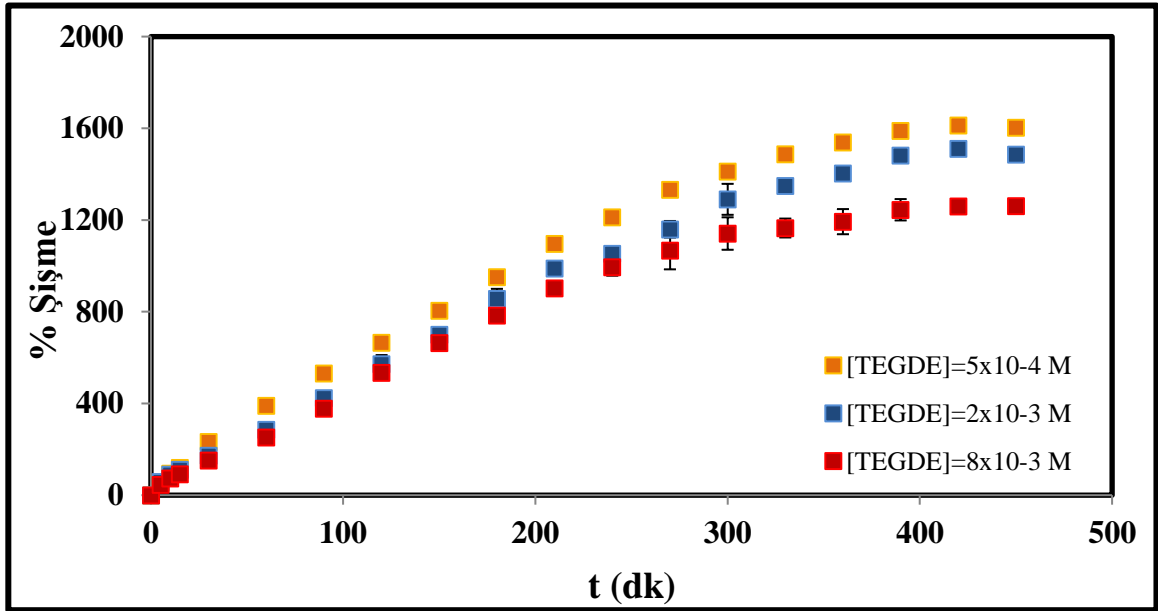
Şekil 4.8'de yer alan deneysel sonuçlardan; agar/ κ -karagenan bazlı hidrojel sistemlerin sentezinde kullanılması gereken APS konsantrasyonunun, çalışılan başlatıcı konsantrasyonu değerleri içerisinde en uygun (optimum) $5 \times 10^{-4} M$ olması gerektiğine karar verilmiştir.

4.1.2. Agar/ κ -karagenan hidrojenlerin şişme davranışlarına hidrojenlerin hazırlanması esnasında kullanılan çapraz bağlayıcı konsantrasyonunun etkisi

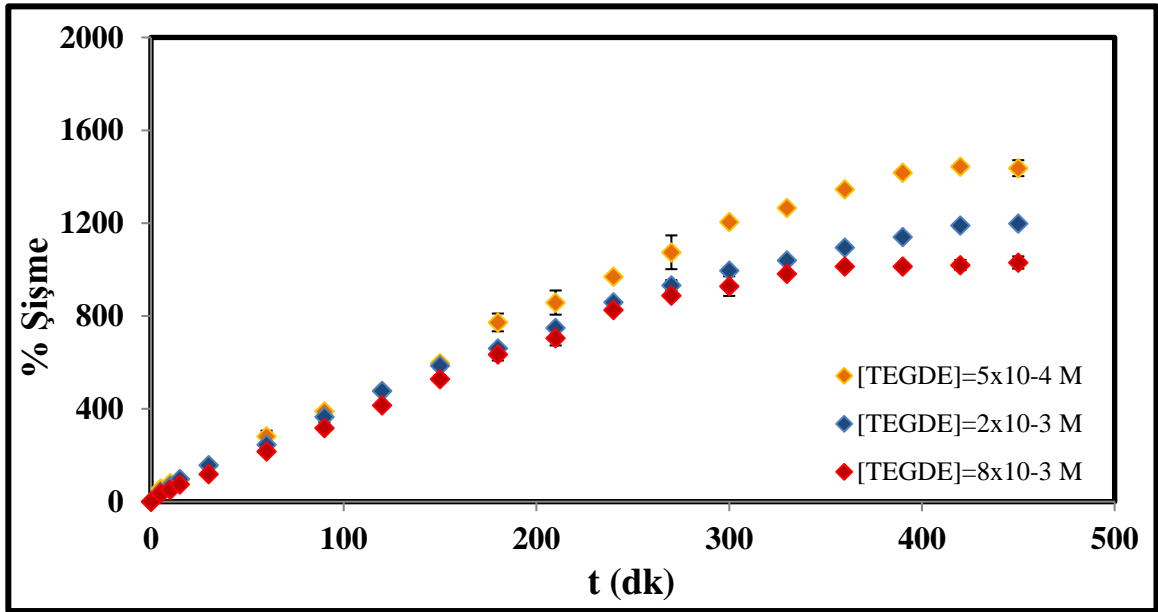
Hidrojenlerin hazırlanması esnasında kullanılan çapraz bağlayıcı konsantrasyonunun hidrojenlerin şişmesi üzerindeki etkisini inceleyebilmek için çözeltideki başlatıcı konsantrasyonu ($5 \times 10^{-4} \text{ M}$, $2 \times 10^{-3} \text{ M}$ veya $8 \times 10^{-3} \text{ M}$ olarak), polisakkarit oranı (1:1 olarak) ve çözelti sıcaklığı ($70 \text{ }^\circ\text{C}$ olarak) sabit tutularak ortamdaki çapraz bağlayıcı (TEGDE) konsantrasyon değerleri $5 \times 10^{-4} \text{ M}$ ile $8 \times 10^{-3} \text{ M}$ aralığında değiştirilmiştir. Hidrojenlerin % şişme değerlerinin zamanla değişimi $5 \times 10^{-4} \text{ M}$ 'lık sabit APS konsantrasyonunda, 1:1'lik sabit polisakkarit oranında ve $70 \text{ }^\circ\text{C}$ 'de gerçekleştirilen deneylerle elde edilen hidrojel sistemleri (Deney No: 1, 2 ve 3) için Şekil 4.9'da, $2 \times 10^{-3} \text{ M}$ 'lık sabit APS konsantrasyonunda, 1:1'lik sabit polisakkarit oranında ve $70 \text{ }^\circ\text{C}$ 'de gerçekleştirilen deneylerle elde edilen hidrojel sistemleri (Deney No: 4, 5 ve 6) için Şekil 4.10'da ve $8 \times 10^{-3} \text{ M}$ 'lık sabit APS konsantrasyonunda, 1:1'lik sabit polisakkarit oranında ve $70 \text{ }^\circ\text{C}$ 'de gerçekleştirilen deneylerle elde edilen hidrojel sistemleri (Deney No: 7, 8 ve 9) için Şekil 4.11'de gösterilmiştir.



Şekil 4.9. Farklı çapraz bağlayıcı konsantrasyonları kullanılarak hazırlanan hidrojenlerin % şişme değerlerinin zamanla değişimi (Reaksiyon koşulları: $[\text{APS}] = 5 \times 10^{-4} \text{ M}$, $m_{\text{agar}}:m_{\kappa\text{-karagenan}} = 1:1$ ve $T = 70 \text{ }^\circ\text{C}$).



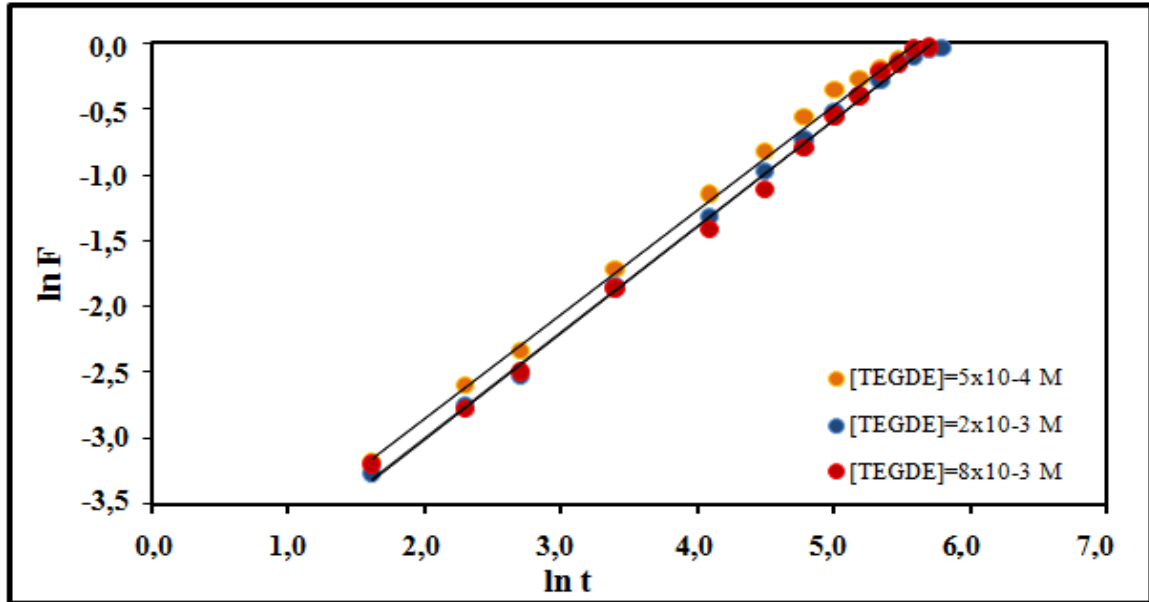
Şekil 4.10. Farklı çapraz bağlayıcı konsantrasyonları kullanılarak hazırlanan hidrojellerin % şişme değerlerinin zamanla değişimi (Reaksiyon koşulları: [APS]= 2×10^{-3} M, $m_{\text{agar}}:m_{\text{karagenan}}= 1:1$ ve $T= 70$ °C).



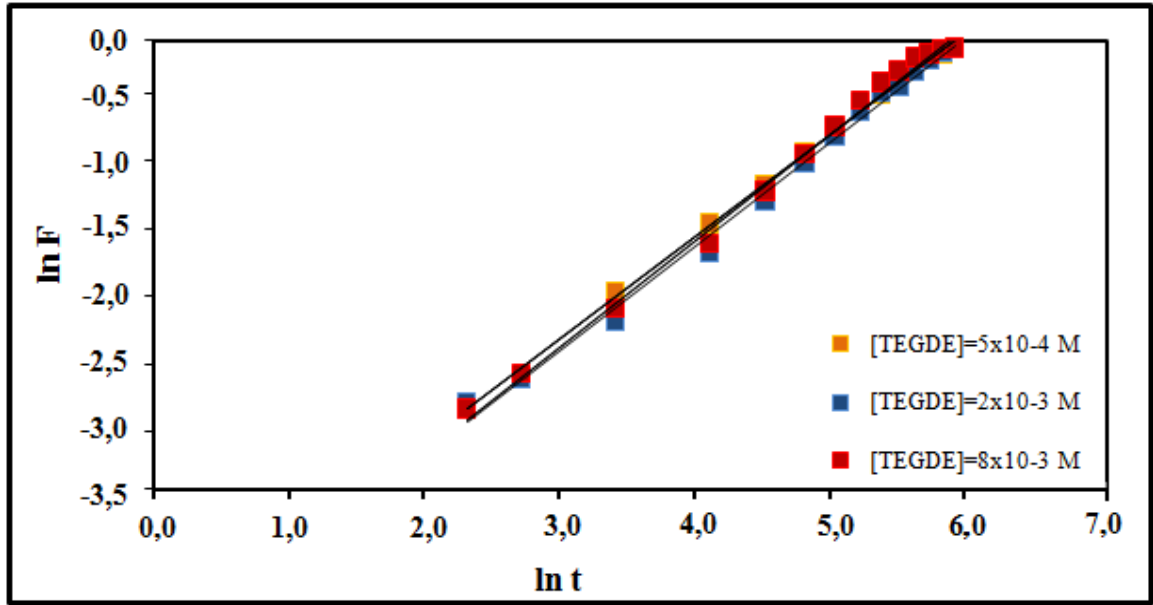
Şekil 4.11. Farklı çapraz bağlayıcı konsantrasyonları kullanılarak hazırlanan hidrojellerin % şişme değerlerinin zamanla değişimi (Reaksiyon koşulları: [APS]= 8×10^{-3} M, $m_{\text{agar}}:m_{\text{karagenan}}= 1:1$ ve $T= 70$ °C).

Şekil 4.9 incelendiğinde; 1, 2 ve 3 deney nolu hidrojel hazırlama koşullarında hazırlanan hidrojel sistemlerinde TEGDE konsantrasyonunun 5×10^{-4} M'dan 8×10^{-3} M'a artırılmasıyla hidrojin denge şişme değerinin %1800'den %1466'ya düştüğü görülmektedir. 4, 5 ve 6 nolu deney prosedürleri kullanılarak hazırlanan hidrojelerde, hidrojel matriksi içerisindeki TEGDE konsantrasyonunun 5×10^{-4} M'dan 8×10^{-3} M'a artırılmasıyla hidrojin denge şişme değeri %1602'den %1255'e azalmaktadır (Şekil 4.10). Şekil 4.13'ten görüldüğü üzere, 7, 8 ve 9 deney nolu koşullarda hazırlanan hidrojel sistemlerinde matriks içerisindeki TEGDE konsantrasyonunun 5×10^{-4} M'dan 8×10^{-3} M'a artırılmasıyla hidrojin denge şişme değeri %1433'ten %1012'ye düşmektedir. Sonuç olarak; sabit başlatıcı konsantrasyonunda, 1:1'lik sabit polisakkarit oranında ve 70 °C'lik sabit sıcaklıkta hazırlanan her bir hidrojel sisteminde matriks içerisindeki çapraz bağlayıcı konsantrasyonunun artırılması hidrojellerin suda denge şişme değerinde bir azalmaya neden olmaktadır.

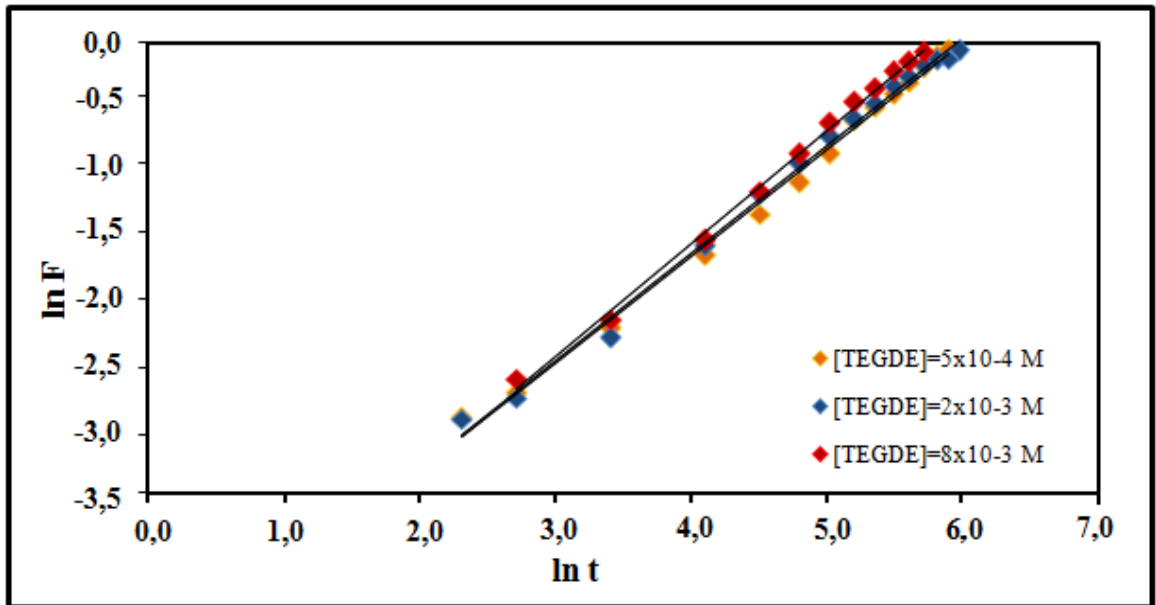
1, 2 ve 3 nolu deney koşullarına göre hazırlanan hidrojelere ait $\ln F$ 'ye karşı $\ln t$ grafikleri Şekil 4.12'de; 4, 5 ve 6 nolu deney koşullarına göre hazırlanan hidrojelere ait $\ln F$ 'ye karşı $\ln t$ grafikleri Şekil 4.13'te ve 7, 8 ve 9 nolu deney koşullarına göre hazırlanan hidrojelere ait $\ln F$ 'ye karşı $\ln t$ grafikleri Şekil 4.14'te yer almaktadır.



Şekil 4.12. Farklı çapraz bağlayıcı konsantrasyonları kullanılarak hazırlanan hidrojellerin suda şişme kinetiğine ait $\ln F$ - $\ln t$ grafikleri (Reaksiyon koşulları: [APS]= 5×10^{-4} M, $m_{\text{agar}}:m_{\text{K-karagenan}}= 1:1$ ve $T= 70$ °C).



Şekil 4.13. Farklı çapraz bağlayıcı konsantrasyonları kullanılarak hazırlanan hidrojellerin suda şişme kinetiğine ait $\ln F$ - $\ln t$ grafikleri (Reaksiyon koşulları: $[APS]= 2 \times 10^{-3}$ M, $m_{\text{agar}}:m_{\text{κ-karagenan}}= 1:1$ ve $T= 70$ °C).



Şekil 4.14. Farklı çapraz bağlayıcı konsantrasyonları kullanılarak hazırlanan hidrojellerin suda şişme kinetiğine ait $\ln F$ - $\ln t$ grafikleri (Reaksiyon koşulları: $[APS]= 8 \times 10^{-3}$ M, $m_{\text{agar}}:m_{\text{κ-karagenan}}= 1:1$ ve $T= 70$ °C).

Şekil 4.12, 4.13 ve 4.14'te yer alan deneysel verilerin doğrusal regresyon analiziyle işlenmesi sonucu elde edilen farklı hidrojel sistemlerine ait Fick yasası suda şişme kinetiği parametreleri korelasyon katsayılarıyla birlikte sırasıyla Çizelge 4.5, 4.6 ve 4.7'de listelenmiştir.

Çizelge 4.5. Farklı çapraz bağlayıcı konsantrasyonları kullanılarak hazırlanan hidrojellerin suda şişme kinetiğine ait Fick yasası kinetik parametreleri ile korelasyon katsayısı değerleri (r) (Reaksiyon koşulları: $[APS]= 5 \times 10^{-4} M$, $m_{\text{agar}}:m_{\text{κ-karagenan}}= 1:1$ ve $T= 70 \text{ }^\circ\text{C}$).

Deney No	TEGDE Konsantrasyonu (M)	n	k	r
1	5×10^{-4}	0,788	0,01207	0,996
2	2×10^{-3}	0,800	0,01013	0,998
3	8×10^{-3}	0,806	0,00988	0,996

Çizelge 4.6. Farklı çapraz bağlayıcı konsantrasyonları kullanılarak hazırlanan hidrojellerin suda şişme kinetiğine ait Fick yasası kinetik parametreleri ile korelasyon katsayısı değerleri (r) (Reaksiyon koşulları: $[APS]= 2 \times 10^{-3} M$, $m_{\text{agar}}:m_{\text{κ-karagenan}}= 1:1$ ve $T= 70 \text{ }^\circ\text{C}$).

Deney No	TEGDE Konsantrasyonu (M)	n	k	r
4	5×10^{-4}	0,799	0,00911	0,998
5	2×10^{-3}	0,815	0,00794	0,993
6	8×10^{-3}	0,831	0,00784	0,994

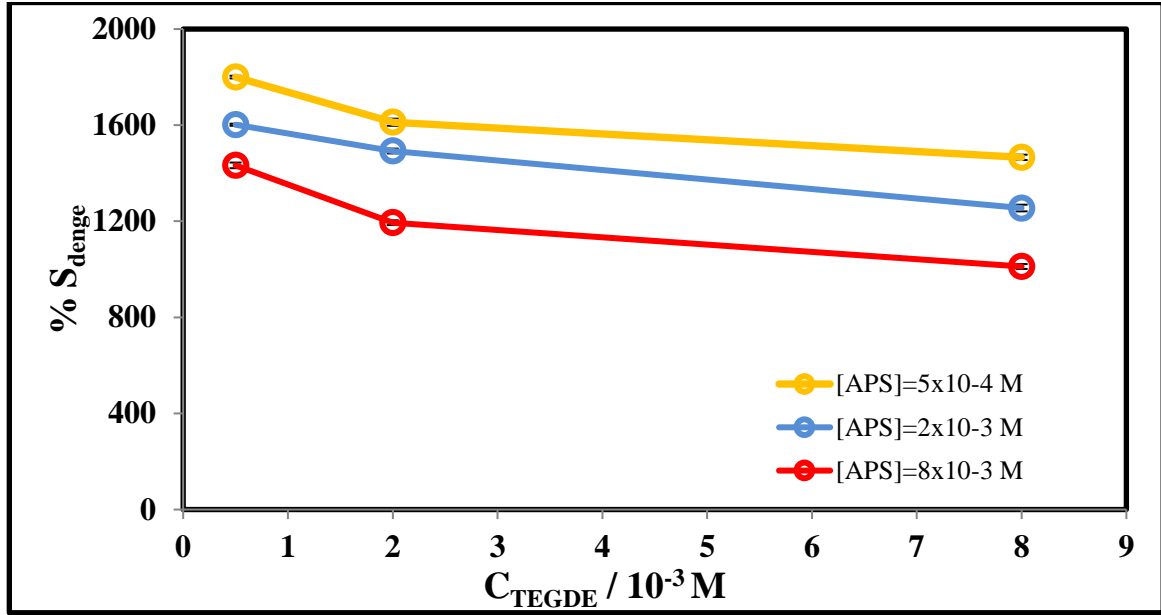
Çizelge 4.7. Farklı çapraz bağlayıcı konsantrasyonları kullanılarak hazırlanan hidrojellerin suda şişme kinetiğine ait Fick yasası kinetik parametreleri ile korelasyon katsayısı değerleri (r) (Reaksiyon koşulları: $[APS]= 8 \times 10^{-3} M$, $m_{\text{agar}}:m_{\text{κ-karagenan}}= 1:1$ ve $T= 70 \text{ }^\circ\text{C}$).

Deney No	TEGDE Konsantrasyonu (M)	n	k	r
7	5×10^{-4}	0,826	0,00712	0,994
8	2×10^{-3}	0,832	0,00710	0,995
9	8×10^{-3}	0,878	0,00636	0,997

Çizelge 4.5'te yer alan difüzyon üsteli (n) değerleri incelendiğinde, elde edilen n değerlerinin 0,5 ile 1 aralığında olduğu yani Fick tipi olmayan difüzyonun gerçekleştiği görülmektedir. Ayrıca, polimerik yapıdaki artan çapraz bağlayıcı konsantrasyonuyla difüzyon sabiti (k) azalmaktadır. k değerinin azalışı, çapraz bağlayıcı miktarı yüksek yani daha sıkı yapılarda, su difüzyonunun daha yavaş gerçekleştiğini göstermektedir. Benzer şekilde; 4, 5 ve 6 nolu deney koşullarında hazırlanan hidrojellerin suda şişmesine ait Fick yasası kinetik parametrelerinin listelendiği Çizelge 4.6'dan ve 7, 8 ve 9 nolu deney

koşullarında hazırlanan hidrojellerin suda şişmesine ait Fick yasası kinetik parametrelerinin listelendiği Çizelge 4.7'den görüldüğü üzere, difüzyon üsteli (n) değerleri 0,5 ile 1 aralığındadır yani Fick tipi olmayan difüzyon gerçekleşmektedir.

Farklı başlatıcı konsantrasyonu kullanılarak hazırlanan her bir hidrojel sistemi için % denge şişme miktarı değerlerinin hidrojel hazırlama esnasındaki çapraz bağlayıcı konsantrasyonu ile değişimi Şekil 4.15'te gösterilmiştir.

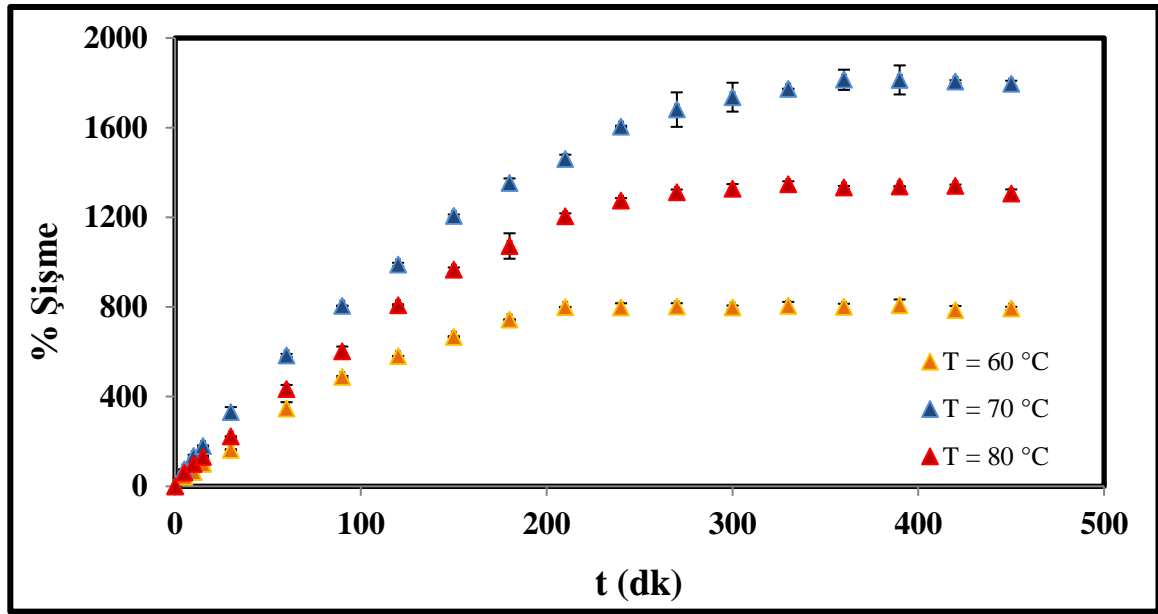


Şekil 4.15. Farklı başlatıcı konsantrasyonu kullanılarak hazırlanan hidrojellerin % denge şişme değerlerinin hidrojel hazırlama esnasında kullanılan çapraz bağlayıcı konsantrasyonu ile değişimlerinin karşılaştırılması (Reaksiyon koşulları: $m_{agar}:m_{\kappa\text{-karagenan}}=1:1$ ve $T=70\text{ }^{\circ}C$).

Sabit başlatıcı (APS) konsantrasyonunda hidrojel matrisi içerisindeki çapraz bağlayıcı (TEGDE) konsantrasyonunun artırılmasıyla birlikte hazırlanan hidrojellerde hidrojellerin denge şişme miktarında bir miktar azalma söz konusudur (Şekil 4.15). Bu sonuç, yapıdaki çapraz bağ yoğunluğunun artmasıyla birlikte daha sıkı ve yoğun yapıların oluşması ve bunun sonucu olarak su moleküllerinin yapıya girmelerinin zorlaşmasıyla açıklanmaktadır (Kabiri vd. 2003). Ayrıca, Şekil 4.15'teki deneysel verilerden, çalışılan çapraz bağlayıcı konsantrasyonları içerisinde hidrojel hazırlamak için optimum TEGDE konsantrasyonu olarak $5 \times 10^{-4} M$ 'lık konsantrasyonun en uygun olduğuna karar verilmiştir.

4.1.3. Agar/ κ -karagenan hidrojellerin şişme davranışları üzerine reaksiyon sıcaklığının etkisi

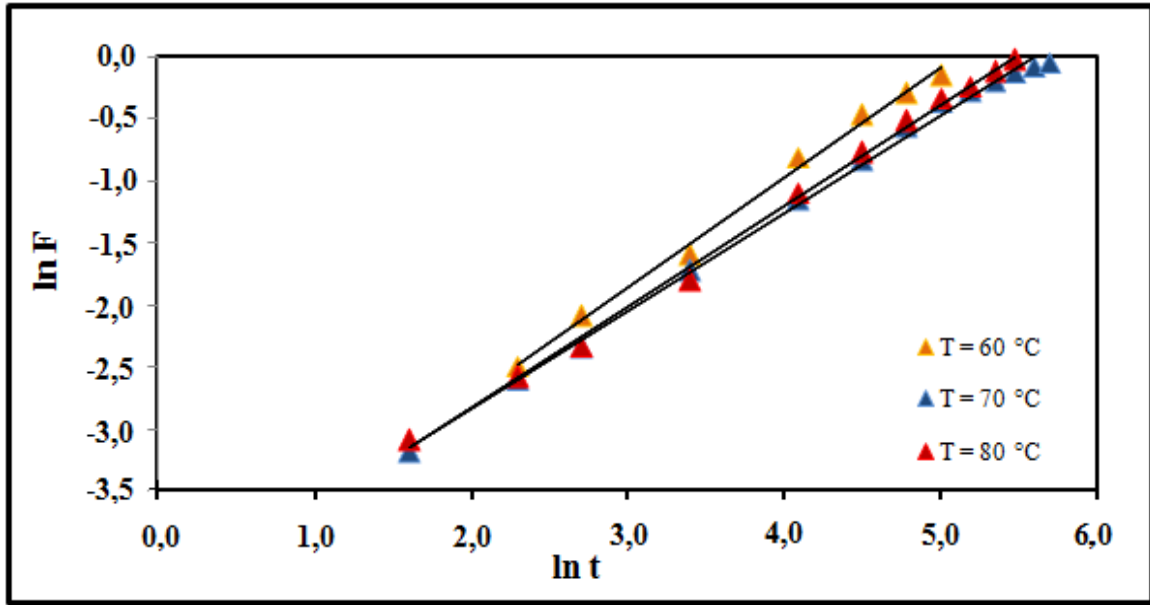
Hidrojellerin şişme davranışı üzerinde reaksiyon sıcaklığının etkisini belirlemek için Bölüm 4.1.1 ve 4.1.2'de belirlenen çözeltideki optimum başlatıcı konsantrasyonu (5×10^{-4} M) ve optimum çapraz bağlayıcı konsantrasyonu (5×10^{-4} M) değerleri kullanılmıştır. Hidrojellerin hazırlanmasında polisakkarit oranı (1:1 olarak) sabit tutularak çözelti sıcaklığı 60 °C ile 80 °C aralığında değiştirilmiştir (Deney No: 1, 10 ve 11). Hazırlanan hidrojellerin % şişme değerlerinin zamanla değişim grafiği Şekil 4.16'da yer almaktadır.



Şekil 4.16. Farklı sıcaklıklarda hazırlanan hidrojellerin % şişme değerlerinin zamanla değişimi (Reaksiyon koşulları: $[APS] = 5 \times 10^{-4}$ M, $[TEGDE] = 5 \times 10^{-4}$ M ve $m_{\text{agar}}:m_{\kappa\text{-karagenan}} = 1:1$).

Şekil 4.16 incelendiğinde, hidrojellerin hazırlanması esnasında kullanılan reaksiyon sıcaklığının 60 °C'den 70 °C'ye çıkarılmasıyla elde edilen hidrojelin denge şişme değerinin, %792'den %1800'e yükseldiği, çözelti sıcaklığının 70 °C'den 80 °C'ye yükseltilmesiyle %1800'den %1332'ye düştüğü görülmektedir.

Farklı sıcaklıklar kullanılarak (Deney No: 1, 10 ve 11'e göre) hazırlanan hidrojellerin suda şişme kinetiğine ait $\ln F$ 'ye karşı $\ln t$ grafikleri Şekil 4.17'de yer almaktadır.



Şekil 4.17. Farklı sıcaklıklarda hazırlanan hidrojellerin suda şişme kinetiğine ait $\ln F$ - $\ln t$ grafikleri (Reaksiyon koşulları: $[APS]= 5 \times 10^{-4}$ M, $[TEGDE]= 5 \times 10^{-4}$ M ve $m_{\text{agar}}:m_{\text{κ-karagenan}}= 1:1$).

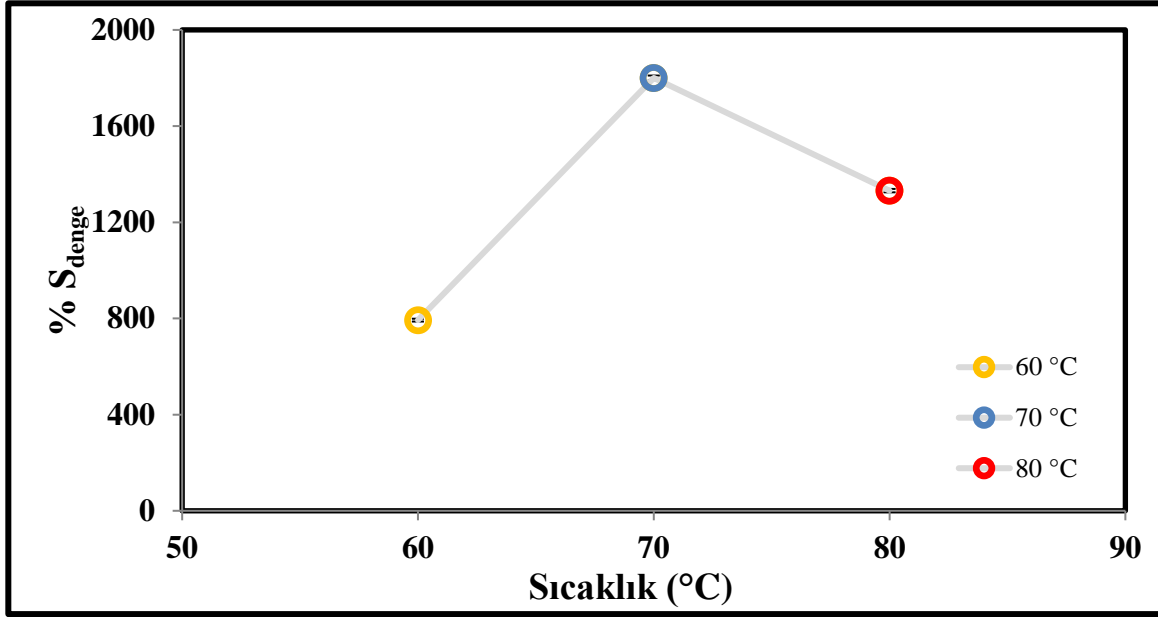
Şekil 4.17'de yer alan deneysel verilerin doğrusal regresyon analiziyle işlenmesi sonucu elde edilen Fick yasası suda şişme kinetiği parametreleri korelasyon katsayılarıyla birlikte Çizelge 4.8'de sunulmaktadır.

Çizelge 4.8. Farklı sıcaklıklarda hazırlanan hidrojellerin suda şişme kinetiğine ait Fick yasası kinetik parametreleri ile korelasyon katsayısı değerleri (r) (Reaksiyon koşulları: $[APS]= 5 \times 10^{-4}$ M, $[TEGDE]= 5 \times 10^{-4}$ M $m_{\text{agar}}:m_{\text{κ-karagenan}}= 1:1$).

Deney No	Sıcaklık (°C)	n	k	r
10	60	0,884	0,01097	0,993
1	70	0,788	0,01207	0,996
11	80	0,815	0,01153	0,997

Çizelge 4.8'den görüldüğü üzere, difüzyon üsteli (n) değerleri, $0,5 < n < 1$ aralığında yer almaktadır. n değerlerinin $0,5$ ile 1 aralığında yer alması Fick tipi olmayan difüzyonun gerçekleştiğini göstermektedir. Çözelti sıcaklığının 60 °C'den 70 °C'ye artmasıyla difüzyon sabitinin arttığı görülmektedir. k değerinin artması, 70 °C'de hazırlanan hidrojelere olan su difüzyonunun 60 °C'de hazırlanan hidrojelere göre daha hızlı gerçekleştiğini göstermektedir. Reaksiyon sıcaklığının 70 °C'den 80 °C'ye çıkarılmasıyla k değerinin azaldığı görülmektedir. k değerindeki azalma, 80 °C'de hazırlanan hidrojellerin 70 °C'de hazırlanan hidrojelere göre daha sıkı yapıda olduğunu, su difüzyonunun daha yavaş gerçekleştiğini göstermektedir.

Şekil 4.18'de, 5×10^{-4} M sabit APS konsantrasyonu, 5×10^{-4} M sabit TEGDE konsantrasyonu ve 1:1 polisakkarit oranı kullanılarak farklı sıcaklıklarda (60, 70 ve 80 °C'de) hazırlanan hidrojenlerin % denge şişme değerlerinin hidrojenlerin hazırlanması esnasında kullanılan çözelti sıcaklığı ile değişimini gösteren grafik yer almaktadır.

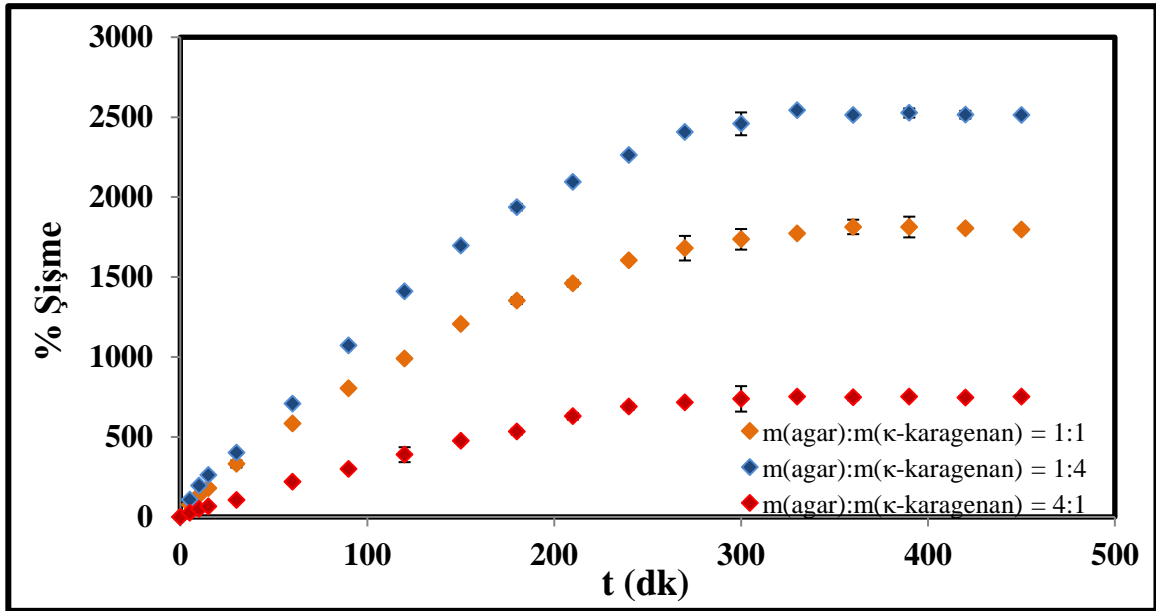


Şekil 4.18. Farklı sıcaklıklarda hazırlanan hidrojenlerin % denge şişme değerlerinin hidrojenlerin hazırlanması esnasında kullanılan çözelti sıcaklığı ile değişim grafiği (Reaksiyon koşulları: [APS]= 5×10^{-4} M, [TEGDE]= 5×10^{-4} M ve m_{agar}:m_{κ-karagenan}= 1:1).

Şekil 4.18 incelendiğinde, hidrojenlerin hazırlanması sırasında kullanılan reaksiyon sıcaklığının 60 °C'den 70 °C'ye çıkarılmasıyla hidrojenin yüzde denge şişme değerinde bir artışın olduğu görülmektedir. Reaksiyon sıcaklığı 60 °C'den 70 °C'ye çıkarıldığında, çözeltide radikal oluşumunun artmasıyla 70 °C'de 60 °C'ye kıyasla daha hızlı bir tepkime gerçekleşmektedir. Bu durum çözelti viskozitesinde artışa neden olmaktadır ve moleküllerin viskoz çözelti içerisindeki difüzyon hızları azalmaktadır. Bunun sonucunda radikallerin karşılaşma olasılığının azalmasıyla, çapraz bağlanma derecesi düşmekte ve hidrojenin şişme derecesi artmaktadır. Grafikten de görüldüğü üzere, reaksiyon sıcaklığının 70 °C'den 80 °C'ye çıkarılmasıyla yüzde denge şişme miktarında bir azalma meydana gelmiştir. Sıcaklığın daha da artırılmasına bağlı olarak çözelti viskozitesinde azalış meydana gelmekte, böylelikle radikal grupların çözelti ortamındaki difüze edilebilirliklerinin kolaylaşmasıyla çapraz bağlanmalar artmakta ve hidrojenlerin şişme derecesi azalmaktadır (Pourjavadi vd. 2006). Şekil 4.18'e göre 70 °C'nin altındaki ve üstündeki sıcaklık değerlerinde düşük denge şişme değerlerinin görülmesi sebebiyle, çalışılan sıcaklık değerleri arasında optimum reaksiyon sıcaklığı 70 °C olarak saptanmıştır.

4.1.4. Agar/ κ -karagenan hidrojenlerin şişme davranışları üzerine hidrojenlerin hazırlanması esnasında kullanılan polisakkarit oranının etkisi

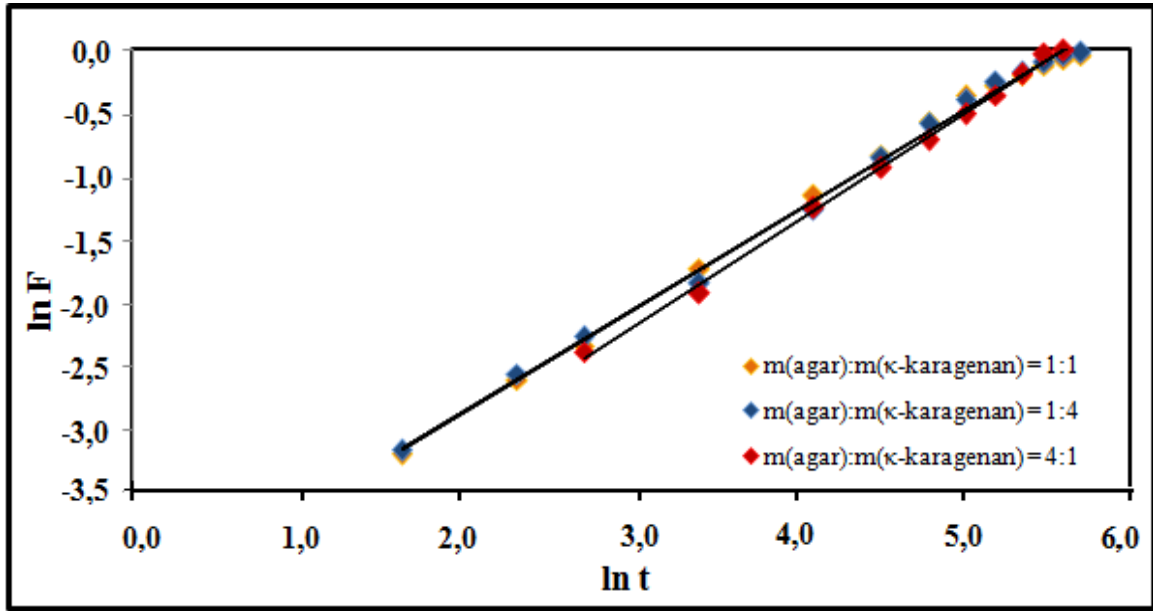
Hidrojenlerin şişme davranışı üzerinde hidrojel matriksi içerisindeki agar ve κ -karagenan polisakkarit oranlarının etkisini belirlemek amacıyla çözeltideki optimum başlatıcı konsantrasyonu (5×10^{-4} M), optimum çapraz bağlayıcı konsantrasyonu (5×10^{-4} M) ve optimum sıcaklık değeri (70 °C) sabit tutularak $m_{\text{agar}}:m_{\kappa\text{-karagenan}}$ oranı kütlece 1:1, 1:4 ve 4:1 olacak şekilde değiştirilmiştir. 1, 12 ve 13 deney nolu hidrojenlere ait % şişme değerlerinin zamanla değişim grafiği Şekil 4.19'da yer almaktadır.



Şekil 4.19. Farklı polisakkarit oranları kullanılarak hazırlanan hidrojenlerin % şişme değerlerinin zamanla değişimi (Reaksiyon koşulları: $[APS] = 5 \times 10^{-4}$ M, $[TEGDE] = 5 \times 10^{-4}$ M ve $T = 70$ °C).

Şekil 4.19 incelendiğinde, hidrojel kompozisyonunda yer alan toplam polisakkarit miktarı içerisindeki κ -karagenan miktarının kütlece %20'den %50'ye artırılmasıyla hidrojenin şişme miktarının %748'den %1796'ya ve %80'e artırılmasıyla %2523'e çıktığı görülmektedir.

Farklı polisakkarit konsantrasyonları kullanılarak (Deney No: 1, 12 ve 13'e göre) hazırlanan hidrojenlere ait $\ln F'$ 'ye karşı $\ln t$ grafikleri Şekil 4.20'de verilmektedir.



Şekil 4.20. Farklı polisakkarit oranlarında hazırlanan hidrojellerin suda şişme kinetiğine ait $\ln F$ - $\ln t$ grafikleri (Reaksiyon koşulları: $[APS]= 5 \times 10^{-4}$ M, $[TEGDE]= 5 \times 10^{-4}$ M ve $T= 70$ °C).

Şekil 4.20'de yer alan deneysel verilerin doğrusal regresyon analiziyle işlenmesi sonucu elde edilen Fick yasası suda şişme kinetiği parametreleri korelasyon katsayılarıyla birlikte Çizelge 4.9'da verilmektedir.

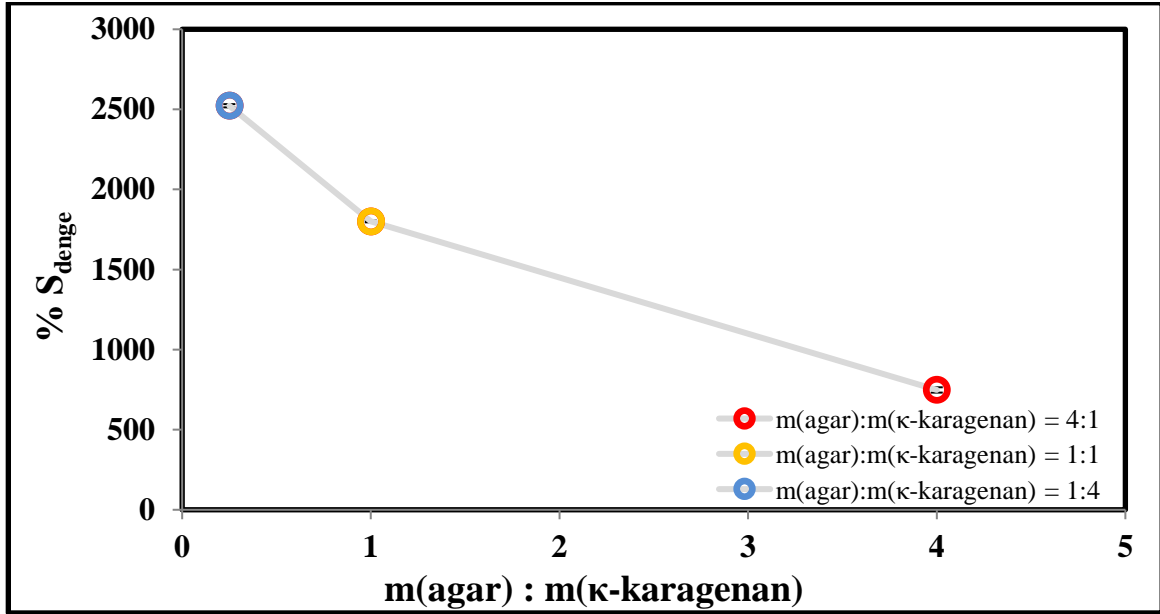
Çizelge 4.9. Farklı polisakkarit oranlarında hazırlanan hidrojellerin suda şişme kinetiğine ait Fick yasası kinetik parametreleri ve korelasyon katsayısı değerleri (r) (Reaksiyon koşulları: $[APS]= 5 \times 10^{-4}$ M, $[TEGDE]= 5 \times 10^{-4}$ M ve $T= 70$ °C).

Deney No	Polisakkarit Oranı ($m_{\text{agar}}:m_{\kappa\text{-karagenan}}$)	n	k	r
1	1:1	0,788	0,01207	0,996
12	1:4	0,786	0,01214	0,996
13	4:1	0,843	0,00893	0,997

Çizelge 4.9 incelendiğinde, difüzyon üsteli (n) değerlerinin, 0,5 ile 1 aralığında yer aldığı ve Fick olmayan tipte bir difüzyonun gerçekleştiği görülmektedir. Hidrojel matriksinde yer alan κ -karagenan konsantrasyonunun artmasıyla difüzyon sabitinin (k) arttığı görülmektedir.

Farklı polisakkarit oranı ($m_{\text{agar}}:m_{\kappa\text{-karagenan}}= 1:4, 1:1$ ve $4:1$) kullanılmasıyla 5×10^{-4} M'lık sabit başlatıcı konsantrasyonu, 5×10^{-4} M'lık sabit çapraz bağlayıcı konsantrasyonu ve

70 °C'lik sabit sıcaklık değerinde hazırlanan hidrojellerin % denge şişme değerini gösteren grafik Şekil 4.21'de yer almaktadır.



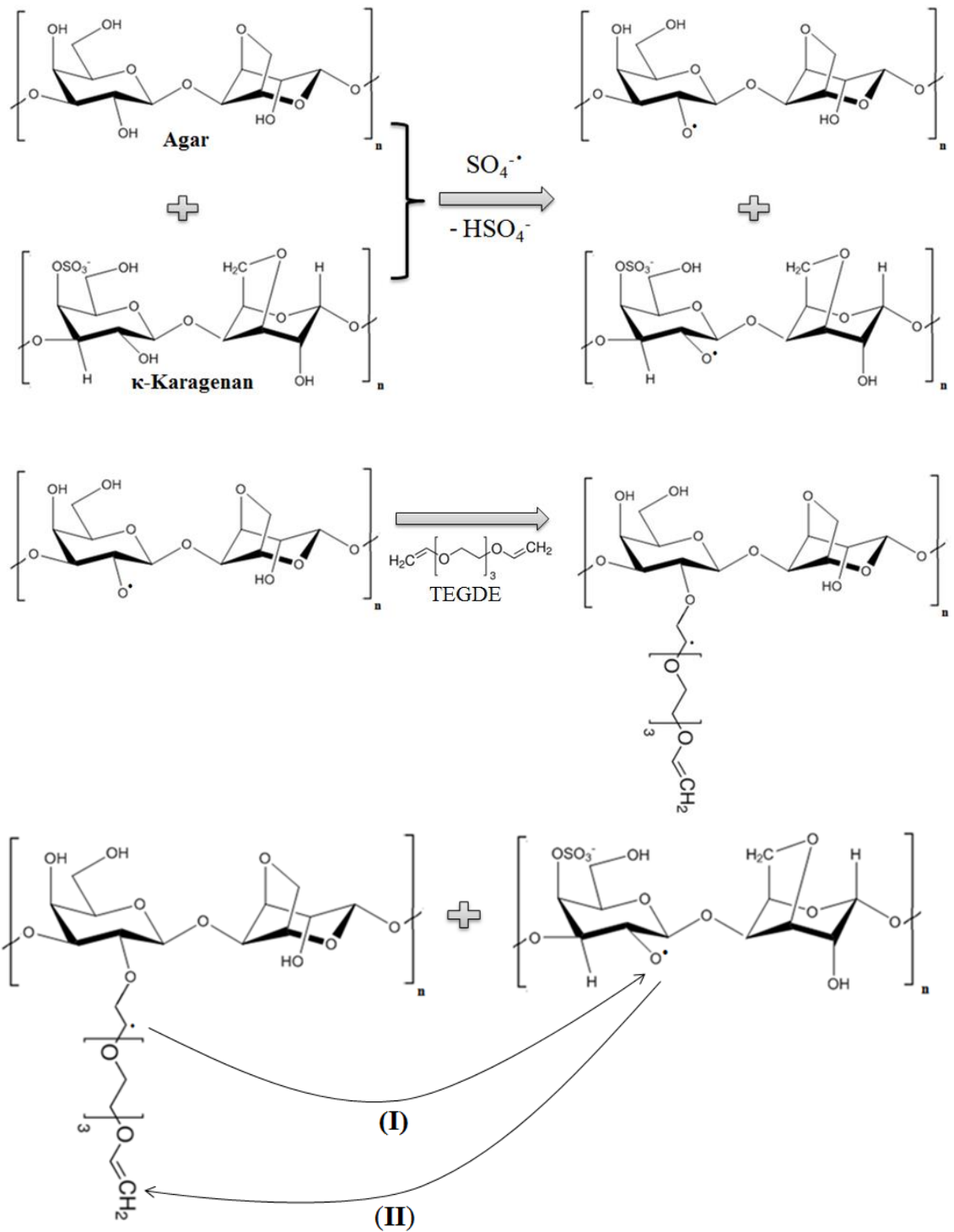
Şekil 4.21. Farklı polisakkarit oranlarında hazırlanan hidrojellerin % denge şişme değerlerinin gösterilmesi (Reaksiyon koşulları: [APS]= 5×10^{-4} M, [TEGDE]= 5×10^{-4} M ve T= 70 °C).

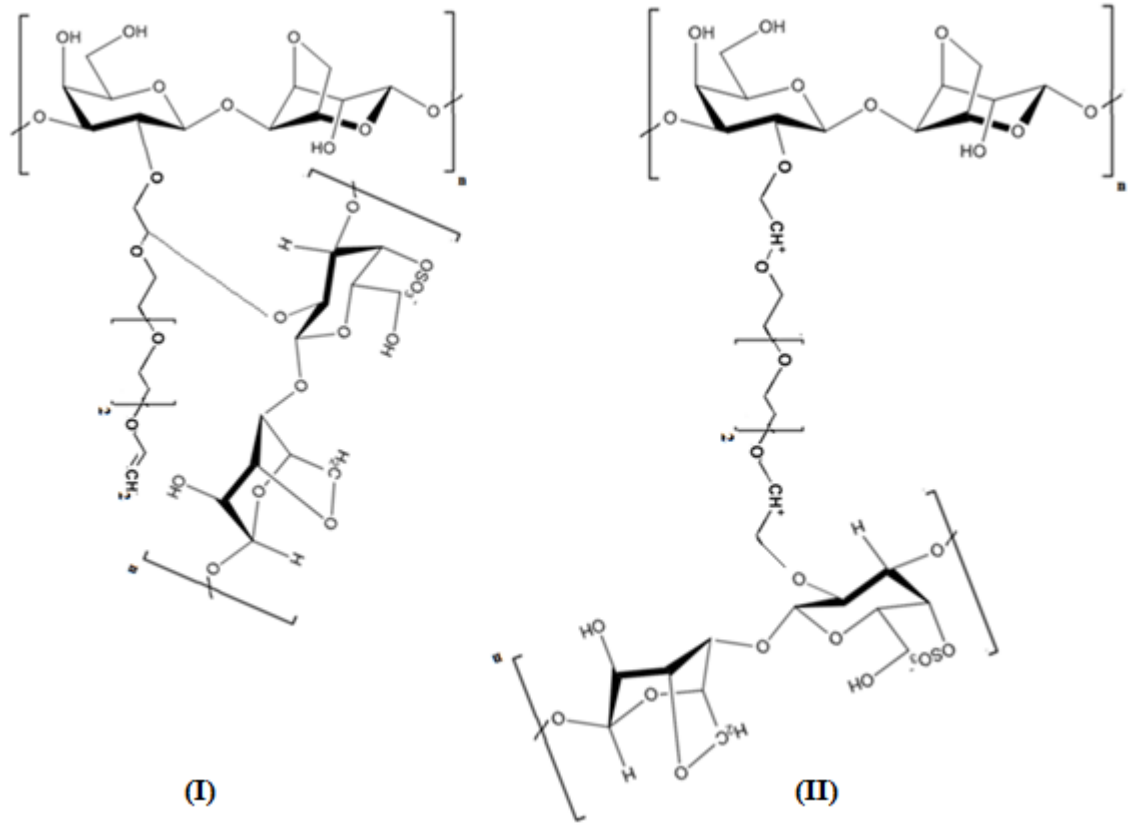
Farklı polisakkarit oranları kullanılarak hazırlanan hidrojellerin % denge şişme değerlerinin polisakkarit oranıyla değişimini gösteren Şekil 4.21'e göre, hidrojel içerisindeki κ -karagenan miktarının artmasıyla denge şişme miktarında bir artış gözlenmektedir. Bu durum, κ -karagenanın agara göre daha hidrofilik özelliğe sahip olması nedeniyle yapısına daha fazla miktarda su alarak daha fazla oranda şişebilmesi şeklinde açıklanabilir (Meena vd 2009). Şekil 4.21'e göre en yüksek denge şişme oranına ulaşılan $m_{\text{agar}}:m_{\kappa\text{-karagenan}} = 1:4$ oranı çalışılan polisakkarit oranları içerisinde optimum polisakkarit oranı olarak kabul edilmiştir.

4.1.5. Hidrojellerin çapraz bağlanma mekanizması

Tri(etilen glikol) divinil eter çapraz bağlayıcısı varlığında agar ve κ -karagenan moleküllerinin radikalik çapraz bağlanmaları için önerilen genel mekanizma Şekil 4.22'de gösterilmiştir.







Şekil 4.22. Tri(etilen glikol) divinil eter (TEGDE) varlığında agar/κ-karagenan karışımının radikalik çapraz bağlanması için genel mekanizma.

Polisakkaritlerin çapraz bağlanmaları için ilk olarak amonyum persülfat başlatıcısı, belirli bir sıcaklıkta sülfat anyon radikali oluşturmaktadır. Oluşan bu radikal, polisakkaritler üzerinde alkoksi radikali oluşturmak üzere polisakkarit(ler)in hidroksil (-OH) grubundan bir hidrojen alarak hidrojen sülfat şeklinde ortamdan uzaklaşmaktadır. Daha sonra, ortamda bulunan tri(etilen glikol) divinil eter ile çapraz bağlanmalar gerçekleşmektedir.

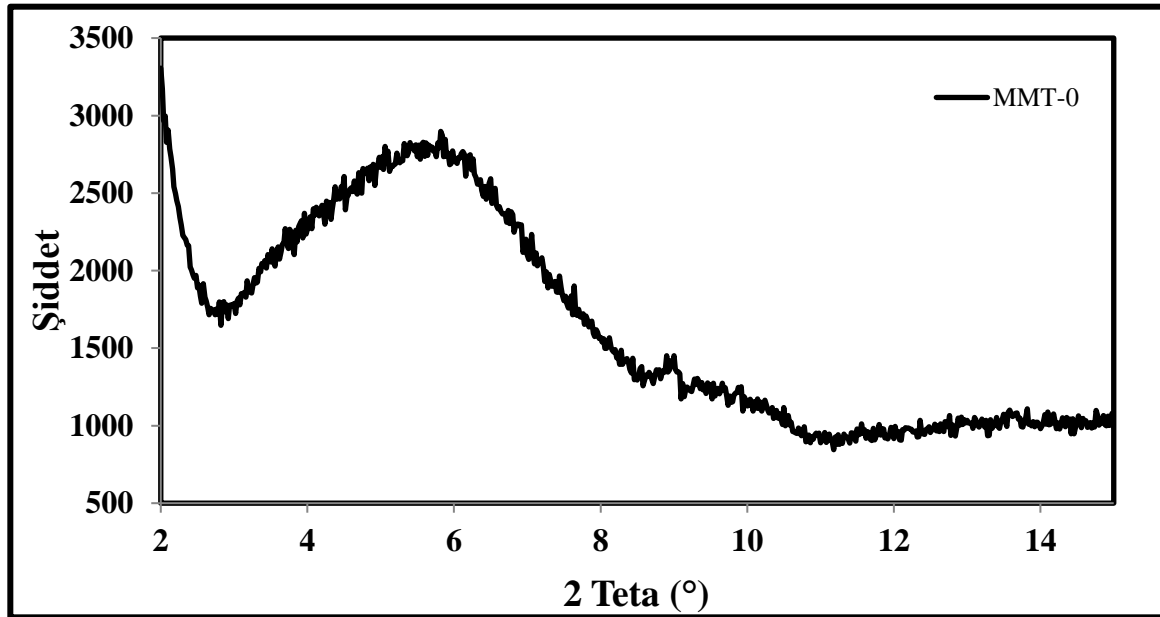
4.2. Montmorillonit İçeren Agar/κ-Karagenan Hidrojel Sistemlerinin Hazırlanması ve Şişme Davranışlarının İncelenmesi

Hazırlanan agar/κ-karagenan hidrojel materyallerinin özelliklerini iyileştirmek için fenilalanin amino asiti ile modifiye edilmiş montmorillonit kili kullanılmıştır. Farklı konsantrasyonlarda kil kullanarak hidrojel sistemleri hazırlamanın amacı, yara örtüsü materyallerinden ilaçların kontrollü bir şekilde salınabilmesini sağlamaktır. Bu çalışmada agar/κ-karagenan hidrojellerinin şişme, mekaniksel, termal, ilaç salım, yapısal ve diğer fiziksel özellikleri üzerinde kil konsantrasyonunun etkisi incelenmiştir.

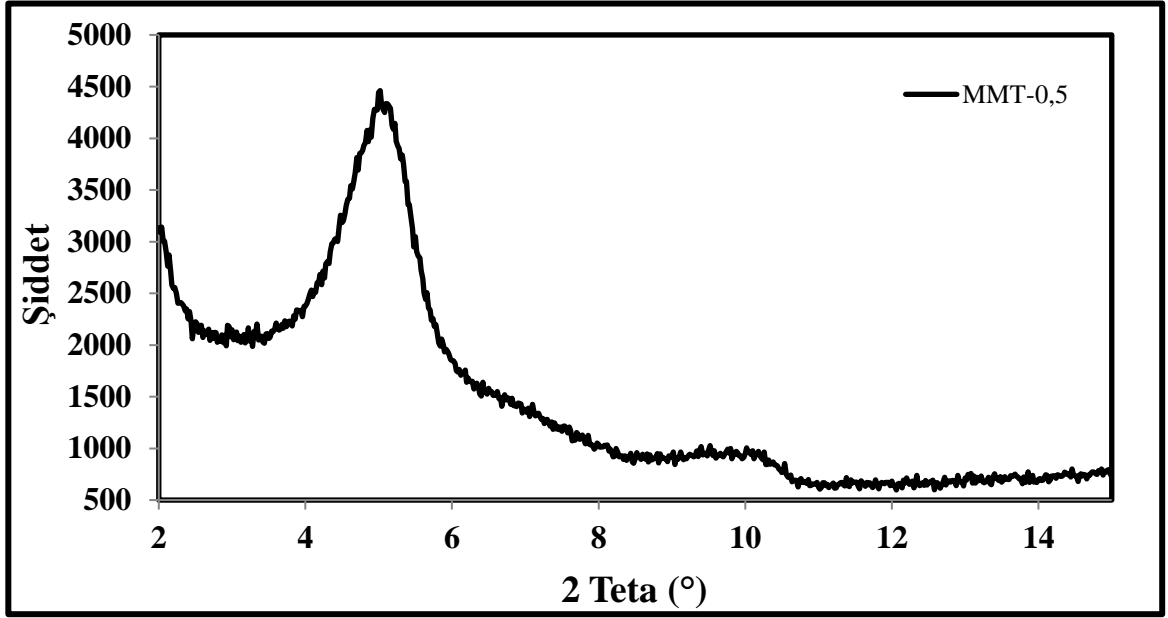
4.2.1. Montmorillonit kilinin modifikasyonu ve karakterizasyonu

Montmorillonit, yüksek spesifik yüzey alanına ve etkin yüzey reaktifliğine sahip olması sebebiyle polimer/nanokompozit malzemelerin eldesinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Strawhecker ve Manias 2000). Montmorillonit kil tabakalarının arasında değişebilir katyonlar (Na^+ , Ca^{2+} , Mg^{2+} , K^+ vb.) yer almaktadır. Bu katyonlar, katyon değişimi ile organik modifiye edicilerle değiştirilebilmekte ve bu sayede kil modifiye edilerek organokil meydana gelmektedir (Xi vd. 2007). Modifikasyon sonucunda tabakalar arasına yerleşen organik grubun büyüklüğüne ve iyonik etkisine bağlı olarak kil tabakaları arasındaki boşluk değeri değişir. Bu boşluktaki değişim XRD analizi ile belirlenebilmektedir.

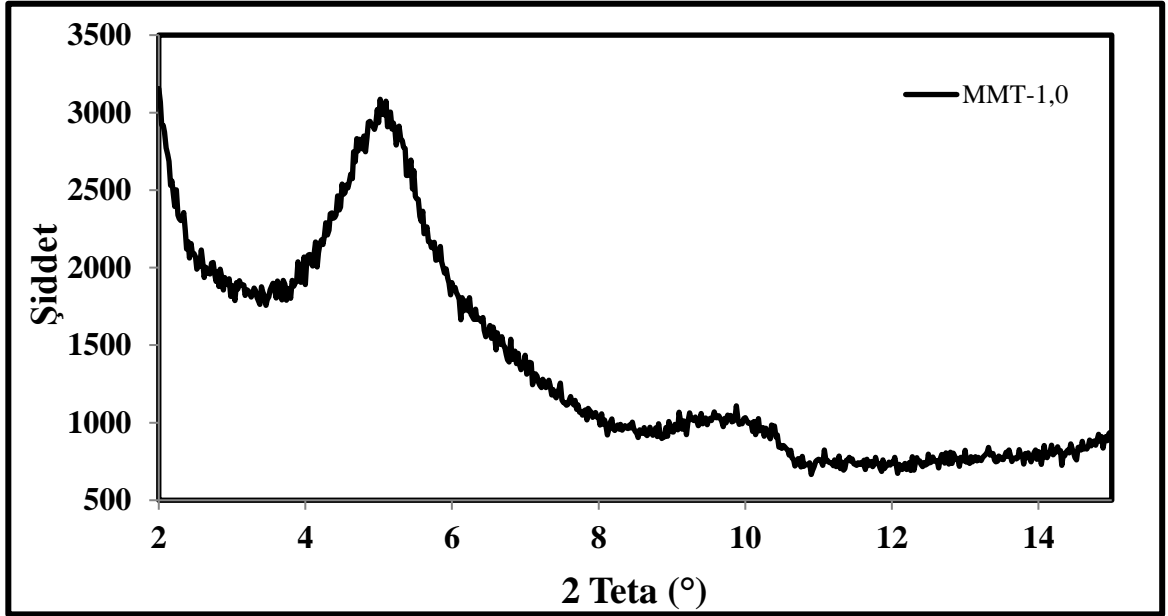
Bu tez çalışması kapsamında, Na^+ -montmorillonit kili, katyon-değişim metodu kullanılarak toksik olmayan ve biyouyumlu olan fenilalanin amino asiti ile modifiye edilmiştir. Modifiye edilmemiş montmorillonit kili ile montmorillonitin CEC değerinin (95 meq/100 g) 0,5; 1,0; 1,5 ve 2,0 katı olacak şekilde farklı konsantrasyonlarda fenilalanin amino asiti ile modifiye edilmiş montmorillonite ait X-ışını kırınımı grafikleri Şekil 4.23-4.27'de verilmektedir.



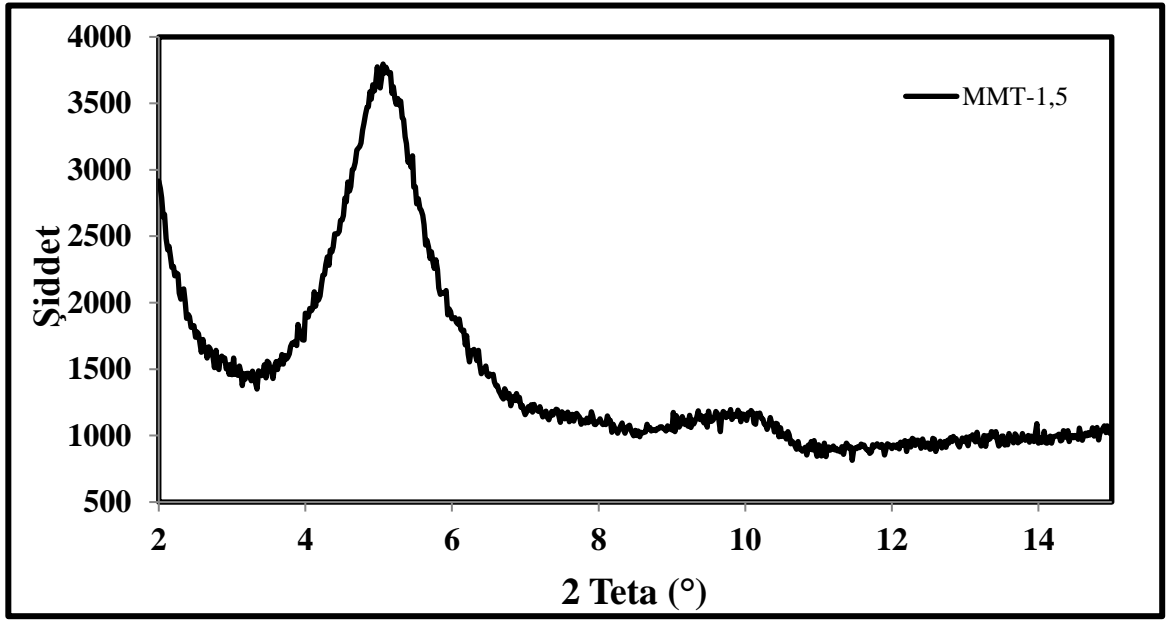
Şekil 4.23. Fenilalanin amino asiti ile muamele edilmemiş montmorillonit kilinin XRD spektrumu.



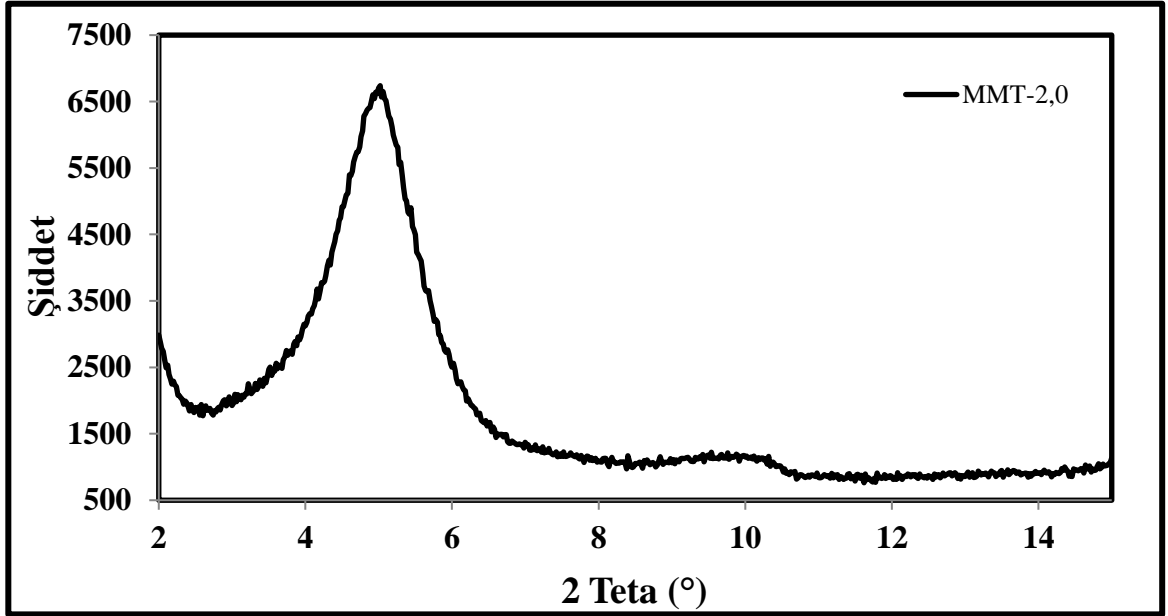
Şekil 4.24. Montmorillonitin CEC değerinin 0,5 katı fenilalanin amino asiti ile modifiye edilmiş montmorillonit kilinin XRD spektrumu.



Şekil 4.25. Montmorillonitin CEC değerinin 1,0 katı fenilalanin amino asiti ile modifiye edilmiş montmorillonit kilinin XRD spektrumu.

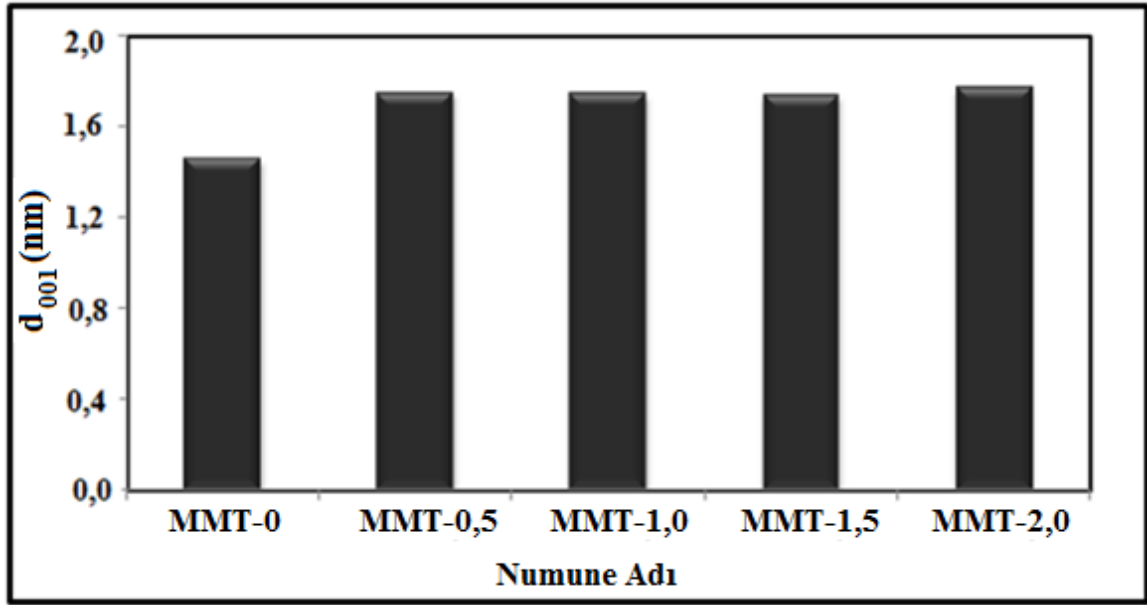


Şekil 4.26. Montmorillonitin CEC değerinin 1,5 katı fenilalanin amino asiti ile modifiye edilmiş montmorillonit kilinin XRD spektrumu.



Şekil 4.27. Montmorillonitin CEC değerinin 2,0 katı fenilalanin amino asiti ile modifiye edilmiş montmorillonit kilinin XRD spektrumu.

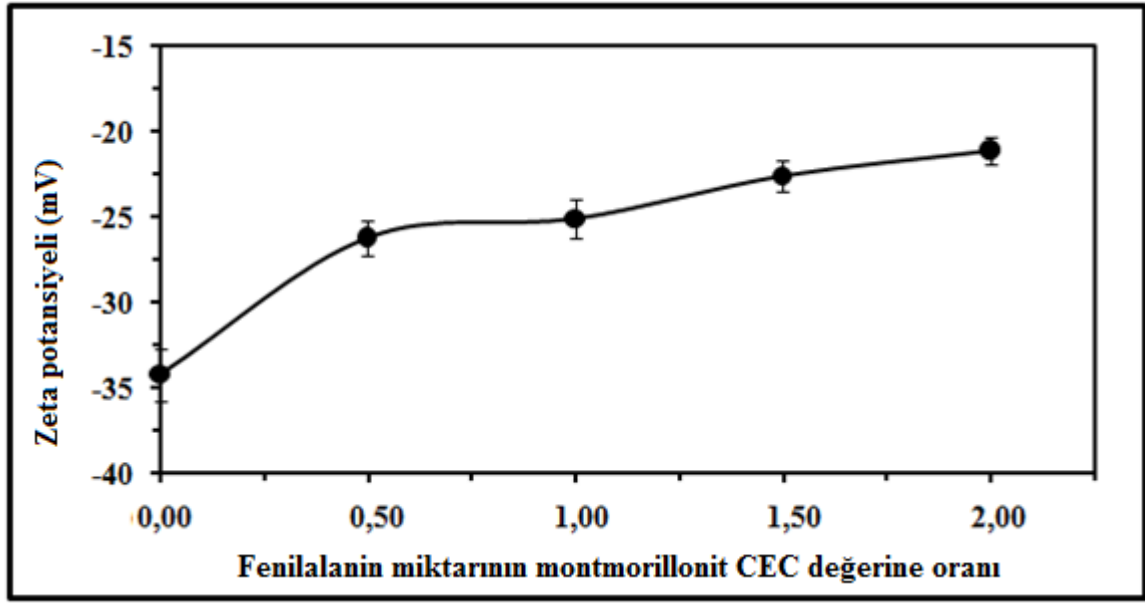
Farklı oranlarda fenilalanin amino asiti kullanılarak modifiye edilen montmorillonit killerinin bazal boşluk değerleri karşılaştırmalı olarak Şekil 4.28'de gösterilmektedir.



Şekil 4.28. Farklı oranlarda fenilalanin amino asiti ile modifiye edilmiş montmorillonit killerinin bazal boşluk değerlerinin karşılaştırılması.

Şekil 4.28'de yer alan XRD analizi sonuçları incelendiğinde, bazal boşluk değeri (d_{001}) 1,46 nm olarak tespit edilen montmorillonit kili farklı oranlarda fenilalanin amino asiti ile modifiye edildiğinde kilin bazal boşluk değerinin 1,74-1,77 nm aralığına ulaştığı görülmektedir (Şekil 4.23-4.28). Bazal boşluk değerindeki bu artış ve 2θ değerinin daha düşük açılara kayması modifikasyonun gerçekleştiğini kanıtlamaktadır. Montmorillonitin CEC değerinin 1,0 katı fenilalanin kullanımının, kilin tabakaları arasındaki katyonlar ile amino asit moleküllerinin tamamen yer değiştirmesinde yeterli olduğu görülmüştür. Montmorillonit içeren agar/ κ -karagenan hidrojellerinin hazırlanmasında bu amino asit konsantrasyonunun kullanılmasına karar verilmiştir. Literatürde, Na-MMT'nin metilen-bis-orto-kloro anilin ile modifiye edildikten sonra bazal boşluk değerinin 1,28 nm'den 1,51 nm'ye çıktığı bildirilmiştir (Dan vd. 2006). Tan vd. (2008), sodyum montmorilloniti hidroksi alüminyum oligomerik katyonları ile modifiye etmişlerdir. Yaptıkları çalışmada Na-MMT $2\theta = 7,0^\circ$ 'de pik verirken, modifiye ettikleri kile ait pik $2\theta = 4,7^\circ$ 'ye kaymıştır. Bununla birlikte, sodyum iyonları ile hidroksi alüminyum katyonlarının yer değiştirmesi sonucu bazal boşluk değeri 1,26 nm'den 1,88 nm'ye artmıştır. Arroyo vd. (2003), tarafından gerçekleştirilen bir diğer çalışmada montmorillonit, oktadesilamin ile modifiye edilmiş ve çalışmanın sonucunda X-ışını kırınım pikinin $2\theta = 7,0^\circ$ 'den $2\theta = 5,0^\circ$ 'ye düştüğü görülürken, bazal boşluk değerinin 1,26 nm'den 1,76 nm'ye çıktığı rapor edilmiştir.

XRD ölçümlerinin yanı sıra, zeta potansiyeli ölçümleri gerçekleştirilerek modifiye edilmemiş ve farklı oranlarda fenilalanin ile modifiye edilmiş montmorillonit kilinin yüzey yükü belirlenmiştir (Şekil 4.29).

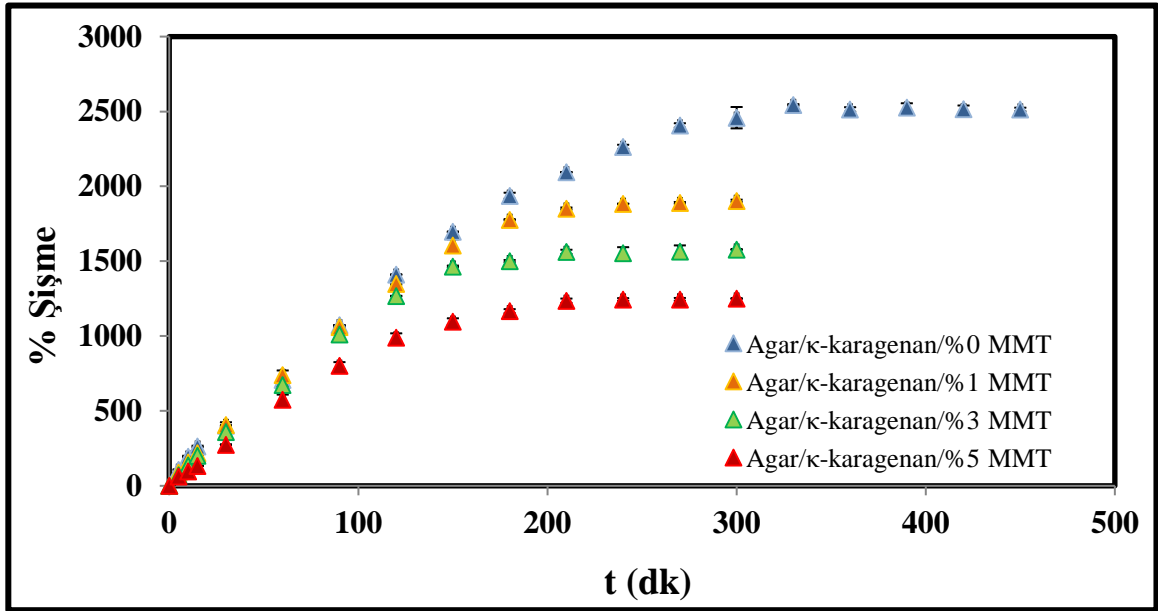


Şekil 4.29. Farklı miktarlarda fenilalanin amino asiti ile modifiye edilen montmorillonit kilinin zeta potansiyeli grafiği.

Yapılan ölçümler sonucunda, fenilalanin amino asitinin konsantrasyonunun artmasıyla kilin zeta potansiyeli değerinin $-34,2$ mV'den $-21,2$ mV'ye yükseldiği Şekil 4.29'da verilen grafikte görülmektedir. Bu durum şu şekilde açıklanabilir; montmorillonitin modifikasyonu asidik ortamda gerçekleştirildiği için fenilalaninin amin grubu protonlanarak $-NH_3^+$ şekline dönüşmüştür. Negatif yüzey yüküne sahip montmorillonit ile $-NH_3^+$ grubu arasındaki elektrostatik etkileşim sonucunda kil yüzeyindeki negatif yük yoğunluğunda azalma meydana gelmiştir. Shokri vd. (2017), yaptıkları çalışmada, montmorillonitin arjinin amino asiti ile modifikasyonunu gerçekleştirmişlerdir. Zeta potansiyeli ölçümleri sonucunda izoelektrik pH değerini 8,0 olarak bulmuşlardır. Modifiye edilmiş montmorillonitin nötral pH değerinde amin gruplarının protonlanmasından dolayı zeta potansiyelinin pozitif değerlere ulaştığını, pH'ın artmasıyla da arjininin karboksil gruplarının proton kaybederek tekrar negatif değerlere kaydığını bildirmişlerdir.

4.2.2. Montmorillonit içerikli agar/ κ -karagenan hidrojellerinin şişme davranışlarının incelenmesi

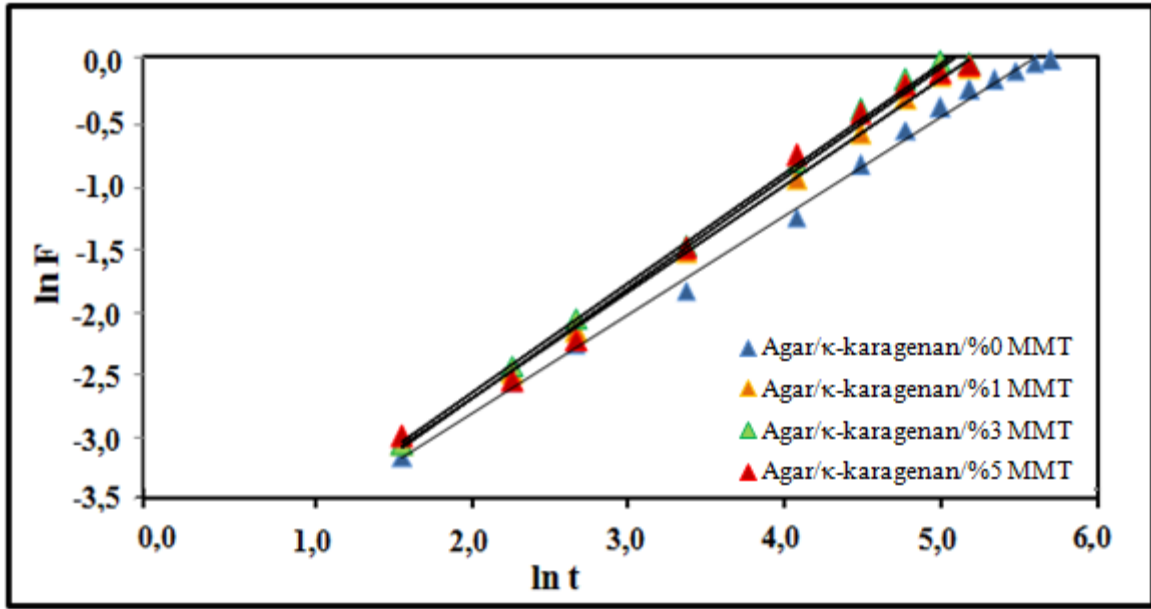
Farklı miktarlarda kil içeren hidrojellerin şişme davranışlarını incelemek için 5×10^{-4} M'lık sabit APS konsantrasyonunda, 5×10^{-4} M'lık sabit TEGDE konsantrasyonunda, sabit polisakkarit oranında ($m_{\text{agar}}:m_{\kappa\text{-karagenan}} = 1:4$) ve sabit sıcaklıkta (70 °C'de) hazırlanan agar/ κ -karagenan hidrojeli ile toplam polisakkarit miktarının kütlece %1'i, %3'ü ve %5'i oranında montmorillonit içeren agar/ κ -karagenan/MMT hidrojellerinin şişme testleri gerçekleştirilmiştir. Farklı kil konsantrasyonlarına sahip hidrojellerin % şişme değerlerinin zamanla değişimi Şekil 4.30'da sunulmaktadır.



Şekil 4.30. Farklı MMT konsantrasyonuna sahip hidrojellerin % şişme değerlerinin zamanla değişimi (Reaksiyon koşulları: $[APS]= 5 \times 10^{-4} M$, $[TEGDE]= 5 \times 10^{-4} M$, $m_{\text{agar}}:m_{\kappa\text{-karagenan}}= 1:4$ ve $T= 70 \text{ }^\circ\text{C}$).

Şekil 4.30 incelendiğinde, hidrojel matrisi içerisindeki montmorillonit miktarının kütlece %0'dan %5'e çıkarılmasıyla şişme oranının, 300 dakika sonunda, %2458'den %1250'ye düştüğü görülmektedir.

Farklı oranlarda montmorillonit ilave edilerek hazırlanan hidrojellere ait $\ln F - \ln t$ grafikleri Şekil 4.31'de gösterilmektedir.



Şekil 4.31. Farklı konsantrasyonlarda MMT içeren hidrojelilerin suda şişme kinetiğine ait $\ln F$ - $\ln t$ grafikleri (Reaksiyon koşulları: $[APS]= 5 \times 10^{-4}$ M, $[TEGDE]= 5 \times 10^{-4}$ M, $m_{\text{agar}}:m_{\text{karragenan}}= 1:1$ ve $T= 70$ °C).

Şekil 4.31'de yer alan deneysel verilerin doğrusal regresyon analiziyle işlenmesi sonucu elde edilen Fick yasası suda şişme kinetiği parametreleri korelasyon katsayılarıyla birlikte Çizelge 4.10'da verilmiştir.

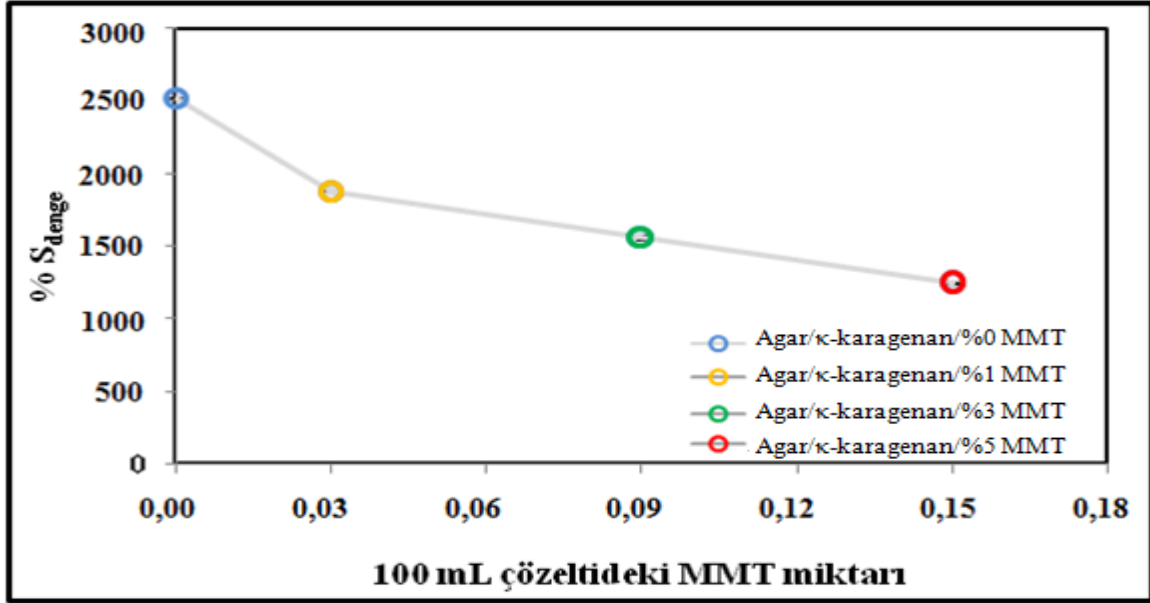
Çizelge 4.10. Farklı konsantrasyonlarda montmorillonit katkıli hidrojelilerin suda şişme kinetiğine ait Fick yasası kinetik parametreleri ve korelasyon katsayısı değerleri (r) (Reaksiyon koşulları: $[APS]= 5 \times 10^{-4}$ M, $[TEGDE]= 5 \times 10^{-4}$ M, $m_{\text{agar}}:m_{\text{karragenan}}= 1:4$ ve $T= 70$ °C).

Hidrojel Adı	Montmorillonit Miktarı (g)	n	k	r
Agar/ κ -karragenan/ %0 MMT	0	0,786	0,01214	0,996
Agar/ κ -karragenan/ %1 MMT	0,03	0,848	0,01197	0,999
Agar/ κ -karragenan/ %3 MMT	0,09	0,874	0,01186	0,996
Agar/ κ -karragenan/ %5 MMT	0,15	0,876	0,01129	0,992

Çizelge 4.10'da yer alan n değerlerinin 0,5 ile 1,0 aralığında olduğu, dolayısıyla Fick olmayan tipte bir difüzyonun gerçekleştiği görülmektedir. Polimerik ağ içerisindeki montmorillonit miktarının artması sonucu difüzyon sabitinin azaldığı görülmektedir. k

değerindeki azalma, hidrojel matrisi içerisindeki kil miktarının artması sonucu yapının daha fazla sıkılaştığını ve su difüzyonunun yavaşladığını göstermektedir.

Farklı miktarlarda kil ilave edilerek hazırlanan hidrojellerin % denge şişme miktarı değerlerinin MMT miktarıyla değişimi Şekil 4.32'de gösterilmektedir.



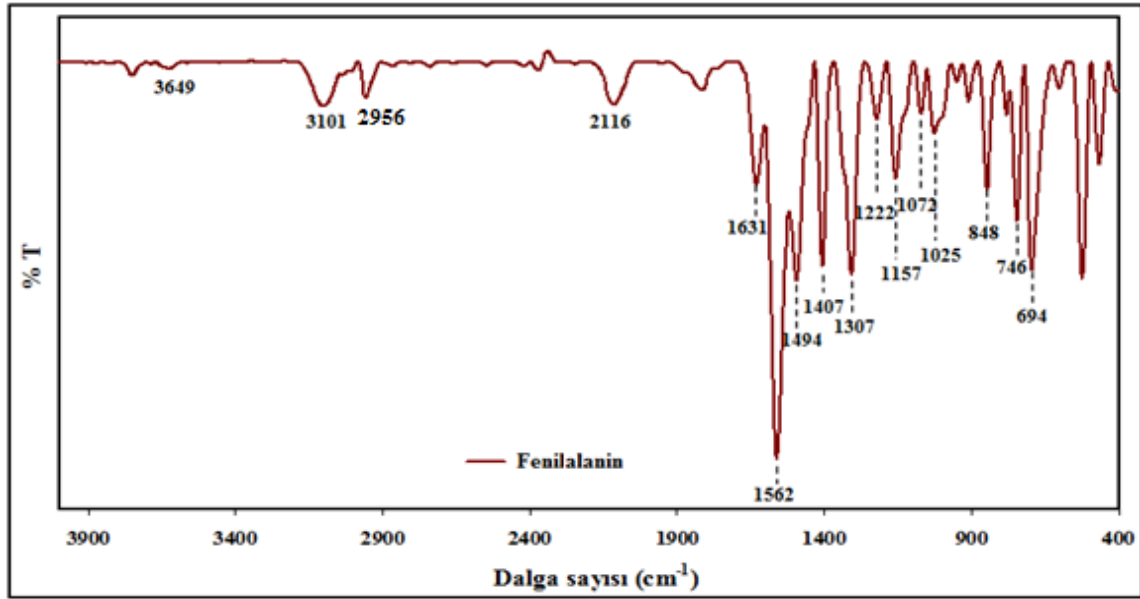
Şekil 4.32. Farklı konsantrasyonlarda MMT içeren hidrojellerin % denge şişme değerlerinin montmorillonit miktarı ile değişimi (Reaksiyon koşulları: [APS]= 5×10^{-4} M, [TEGDE]= 5×10^{-4} M, $m_{\text{agar}}:m_{\kappa\text{-karagenan}}= 1:4$ ve $T= 70$ °C).

Grafikten görüldüğü üzere, montmorillonit konsantrasyonunun artmasıyla, hidrojellerin denge şişme oranlarında bir azalma meydana gelmektedir (Şekil 4.32). Bu durum kil miktarının artmasıyla polimerik yapının sıkılaşması ve elastiklik özelliğinin azalmasıyla açıklanabilir (Yadav ve Rhee 2012). Literatürde yapılan çalışmalara bakıldığında benzer sonuçlara rastlanmaktadır. Kokabi vd. (2007), organik olarak modifiye edilmiş sodyum montmorillonit (MMT) ve polivinil alkol (PVA) kullanarak üstün fiziksel, mekaniksel ve morfolojik özelliklere sahip, elastik yapıda nanokompozit hidrojel yara örtüsü materyali hazırlamışlardır. Elde ettikleri PVA-MMT nanokompozit hidrojellerinin şişme kapasitelerinin artan kil konsantrasyonu ile azaldığını ifade etmişlerdir. N-izopropilakrilamid ve kuaterner amonyum tuzu ile modifiye edilmiş montmorillonit kullanılarak sentezlenen nanokompozit hidrojellerin de artan kil miktarıyla % şişme değerlerinin azaldığı rapor edilmiştir (Lee ve Fu 2003).

4.3. Karakterizasyon Testleri

4.3.1. FTIR analizi

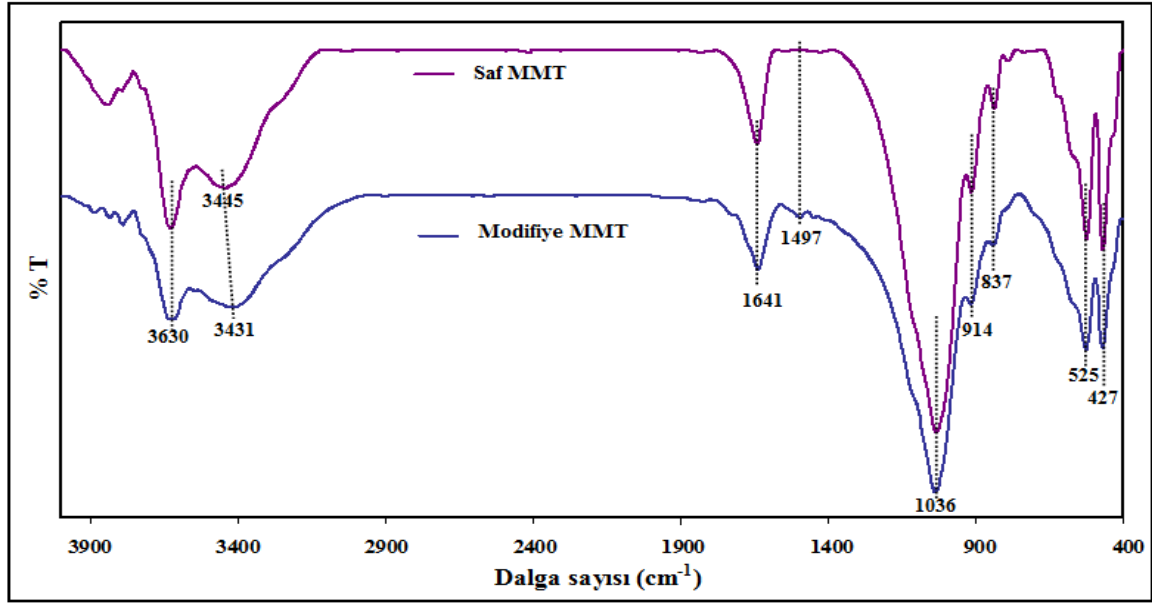
Şekil 4.33'te fenilalanine ait FTIR spektrumu görülmektedir. Spektrum incelendiğinde, 3649 cm^{-1} 'de -NH gerilme titreşimi, 3101 cm^{-1} 'de aromatik -CH gerilme titreşimi, 2956 cm^{-1} 'de alifatik -CH gerilme titreşimi, 2116 cm^{-1} 'de C=C gerilme titreşimi, 1631 cm^{-1} 'de NH_3^+ bükülme titreşimi, 1562 cm^{-1} 'de -C=O anti simetrik gerilme titreşimi, 1494 cm^{-1} 'de -COO⁻ gerilme titreşimi, 1407 cm^{-1} 'de -C=O simetrik gerilme piki, 1307 cm^{-1} 'de -OH eğilme titreşimi, 1222 cm^{-1} 'de -CH₂ sallanma titreşimi, 1157 cm^{-1} 'de -C-C gerilme titreşimi, 1072 cm^{-1} 'de aril grubuna ait titreşim ve 1025 cm^{-1} 'de -C-N gerilme titreşimi görülmektedir. 848 cm^{-1} 'de para-süstitüye benzenden kaynaklanan moleküler bir hareket, 746 cm^{-1} 'de düzlem içi bükülme titreşimi ve 694 cm^{-1} 'de benzen halkasından kaynaklı bir titreşim görülmektedir (Mehta vd. 2011).



Şekil 4.33. Fenilalanin amino asitine ait FTIR spektrumu.

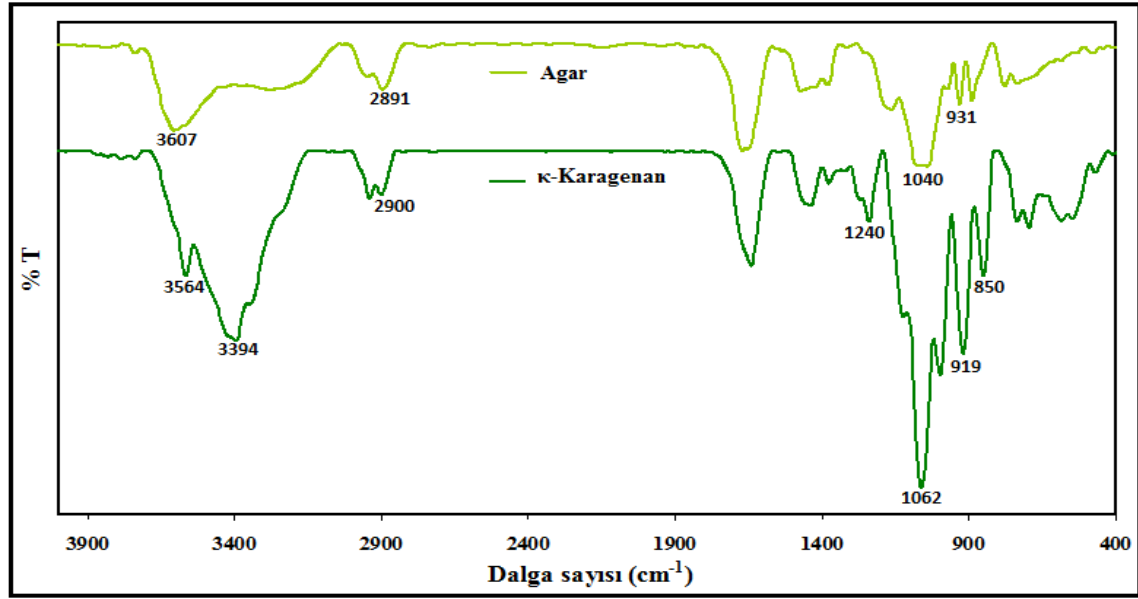
Şekil 4.34'te saf MMT ve fenilalanin amino asiti ile modifiye edilmiş MMT kilinin FTIR spektrumları görülmektedir. Montmorillonit için en karakteristik absorpsiyon pikleri 3400 cm^{-1} civarında görülen yayvan pik ile 1600 cm^{-1} civarında görülen keskin piktir. Bu pikler sırasıyla adsorplanmış suya ait gerilme ve bükülmelere karşılık gelmektedir. Şekil 4.34'teki saf kil spektrumunda, 1641 cm^{-1} 'deki keskin ve 3445 cm^{-1} 'deki yayvan pik sırasıyla adsorplanmış suya ait gerilme ve bükülmelere karşılık gelmektedir (Mekewi vd. 2016). 3630 cm^{-1} 'de görülen keskin pik oktahedral tabakadaki Al-Al-OH gerilme titreşimlerini göstermektedir. Kilin yapısında bulunan Si-O bağına ait gerilme titreşimleri 1036 cm^{-1} 'de görülmektedir. Bunun yanı sıra, 914 cm^{-1} 'de Al-Al-OH, 837 cm^{-1} 'de Al-Mg-

OH ve 808 cm^{-1} 'de Mg-Fe-OH eğilme titreşimleri ortaya çıkmaktadır. 525 cm^{-1} ve 427 cm^{-1} 'de ise sırasıyla Si-O-Al ve Si-O-Mg eğilme titreşimleri görülmektedir. Fenilalanin amino asiti ile modifiye edilmiş montmorillonite ait spektrum incelendiğinde, en önemli fark O-H gerilme titreşimlerinde görülmektedir. Saf montmorillonite ait O-H gerilme titreşimi 3445 cm^{-1} 'de iken, modifiye montmorillonite ait O-H gerilme titreşimi 3431 cm^{-1} 'de yer almaktadır. Ayrıca; 1497 cm^{-1} 'de ortaya çıkan karboksilat anyonuna ait gerilme piki montmorillonitin, fenilalanin amino asiti ile modifikasyonunun başarılı bir şekilde gerçekleştiğini göstermektedir (Fudala vd. 1999).



Şekil 4.34. Saf MMT ve fenilalanin amino asiti ile modifiye edilmiş MMT kilinin FTIR spektrumları.

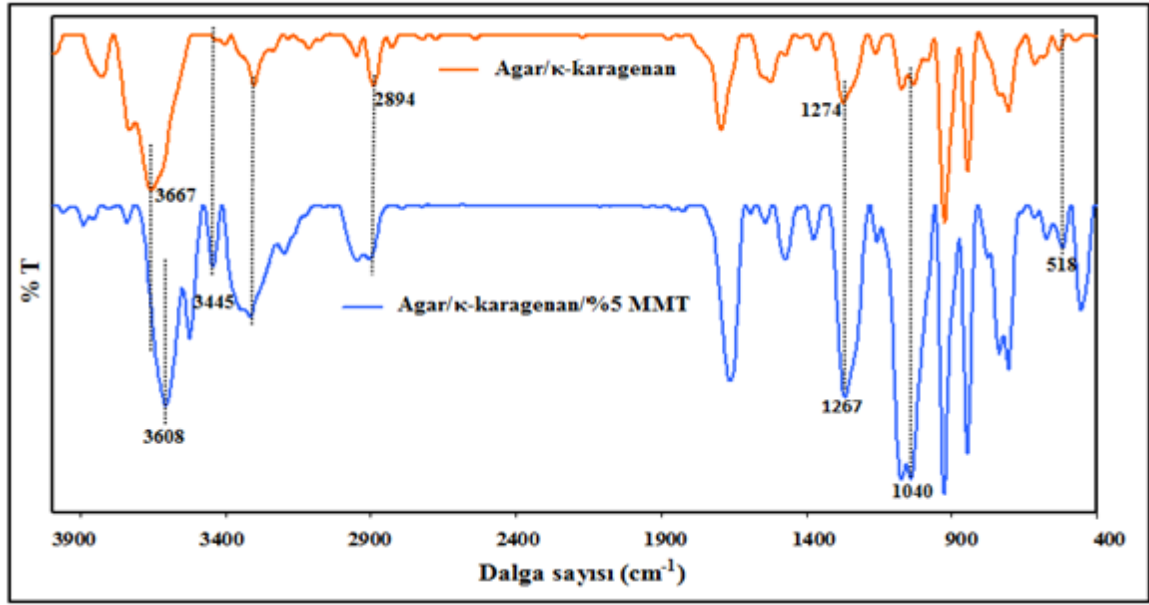
Saf agar ve saf κ -karagenana ait FTIR spektrumları Şekil 4.35'te gösterilmektedir.



Şekil 4.35. Saf agar ve saf κ -karagenana ait FTIR spektrumları.

Agar ve κ -karagenana ait FTIR spektrumları (Bkz. Şekil 4.35) incelendiğinde, 3400-3000 cm^{-1} 'de görülen absorpsiyon pikleri bu polisakkaritlerin hidrofilik yapısından sorumlu olan hidroksil gruplarına aittir. Bunun yanı sıra, 2900 cm^{-1} 'de C-H (CH_2) gruplarına ait gerilme titreşimleri görülmektedir. 1240 cm^{-1} 'de κ -karagenana ait karakteristik sülfat esterlerinin (S=O) absorpsiyon piki yer almaktadır (Pereira vd. 2009). Polisakkaritlerde yaygın olarak görülen C-O ve C-O-C bağlarına ait gerilme ve bükülme titreşimleri 1040 cm^{-1} civarında görülmektedir. 3,6-Anhidro-D-galaktoz gerilme titreşimi agar için 931 cm^{-1} 'de ve κ -karagenan için 919 cm^{-1} 'de görülmektedir. 850 cm^{-1} 'deki pik κ -karagenana ait karakteristik D-galaktoz-4-sülfat eğilme titreşimini belirtmektedir (Garrido vd. 2016; Zhang vd. 2016).

Optimum reaksiyon koşullarına göre hazırlanmış kil içermeyen ve %5 kil içeren hidrojelilerin FTIR spektrumları Şekil 4.36'da yer almaktadır.



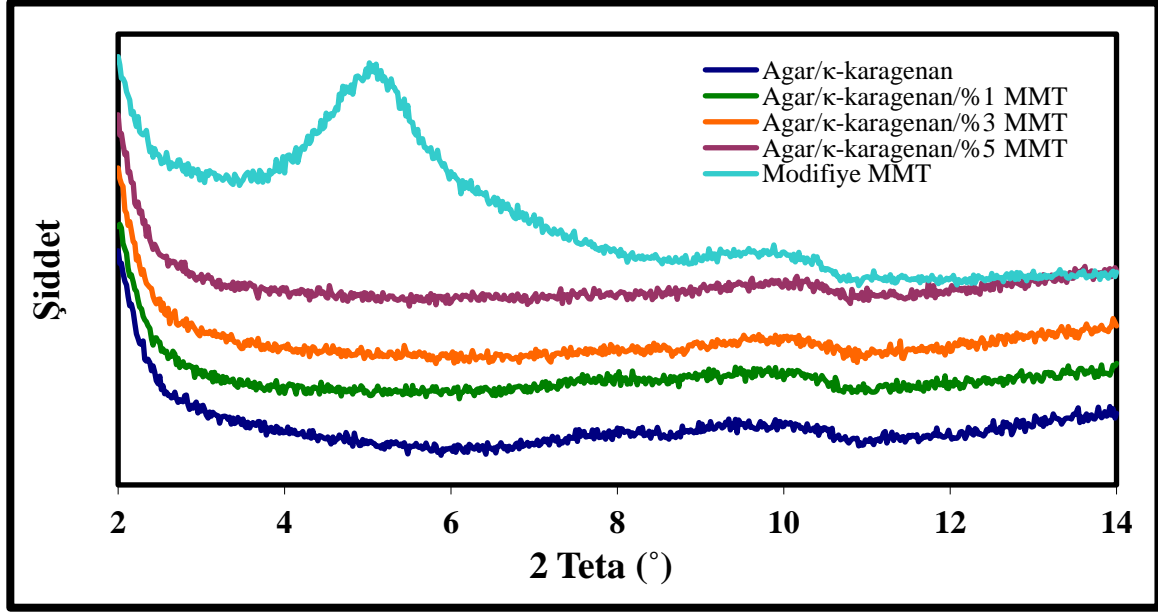
Şekil 4.36. Optimum koşullara göre hazırlanmış kil içermeyen hidrojele (MMT-%0) ve %5 kil içeren hidrojele ait FTIR spektrumları.

Agar ve κ -karagenan içeren hidrojele (MMT-%0) ait FTIR spektrumuna bakıldığında (Bkz. Şekil 4.36), belirgin değişiklikler göze çarpmaktadır. Öncelikle, montmorillonit kilindeki hidroksil gruplarına karşılık gelen $3400-3000\text{ cm}^{-1}$ bölgesindeki geniş ve yayvan piklerin gözden kaybolduğu görülmektedir. Bununla birlikte hidrojel oluşumuyla absorpsiyon piklerinde görülen bir başka değişme de C-H gerilme titreşimi bölgesidir. Saf agar için C-H gerilme titreşimi 2891 cm^{-1} ve saf κ -karagenan için 2900 cm^{-1} iken, hidrojel örneğinde bu değer 2894 cm^{-1} 'e kaymıştır. Bu durum, hidrojen bağı oluşumuyla yeni etkileşimlerin meydana geldiğini göstermektedir. 1240 cm^{-1} 'de gözlenen κ -karagenana ait sülfat pikinin (Şekil 4.35), kil içeren ve içermeyen nanokompozit yapılar da sırasıyla 1267 cm^{-1} ve 1274 cm^{-1} 'e kaydığı görülmektedir. Hidrojel yapısı içerisine montmorillonit kilinin eklenmesiyle 3630 cm^{-1} 'deki kile ait karakteristik Al-Al-OH gerilme titreşimlerine ait pikin kaybolduğu görülmektedir. Modifiye MMT'de 3431 cm^{-1} 'de görülen O-H gerilme titreşimi kil içeren hidrojel örneğinde 3445 cm^{-1} 'de ortaya çıkmıştır. Ayrıca; kil içeren hidrojel örneğinde 518 cm^{-1} 'de görülen pik, kile ait Si-O-Al eğilme titreşiminden kaynaklanmaktadır. Bu veriler montmorillonit kilinin başarılı bir şekilde yapıya katıldığını göstermektedir (Bao vd. 2011; Mahdavinia vd. 2012).

4.3.2. Hidrojellerin XRD analizi

XRD analizi killerin tabakalar arası boşluk değerleri hakkında bilgi vermekle kalmaz, aynı zamanda polimer matriksi içindeki dağılımları hakkında da bilgi verir. Eksfoliye sistemlerde, kil tabakaları, matriks içinde tamamen dağılmış durumda olduğundan XRD grafiklerinde kile ait pik gözlenmemektedir. Şekil 4.37'de sunulan XRD

grafikleri incelendiğinde, montmorillonit kilinin görüldüğü 2θ açısı bölgesinde, hidrojellere ait herhangi bir pikin görülmemesi kil tabakalarının birbirinden ayrıldığını, hidrojel/kil nanokompozitlerin eksfoliyasyon davranış gösterdiğini kanıtlamaktadır.



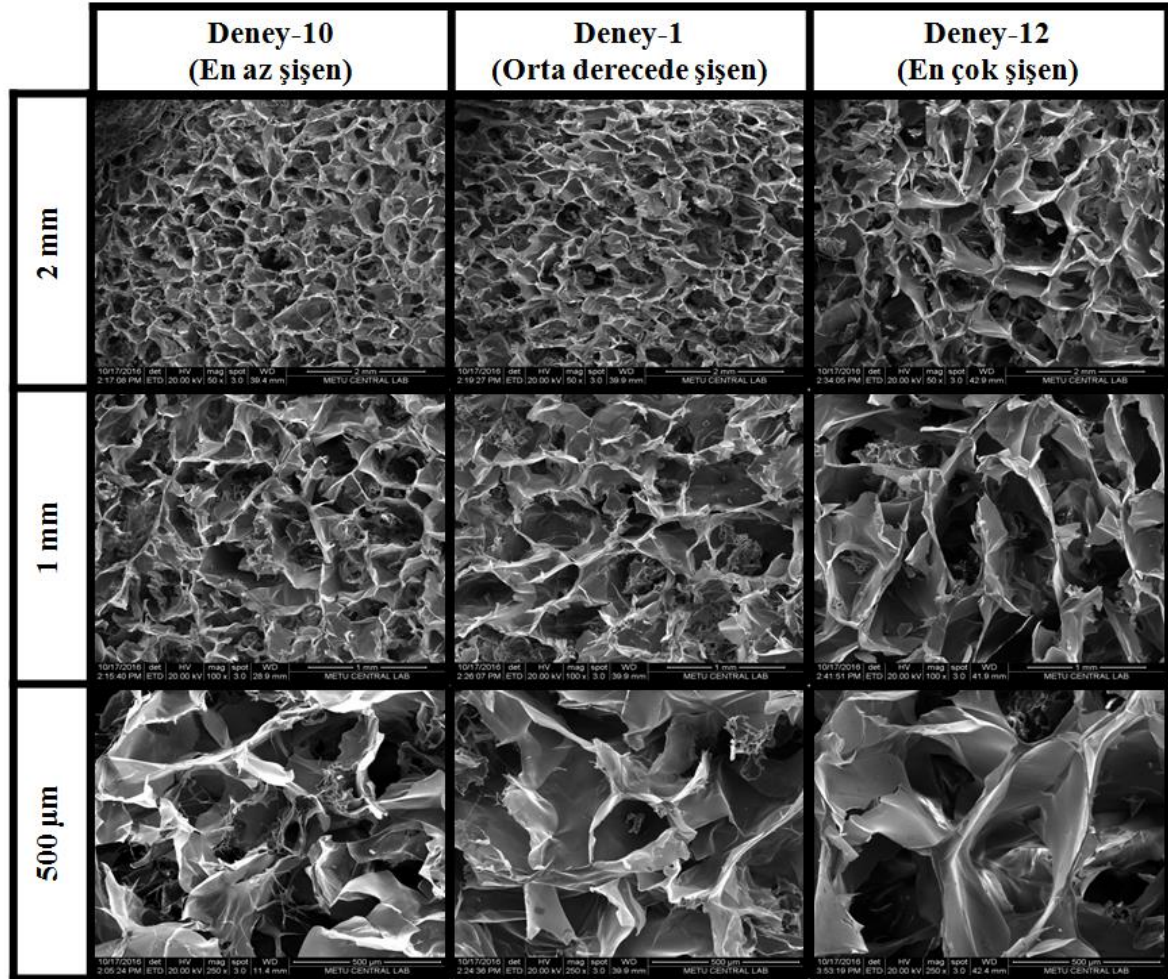
Şekil 4.37. Modifiye edilmiş montmorillonit kilinin ve kil içeren hidrojellerin XRD spektrumları.

Noori vd. (2015) tarafından yara örtüsü materyali olarak geliştirilen polivinilalkol/kitosan/montmorillonit nanokompozit hidrojelinin XRD spektrumu sonuçlarına göre montmorillonit kili, $2\theta = 8,96^\circ$ de bir pik verirken, nanokompozit hidrojelin herhangi bir pik vermediği saptanmıştır. Bu sonuç, hazırlanan nanokompozit hidrojelin eksfoliyasyon yapıda olduğunu yani kilin tabakalarının polimer yapı içerisinde iyi bir biçimde dağıldığını göstermiştir. Wang vd. (2012), uzun zincirli kuaterner amonyum tuzu ile montmorillonit kilini modifiye ederek, PMMA/kil nanokompozitlerinin sentezini gerçekleştirmişler ve sentezledikleri polimer/kil nanokompozitlerinin tabakalar arası uzaklıklarını XRD ile belirleyerek, kil tabakalarının polimer yapı içerisinde eksfoliyasyon dağılım sergilediğini belirtmişlerdir.

4.3.3. SEM ve EDS analizleri

Hidrojel yapıların yüzey morfolojilerinin incelenmesi, hidrojellerin karakterizasyonu açısından büyük önem taşımaktadır (Aouada vd. 2011; Chen ve Park 2000). Bu nedenle, çalışmada sentezlenen hidrojellerin yüzey özellikleri ve gözenek yapıları hakkında fikir edinebilmek için taramalı elektron mikroskobundan yararlanılmıştır. Optimum koşulları belirlemek amacıyla yapılan hidrojel sentezi çalışmalarının sonucunda

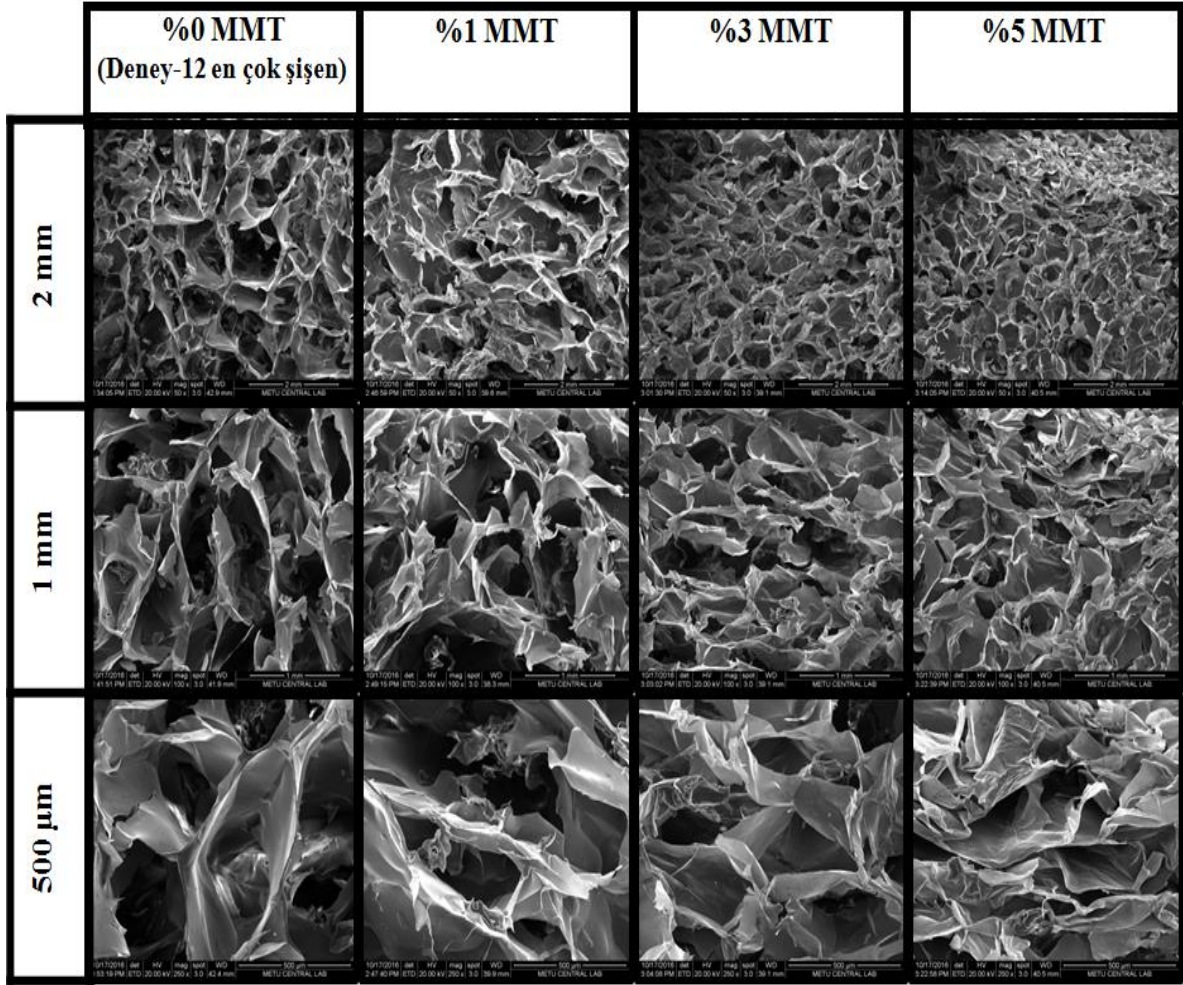
elde edilen en az, orta ve en çok şişme derecesine sahip hidrojel örneklerine ait SEM fotoğrafları Şekil 4.38'de yer almaktadır.



Şekil 4.38. Farklı büyütmelerde (50X, 100X ve 250X), kil içermeyen farklı şişme derecelerine sahip agar/ κ -karagenan hidrojellerine ait SEM görüntüleri.

Şekil 4.38'e bakıldığında, şişme derecesi yüksek olan hidrojin gözenek boyutunun da daha büyük olduğu açıkça görülmektedir.

Optimum reaksiyon koşullarına göre hazırlanmış (Deney No: 12'ye göre elde edilen), en yüksek şişme derecesine sahip hidrojele farklı oranlarda (%0, %1, %3 ve %5 oranında) kil ilave edilerek hazırlanan agar/ κ -karagenan/MMT hidrojellerine ait SEM görüntüleri Şekil 4.39'da verilmektedir.

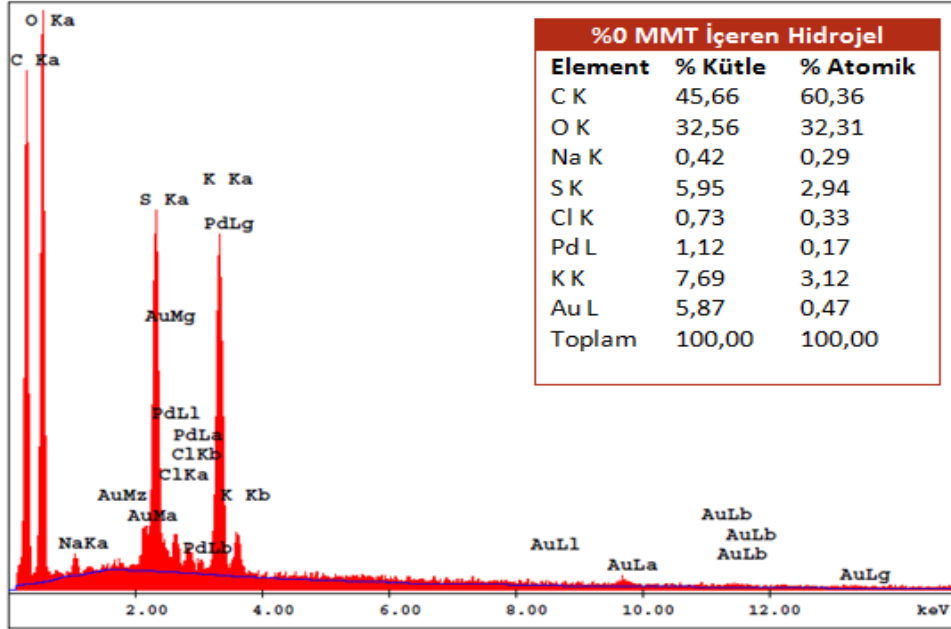


Şekil 4.39. Farklı büyütmelerde (50X, 100X ve 250X), farklı konsantrasyonlarda kil içeren agar/ κ -karagenan/MMT hidrojellerine ait SEM görüntüleri.

%0, %1, %3 ve %5 MMT içeren hidrojellerin SEM görüntüleri incelendiğinde (Bkz. Şekil 4.39), hidrojel matrisi içerisindeki kil miktarı artışıyla hidrojin gözenek boyutunun küçüldüğü görülmektedir. Gao vd. (2014), tarafından gerçekleştirilen benzer bir çalışmada 2-akrilamido-2-metilpropan-sülfonik asit (AMPS) ile akrilamid (AAm) monomerleri kullanılarak hazırlanan hidrojelere %0,1 ile %2,0 arasında değişen konsantrasyonlarda attapulgit kili katılmıştır. Nanokompozitlere ait SEM görüntülerinin değerlendirilmesi sonucunda, kil miktarındaki artışla birlikte hidrojellerin gözenek büyüklüğünün belirgin bir şekilde küçüldüğü belirtilmiştir. Dinu vd. (2016), farklı oranlarda klinoptilolit kili içeren kitosan/klinoptilolit biyokompozit kriyojellerini hazırlamışlar ve bu kriyojellerin ilaç salım özelliklerini incelemiştir. Sentezledikleri kriyojellerin SEM fotoğrafları, biyokompozit yapı içerisinde artan kil konsantrasyonu ile gözeneklerin küçüldüğünü ve gözenek çeperlerinin kalınlaştığını ortaya koymuştur. Ayrıca,

Dinu vd. (2016), elde ettikleri bu sonucun, kriyojellerin şişme davranışları ve ilaç salım özellikleri ile paralellik gösterdiğini bildirmişlerdir.

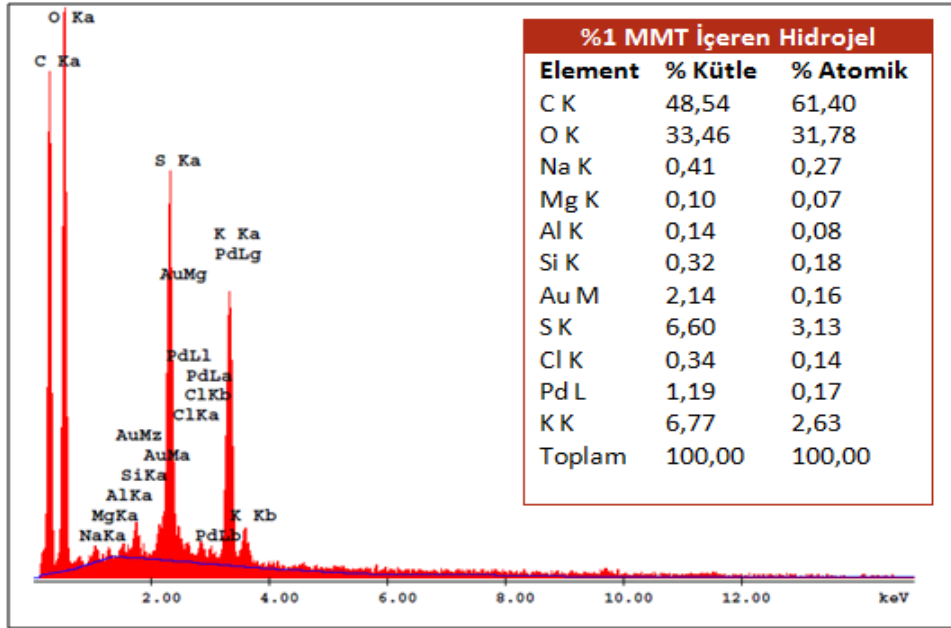
Şekil 4.40'ta montmorillonit içermeyen agar/ κ -karagenan hidrojeline ait EDS spektrumu verilmektedir.



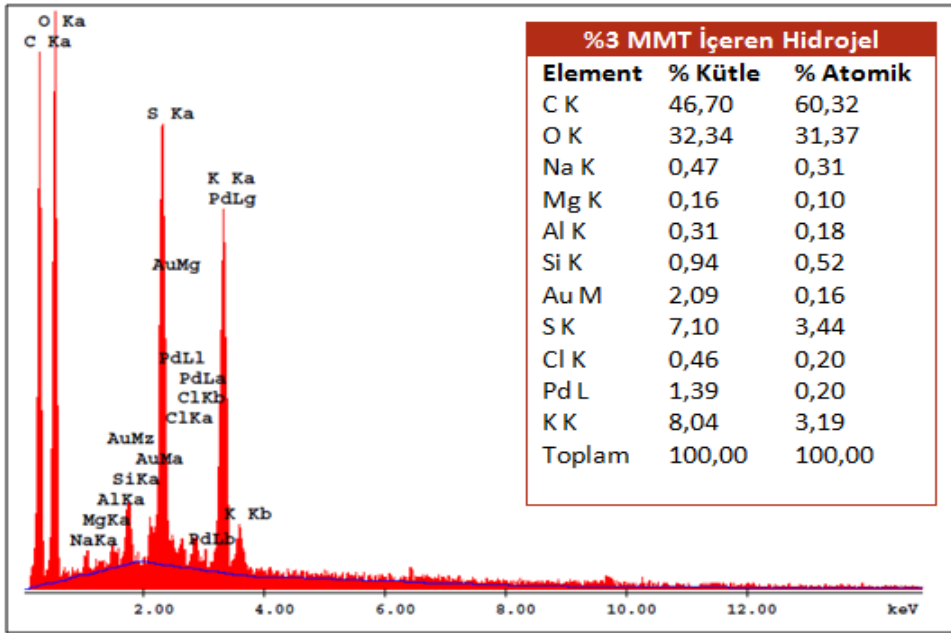
Şekil 4.40. Kil içermeyen agar/ κ -karagenan hidrojeline ait EDS spektrumu.

Şekil 4.40'ta yer alan EDS spektrumunda görüldüğü üzere, agar / κ -karagenan hidrojeline montmorillonit kiline ait olan Mg, Al ve Si elementleri yer almamaktadır.

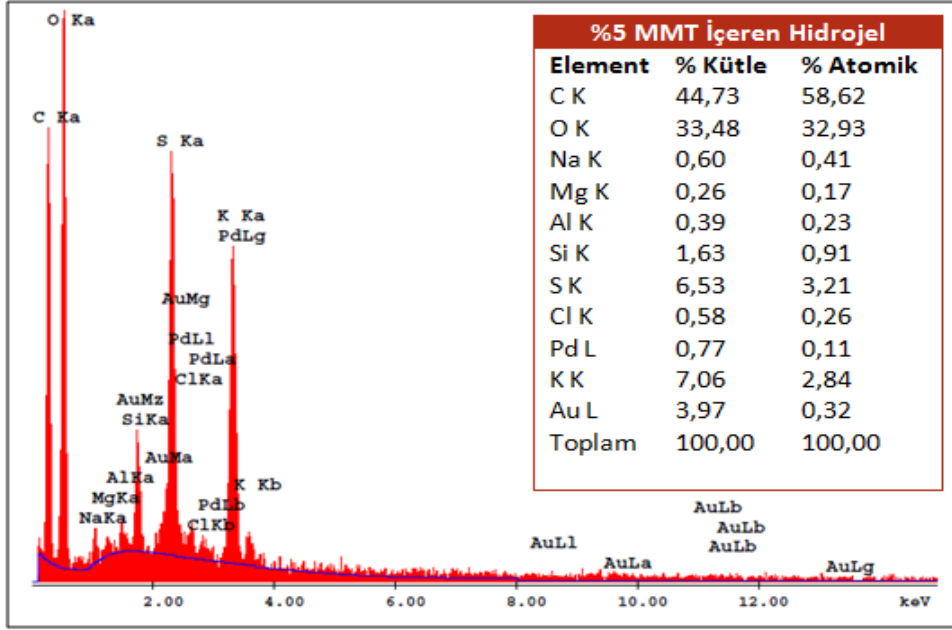
Şekil 4.41-4.43'te farklı oranlarda (%1, %3 ve %5 oranında) kil ilave edilerek hazırlanan agar/ κ -karagenan/MMT hidrojellerine ait EDS spektrumları verilmektedir. Şekil 4.44'te ise agar/ κ -karagenan/MMT hidrojellerinin elementel haritalama sonucu elde edilen görüntüleri yer almaktadır.



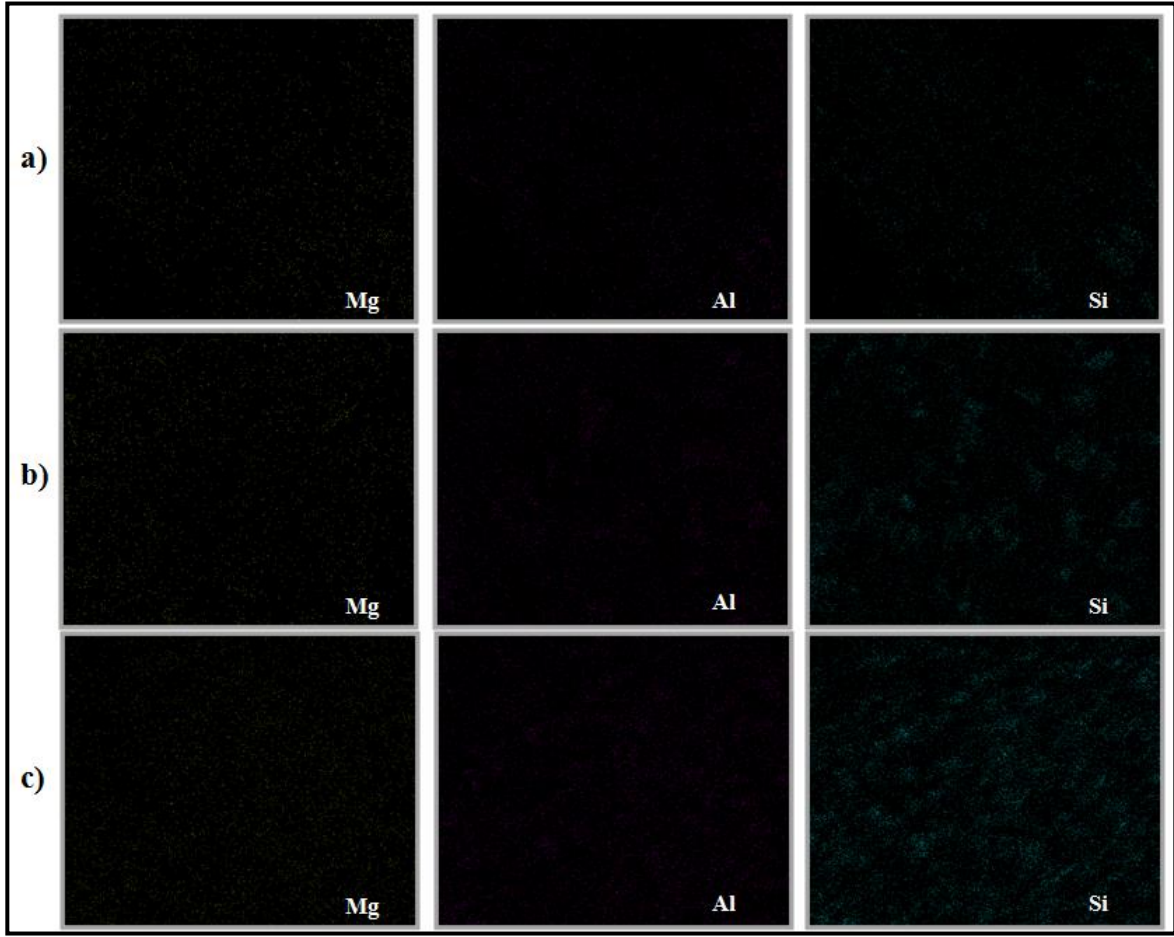
Şekil 4.41. %1 Kil içeren agar/ κ -karagenan/MMT hidrojeline ait EDS spektrumu.



Şekil 4.42. %3 Kil içeren agar/ κ -karagenan/MMT hidrojeline ait EDS spektrumu.



Şekil 4.43. %5 Kil içeren agar/ κ -karagenan/MMT hidrojeline ait EDS spektrumu.

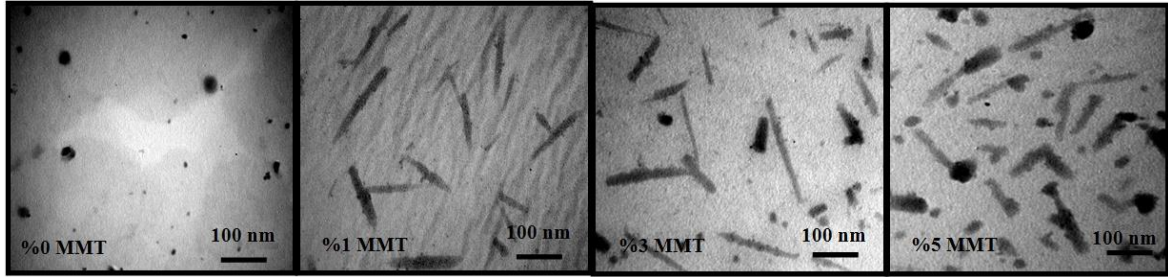


Şekil 4.44. %1 (a), %3 (b) ve %5 (c) kil içeren agar/ κ -karagenan/MMT hidrojenlerinin elementel haritalamalarına ait görüntüler.

Şekil 4.41, Şekil 4.42 ve Şekil 4.43'te verilen EDS spektrumları ve Şekil 4.44'teki elementel haritalama görüntüleri incelendiğinde, hidrojel içerisindeki montmorillonit miktarının artması ile kil kompozisyonunda ağırlıklı olarak yer alan Mg, Al ve Si elementlerinin konsantrasyonlarının giderek arttığı görülmektedir. Bu sonuç, kilin hidrojel yapı içerisinde uniform bir şekilde dağıldığını kanıtlamaktadır.

4.3.4. TEM analizi

TEM analizi, nanokompozit yapıları karakterize etmek için XRD'nin tamamlayıcı bir tekniğidir. Şekil 4.45'te %0, %1, %3 ve %5 MMT içeren agar/ κ -karagenan/montmorillonit hidrojenlerinin TEM fotoğrafları verilmiştir.

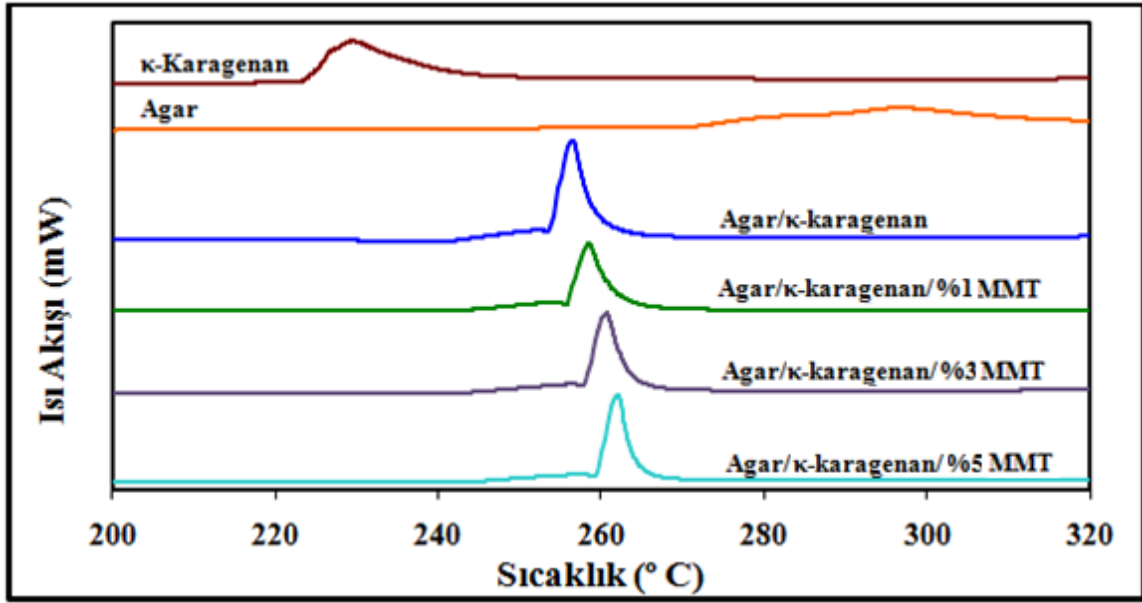


Şekil 4.45. Agar/ κ -karagenan ve agar/ κ -karagenan/montmorillonit hidrojellerine ait TEM görüntüleri.

Şekil 4.45'ten görüldüğü üzere, montmorillonit kili, hidrojel örnekleri içerisinde eksfoliye bir dağılım göstermektedir. TEM sonuçları, daha önce elde edilen XRD analiz sonuçlarını desteklemektedir.

4.3.5. DSC analizi

Montmorillonit kili içermeyen ve üç farklı konsantrasyonda kil içeren agar/ κ -karagenan/MMT hidrojel sistemleri hazırlandıktan sonra liyofilizatörde kurutulmuş ve öğütülerek toz haline getirilmiştir. Bu şekilde hazırlanan 4 adet hidrojel numunesinin termal davranışları Mettler Toledo marka 823e model DSC cihazı kullanılarak 10 °C/dk ısıtma hızında, 20 °C ile 320 °C sıcaklık aralığında ve azot atmosferinde karakterize edilmiştir. Elde edilen agar/ κ -karagenan ve agar/ κ -karagenan/montmorillonit hidrojellerine ait DSC termogramları Şekil 4.46'da gösterilmektedir.



Şekil 4.46. Saf κ -karagenana, saf agara ve agar/ κ -karagenan ve agar/ κ -karagenan/montmorillonit hidrojellerine ait DSC termogramları.

Şekil 4.46'da, saf κ -karagenanın, saf agarın ve toplam polisakkarit kütlelerinin %1'i, %3'ü ve %5'i oranında kil içeren hidrojel sistemlerinin bozunma sıcaklıklarını gösteren DSC termogramları verilmektedir. Hidrojel matrisi içerisindeki kil miktarının kütlece %0'dan %5'e çıkarılmasıyla, hidrojel bozunma sıcaklığının 256,6 °C'den 262,1 °C'ye çıktığı görülmektedir. Artan kil miktarıyla hidrojellerin termal kararlılıklarının artmasının sebebi, hidrojellerin serbest hacminde azalmanın meydana gelmesi sonucu yapının sıkışması ve polimer zincirinin hareketliliğinin kısıtlanması şeklinde açıklanabilir. Jaymand (2011)'in çalışmasında, montmorillonit kili heksadesil trimetil amonyum klorür tuzu ile modifiye edilmiş ve polistiren/montmorillonit nanokompoziti sentezlenmiştir. Jaymand (2011), elde ettiği kil içeren nanokompozitin, kil içermeyen nanokompozite göre daha yüksek bir sıcaklıkta bozduğunu bildirmiştir. Mohd vd. (2016), sodyum montmorillonit (Na-MMT), n-hekzadesil trimetil amonyum bromür ile modifiye edilmiş montmorillonit (CTAB-MMT) ve ticari montmorillonit (Cloisite15A) olmak üzere üç farklı türde kil kullanarak, jellan gam ile kompozit hidrojel hazırlamışlardır. Mohd vd. (2016), gerçekleştirdikleri bu çalışmada farklı türde kil kullanılarak hazırlanan hidrojellerin termal davranışlarını incelemişler ve ticari montmorillonit ile hazırladıkları hidrojel termal kararlılığının diğerlerinden daha iyi olduğunu belirtmişlerdir.

4.3.6. Hidrojellerin transparan özelliğinin incelenmesi

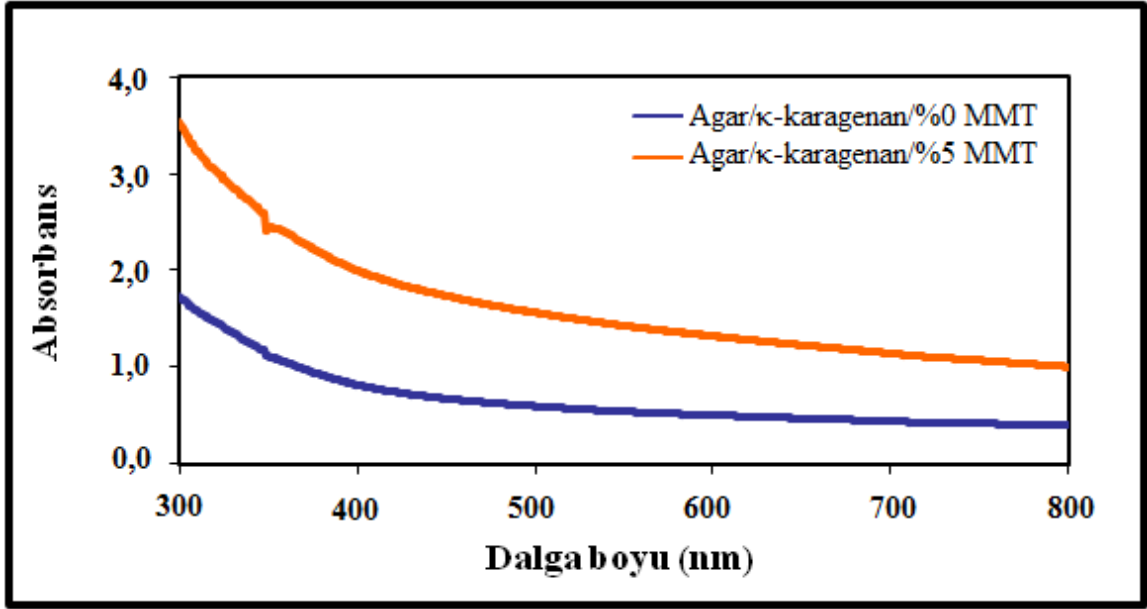
Yaranın iyileşme sürecinin takibini kolaylaştırmak açısından, kullanılan yara örtüsü materyallerinin transparan olması önemlidir (Wang vd. 2007). Şekil 4.47'de verilen fotoğraflardan görüldüğü üzere kil içermeyen hidrojel oldukça transparan olduğu,

çalışılan en yüksek konsantrasyonda kil içeren hidrojel in ise biraz opaklaştığı ama yine de transparanlığını koruduğu görülmektedir.



Şekil 4.47. Agar/κ-karagenan ve agar/κ-karagenan/%5 MMT hidrojellerinin transparanlığının karşılaştırılması.

Şekil 4.48’de kil içermeyen ve %5 oranında kil içeren hidrojellerin absorbands-dalga boyu grafiği verilmiştir.

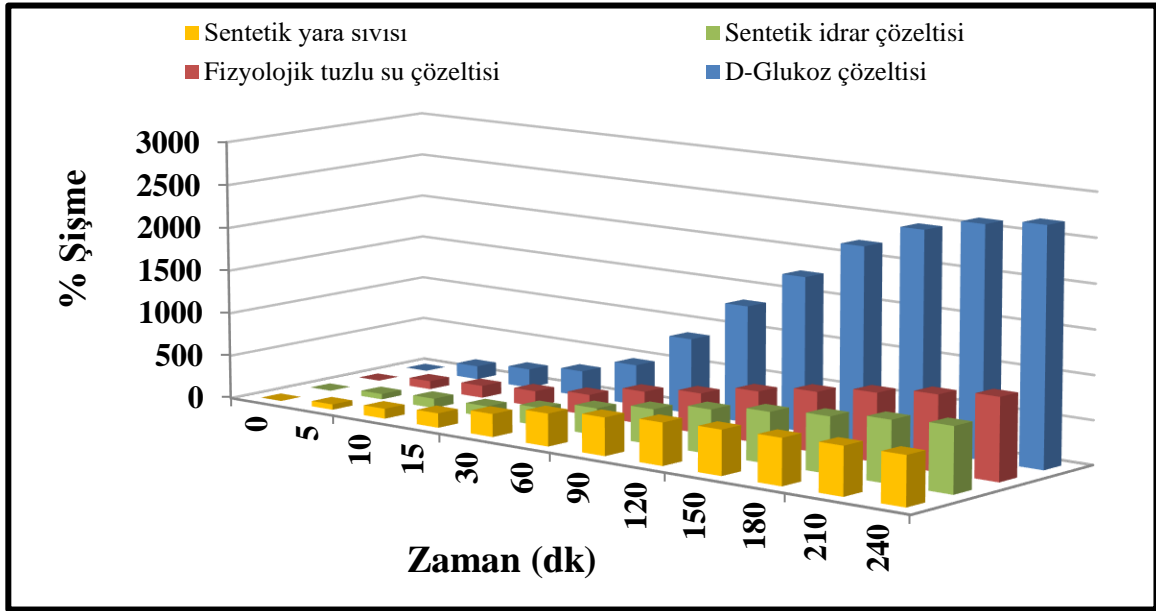


Şekil 4.48. Agar/κ-karagenan ve agar/κ-karagenan/%5 MMT hidrojellerine ait absorbanst-dalga boyu grafiği.

Yapılan hesaplamalar sonucu agar/κ-karagenan hidrojelinin opasite değeri $0,051 \pm 0,001$ olarak ve agar/κ-karagenan/%5 MMT hidrojelinin opasite değeri ise $0,132 \pm 0,001$ olarak bulunmuştur (Bkz.Bölüm 3.2.4.6). Elde edilen bu değerler, hidrojel matriksinde kil bulunmasıyla hidrojelinin opasitesinin arttığını ve biraz matlaştığını göstermektedir.

4.4. Hidrojellerin Fizyolojik Sıvılarda Şişme Testleri

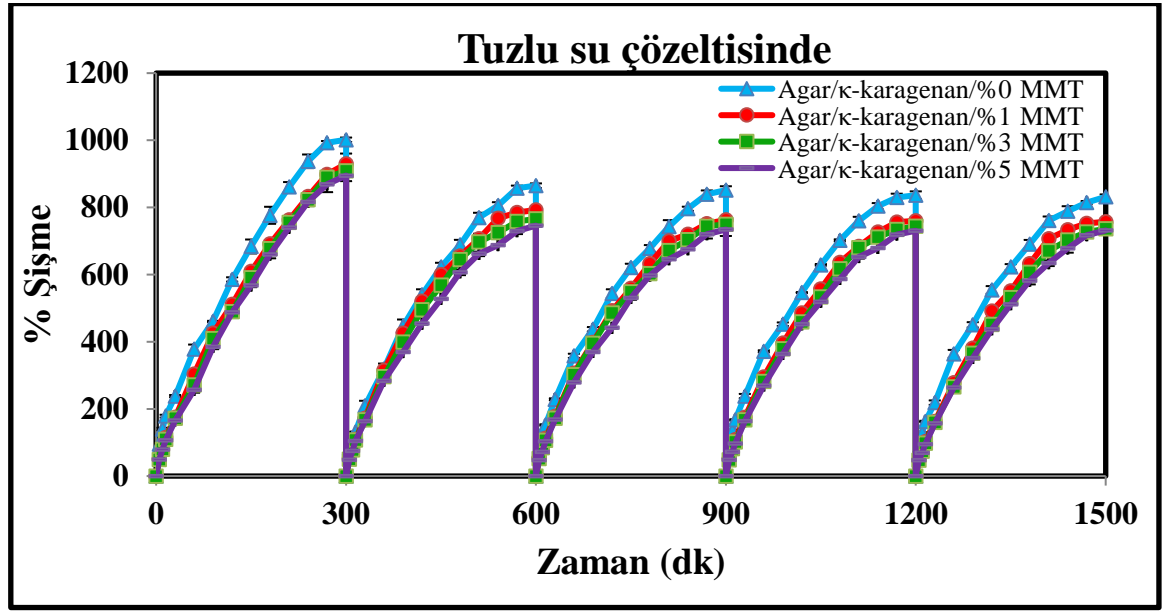
Hidrojellerin, sentetik yara sıvısı, sentetik idrar çözeltisi, fizyolojik tuzlu su çözeltisi ve D-glukoz çözeltisi olmak üzere çeşitli fizyolojik ortamlardaki şişme davranışları ve su tutma kapasiteleri incelenmiştir. Şekil 4.49'da, farklı fizyolojik ortamların, hidrojellerin 1. kullanım sonundaki şişme miktarlarına olan etkisi görülmektedir.



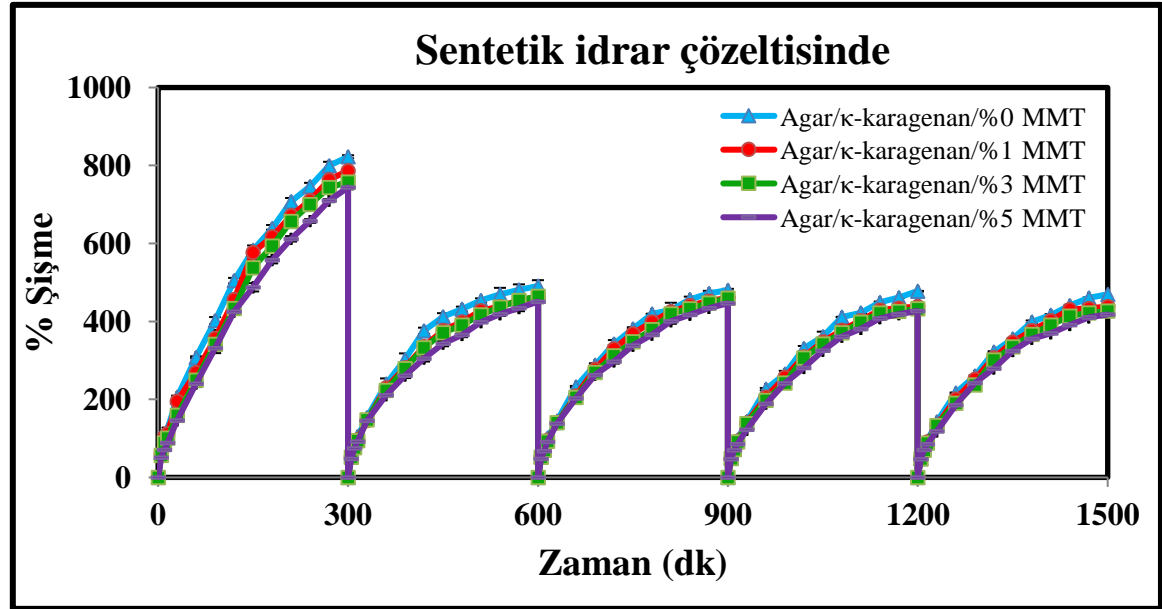
Şekil 4.49. Kil içermeyen agar/κ-karagenan hidrojelinin farklı fizyolojik sıvılarda 1.kullanım sonrası % şişme miktarlarının karşılaştırılması.

Şekil 4.49'da yer alan grafik incelendiğinde, glukoz çözeltisi içerisindeki hidrojellerin şişme yüzdelerinin sentetik yara sıvısındaki, tuzlu su ve sentetik idrar çözeltisindeki hidrojellere göre çok daha yüksek olduğu görülmektedir.

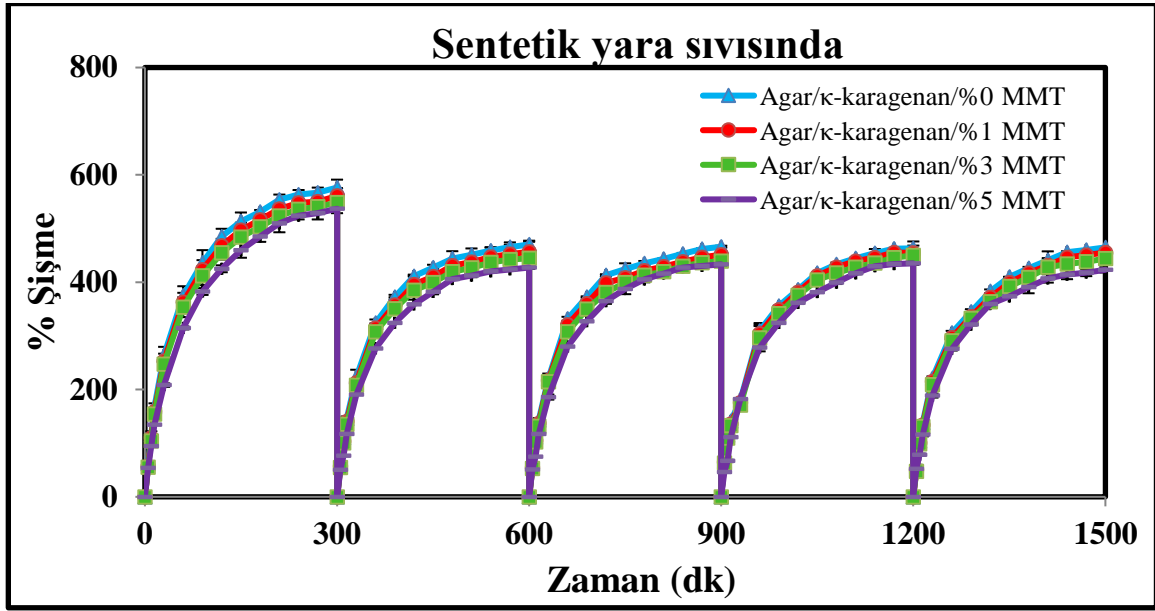
1. kullanım sonunda denge şişme değerine ulaşan hidrojeller, kurutulduktan sonra aynı fizyolojik ortamlara bırakılmış ve tekrar şişme işlemine tabi tutulmuşlardır. Bu işlem, aynı numune için 5 kez tekrarlanmış ve deneyler sonucu elde edilen tartım verileri kullanılarak % şişme-zaman grafikleri çizilmiştir. Elde edilen grafikler tuzlu su çözeltisi için Şekil 4.50'de, sentetik idrar çözeltisi için Şekil 4.51'de sentetik yara sıvısı için Şekil 4.52'de ve glukoz çözeltisi için Şekil 4.53'te sunulmuştur.



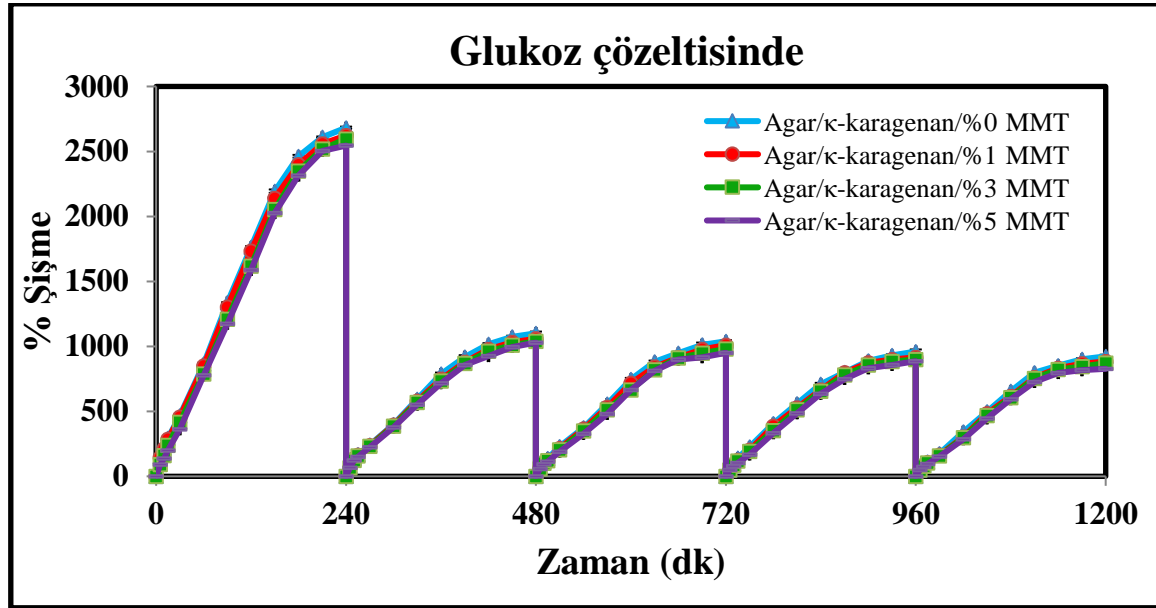
Şekil 4.50. Kil içeren ve içermeyen hidrojelilerin NaCl çözeltisinde (0,9 g NaCl/100 mL çözelti) şişme-büzülme döngüsü.



Şekil 4.51. Kil içeren ve içermeyen hidrojelilerin sentetik idrar çözeltisinde ((0,1 g $MgSO_4$ +0,06 g $CaCl_2$ +2 g üre+0,8 g NaCl)/100 mL çözelti) şişme-büzülme döngüsü.



Şekil 4.52. Kil içeren ve içermeyen hidrojellerin sentetik yara sıvısında ((0,68 g NaCl+0,22 g KCl+2,5 g NaHCO₃+0,35 g NaH₂PO₄)/100 mL çözelti) şişme-büzülme döngüsü.



Şekil 4.53. Kil içeren ve içermeyen hidrojellerin glukoz çözeltisinde (5 g glukoz/100 mL çözelti) şişme-büzülme döngüsü.

Hidrojellerin NaCl çözeltisinde şişme-büzülme döngüsünü gösteren grafik Şekil 4.50'de verilmektedir. Grafiğe genel olarak bakıldığında, her bir döngü için, artan kil miktarıyla şişme derecelerinde bir azalma meydana gelmektedir. Örneklerin NaCl çözeltisi

içerisindeki 1. şişme miktarı, daha önce gerçekleştirilen deiyonize sudaki şişme miktarlarına göre oldukça düşüktür (Bkz. Bölüm 4.1 ve Bölüm 4.2). Hidrojellerin tuz çözeltileri içerisindeki şişme oranlarındaki azalmanın sebebi, katyonların "yük perdeleyici etki" oluşturarak polimerik yapı ile çözelti fazı arasındaki osmotik basıncı azaltmasından kaynaklanmaktadır (Lim vd. 2001). Buna ilaveten, iyonik şiddetin artması sonucu κ -karagenanda bulunan sülfat grupları ayrışır. Ancak belirli bir değere ulaşıldığında hidrojel içerisinde yer alan anyonik gruplar Na^+ iyonları tarafından perdelenir ve bunun sonucunda hidrojel konformasyonu daha kompakt bir yapı alır ve şişme miktarı azalır.

Şekil 4.51'de verilen grafikte hidrojellerin sentetik idrar çözeltilisindeki şişme testi sonuçları görülmektedir. Hidrojellerin sentetik idrar çözeltilisinde şişme miktarları, fizyolojik tuzlu sudaki şişme miktarlarına göre oldukça düşüktür. Sentetik idrar çözeltilisinde, NaCl 'ye ilaveten MgSO_4 , CaCl_2 ve üre yer almaktadır. Mg^{2+} ve Ca^{2+} iyonlarının yükleri ve çapları Na^+ iyonundan daha büyük olduğu için zıt yüklü iyonlar arası çekim kuvvetinin arttığı ve şişme derecesinin düştüğü söylenebilir (Mahdavinia vd. 2004). Ayrıca, 1. şişme testinden sonra yapılan şişme testlerinde şişme miktarında oldukça büyük bir düşüş görülmektedir. Şişme miktarındaki bu azalmanın hidrojel ile çözelti arasında kurulan Gibbs-Donnan dengesinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Gibbs-Donnan osmotik basınç dengesine göre, çözeltideki hareketli karşıt iyon sayısındaki artışla beraber hidrojel içerisindeki osmotik basınç düşmekte ve hidrojel büzülmemektedir (Zhao vd. 2006). Bunun yanı sıra, elde edilen bu sonuç κ -karagenanın Mg^{2+} ve Ca^{2+} iyonları ile fiziksel bir çapraz bağlanma meydana getirerek şişme miktarında bir azalmaya neden olması şeklinde de açıklanabilir (Tang vd. 2014).

Şekil 4.52'de verilen grafikte hidrojellerin sentetik yara sıvısındaki şişme testi sonuçları görülmektedir. Grafik incelendiğinde hidrojellerin sentetik yara sıvısındaki şişme miktarlarının, çalışılan diğer fizyolojik sıvılardaki şişme miktarlarına göre daha düşük olduğu ve ilk şişme testinden sonra gerçekleştirilen şişme testlerinde şişme miktarında azalma olduğu görülmektedir. Hidrojellerin şişme miktarındaki düşüş, sentetik yara sıvısında yer alan potasyum iyonlarının varlığından kaynaklanmaktadır. Hidrojeldeki κ -karagenan moleküllerinde yer alan sülfat grupları, K^+ iyonları ile iyonik etkileşime girerek oldukça sağlam çift sarmal yapı oluşturmaktadır (Mihaila vd. 2013). Mangione vd. (2005), κ -karagenanın jelleşme özeliği üzerinde Na^+ ve K^+ iyonlarının etkisini araştırmışlar ve κ -karagenan moleküllerinin, Na^+ iyonları varlığında rastgele sarım (random coil); K^+ iyonları varlığında ise daha sağlam yapıya çift sarmal yapı oluşturduğunu rapor etmişlerdir. Kara vd. (2006), tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada foton transmisyona tekniği kullanılarak κ -karagenanın LiCl , NaCl , KCl , MgCl_2 , CaCl_2 ve SrCl_2 tuzları varlığında sol-jel ve jel-sol geçişleri incelenmiştir. Kara vd. (2006), diğer tuzlarla karşılaştırıldığında, KCl tuzu varlığında κ -karagenanın daha kolay bir şekilde çift sarmal yapıda jel oluşturduğunu ve elde edilen jellerin diğerlerine göre daha sağlam yapıda olduğunu bildirmişlerdir. Silva vd. (2011), κ -karagenan, polivinilpirolidon ve polietilen glikol kullanarak sentezledikleri hidrojellerin deiyonize su, fizyolojik tuzlu su ve sentetik yara sıvısı içerisindeki şişme davranışlarını incelemişlerdir. Silva vd. (2011) sentezledikleri hidrojellerin 6 saat sonunda

deiyonize suda %679, fizyolojik tuzlu suda %231 oranında şişme gösterirken sentetik yara sıvısı içerisinde %49 şişme gösterdiğini belirtmişlerdir.

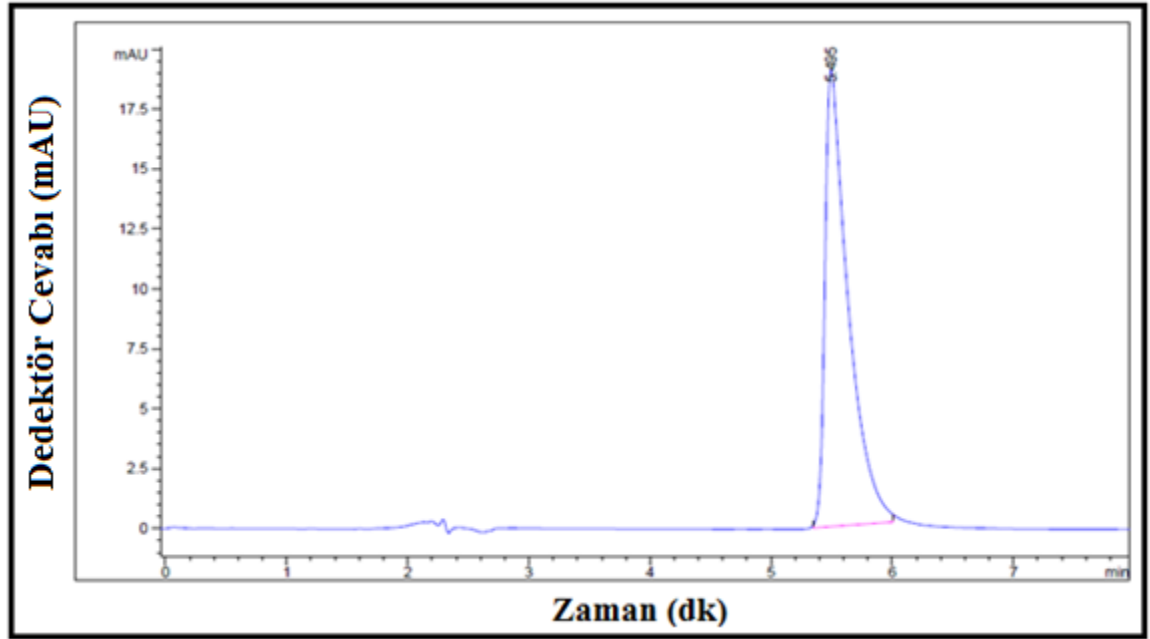
Şekil 4.53'te hidrojellerin glukoz çözeltisi içerisindeki şişme davranışlarını gösteren grafik verilmektedir. Hidrojel örneklerinin glukoz çözeltisi içerisindeki 1. şişme miktarı, daha önce gerçekleştirilen deiyonize sudaki şişme miktarına göre daha yüksektir (Bkz. Bölüm 4.1 ve 4.2). Bu durum, polimer yapı tarafından absorplanan glukoz moleküllerinin yapıya girmesiyle, hidrojelin ağ yapısının esnemesi ve daha fazla su molekülünün içeri girmesini kolaylaştırması şeklinde açıklanabilir (Lu ve Chen 2015). İlk şişme testinden sonra yapılan şişme testlerinde şişme miktarında önemli bir azalma görülmektedir. Şişme miktarındaki bu azalmanın, ilk şişme testi sırasında yapıya giren glukoz molekülleri ile hidrojelde yer alan agar ve κ-karagenan polisakkaritleri arasında hidrojen bağı oluşturması ve yapının sağlamlaşmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Abureesh vd. (2016), tarafından gerçekleştirilen benzer bir çalışmada da kitosan (CS) ve polivinil alkolden (PVA) hazırlanan hidrojellerin fizyolojik sıvılarda (ürede, sentetik idrarda, deiyonize suda, Hank's çözeltisinde, tuzlu suda ve glukoz çözeltisinde) şişme davranışları araştırılmıştır. Abureesh vd. (2016) sentezledikleri CS-PVA hidrojellerinin şişme miktarının en az üre çözeltisinde, en çok glukoz çözeltisinde olduğunu rapor etmişlerdir.

4.5. Hidrojellere Ağrı Kesici veya Antibakteriyel İlacın Yüklenmesi ve Salım Çalışmaları

Montmorillonit kili içermeyen ve modifiye edilmiş montmorillonit kilinden 3 farklı konsantrasyonda (toplam polisakkarit kütlelerinin %1'i, %3'ü ve %5'i miktarında) içeren hidrojel sistemlerine Bölüm 3.2.6'da anlatıldığı şekilde ilaç yüklemesi gerçekleştirilmiştir. Öncelikle ağrı kesici ilaç olan lidokain hidroklorürün (LDC'nin) hidrojellere tek başına yüklemesi yapılmış ve salımı HPLC yardımıyla takip edilmiştir. Ardından antibakteriyel ilaç olan kloramfenikolün (CLP'nin) hidrojellere tek başına yüklemesi yapılmış ve salımı UV-Visible spektrofotometresi ile incelenmiştir.

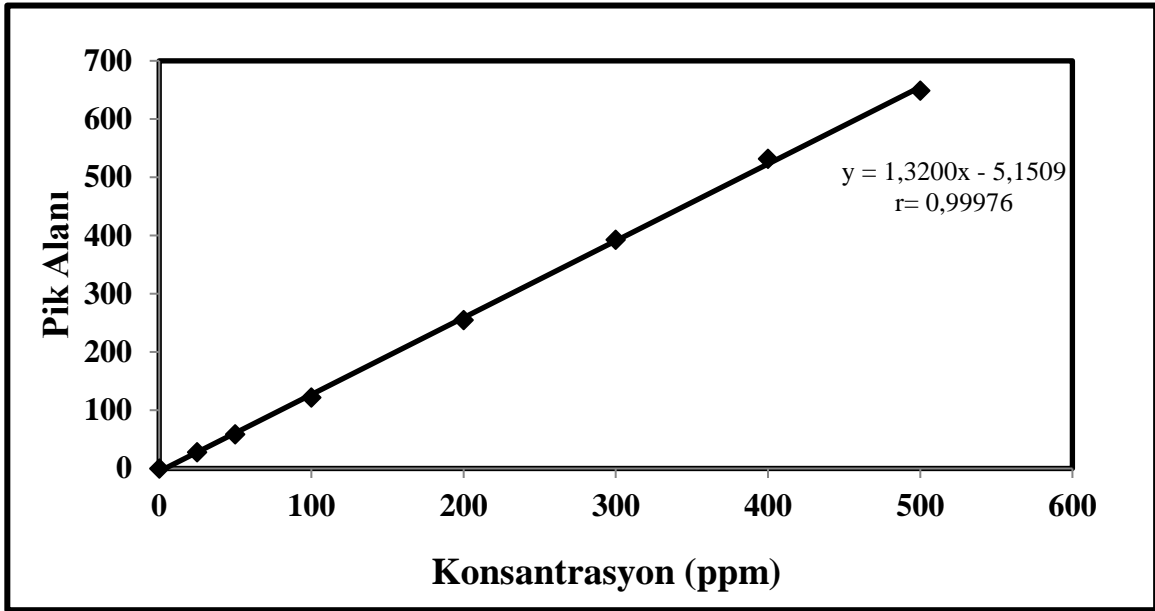
4.5.1. Lidokain hidroklorür (LDC) salımı

Lidokain yüklü hidrojellerden salınan LDC'nin miktar tayini Bölüm 3.2.6'da belirtilen koşullarda, HPLC ile gerçekleştirilmiştir. Lidokain hidroklorürün maksimum absorbans yaptığı dalga boyu UV-Visible spektrofotometresi yardımıyla 262 nm olarak belirlenmiş ve HPLC'de bu değer kullanılarak ölçüm alınmıştır. 200 ppm lidokain hidroklorür standardına ait HPLC'de alınmış örnek bir kromatogram Şekil 4.54'te verilmektedir. Kromatogram incelendiğinde pik şeklinin düzgün olduğu ve alıkonma zamanının 5,5 dakika olduğu görülmektedir.



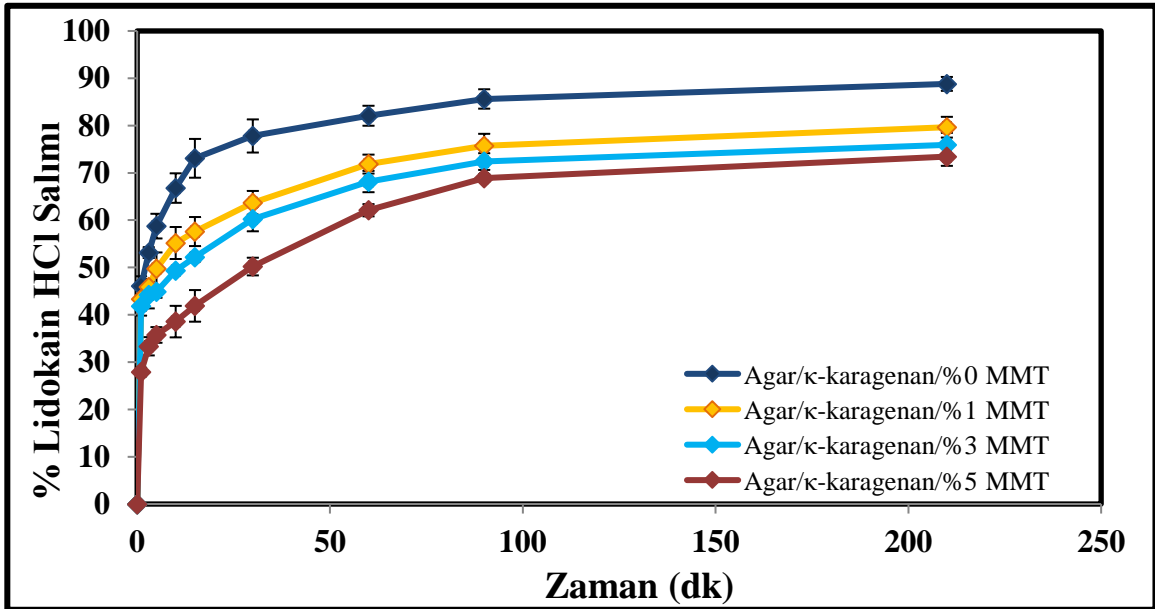
Şekil 4.54. 200 ppm lidokain HCl'ye ait HPLC kromatogramı. Enjeksiyon hacmi: 20 μ L, akış hızı: 1,2 mL/dk, kolon sıcaklığı: 28 °C, mobil faz bileşimi: asetonitril:amonyum asetat (70:30, pH 4,85), kolon: Hypersil ODS C₁₈ ters faz kolon, uzunluk: 250 mm, iç çap: 4.6 mm, partikül büyüklüğü: 5 μ m, dedektör tipi: DAD dedektör, dalga boyu 262 nm.

Lidokain hidroklorür kalibrasyonu için 25 ppm, 50 ppm, 100 ppm, 200 ppm, 300 ppm, 400 ppm ve 500 ppm aralığında yedi farklı konsantrasyonda ölçüm alınmıştır. Ölçümler sonucu her bir çözelti konsantrasyonuna karşılık gelen pik alanı grafiğe aktarılmış ve kalibrasyon doğrusuna ait denklem elde edilmiştir (Şekil 4.55).



Şekil 4.55. Lidokain HCl ilacının kalibrasyonu için HPLC'de alınmış pik alanına karşı konsantrasyon grafiği.

Kil içeren ve kil içermeyen hidrojellere yüklenmiş olan LDC'nin hidrojellerden salımına ait grafik Şekil 4.56'da yer almaktadır.



Şekil 4.56. Lidokain HCl yüklü farklı konsantrasyonlarda kil içeren ve kil içermeyen hidrojellerden lidokain HCl salımı (pH=7,4 ve T=37 °C).

Şekil 4.56'da verilen grafik incelendiğinde, hidrojel matriksi içerisinde yer alan montmorillonit kilinin artmasıyla ilaç salım miktarı ve hızında bir azalma gözlenmiştir. Bu azalmanın sebebi, katyonik bir ilaç olan LDC'nin negatif yüzey yüküne sahip olan montmorillonit tarafından tutulması ve ilaç salımının daha az oranda ve yavaş bir şekilde gerçekleşmesi ile açıklanabilir. Lee ve Fu (2003), N-izopropil akrilamid ve montmorillonit ile nanokompozit hidrojel sentezi gerçekleştirerek çeşitli ilaçların bu hidrojellere yüklenme ve salım davranışlarını incelemişlerdir. Yaptıkları bu çalışmanın sonucunda montmorillonit ile farklı yüke sahip olan ilaçların elektrostatik etkileşime girerek salım yüzdelерinin azaldığını bildirmişlerdir. Kevadiya vd. (2011), katyon değişim metodunu kullanarak montmorillonit kilini (MMT) lidokain hidroklorür (LC) ile modifiye etmişler ve MMT-LC ilaç taşıyıcısını elde etmişlerdir. Daha sonra MMT-LC ile aljinat (AL) kullanarak biyopolimer-kil hidrojelini (MMT-LC/AL) sentezlemişlerdir. LC'yi, MMT-LC'yi ve MMT-LC/AL'yi üç ayrı selüloz diyaliz tüplerine yerleştirerek bu sistemlerden lidokain hidroklorürün salımını incelemişlerdir. Bu çalışmanın sonucunda sadece lidokain bulunan diyaliz tüpünden ani salımın (burst effect) gerçekleştiği, ancak montmorillonit bulunan diyaliz tüplerinden kontrollü salımın yapılabildiği bildirilmiştir.

Çizelge 4.11'de gram hidrojel başına ppm olarak yüklenen lidokain HCl miktarları ve 210 dakika sonunda ilaç salımına ait veriler görülmektedir.

Çizelge 4.11. Hidrojellere yüklenen lidokain HCl miktarları ve salım yüzdeleri (pH=7,4 ve T=37 °C).

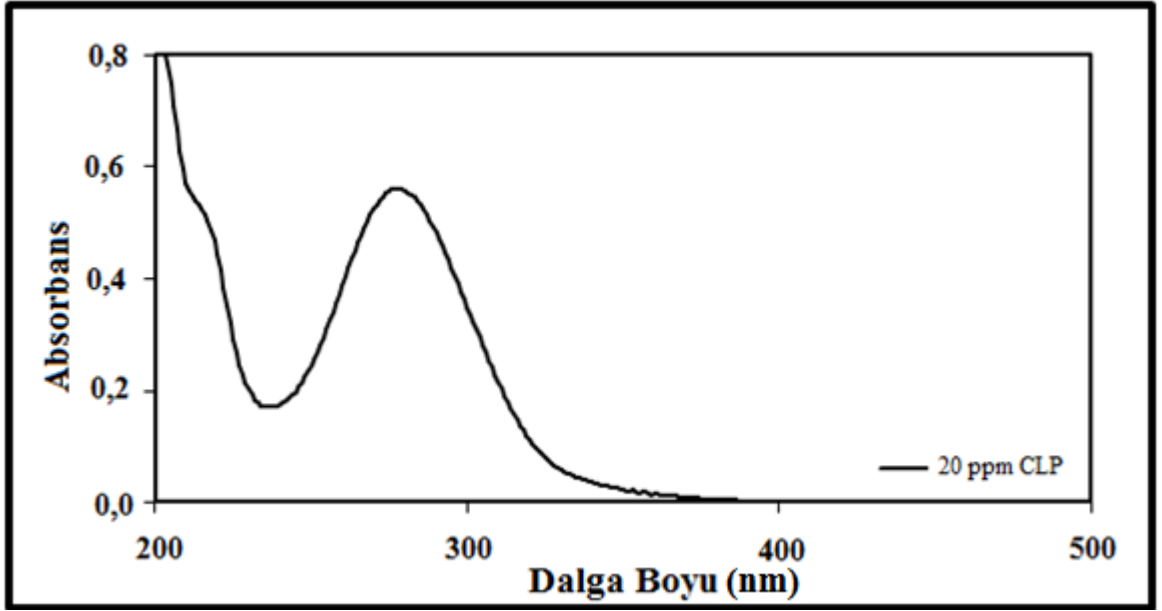
Parametre	Hidrojel Türü*			
	%0 MMT	%1 MMT	%3 MMT	%5 MMT
İlaç yükleme miktarı (ppm/g)	1131,97±67,52	1012,38±45,68	968,66±12,08	892,80±8,84
% LDC salımı (210. dk)	88,81±1,47	79,66±2,19	75,92±2,54	73,44±1,96

* Her bir sonuç 3 paralel çalışmanın ortalamasıdır.

Çizelge 4.11'deki verilerden görüldüğü üzere, hidrojellerdeki kil miktarı artışına bağlı olarak ilaç yükleme miktarı ve 210 dakika sonunda hidrojellerden LDC salım yüzdesi azalmaktadır. Bu durum, hidrojel matriksi içerisinde kil miktarının artması sonucu yapının sıklaşması ve matriks içerisinde ilaç salımının zorlaşması ile açıklanabilir.

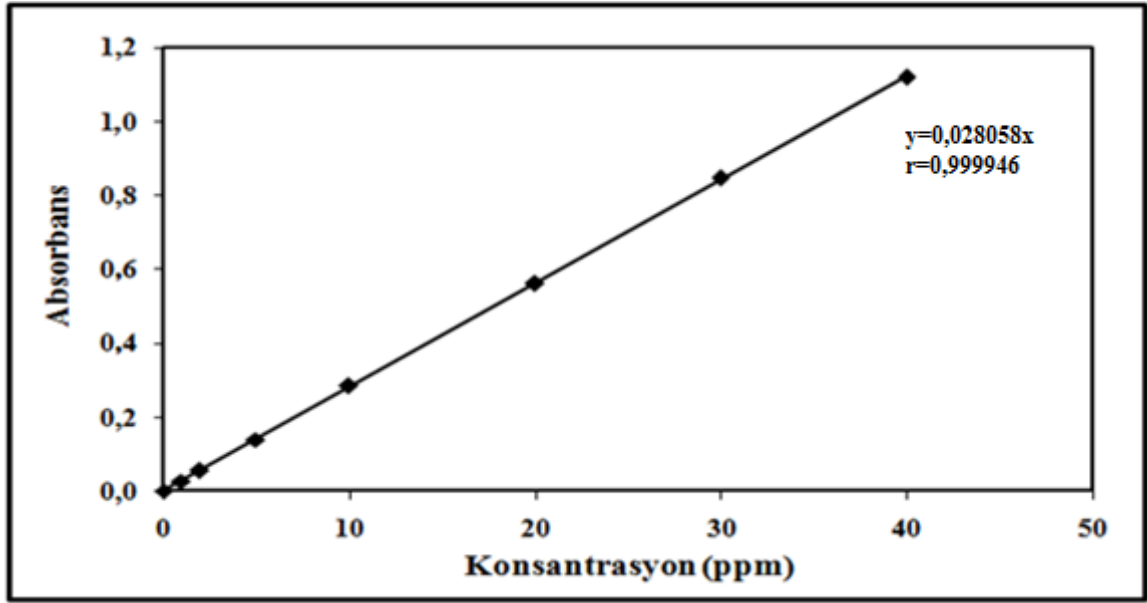
4.5.2. Kloramfenikol (CLP) salımı

Kloramfenikol yüklü hidrojellerden salınan ilaç konsantrasyonları UV-Visible spektrofotometre cihazı ile analiz edilmiştir. Kloramfenikol kalibrasyonu için 1 ppm, 2 ppm, 5 ppm, 10 ppm, 20 ppm, 30 ppm ve 40 ppm'lik yedi farklı konsantrasyonda CLP çözeltisi hazırlanmış ve bu çözeltilerin absorpsiyon spektrumları kaydedilmiştir. 20 ppm'lik CLP çözeltisinin absorpsiyon spektrumu Şekil 4.57'de gösterilmiştir.



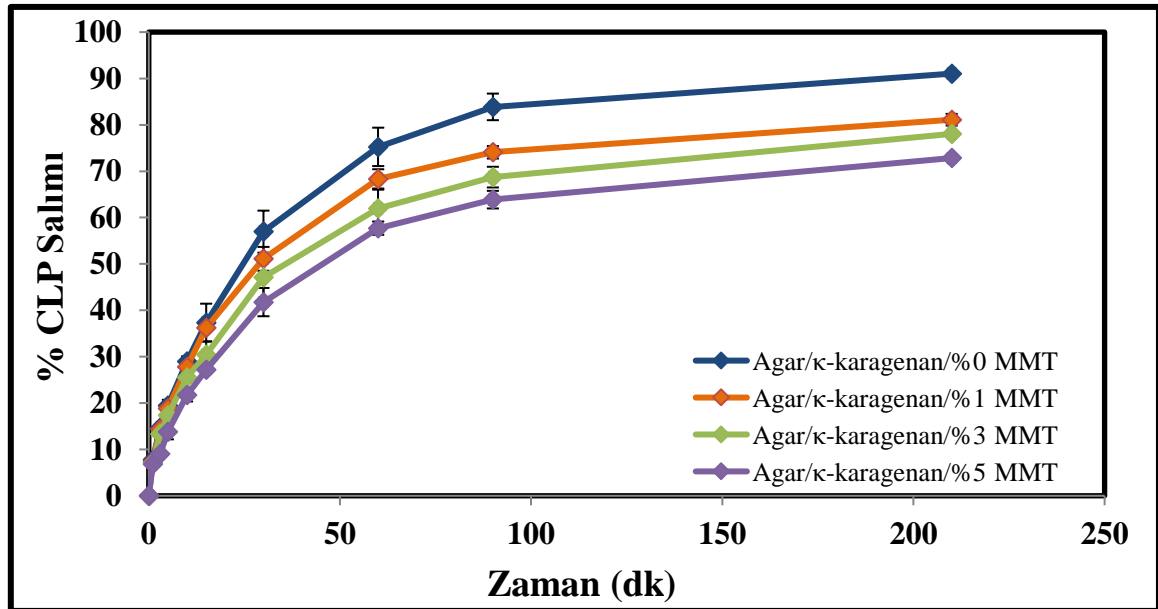
Şekil 4.57. 20 ppm kloramfenikol ilacının UV-Visible absorpsiyon spektrumu.

CLP çözeltilerinin absorpsiyon spektrumlarından CLP'nin maksimum absorpsiyon dalga boyu 277 nm olarak belirlenmiştir. Daha sonra, yedi farklı konsantrasyondaki CLP çözeltilisinin 277 nm'deki absorpsiyon değerlerine karşı CLP konsantrasyonu grafiği çizilerek CLP ilacı için kalibrasyon grafiği elde edilmiştir (Bkz. Şekil 4.58).



Şekil 4.58. Kloramfenikol ilacının kalibrasyonu için 277 nm dalga boyunda UV-Visible spektrofotometre cihazında ölçülmüş absorbans değerlerine karşı konsantrasyon grafiği.

Kil içeren ve kil içermeyen hidrojellere yüklenmiş olan kloramfenikol ilacının hidrojellerden salımına ait grafik Şekil 4.59'da verilmektedir.



Şekil 4.59. Kloramfenikol yüklü farklı konsantrasyonlarda kil içeren ve kil içermeyen hidrojellerden kloramfenikol salımı (pH=7,4 ve T=37 °C).

Şekil 4.59'daki grafikten görüldüğü üzere, hidrojel matriksi içerisinde yer alan montmorillonit kili miktarının artmasıyla hidrojellerden ilaç salım miktarının düştüğü görülmektedir. Grafik incelendiğinde, kloramfenikolün hidrojellerden salım yüzdelerinin, lidokain hidroklorür ilacının salım yüzdelerinden daha yüksek olduğu görülmektedir. Bu durum nötral olan kloramfenikolün negatif yüklü lidokain hidroklorüre göre kil tarafından daha az tutulmasından kaynaklanmaktadır. Lee ve Chen (2006), akrilik asit, N-izopropil akrilamid ve hidrotalsit ile nanokompozit hidrojel sentezi yapmışlar ve farklı yüklere sahip ilaçların bu hidrojellerden salım davranışlarını incelemişlerdir. Yaptıkları bu çalışmanın sonucunda hidrojel ile aynı yüke sahip olan ilaçların hidrojellerden daha çok salındığını, hidrojel ile zıt yüke sahip olan ilaçların elektrostatik etkileşim sebebiyle hidrojellerden daha az salındığını rapor etmişlerdir.

Çizelge 4.12. Hidrojellere yüklenen CLP miktarları ve salım yüzdeleri (pH=7,4 ve T=37 °C).

Parametre	Hidrojel Türü*			
	%0 MMT	%1 MMT	%3 MMT	%5 MMT
İlaç yükleme miktarı (ppm/g)	780,24±13,56	748,02±8,58	742,45±6,23	728,08±10,04
% CLP salımı (210. dk)	91,04±2,87	81,10±1,26	78,05±0,31	72,84±1,90

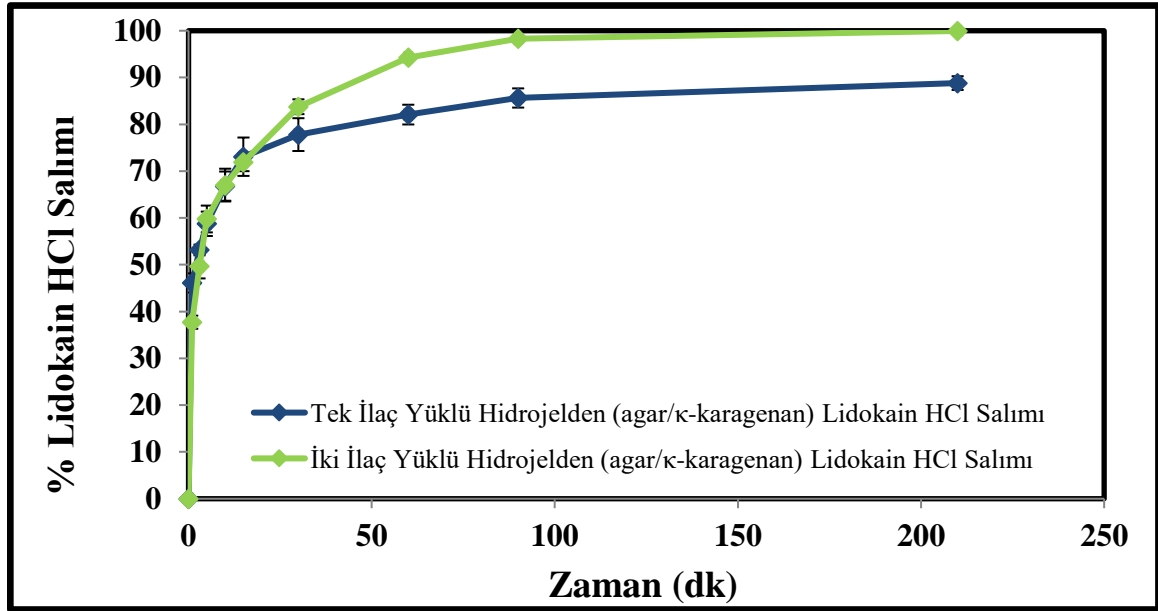
* Her bir sonuç 3 paralel çalışmanın ortalamasıdır.

Çizelge 4.12'de gram hidrojel başına yüklenen CLP miktarları (ppm) ve 210 dakika sonunda salınan CLP yüzdesi değerleri görülmektedir. Bu veriler hidrojel içerisindeki kil miktarının artmasıyla ağ yapının sıkılaştığını, ilaç yükleme miktarının azaldığını ve ilaç salımının yavaşladığını göstermektedir.

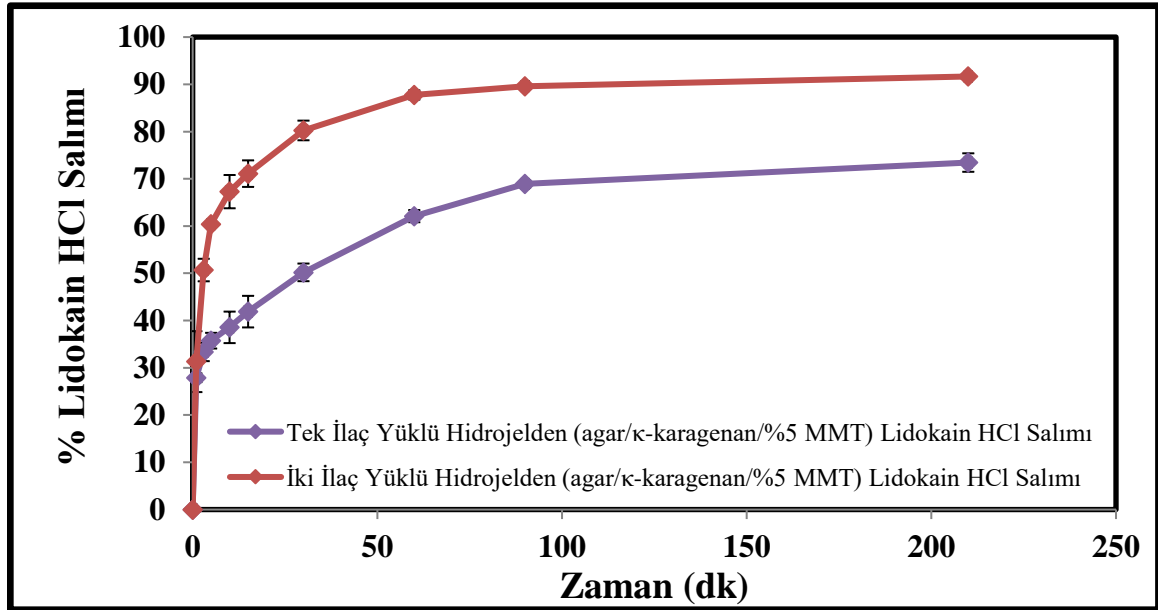
4.5.3. Hidrojellere her iki ilacın (LDC'nin ve CLP'nin) bir arada yüklenmesi ve salım çalışmaları

İki ilaç yüklü hidrojellerden salım çalışmaları, montmorillonit kili içermeyen ve hidrojel matriksi içerisindeki toplam polisakkarit kütlelerinin %5'i modifiye edilmiş montmorillonit içeren hidrojel sistemleri ile gerçekleştirilmiştir. Hidrojellerden salınan ilaç konsantrasyonları her iki ilacın da maksimum absorban yaptıkları dalga boylarının (lidokain HCl için 262 nm ve CLP için 277 nm) birbirine çok yakın olmasından dolayı hem lidokain HCl için hem de CLP için HPLC cihazında belirlenmiştir.

Şekil 4.60 (kil içermeyen) ve Şekil 4.61'de (%5 kil içeren) tek ilaç yüklü ve iki ilaç yüklü hidrojellerden lidokain HCl salımlarının karşılaştırılmasına ait grafikler yer almaktadır.



Şekil 4.60. Tek ilaç yüklü ve iki ilaç yüklü, kil içermeyen hidrojellerden lidokain HCl salımlarının karşılaştırılması (pH=7,4 ve T=37 °C).



Şekil 4.61. Tek ilaç yüklü ve iki ilaç yüklü, %5 kil içeren hidrojellerden lidokain HCl salımlarının karşılaştırılması (pH=7,4 ve T=37 °C).

Şekil 4.60 ve 4.61'de yer alan grafiklere bakıldığında, her iki ilacın bir arada hidrojellere yüklenmesi durumunda hidrojellerden LDC salımlarında bir artış meydana geldiği görülmektedir.

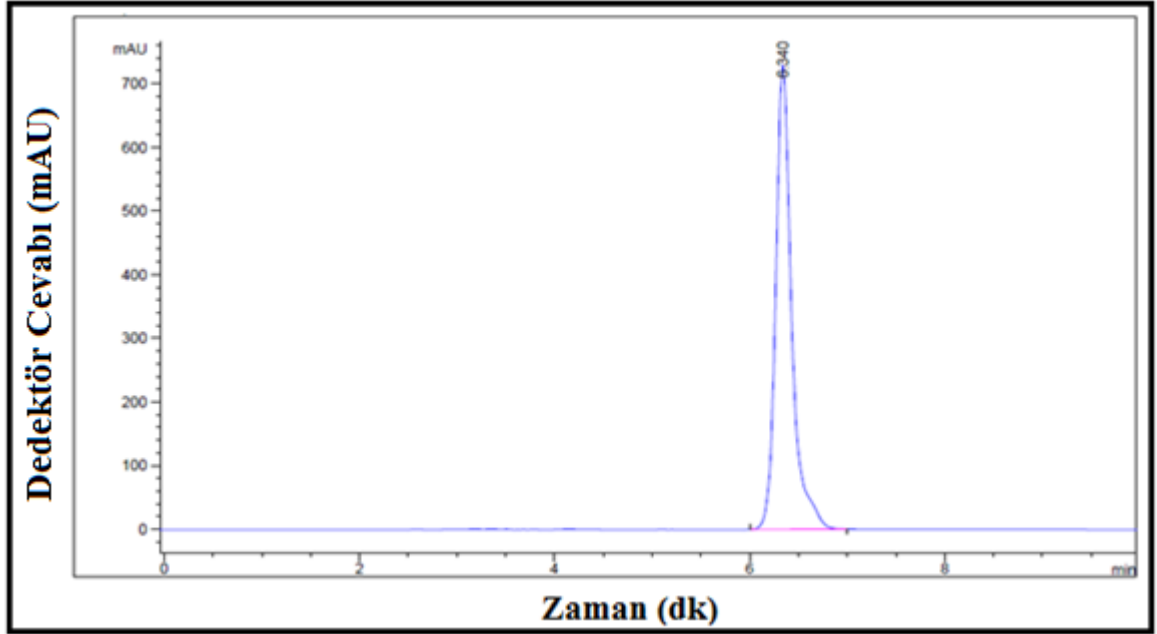
Çizelge 4.13'te ise bu hidrojellere yüklenen LDC miktarları ve hidrojellerden 210 dakika sonundaki salım yüzdeleri görülmektedir. İki ilaç yüklü hidrojellerin LDC'yi tutma kapasitesinin sadece LDC yüklü olan hidrojellere göre çok daha yüksek olduğu görülürken, artan kil miktarı ile bu değer azaldığı görülmektedir.

Çizelge 4.13. Kil içermeyen ve %5 oranında kil içeren hidrojellere yüklenen lidokain HCl miktarları ve salım yüzdeleri (pH=7,4 ve T=37 °C).

Parametre	Hidrojel Türü*			
	%0 MMT (Tek ilaç yüklü)	%0 MMT (İki ilaç yüklü)	%5 MMT (Tek ilaç yüklü)	%5 MMT (İki ilaç yüklü)
İlaç yükleme miktarı (ppm/g)	1131,97±67,52	1285,96±7,42	892,80±8,84	1215,65±8,70
% LDC salımı (210. dk)	88,81±1,47	99,95±0,01	73,44±1,96	91,66±0,34

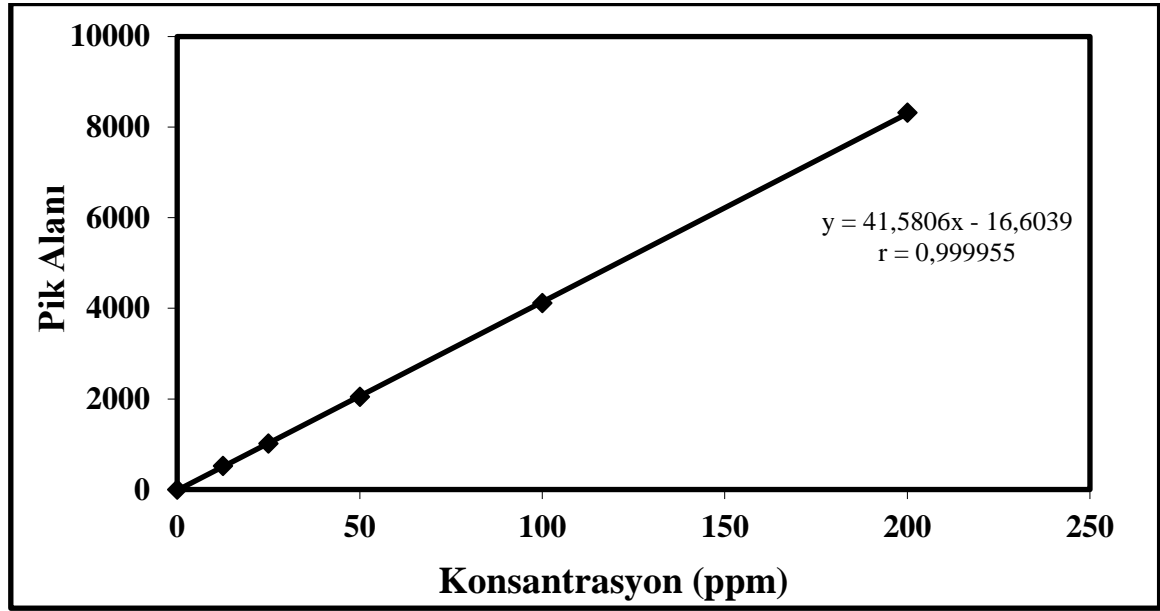
* Her bir sonuç 3 paralel çalışmanın ortalamasıdır.

İki ilaç (LDC ve CLP) yüklü hidrojellerden salınan kloramfenikol konsantrasyonları HPLC cihazı yardımıyla analiz edilmiştir. Kloramfenikolün HPLC'de kalibrasyonu için 12,5 ppm, 25 ppm, 50 ppm, 100 ppm ve 200 ppm olmak üzere beş farklı konsantrasyonda ölçüm alınmıştır. Şekil 4.62'de 200 ppm kloramfenikole ait HPLC'de alınmış kromatogram örneği verilmiştir. Kromatogramdan pik şeklinin düzgün olduğu ve kloramfenikolün alıkonma süresinin 6,3 dakika olduğu görülmektedir.



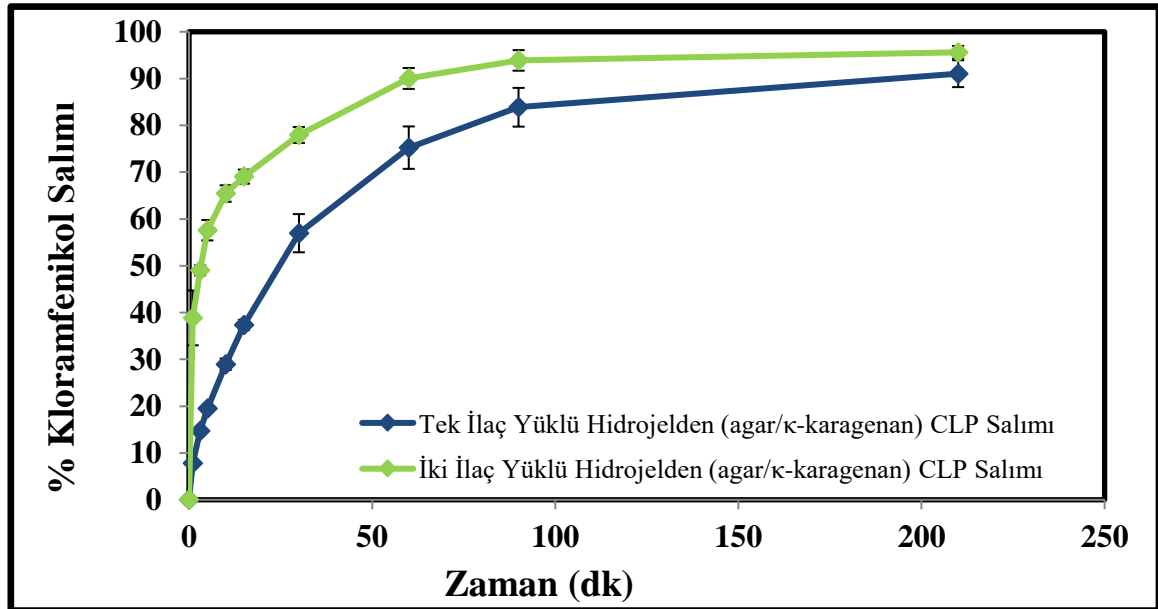
Şekil 4.62. 200 ppm kloramfenikole ait HPLC'de alınmış kromatogram örneği. Enjeksiyon hacmi: 20 μ L, akış hızı: 0,8 mL/dk, kolon sıcaklığı: 28 $^{\circ}$ C, mobil faz bileşimi: asetonitril:amonyum asetat (70:30, pH 4,85), kolon: Hypersil ODS C₁₈ ters faz kolon, uzunluk: 250 mm, iç çap: 4.6 mm, partikül büyüklüğü: 5 μ m, dedektör tipi: DAD dedektör, dalga boyu 277 nm.

Kloramfenikoün HPLC cihazında beş farklı konsantrasyonda ölçüm alınarak elde edilen kalibrasyon grafiği Şekil 4.63'te verilmektedir.

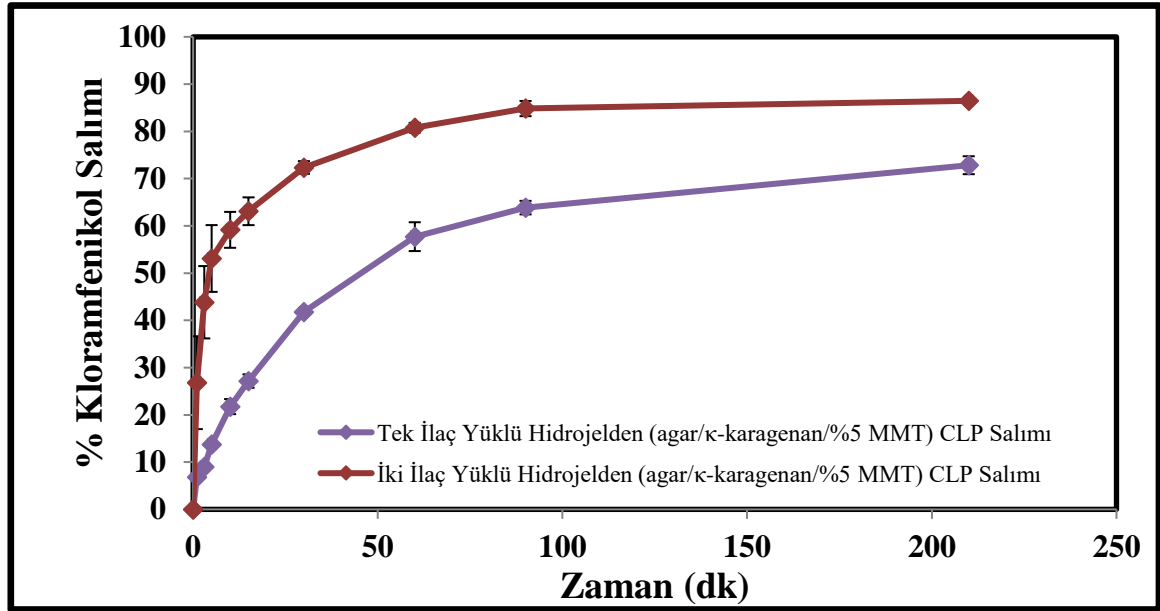


Şekil 4.63. CLP'ye ait HPLC'de alınmış kalibrasyon grafiği.

Şekil 4.64 ve Şekil 4.65'te sırasıyla, kil içermeyen ve %5 kil içeren, tek ilaç yüklü ve iki ilaç yüklü hidrojellerden salınan CLP yüzdelerinin karşılaştırılmasını gösteren grafikler yer almaktadır.



Şekil 4.64. Tek ilaç yüklü ve iki ilaç yüklü kil içermeyen hidrojellerden CLP salımlarının karşılaştırılması (pH=7,4 ve T=37 °C).



Şekil 4.65. Tek ilaç yüklü ve iki ilaç yüklü %5 kil içeren hidrojellerden CLP salımlarının karşılaştırılması (pH=7,4 ve T=37 °C).

Grafiklerden görüldüğü üzere, iki ilacın bir arada yüklenmesi durumunda CLP salımlarında artış meydana gelmektedir.

Çizelge 4.14'te ise bu hidrojellere yüklenen CLP miktarları ve 210 dakika sonundaki salım yüzdeleri görülmektedir. İki ilaç yüklü hidrojellerin kloramfenikolü tutma kapasitesinin sadece kloramfenikol yüklü olan hidrojellere göre oldukça düşük olduğu görülürken, artan kil miktarı ile ilaç tutma kapasitelerinin daha da azaldığı görülmektedir.

Çizelge 4.14. Kil içermeyen ve %5 oranında kil içeren hidrojellere yüklenen CLP miktarları ve salım yüzdeleri (pH=7,4 ve T=37 °C).

Parametre	Hidrojel Türü*			
	%0 MMT (Tek ilaç yüklü)	%0 MMT (İki ilaç yüklü)	%5 MMT (Tek ilaç yüklü)	%5 MMT (İki ilaç yüklü)
İlaç yükleme miktarı (ppm/g)	780,24±13,56	572,01±4,40	728,08±10,04	534,68±3,78
% CLP salımı (210. dk)	91,04±2,87	95,61±1,36	72,84±1,90	86,46±0,03

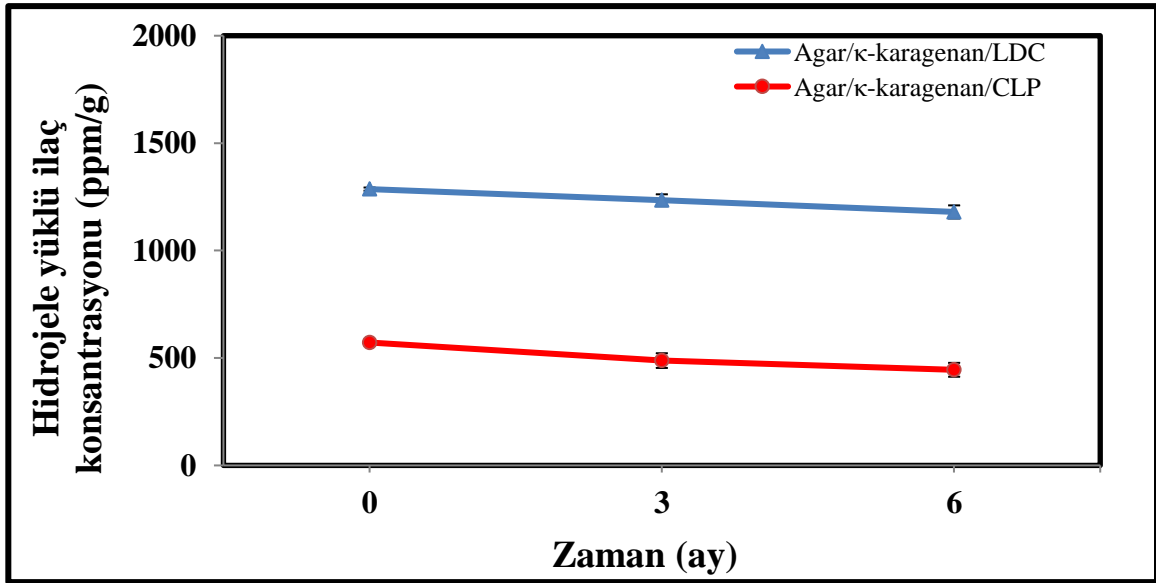
* Her bir sonuç 3 paralel çalışmanın ortalamasıdır.

İlaç salım çalışmalarından görüldüğü üzere, hidrojel içerisindeki kil miktarlarının değiştirilmesiyle zamanın fonksiyonu olarak ilaç salımının kontrolü sağlanabilmektedir. Farklı tıropatik etki gösteren ilaçların kombinasyonunun, tedavi sürecinde etkin bir role sahip olduğu bilinmektedir. İki ilacın bir arada bulunduğu kombine bir sistemden, her bir ilacın

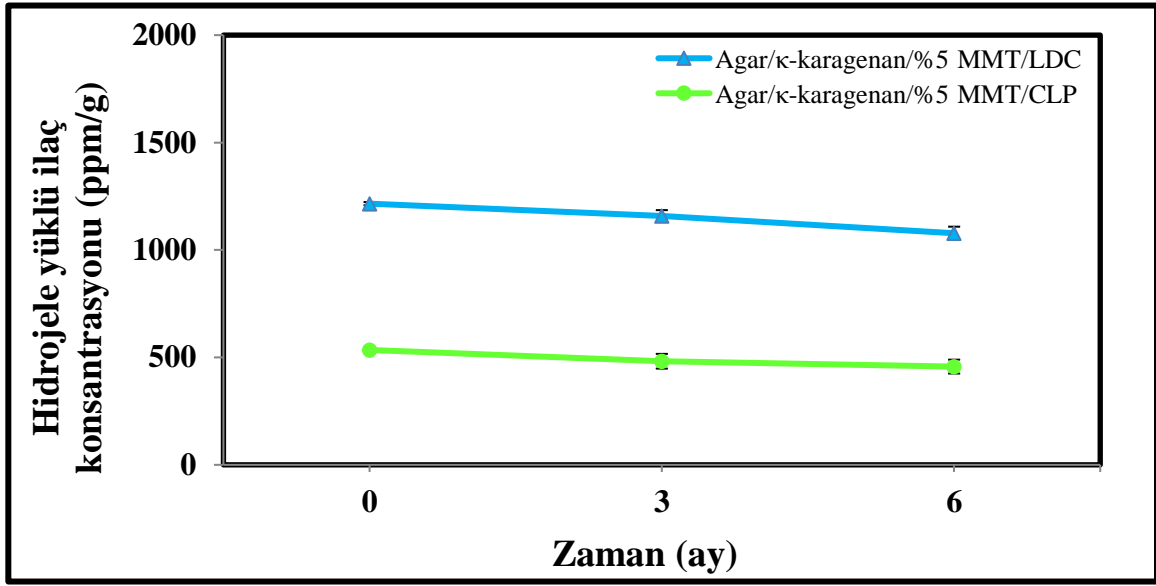
birbirinden bağımsız bir şekilde salımını gerçekleştirmek güçtür (Qiu ve Bae 2007; Lee vd. 2008). Kontrollü ilaç salımıyla ilgili literatürde yapılmış çalışmalara bakıldığında, iki ilacın bir arada salımıyla ilgili çok az sayıda araştırmanın yapıldığı görülmektedir. Wei vd. (2009), ikili ilaç salım sistemi olarak hidrojel/misel kompozitleri sentezlemişler ve ağrı kesici ilaç olan aspirin ile antibiyotik bir ilaç olan doksorubisinin birlikte salımını araştırmışlardır. Hidrofobik yapıdaki doksorubisinin, hidrofilik yapıdaki aspirine göre daha yavaş salındığını bildirmişlerdir. Benzer bir diğer çalışmada, yara örtüsü materyali olarak hazırlanmış tragakant gam bazlı hidrojel içerisinde lidokain hidroklorür ve gentamisin sülfat ilaçları hapsedilmiş ve salım davranışları incelenmiştir. Yapılan çalışmada, lidokain hidroklorürün %40,96 ve gentamisin sülfatın ise %63,98'inin hidrojel tarafından tutulduğu saptanmıştır. İlaçların çözünürlüklerinin farklı olmasından dolayı farklı salım profilleri oluşturdukları belirtilmiştir (Singh vd. 2017). Konishi vd. (2005), sisplatin ve adriamisin anti-tümör ilaçlarının glutaraldehit ile çapraz bağlı jelatin hidrojellerden salımını ve Meth-AR-1 tümör hücrelerinin gelişimi üzerindeki etkinliğini *in vivo* olarak incelemişlerdir. Yapılan bu çalışma, hidrojelde iki ilacın bir arada yüklü olması durumunda, ilaç salımlarının sinerjik etki göstererek tek ilaç yüklü hidrojel sistemlerine göre daha etkin anti-tümör aktivitesi gösterdiğini ortaya koymuştur.

4.6. Saklama Süresinin Hidrojelde Yüklü İlaç Konsantrasyonu Üzerine Etkisi

Lidokain hidroklorür ve kloramfenikol içeren hidrojellerin, 0, 3 ve 6 aylık saklama süreleri sonunda ilaç formülasyonlarının kararlılığı test edilmiştir. Hidrojellerin her bir ilacı ne kadar tuttuğunu gösteren grafikler montmorillonit içermeyen hidrojel numunesi için Şekil 4.66'da ve montmorillonit içeren hidrojel örneği için Şekil 4.67'de verilmektedir.



Şekil 4.66. 4 °C'de saklanan agar/κ-karagenan hidrojeli içerisindeki ilaç konsantrasyonlarının zamana bağlı olarak değişim grafiği.

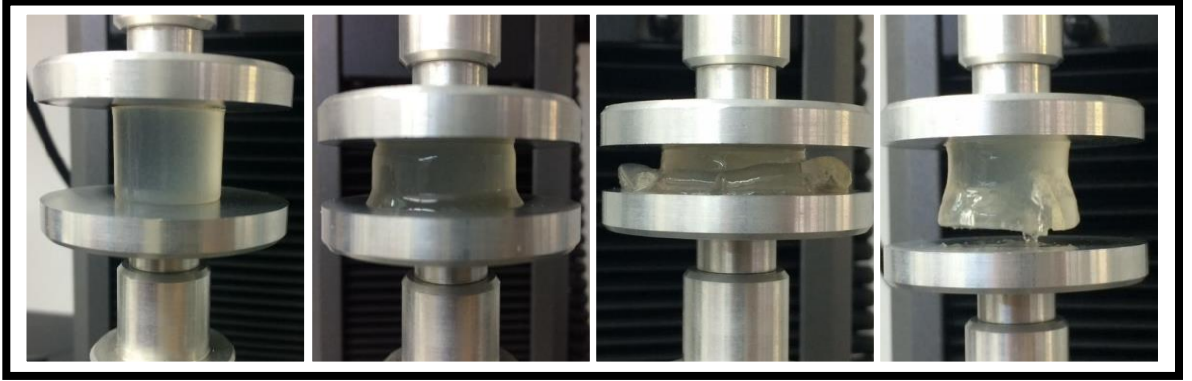


Şekil 4.67. 4 °C'de saklanan agar/κ-karagenan/%5 MMT hidrojeli içerisindeki ilaç konsantrasyonlarının zamana bağlı olarak değişim grafiği.

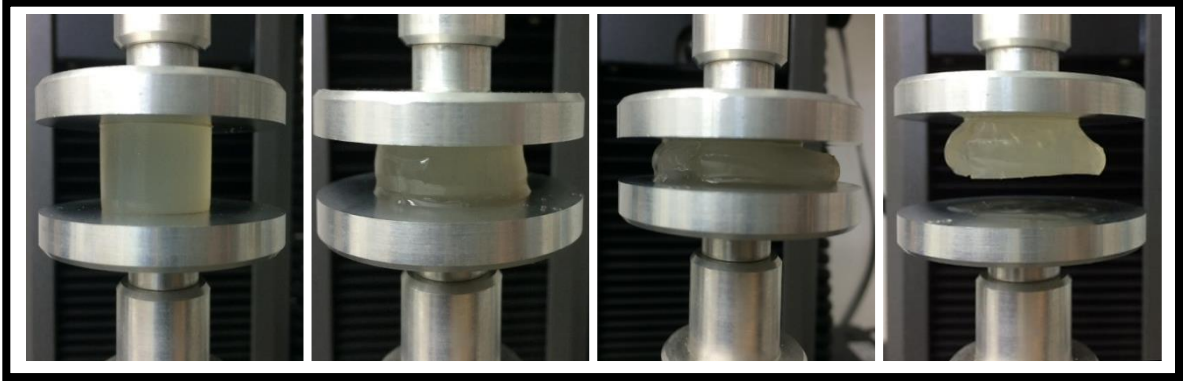
Şekil 4.66 ve Şekil 4.67 incelendiğinde, 6 ay süresince 4 °C'de saklanan hidrojellerde, LDC ve CLP konsantrasyonunun çok fazla değişmediği görülmüştür. Dodov vd. (2002), lipozomal jel formülasyonları içerisine hapsedikleri lidokain hidroklorürün 4 °C'de 3 hafta boyunca saklanması sırasındaki ilaç konsantrasyonu değişimini araştırmışlardır. Üç haftanın sonunda formülasyon içerisindeki ilaç konsantrasyonunun stabil kaldığını rapor etmişlerdir. Gebauer vd. (2001), lidokain hidroklorür ve oksikodon ilaçlarını selüloz bazlı ticari bir hidrojel içerisine hapsedmiş ve 12 ay boyunca hidrojel içerisindeki ilaç konsantrasyonundaki değişimi takip etmişlerdir. Bu süre boyunca ilaç konsantrasyonunda kayda değer bir değişim olmadığını bildirmişlerdir. Ingebrigtsen vd. (2015), lipozomal hidrojel sistemlerinin içerisine kloramfenikol ilacı yüklemişler ve 8 hafta boyunca 4 °C ve 23 °C'de sistemler içerisindeki ilaç konsantrasyonunun değişimini araştırmışlardır. Sekiz hafta sonunda 4 °C'de saklanan sistemdeki ilaç konsantrasyonunda %5±3 oranında azalma görülürken, 23 °C'de saklanan sistemdeki ilaç konsantrasyonunda %11±1 oranında azalma saptanmıştır.

4.7. İlaç İçeren ve İçermeyen Hidrojellerin Mekanik Özelliklerinin Ölçülmesi

Mekanik dayanım testleri agar/κ-karagenan hidrojeli, agar/κ-karagenan/%5 MMT hidrojeli ve bu sistemlerin her iki ilacı da içeren formları için gerçekleştirilmiştir. Şekil 4.68'de agar/κ-karagenan hidrojelinin, Şekil 4.69'da ise agar/κ-karagenan/%5 MMT/LDC/CLP hidrojelinin basma testi sırasında çekilmiş fotoğrafları örnek olarak verilmektedir.

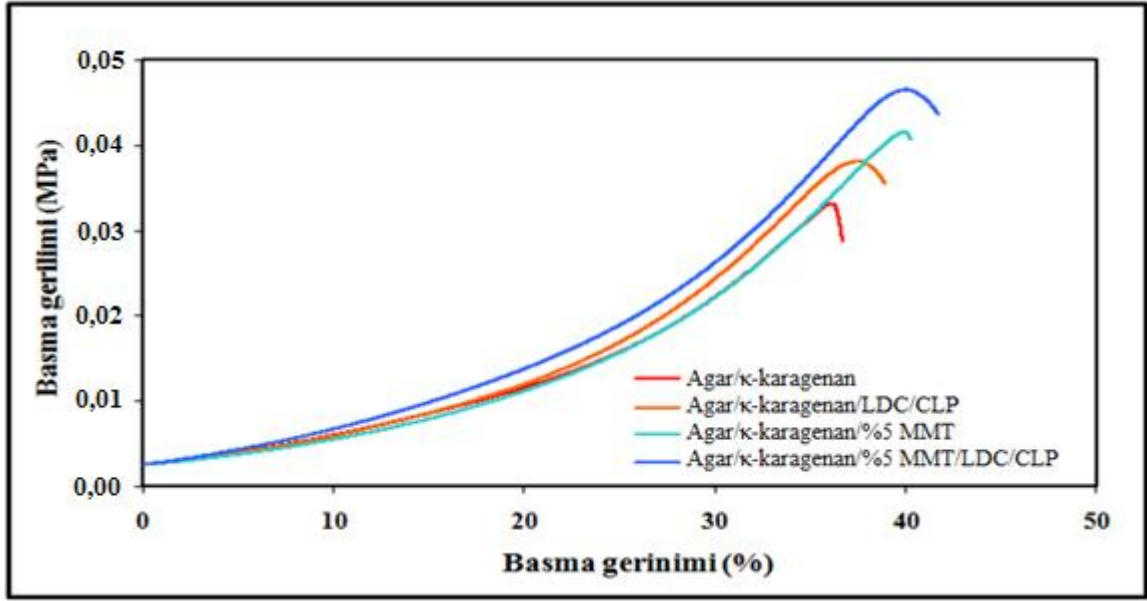


Şekil 4.68. Agar/ κ -karagenan hidrojeline ait basma testi fotoğrafları

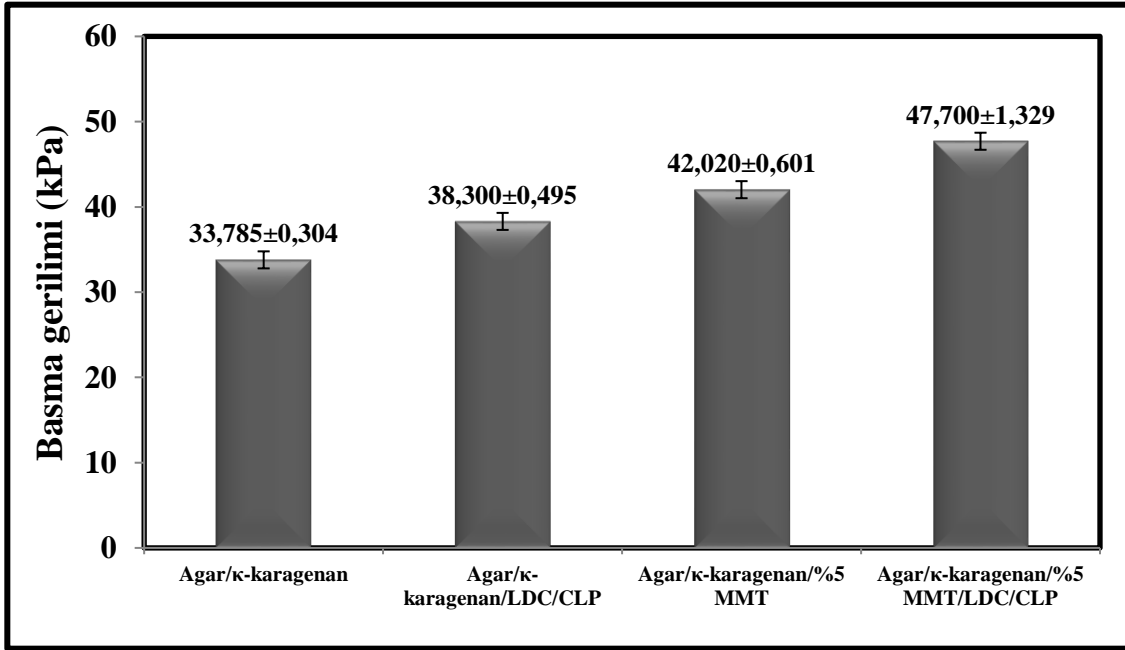


Şekil 4.69. Agar/ κ -karagenan/%5 MMT/LDC/CLP hidrojeline ait basma testi fotoğrafları.

Yapılan sıkıştırma testleri sonucunda elde edilen gerilim-gerinim grafikleri Şekil 4.70'te, hidrojellerin deforme olduğu nihai (azami) basma gerilimlerini gösteren grafik ise Şekil 4.71'de verilmektedir.



Şekil 4.70. Hidrojellerin sıkıştırılması sonucu elde edilen gerilim-gerinim grafikleri.



Şekil 4.71. Hidrojellerin deformasyona uğradığı nihai basma gerilimleri.

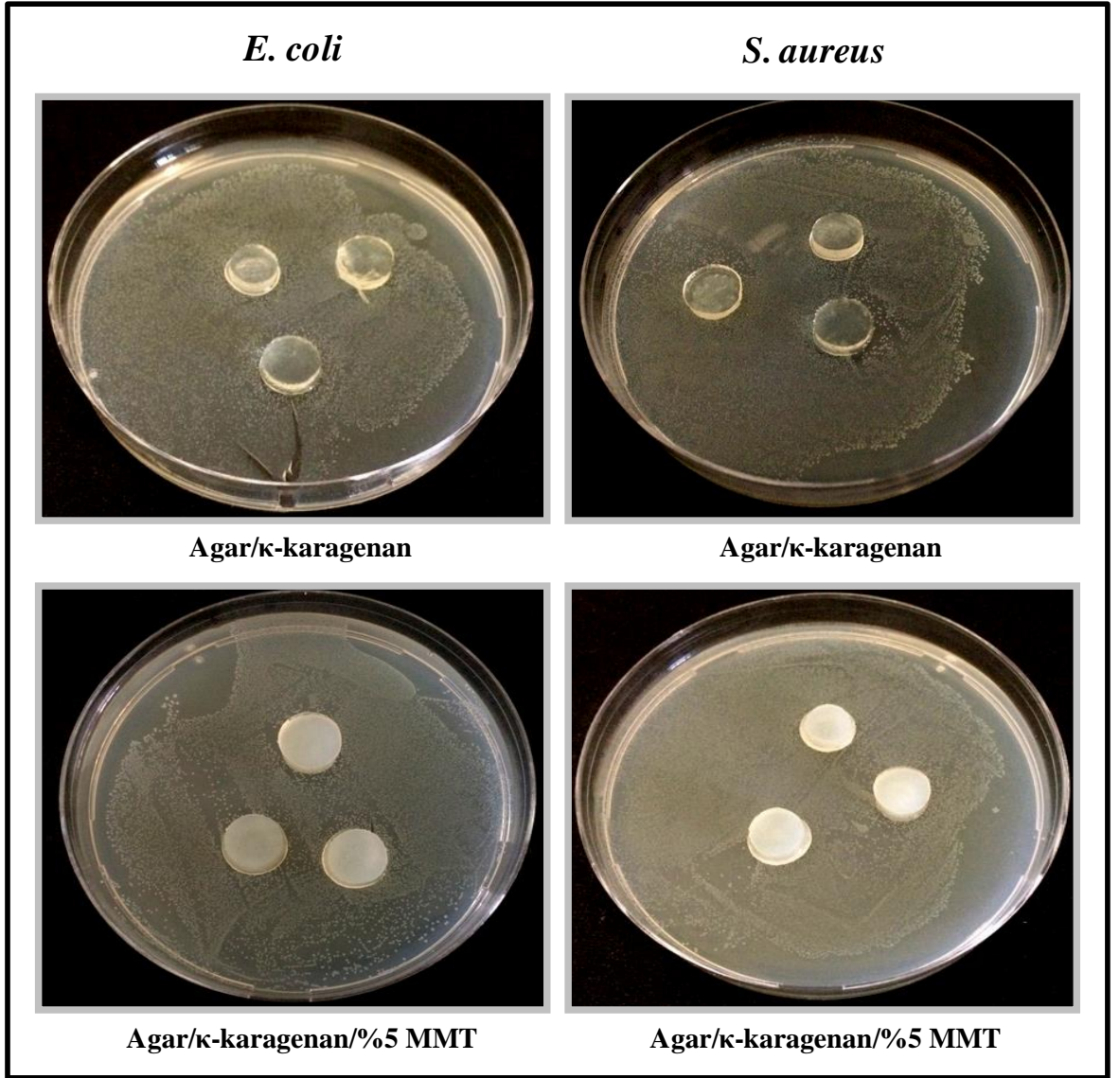
Şekil 4.70 ve Şekil 4.71'den görüldüğü üzere, sadece agar ve κ-karagenandan oluşan hidrojel için nihai basma gerilimi $33,79 \pm 0,30$ kPa iken, bu hidrojele %5 MMT ilave edilmesiyle hazırlanan hidrojin nihai basma gerilimi $42,02 \pm 0,60$ kPa'a yükselmiştir. Bu hidrojelere lidokain hidroklorür ve kloramfenikol ilaçlarının eklenmesiyle hazırlanan

hidrojellerin nihai basma gerilimleri sırasıyla $38,30 \pm 0,49$ kPa ve $47,70 \pm 1,33$ kPa olarak bulunmuştur. Elde edilen veriler, ilave edilen kil ve ilacın, hidrojellerin mekanik dayanımını arttırdığını göstermiştir.

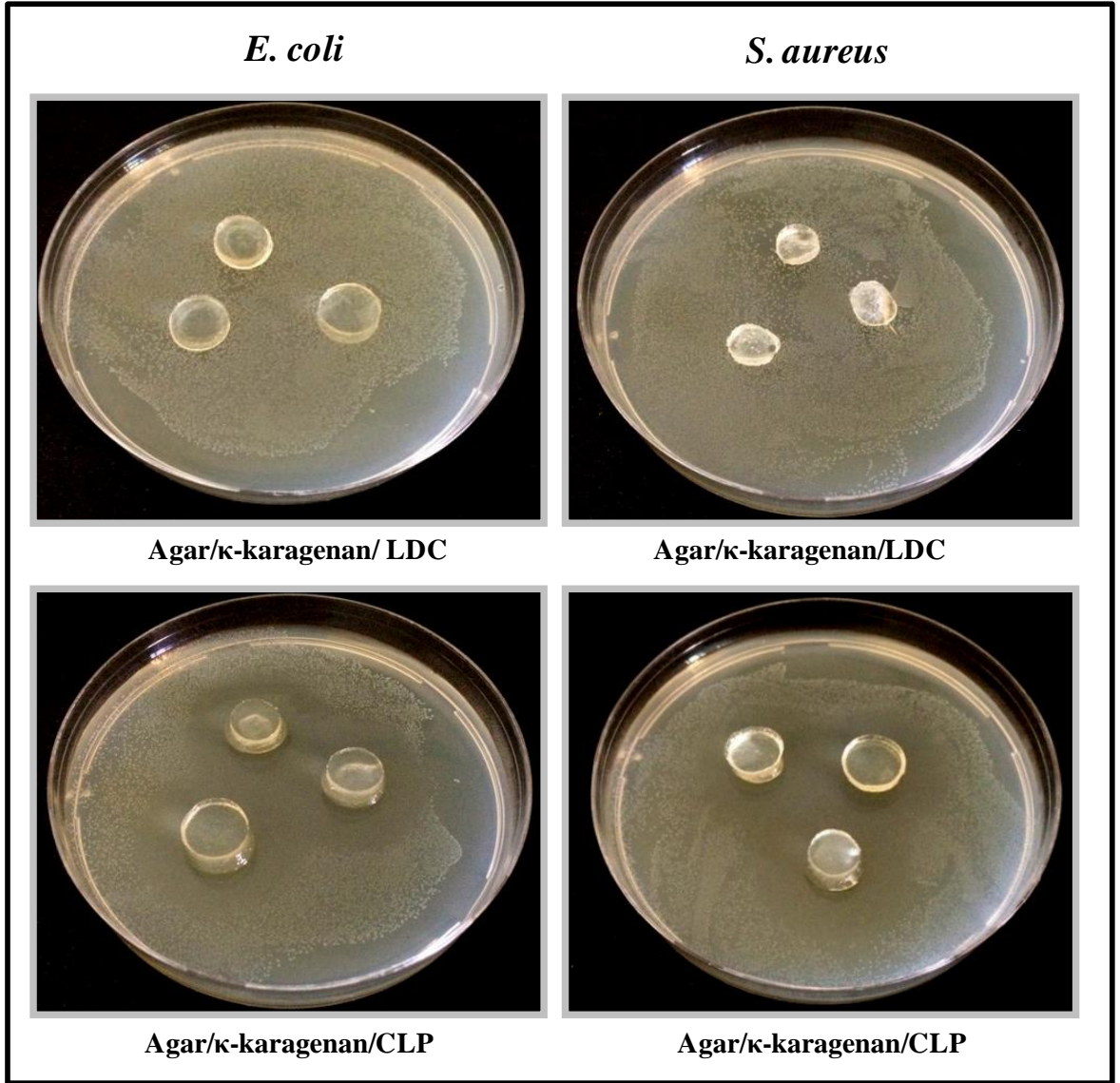
Hidrojellerin mekanik özelliklerini iyileştirmek için hidrojellere karbon bazlı materyaller (karbon nanotüpler, grafen), inorganik nanopartiküller (kil, silikatlar), metal/metaloksit nanopartikülleri (altın, gümüş, platin, bakır, demir oksitler, titanyum oksitler) ve organik nanopartiküller (miseller, dendrimerler) katkılanarak nanokompozit hidrojeller elde edilmektedir (Zhao vd. 2015). Yang vd. (2016), N-izopropilkrilamid (NIPAM) ve akriloloksietiltrimetil amonyum klorür (DAC) kopolimerizasyonu ile hektorit kili katkılı hidrojel sentezlemişlerdir. Nanokompozit içerisindeki kil miktarının 2 g/100 mL (w/v)'den 7 g/100 mL (w/v)'ye artırılmasıyla basma geriliminin 0,5 MPa'dan 6,2 MPa'a çıktığı bildirilmiştir. Li vd. (2014), poli(akrilik asit-ko-akrilamid)/SiO₂ hibrid hidrojelleri sentezlemişler ve mekanik özelliklerini test etmişlerdir. SiO₂ eklemeyen hazırladıkları hidrojinin basma gerilimini 12,6 kPa olarak rapor etmişlerdir. Hazırladıkları hibrid hidrojellerin yüksek mukavemete sahip olduğunu ve yapı içerisindeki SiO₂ miktarının 0,010 g/mL'den 0,022 g/mL'ye çıkarılmasıyla basma geriliminin 18,3 kPa'dan 42,6 kPa'a yükseldiğini belirtmişlerdir. Literatürde yapılan çalışmalarla karşılaştırıldığında sentezlediğimiz hidrojellerin mekanik mukavemetlerinin yara örtüsü materyali olarak kullanılması için yeterli olduğu sonucuna varılmıştır.

4.8. Hidrojellerin Antibakteriyel Test Sonuçları

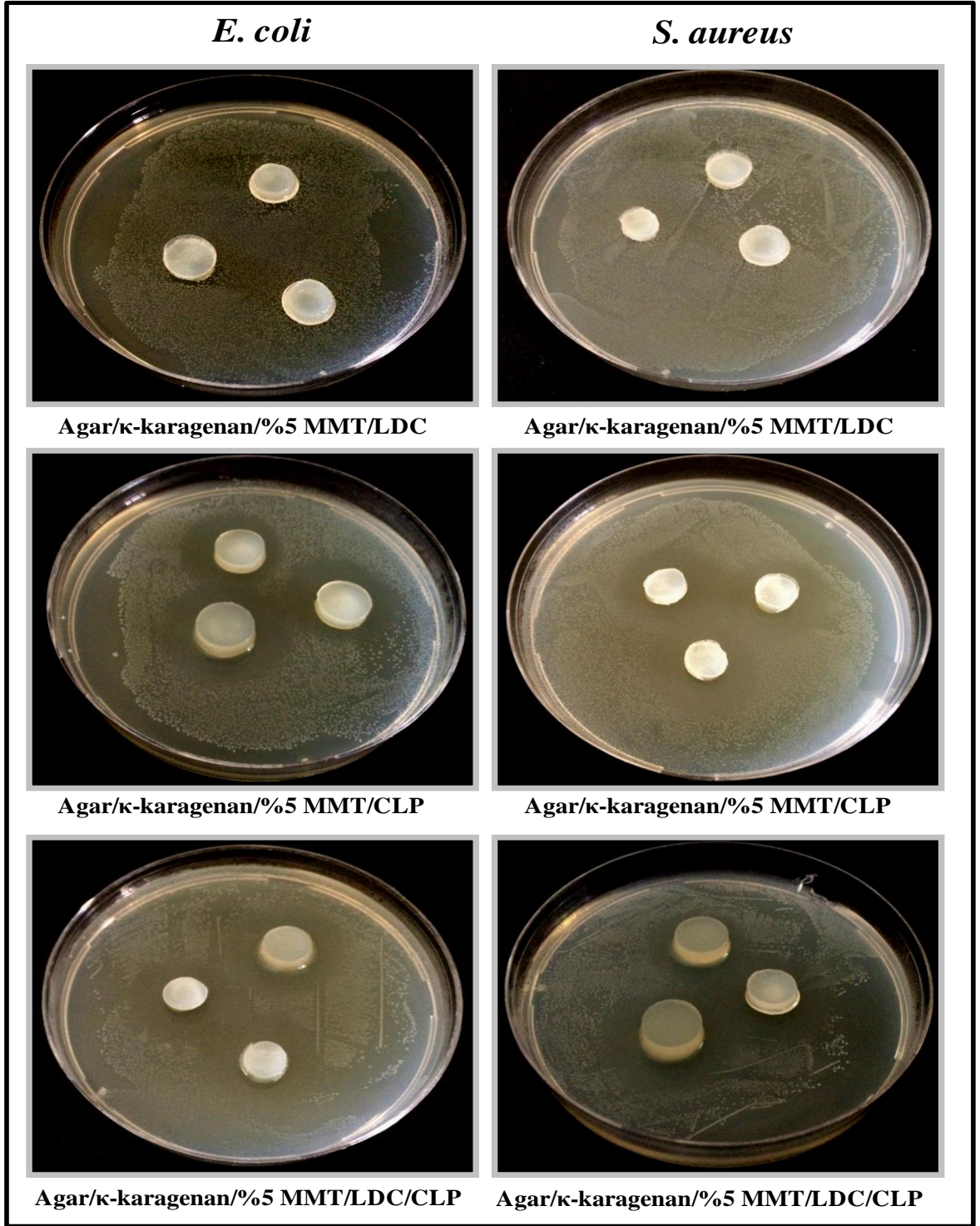
Antibakteriyel testlerde Gram negatif bakteri olarak *E. coli* ve Gram pozitif bakteri olarak da *S. aureus* kullanılmıştır. Hidrojel numunelerinin *E. coli* ve *S. aureus*'a karşı, 37 °C'de 20 saatlik inkübasyon süresi sonundaki antibakteriyel etkinlikleri karşılaştırmalı olarak MMT içermeyen ve %5 MMT içeren hidrojeller için Şekil 4.72'de, LDC veya CLP içeren agar/κ-karagenan hidrojelleri için Şekil 4.73'te ve LDC ve/veya CLP içeren agar/κ-karagenan/%5 MMT hidrojelleri için Şekil 4.74'te verilmiştir.



Şekil 4.72. MMT içermeyen ve %5 MMT içeren hidrojellerin *E. coli* ve *S. aureus*'a karşı antibakteriyel etkinlik görüntüleri.



Şekil 4.73. LDC veya CLP içeren agar/ κ -karagenan hidrojellerinin *E. coli* ve *S. aureus*'a karşı antibakteriyel etkinlik görüntüleri.



Şekil 4.74. LDC ve/veya CLP içeren agar/κ-karagenan/%5 MMT hidrojellerinin *E. coli* ve *S. aureus*'a karşı antibakteriyel etkinlik görüntüleri.

Görüntüler incelendiğinde, antibakteriyel ilaç (CLP) içeren hidrojellerin hem *S. aureus* hem de *E. coli* üzerinde antibakteriyel etki oluşturduğu saptanmıştır. Kloramfenikol içermeyen hidrojellerin çevresinde zon oluşmadığı görülmektedir. İnhibisyon zon çaplarının ortalama değerleri Çizelge 4.15'te verilmiştir.

Çizelge 4.15. Hidrojellerin disk difüzyon yöntemiyle belirlenmiş inhibisyon zon çapları.

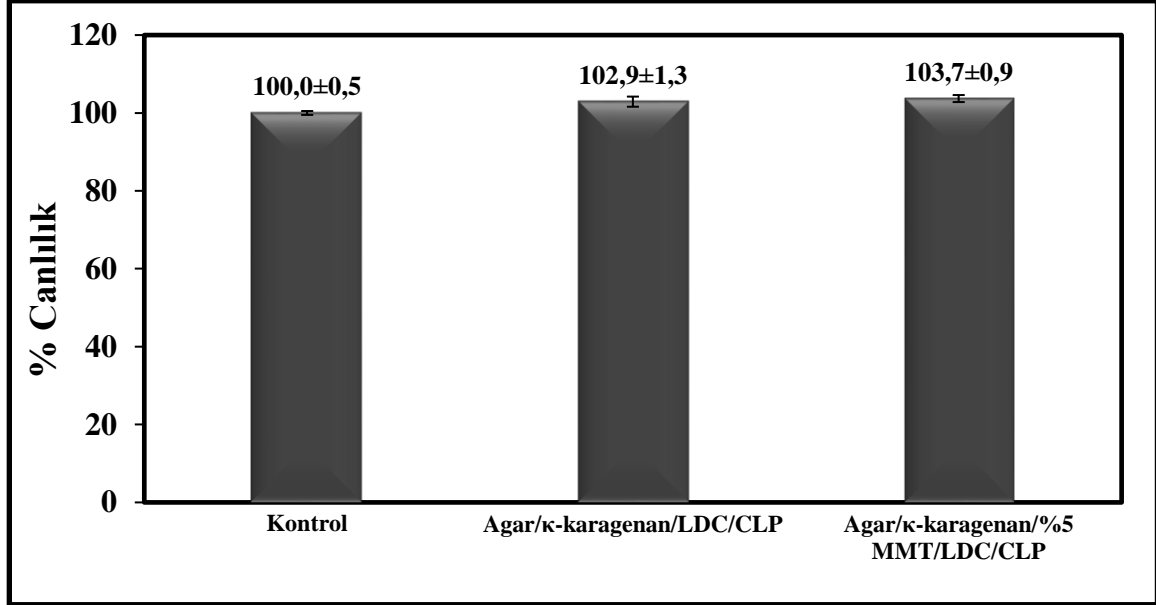
Hidrojel türü	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>
	İnhibisyon zonu (mm)	İnhibisyon zonu (mm)
Agar/κ-karagenan	zon yok	zon yok
Agar/κ-karagenan/%5 MMT	zon yok	zon yok
Agar/κ-karagenan/LDC	zon yok	zon yok
Agar/κ-karagenan/CLP	33,0±0,0	30,3±0,6
Agar/κ-karagenan/%5 MMT/LDC	zon yok	zon yok
Agar/κ-karagenan/%5 MMT/CLP	31,0±1,0	25,7±1,2
Agar/κ-karagenan/%5 MMT/LDC/CLP	29,7±0,6	29,3±1,2

Laçin (2014), yara örtüsü olarak kullanılmak üzere kloramfenikol yüklü selüloz bazlı hidrojel membranlar sentezlemiş ve bu membranların *E. coli*, *S. Aureus* ve *S. pneumonia* türleri üzerindeki antibakteriyel aktivitesini incelemiştir. Bu çalışmanın sonucunda, kloramfenikol yüklü hidrojel membranların *S. pneumonia* üzerine inhibe edici etkisinin 13 mm inhibisyon çapı ile en yüksek olduğunu, *E. coli* bakterisi üzerine ise 9 mm inhibisyon çapı ile inhibe edici etkisinin en düşük olduğunu rapor etmiştir. Wang ve Wei (2017), yara tedavisinde kullanılmak üzere jelatin ve selüloz bazlı IPN hidrojel sentezi gerçekleştirmişler ve bu hidrojellere yükledikleri kloramfenikolün antibakteriyel etkinliğini *E. coli* ve *S. aureus* bakterileri üzerinde test etmişlerdir. Hidrojel içerisinde artan kloramfenikol miktarıyla orantılı olarak antibakteriyel etkinin arttığını ve 37 °C'de, 48 saat süren inkübasyon süresi sonunda *E. coli* için zon çapının 24,5-33,1 mm aralığında, *S. aureus* için ise 17,3-24,2 mm aralığında olduğunu bildirmişlerdir.

4.9. Hidrojellerin XTT Sitotoksosite Analiz Sonuçları

XTT testi, biyomedikal alanlarda potansiyel kullanıma sahip olabilecek materyallerin sitotoksitesinin değerlendirilmesi için yaygın olarak kullanılan yöntemlerden biridir (Tyliszczak vd. 2017). Yöntem, metabolik aktiviteye sahip olan hücrelerin, renksiz veya açık sarı bir bileşik olan XTT'yi, turuncu renkli formazana indirgemeleri esasına dayanır. Formazan oluşumundan kaynaklanan turuncu rengin yoğunluğu hücre canlılığının bir ölçütüdür. Sitotoksosite testi, hazırlanan hidrojellerin hücre canlılığına ve çoğalmasına olan etkisini belirlemek için yapılmıştır. XTT ile hücre canlılığı değerlendirildiğinde 24 saatlik inkübasyon süresi sonunda, agar/κ-karagenan/LDC/CLP hidrojellerine maruz kalan MG-63 hücrelerinin yaklaşık %103'ünün, agar/κ-karagenan/%5 MMT/LDC/CLP hidrojellerine maruz kalan MG-63 hücrelerinin ise yaklaşık %104'ünün

canlılıklarını koruduğu görülmüştür (Şekil 4.75). Bu sonuç, hidrojellerin sentezinde kullanılan kimyasalların, yüklenen ilaçların ve montmorillonit kilinin uygulanan hücreler üzerinde sitotoksik etki göstermediğini kanıtlamıştır.

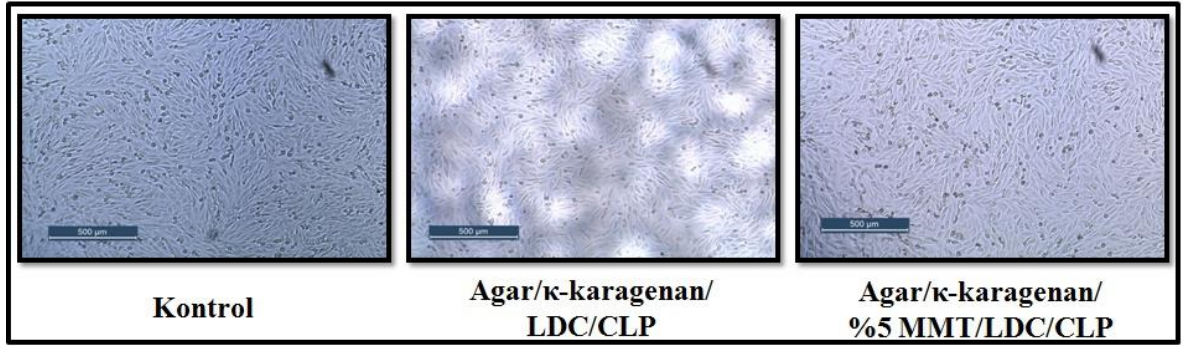


Şekil 4.75. Hidrojellerin MG-63 hücrelerinin canlılığı üzerine etkisi.

Khamrai vd. (2017), yara örtüsü olarak kullanılmak üzere kitosan ve bakteriyel selüloz kullanarak polielektrot film sentezlemişlerdir. Sentezledikleri film materyaline antimikrobiyal aktivite gösteren ve yara iyileştirme özelliğine sahip kurkumin yüklemişlerdir. XTT yöntemini kullanarak gerçekleştirdikleri bu çalışmada, kurkuminin NIH 3T3 fibroblast hücrelerinin çoğalması ve göçü üzerindeki etkisini incelemişlerdir. XTT analizi sonucunda kurkumin içermeyen kompozit film %75 hücre çoğalması gösterirken, kurkumin yüklü kompozit film %85 hücre çoğalması göstermiştir.

4.10. Hidrojellerin Hücre Morfolojisine Etkisi

İnkübasyon periyodu sonunda kontrol grubunun ve hidrojellerle muamele edilen hücrelerin morfolojileri Şekil 4.76'da verilmiştir.



Şekil 4.76. 24 saatlik inkübasyon periyodu sonunda hidrojellerle muamele edilen hücrelerin morfolojileri.

Şekil 4.76'daki fotoğraflardan görüldüğü üzere, hücrelerin morfolojik yapısında herhangi bir değişiklik veya hücre ölümü meydana gelmemiştir. Ayrıca, çalışmada kullanılan MG-63 hücrelerinin hidrojellerin üzerine oldukça iyi bir şekilde yayılmış olduğu görülmektedir. Bu sonuç, hazırlanan hidrojeller ile uygulanan hücreler arasında yüksek bir uyumluluğun olduğunu ve hidrojellerin hücre canlılığı üzerine *in vitro* ortamda toksik etkisinin olmadığını göstermiştir. Lancucka vd. (2017), doku mühendisliğinde kullanılmak üzere hazırladıkları fotoçapraz bağlı aljinat ve jelatin bazlı, silika (SiO₂) katkılı hidrojellerin sitotoksitelerini, MEF (Fare Embriyonik Fibroblast) ve MG-63 hücreleri üzerinde, XTT yöntemiyle test etmişlerdir. Yaptıkları *in vitro* hücre kültürü çalışması sonucunda, sentezledikleri hibrid materyallerin MEF ve MG-63 hücreleriyle biyouyumluluk gösterdiğini ve hidrojellere katkıladıkları silikanın materyaller üzerinde sitotoksik bir etki göstermediğini rapor etmişlerdir.

5. SONUÇLAR

- Bu çalışmada, yara örtüsü materyali olarak kullanılmak üzere kontrollü ilaç salımı yapabilen kil katkılı ve katkısız agar/ κ -karagenan hidrojel sistemleri hazırlanmıştır. Çapraz bağlayıcı olarak tri(etilen glikol) divinil eter (TEGDE), serbest radikal başlatıcısı olarak amonyum persülfat (APS) ve hızlandırıcı olarak N,N,N',N'-tetrametilendiamin (TEMED) kullanılmıştır.

- Hidrojellerin sentezi sırasında polisakkarit oranı, çapraz bağlayıcı ve başlatıcı konsantrasyonu ile ortam sıcaklığı değiştirilerek, farklı şişme derecelerine sahip hidrojeller elde edilmiştir. Hidrojel matriksi içerisindeki başlatıcı ve çapraz bağlayıcı konsantrasyonunun artırılmasıyla birlikte hidrojellerin sudaki şişme yüzdelerinin azaldığı gözlenmiştir. Hidrojellerin sentezi sırasında kullanılan çözelti sıcaklığının 60 °C'den 70 °C'ye çıkarılmasıyla hidrojinin yüzde denge şişme değerinde bir artışın olduğu, ancak sıcaklığın 70 °C'den 80 °C'ye çıkarılmasına şişme değerinin azaldığı görülmüştür. Hidrojel matriksi içerisindeki κ -karagenan miktarının artırılmasıyla hazırlanan hidrojinin suda denge şişme miktarı artmıştır. APS ve TEGDE konsantrasyonlarının 5×10^{-4} M, agarın κ -karagenana oranının 1:4 ve çözelti sıcaklığının 70 °C olduğu koşullarda hazırlanan hidrojinin suda en yüksek şişme derecesine sahip olduğu (%2523) görülmüştür.

- İlaç salımını kontrol edebilmek, termal ve mekanik özelliklerini iyileştirebilmek için su içerisinde en yüksek şişme derecesine sahip hidrojel sistemine fenilalanin amino asiti ile modifiye edilmiş montmorillonit kilinden farklı oranlarda katılarak nanokompozit hidrojeller sentezlenmiştir. Montmorillonit kilinin modifikasyonunun gerçekleşip gerçekleşmediği XRD ve zeta potansiyeli ölçümleri yapılarak belirlenmiştir. XRD analizleri sonucunda görülen bazal boşluk değerindeki artış ve zeta potansiyeli ölçümleri sonucunda görülen potansiyel artışı kil tabakaları arasına fenilalanin amino asitinin girdiğini yani modifikasyonun başarılı bir şekilde gerçekleştiğini göstermiştir.

- Hidrojele eklenen kil miktarındaki artışla birlikte hidrojellerin su tutma kapasitesinin azaldığı görülmüştür. Farklı başlatıcı ve çapraz bağlayıcı konsantrasyonunda, farklı polisakkarit oranında, farklı sıcaklık ve kil miktarı kullanılarak hazırlanan tüm hidrojel sistemleri için suda şişme kinetiği verileri difüzyonun Fick tipi olmayan türde gerçekleştiğini göstermiştir.

- Hidrojellere ait XRD analizi sonucunda, montmorillonit kilinin pik verdiği 2 θ açısı bölgesinde, kil ilave edilerek hazırlanan hidrojellerin herhangi bir pik vermediği görülmüştür. Bu durum, kil tabakalarının hidrojel matriksi içerisinde eksfoliyeye olduğunu göstermiştir.

- Sentezlenen hidrojellerin morfolojileri SEM analizi gerçekleştirilerek değerlendirilmiştir. SEM analizleri sonucunda, sentezlenen hidrojellerin gözenekli yapıda oldukları ve şişme derecesi yüksek olan hidrojinin gözenek boyutunun diğerlerinden daha büyük olduğu görülmüştür.

- EDS analizlerinden elde edilen veriler, hidrojel içerisindeki montmorillonit miktarının artması ile kil yapısında başlıca yer alan Mg, Al ve Si elementlerinin konsantrasyonlarının giderek arttığını göstermiştir.
- TEM fotoğrafları, hidrojellere ilave edilen montmorillonit kilinin matriks içerisinde eksfoliyeye dağılım sergilediğini göstermiştir.
- DSC analizleri, hidrojel içerisindeki kil miktarının %0'dan %5'e arttırılması sonucu, hidrojin bozunma sıcaklığının 256,6 °C'den 262,1 °C'ye çıktığını göstermiştir. Bu durum, artan kil miktarıyla hidrojellerin termal kararlılığının arttığını göstermektedir.
- Opasite testi sonuçları, agar/ κ -karagenan hidrojellerinin yüksek transparanlığa sahip olduğunu ancak %5 kil ilavesiyle hidrojellerin biraz matlaştığını ortaya koymuştur.
- Agar/ κ -karagenan ve farklı konsantrasyonlarda kil içeren agar/ κ -karagenan/montmorillonit hidrojellerinin, sentetik yara sıvısı, sentetik idrar çözeltisi, fizyolojik tuzlu su çözeltisi ve D-glukoz çözeltisi olmak üzere çeşitli fizyolojik ortamlardaki şişme davranışları incelenmiştir. Hidrojellerin şişme miktarının en az sentetik yara sıvısında ve en çok glukoz çözeltisinde olduğu gözlenmiştir.
- Hidrojel yara örtüsü materyallerine yüklenen ağrı kesici ilaç olan lidokain hidroklorür ve antibakteriyel ilaç olan kloramfenikolün salım davranışları incelenmiştir. Hidrojel içerisinde artan kil konsantrasyonu ile birlikte ilaç salımlarının azaldığı görülmüştür.
- 0, 3 ve 6 aylık saklama süreleri sonunda hidrojel içerisindeki ilaç formülasyonlarının kararlılığı test edilmiş ve 6 ay süresince 4 °C'de saklanan hidrojellerde, lidokain hidroklorür ve kloramfenikol konsantrasyonunun çok fazla değişmediği görülmüştür.
- Basma testlerinden elde edilen sonuçlar, yara örtüsü materyali olarak hazırlanan hidrojellerin yeterli mekaniksel dayanıma sahip olduklarını göstermiştir. Agar/ κ -karagenan hidrojinin nihai basma gerilimi 33,79±0,30 kPa iken, bu hidrojele %5 MMT ilave edilmesiyle hazırlanan hidrojin nihai basma gerilimi 42,02±0,60 kPa olarak ölçülmüştür. Bu hidrojellere lidokain hidroklorür ve kloramfenikol ilaçlarının eklenmesiyle hazırlanan hidrojellerin nihai basma gerilimleri sırasıyla 38,30±0,49 kPa ve 47,70±1,33 kPa olarak bulunmuştur.
- Antibakteriyel testler, kloramfenikol ilave edilerek hazırlanan hidrojellerin *E. coli* ve *S. aureus*'a karşı yüksek antibakteriyel etkinliğe sahip olduğunu göstermiştir.
- Sitotoksosite deney sonuçları, hidrojellerin MG-63 hücrelerine karşı toksik etki göstermediklerini ve biyoyumlu materyaller olduklarını ortaya koymuştur.

6. KAYNAKLAR

- Abdelrahman, T. and Newton, H. 2011. Wound dressings: principles and practice. Surgery (Oxford), 29 (10): 491-495.
- Abureesh, M.A., Oladipo, A.A. and Gazi, M. 2016. Facile synthesis of glucose-sensitive chitosan-poly(vinyl alcohol) hydrogel: Drug release optimization and swelling properties. International Journal of Biological Macromolecules, 90: 75-80.
- Ahmed, E.M. 2015. Hydrogel: Preparation, characterization, and applications: A review. Journal of Advanced Research, 6: 105-121.
- Ajvalasit, A., Sabatino, M.A., Todaro, S., Alessi, S., Giacomazza, D., Picone, P., Carlo, M.D. and Dispenza, C. 2018. Xyloglucan-based hydrogel films for wound dressing: Structure-property relationships. Carbohydrate Polymers, 179: 262-272.
- Aouada, F.A., Moura, M.R., Silva, W.T.L., Muniz, E.C. and Mattoso, L.H.C. 2011. Preparation and characterization of hydrophilic, spectroscopic, and kinetic properties of hydrogels based on polyacrylamide and methylcellulose polysaccharide. Journal of Applied Polymer Science, 120: 3004-3013.
- Ariga, K., Lvov, Y.M., Kawakami, K., Ji, Q. and Hill, J.P. 2011. Layer-by-layer self-assembled shells for drug delivery. Advanced Drug Delivery Reviews, 63 (9): 762-771.
- Arroyo, M., Lopez-Manchado, M.A. and Herrero, B. 2003. Organo-montmorillonite as substitute of carbon black in natural rubber compounds. Polymer, 44 (8): 2447-2453.
- Bagshaw, K.R., Hanenbaum, C.L., Carbone, E.J., Lo, K.W., Laurencin, C.T., Walker, J. and Nair, L.S. 2015. Pain management via local anesthetics and responsive hydrogels. Therapeutic Delivery, 6 (2): 165-176.
- Balakrishnan, B. and Jayakrishnan, A. 2005. Self cross-linking biopolymers as injectable *in situ* forming biodegradable scaffolds. Biomaterials, 26 (18): 3940-3951.
- Bano, I., Arshad, M., Yasin, T., Ghauri, M.A. and Younus, M. 2017. Chitosan: A potential biopolymer for wound management. International Journal of Biological Macromolecules, 102: 380-383.
- Bao, X., Hayashi, K., Li, Y., Teramoto, A. and Abe, K. 2010. Novel agarose and agar fibers: fabrication and characterization. Materials Letters, 64 (22): 2435-2437.
- Bao, Y., Ma, J. and Li, N. 2011. Synthesis and swelling behaviors of sodium carboxymethyl cellulose-g-poly(AA-co-AM-co-AMPS)/MMT superabsorbent hydrogel. Carbohydrate Polymers, 84: 76-82.
- Blanco, E. Shen, H. and Ferrari, M. 2015. Principles of nanoparticle design for overcoming biological barriers to drug delivery. Nature Biotechnology, 33: 941-951.

- Blanco-Fernandez, B., Lopez-Viota, M., Concheiro, A. and Alvarez-Lorenzo, C. 2011. Synergistic performance of cyclodextrin-agar hydrogels for ciprofloxacin delivery and antimicrobial effect. *Carbohydrate Polymers*, 85 (4): 765-774.
- Boateng, J.S., Matthews, K.H., Stevens, H.N.E. and Eccleston, G.M. 2007. Wound healing dressings and drug delivery systems: A review. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 97 (8): 2892-2923.
- Boral, S., Saxena, A. and Bohidar, H.B. 2010. Syneresis in agar hydrogels. *International Journal of Biological Macromolecules*, 46 (2): 232-236.
- Boyce, S.T. and Hansbrough, J.F. 1988. Biologic attachment, growth, and differentiation of cultured human epidermal keratinocytes on a graftable collagen and chondroitin-6-sulfate substrate. *Surgery*, 103 (4): 421-31.
- Bui, V.K.H., Park, D. and Lee Y.C. 2017. Chitosan combined with ZnO, TiO₂ and Ag nanoparticles for antimicrobial wound healing applications: A mini review of the research trends. *Polymers*, 9 (1): 21.
- Cadene, A., Durand-Vidal, S., Turq, P. and Brendle, J. 2005. Study of individual Na-montmorillonite particles size, morphology, and apparent charge. *Journal of Colloid and Interface Science*, 285 (2): 719-730.
- Calo, E. and Khutoryanskiy, V.V. 2015. Biomedical applications of hydrogels: A review of patents and commercial products. *European Polymer Journal*, 65: 252-267.
- Campo, V.L., Kawano, D.F., Silva, D.B. and Carvalho, D.I. 2009. Carrageenans: Biological properties, chemical modifications and structural analysis - A review. *Carbohydrate Polymers*, 77 (2): 167-180.
- Capanema, N.S.V., Mansur, A.A.P., Jesus, A.C., Carvalho, S.M., Oliveira, L.C. and Mansur, H.S. 2017. Superabsorbent crosslinked carboxymethyl cellulose-PEG hydrogels for potential wound dressing applications. *International Journal of Biological Macromolecules*, 106: 1218-1234.
- Cencetti, C., Bellini, D., Pavesio, A., Senigaglia, D., Passariello, C., Virga, A. and Matricardi, P. 2012. Preparation and characterization of antimicrobial wound dressings based on silver, gellan, PVA and borax. *Carbohydrate Polymers*, 90 (3): 1362-1370.
- Chen, H.H., Thirumavalavan, M., Lin, F.Y. and Lee, J.F. 2015. A facile approach for achieving an effective dual sorption ability of Si/SH/S grafted sodium montmorillonite. *RSC Advances*, 5: 57792-57803.
- Chen, J. and Park, K. 2000. Synthesis and characterization of superporous hydrogel composites. *Journal of Controlled Release*, 65 (1-2): 73-82.
- Coninck, A.D., Draye, J.P., Van Strubarq, A., Vanpee, E., Kaufman, L., Delaey, B., Verbeken, G. and Roseeuw, D. 1996. Healing of full-thickness wounds in pigs: Effects of occlusive and non-occlusive dressings associated with a gel vehicle. *Journal of Dermatological Science*, 13 (3): 202-211.

- Coviello, T., Matricardi, P., Marianecchi, C. and Alhaique, F. 2007. Polysaccharide hydrogels for modified release formulations. *Journal of Controlled Release*, 119: 5-24.
- Dan, C.H., Lee, M.H. and Kim, Y.D. 2006. Effect of clay modifiers on the morphology and physical properties of thermoplastic polyurethane/clay nanocomposites. *Polymer*, 47: 6718-6730.
- Danhier, F., Feron, O. and Preat, V. 2010. To exploit the tumor microenvironment: Passive and active tumor targeting of nanocarriers for anti-cancer drug delivery. *Journal of Controlled Release*, 148 (2): 135-146.
- Deng, C.M., He, L.Z., Zhao, M., Yang, D. and Liu, Y. 2007. Biological properties of the chitosan-gelatin sponge wound dressing. *Carbohydrate Polymers*, 69 (3): 583-589.
- Derkach, S.R., Ilyin, S.O., Maklakova, A.A., Kulichikhin, V.G. and Malkin, A.Y. 2015. The rheology of gelatin hydrogels modified by κ -carrageenan. *LWT - Food Science and Technology*, 63: 612-619.
- Dhivya, S., Padma, V.V. and Santhini, E. 2015. Wound dressings - A review. *Biomedicine*, 5 (4): 24-28.
- Dinu, M.V., Cocarta, A.I. and Dragan, E.S. 2016. Synthesis, characterization and drug release properties of 3D chitosan/clinoptilolite biocomposite cryogels. *Carbohydrate Polymers*, 153: 203-211.
- Distantina, S., Fadilah, F. and Kaavessina, M. 2016. Swelling behaviour of kappa carrageenan hydrogel in neutral salt solution. *International Journal of Chemical and Molecular Engineering*, 10 (8): 998-1001.
- Dodov, M.G., Goracinova, K., Mladenovska, K. and Kumbaradzi, E.F. 2002. Release profile of lidocaine HCl from topical liposomal gel formulation. *International Journal of Pharmaceutics*, 242 (1-2): 381-384.
- Doillon, C.J. and Silver, F.H. 1986. Collagen-based wound dressing: Effect of hyaluronic acid and fibronectin on wound healing. *Biomaterials*, 7: 3-8.
- Dragostin, O.M., Samal, S.K., Dash, M., Lupascu, F., Panzariu, A., Tuchilus, C., Ghetu, N., Danciu, M., Dubruel, P., Pieptu, D., Vasile, C., Tatia, R. and Profire, L. 2016. New antimicrobial chitosan derivatives for wound dressing applications. *Carbohydrate Polymers*, 141: 28-40.
- Drury, J.L. and Mooney, D.J. 2003. Hydrogels for tissue engineering: Scaffold design variables and applications. *Biomaterials*, 24: 4337-4351.
- Du, L., Tong, L., Jin, Y., Jia, J., Liu, Y., Su, C., Yu, S. and Li, X. 2012. A multifunctional *in situ*-forming hydrogel for wound healing. *Wound Repair and Regeneration*, 20: 904-910.
- Ebara, M., Kotsuchibashi, Y., Narain, R., Idota, N., Kim, Y.J., Hoffman, J.M., Uto, K. and Aoyagi, T. 2014. Smart biomaterials in NIMS monographs. Springer, pp. 9-65, New York.

- Elbadawy, A.K., Xin, C., Mohamed, S.M., El-Refaie, S.K. 2014. Crosslinked poly(vinyl alcohol) hydrogels for wound dressing applications: A review of remarkably blended polymers. *Arabian Journal of Chemistry*, 8 (1): 1-14.
- Erickson, I.E., Kestle, S.R., Zellars, K.H., Dodge, G.R., Burdick, J.A. and Mauck R.L. 2012. Improved cartilage repair via *in vitro* pre-maturation of MSC seeded hyaluronic acid hydrogels. *Biomedical Materials*, 7 (2): 024110.
- Farhat, W., Venditti, R., Mignard, N., Taha, M., Becquart, F. and Ayoub, A. 2017. Polysaccharides and lignin based hydrogels with potential pharmaceutical use as a drug delivery system produced by a reactive extrusion process. *International Journal of Biological Macromolecules*, 104: 564-575.
- Fleck, C.A. and Simman, R. 2010. Modern collagen wound dressings: Function and purpose. *The Journal of the American College of Certified Wound Specialists*, 2 (3): 50-54.
- Fonder, M.A., Lazarus, G.S., Cowan, D.A., Aronson-Cook, B., Kohli, A.R. and Mamelak, A.J. 2008. Treating the chronic wound: A practical approach to the care of nonhealing wounds and wound care dressings. *Journal of American Academy of Dermatology*, 58 (2): 185-206.
- Fu, Y. and Kao, W.J. 2010. Drug release kinetics and transport mechanisms of non-degradable and degradable polymeric delivery systems. *Expert Opinion on Drug Delivery*, 7: 429-444.
- Fudala, A., Palinko, I. and Kiricsi, I. 1999. Preparation and characterization of hybrid organic-inorganic composite materials using the amphoteric property of amino acids: Amino acid intercalated layered double hydroxide and montmorillonite. *Inorganic Chemistry*, 38: 4653-4658.
- Ganji, F. and Farahani, V.A. 2009. Hydrogels in controlled drug delivery systems. *Iranian Polymer Journal*, 18: 63-88.
- Gao, G., Du, G., Cheng, Y. and Fu, J. 2014. Tough nanocomposite double network hydrogels reinforced with clay nanorods through covalent bonding and reversible chain adsorption. *Journal of Materials Chemistry B*, 2: 1539-1548.
- Garg, S. and Garg, A. 2016. Hydrogel: Classification, properties, preparation and technical features. *Asian Journal of Biomaterial Research*, 2 (6): 163-170.
- Garrido, T., Etxabide, A., Guerrero, P. and Caba, K. 2016. Characterization of agar/soy protein biocomposite films: Effect of agar on the extruded pellets and compression moulded films. *Carbohydrate Polymers*, 151: 408-416.
- Gebauer, M.G., McClure, A.F. and Vlahakis, T.L. 2001. Stability indicating HPLC method for the estimation of oxycodone and lidocaine in rectal gel. *International Journal of Pharmaceutics*, 223 (1-2): 49-54.

- Guerra, L., Dellambra, E., Panacchia, L. and Paionni, E. 2009. Tissue engineering for damaged surface and lining epithelia: Stem cells, current clinical applications, and available engineered tissues. *Tissue Engineering Part B: Reviews*, 15 (2): 91-112.
- Guilherme, M.R., Aouada, F., Fajardo, A.R., Martins, A.F., Paulino, A.T., Davi, M.F.T., Rubira, A.F. and Muniz, E.C. 2015. Superabsorbent hydrogels based on polysaccharides for application in agriculture as soil conditioner and nutrient carrier: A review. *European Polymer Journal*, 72: 365.
- Gupta, B., Agarwal, R. and Alam, M.S. 2010. Textile-based smart wound dressings. *Indian Journal of Fibre and Textile Research*, 35: 174-187.
- Hacker, M.C. and Mikos, A.G. 2011. *Principles of regenerative medicine* (2nd ed.). Academic Press, pp. 587-622, San Diego.
- Hakkarainen, T., Koivuniemi, R., Kosonen, M., Escobedo-Lucea, C., Sanz-Garcia, A., Vuola, J., Valtonen, J., Tammela, P., Mäkitie, A., Luukko, K., Yliperttula, M. and Kavola, H. 2016. Nanofibrillar cellulose wound dressing in skin graft donor site treatment. *Journal of Controlled Release*, 244: 292-301.
- Hennink, W.E. and Nostrum, C.F. 2002. Novel crosslinking methods to design hydrogels. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 54 (1): 13-36.
- Hinman, C.D. and Maibach, H. 1963. Effect of air exposure and occlusion on experimental human skin wounds. *Nature*, 200: 377-378.
- Holowka, E.P. and Bhatia, S.K. 2014. *Drug delivery: Materials design and clinical perspective*. Springer, pp. 7-62, New York.
- <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed> [Son erişim tarihi: 14.12.2017].
- Imeson, A. 2010. *Food stabilisers, thickeners and gelling agents*. Wiley Blackwell, pp. 31, United Kingdom.
- Ingebrigtsen, S.G., Basnet, N.S. and Holsæter, A.M. 2015. Development and optimization of a new processing approach for manufacturing topical liposomes-in-hydrogel drug formulations by dual asymmetric centrifugation. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 42: 1-33.
- Ishihara, M., Nakanishi, K., Ono, K., Sato, M., Kikuchi, M., Saito, Y., Yura, H., Matsui, T., Hattori, H., Uenoyama, M. and Kurita, A. 2002. Photocrosslinkable chitosan as a dressing for wound occlusion and accelerator in healing process. *Biomaterials*, 23: 833-840.
- Jana, P., Mitra, T., Selvaraj, T.K.R., Gnanamani, A. and Kundu, P.P. 2016. Preparation of guar gum scaffold film grafted with ethylenediamine and fish scale collagen, cross-linked with ceftazidime for wound healing application. *Carbohydrate Polymers*, 153: 573-581.
- Jaymand, M. 2011. Modified syndiotactic polystyrene/montmorillonite nanocomposite: Synthesis, characterization, and properties. *Macromolecular Research*, 19 (10): 998-1005.

- Jayrajsinh, S., Shankar, G., Agrawal, Y.K. and Bakre, L. 2017. Montmorillonite nanoclay as a multifaceted drug-delivery carrier: A review. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 39: 200-209.
- Jiao, G., Yu, G., Zhang, J. and Ewart, H.S. 2011. Chemical structures and bioactivities of sulfated polysaccharides from marine algae. *Marine Drugs*, 9: 196-223.
- Jones, V., Grey, J.E. and Harding, K.G. 2006. Wound dressings. *British Medical Journal*, 332 (7544): 777-780.
- Jovanovic, Z., Krkljes, A., Stojkovska, J., Tomic, S., Obradovic, B., Stankovic, V. and Popovic, Z. 2011. Synthesis and characterization of silver/poly(N-vinyl-2-pyrrolidone) hydrogel nanocomposite obtained by *in situ* radiolytic method. *Radiation Physics and Chemistry*, 80 (11): 1208-1215.
- Kabiri, K., Omidian, H., Hashemi, S.A. and Zohuriaan, M.J. 2003. Synthesis of fast-swelling superabsorbent hydrogels: Effect of crosslinker type and concentration on porosity and absorption rate. *European Polymer Journal*, 39: 1341-1348.
- Kafrani, E.T., Shekarchizadeh, H. and Behabadi, M.M. 2016. Development of edible films and coatings from alginates and carrageenans. *Carbohydrate Polymers*, 137: 360-374.
- Kannon, G.A. and Garrett, A.B. 1995. Moist wound healing with occlusive dressings: A clinical review. *Dermatologic Surgery*, 21: 583-90.
- Kara, S., Arda, E., Kavzak, B. and Pekcan, O. 2006. Phase transitions of kappa-carrageenan gels in various types of salts. *Journal of Applied Polymer Science*, 102 (3): 3008-3016
- Kaygusuz, H., Torlak, E., Evingur, G.A., Ozen, I., Klitzing, R.V. and Erim, F.B. 2017. Antimicrobial cerium ion-chitosan crosslinked alginate biopolymer films: A novel and potential wound dressing. *International Journal of Biological Macromolecules*, 105: 1161-1165.
- Kennedy-Evans, K.L. and Lutz, J.B. 2010. *Advances in wound care 1*. Medical Writing Services, pp. 131-136, California.
- Kevadiya, B.D., Joshi, G.V., Mody, H.M. and Bajaj, H.C. 2011. Biopolymer-clay hydrogel composites as drug carrier: Host-guest intercalation and *in vitro* release study of lidocaine hydrochloride. *Applied Clay Science*, 52 (4): 364-367.
- Keywords: Lidocaine hydrochloride; Montmorillonite; Controlled release; Hydrogel composite
- Khamrai, M., Banerjee, S.L. and Kundu, P.P. 2017. Modified bacterial cellulose based self-healable polyelectrolyte film for wound dressing application. *Carbohydrate Polymers*, 174: 580-590.
- Kim, O.V., Litvinov, R.I., Chen, J., Weisel, J.W. and Alber, M.S. 2017. Compression-induced structural and mechanical changes of fibrin-collagen composites. *Matrix Biology*, 60-61: 141-156.

- Kirsch, P.P. 2002. Carrageenan: A safe additive. *Environmental Health Perspectives*, 110: 288-289.
- Kokabi, M., Sirousazar, M. and Hassan, Z.M. 2007. PVA-clay nanocomposite hydrogels for wound dressing. *European Polymer Journal*, 43: 773-781.
- Konishi, M., Tabata, Y., Kariya, M., Hosseinkhani, H., Suzuki, A., Fukuhara, K., Mandai, M., Takakura, K. and Fujii, S. 2005. *In vivo* anti-tumor effect of dual release of cisplatin and adriamycin from biodegradable gelatin hydrogel. *Journal of Controlled Release*, 103 (1): 7-19.
- Kranz, H., Le Brun, V. and Wagner, T. 2005. Development of a multi particulate extended release formulation for ZK 811 752, a weakly basic drug. *International Journal of Pharmaceutics*, 299 (1-2): 84-91.
- Kuo, C.K. and Ma, P.X. 2001. Ionically crosslinked alginate hydrogels as scaffolds for tissue engineering: Part 1. Structure, gelation rate and mechanical properties. *Biomaterials*, 22: 511-521.
- Kwon, I.K., Lee, S.C., Han, B. and Park, K. 2012. Analysis on the current status of targeted drug delivery to tumors. *Journal of Controlled Release*, 164 (2): 108-114.
- Laçin, N.T. 2014. Development of biodegradable antibacterial cellulose based hydrogel membranes for wound healing. *International Journal of Biological Macromolecules*, 67: 22-27.
- Laftah, W.A., Hashim, S. and Ibrahim, A.N. 2011. Polymer hydrogels: A review. *Polymer-Plastics Technology and Engineering*, 50: 1475-1486.
- Lancucka, J.L., Mystek, K., Mignon, A., Vlierberghe, S.V., Latkiewicz, A. and Nowakowska, M. 2017. Alginate- and gelatin-based bioactive photocross-linkable hybrid materials for bone tissue engineering. *Carbohydrate Polymers*, 157: 1714-1722.
- Lee, J.S., Bae, J.W., Joung, Y.K., Lee, S.J., Han, D.K. and Park, K.D. 2008. Controlled dual release of basic fibroblast growth factor and indomethacin from heparin-conjugated polymeric micelle. *International Journal of Pharmaceutics*, 346: 57-63.
- Lee, W.F. and Chen, Y.C. 2006. Effects of intercalated hydrotalcite on drug release behavior for poly(acrylic acid-co-N-isopropyl acrylamide)/intercalated hydrotalcite hydrogels. *European Polymer Journal*, 42 (7): 1634-1642.
- Lee, W.F. and Fu, Y.T. 2003. Effect of montmorillonite on the swelling behavior and drug-release behavior of nanocomposite hydrogels. *Journal of Applied Polymer Science*, 89 (13): 3652-3660.
- Lee, W.K., Lim, Y.Y., Leow, T.C., Namasivayam, P., Abdullah, J.O. and Ho, C.L. 2017. Biosynthesis of agar in red seaweeds: A review. *Carbohydrate Polymers*, 164: 23-30.
- Li, L., Ni, R., Shao, Y. and Mao, S. 2014. Carrageenan and its applications in drug delivery. *Carbohydrate Polymers*, 103: 1-11.

- Li, S., Li, L., Guo, C., Qin, H. and Yu, X. 2017. A promising wound dressing material with excellent cytocompatibility and proangiogenesis action for wound healing: Strontium loaded silk fibroin/sodium alginate (SF/SA) blend films. *International Journal of Biological Macromolecules*, 104: 969-978.
- Li, S., Wang, H., Huang, W. and Liu, X. 2014. Facile preparation of pH-sensitive poly(acrylic acid-co-acrylamide)/SiO₂ hybrid hydrogels with high strength by *in situ* frontal polymerization. *Colloid and Polymer Science*, 292: 107-113.
- Lim, D.W., Whang, H.S., Yoon, K.J. and Ko, S.W. 2001. Synthesis and absorbency of a superabsorbent from sodium starch sulfate-g-polyacrylonitrile. *Journal of Applied Polymer Science*, 79 (8): 1423-1430.
- Lipowski, I. 1938. A process for producing carriers for medicinal substances. British Patent, 523594.
- Lister, J. 1867. On the antiseptic principle in the practice of surgery. *The Lancet*, 90 (2299): 353-356.
- Liu, J., Chen, L., Li, L., Hu, X. and Cai, Y. 2004. Steady-state fluorescence study on release of camptothecin from agar hydrogel. *International Journal of Pharmaceutics*, 287 (1-2): 13-19.
- Lu, S.S. and Chen, H.C. 2015. *Wireless CMOS bio-medical SoCs for DNA/protein/glucose sensing*. Springer, pp. 303-359, New York.
- Luther, E.M., Koehler, Y., Diendorf, J., Epple, M. and Dringen, R. 2011. Accumulation of silver nanoparticles by cultured primary brain astrocytes. *Nanotechnology*, 22 (37): 1-11.
- Ma, Y., Xin, L., Tan, H., Fan, M., Li, J., Jia, Y., Ling, Z., Chen, Y. and Hu, X. 2017. Chitosan membrane dressings toughened by glycerol to load antibacterial drugs for wound healing. *Materials Science and Engineering: C*, 81: 522-531.
- Madaghiele, M., Demitri, C., Sannino, A. and Ambrosio, L. 2014. Polymeric hydrogels for burn wound care: Advanced skin wound dressings and regenerative templates. *Burns & Trauma*, 2 (4): 153-161.
- Magin, C.M., Neale, D.B., Drinker, M.C., Willenberg, B.J., Reddy, S.T., La Perle, K.M., Schultz, G.S. and Brennan, A.B. 2016. Evaluation of a bilayered, micropatterned hydrogel dressing for full-thickness wound healing. *Experimental Biology and Medicine*, 241 (9): 986-995.
- Mahdavinia, G.R., Massoumi, B., Jalili, K. and Kiani, G. 2012. Effect of sodium montmorillonite nanoclay on the water absorbency and cationic dye removal of carrageenan-based nanocomposite superabsorbents. *Journal of Polymer Research*, 19: 9947 (1-13).
- Mahdavinia, G.R., Pourjavadi, A., Hosseinzadeh, H. and Zohuriaan, M.J. 2004. Modified chitosan 4. Superabsorbent hydrogels from poly(acrylic acid-co-acrylamide) grafted

- chitosan with salt- and pH-responsiveness properties. *European Polymer Journal*, 40 (7): 1399-1407.
- Majno, G. 1975. *The Healing Hand: Man and Wound in the Ancient World*. Harvard University Press, Cambridge, 571 s.
- Mangione, M.R., Giacomazza, D., Bulone, D., Martorana, V., Cavallaro, G. and San Biagio, P.L. 2005. K^+ and Na^+ effects on the gelation properties of κ -carrageenan. *Biophysical Chemistry*, 113 (2): 129-135.
- Maolin, Z., Jun, L., Min, Y. and Hongfei H. 2000. The swelling behaviour of radiation prepared semi-interpenetrating polymer networks composed of polyNIPAAm and hydrophilic polymers. *Radiation Physics and Chemistry*, 58: 397-400.
- Marcia, R.E.S. and Castro, M.C.R. 2002. New dressings, including tissue engineered living skin. *Clinics in Dermatology*, 20: 715-723.
- Martucci, J.F., Vazquez, A. and Ruseckaite, R.A. 2007. Nanocomposites based on gelatin and montmorillonite: Morphological and thermal studies. *Journal of Thermal Analysis and Calorimetry*, 89: 117-122.
- Mathiowitz, E., Jacob, J.S., Jong, Y.S., Carino, G.P., Chickering, D.E., Chaturvedi, P., Santos, C.A., Vijayaraghavan, K., Montgomery, S., Bassett, M. and Morrell, C. 1997. Biologically erodable microspheres as potential oral drug delivery systems. *Nature*, 386 (6623): 410-414.
- Mathur, A.M., Moorjani, S.K. and Scranton, A.B. 1996. Methods for synthesis of hydrogel networks: A review. *Journal of Macromolecular Science, Part C: Polymer Reviews*, 36 (2): 405-430.
- Mayet, N., Choonara, Y.E., Kumar, P., Tomar, L.K., Tyagi, C., Du Toit, L.C. and Pillay, V. 2014. A comprehensive review of advanced biopolymeric wound healing systems. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 103: 2211-2230.
- Meena, R., Prasad, K. and Siddhanta, A.K. 2009. Development of a stable hydrogel network based on agar-kappa-carrageenan blend cross-linked with genipin. *Food Hydrocolloids*, 23: 497-509.
- Mehta, G.K., Kondaveeti, S. and Siddhanta, A.K. 2011. Facile synthesis of agarose-L-phenyl alanine ester hydrogels. *Polymer Chemistry*, 2: 2334-2340.
- Mekewi, M.A., Darwish, A.S., Amin, M.S., Eshag, G. and Bourazan, H.A. 2016. Copper nanoparticles supported onto montmorillonite clays as efficient catalyst for methylene blue dye degradation. *Egyptian Journal of Petroleum*, 25: 269-279.
- Mihaila, S.M., Gaharwar, A.K., Reis, R.L., Marques, A.P., Gomes, M.E. and Khademhosseini, A. 2013. Photocrosslinkable kappa-carrageenan hydrogels for tissue engineering applications. *Advanced Healthcare Materials*, 2 (6): 895-907.
- Mogoşanu, G.D. and Grumezescu, A.M. 2014. Natural and synthetic polymers for wounds and burns dressing. *International Journal of Pharmaceutics*, 463 (2): 127-136.

- Mohd, S.S., Abdullah, M.A.A. and Amin, K.A.M. 2016. Gellan gum/clay hydrogels for tissue engineering application: Mechanical, thermal behavior, cell viability, and antibacterial properties. *Journal of Bioactive and Compatible Polymers*, 31 (6): 648-666.
- Montoro, S.R., Medeiros S.F. and Alves G.M. 2014. Nanostructured polymer blends. Elsevier, pp. 325-355, Oxford.
- Morgan, D.A. 2002. Wounds-What should a dressing formulary include?. *Hospital Pharmacist*, 9: 261-266.
- Muhamad, I.I., Fen, L.S., Hui, N.H. and Mustapha, N.A. 2011. Genipin-cross-linked kappa-carrageenan/carboxymethyl cellulose beads and effects on beta-carotene release. *Carbohydrate Polymers*, 83 (3): 1207-1212.
- Neufeld, L. and Bianco-Peled, H. 2017. Pectin-chitosan physical hydrogels as potential drug delivery vehicles. *International Journal of Biological Macromolecules*, 101: 852-861.
- Nistor, M.T., Vasile, C. and Chiriac, A.P. 2015. Hybrid collagen-based hydrogels with embedded montmorillonite nanoparticles. *Materials Science and Engineering: C*, 53: 212-221.
- Nizam El-Din, H.M., Abd Alla, S.G. and El-Naggar, A.W.M. 2010. Swelling and drug release properties of acrylamide/carboxymethyl cellulose networks formed by gamma irradiation. *Radiation Physics and Chemistry*, 79 (6): 725-730.
- Nokhodchi, A., Raja, S., Patel, P. and Asare-Addo, K. 2012. The role of oral controlled release matrix tablets in drug delivery systems. *Bioimpacts*, 2 (4), 175-187.
- Noori, S., Kokabi, M. and Hassan, Z.M. 2015. Nanoclay enhanced the mechanical properties of poly(vinyl alcohol)/chitosan/montmorillonite nanocomposite hydrogel as wound dressing. *Procedia Materials Science*, 11: 152-156.
- Oh, M.L. and Philips, T.J. 2012. Lower extremity soft tissue & cutaneous plastic surgery. Saunders (W.B.) Co Ltd, pp. 471-488, Oxford.
- Ortiz, S.E.M., Puppo, M.C. and Wagner, J.R. 2004. Relationship between structural changes and functional properties of soy protein isolates-carrageenan systems. *Food Hydrocolloids*, 18 (6): 1045-1053.
- Park, K.R. and Nho, Y.C. 2003. Synthesis of PVA/PVP hydrogels having two-layer by radiation and their physical properties. *Radiation Physics and Chemistry*, 67: 361-365.
- Paukkonen, H., Kunnari, M., Lauren, P., Hakkarainen, T., Auvinen, V.V., Oksanen, T., Koivuniemi, R., Yliperttula, M. and Laaksonen, T. 2017. Nanofibrillar cellulose hydrogels and reconstructed hydrogels as matrices for controlled drug release. *International Journal of Pharmaceutics*, 532 (1): 269-280.

- Peppas, N.A. and Franson, N.M. 1983. The swelling interface number as a criterion for prediction of diffusional solute release mechanisms in swellable polymers. *Journal of Polymer Science*, 21: 983-997.
- Pereira, L., Amado, A.M., Critchley, A.T., Velde, F.V. and Claro, P.R. 2009. Identification of selected seaweed polysaccharides (phycocolloids) by vibrational spectroscopy (FTIR-ATR and FT-Raman). *Food Hydrocolloids*, 23: 1903-1909.
- Pourjavadi, A., Barzegar, S., Mahdavinia, G.R. 2006. MBA-crosslinked Na-Alg/CMC as a smart full-polysaccharide superabsorbent hydrogels. *Carbohydrate Polymers*, 66: 386-395.
- Prokop, A., Kozlov, E., Carlesso, G. and Davidson, J.M., 2002. Hydrogel-based colloidal polymeric system for protein and drug delivery: Physical and chemical characterization, permeability control and applications. *Advances in Polymer Science*, 160: 119-173.
- Qin, Y. 2007. Smart textiles for medicine and healthcare. CRC, pp. 27- 28, New York.
- Qiu, L.Y. and Bae, Y.H. 2007. Self-assembled polyethylenimine-graft-poly(3-caprolactone) micelles as potential dual carriers of genes and anticancer drugs. *Biomaterials*, 28: 4132-4142.
- Qiu, Y. and Park, K. 2001. Environment-sensitive hydrogels for drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 53: 321-339.
- Queen, D., Gaylor, J.D.S., Evans, J.H., Courtney, J.M. and Reid, W.H. 1987. The preclinical evaluation of the water vapour transmission rate through burn wound dressings. *Biomaterials*, 8 (5): 367-371.
- Ramshaw, J.A.M., Werkmeister, J.A. and Glatteur, V. 1995. Collagen based biomaterials. *Biotechnology and Genetic Engineering Reviews*, 13: 336-382.
- Razzak, M.T., Zainuddin, Z., Erizal, E., Dewi, S.P., Lely, H., Taty, E. and Sukirno, T. 1999. The characterization of dressing component materials and radiation formation of PVA-PVP hydrogel. *Radiation Physics and Chemistry*, 55 (2): 153-165.
- Rhim, J.W. and Ng, P.K.W. 2007. Natural biopolymer-based nanocomposite films for packaging applications. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 47 (4): 411-433.
- Ribeiro, K.O., Rodrigues, M.I., Sabadini, E. and Cunha, R.L. 2004. Mechanical properties of acid sodium caseinate- κ -carrageenan gels: Effect of co-solute addition. *Food Hydrocolloids*, 18 (1): 71-79.
- Robinson, B.J. 2000. The use of a hydrofibre dressing in wound management. *Journal of Wound Care*, 9: 32-34.
- Rogobete, A.F., Dragomirescu, M., Bedreag, O.H., Sandesc, D., Cradigati, C.A., Sarandan, M., Papurica, M., Popovici, S.E., Vernic, C. and Preda, G. 2016. New aspects of controlled release systems for local anaesthetics: A review. *Trends in Anaesthesia and Critical Care*, 9: 27-34.

- Rosiak, J.M., Ulanski, P., Pajewski, L.A., Yoshii, F. and Makuuchi, K. 1995. Radiation formation of hydrogels for biomedical purposes. Some remarks and comments. *Radiation Physics and Chemistry*, 46: 161-168.
- Ruiter, G.A.D. and Rudolph, B. 1997. Carrageenan biotechnology. *Trends in Food Science & Technology*, 8 (12): 389-395.
- Sahiner, N. 2013. Soft and flexible hydrogel templates of different sizes and various functionalities for metal nanoparticle preparation and their use in catalysis. *Progress in Polymer Science*, 38 (9): 1329-1356.
- Sanad, R.A. and Bar, H.M.A. 2017. Chitosan-hyaluronic acid composite sponge scaffold enriched with andrographolide-loaded lipid nanoparticles for enhanced wound healing. *Carbohydrate Polymers*, 173: 441-450.
- Sanjay, S.T., Zhou, W., Dou, M., Tavakoli, H., Ma, L., Xu, F. and Li, X.J. 2017. Recent advances of controlled drug delivery using microfluidic platforms. *Advanced Drug Delivery Reviews*, doi: 10.1016/j.addr.2017.09.013.
- Santoro, M., Marchetti, P., Rossi, F., Perale, G., Castiglione, F., Mele, A. and Masi, M. 2011. Smart approach to evaluate drug diffusivity in injectable agar-carbomer hydrogels for drug delivery. *The Journal of Physical Chemistry A*, 115 (11): 2503-2510.
- Schreml, S., Szeimies, R.M., Prantl, L., Karrer, S., Landthaler, M. and Babilas, P. 2010. Oxygen in acute and chronic wound healing. *British Journal of Dermatology*, 163: 257-268.
- Schultz, G.S., Sibbald, G.R., Falanga, V., Yello, E.E.A., Dowsett, C., Harding, K., Romanelli, M., Stacey, M.C., Teot, L. and Vanscheidt, W. 2003. Wound bed preparation, a systemic approach to wound management. *Wound Repair and Regeneration*, 11: 1-28.
- Seetharaman, S., Natesan, S., Stowers, R.S., Mullens, C., Baer, D.G., Suggs, L.J. and Christy, R.J. 2011. A PEGylated fibrin-based wound dressing with antimicrobial and angiogenic activity. *Acta Biomaterialia*, 7 (7): 2787-2796.
- Sen, C.K., Gordillo, G.M., Roy, S., Kirsner, R., Lambert, L., Hunt, T.K., Gottrup, F., Gurtner, G.C. and Longaker, M.T. 2009. Human skin wounds: A major and snowballing threat to public health and the economy. *Wound Repair and Regeneration*. 17 (6): 763-771.
- Shah, A.A., Hasan, F., Hameed, A. and Ahmed S. 2008. Biological degradation of plastics: A comprehensive review. *Biotechnology Advances*, 26: 246-265.
- Sharma, K., Kaith, B.S., Kumar, V., Kalia, S., Kumar, V. and Swart, H.C. 2014. Water retention and dye adsorption behavior of Gg-cl-poly (acrylic acid-aniline) based conductive hydrogels. *Geoderma*, 232: 45-55.
- Shi, Z., Gao, X., Ullah, M.W., Li, S., Wang, Q. and Yang, G. 2016. Electroconductive natural polymer-based hydrogels. *Biomaterials*, 111: 40-54.

- Shokri, E., Yegani, R. and Akbarzadeh, A. 2017. Novel adsorptive mixed matrix membranes by embedding modified montmorillonite with arginine amino acid into polysulfones for As(V) removal. *Applied Clay Science*, 144: 141-149.
- Shukla, R., Kashaw, S.K., Jain, A.P. and Lodhi, S. 2016. Fabrication of apigenin loaded gellan gum-chitosan hydrogels (GGCH-HGs) for effective diabetic wound healing. *International Journal of Biological Macromolecules*, 91: 1110-1119.
- Siepmann, J., Kranz, H., Bodmeier, R. and Peppas, N.A. 1999. HPMC-matrices for controlled drug delivery: A new model combining diffusion, swelling, and dissolution mechanisms and predicting the release kinetics. *Pharmaceutical Research*, 16 (11): 1748-1756.
- Silva, D.A., Hettiarachchi, B.U., Nayanajith, L.D.C., Yoga Milani, M.D. and Motha, J.T.S. 2011. Development of a PVP/kappa-carrageenan/PEG hydrogel dressing for wound healing applications in Sri Lanka. *Journal of the National Science Foundation of Sri Lanka*, 39 (1): 25-33.
- Singh, B., Sharma, S. and Dhiman, A. 2017. Acacia gum polysaccharide based hydrogel wound dressings: Synthesis, characterization, drug delivery and biomedical properties. *Carbohydrate Polymers*, 165: 294-303.
- Singh, B., Varshney, L., Francis, S. and Rajneesh, K.S. 2017. Synthesis and characterization of tragacanth gum based hydrogels by radiation method for use in wound dressing application. *Radiation Physics and Chemistry*, 135: 94-105.
- Singh, S., Young, A. and Mcnaught, C.E. 2017. The physiology of wound healing. *Surgery (Oxford)*, 35 (9): 473-477.
- Sintov, A. and Levy, R.J. 1997. Polymeric drug delivery of enzymatically degradable pendant agents: Peptidyl-linked procainamide model system studies. *International Journal of Pharmaceutics*, 146 (1): 55-62.
- Skoog, D.A., Holler, F.J. and Nieman, T.A. 1998. *Principles of Instrumental Analysis*. Harcourt Brace & Company, Philadelphia, 849 s.
- Stashak, T.S., Farstvedt, E. and Othic, A. 2004. Update on wound dressings: Indications and best use. *Clinical Techniques in Equine Practice*, 3 (2): 148-163.
- Stevenson, C.L., Santini, J.T. and Langer, R. 2012. Reservoir-based drug delivery systems utilizing microtechnology. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 64 (14): 1590-1602.
- Strawhecker, K.E. and Manias, E. 2000. Structure and properties of poly(vinyl alcohol)/Na⁺-montmorillonite nanocomposites. *Chemistry of Materials*, 12: 2943-2949.
- Sun, J.Y., Zhao, X., Illeperuma, W.R.K., Chaudhuri, O., Oh, K.H., Mooney, D.J., Vlassak, J.J. and Suo, Z. 2012. Highly stretchable and tough hydrogels. *Nature*, 489: 133-136.
- Takashi, L., Hatsumi, T., Makoto, M., Takashi, I., Takehiko, G. and Shuji, S. 2007. Synthesis of porous poly(N-isopropylacrylamide) gel beads by sedimentation

- polymerization and their morphology. *Journal of Applied Polymer Science*, 104 (2): 842-850.
- Tan, W., Zhang, Y., Szeto, Y.S. and Liao, L. 2008. A novel method to prepare chitosan/montmorillonite nanocomposites in the presence of hydroxy-aluminum oligomeric cations. *Composites Science and Technology*, 68 (14): 2917-2921.
- Tang, H., Chen, H., Duan, B., Lu, A. and Zhang, L. 2014. Swelling behaviors of superabsorbent chitin/carboxymethylcellulose hydrogels. *Journal of Material Science*, 49: 2235-2242.
- Thomas, S. 1992. Hydrocolloids. *Journal of Wound Care*, 1: 27-30.
- Thomas, S. 2000. Alginate dressings in surgery and wound management-Part 1. *Journal of Wound Care*, 9 (2): 56-60.
- Thomson, T. 2006. Foam composite. U.S. Patent, 7048966.
- Tort, S., Acarturk, F. and Besikci, A. 2017. Evaluation of three-layered doxycycline-collagen loaded nanofiber wound dressing. *International Journal of Pharmaceutics*, 529 (1-2): 642-653.
- Tunç, S. and Duman, O. 2010. Preparation and characterization of biodegradable methyl cellulose/montmorillonite nanocomposite films. *Applied Clay Science*, 48 (3): 414-424.
- Tyliszczak, B., Drabczyk, A., Kramarczyk, S.K., Waś, K.B., Kijkowska, R. and Kupiec, A.S. 2017. Preparation and cytotoxicity of chitosan-based hydrogels modified with silver nanoparticles. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 160: 325-330.
- Ueno, H., Yamada, H., Tanaka, I., Kaba, N., Matsuura, M., Okumura, M., Kadosawa, T. and Fujinaga, T. 1999. Accelerating effects of chitosan for healing at early phase of experimental open wound in dogs. *Biomaterials*, 20: 1407-1414.
- Uhrich, K.E., Cannizzaro, S.M., Langer, R.S., Shakesheff, K.M. 1999. Polymeric systems for controlled drug release. *Chemical Reviews*, 11: 3181-3198.
- Ulijn, R.V., Bibi, N., Jayawarna, V., Thornton, P.D., Todd, S.J., Mart, R.J., Smith, A.M. and Gough, J.E. 2007. Bioresponsive hydrogels. *Materials Today*, 10 (4): 40-48.
- Ullyot, G.E., Ullyot, B.H. and Slater, L.B. 2000. The metamorphosis of Smith-Kline & French Laboratories to Smith Kline Beecham: 1925-1998. *Bulletin for the History of Chemistry*, 25 (1): 16-20.
- Varghese, J.S., Chellappa, N. and Fathima, N.N. 2014. Gelatin-carrageenan hydrogels: Role of pore size distribution on drug delivery process. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 113: 346-351.
- Vasconcelos, A., Gomes, A.C. and Cavaco-Paulo, A. 2012. Novel silk fibroin/elastin wound dressings. *Acta Biomaterialia*, 8: 3049-3060.

- Vowden, K. and Vowden, P. 2017. Wound dressings: Principles and practice. Surgery (Oxford), 35 (9): 489-494.
- Wang, J. and Wei, J. 2017. Interpenetrating network hydrogels with high strength and transparency for potential use as external dressings. Materials Science and Engineering: C, 80: 460-467.
- Wang, L., Shelton, R.M., Cooper, P.R., Lawson, M., Triffitt, J.T. and Barralet, J.E. 2003. Evaluation of sodium alginate for bone marrow cell tissue engineering. Biomaterials, 24: 3475-3481.
- Wang, M., Xu, L., Hu, H., Zhai, M., Peng, J., Nho, Y., Li, J. and Wei, G. 2007. Radiation synthesis of PVP/CMC hydrogels as wound dressing. Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms, 265 (1): 385-389.
- Wang, W.S., Liang, C.K., Chen, Y.C., Su, Y.L., Tsai, T.Y. and Chen-Yang, Y.W. 2012. Transparent and flame retardant PMMA/clay nanocomposites prepared with dual modified organoclay. Polymers for Advanced Technologies, 23 (3): 625-631.
- Wathoni, N., Motoyama, K., Higashi, T., Okajima, M., Kaneko, T. and Arima, H. 2017. Enhancing effect of γ -cyclodextrin on wound dressing properties of sacran hydrogel film. International Journal of Biological Macromolecules, 94: 181-186.
- Wei, L., Cai, C., Lin, J. and Chen, T. 2009. Dual-drug delivery system based on hydrogel/micelle composites. Biomaterials, 30 (13): 2606-2613.
- Wen, X., Zheng, Y., Wu, J., Yue, L., Wang, C., Luan, J., Wu, Z. and Wang, K. 2015. *In vitro* and *in vivo* investigation of bacterial cellulose dressing containing uniform silver sulfadiazine nanoparticles for burn wound healing. Progress in Natural Science: Materials International, 25 (3): 197-203.
- Wijesekara, I., Pangestuti, R. and Kim, S.K. 2011. Biological activities and potential health benefits of sulfated polysaccharides derived from marine algae. Carbohydrate Polymers, 84: 14-21.
- Wild, T., Rahbarnia, A., Kellner, M., Sobotka, L. and Eberlein, T. 2010. Basics in nutrition and wound healing. Nutrition, 26 (9): 862-866.
- Winter, G.D. 1962. Formation of the scab and the rate of epithelialization of superficial wounds in the skin of the young domestic pig. Nature, 193: 293-294.
- Xi, Y., Zhou, Q., Frost, R.L. and He, H. 2007. Thermal stability of octadecyltrimethylammonium bromide modified montmorillonite organoclay. Journal of Colloid and Interface Science, 311 (2): 347-353.
- Yadav, M. and Rhee, K.Y. 2012. Superabsorbent nanocomposite (alginate-g-PAMPS/MMT): Synthesis, characterization and swelling behavior. Carbohydrate Polymers, 90: 165-173.
- Yang, L., Chu, J.S. and Fix, J.A. 2002. Colon-specific drug delivery: New approaches and *in vitro/in vivo* evaluation. International Journal of Pharmaceutics, 235: 1-15.

- Yang, J., Liu, S., Xiao, Y., Gao, G., Sun, Y., Guo, Q., Wu, J. and Fu, J. 2016. Multi-responsive nanocomposite hydrogels with high strength and toughness. *Journal of Materials Chemistry B*, 4: 1733-1739.
- Yannas, I.V. 1985. Process for forming multilayer bioreplaceable blood vessel prosthesis. U.S. Patent, 4787900.
- Yannas, I.V. and Forbes, M.J. 1982. Procedures for preparing composite materials from collagen and glycosaminoglycan. U.S. Patent, 4350629.
- Yannas, I.V., Gordon, P.L., Huang, C., Silver, F.H. and Burke, J.F. 1981. Crosslinked collagen-mucopolysaccharide composite materials. U.S. Patent, 4280954.
- Yin, Z.C., Wang, Y.L. and Wang, K. 2018. A pH-responsive composite hydrogel beads based on agar and alginate for oral drug delivery. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 43: 12-18.
- Yuan, C., Du, L., Zhang, G., Jin, Z. and Liu, H. 2016. Influence of cyclodextrins on texture behavior and freeze-thaw stability of kappa-carrageenan gel. *Food Chemistry*, 210: 600-605.
- Yue, K., Trujillo-De Santiago, G., Alvarez, M.M., Tamayol, A., Annabi, N. and Khademhosseini, A. 2015. Synthesis, properties, and biomedical applications of gelatin methacryloyl (gelma) hydrogels. *Biomaterials*, 73: 254-271.
- Zahedi, P., Rezaeian, I., Ranaei-Siadat, S.O., Jafari, S.H. and Supaphol, P. 2009. A review on wound dressings with an emphasis on electrospun nanofibrous polymeric bandages. *Polymers Advanced Technologies*, 21: 77-95.
- Zaman, H.U., Islam, J.M.M., Khan, M.A. and Khan, R.A. 2011. Physico-mechanical properties of wound dressing material and its biomedical application. *Journal of the Mechanical Behaviour of Biomedical Materials*, 4 (7): 1369-1375.
- Zhang, L., Ding, Y., Povey, M. and York, D. 2008. ZnO nanofluids - A potential antibacterial agent. *Progress in Natural Science*, 18 (8): 939-944.
- Zhang, W., Xue, Z., Yan, M., Liu, J. and Xia, Y. 2016. Effect of epichlorohydrin on the wet spinning of carrageenan fibers under optimal parameter conditions. *Carbohydrate Polymers*, 150: 232-240.
- Zhang, X., Wang, X., Li, L., Zhang, S. and Wu, R. 2015. Preparation and swelling behaviors of a high temperature resistant superabsorbent using tetraallylammonium chloride as crosslinking agent. *Reactive & Functional Polymers*, 87: 15-21.
- Zhao, F., Yao, D., Guo, R., Deng, L., Dong, A. and Zhang, J. 2015. Composites of polymer hydrogels and nanoparticulate systems for biomedical and pharmaceutical applications. *Nanomaterials*, 5 (4): 2054-2130.
- Zhao, W., Jin, X., Cong, Y., Liu, Y. and Fu, J. 2013. Degradable natural polymer hydrogels for articular cartilage tissue engineering. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 88: 327-339.

- Zhao, Y., Kang, J. and Tan, T. 2006. Salt-, pH- and temperature-responsive semi-interpenetrating polymer network hydrogel based on poly(aspartic acid) and poly(acrylic acid). *Polymer*, 47 (22): 7702-7710.
- Zilberman, M. and Elsner, J.J. 2008. Antibiotic-eluting medical devices for various applications. *Journal of Controlled Release*, 130 (3): 202-215.

ÖZGEÇMİŞ

Tülin GÜRKAN POLAT

tulingurkan@gmail.com



ÖĞRENİM BİLGİLERİ

Yüksek Lisans	Akdeniz Üniversitesi
2009-2012	Fen Fakültesi, Kimya Bölümü, Antalya
Lisans	Gazi Üniversitesi
2003-2007	Fen-Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, Ankara

MESLEKİ VE İDARİ GÖREVLER

Araştırma Görevlisi	Akdeniz Üniversitesi
2011-2018	Fen Fakültesi, Kimya Bölümü, Antalya

ESERLER

Science Citation Index (SCI) kapsamındaki uluslararası hakemli dergilerde yayımlanan makaleler

- 1- Tunç S., Duman O. and Gürkan Polat T. (2016). Effects of montmorillonite on properties of methyl cellulose/carvacrol based active antimicrobial nanocomposites. Carbohydrate Polymers, 150, 259-268. Doi: 10.1016/j.carbpol.2016.05.019.

2- Duman O., Tunç S., Kancı Bozođlan B. and Gürkán Polat T. (2016). Removal of triphenylmethane and reactive azo dyes from aqueous solution by magnetic carbon nanotube- κ -carrageenan-Fe₃O₄ nanocomposite. *Journal of Alloys and Compounds*, 687, 370-383. Doi: 10.1016/j.jallcom.2016.06.160.

3- Duman O., Tunç S., Gürkán Polat T. and Kancı Bozođlan B. (2016). Synthesis of magnetic oxidized multiwalled carbon nanotube- κ -carrageenan-Fe₃O₄ nanocomposite adsorbent and its application in cationic Methylene Blue dye adsorption. *Carbohydrate Polymers*, 147, 79-88. Doi: 10.1016/j.carbpol.2016.03.099.

4- Duman O., Tunç S. and Gürkán Polat T. (2015). Adsorptive removal of triarylmethane dye (Basic Red 9) from aqueous solution by sepiolite as effective and low-cost adsorbent. *Microporous & Mesoporous Materials*, 210, 176-184. Doi: 10.1016/j.micromeso.2015.02.040.

5- Duman O., Tunç S. and Gürkán Polat T. (2015). Determination of adsorptive properties of expanded vermiculite for the removal of C. I. Basic Red 9 from aqueous solution: Kinetic, isotherm and thermodynamic studies. *Applied Clay Science*, 109-110, 22-32. Doi: 10.1016/j.clay.2015.03.003.

6- Tunç S., Duman O. and Gürkán T. (2013). Monitoring the decolorization of Acid Orange 8 and Acid Red 44 from aqueous solution using Fenton's reagents by on-line spectrophotometric method: Effect of operation parameters and kinetic study. *Industrial & Engineering Chemistry Research*, 52, 1414-1425. Doi: 10.1021/ie302126c.

7- Tunç S., Gürkán T. and Duman O. (2012). On-line spectrophotometric method for the determination of optimum operation parameters on the decolorization of Acid Red 66 and Direct Blue 71 from aqueous solution by Fenton process. *Chemical Engineering Journal*, 181-182, 431-442. Doi: 10.1016/j.cej.2011.11.109.

Uluslararası bilimsel toplantılarda sunulan ve özeti bildiri kitaplarında basılan bildiriler

1- Gürkán Polat T., Duman O. and Tunç S. (2016). Preparation, characterization and toxic dye (Basic Red 9) adsorption properties of expanded vermiculite. 251st American Chemical Society National Meeting & Exposition (ACS), pp. 450, San Diego.

2- Gürkán Polat T., Tunç S. and Duman O. (2016). Mechanical, thermal and barrier properties of methyl cellulose/carvacrol/montmorillonite nanocomposite films prepared as active food packaging material. 251st American Chemical Society National Meeting & Exposition (ACS), pp. 85, San Diego.

3- Gürkan Polat T., Duman O. and Tunç S. (2015). Investigation of surface, textural and adsorptive properties of sepiolite: Adsorption kinetics and mechanism of cationic dye (Basic Red 9) adsorption onto brown sepiolite. International Turkish Congress on Molecular Spectroscopy (TURCMOS), pp. 199, Antalya.

4- Gürkan Polat T., Tunç S. and Duman O. (2013). Kinetic studies for the decolorization of azo dyes in a continuous reactor system by Fenton oxidation process. 44th World Chemistry Congress (IUPAC), pp. 1582, İstanbul.

5- Gürkan T., Tunç S. and Duman O. (2012). Degradation of Acid Red 66 and Direct Blue 71 by Fenton oxidation process: Effects of operating parameters. 8th Aegean Analytical Chemistry Days (AACD), pp. 141, İzmir.

6- Gürkan T., Tunç S. and Duman O. (2012). Effectiveness of Fenton process on the decolorization of Acid Orange 8 and Acid Red 44 from aqueous solution by on-line spectrophotometric method. 8th Aegean Analytical Chemistry Days (AACD), pp. 142, İzmir.

Projeler

1- Fotopolimerizasyon Tekniği ile Jelatin Bazlı Hidrojel Sistemlerinin Geliştirilmesi ve Elektriksel Aktivitelerinin İncelenmesi, BAP Araştırma Projesi. FBA-2017-2463. Araştırmacı, Devam Ediyor.

2- Sulu Çözeltilerden Boyarmadde Giderimi İçin Elektrodeğirme Tekniği Kullanılarak Yeni Siklodekstrin Bazlı Kompozit Nanofilmlerin Hazırlanması ve Karakterizasyonu, BAP Araştırma Projesi. FBA-2016-2062. Araştırmacı, Devam Ediyor.

3- Kontrollü İlaç Salımı Gösteren Montmorillonit İçerikli Agar/κ-Karagenan Hidrojel Yara Örtüsü Hazırlanması ve Karakterizasyonu, BAP Doktora Projesi. FDK-2015-398. Araştırmacı, Devam Ediyor.

4- Antimikrobiyal Özellikli Kontrollü Salınım Gösteren Metil Selüloz/Montmorillonit/Karvakrol Nanokompozit Filmlerin Fiziksel, Mekaniksel, Bariyer ve Termal Özelliklerinin İncelenmesi, BAP Araştırma Projesi. 2013.01.0115.006. Araştırmacı, 2015.

5- Fenton Prosesi Yardımıyla Azo Grubu İçeren Asidik Boya Çözeltilerinin Degradasyonunun İncelenmesi, BAP Yüksek Lisans Projesi. 2010.02.0121.014. Araştırmacı, 2012.