



T.C.

ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZİ



**BİYOMEDİKAL UYGULAMALAR İÇİN KSANTAN,
GUAR, ARABİK VE LOCUST BEAN GAMLARDAN
MAKRO, MİKRO VE NANO YAPILAR**

Selin SAĞBAŞ SUNER

Kimya Anabilim Dalı

ÇANAKKALE

T.C.
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
DOKTORA TEZİ

**BİYOMEDİKAL UYGULAMALAR İÇİN KSANTAN,
GUAR, ARABİK VE LOCUST BEAN GAMLARDAN
MAKRO, MİKRO VE NANO YAPILAR**

Selin SAĞBAŞ SUNER

Kimya Anabilim Dalı

Tezin Sunulduğu Tarih: 08/08/2018

Tez Danışmanı:

Prof. Dr. Nurettin ŞAHİNER

ÇANAKKALE

Selin SAĞBAŞ SUNER tarafından Prof. Dr. Nurettin ŞAHİNER yönetiminde hazırlanan ve **08/08/2018** tarihinde aşağıdaki jüri karşısında sunulan “**Biyomedikal Uygulamalar için Ksantan, Guar, Arabik ve Locust Bean Gamlardan Makro, Mikro ve Nano Yapılar**” başlıklı çalışma, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Kimya Anabilim Dalı**’nda **DOKTORA TEZİ** olarak oy birliği ile kabul edilmiştir.

JÜRİ

Prof. Dr. Pınar AKKAŞ KAVAKLI

Başkan

Prof. Dr. Nurettin ŞAHİNER

Üye

Prof. Dr. Selehattin YILMAZ

Üye

Prof. Dr. Nahit AKTAŞ

Üye

Prof. Dr. Alper AKÇALI

Üye

Prof. Dr. Levent GENÇ

Müdür

Fen Bilimleri Enstitüsü

Sıra No:.....

Bu çalışma Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimince Desteklenmiştir. Proje Numarası: FDK-2017-1069

İNTİHAL (AŞIRMA) BEYAN SAYFASI



Bu tezde görsel, işitsel ve yazılı biçimde sunulan tüm bilgi ve sonuçların akademik ve etik kurallara uyularak tarafımdan elde edildiğini, tez içinde yer alan ancak bu çalışmaya özgü olmayan tüm sonuç ve bilgileri tezde kaynak göstererek belirttiğimi beyan ederim.

Selin SAĞBAŞ SUNER

TEŞEKKÜR

Tez çalışmalarım ve doktora eğitimim süresince değerli bilgi, birikim ve tecrübeleri ile bana yol gösterici olan, yardımını ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen saygı değer danışman hocam Prof. Dr. Nurettin ŞAHİNER'e teşekkürü bir borç bilirim.

Tez çalışmaları boyunca değerli görüş ve katkılarından dolayı sayın Prof. Dr. Nahit AKTAŞ ve Prof. Dr. Selhattin YILMAZ hocalarıma teşekkür ederim.

Sitotoksiste çalışmaları için laboratuvar imkânlarını esirgemeyen Tulane Üniversitesi Öğretim Görevlisi Prof. Dr. Diane Blake'e ve testlerin yapımı için Öğretim Görevlisi Dr. Mehtap ŞAHİNER'e teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmalarını FDK-2017-1069 nolu proje ile maddi olarak destekleyen Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimine teşekkür ederim.

Laboratuvar çalışmalarım boyunca bana yardım ve desteklerini esirgemeyen çalışma arkadaşlarım Şahin DEMİRCİ, Dr. Sultan BÜTÜN ŞENGEL ve Sema YILDIZ YOLDAŞ'a teşekkür ederim.

Bu günlere gelmemde çok emeği olan ve eğitim hayatım boyunca bana her konuda destek olan aileme ve eşime sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Selin SAĞBAŞ SUNER
Çanakkale, Ağustos 2018

SİMGELER VE KISALTMALAR

AA	Askorbik asit
AHFP	Amonyum heksaflorofosfat
AOT	Sodyum bis(2-etilhekzil) sülfosüksinat
BSA	Bovin Serum Albumin
CFU	Koloni oluşturma ünitesi
CHPACl	3-kloro-2-hidroksipropil trimetil amonyum klorür
DCM	Diklorometan
DETA	Dietilentriamin
DI	Deiyonize
dk	Dakika
DLS	Dinamik ışık saçılması
DMEM	Dulbecco'nun modifiye eagle medium
DMF	Dimetil formamit
DVS	Divinil sülfon
ECH	Epiklorohidrin
EDA	Etilendiamin
EDTA	Etilendiamintetraasetik asit
FBS	Fetal bovin serum
FT-IR	Fourier dönüşümlü-kızılötesi spektroskopisi
g	Gram
GA	Gam Arabik
GG	Guar gam
HCl	Hidroklorik asit
HPLC	Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
IL	İyonik sıvı
KCl	Potasyum klorür
LBG	Locust bean gam
M	Molar
mg	Miligram
MİK	Minimum inhibisyon konsantrasyonu
mL	Mililitre
mM	Milimolar

NA	Nutrient agar
NaCl	Sodyum klorür
NaOH	Sodyum hidroksit
NB	Nutrient broth
nm	Nanometre
PBS	Fosfat tamponu
PEGGE	Poli(etilenglikol) diglisidil eter
PEI	Polietilenimin
PK	Parakuat
ppm	Milyonda bir birim
RI	Refraktif indeks
rpm	Dakikada devir sayısı
SDC	Sodyum diklofenak
SDC	Sodyum disiyanamid
SEM	Taramalı elektron mikroskobu
SF	Serum fizyolojik
STFB	Sodyum tetrafloroborat
STMP	Trisodyum trimetafosfat
TETA	Trietilentetramin
TGA	Termogravimetrik analiz
UV-Vis	Mor ötesi-görünür bölge spektroskopisi
XG	Ksantan gam
ZP	Zeta potansiyel
°C	Derece celcius
µL	Mikrolitre
µm	Mikrometre

ÖZET

BİYOMEDİKAL UYGULAMALAR İÇİN KSANTAN, GUAR, ARABİK VE LOCUST BEAN GAMLARDAN MAKRO, MİKRO VE NANO YAPILAR

Selin SAĞBAŞ SUNER

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Kimya Anabilim Dalı Doktora Tezi

Danışman : Prof. Dr. Nurettin ŞAHİNER

08/08/2018, 82

Yapılan tez çalışmaları kapsamında biyomedikal uygulamalarda kullanılmak üzere doğal polisakkarit olan ksantan, guar, arabik ve locust bean gamlardan çapraz bağlı makro, mikro ve nano yapılar % 78,5 ile 100 arası değişen yüksek verimlerde sentezlenmiştir. Farklı polimerizasyon teknikleri kullanılarak ve yüzey aktif madde çeşidi ve miktarı, polimer konsantrasyonu, çapraz bağlayıcı çeşidi ve miktarı ve sıcaklığa bağlı olarak farklı boyutlarda gam esaslı çapraz bağlı makro, mikro ve nanojeller ve hatta kriyojeller hazırlanmıştır. Negatif zeta potansiyel değerine sahip gam esaslı makro, mikro ve nanojeller kuaternize amin, lineer amin ve dallanmış amin grupları içeren modifiye ajanlar ile modifiye edilerek +5 ile +45 mV arasında zeta potansiyel değerlerine sahip olabilen katyonik yapılar hazırlanmıştır. Ardından polimerik ağ yapıdaki amin grupları protonlanarak ve anyon değişim reaksiyonu ile $-NH_3^+[N(CN)_2]^-$, $-NH_3^+[PF_6]^-$ veya $-NH_3^+[BF_4]^-$ gruplarını içeren polimerik iyonik sıvı formunda makro, mikro ve nanojeller elde edilmiştir. Gam esaslı polimerik yapıların morfolojik karakterizasyonu optik mikroskop ve taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile fizikokimyasal karakterizasyonları ise Fourier dönüşümlü-kızılötesi spektroskopisi (FT-IR), termogravimetrik analiz (TGA), dinamik ışık saçılması (DLS) ve zeta potansiyel (ZP) ölçümleri ile belirlenmiştir. Hazırlanan gam esaslı polimerik yapılar 2 mg/mL konsantrasyonda maksimum % 2,6 hemoliz oranı ve minimum % 82,7 kan pıhtılaşma indekslerine göre kan uyumlu malzemeler olduğu ve COS-1 maymun fibroblast hücreleri üzerinde 1000 µg/mL konsantrasyonda minimum % 93,7±10,2 hücre canlılığı ile önemli bir sitotoksik etkilerinin olmadığı belirlenmiştir. Protonlanmış ve iyonik sıvı formdaki mikrojeller, 5-20 mg/mL

minimum inhibisyon konsantrasyon (MİK) değerleri ve 11 ± 2 mm zon çapları ile *Eschericia coli* ve *Staphylococcus aureus* bakterilerine karşı antimikrobiyal etki göstermiştir. Ayrıca gam esaslı mikrojeller, çözeltiden ilaç yükleme yöntemine göre ilaç konjugasyonu yöntemi ile 10 kat ve mikrojellerin modifikasyonları ile ise 100 katı daha fazla sodyum diklofenak (SDF) ilacını yükleyerek, pH 7,4 ve 37,5 C'deki fizyolojik koşullarda lineer bir şekilde 120 saat boyunca salmıştır. Gam esaslı kriyojeller çeşitli biyoaktif moleküller ve biyomakromoleküllerin ayırımında kullanılmış ve hatta gam esaslı kriyojellerin whey (peyniraltı atık suyu) proteinlerini 599 ± 11 mg/g gibi yüksek absorplama kapasitesine sahip olduğu gözlemlenmiştir.

Anahtar sözcükler: Gam Esaslı Makro/Mikro/Nanojeller, Modifikasyon, İlaç Salım Sistemleri, Antimikrobiyal, Ayırma ve Saflaştırma, Biyomedikal Uygulamalar.

ABSTRACT

XANTHAN, GUAR, ARABIC AND LOCUST BEAN GUM BASED MACRO, MICRO AND NANO STRUCTURES FOR BIOMEDICAL APPLICATIONS

Selin SAĞBAŞ SUNER

Çanakkale Onsekiz Mart University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Doctoral Dissertation in Chemistry Science

Advisor : Prof. Dr. Nurettin ŞAHİNER

08/08/2018, 82

In the scope of this thesis, crosslinked macro, micro and nanogels derivated from natural polysaccharides, xanthan, guar, arabic and locust bean gum were synthesized with high yields varying between 78.5 and 100 % for biomedical applications. Employing different polymerization techniques and depending on the used surface-active agent types and amounts, polymer concentrations, types of the crosslinking agents and their amounts and the reaction temperature, gum based crosslinked macro, micro and nanogels and even their cryogels were prepared. Gum based macro, micro and nanogels with negative zeta potential values were modified using modifying agents that have quaternized amine, linear amine and branched amine rendering structures with positive zeta potential values varying between +5 and +45 mV. Subsequently, the amine groups on the polymeric networks were protonated and via anion exchange reaction, macro, micro and nanogels in ionic liquid polymeric structures with $-\text{NH}_3^+[\text{N}(\text{CN})_2]^-$, $-\text{NH}_3^+[\text{PF}_6]^-$ or $-\text{NH}_3^+[\text{BF}_4]^-$ groups were obtained. The morphological characterization of gum based polymeric structures were done by optic microscope and Scanning Electron Microscope (SEM), and the physicochemical characterization were carried out using Fourier Transformed Infrared-Radiation (FT-IR) spectroscopy and Thermogravimetric Analysis (TGA), Dynamic Light Scattering (DLS) and zeta potential measurements. The prepared gum based polymeric structures were determined as blood compatible materials with maximum 2.6 % hemolysis ratio and minimum 82.7 % blood clotting indexes and revealed no cytotoxic effects on the COS-1 monkey fibroblast cell with minimum 93.7 ± 10.2 % at 1000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ concentration. Protonated and ionic liquid forms of microgels were shown antimicrobial effects against *Eschericia coli* and *Staphylococcus aureus* bacteria with 5-20 mg/mL minimum inhibition

concentration (MIC) values and 11 ± 2 mm inhibition zones. Furthermore, gum based microgels in comparison to drug loading from solution method were loaded sodium diclofenac (SDF) drug 10-fold by drug conjugation method, and 100-fold by the modification of microgels, and provided a linear release profile for 120 hours at physiological conditions, pH 7.4 at 37.5 °C. Gum based cryogels were used in the separation of bioactive molecules and biomacromolecules, and even a high absorption capacity, 599 ± 11 mg/g of whey proteins for gum based cryogels were observed.

Keywords: Gum Based Makro/Mikro/Nanogels, Modification, Drug Release Systems, Antimicrobial, Separation and Purification, Biomedical Applications.



İÇİNDEKİLER

Sayfa No

TEZ SINAVI SONUÇ FORMU.....	ii
İNTİHAL (AŞIRMA) BEYAN SAYFASI.....	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR	v
ÖZET	vii
ABSTRACT.....	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	xiii
ÇİZELGELER DİZİNİ	xv
BÖLÜM 1	
GİRİŞ.....	1
BÖLÜM 2	
ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	4
2.1. Karbonhidrat Esaslı Polimerik Yapılar	4
2.2. Gam Esaslı Polimerik Yapılar.....	6
2.2.1. Ksantan Gam (XG).....	7
2.2.2. Guar Gam (GG).....	8
2.2.3. Gam Arabik (GA).....	9
2.2.4. Locust Bean Gam (LBG).....	10
BÖLÜM 3	11
MATERYAL VE YÖNTEM.....	11
3.1. Kimyasallar	11
3.2. Kullanılan Cihazlar	13
3.3. Gam Esaslı Polimerik Yapıların Sentezi.....	15
3.3.1. Ksantan Gam (XG) Makrojel, Mikrojel ve Nanojellerinin Sentezi	15
3.3.2. Guar Gam (GG) Makrojel, Mikrojel ve Nanojellerinin Sentezi.....	16
3.3.3. Gam Arabik (GA) Mikrojel ve Kriyojellerinin Sentezi	16
3.3.4. Locust Bean Gam (LBG) Mikrojellerinin Sentezi	17
3.4. Gam Esaslı Polimerik Yapıların Modifiye ve İyonik Sıvı (IL) Formlarının Hazırlanması	18
3.5. Gam Esaslı Polimerik Yapıların Hidrolitik Bozunması.....	18
3.6. Kan Uyumlulukları.....	19
3.6.1. Hemoliz Testi	19
3.6.2. Kan Pıhtılaşma İndeksi.....	20

3.7. Sitotoksiteleri.....	20
3.8. Antimikrobiyel Etki Belirlenmesi	21
3.8.1. Makro Dilüsyon Metodu	22
3.8.2. Difüzyon Metodu.....	22
3.9. İlaç Yükleme ve <i>In Vitro</i> Salım Çalışmaları	22
3.10. Ayırma ve Saflaştırma.....	23
BÖLÜM 4	
ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA	24
4.1. Gam Esaslı Makro, Mikro ve Nano Yapıların Sentezi, Modifikasyonu ve Karakterizasyonu.....	24
4.1.1. Ksantan Gam Makrojel, Mikrojel ve Nanojelleri.....	24
4.1.2. Guar Gam Makrojel, Mikrojel ve Nanojelleri	28
4.1.3. Gam Arabik Makrojelleri, Mikrojelleri ve Kriyojellerinin	33
4.1.4. Locust Bean Gam Mikrojelleri (Mikrokapsülleri)	43
4.2. Gam Esaslı Makro, Mikro ve Nano Yapıların Biyomedikal Alanda Kullanımı.....	49
4.2.1. Kan Uyumlulukları.....	49
4.2.2. Sitotoksiteleri	55
4.2.3. Antimikrobiyal Özellikleri	59
4.2.4. <i>In Vitro</i> İlaç Salımı	61
4.2.5. Biyoayırma ve Saflaştırma Özellikleri	64
BÖLÜM 5	
SONUÇ VE ÖNERİLER.....	68
KAYNAKLAR	72
ÖZGEÇMİŞ	I

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 2.1. Guar gam, locust bean gam, gam arabik ve ksantan gam'ın moleküller yapısı	7
Şekil 4.1. Çapraz bağlı XG makro, mikro ve nanojel sentezinin şematik gösterimi	24
Şekil 4.2. XG mikro ve nanojellerinin (a) optik mikroskop ve (b) SEM görüntüleri.....	25
Şekil 4.3. XG mikro/nanojellerinin (a) DLS ölçümleri ile partikül boyutları ve (b) farklı pH değerlerindeki zeta potansiyel ölçümleri	26
Şekil 4.4. Lineer XG, XG makrojeli ve mikro/nanojellerinin (a) FT-IR spektrumları ve (b) termogramları.....	27
Şekil 4.5. Çapraz bağlı GG makro, mikro ve nanojel sentezinin şematik gösterimi ve optik mikroskop görüntüleri.....	29
Şekil 4.6. GG mikro ve nanojellerinin (a) optik mikroskop ve (b) SEM görüntüleri.....	30
Şekil 4.7. GG mikro/nanojellerinin (a) DLS ölçümleri ile partikül boyutları ve (b) farklı pH değerlerindeki zeta potansiyel ölçümleri	31
Şekil 4.8. Lineer GG ve GG mikrojellerinin (a) FT-IR spektrumları ve (b) termogramları	32
Şekil 4.9. (a) DVS ile çapraz bağlı GA mikrojel/kriyojellerinin kimyasal yapısı, GA (b) mikrojellerinin ve (c) kriyojellerinin optik mikroskop ve SEM görüntüleri	33
Şekil 4.10. (a) Gam arabik mikro ve kriyojellerinin (1) CHPACl, (2) DETA, TETA ve PEI modifiye ajanları ile modifikasyonunun şematik gösterimi. (b) Modifiye edilmemiş ve modifiye edilmiş GA mikro ve kriyojellerin dijital kamera görüntüleri.....	35
Şekil. 4.11. GA esaslı polimerik iyonik sıvı (IL) mikrojel/kriyojel sentezinin şematik gösterimi	36
Şekil 4.12. Lineer GA, GA mikrojeli ve modifiye GA mikrojellerinin FT-IR spektrumları	37
Şekil 4.13. Kuaternize GA/PEI mikrojeli ve iyonik sıvı (IL) formdaki GA esaslı mikrojellerin FT-IR spektrumları	38
Şekil 4.14. GA mikrojeli ve modifiye GA/DETA mikrojellerinin farklı pH değerlerinde zeta potansiyel ölçümleri	40
Şekil 4.15. (a) Lineer GA ve GA mikrojeli (b) modifiye GA/PEI ve IL yapısındaki SDC-GA/PEI, AHFP-GA/PEI ve STFB-GA/PEI mikrojellerinin termal bozunmaları	41
Şekil 4.16. (a) Saf suda çözünmüş 500 mg/L, 20 µL lineer GA'nın kromatogramı ve (b) GA mikrojelinin pH 1, pH 7,4 ve pH 9 tampon çözeltilerindeki hidrolitik bozunmaları.....	42
Şekil 4.17. (a) Çapraz bağlı LBG mikrojellerinin şematik gösterimi ve LBG mikrojellerinin (b) SEM ve (c) optik mikroskop görüntüleri	43
Şekil 4.18. Yüzey aktif madde içeren AOT/izooktan ortamında sentezlenen LBG'in tekrar eden biriminin molce % 10 ve % 100 oranında çapraz bağlı LBG mikrojellerinin (a,c) optik mikroskop ve (b,d) SEM görüntüleri.....	44
Şekil 4.19. (a) EDA, DETA, TETA ve PEI gibi farklı amin kaynakları ile LBG mikrojellerinin modifikasyonunun şematik gösterimi ve (b) LBG ve modifiye LBG mikrojellerinin dijital kamera görüntüleri.....	46
Şekil 4.20. LBG mikrojeli ve modifiye LBG/EDA mikrojelinin farklı pH değerlerinde zeta potansiyel ölçümleri.....	47
Şekil 4.21. (a) LBG mikrojelinin ve modifiye formlarının FT-IR spektrumları. (b) Lineer LBG, LBG mikrojeli ve modifiye LBG/EDA mikrojellerinin termogramları .	48
Şekil 4.22. Farklı konsantrasyonlardaki XG mikrojellerinin (a) hemoliz ve (b) kan pıhtılaşma testleri ile kan uyumlulukları.....	50
Şekil 4.23. Farklı konsantrasyonlardaki GG mikrojellerinin (a) hemoliz ve (b) kan	

pıhtılaşma testleri ile kan uyumlulukları.....	51
Şekil. 4.24. GA ve modifiye GA (a) mikrojecteri, (b) kriyojecterinin ve (c) GA esaslı iyonik sıvı kriyojecterinin hemoliz testine göre kan uyumlulukları.....	52
Şekil 4.25. GA ve modifiye GA (a) mikrojecteri, (b) kriyojecterinin ve (c) GA esaslı iyonik sıvı kriyojecterinin kan pıhtılaşma testine göre kan uyumlulukları.....	53
Şekil 4.26. Farklı konsantrasyonlardaki LBG mikrojecterinin (a) hemoliz ve (b) kan pıhtılaşma testleri ile kan uyumlulukları, 1 mg/mL konsantrasyondaki LBG mikrojecteli ve modifiye formlarının (c) hemoliz ve (d) kan pıhtılaşma testleri ile kan uyumlulukları	54
Şekil 4.27. Lineer GG ve GG mikrojecterinin COS-1 fibroblast hücreleri üzerindeki sitotoksisiteleri (t testine göre *p<0,05 ve ** p<0,0001).....	56
Şekil 4.28. Lineer GA ve GA mikrojecterinin COS-1 fibroblast hücreleri üzerindeki sitotoksisiteleri (t testine göre *p<0,05).....	57
Şekil 4.29. Lineer LBG ve LBG mikrojecterinin COS-1 fibroblast hücreleri üzerindeki sitotoksisiteleri (t testine göre *p<0,05).....	58
Şekil 4.30. (a) LBG mikrojecteline absorpsiyon ve konjugasyon yöntemleri ile sodyum diklofenak (SDF) ilacının yüklenmesinin şematik gösterimi. (b) Absorpsiyon ve konjugasyon yöntemleri ile ilaç yüklenmiş LBG mikrojecterinden pH 7,4 ve 37,5 °C olan fizyolojik koşullarda SDF salımı	62
Şekil 4.31. İlaç yüklü LBG ve modifiye LBG mikrojecterinden pH 7,4 ve 37,5 °C koşullarındaki fizyolojik koşullarda SDF salımı	64
Şekil 4.32. GA esaslı kriyojecterinin (a) askorbik asit vitamini, (b) sodyum diklofenak ilacı ve (c) parakuat pestisitini absorpsiyon miktarı	65
Şekil 4.33. (a) GA kriyojectelinin farklı proteinleri absorpsiyon miktarları (b) GA esaslı kriyojecterinin (b) whey proteini absorpsiyon miktarı	67

ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa No
Çizelge 3.1. Kimyasalların moleküler yapısı.....	12
Çizelge 4.1. GA esaslı mikrojenlerin zeta potansiyel (mV) değerleri.....	39
Çizelge 4.2. LBG ve modifiye LBG mikrojenlerinin zeta potansiyel değerleri (mV)	47
Çizelge 4.3. Farklı konsantrasyonlardaki gam esaslı malzemelerinin sitotoksosite sonuçlarının kontrol grubuna göre istatistiksel analiz sonuçları (p değerleri) ..	56
Çizelge 4.4. GA esaslı mikrojenlerin makro dilüsyon ve difüzyon metodlarına göre <i>Escherichia coli</i> ATCC 8739 (gram -) ve <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 6538 (gram +) mikroorganizmaları üzerinde minimum inhibisyon konsantrasyonları ve zon çapları	59
Çizelge 4.5. LBG ve modifiye LBG mikrojenlerinin SDC ilacını yükleme ve salma miktarları.....	63

BÖLÜM 1

GİRİŞ

Hidrojeller yapısındaki hidrofilik gruplardan dolayı su veya uygun bir çözücü ortamında ağırlıklarının binlerce katı kadar şişebilen, üç boyutlu ağ yapısına sahip, çapraz bağlı polimerik yapılardır (Sahiner, 2013). Sentezlenme yöntemlerine bağlı olarak makro, mikro ve nanometre boyutlarında hazırlanarak makrojel, mikrojel ve nanojel olarak adlandırılırlar. Sentezlendiği malzemeye bağlı olarak yapısında hidroksil (-OH), karboksilik asit (-COOH), amin (-NH₂), sülfid (-SO₃) gibi çeşitli fonksiyonel gruplar barındırdığından modifikasyona oldukça elverişli yapılardır. Bu yapılar buldukları ortamlarda meydana gelen sıcaklık, pH, iyonik kuvvet, manyetik ve elektriksel alan ve ışık gibi uyarılara karşı duyarlı yapıda oldukları için akıllı hidrojeller olarak da bilinirler. Bu tip kimyasal ve fiziksel uyarılara karşı büzülme, şişme, bozunma kabiliyeti olan çapraz bağlı polimerik yapılar, yüksek şişme ve nem tutma kapasiteleri, yumuşak ve esnek fiziksel yapıları, modifikasyona elverişli moleküler yapıları ile biyomedikal alanda ilaç taşıma sistemi (Noyac ve ark., 2014), yara kaplama malzemesi (Sahiner ve ark., 2016a), doku yenilenmesi (Costa ve Mano, 2015), biyomedikal implant, yapay organ ve kas başta olmak üzere, biyosensör (Le Goff ve ark., 2015), enzim, gen ve DNA immobilizasyonu gibi birçok uygulama potansiyeline sahiplerdir (Ullah ve ark., 2015).

Çeşitli bitki, hayvan ve hatta mikroorganizmalar gibi yenilenebilir kaynaklardan elde edilen proteinler, polinükleotidler ve polisakkaritler (karbonhidratlar) başlıca doğal polimerlerdir. Bunlar içerisinde canlıların enerji kaynağını oluşturan karbonhidratlar, farklı şeker birimlerinin bir araya gelmesiyle oluşan polisakkaritlerdir. Bilimin hızla gelişmesi ile birlikte karbonhidrat gibi, canlılardan elde edilen ve canlı organizmaya birçok yararı bulunabilecek hidrofilik yapıda, ucuz, toksik etkisi olmayan, biyoyumlu ve biyobozunabilir özelliklerdeki bu doğal bileşenler kullanılarak hazırlanan farklı boyut ve morfolojilerdeki polimerik makro, mikro ve nano yapılar oldukça önem taşımaktadır (Suner ve ark., 2018). Biomimik (doğayı taklit eden) yapıları malzemelerin tasarlanması, üretimi ve işlevsel olarak kullanımı malzeme biliminin gelişimi açısından büyük bir öneme sahiptir. Bu bağlamda özellikle ilk akla gelen materyaller makro, mikro ve nano boyutlarda sentezlenebilen doğal hidrojellerdir. Özellikle mikro/nanojellerin, geniş yüzey alanına sahip olması, kimyasal modifikasyon ile çok farklı fonksiyonel gruplara sahip olabilmeleri, istenildiğinde yüzey morfolojilerinin kontrol edilebilir olması ile yeni ve ileri düzey uygulamaları ile biyomalzemeler olarak ilgi çekici olmuştur (Bajpai ve ark., 2008).

Yapılan bu tez çalışması kapsamında, ksantan gam (XG), guar gam (GG), gam arabik (GA) ve locust bean gam (LBG) gibi dört farklı çeşit polisakkarit, çeşitli çapraz bağlayıcılar kullanılarak gam esaslı polimerik yapılar sentezlenmiştir. Sentez metoduna ve koşullarına bağlı olarak makro, mikro ve nano boyutlarda gam esaslı polimerik yapılar hazırlanmıştır. Boyutları 500 µm ile 200 nm arasında değişen gam esaslı mikro ve nanojeller, mikro emülsiyon polimerizasyon tekniği kullanılarak farklı yüzey aktif madde varlığında değişik emülsiyon ortamlarında hazırlanmıştır. Çapraz bağlı polimerik yapılar yüzey aktif madde içermeyen emülsiyon ortamında süspanse edildiğinde yaklaşık 500 µm boyutlarında mikro yapılar hazırlanırken, yüzey aktif madde türü ve gam çözeltisinin konsantrasyonuna bağlı olarak nano boyutlarda hazırlanmıştır. Böylece kontrol edilebilir boyut dağılımına sahip gam esaslı polimerik yapılar biyomedikal alanda kullanılmak üzere yüksek verimle hazırlanabilmiştir. Gam esaslı makrojeller ise gam esaslı polimerin oda sıcaklığında çapraz bağlanması ile bulk veya film şeklinde hidrojeller veya yaklaşık -20 °C olan kriyojenik koşullarda sentezlenmesi ile makro gözenekli yapıda kriyojeller hazırlanmıştır. Hazırlanan gam esaslı makro, mikro ve nanoyapılar yapısında farklı sayıda ve yapıda amin grubu içeren 3-kloro-2-hidroksipropil trimetil amonyum klorür (CHPACl), etilendiamin (EDA), dietilentriamin (DETA), trietilentetraamin (TETA) ve polietilenimin (PEI) ile modifiye edilerek katyonik yapıda gam esaslı polimerik yapılar hazırlanmıştır. Ayrıca, PEI modifiye gam esaslı polimerik yapıların amin grupları HCl ile protonlanmış ve bu malzemeler sodyum disiyanamid $\text{Na}[\text{N}(\text{CN})_2]^-$ (SDC), amonyum hekzaflorofosfat $\text{NH}_4[\text{PF}_6]^-$ (AHFP) ve sodyum tetrafloroborat $\text{Na}[\text{BF}_4]^-$ (STFB) ile anyon değişimi reaksiyonuna sokularak gam esaslı polimerik iyonik sıvılar hazırlanmıştır. Doğal içerikli polimerik yapıların karakterizasyonunun detaylı yapılması biyomedikal uygulamalarda kullanım alanlarının belirlenmesi açısından büyük önem taşımaktadır. Hazırlanan gam esaslı makro, mikro ve nano yapılar ile bunların modifiye ve iyonik sıvı (IL) formlarının karakterizasyonu morfolojik olarak optik mikroskop ve taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile yapıdaki fonksiyonel grupların belirlenmesi FT-IR spektroskopisi ile termal kararlılıkları termal gravimetrik analiz (TGA) ile ve yüzey potansiyel/yük değişimleri zeta potansiyel ölçümleri ile belirlenmiştir.

Doğal ve yenilenebilir kaynaklardan elde edilen biyopolimerlerden hazırlanan çapraz bağlı polimerik yapıların biyolojik sistemlerle etkileştiğinde uyum gösterebilecek yapıda olmaları biyomalzemelerin kullanımlarında aranan en önemli özelliklerdendir. Biyopolimer esaslı hidrojellerin canlı yapısında ilaç taşıma, yara kaplama, yapay organ vb. alanlarda kullanıldıklarında sürekli ya da belirli aralıklarla kan ve dokularla etkileşimleri

kaçınılmazdır. Akıllı hidrojeller olarak da bilinen hidrojeller moleküler yapılarındaki fonksiyonel gruplarına bağlı olarak ortam değişkenlerine karşı farklı tepkiler vererek ortamdaki etkilenir ve ortamı etkilerler. Biyomedikal alanda kullanılabilecek olan akıllı hidrojellerin kan ve dokular ile temas ettiğinde nasıl etkileneceği ve hücreler ve dokuları nasıl etkileyeceği biyomedikal uygulamalar için oldukça önemlidir. Hazırlanan gam esaslı polimerik makro, mikro ve nano yapıların hemoliz ve kan pıhtılaşma indeksleri belirlenerek vücut içi veya dışı uygulamalardaki kan uyumlulukları detaylı olarak incelenmiştir. Hazırlanan malzemelerin biyolojik sistemlerde herhangi bir amaçla kullanılabilmesi için hücreler ve dokular ile etkileştiğinde toksik, alerjik, kanserojenik gibi etkiler yaratmaması malzemelerin biyouyumlu yapıda olduğunu gösteren önemli parametrelerdir. Hazırlanan gam esaslı polimerik yapıların COS-1 fibroblast hücreleri üzerindeki sitotoksik etkileri incelenerek % hücre canlılığı araştırılmıştır.

Antimikrobiyal özellikteki biyomalzemelerin hazırlanması amacı ile gam esaslı polimerik yapılar modifiye edilmiş ve IL formları hazırlanmıştır. Yaşadığımız çevrede ve özellikle hastane ortamlarında yaygın olarak bulunan ve çeşitli hastalıkların oluşmasına neden olan *Escherichia coli* ATCC 8739 ve *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 bakterilerine karşı hazırlanan gam esaslı polimerik yapıların antimikrobiyal duyarlılıkları makro dilüsyon ve difüzyon testleri ile belirlenmiştir. Ayrıca, gam esaslı mikro yapılar ilaç taşınımı ve kontrollü salım çalışmalarında kullanmak amacı ile absorpsiyon ve konjugasyon yöntemleri ile ilaç yüklemesi yapılarak, pH 7,4 ve 37,5 °C olan fizyolojik koşullardaki ilaç salım profilleri incelenmiştir. Bunun dışında vitamin, ilaç ve pestisit gibi çeşitli biyoaktif molekülün ve whey protein, hemoglobin, soya proteini, bovin serum albumin ve lizozim gibi protein yapısındaki biyomakromoleküllerin, süper gözenekli yapıdaki gam esaslı kriyojeller ile absorpsiyonu incelenerek gam esaslı polimerik yapıların ayırma ve saflaştırma çalışmalarında kullanım potansiyelleri incelenmiştir.

BÖLÜM 2

ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Karbonhidrat Esaslı Polimerik Yapılar

Polimerler tekrar eden monomer birimlerinden oluşan lineer ya da dallanmış yapıdaki uzun zincirli ve yüksek moleküler ağırlıklı bileşiklerdir. Biyopolimerler; biyomakromoleküller olarak bilinen karbonhidratlar, polinükleotidler, proteinler, doğal elastomerler ve polifenoller gibi doğada kendiliğinden polimerik formda bulunabilirler. Sentetik polimerler ise monomer birimlerinin kondenzasyon polimerizasyonu, serbest radikal ile zincir (katılma) polimerizasyonu ve halka açılma polimerizasyon reaksiyonları ile de sentezlenebilmektedir. Canlıların yapıtaşını oluşturan polimerik yapıdaki karbonhidratlar, glikoz, galaktoz, fruktoz gibi monosakkaritlerin yani şeker birimlerinin farklı formlarda kondenzasyon reaksiyonlarıyla oluşmuş doğal polisakkaritlerdir (Fried, 2003). Çeşitli mikroorganizma, bitki ve hayvanın yapısında bulunan karbonhidratlar; biyobozunabilir, biyoyumlu, toksik olmayan ve yenilenebilir kaynaklardan elde edilebilir özelliklerinden dolayı üstün özelliklere sahip biyomalzemelerin geliştirilmesi ve kullanımında oldukça önemli bir yere sahiptirler (Suner ve ark., 2018).

Doğal polimerlerden hazırlanan çapraz bağlı polimerik yapılar diğer bir adıyla doğal polimerik hidrojel, yüksek şişme kapasiteleri, kolay modifiye edilebilir yapıları, ısı, ışık, elektriksel alan, pH gibi farklı çevresel koşullara duyarlı olabilmeleri gibi özellikleri ile biyomedikal uygulamalarda vazgeçilmez malzemeler haline gelmiştir (Sahiner, 2013). Karbonhidratlar; molekül ve moleküller arası iyonik etkileşimler sonucunda fiziksel bağlarla yada divinil sülfon, adipik dihidrazin, glutraldehit, epiklorohidrin, trisodyum trimetafosfat, poli(etilenglikol) diglisidil eter gibi çeşitli çapraz bağlayıcılar ile kimyasal olarak bağlanarak üç boyutlu ağ yapısında sahip karbonhidrat esaslı hidrojel hazırlanabilmektedir (Oh ve ark., 2008). Hidrojeller polimerizasyon tekniğine bağlı olarak makro, mikro ve nano boyutlarında hazırlanabilir. Karbonhidrat esaslı hidrojel yığın (bulk) polimerizasyon tekniği kullanılarak makrojel boyutlarında hazırlanırken, süspansiyon ve emülsiyon polimerizasyon teknikleri ile mikro ve hatta nano boyutlarda çapraz bağlı polimerik yapılar hazırlanabilmektedir (Alhaique ve ark., 2016; Suner ve ark., 2018).

Son yıllarda, bilimlerdeki hızlı gelişmelerin en ilgi uyandıran kısmı mikro ve nano boyutlarda hazırlanabilen polimerik partiküllerin tıp alanlarında uygulanabilmeleridir.

Mikrometre ve/ya nanometre boyutundaki hidrofilik özeliğe sahip hidrojeller, endüstriyel ve teknoloji alanlarındaki uygulamalarına ilavaten biyoloji ve tıp alanlarında da önemli uygulama alanlarına sahiptir. Karbonhidrat esaslı mikro ve nanojeller boyutları, geniş yüzey alanları, modifiye edilebilir kimyasal yapıları nedeniyle biyolojik sistemlere kolayca entegre olabilmektedir. Literatürde ters misel ortamında mikro emülsiyon tekniği ile hazırlanan çapraz bağlı karbonhidrat esaslı mikrojel ve nanojel üzerine çok sayıda araştırma yapılmıştır (Sahiner ve Sagbas, 2014; Sahiner ve ark., 2017; Sahiner ve Sagbas, 2018a). Bu yöntemde genellikle su içerisinde çözünmüş lineer yada dallanmış yapıdaki karbonhidrat çözeltisi, yüzey aktif madde içeren organik bir çözücü içerisinde belirli bir karıştırma hızında damlatılır. Böylece moleküller yüzey aktif maddelerin karar kılıcı etkisi ile oluşan belirli boyutlardaki miseller içerisinde süspansiyon edilir. Ardından ortama eklenen çapraz bağlayıcı ile lineer yada dallanmış polimer zincirleri birbirleri ile serbest uçlardan çapraz bağlanarak üç boyutlu ağ yapısına sahip mikro ve nanojeller hazırlanabilmektedir. Mikro emülsiyon ortamındaki yüzey aktif madde çeşidi ve konsantrasyonu, karbonhidrat çözeltisi miktarı ve konsantrasyonu ve karıştırma hızı partikül boyutlarını belirleyici en önemli parametrelerdir (Oh ve ark., 2008). Hatta bazı malzemeler yüzey aktif madde içermeyen mikro emülsiyon ortamında süspansiyon olarak mikro ve nanometre boyutlarda polimerik yapılar hazırlanabilmektedir (Kratz ve ark., 2000).

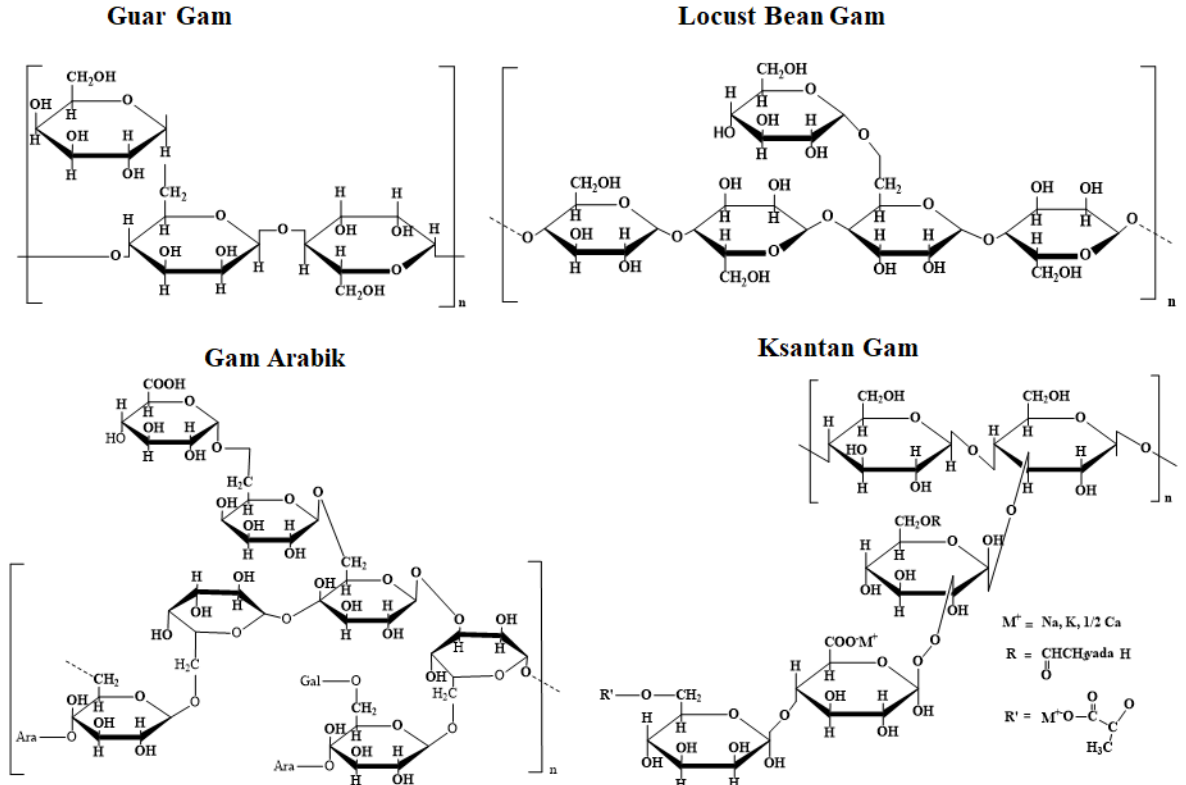
Yeni nesil polimerik malzemelerden bir diğeri ise makro ve süper gözenekli yapıdaki kriyojeller, kriyojenik koşullarda yığın (bulk) polimerizasyonu tekniğine benzer şekilde hazırlanmaktadır. Temel olarak su içerisinde çözünmüş monomer yada polimer soğutulur ve ortama çapraz bağlayıcı eklenerek polimerizasyon çözücünün donma noktasının altında (buz kristalleri varlığında) gerçekleşmektedir. Böylece monomerlerin yada polimer zincirlerinin çapraz bağlanması buz kristallerinin etrafında gerçekleşir ve buz kristalleri gözenek yapıcı görevi gördüğünden, uzaklaştırıldığında makro gözenekli yapıda çapraz bağlı polimerik yapılar elde edilir. Reaksiyon karışımının donma hızı, monomer derişimi, çözücünün hacmi, çapraz bağlayıcı miktarı ve çeşidi kriyojel yapısını etkileyen en önemli parametrelerdir. Polimerizasyon yavaş gerçekleştiğinde büyük gözeneklere sahip ara bağlantıları kuvvetli kriyojeller elde edilirken, donma olayı hızlıca gerçekleştiğinde suyun hızlıca donmasından dolayı gözenek şekilleri düzensiz ve mekanik dayanımı zayıf kriyojeller elde edilir (Hixon ve ark., 2017). Kriyojeller süper gözenekli sünger benzeri yapılar olmalarından dolayı makrojellere nazaran yüzey alanlarının geniş olmaları ve oldukça büyük iç içe geçmiş gözenekli ağ yapıları nedeniyle çevre koşullarına hızlıca yanıt

verme örneğın çok hızlı şişme/büzülme gibi üstün özellikleri ile bilinmektedir. Böylece son yıllarda immobilizasyon, ayırma ve saflaştırma, ilaç taşınımı ve salımı, hücre ayırımı ve kültürü, kemik, kırık, deri gibi dokularda doku iskelesi olarak doku mühendiliği gibi birçok farklı biyomedikal alanda kullanılmak üzere karbonhidrat esaslı kriyojellerin sentezi ve kullanım alanları araştırılmaktadır (Ertürk ve Mattiasson, 2014; Hixon ve ark., 2017; Demirci ve ark., 2017).

Karbonhidrat esaslı polimerik yapılar modifikasyon, kuaternizasyon, iyon değişimi gibi çeşitli reaksiyonlar ile kullanım alanına bağlı olarak yapısında, lineer (Sahiner ve ark., 2017) ve dallanmış yapıda amin (Sahiner ve Sagbas, 2018a), kuaternize amin, sülfonik asit, karboksilik asit (Ekici ve ark., 2011) gibi farklı gruplara sahip moleküller ile modifiye edilebilirler. Özellikle polimerik iyonik sıvılar (IL) organik anyon ve katyon gruplarına sahip polimerik yapılardır (Horne ve ark., 2015). Genellikle IL'lerin doğrudan polimerizasyonu yada polimerik yapıların post-modifikasyonu ve iyon değişim reaksiyonları ile hazırlanabilmektedir (Tokuda ve ark., 2013; Lu ve ark., 2015). Literatürde, biyopolimerik IL malzemeler film (Guo ve ark., 2015), fiber (Jing ve ark., 2016) ve membran (Zheng ve ark., 2016), makrojel, mikrojel ve nanojel (Sahiner ve Sagbas, 2018a) şeklinde hazırlanabilmektedir. Yapısındaki iyonik formdaki anyonik ve katyonik grupları sayesinde malzemelere yüksek iyonik iletkenlik, yüksek termal kararlılık (Snedden ve ark., 2003; Wu ve ark., 2017) ve antimikrobiyal (Guo ve ark., 2015) özellikler kazandırarak, biyosensör, ilaç taşıyıcı malzeme, yara kaplama malzemesi, implant malzemesi ve biyoaktif moleküllerin ayırımı ve saflaştırılması gibi birçok biyomedikal uygulamada kullanılacak ileri teknoloji malzemeler hazırlanmaktadır (Lee ve ark., 2010; Qin ve Zhu, 2010; Riduan ve Zhang, 2013).

2.2. Gam Esaslı Polimerik Yapılar

Doğal birer polisakkarit olan Ksantan Gam, Guar Gam, Gam Arabik, Locust Bean Gam *Xanthomonas campestris* gibi bakterilerden fermentasyonla veya *Caratonia siliqua*, *Cyamopsis tetragonalobus*, *Cyamopsis psoraloides*, *Acacia seyalve* *Acacia senegal* gibi çeşitli bitkilerden elde edilirler (Chen ve ark., 2015; Quintanilha ve ark., 2014; Thombarea ve ark., 2016). Şekil 2.1'de gösterildiği gibi genel olarak çeşitli şeker birimlerinin bağlanması ile oluşan heteropolisakkarit yapıdadırlar ve moleküler yapı değişikçe malzemelerin fizikokimyasal özellikleri değişkenlik göstermektedir (Banerjee ve Chen, 2007).



Şekil 2.1. Guar gam, locust bean gam, gam arabik ve ksantan gam'ın moleküller yapısı

2.2.1. Ksantan Gam (XG)

Ksantan gam (XG), *Xanthomonas sp.* cinsi bakterilerden elde edilen ve dekstrandan sonra ilk defa mikroorganizmalardan sentezlenen önemli bir endüstriyel ekzopolisakkarittir. β -glukopiranoz ana zinciri ve D-mannozil, D-glukozil ve D-glukuronik asit yan zincirlerinden oluşan dallanmış yapıda bir polisakkarittir (García-Ochoa ve ark., 2000). Heliks yapısından dolayı geniş bir sıcaklık ve pH aralığında kararlıdır ve polimerik yapısı bozulmaz. Suda çözünür ve yüksek vizkozitelerde psödoplastik özellik gösterir (Demirci ve ark., 2012; Ferrero ve ark., 2010). 1969 yılında Amerika Gıda ve İlaç Kurumu (FDA) tarafından XG'ın göz ve deride iritasyon oluşturmayan, toksik olmayan bir malzeme olduğu onaylanmıştır. Biyoyumlu yapıda ve jelleşme özelliğinden dolayı gıda katkı malzemesi, gıda paketlenmesi, kozmetik ve boya sanayi ve hatta ilaç salımı gibi çeşitli endüstriyel ve biyomedikal alanda kıvam arttırıcı, emülgatör, stabilizatör, jelleştirici ajan olarak kullanılmaktadır (Kumar ve ark., 2018). Mei ve ark. (2017) XG'ın vizkoelastik ve bozunmaya karşı kararlı yapısından dolayı allojenik yağ dokusu esaslı kök hücreler ile birleştirilerek kireçlenme tedavisinde kullanmışlardır. Böylece XG'ın son yıllarda yapay kök hücre transplantasyonunda yaygın olarak kullanılan hyaluronik asit'in yerine kullanılabilir bir malzeme olduğu gösterilmiştir (Mei ve ark., 2017). XG'ın farelerin

kondrosit hücre canlılığına herhangi bir olumsuz etkisine rastlanmamıştır (Han ve ark., 2012) ve hatta XG farelerin çeşitli hücrelerinde DNA sentezini destekleyerek biyoyumlu bir malzeme olduğu bulunmuştur (Ishizaka ve ark., 1983).

Son yıllarda XG ve modifiye formu kullanarak doku mühendisliğinde kullanılabilir çeşitli hidrojeller hazırlanmaktadır. Polianyon olarak bilinen XG, yapısında anyonik ve katyonik gruplar içeren iyonik sıvılar ile birlikte XG jelleri sentezlenmiştir (Izawa ve ark., 2009). Na^+ , Ca^{2+} ve Fe^{3+} iyonları ile iyonik olarak (Izawa ve Kadokawa, 2010) veya trisodyum trimetafosfat (STMP) ile çapraz bağlı KG hidrojelleri hazırlanmıştır (Bejenariu ve ark., 2009). XG'nin β -laktoglobulin, sodyum kazeinat (Kobori ve ark., 2009) gibi proteinler ile birlikte aralarındaki elektrostatik etkileşimler sonucu kompleks yapılar oluşturduğu (Le ve Turgeon, 2015) ve hatta kondrotin sülfat (Oprea ve ark., 2012), kitosan (Bellini ve ark., 2012) ve selüloz (Rao ve ark., 2017) gibi biyomakromoleküller ile birlikte biyomedikal uygulamalarda kullanılmak üzere farklı şekil ve boyutlarda XG esaslı polimerik yapılar hazırlanmıştır.

Ayrıca, XG/grafen oksit hibrit aerogeli (Liu ve ark., 2017a), XG/grafen oksit/Fe nanokompozit film jeli (Liu ve ark., 2017b), XG/metiyonin bentonit nanokompoziti (Ahmad ve Mirza, 2017), XG/silika nanokompoziti (Thakur ve ark., 2017) gibi çeşitli malzemeler ile birlikte kompozit formları hazırlanarak, bu malzemelerin boya ve ağır metal gibi toksik kirleticileri jel yapısına adsorbe ederek önemli ölçüde temizlediği gösterilmiştir. Yapılan çalışmalarda hazırlanan XG esaslı hidrojellerin farelerde doku hasarını giderdiği (Kuo ve ark., 2014) ve fibroblast, osteoblast, kondrosit ve embriyonik kök hücreleri ile etkileştiğinde dokular üzerinde tedavi edici etkisinin olması ile doku mühendisliği, ilaç salımı ve yara kaplama malzemesi gibi farklı biyomedikal uygulamada kullanılabilir eşsiz bir biyomalzeme olduğu gösterilmiştir (Kumar ve ark., 2018).

2.2.2. Guar Gam (GG)

Guar gam (GG) 1 \rightarrow 4- β -D-mannopiranoz ana zincirine 1 \rightarrow 6- β -D-galaktopiranoz gruplarının bağlanmasından oluşan hidrofilik ve non-iyonik yapıda doğal bir polisakkarittir. *Cyamopsis tetragonalobus* bitkisi gibi yenilenebilir kaynaklardan elde edilmesi, biyobozunur ve biyogüvenli bir malzeme olmasından dolayı endüstride yaygın olarak kullanılmaktadır. Özellikle kıvam arttırıcı özelliğinden dolayı kozmetikte ve gıda katkı malzemesi olarak gıda endüstrisinde oldukça yaygın bir kullanımı vardır (Barbucci ve ark., 2008). Literatürde, ksantan gam (Ahmed ve Thomas, 2018), aljinat (Valetti ve Pico, 2016; Roy ve ark., 2005), kollajen gibi çeşitli biyopolimerler ile birlikte yada

akrilamit gibi sentetik monomerler (Kaith ve ark., 2015) ile birlikte nano, mikro (Reddy ve Tammishetti, 2002) ve makro boyutlarda polimerik yapılar ve bunların çapraz bağlı formları hazırlanarak çeşitli proteinler, enzimler gibi biyomakromoleküllerin saflaştırılması ve ayırılması (Valetti ve Pico, 2016; Roy ve ark., 2005), immobilizasyonu (Ragothaman ve ark., 2014), ilaç salımı (Reddy ve Tammishetti, 2002) gibi birçok alanda kullanım potansiyelleri vardır.

Roy ve ark., (2005) GG çözeltisini sodyum tetraborat çözeltisine damlatarak GG makrojelleri hazırlamıştır fakat bu jeller pH 5-7 arasında stabil iken, asidik ve bazik pH koşullarında jel yapısını kaybettiği gözlemlenmiştir. Çapraz bağlı GG hidrojelleri tek başına bazik ortamda PEGGE ve STMP ile çapraz bağlayarak (Barbucci ve ark., 2008; Gliko-Kabir ve ark., 2000a) veya asidik ortamda gluteraldehit ile çapraz bağlayarak (Gliko-Kabir ve ark., 1998) hazırlanmıştır. Gliko-Kabir ve ark. (2000b) STMP ile çapraz bağlı GG hidrojellerinin enzimatik olarak bozunabilen ve böylece suda çözünürlüğü az olan ilaçların salımında kullanılabilen potansiyel bir ilaç taşıyıcı ajan olduğunu fareler üzerinde yaptıkları *in vitro* ve *in vivo* çalışmalar ile gösterilmiştir. Saumyaa ve ark. (2010) çapraz bağlı guar gam nanopartiküllerini sentezleyerek karakterizasyonu yapmıştır. Ayrıca, Ghosh ve ark. (2015) yüzey aktif madde içermeyen ortamda floresan özellikte guar gam nanopartikülleri hazırlanmıştır.

2.2.3. Gam Arabik (GA)

Gam arabik (GA) arabinogalaktoz, ramnoz, glukoronik asit ve eser miktarda proteinden oluşan dallanmış yapıda bir polisakarittir (Sarika ve ark., 2015). Gıda, kozmetik, yapıştırıcı, tekstil, ilaç sektörlerinde yaygın bir kullanım alanına sahiptir. Avrupa'ya çeşitli Arap kaynaklarından getirildiği için gam arabik adını almıştır (Phillips ve Williams, 2001). İçeceklerde emülsiyon ajanı olarak flavonoidlerin süspansiyonunda (Romo-Hualde ve ark., 2012; Verbeken ve ark., 2003) ve hatta ilaç bileşenlerinde yada ilaçları bağlayıcı ajan (Bhardwaj ve ark., 2000) olarak kullanılmaktadır. Yapılan araştırmalarda GA'in mide koruyucu etkisinin olduğu gösterilmiştir (Salama ve Mariod, 2018).

Literatür incelendiğinde, whey (Weinbreck ve ark., 2004), lizin (Chang ve ark., 2014) ve jelatin (Sarika ve ark., 2015; Sarika ve James, 2015), ovalbumin (Niu ve ark., 2018), sodium kazeinat (Ye ve ark., 2012), nisin (Gong ve ark., 2018) gibi proteinler ile moleküller arası elektrostatik etkileşimler sonucunda farklı gam esaslı polimerik malzemeler hazırlanmıştır. Bu malzemeleri antimikrobiyal ajan olarak (Chang ve ark.,

2014) veya ilaç ve gen salımı (Sarika ve James, 2015) çalışmalarında kullanılmıştır. Sarika ve Nirmala (2016), yaptığı çalışmada aldehit gam arabik-jelatin nanojellerinin sentezleyerek partiküllere kurkumin ilacı yükleyerek göğüs kanseri üzerine etkilerini araştırmıştır ve bu malzemenin kanser tedavisinde kullanılabilecek potansiyel bir malzeme olduğu sonucuna varılmıştır. Hatta Wang ve ark., (2016) tarafından yapılan çalışmada makrogözenekli yapıda GA ve GA/kil aerojellerini hazırlayarak karakterizasyonunu incelemiştir.

2.2.4. Locust Bean Gam (LBG)

Locust bean gam (LBG) tekrar eden galaktomannan ana zincirinden oluşan lineer ve non-iyonik yapıda bir polisakkarittir ve yaygın olarak keçiboynuzu bitki tohumunun endosperminden elde edilir (Beneke ve ark., 2009). LBG esaslı polimerik malzemeler stabilizatör, kıvam arttırıcı ve jelleşme (Barak ve Mudgil, 2014) özelliklerinden dolayı ilaç (Sujja-areevath ve ark., 1996), kozmetik, tekstil ve gıda endüstrilerinde katkı maddesi olarak yaygın bir kullanıma sahiptir (Sandolo ve ark., 2010). LBG gıda takviyesi olarak vücuda alındığında reflü semptomlarını tedavi ederek sindirim sistemini düzenlediği, yüksek kolesterol seviyesini düşürerek kalp sağlığını kontrol edebildiği (Galvez ve ark., 2005) ve hatta kandaki glukoz seviyesini düşürerek diyabeti engellediği yapılan çalışmalarda gösterilmiştir (Barak ve Mudgil, 2014; Ferguson ve Harris, 2005). Literatür incelendiğinde, iyonik olarak bağlı LBG esaslı iç içe geçmiş ağ yapısına sahip mikrojeller ve makrojeller (Bhattacharya ve ark., 2012; Dey ve ark., 2013; Pawar ve ark., 2015), karboksillenmiş LBG makrojelleri (Hayrabolulu ve ark., 2014), ve gluteraldehit ile çapraz bağlanmış LBG makrojelleri formunda hazırlanmış (Coviello ve ark., 2007). Yapılan araştırmalara göre LBG esaslı polimerik yapıların özellikle kontrollü ilaç salımı olmak üzere birçok biyomedikal alanda kullanım potansiyellerinin olduğu gösterilmiştir.

BÖLÜM 3

MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Kimyasallar

Gam esaslı polimerik yapıların hazırlanmasında ksantan gam (XG, *Xanthomonas campestris* elde edilmiş), guar gam (GG), gam arabik (GA, Akasya ağacından elde edilmiş, dallanmış polisakkarit, Mw: 250,000 g/mol) ve locust bean gam (LBG, *Ceratonia siliqua* tohumlarından elde edilmiş) polisakkaritleri Sigma-Aldrich firmasından temin edilmiştir. Çapraz bağlayıcı olarak divinil sülfon (DVS, % 98, Merck), poli(etilenglikol) diglisidil eter (PEGGE, Mn: 500, Aldrich) ve trisodyum trimetafosfat (STMP, % ≥ 95 , Aldrich), yüzey aktif madde olarak sodyum bis(2-etilhekzil) sülfosüksinat (AOT, % 98, Sigma-Aldrich) ve span 80 (viscosity 1200-2000 mPa.s (20 °C), Fluka), solvent olarak izooktan (Carlo-Erba), sikloheksan (for analysis, ACS reagent, % $\geq 99,8$, Carlo-Erba) ve benzin (98 oktan, kurşunsuz, Total) kullanılmıştır.

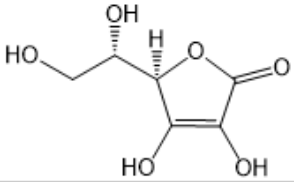
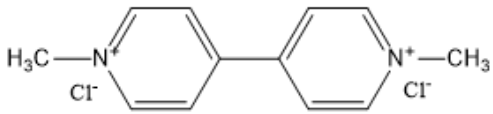
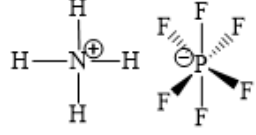
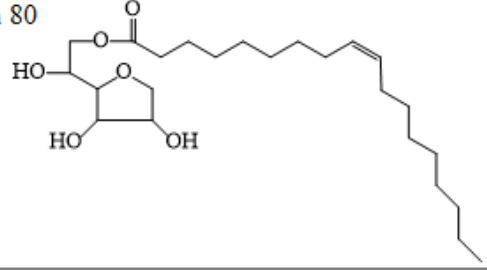
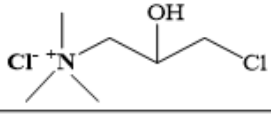
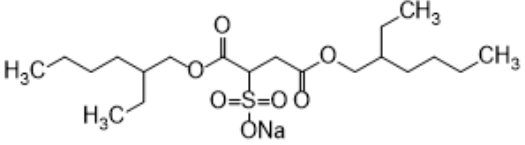
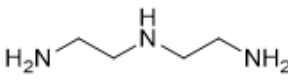
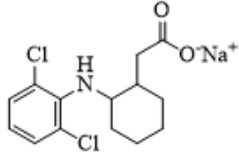
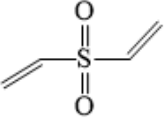
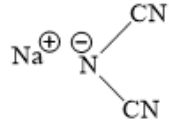
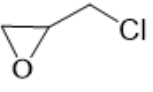
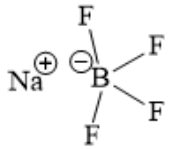

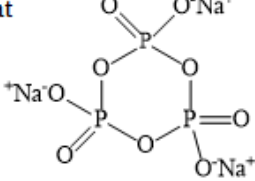
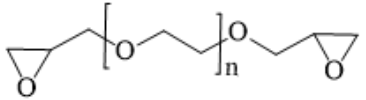
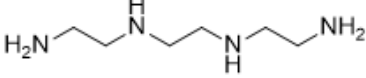
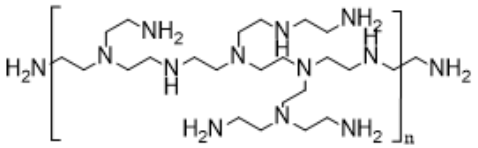
Modifikasyonda kullanılan epiklorohidrin (ECH, % >99), etilendiamin (EDA, % 99,5), dietilentriamin (DETA, % 99), trietilentetramin (TETA, % 60), polietilenimin (PEI, % 50'lik sulu çözeltisi, Mn: ~1200 Mw: ~1300) ve sodyum hidroksit (NaOH, % 98) kimyasalları Sigma-Aldrich firmasından ve 3-kloro-2-hidroksipropil trimetil amonyum klorür (CHPACl, % 65) Fluka firmasından alınmıştır. Modifiye yapıların protonlanması ve iyon değişiminde hidroklorik asit (HCl, % 36,5-38, Aldrich), sodyum disiyanamid (SDC, NaN(CN)₂, % 96, Sigma-Aldrich), amonyum heksaflorofosfat (AHFP, NH₄PF₆, % 99, Aldrich) ve sodyum tetrafloroborat (STFB, NaBF₄, % 97, Merck) kullanılmıştır.

Yüksek saflıktaki etanol (% 99, Birkim), aseton (% 99, BRK), diklorometan (DCM, % 99, Riedel-de Haan), dimetil formamit (DMF, % 99, Merck) çözücü olarak kullanılmıştır. Tüm çalışma boyunca çift distile su (GFL, 2108) ve Millipore Direct-Q3 UV (18,2 MΩ.cm) kullanılmıştır.

Antimikrobiyal aktivite çalışmalarında, nutrient agar (Merck) ve nutrient broth (Merck) besiyeri olarak kullanılmıştır. *Escherichia coli* ATCC 8739 ve *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 suşları Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Tıp Fakültesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalından temin edilmiştir.

Kan testlerinde kalsiyum klorür (% 99,9, Sigma-Aldrich) ve sodyum klorür (NaCl, % 99, Sigma-Aldrich) kullanılmıştır. Kan uyumluluk çalışmaları Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi İnsan Araştırmaları Etik Komitesi tarafından kabul edilen KAEK-2016-27 kodlu etik kurul izniyle yapılmıştır.

Çizelge 3.1.Kimyasalların moleküler yapısı

Askorbik asit		Parakuat	
Amonyum heksaflorofosfat		Span 80	
3-kloro-2-hidroksipropil trimetil amonyum klorür		Sodyum bis(2-etilhekzil) sülfosüksinat	
Dietilentriamin		Sodyum diklofenak	
Divinil sülfon		Sodyum disiyanamid	
Epiklorohidrin		Sodyum tetrafloroborat	
Etilendiamin		Trisodyum trimetafosfat	
Poli(etilenglikol) diglisidil eter		Trietilentetramin	
Polietilenimin			

Sitotoksisite testinde, formalin ve toluidin mavisi Sigma-Aldrich (St Louis, MO) firmasından alınmıştır. Costar 12 kuyucuklu doku kültürü kapları (Corning, Wilkes Barre,

PA) kullanılmıştır. COS-1 (Afrika maymunu fibroblast hücresi) American Type Culture Collection (Manassas, VA) firmasından temin edilmiş ve % 5 CO₂ ve % 95 hava içeren kültür ortamında muhafaza edilmiştir. Kültür ortamı, % 10 fetal bovin serum (FBS), 4 mM glutamin, 1 mM sodyum piruvat, 100 µg/mL penisilin, 100 µg/mL streptomisin, 0,25 µg/mL amfoterisin B eklenmiş 4500 g/L glukoz ve 1,5 g sodyum bikarbonat içeren Dulbecco modifiye edilmiş ortam (DMEM) kullanılmıştır. Fetal bovin serumu (FBS) Atlanta Biologicals Lawrenceville firmasından temin edilmiştir. Dulbecco modifiye edilmiş ortam (DMEM), L-glutamin, sodyum piruvat ve penisilin, streptomisin ve amfoterisin B içeren antibiyotik-antimikotik çözeltisi (AA) Life Technologies (Grand Island, NY) firmasından temin edilmiştir.

Model ilaç olarak sodyum diklofenak (SDC, Abdi İbrahim İlaç Sanayi) ilacı, ilaç bağlayıcı ajan olarak 1,1'-karbonildiimidazol (reagent grade, Aldrich) ve selüloz membran (% >90, M.W. 12,400, Sigma-Aldrich) ilaç salım çalışmalarında kullanılmıştır.

Tampon çözelti hazırlarken, potasyum klorür (KCl, % 99, Sigma-Aldrich), disodyum hidrojen fosfat (Na₂HPO₄, % 99, Sigma-Aldrich), potasyum dihidrojen fosfat (KH₂PO₄, % 99,9, Sigma-Aldrich) kimyasalları fosfat buffer çözeltisi (PBS) hazırlanırken kullanılmıştır.

Askorbik asit (AA, % 99, Sigma Aldrich) ve 1,10-dimetil-4,40-bipridinyum diklorür (Parakuat, PK, Fluka), lizozim (tavuk yumurtası beyazından elde edilmiş, % ≥90 protein, ≥ 40,000 ünite/mg protein içerir, Sigma), hidrolize soy protein (Sigma), hemoglobin (bovin kanından elde edilen, Sigma-Aldrich), bovin serum albumin (BSA, % ≥96, Sigma) ve izole whey protein (demineralize, peynir altı suyu tozu, Enka) absorpsiyon çalışmalarında kullanılmıştır.

3.2. Kullanılan Cihazlar

Gam esaslı polimerik yapıların boyutları ve morfolojik yapıları optik mikroskop (Olympus BX-53) ile 4x-40x arası objektifler kullanılarak ve taramalı elektron mikroskobu (SEM, Jeol JSM-5600 LV) ile 20 kV'de belirlenmiştir. SEM analizinde örnek hazırlanırken kuru örnekten bir miktar alınarak karbon bant üzerine konulmuş ve altın/paladyum karışımı ile kaplanmıştır.

Malzemelerin fonksiyonel grupları 4000-650 cm⁻¹ aralığında 4 cm⁻¹ çözünürlükte iTR tekniği kullanılarak FT-IR spektroskopisi (Thermo Fisher Scientific NICOLET iS10) ile belirlenmiştir.

Malzemelerin termal bozunmaları termal gravimetrik analizi (TGA, SII TG/DTA 6300) ile yapılmıştır. Yaklaşık 5 mg örnek N₂ atmosferinde 100 mL/dk akış hızında 10 °C/dakika sıcaklık artışıyla 50-1000 °C sıcaklık aralığında yapılmıştır.

Gam esaslı nanojellerin hidrodinamik boyutları dinamik ışık açılımı (DLS, Brookhaven Ins. Corp., 90Plus/BIMAS) ölçümleri ile belirlenmiştir. Yaklaşık 10 mg örnek saf suda süspansiyon edildikten sonra ölçümler 10 tekrarlı olarak yapılarak sonuçlar standart sapmaları ile verilmiştir.

Gam esaslı nano/mikrojellerin zeta potansiyelleri (ZP, Brookhaven Inst. Corp., BIC ZetaPlus) farklı pH değerlerinde belirlenmiştir. Yaklaşık 10 mg örnek saf suda süspansiyon edildikten sonra malzemelerin farklı pH değerlerindeki zeta potansiyel ölçümlerini belirlemek amacı ile yaklaşık 50 mg örnek 50 mL saf su içerisinde süspansiyon edilmiştir. Ortamın pH değerini pH 2 ile pH 12 koşullarına ayarlamak için yaklaşık 0,2 M HCl ve 0,2 M NaOH çözeltileri kullanılmıştır. Ölçümler 10 tekrarlı olarak yapılarak sonuçlar standart sapmaları ile verilmiştir.

Gam esaslı polimerik yapıların hidrolitik bozunmaları yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC, Thermo Ultimate 3000) ile belirlenmiştir. HPLC analizi refraktif indeks detektör (RI 101, Shodex) ile phenomenex rezex RNM-Carbohydrate Na⁺ (5 µm, 300 mm x 7,8 mm) kolonu kullanılarak yapılmıştır. HPLC koşulları 0,5 mL/dk akış hızında, 65 °C kolon ve 35 °C dedektör sıcaklığında, 20 µL enjeksiyon miktarı ile 30 dk süre ile okunmuştur. Mobil faz olarak 5 mM sülfürik asit çözeltisi kullanılmıştır.

Kan testi ve ilaç salım çalışmalarında Mor ötesi-görünür bölge (UV-Vis, PG Instruments Ltd. T80+) spektrofotometresi ile yapılmıştır. Malzemelerin sterilizasyonu 420 nm'de (Canada, LUZCHEM) foto reaktör ile yapılmıştır. Yapılan deneylerde kullanılan saf su GFL 2108 ve Millipore direct-Q3 UV (18,2 MΩ.cm) saf su cihazlarından elde edilmiştir.

Ayrıca, gam esaslı polimerik yapıların vakum altında dondurularak kurutulma işlemi liyofilizatör (Christ Alpha 2-4 LSC) ile yapılmıştır. Tüm sıcaklık ile kurutulma ve inkübasyon işlemleri için etüv (Mettler) kullanılmıştır. Örneklerin tartım işlemleri hassas teraziler (Sartorius TE2145 ve Precisa XB 220A) ile yapılmıştır.

Yapılan deneylerde karıştırma amaçlı çoklu manyetik karıştırıcı (IKA) ve ısıtmalı manyetik karıştırıcı (Hermle) kullanılmıştır. Çözeltilerin pH ölçümleri pH 4, 7 ve 10 tampon çözeltileri ile kalibre edilmiş ve Sartorius marka pH metre ile pH ölçümleri yapılmıştır. Gam esaslı polimerik yapıların reaksiyon ortamından ayrılması ve temizlenmesi için Z383K soğutmalı santrifüj (Hermle) kullanılmıştır. Malzemelerin

dispersiyonu ve çözeltilerin degaz işlemleri ultrasonik banyo (sonikatör, 35 kHz frekansta Bandelin Sonerex) kullanılarak yapılmıştır. Malzemelerin ısıtılması, antimikrobiyal testler için besiyerlerinin hazırlanması ve sterilizasyonu için otoklav (Dik Tip JSR) kullanılmıştır. Hidrolitik bozunma, ilaç salımı ve inkübasyon amaçlı 35-37 °C sıcaklığa ayarlanmış çalkalamalı su banyosu (Memmert) kullanılmıştır.

3.3. Gam Esaslı Polimerik Yapıların Sentezi

3.3.1. Ksantan Gam (XG) Makrojel, Mikrojel ve Nanojellerinin Sentezi

Ksantan gam (XG) makrojellerinin sentezi için, 0,16 g XG 10 mL 0,5 M NaOH içerisinde yaklaşık 12 saat oda sıcaklığında çözünene kadar karıştırılmıştır. XG çözeltisi otoklavda 90 °C sıcaklıkta 10 dk inkübe edilerek çift sarmal XG zincirlerinin açılmıştır. XG'ın tekrar eden biriminin molce 3,66 katı kadar STMP çözeltisi 3 mL 0,5 M NaOH içerisinde hazırlanmış ve ısıtılmış XG çözeltisi içerisine eklenerek 500 rpm karışma hızında 10 dk karıştırılarak 30 mm çapındaki petri kaplarına dökülmüştür. Yarım saat sonunda XG makrojellerini içeren petri kapları -20 °C sıcaklığa konulmuş ve 12 saat sonunda XG makrojelleri petri kaplarından alınarak saf su içerisinde reaksiyona girmemiş kimyasalları uzaklaştırmak için yıkanmıştır.

Ksantan gam (XG) mikro/nanojelleri PEGGE çapraz bağlayıcısı kullanılarak span 80/sikloheksan ters misel ortamında mikro emülsiyon yöntemi kullanılarak sentezlenmiştir. Kütlece 0,1 g lineer XG çözeltisi 10 mL 0,5 M NaOH içerisinde yaklaşık 12 saat oda sıcaklığında çözünene kadar karıştırılmıştır. XG çözeltisi otoklavda 90 °C sıcaklıkta 10 dk inkübe edilerek çift sarmal XG zincirlerinin açılması sağlanmıştır. Isıtılmış XG çözeltisinden 1,5 mL alınıp 1000 rpm karışma hızında karışan önceden 90 °C sıcaklıktaki otoklavda 10 dk bekletilmiş 30 mL span 80/sikloheksan mikro emülsiyon ortamına eklenerek süspanse olacak şekilde karıştırılmıştır. Ortama hemen XG'ın tekrar eden biriminin molce % 500 oranında PEGGE çapraz bağlayıcı eklenerek 1000 rpm karışma hızında oda sıcaklığında 2 saat reaksiyona bırakılmıştır. XG nanojel/mikrojellerini içeren emülsiyon ortamın ard arda 3 defa 10 µm gözenek boyutuna sahip krom filtrelerden geçirilerek XG nanojel ve mikrojel biribirinden ayrılmıştır. Ardından yıkama işlemi için, çözeltiler 35544g'de 5 dk santrifüjlenmiş ve süpernatant kısmı dökülmüş ve elde edilen XG nanojelleri ve mikrojellerini yapısındaki yüzey aktif maddeyi ve reaksiyona girmemiş kimyasalları uzaklaştırmak için hacimce 90:10 oranında etanol-su karışımı ile 3 kez yıkanıp 35544g'de 10 dk santrifüj ile çöktürülmüştür. Hazırlanan XG mikrojel

vakum altında liyofilizatörde kurutulularak daha sonraki çalışmalarda kullanılmak üzere kapalı kaplarda saklanmıştır.

3.3.2. Guar Gam (GG) Makrojel, Mikrojel ve Nanojellerinin Sentezi

Guar gam (GG) makrojellerinin sentezi için, 0,25 g lineer GG 20 mL 0,3 M NaOH içerisinde eklenerek yaklaşık 1 saat çözünene kadar karıştırılmıştır. Çözelti içerisinde GG'ın tekrar eden biriminin molce % 25, % 50 ve % 100 oranlarında DVS çapraz bağlayıcı eklenip homojen bir şekilde karıştırılarak 8 mm çapındaki plastik pipet içerisine konmuştur. GG makrojelleri 12 saat sonunda hazırlanarak, yaklaşık 10 mm olacak şekilde kesilip saf suda 5 saat boyunca suyu her yarım saatte bir değiştirilerek yıkanmıştır. Yıkanmış GG makrojelleri vakum altında liyofilizatörde kurutulularak daha sonraki çalışmalarda kullanılmak üzere kapalı kaplarda saklanmıştır.

Guar gam (GG) mikro/naojelleri DVS çapraz bağlayıcısı kullanılarak AOT/izooktan ters misel ortamında mikro emülsiyon yöntemi kullanılarak sentezlenmiştir. Kısaca, 0,25 g lineer GG 20 mL 0,3 M NaOH içerisinde eklenerek yaklaşık 1 saat çözünene kadar karıştırılmıştır. Bu çözeltiden 1 mL alınıp 1000 rpm karışma hızında karışan 30 mL 0,2 M AOT/izooktan mikro emülsiyon ortamına eklenerek süspansiyon olacak şekilde vorteks ile karıştırılmıştır. Ortama hemen GG'ın tekrar eden biriminin molce % 100 oranında DVS çapraz bağlayıcı eklenerek 1000 rpm karışma hızında 1 saat karıştırılmıştır. Sentezlenen GG mikro/naojelleri ortamın 2 katı kadar aseton içerisinde çöktürülerek, karışımın süpernatant kısmı atılarak çöken GG mikro/naojelleri ortamdan alınmıştır. GG mikrojel ve nojellerini birbirinden ayırmak için, su içerisinde şişmiş GG mikrojel ve nanojeller karışımını 10 µm gözenek çapındaki krom filtrelerden 3 kere geçirilmiştir. Elde edilen GG mikrojel ve nojellerinin yapısındaki yüzey aktif maddeyi ve reaksiyona girmemiş kimyasalları uzaklaştırmak için aseton-su karışımı ile 3 kez yıkayıp 35544g'de 20 dk santrifüj ile çöktürülmüştür. Yıkanmış GG mikrojel ve nanojelleri vakum altında liyofilizatörde kurutulularak daha sonraki çalışmalarda kullanılmak üzere kapalı kaplarda saklanmıştır.

3.3.3. Gam Arabik (GA) Mikrojel ve Kriyojellerinin Sentezi

Gam arabik (GA) mikrojelleri DVS çapraz bağlayıcısı kullanılarak AOT/benzin ters misel ortamında mikro emülsiyon yöntemi kullanılarak sentezlenmiştir. Kısaca, 1 g lineer GA 10 mL 0,5 M NaOH içerisinde çözünmüştür. Bu çözeltiden 0,5 mL alınıp, 15 mL 0,2 M AOT/benzin mikro emülsiyon ortamına eklenerek süspansiyon olacak şekilde vorteks ile

karıştırıldıktan sonra, ortama GA'in tekrar eden biriminin molce % 100 oranında DVS çapraz bağlayıcı eklenerek 1000 rpm karışma hızında 10 dk karıştırılmıştır. Sentezlenen GA mikroenjelleri ortamın 2 katı kadar aseton içerisinde çöktürülerek, 35544g'de 10 dk santrifüjlenmiştir. Mikroenjellerden yüzey aktif maddeyi ve reaksiyona girmemiş kimyasalları uzaklaştırmak için aseton-su karışımı ile 3 kez yıkanıp santrifüj ile çöktürülmüştür. Hazırlanan mikroenjeller vakum altında liyofilizatörde kurutularak daha sonraki çalışmalarda kullanmak üzere kapalı kaplarda saklanmıştır.

GA kriyoenjellerinin sentezi için, 0,04 g/mL GA sulu çözeltisi 0,2 M NaOH içerisinde hazırlanmış ve -20 °C'deki derin dondurucuda 2 dk bekletilmiştir. Soğutulan GA çözeltisi içerisinde GA'in tekrar eden biriminin molce % 225 oranında DVS çapraz bağlayıcı eklenmiş ve karışım 8 mm çapındaki plastik pipetlere konulmuştur. Pipetler -20 °C'deki derin dondurucuda 24 saat bekletilmiştir. Reaksiyon sonucunda GA kriyoenjelleri silindir şeklinde kesilmiş ve DI su ile yıkanmıştır. Hazırlanan GA kriyoenjelleri vakum altında liyofilizatörde kurutularak daha sonraki çalışmalarda kullanmak üzere kapalı kaplarda saklanmıştır.

3.3.4. Locust Bean Gam (LBG) Mikroenjellerinin Sentezi

Locust bean gam (LBG) mikroenjelleri DVS çapraz bağlayıcısı kullanılarak yüzey aktif madde içermeyen sikloheksan ortamında ve AOT yüzey aktif maddesi içeren izooktan ters misel ortamında mikro emülsiyon yöntemi kullanılarak sentezlenmiştir. Kısaca, 0,1 g lineer LBG 10 mL 0,5 M NaOH içerisinde 80 °C sıcaklıkta yaklaşık 1 saat 500 rpm karışma hızında karıştırılarak çözdürülmüştür. LBG çözeltisinden 1 mL alınıp 1000 rpm karışma hızında karışan 30 mL sikloheksan ortamına yada 0,2 M AOT/izooktan mikro emülsiyon ortamına eklenerek süspanse olacak şekilde vorteks ile karıştırılmıştır. 10 dk sonra ortama LBG'in tekrar eden biriminin molce % 10-100 oranında DVS çapraz bağlayıcı eklenerek 1000 rpm karışma hızında 1 saat karıştırılmıştır. Sentezlenen LBG mikroenjelleri 35544g'de 2 dk santrifüjlenmiş ve süpernatant kısmı dökülmüştür. LBG mikroenjelleri yüzey aktif maddeyi ve reaksiyona girmemiş kimyasalları uzaklaştırmak için aseton-su karışımı ile 3 kez, aseton ile 2 kez yıkanıp santrifüj ile çöktürülmüştür. Hazırlanan LBG mikroenjelleri vakum altında liyofilizatörde kurutularak daha sonraki çalışmalarda kullanılmak üzere kapalı kaplarda saklanmıştır.

3.4. Gam Esaslı Polimerik Yapıların Modifiye ve İyonik Sıvı (IL) Formlarının Hazırlanması

Farklı şekil ve boyutlardaki gam esaslı çapraz bağlı polimerik yapılar, moleküler yapısında kuaternize amin içeren 3-kloro-2-hidroksipropil trimetil amonyum klorür (CHPACl), lineer amin içeren etilendiamin (EDA), dietilentriamin (DETA) ve trietilentetraamin (TETA) ve dallanmış amin içeren polietilenimin (PEI) gibi modifiye ajanlar ile modifiye edilmiştir.

CHPACl ile modifikasyon için, yaklaşık 0,5 g gam esaslı mikrojel 0,2 M 30 mL NaOH ile 30 dk muamele edilmiştir. Aynı bir kaptaki 1,5 mL CHPACl 0,2 M 30 mL NaOH çözeltisine eklenerek 30 dk karıştırılmıştır. Sonra bu iki çözelti birbirine karıştırılarak 12 saat oda sıcaklığında reaksiyona bırakılmıştır. Modifiye mikrojeller/kriyojeller 35544g'de 5 dk santrifujlenerek reaksiyon ortamından alınmış ve su:etanol karışımında 3 defa yıkanmıştır. En son aseton ile yıkanarak 50 °C sıcaklıktaki etüvde kurutulmuştur.

Etilendiamin (EDA), dietilentriamin (DETA), trietilentetraamin (TETA) ve polietilenimine (PEI) ile modifikasyon için, yaklaşık 0,5 g mikrojel/kriyojel 0,2 M, 30 mL NaOH ile 30 dk muamele edilmiştir ve ardından saf su ile yıkanmıştır. Islak partiküller 90 °C sıcaklıkta 800 rpm'de karışan, 20 mL DMF içerisine eklenmiş ve 2 mL epiklorohidrin (ECH) ortama damla damla eklenmiştir. 1 saat sonra ortama, 1 mL modifiye ajanı eklenerek 1 saat daha reaksiyona bırakılmıştır. Modifiye gam esaslı mikrojeller/kriyojeller 3 kere etanol ile yıkanarak 50 °C sıcaklıktaki etüvde kurutulmuştur.

Gam esaslı iyonik sıvı (IL) polimerik yapıların hazırlanması için, 1 g PEI modifiye gam esaslı mikrojel/kriyojel 1 M 30 mL sulu HCl çözeltisine konularak 2 saat 300 rpm karışma hızında protonlanarak kuaternize edilmiştir. Kuaternize gam esaslı mikrojel/kriyojeller 3 kez saf su ile yıkanarak 50 °C sıcaklıktaki etüvde kurutulmuştur. Yaklaşık 1 g kuaternize gam esaslı mikrojel/kriyojel 0,1 M 30 mL Na[N(CN)₂]⁻ (SDC), NH₄[PF₆]⁻ (AHFP) ve Na[BF₄]⁻ (STFB) sulu çözeltileri içerisine konularak 24 saat oda sıcaklığında 300 rpm'de karıştırılmıştır. Gam esaslı IL mikrojel/kriyojeller saf su ile 3 kere, aseton ile 2 kere yıkanarak 50 °C sıcaklıktaki etüvde kurutulmuştur.

3.5. Gam Esaslı Polimerik Yapıların Hidrolitik Bozunması

Gam esaslı polimerik yapıların hidrolitik bozunması pH 1, pH 7,4 ve pH 9 olan insan vücudunda mide, kan ve bağırsak pH değerlerinde ve vücut sıcaklığı olan 37,5 °C ortam sıcaklığında yapılmıştır. Kısaca, 0,1 g mikrojel 40 mL pH 1 (sitrat tamponu), pH 7,4 (fosfat tamponu) ve pH 9 (fosfat tamponu) tampon çözeltileri içerisine konularak 37,5 °C

sıcaktaki çalkalamalı su banyosunda mikrojuellerin hidrolitik bozunmaları zamana karşı incelenmiştir. 30 gün boyunca her iki günde bir ortamdan 0,5 mL alınarak 1,5 mL tampon çözelti ile seyreltilerek HPLC’de bozunan lineer gam miktarı belirlenmiştir. Farklı pH tamponlarında hazırlanmış gam arabik çözeltileri 7,13 dk’da gelen alıkonma süresinde farklı gam konsantrasyonuna bağılı olarak kalibrasyonu çizdirilmiş ve gam esaslı polimerik yapıların bozunma miktarları (% kütle kaybı) bu kalibrasyonlara bağılı olarak belirlenmiştir.

3.6. Kan Uyumlulukları

Gam esaslı polimerik yapıların kan uyumlulukları hemoliz ve kan pıhtılaşma testlerine göre belirlenmiştir. Testler literatürde var olan prosedürlere uygun olarak yapılmıştır (Arcana ve ark., 2013; Sahiner ve ark., 2016b). Kan uyumluluk çalışmaları Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi İnsan Araştırmaları Etik Komitesi tarafından onaylanan (KAEK-2016-27) nolu etik kurul onayı ile yapılmıştır.

3.6.1. Hemoliz Testi

Beş farklı miktarda yani 1, 2,5, 5, 10 ve 20 mg gam esaslı polimerik yapılar, 10 mL % 0,9 NaCl çözeltisi (serum fizyolojik, SF) içeren tüplerde süspanse edilmiş ve 37,5 °C sıcaklıktaki çalkalamalı su banyosunda yaklaşık 10 dk ısıtılmıştır. Sağlıklı bireylerden alınan taze kan, antikoagülant içeren tüplere konularak yavaşça çalkalanmış. Bu kandan 2 mL alınıp 2,5 mL SF ile seyreltilmiş. Ardından 0,2 mL seyreltilmiş kan, örnekleri içeren 10 mL SF içerisine yavaşça konularak 37,5 °C sıcaklıktaki çalkalamalı su banyosunda 1 saat inkübe edilmiştir. Negatif ve pozitif kontrol için, 0,2 mL seyreltilmiş kan 10 mL SF ve saf su içerisine yavaşça konularak aynı koşullara maruz bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda kan süspansiyonu 100g’de 5 dk santrifüj edilmiş ve süspansiyonun süpernatant kısmının absorbens değeri UV-Vis spektrofotometresinde 542 nm dalga boyunda okunmuştur. Süspansiyonun absorbens değeri eritrosit hücrelerinin hemolizi sonucu serbest kalan hemoglobin miktarını verir ve örneklerin % hemoliz oranı Eşitlik 3.1’e göre hesaplanmıştır.

$$\% \text{ Hemoliz oranı} = (A_{\text{örnek}} - A_{\text{neg}}) / (A_{\text{poz}} - A_{\text{neg}}) \times 100 \quad (3.1)$$

$A_{\text{örnek}}$, örnek içeren kan süspansiyonunun absorbens değeri, A_{neg} ve A_{poz} ise negatif ve pozitif kontrollerin absorbens değeridir. Test 4 tekrarlı olarak yapılmış ve % hemoliz oranı

standart sapmaları hesaplanarak grafiğe geçirilmiştir.

3.6.2. Kan Pıhtılaşma İndeksi

Beş farklı miktarda yani 1, 2,5, 5, 10 ve 20 mg örnek dibi düz santrifüj tüplerine konularak 37,5 °C sıcaklıktaki çalkalamalı su banyosunda yaklaşık 10 dk ısınana kadar bekletilmiştir. Sağlıklı bireylerden alınan taze kan, antikoagülant içeren tüplere konularak yavaşça çalkalanmıştır. Bu kandan 0,81 mL alınıp üzerine 0,064 mL CaCl₂ eklenmiş ve bu karışımdan 0,27 mL alınarak örneklerin üzerine damla damla eklenmiştir. Tüpler 37,5 °C sıcaklıktaki çalkalamalı su banyosunda 10 dk inkübe edildikten sonra, üzerine yavaşça 10 ml 37,5 °C sıcaklıktaki saf su eklenmiş ve 100g'de 30 saniye santrifüjlenmiştir. Tüpteki süpernatant kısım yani pıhtılaşmayan kan alınarak üzerine 40 mL 37,5 °C sıcaklıktaki saf su eklenmiş ve 37,5 °C sıcaklıktaki çalkalamalı su banyosunda 1 saat inkübe edilmiştir. Negatif kontrol olarak 0,25 mL kan 50 mL 37,5 °C sıcaklıktaki saf suya konularak aynı koşullarda 1 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda, süspansiyonun absorbans değeri UV-Vis spektrofotometresinde 542 nm dalga boyunda belirlenmiştir. Kan pıhtılaşma indeksi Eşitlik 3.2'deki formül ile hesaplanmıştır.

$$\text{Kan pıhtılaşma indeksi} = (A_{\text{örnek+kan}} / A_{\text{kan}}) \times 100 \quad (3.2)$$

$A_{\text{örnek+kan}}$, örnek ile temas eden kan süspansiyonunun absorbans değeri, A_{kan} ise negatif kontrolün absorbans değeridir. Test 4 tekrarlı olarak yapılmış ve kan pıhtılaşma indeksi standart sapmaları hesaplanarak grafiğe geçirilmiştir.

3.7. Sitotoksiteleri

Sitotoksite testleri literatürde var olan bir yöntem olarak yapılmıştır (Ponnusamy ve ark., 2014). Sıvı azot içerisindeki donmuş hücrelerden bir parça alınarak ($\sim 10^6$ hücre/mL) 25 °C sıcaklıkta birkaç dakika buzların erimesi için bekletilmiştir. Tüp içerisinde küçük bir parça buz kaldığında üzerine 2 mL kültür ortamı (DMEM) damla damla eklenmiş ve buz erimiş hücreler 15 mL hacmindeki steril santrifüj tüplerine aktarılmıştır. Hücrelerin üzerine 10 mL DMEM eklenerek 5 dk ~ 1500 rpm (180g)'de santrifüjlenerek süpernatant kısmı dökülmüştür. Ardından hücreler üzerine tekrar 10 mL DMEM eklenerek hücreler süspansiyon edilmiş ve 75 cm²'lik kaplar içerisine konmuştur. Hücreler 37 °C sıcaklıkta % 5'lik CO₂ % 95 hava içeren ortamda inkübe edilmiş ve her 2-3 günde bir kültür ortamı değiştirilmiştir. Lineer gam yada çapraz bağlı gam mikrojeli, FBS

ve antibiyotik içermeyen DMEM ortamında, 1500 µg/mL konsantrasyonda olacak şekilde çözülmüş veya süspanse edilmiştir. Bu karışım % 5'lik CO₂ % 95 hava içeren ortamda 37 °C sıcaklıkta 12-24 saat inkübe edilmiştir. Örnekler 1000, 500, 250, 125 ve 62,5 µg/mL konsantrasyon değerlerine DMEM ile seyreltilmiştir.

Stok COS-1 fibroblast hücre kültürleri 24'lük kuyucuklu plakalara bir kuyucukta yaklaşık 1×10^4 hücre olacak şekilde 0,5 mL kültür ortamı ile birlikte ekilmiştir. Hücreler 37 °C sıcaklıkta 1 saat inkübe edilmiştir. Lineer gam yada çapraz bağlı gam mikrojel içeren 1 mL DMEM çözeltisi kuyucuklara eklenmiş ve üzerine 0,25 mL FBS ve antiyotik/antimikotin çözeltisi konmuştur. Sonuçta kuyucuklar içerisinde lineer gam yada çapraz bağlı gam mikrojel konsantrasyonları 1500-62,5 µg/mL aralığında olacak şekilde hazırlanmıştır. Hücreler % 5'lik CO₂ % 95 hava içeren ortamda 37 °C sıcaklıkta 5 gün inkübe edilmiştir. Bu süre sonunda hücreler PBS ile üç kere yavaşça yıkanmıştır. Ardından, 0,5 mL nötürlenmiş formalin her bir kuyucuğa eklenerek, 30 dk'da hücreler fikse edilmiştir. Formalin kuyucuklardan temizlenerek, 0,5 mL toluidin mavisi boyası içeren nötürlenmiş formalin (kütlece % 2,5 toluidin mavisi) çözeltisi eklenmiştir. Bir saat inkübasyondan sonra, her bir kuyucuk saf su ile 4 kez yıkanmış ve 24 saat oda sıcaklığında kurumaya bırakılmıştır. Ardından her bir kuyucuğa 0,5 mL suda çözülmüş % 2 sodyum dodesil sülfat (SDS) çözeltisinden eklenerek, 15 dakika boyanın çözünmesi sağlanmıştır. Süre sonunda 200 µL çözülmüş boya 24'lük kuyucuklu plakalardan alınarak, 96'lık kuyucuklu plakalara konmuştur. Kuyucuklardaki ortam 650 nm dalga boyunda (VersaMax marka) mikropate okuyucuda ölçülmüştür. Analizler 10 tekrarlı olarak yapılarak sonuçlar standart sapmaları hesaplanarak grafiğe geçirilmiştir. İstatistiksel analizler student T testine ile kontrol grubu ile kıyaslanarak hesaplanmış ve sonuçlar *p<0,05 ve **p<0,0001 olarak verilmiştir.

3.8. Antimikrobiyel Etki Belirlenmesi

Sentezlenen gam esaslı polimerik yapıların antimikrobiyal etkileri, gram negatif *Escherichia coli* (ATCC 8739) ve gram pozitif *Staphylococcus aureus* (ATCC 6538) mikroorganizmalarına karşı makro dilüsyon ve difüzyon yöntemleri ile belirlenmiştir. Kısaca, -22 °C'de saklanan mikroorganizma kültürleri NB sıvı besiyerinde 35 °C'de 18-24 saat inkübasyon ile canlandırarak, NA katı besiyerine ekilerek tekrar 35 °C'de 18-24 saat inkübe edilmiştir. Canlandırılan bakteri kolonileri, yaklaşık 1×10^8 CFU/mL (koloni oluşturma ünitesi) olacak şekilde NB içerisinde süspanse edilerek McFarland 0,5

standartına göre ayarlanmıştır. Antimikrobiyal etkileri incelenecek olan gam esaslı polimerik yapıların sterilizasyonu 420 nm UV ışığı altında 5 dakika tutularak yapılmıştır.

3.8.1. Makro Dilüsyon Metodu

Steril edilmiş 10, 25, 50, 100 ve 200 mg gibi 5 farklı miktardaki gam esaslı mikrojel 10 mL NB sıvı besiyeri içerisine eklenmiştir. Ardından ortama 0,1 mL McFarland 0,5 standartına göre ayarlanmış mikroorganizma süspansiyonundan ekilmiş ve 35 °C'deki çalkalamalı su banyosu içerisinde, 18-24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonucunda tüplerde görsel üremenin olmadığı en düşük konsantrasyonu minimum inhibisyon konsantrasyon (MİK) değeri olarak belirlenmiştir. MİK değeri ve üzeri konsantrasyonlardaki tüpler vorteksenerek ortamdan 0,1 mL alınıp, NA katı besiyeri ortamına ekilmiş ve 35 °C'de 18-24 saat inkübe edilmiştir. Hiçbir üremenin olmadığı (organizma sayısının >%99,99 azaldığı) en düşük konsantrasyon değeri minimum bakterisidal konsantrasyon (MBK) olarak kabul edilmiştir. Bütün deneyler iki tekrarlı olarak yapılmıştır. Negatif kontrol olarak McFarland 0,5 standardına göre ayarlanmış stok mikroorganizmadan 0,1 mL alınarak 10 mL NB ortamına ekilerek aynı koşullar altında inkübe edilmiş ve inkübasyon sonundaki mikroorganizma konsantrasyonu CFU/mL olarak belirlenmiştir.

3.8.2. Difüzyon Metodu

Difüzyon metodunda göre, 0,1 mL yaklaşık 1×10^8 CFU/mL bakteri süspansiyonu NA katı besiyerine ekilmiştir. Ardından 9 mm çapındaki steril kağıt diskler, katı besiyeri üzerine aralarında boşluk olacak şekilde yerleştirilmiştir. SF içerisinde süspanse edilmiş 100 mg/mL konsantrasyondaki 50 µL mikrojel süspansiyonu (5 mg mikrojel), besiyeri üzerindeki disklere emdirilmiştir. Ortam 35 °C'de, 18-24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonucun oluşan disk etrafındaki şeffaf bölge (zone çapı) ölçülmüş ve sonuçlar "mm" olarak verilmiştir. Gentamisin antibiyotiği pozitif kontrol olarak kullanılmıştır. Bütün deneyler üç tekrarlı olarak yapılmış ve sonuçlar standart sapmaları hesaplanarak verilmiştir.

3.9. İlaç Yükleme ve *In Vitro* Salım Çalışmaları

Gam esaslı polimerik yapılara ilaç yüklenmesi ve ilacın kontrollü salımı çalışmalarında sodyum diklofenak (SDC) model ilaç olarak kullanılmıştır. İlaç yüklenmesi doğrudan ilacın mikrojel tarafından absorbe edilmesi ile veya ilacın mikrojele

konjugasyonu teknikleri ile iki farklı şekilde yapılmıştır. İlaç absorpsiyonu için, 0,15 g gam esaslı mikrojeller, DMSO içerisinde çözünmüş 250 mg/L, 40 mL SDC çözeltisine konularak 300 rpm karıştırma hızında 12 saat oda sıcaklığında karıştırılmıştır. İlaç yüklü mikrojeller santrifüj yapılarak ortandan alınmış ve DMSO ile yıkanarak dondurarak kurutma tekniği ile kurutulmuştur. İlaç konjugasyonu için, 0,059 g (0,2 mmol) SDC, 20 mL DMSO içerisinde çözünmüş ve 0,032 g (0,2 mmol) 1,1'-karbonildiimidazol ilaç çözeltisi içerisinde konularak 1 saat reaksiyona sokulmuştur. Ardından 0,23 g gam esaslı mikrojel bu ortama konularak 80 °C sıcaklıkta 500 rpm karıştırma hızında 24 saat reaksiyona sokulmuştur. İlaç yüklü mikrojeller santrifüj yapılarak ortandan alınmış ve DMSO ile yıkanarak dondurarak kurutma tekniği ile kurutulmuştur.

Kurutulmuş ilaç yüklü mikrojeller yaklaşık 0,05 g tartılarak diyaliz membran içerisine konup üzerine 1 mL PBS eklenerek membran iki uçundan kapatılmıştır. Ardından ilaç yüklü mikrojel içeren membran 25 mL PBS (pH 7,4) içerisine konularak 37,5 °C sıcaklıktaki çalkalamalı su banyosu içerisine konulmuştur. Belirli zaman aralıklarında salınan ilacının miktarı UV-Vis spektroskopisinde 276 nm dalga boyundaki SDC ilacını kalibrasyonuna karşı okunmuştur. Deney üç tekrarlı olarak yapılarak ortalama salım miktarı standart sapmaları ile birlikte hesaplanmıştır.

3.10. Ayırma ve Saflaştırma

Askorbik asit (AA) vitamini, sodyum diklofenak (SDC) ilacı ve parakuat (PK) pestisiti gibi çeşitli biyoaktif moleküllerin ve whey protein, hemoglobin, soy protein, bovin serum albumin (BSA) ve lizozim gibi biyomakromoleküler yapıdaki proteinlerin ayrılması ve saflaştırılmasında gam esaslı kriyojeller kullanılmıştır. Kısaca, 0,03 g kriyojel 30 mL 300 mg/L PBS içerisinde çözünmüş AA, SDC ve PK çözeltileri içerisine ve 30 mL 1000 mg/mL PBS içerisinde çözünmüş whey protein, hemoglobin, soy protein, bovin serum albumin (BSA) ve lizozim çözeltileri içerisine konularak, 2 saat 37,5 °C sıcaklıktaki çalkalamalı su banyosu içerisine karıştırılmıştır. Gam esaslı kriyojellerin AA, SDC, PK, whey protein, hemoglobin, soy protein, bovin serum albumin (BSA) ve lizozim absorpsiyon miktarları UV-Vis spektroskopisinde sırasıyla 262, 276, 257, 275, 276, 268, 278 ve 281 nm dalga boylarında, mazlemelerin önceden hazırlanan kalibrasyonlarına karşı okunarak belirlenmiştir. Deney üç tekrarlı olarak yapılarak ortalama absorpsiyon miktarları standart sapmaları ile birlikte hesaplanmıştır.

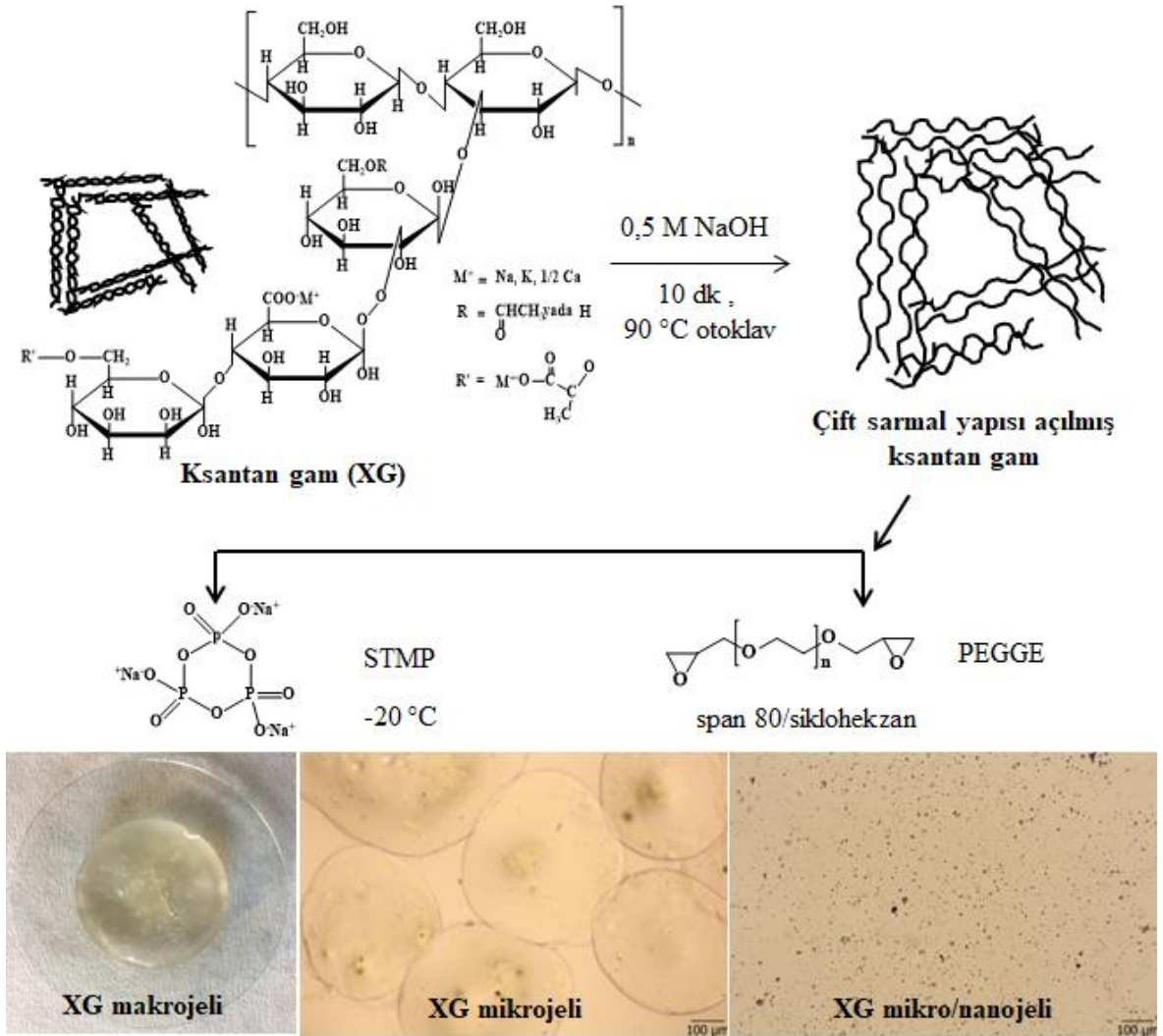
BÖLÜM 4

ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1. Gam Esaslı Makro, Mikro ve Nano Yapıların Sentezi, Modifikasyonu ve Karakterizasyonu

4.1.1. Ksantan Gam Makrojel, Mikrojel ve Nanojelleri

Ksantan gam (XG), 1→4-β-glukopiranoz ana zinciri ve D-mannozil, D-glukozil ve D-glukuronik asit yan zincirlerinden oluşan dallanmış yapıda bir polisakkarittir (García-Ochoa ve ark., 2000). Şekil 4.1.'de çapraz bağlı XG makrojel, mikrojel ve nanojel sentezinin şematik gösterimi verilmiştir.

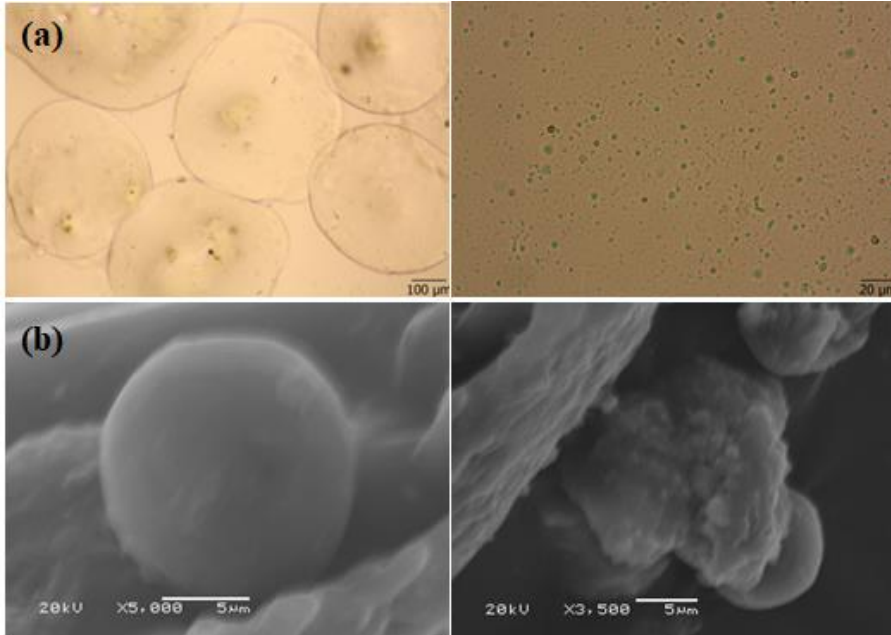


Şekil 4.1. Çapraz bağlı XG makro, mikro ve nanojel sentezinin şematik gösterimi

Şekil incelendiğinde, oda sıcaklığı ve geniş bir pH aralığında heliks yapısındaki XG çözeltisi, 0,5 M NaOH çözeltisi içerisinde çözünerek 90 °C sıcaklıktaki bir ortama

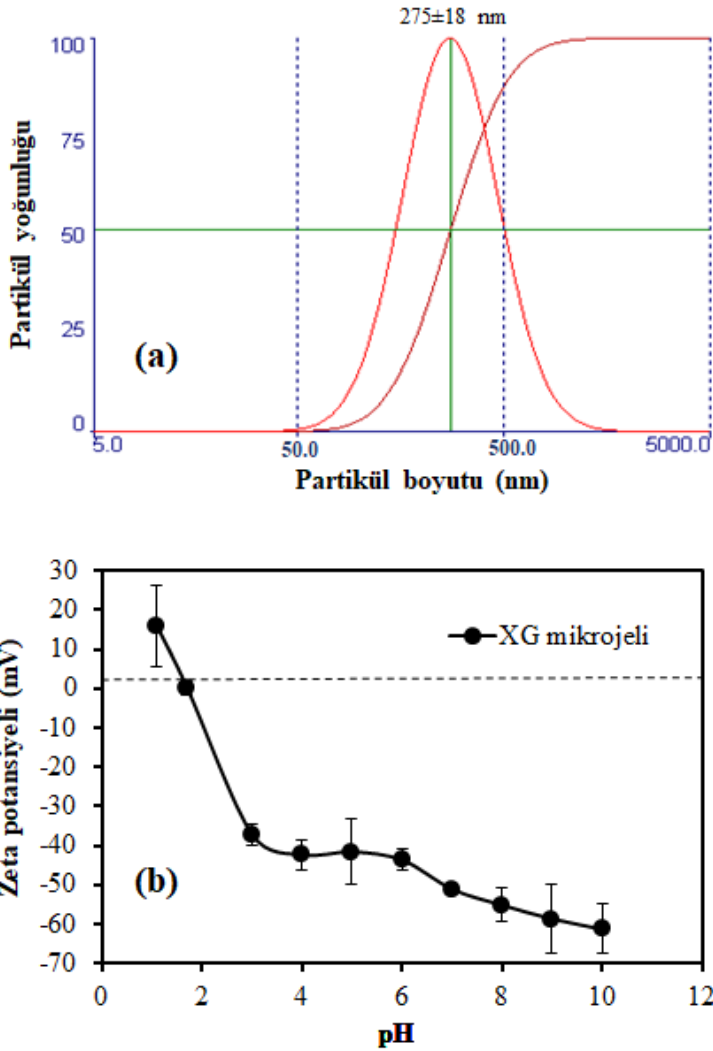
konduğunda 10 dk içerisinde çift sarmal yapısı açılması sağlanmıştır (Xu ve ark., 2013). XG makrojeli sentezlemek için kütlece % 1,6 oranında ve üzerinde XG çözeltisi hazırlanırken, XG mikro ve nanojellerini sentezlemek için % 1 oranlarında hazırlanmıştır.

Hidrojeller reaksiyon koşulları değiştirilerek farklı morfolojilerde ve boyutlarda hazırlanabilmektedir. Şekil 4.1.'de de görüldüğü gibi, XG makrojellerini hazırlamak için yığın polimerizasyonu tekniği kullanılarak bazik ortamda hazırlanmış %1,6'lık XG çözeltileri içerisinde, XG'nin tekrar eden biriminin molce 2 ile 5 katı arasındaki oranlarda STMP çapraz bağlayıcısı kullanılmıştır. Hazırlanan XG makrojelleri arasında mekanik dayanımı en iyi molce 3,66 katı oranındaki STMP çapraz bağlayıcısı içeren XG makrojelinin olduğu bulunmuştur (Tao ve ark., 2016). Reaksiyon incelendiğinde, alkali koşullarda STMP çapraz bağlayıcısının trifosfat halkası açılarak lineer yapıdaki XG molekülünün -OH gruplarına bağlanmaktadır (Bejenariu ve ark., 2009). XG mikro ve nanojellerin sentezinde ise, 90 °C sıcaklıkta çift sarmal yapısı açılmış bazik ortamdaki % 1'lik XG çözeltisi, span 80 yüzey aktif maddesini içeren sikloheksan ters misel ortamında süspanse edilerek mikro emülsiyon tekniği ile sentezlenmiştir. Lineer yapıdaki XG molekülünün -OH grubu molce PEGGE çapraz bağlayıcısının bazik ortamda açılmış epoksi grubuna bağlanarak % 81±5 gibi yüksek bir verim ile sentezlenmiştir. XG mikro/nanojelleri sentezlenirken XG'nin tekrar eden biriminin molce minimum % 500 oranındaki PEGGE çapraz bağlayıcısı ile üç boyutlu ağ yapısındaki XG mikro/nanojelleri hazırlanabilmektedir.



Şekil 4.2. XG mikro ve nanojellerinin (a) optik mikroskop ve (b) SEM görüntüleri

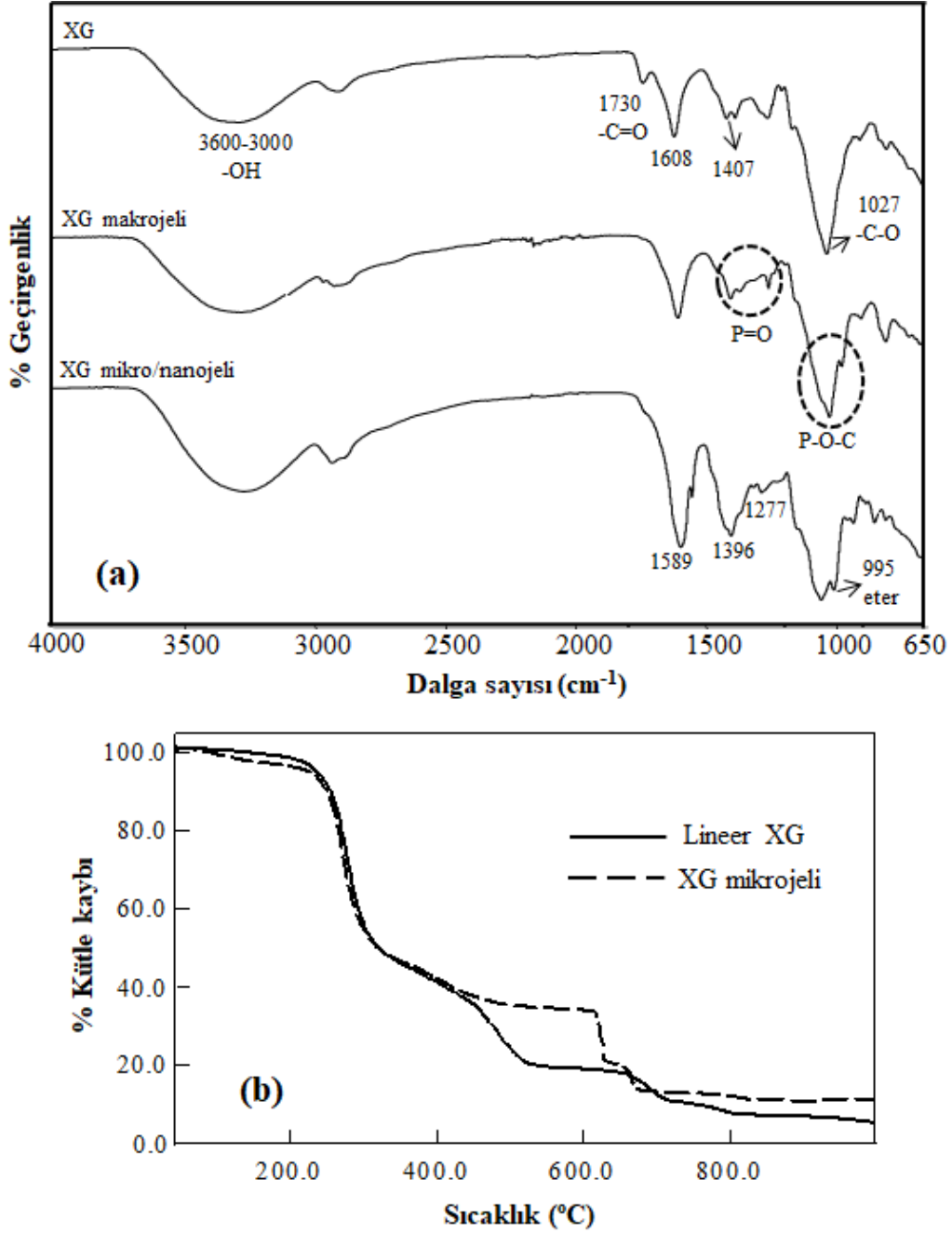
Çapraz bağlı XG mikro/nanojel karışımı santrifüj tekniği ile veya farklı gözenek boyutuna sahip filtrelerden geçirilerek XG mikro ve XG nanojelleri birbirinden ayrılmıştır. Çapraz bağlı XG hidrojenleri farklı polimerizasyon yöntemleri ile makrojel, mikrojel ve nanojel formunda hazırlanmıştır. Sentezlenen XG mikro ve nanojellerinin optik mikroskop ve SEM görüntüleri Şekil 4.2.'de verilmiştir. Görüntüler incelendiğinde, şişmiş XG mikrojenlerinin küresel yapıda ve yaklaşık 300 ile 700 µm boyut aralığında olduğu, XG nanojenlerinin ise 1000 nm ile 50 nm boyutları arasında küresel yapılar olduğu görülmektedir.



Şekil 4.3. XG mikro/nanojellerinin (a) DLS ölçümleri ile partikül boyutları ve (b) farklı pH değerlerindeki zeta potansiyel ölçümleri

XG nanojenlerinin boyut dağılım grafiği (a) ve XG mikro/nanojenlerinin pH 2 ile 10 arasındaki zeta potansiyel değerleri (b) Şekil 4.3.'te verilmiştir. XG nanojenlerinin DLS

ölçümü sonuçlarına göre, partikül boyutunun 50 nm'den 1000 nm arasında değişen nanojellerin ortalama boyutları 275 ± 18 nm olarak ölçülmüştür. Zeta potansiyel sonuçlarına göre, XG mikro/nanojellerinin pH 2 ile pH 10 arasında negatif zeta potansiyel değerine sahipken, pH 1 koşullarında +15,9 mV zeta potansiyel değeri ile pozitif karakterde olduğu bulunmuştur. Ayrıca XG mikro/nanojellerinin izoelektronik değerinin pH 1,5 olarak hesaplanmıştır.



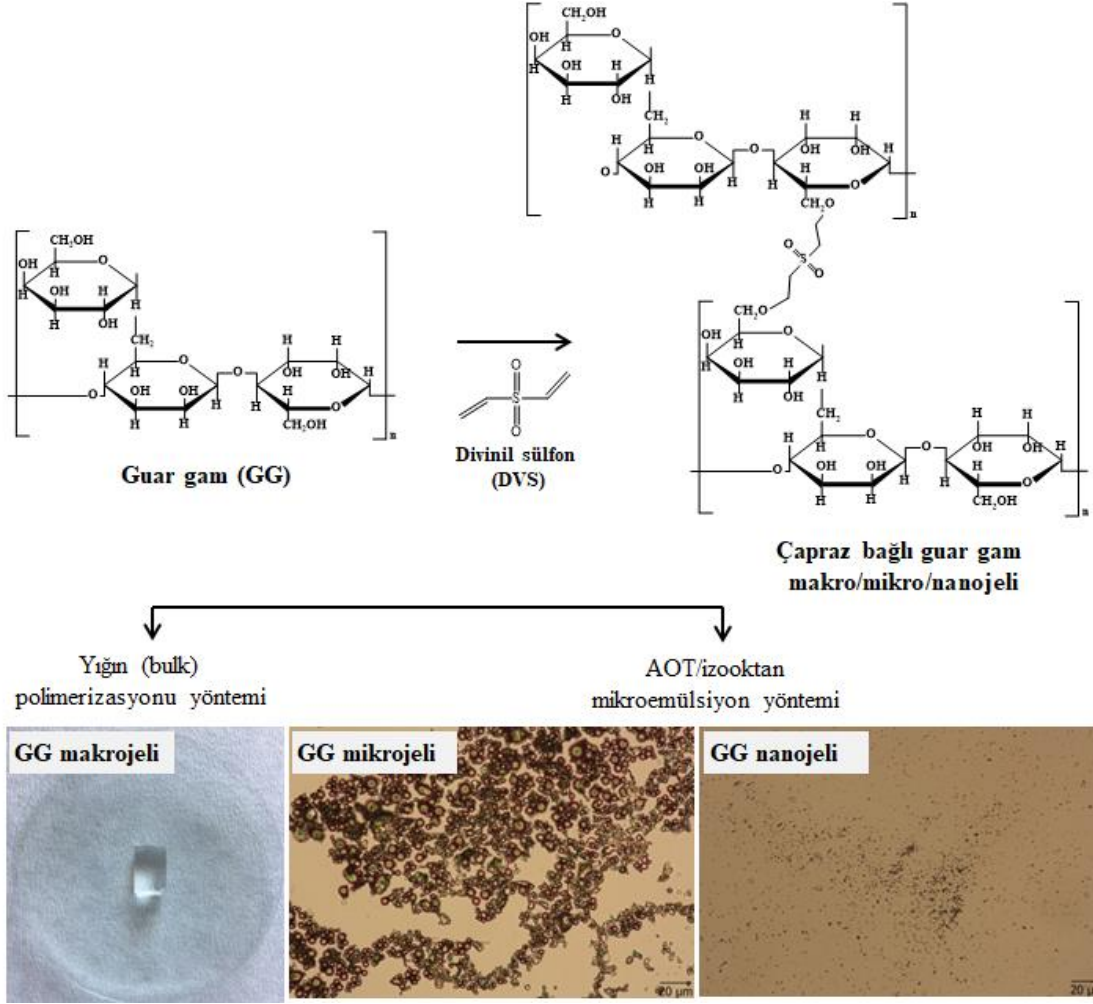
Şekil 4.4. Lineer XG, XG makrojeli ve mikro/nanojellerinin (a) FT-IR spektrumları ve (b) termogramları

Lineer XG, çapraz bağlı XG makrojeli ve mikro/nanojellerinin fonksiyonel gruplarını belirlemek amacı ile FT-IR spektrumları Şekil 4.4. (a)'da verilmiştir. Lineer XG'in spesifik pikleri olan 3600-3000 cm^{-1} arasında görülen geniş gerilme bandı -OH grubundan, 1608, 1407 ve 1027 cm^{-1} 'deki piklerinin sırasıyla XG'in yapısındaki -COO⁻ gruplarından gelen simetrik ve asimetrik C=O titreşim piklerinden ve birincil alkol gruplarının C-O gerilmesinden gelmektedir. Ayrıca, 1732 cm^{-1} 'de görülen titreşim piki XG zincirindeki karbonil gruplarından kaynaklanmaktadır. STMP ile çapraz bağlı XG makrojellerinin FT-IR spektrumu incelendiğinde, 1443, 1233 ve 1140 cm^{-1} 'de görülen piklerin çapraz bağlayıcının P=O titreşiminden gelmektedir. Ayrıca, 1024 ve 976 cm^{-1} 'deki piklerin yine çapraz bağlayıcı yapısındaki P-O-C gruplarının titreşimlerinden kaynaklanmaktadır (Tao ve ark., 2016). PEGGE ile çapraz bağlı XG mikro/nanojellerinin FT-IR spektrumu incelendiğinde, 1589, 1396 ve 1277 cm^{-1} 'deki piklerinin PEGGE çapraz bağlayıcısının yapısındaki -C-O gerilmesinden gelmektedir. Ayrıca, 995 cm^{-1} 'deki gerilme pikinin eter (-C-O-C) gruplarından kaynaklanmaktadır. Böylece PEGGE çapraz bağlayıcısının epoksi gruplarının açılarak XG'in serbest -OH gruplarına bağlanarak yapıda eter (-C-O-C) grupları oluşturduğu sonucuna varılmıştır. FT-IR sonuçlarına göre XG makrojeli ve mikro/nanojeli başarılı bir şekilde STMP ve PEGGE çapraz bağlayıcıları ile bağlandıkları gösterilmiştir.

Lineer XG ve XG mikrojellerinin termal bozunma özellikleri araştırılmış ve sonuçlar Şekil 4.4'te verilmiştir. Lineer XG'in bozunması incelendiğinde, 245-350 °C sıcaklık aralığında yaklaşık % 53 kütle kaybı, 400-540 °C sıcaklık aralığında yaklaşık % 80 kütle kaybı ve 654-800 °C sıcaklık aralığında ise yaklaşık % 92 ile üç basamakta bozunmuştur. XG mikrojellerinin termal bozunma grafiği incelendiğinde, 90-245 °C sıcaklık aralığında görülen % 8,35'lik kütle kaybının yapıdaki bağlı sudan gelmektedir. Bozunma devam ettiğinde 245-600 °C sıcaklık aralığında yaklaşık % 66 kütle kaybı ve 618-630 °C sıcaklık aralığında yaklaşık % 79 kütle kaybı ile XG mikrojelleri iki basamakta bozunmuştur. Lineer XG ve çapraz bağlı XG mikrojelleri 998 °C sıcaklık değerinde lineer XG'in % 3,46 oranında kütlesi bozunmadan kalırken, XG mikrojellerinin % 11,24 oranında kütlesi bozunmadan kalmıştır.

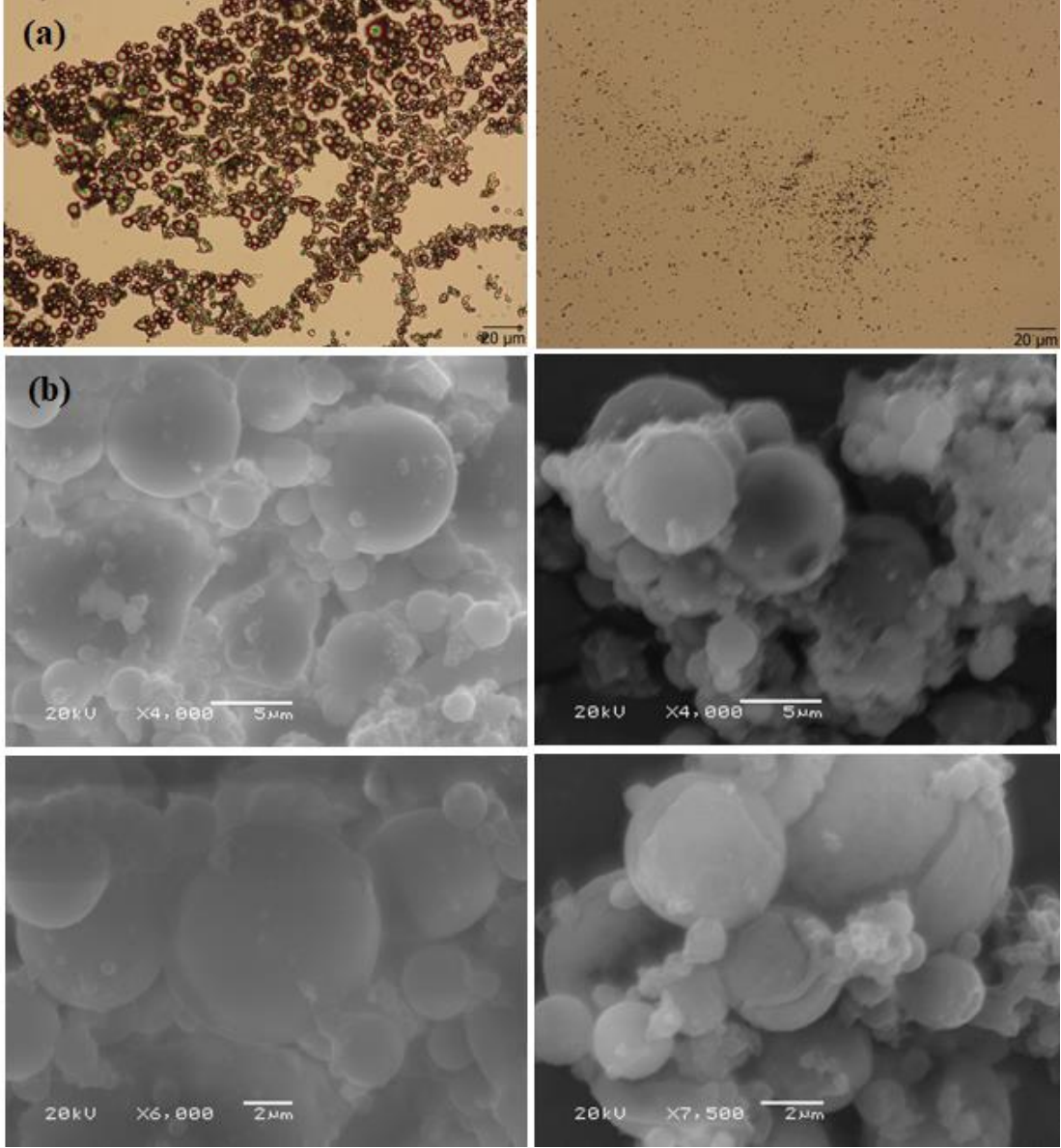
4.1.2. Guar Gam Makrojel, Mikrojel ve Nanojelleri

Guar gam (GG) 1→4-β-D-mannopiranoz ana zincirine 1→6-β-D-galaktopiranoz gruplarının bağlanmasından oluşan hidrofilik yapıda doğal bir polisakkarittir. Şekil 4.5.'te GG makrojel, mikrojel ve nanojel sentezinin şematik gösterimi verilmiştir.



Şekil 4.5. Çapraz bağı GG makro, mikro ve nanojel sentezinin şematik gösterimi ve optic mikroskop görüntüleri

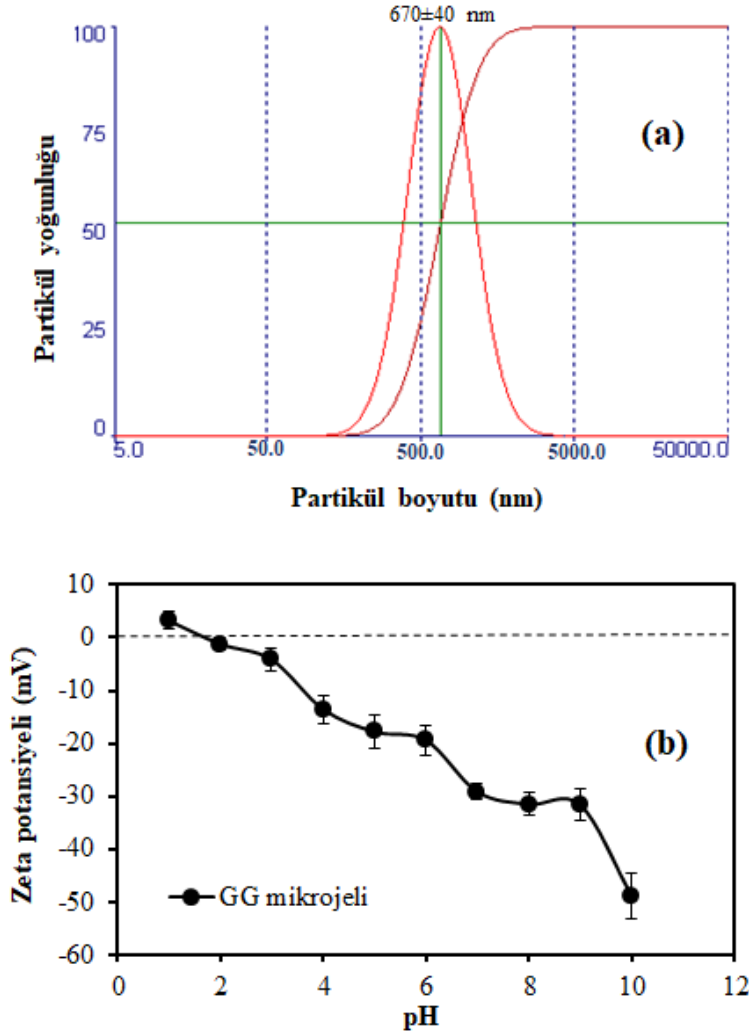
GG yapısındaki serbest $-OH$ grupları bazik koşullar altında DVS çapraz bağlayıcısının vinil grubuna bağlanarak GG makrojelleri % 94 ± 4 verimle ve GG mikro/nanojelleri % 91 ± 6 verim ile hazırlanmıştır. GG makrojellerinin hazırlanmasında yığın polimerizasyonu tekniği ile lineer GG ve DVS çapraz bağlayıcısı karışımı 12 saat reaksiyona sokularak GG makrojelleri hazırlanırken, AOT yüzey aktif maddesini içeren izooktan ters misel ortamında mikro emülsiyon yöntemi ile mikrojel ve nanojel formunda hazırlanmıştır. GG makrojelleri, GG'ın tekrar eden biriminin molce minimum % 10 DVS kullanılarak çapraz bağlanırken, çapraz bağlayıcı oranı % 25-100 oranlarına arttırıldığında mekanik dayanımı kuvvetli ve yumuşak yapıda oldukları gözlemlenmiştir.



Şekil 4.6. GG mikro ve nanojellerinin (a) optik mikroskop ve (b) SEM görüntüleri

GG mikro ve nanojelleri ise % 100 DVS çapraz bağlayıcısı oranında aynı reaksiyon ortamı içerisinde hazırlanırken, filtrasyon tekniği ile mikro ve nano boyutlardaki GG partikülleri birbirinden ayrılmıştır. Böylece, GG hidrojellerinin kullanım amacına bağlı olarak istenilen şekil ve boyutlarda hazırlanabildiği gösterilmiştir. GG mikro ve nanojellerinin optik mikroskop ve SEM görüntüleri Şekil 4.6.'da verilmiştir. Görüntüler incelendiğinde, GG mikrojellerinin boyutlarının 1 ile 10 μm arasında değiştiği ve küresel yapıda olduğu, GG nanojellerinin ise 300 ile 900 nm arasında olduğu görülmektedir.

GG nanojellerinin (a) boyut dağılım grafiği ve (b) farklı pH koşullarındaki zeta potansiyel değerleri Şekil 4.7.'de verilmiştir. Sonuçlara göre, GG nanojelleri ortalama 670 ± 40 nm boyut aralığında ölçülmüştür.

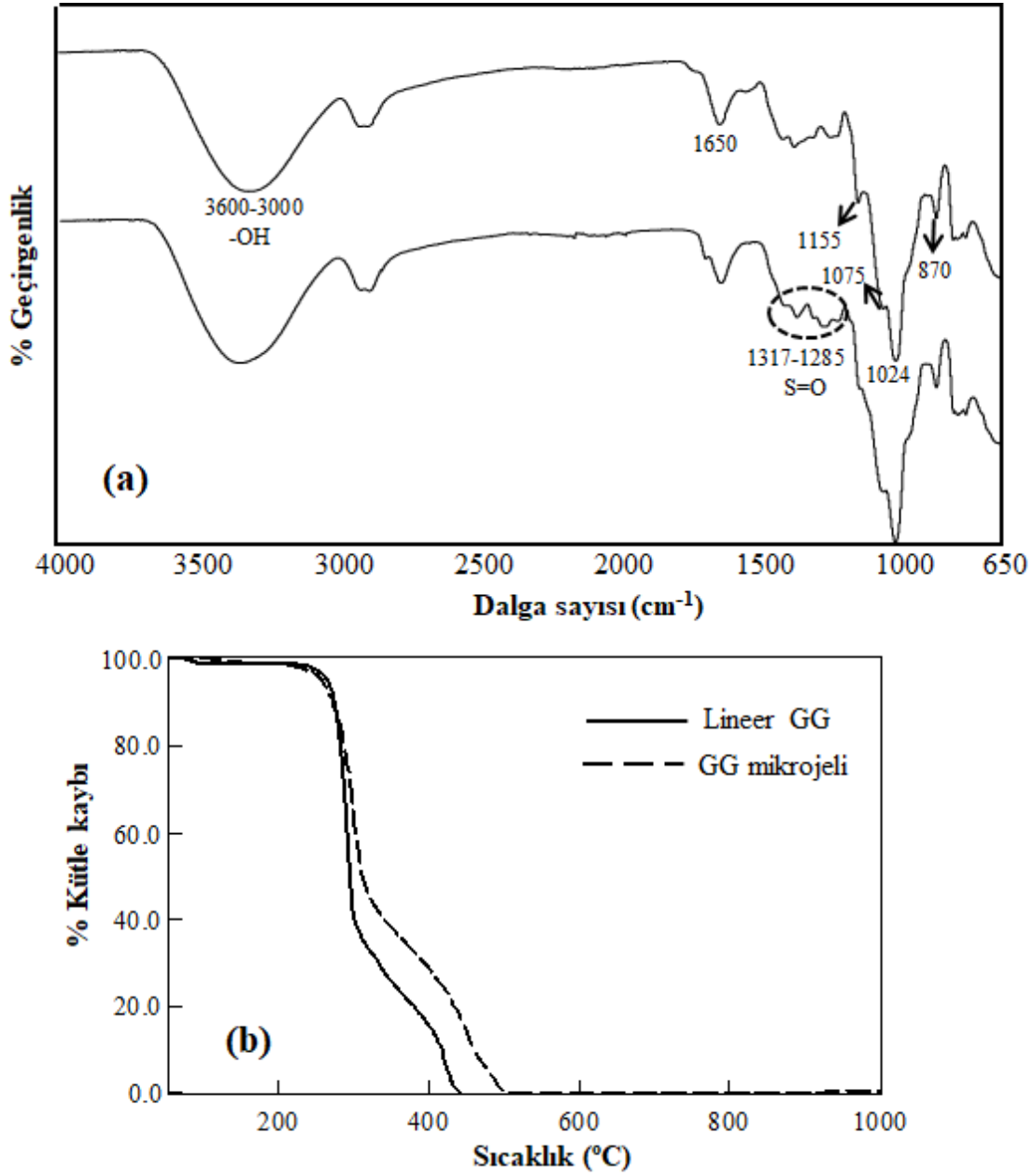


Şekil 4.7. GG mikro/nanojellerinin (a) DLS ölçümleri ile partikül boyutları ve (b) farklı pH değerlerindeki zeta potansiyel ölçümleri

GG nanojellerinin zeta potansiyel değerlerinde ise, malzemenin pH 2 ile 10 arasında negatif yüzey yüküne sahip olduğu fakat pH 1 gibi oldukça asidik koşullarda $+3,26 \pm 1,6$ mV gibi pozitif yüzey yüküne sahip olduğu bulunmuştur. Ayrıca, GG nanojelleri pH 1,81 değerinde yüzeyindeki pozitif ve negatif gruplar eşitlenerek zeta potansiyel değeri 0 olarak ölçülmüş ve izoelektronik değeri olarak belirlenmiştir.

Lineer GG ve çapraz bağlı GG mikrojellerinin FT-IR spektumları Şekil 4.8. (a)'da incelenmiştir. GG'nin spesifik pikleri $3600-3000 \text{ cm}^{-1}$ arasında görülen geniş gerilme bandı $-\text{OH}$ grubundan, 1650 cm^{-1} titreşim piki halkasal yapıdan, 1155 ve 1075 cm^{-1} 'de görülen titreşim piklerinin $\text{C}-\text{OH}$ ve birincil alkol yapıda CH_2OH gruplarından, 1024 cm^{-1} 'deki pikin $-\text{CH}_2$ bükülme titreşiminden ve 870 cm^{-1} 'deki titreşim pikinin GG yapısındaki galaktoz ve mannoz gruplarından kaynaklanmaktadır (Mudgil ve ark., 2012). Lineer GG

molekölü DVS çapraz bağlayıcısı ile bağlandıktan sonra yapıdaki S=O gruplarından dolayı 1317-1285 cm^{-1} aralığında titreşim pikleri görülmüştür.



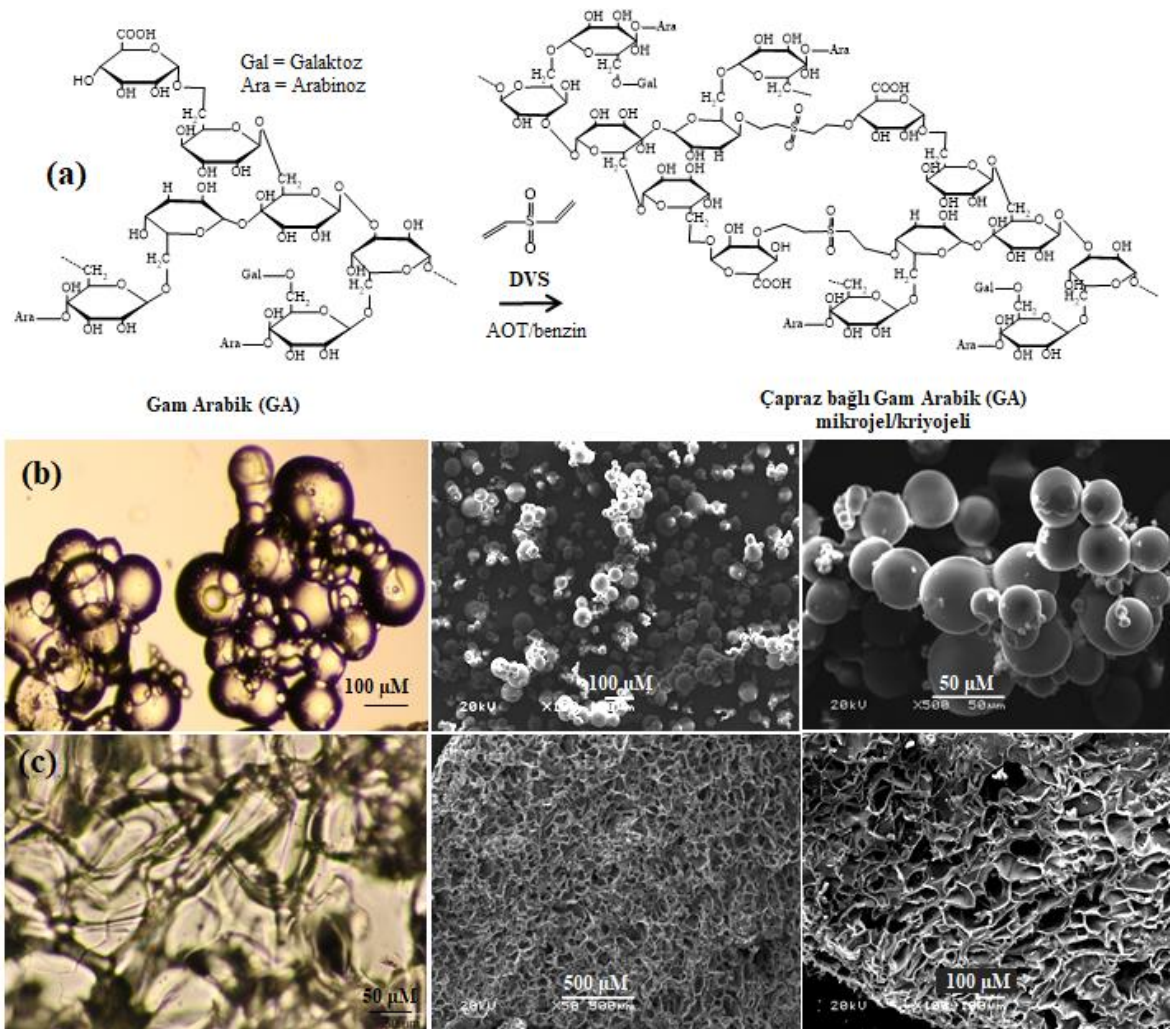
Şekil 4.8. Lineer GG ve GG mikrojellerinin (a) FT-IR spektrumları ve (b) termogramları

Lineer GG ve çapraz bağlı GG mikrojellerinin termal bozunma grafiği Şekil 4.8. (b)'de verilmiştir. TGA sonuçlarına göre, lineer GG ve GG mikrojelleri 245 $^{\circ}\text{C}$ sıcaklıkta bozunmaya başlayarak 340 $^{\circ}\text{C}$ 'ye kadar yaklaşık % 71,8 ve % 59,6 kütle kaybı görülmüştür. Malzemeler ısıtılmaya devam ettiğinde lineer GG 440 $^{\circ}\text{C}$ 'de tamamen bozunurken GG mikrojellerinin 490 $^{\circ}\text{C}$ 'de tamamen bozunduğu belirlenmiştir. Sonuçlara

göre malzemelerin hemen hemen aynı bozunma özelliklerine sahip iken, mikrojel formunun termal olarak daha dayanıklı olduğu görülmektedir.

4.1.3. Gam Arabik Makrojelleri, Mikrojelleri ve Kriyojellerinin

Galaktoz ve arabinoz moleküllerinin birleşmesinden oluşan gam arabik (GA), hidrofilik yapıda doğal bir polisakkarittir. Şekil 4.9. (a)'da gösterildiği gibi GA molekülündeki -OH ve -COOH grupları DVS çapraz bağlayıcısının vinil gruplarına bağlanarak 3 boyutlu ağ yapısına sahip farklı boyut ve şekillerde GA hidrojel ve kriyojelleri sentezlenmiştir (Farooq ve ark., 2017; Sahiner ve Sagbas, 2018b; Suner ve Sahiner, 2018).



Şekil 4.9. (a) DVS ile çapraz bağlı GA mikrojel/kriyojellerinin kimyasal yapısı, GA (b) mikrojellerinin ve (c) kriyojellerinin optik mikroskop ve SEM görüntüleri

Sentez metoduna bağlı olarak hidrojel ve kriyojel farklı büyüklük ve şekillerde hazırlanabilmektedir (Sahiner ve ark., 2016b). GA makrojelleri yığın polimerizasyonu

tekniki kullanılarak DVS çapraz bağlayıcısı ile % 100±0 gibi yüksek bir verim ile hazırlanırken, GA mikroenjelleri 0,1 M AOT yüzey aktif maddesini içeren benzin ters misel ortamında mikro emülsiyon tekniği kullanılarak DVS çapraz bağlayıcısı ile % 78,5±5 gibi yüksek bir verim ile sentezlenmiştir. Şekil 4.9. (b)'deki GA mikroenjellerinin optik mikroskop ve SEM görüntüleri incelendiğinde, GA mikroenjellerinin 2 ile 100 µm arasında değişen mikron boyutlarda, küresel yapıda olduğu ve mikrojel yüzeyinin gözeneksiz yapıda olduğu görülmektedir. Kriyoenjeller makro gözenekli yapıda sünger benzeri hidroenjellerdir. Süper gözenekli yapıları sayesinde uygun bir çözücü ortamına konduklarında çözücü hızla absorbe ederek şişmektedir. GA kriyoenjelleri su içerisinde % 4'lük GA çözeltisi hazırlayarak yaklaşık -20 °C sıcaklıktaki kriyojenik koşullarda DVS çapraz bağlayıcısı ile % 95±4 gibi yüksek bir verim ile sentezlenmiştir. Şekil 4.9. (c)'deki GA kriyoenjellerinin optik mikroskop ve SEM görüntüleri incelendiğinde, GA kriyoenjellerinin gözenek boyutu 10 ile 200 µm arasında değişen makro gözenekli yapıda olduğu görülmektedir. Böylece farklı şekil ve boyutlardaki GA mikroenjelleri ve kriyoenjelleri DVS çapraz bağlayıcısı kullanılarak başarılı bir şekilde sentezlenmiştir.

Biyomedikal alanda kullanım potansiyelini arttırmak için, GA mikro/kriyoenjelleri kuaternize amin grubu içeren CHPACl ile veya lineer amin ve dallanmış amin grubu içeren DETA, TETA ve PEI gibi çeşitli modifiye ajanlar ile kimyasal olarak modifiye edilmiştir. Şekil 4.10. (a)'da gösterildiği gibi, GA mikro/kriyoenjelleri 0,2 M NaOH ile muamele edilerek yapısında -OH ve -COOH grupları O⁻ ve COO⁻ formuna dönüştürülmüştür.

Negatif yüklü GA mikro/kriyoenjelleri (1) kuaternize amin grubu ((CH₃)₃N⁺Cl⁻) içeren CHPACl ile pH 12 gibi bazik koşullarda doğrudan bağlanırken, (2) lineer ve dallanmış amin grubu içeren DETA, TETA ve PEI moleküllerini kimyasal olarak bağlamak için ilk önce epiklorohidrin (ECH) ara bağlayıcı ajanı kullanılmıştır. Kısaca, GA mikro/kriyoenjellerinin O⁻ ve COO⁻ grupları ECH'in bazik koşullarda açılmış epoksi grubuna bağlandıktan sonra reaksiyon ortamına eklenen DETA, TETA veya PEI'in amin grupları epiklorohidrinin diğer ucundan bağlanarak amin modifiye GA mikro/kriyoenjelleri hazırlanmıştır. Farklı sayıda amin grubu içeren CHPACl, DETA, TETA ve PEI ile modifiye edilen GA/CHPACl, GA/DETA, GA/TETA ve GA/PEI mikrojel/kriyoenjellerinin dijital kamera görüntüleri Şekil 4.10. (b)'de verilmiştir.

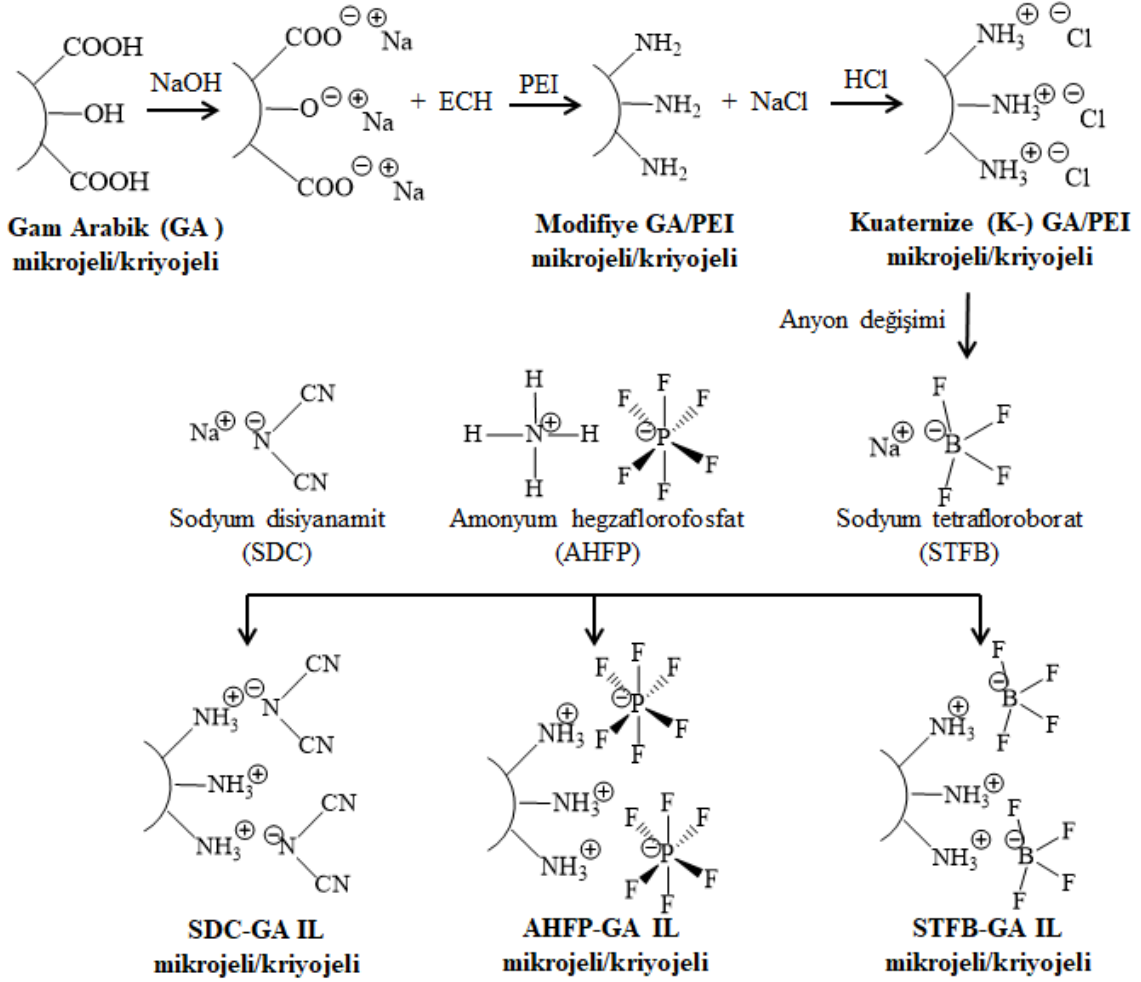


Şekil 4.10. (a) Gam arabik mikro ve kriyojellerinin (1) CHPACl, (2) DETA, TETA ve PEI modifiye ajanları ile modifikasyonunun şematik gösterimi. (b) Modifiye edilmemiş ve modifiye edilmiş GA mikro ve kriyojellerin dijital kamera görüntüleri

Görüntüler incelendiğinde; CHPACl ile modifiye edilen GA mikrojel/kriyojellerinin rengi değişmez iken, DETA, TETA ve PEI ile modifiye edildikten sonra beyaz renkli mikrojellerin sarı rengine dönüştüğü görülmektedir.

Polimerik iyonik sıvılar (IL) doğrudan iyonik sıvıların polimerizasyonu veya polimerik yapıların modifikasyonlar ile hazırlanabilmektedir. Yapılan çalışmalarda IL formdaki GA mikrojel/kriyojelleri birkaç basamakta gerçekleşen amin modifikasyonu ve anyon değişimi reaksiyonları ile sentezlenmiştir ve IL formdaki GA mikrojel/kriyojel sentezinin şematik gösterimi Şekil 4.11.'de gösterilmiştir. Kısaca yapısında $-\text{NH}_2$ grupları içeren modifiye GA/PEI mikrojel/kriyojelleri, HCl ile protonlanarak $-\text{NH}_3^+\text{Cl}^-$ gruplarını içeren kuaternize (K-) GA/PEI mikrojel/kriyojelleri hazırlanmıştır. Ardından K-GA/PEI mikrojel/kriyojelleri, sodyum disiyanamid (SDC) $\text{Na}^+[\text{N}(\text{CN})_2]^-$, amonyum heksaflorofosfat (AHFP) $\text{NH}_4^+[\text{PF}_6]^-$ ve sodyum tetrafloroborat (STFB) $\text{Na}^+[\text{BF}_4]^-$ iyonik sıvıları ile anyon değişimi reaksiyonuna sokularak yapısındaki Cl^- anyonunun $[\text{N}(\text{CN})_2]^-$,

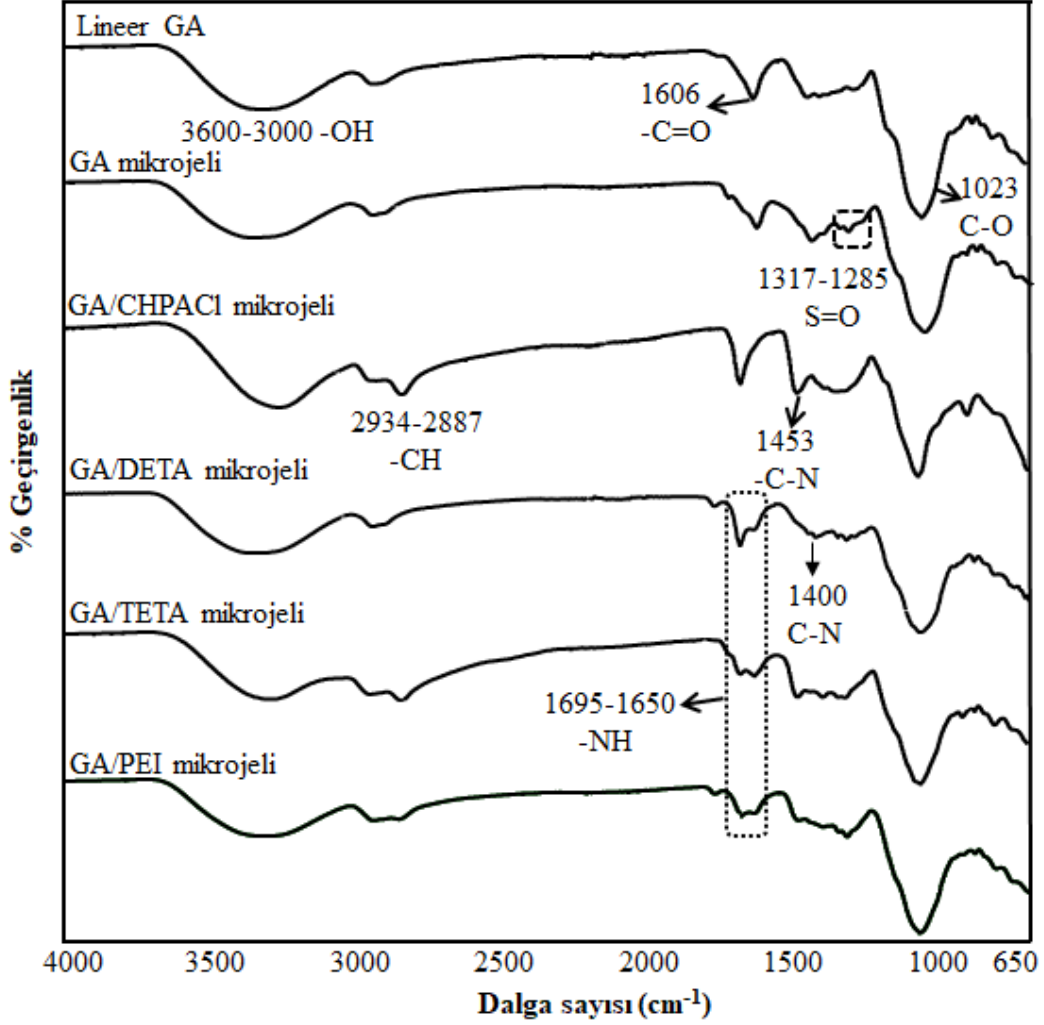
[PF₆]⁻ veya [BF₄]⁻ anyonları ile yer değiştirilerek polimerik iyonik sıvı (IL) formundaki SDC-GA/PEI, AHFP-GA/PEI ve STFB-GA/PEI mikro/kriyojelleri hazırlanmıştır.



Şekil. 4.11. GA esaslı polimerik iyonik sıvı (IL) mikrojel/kriyojel sentezinin şematik gösterimi

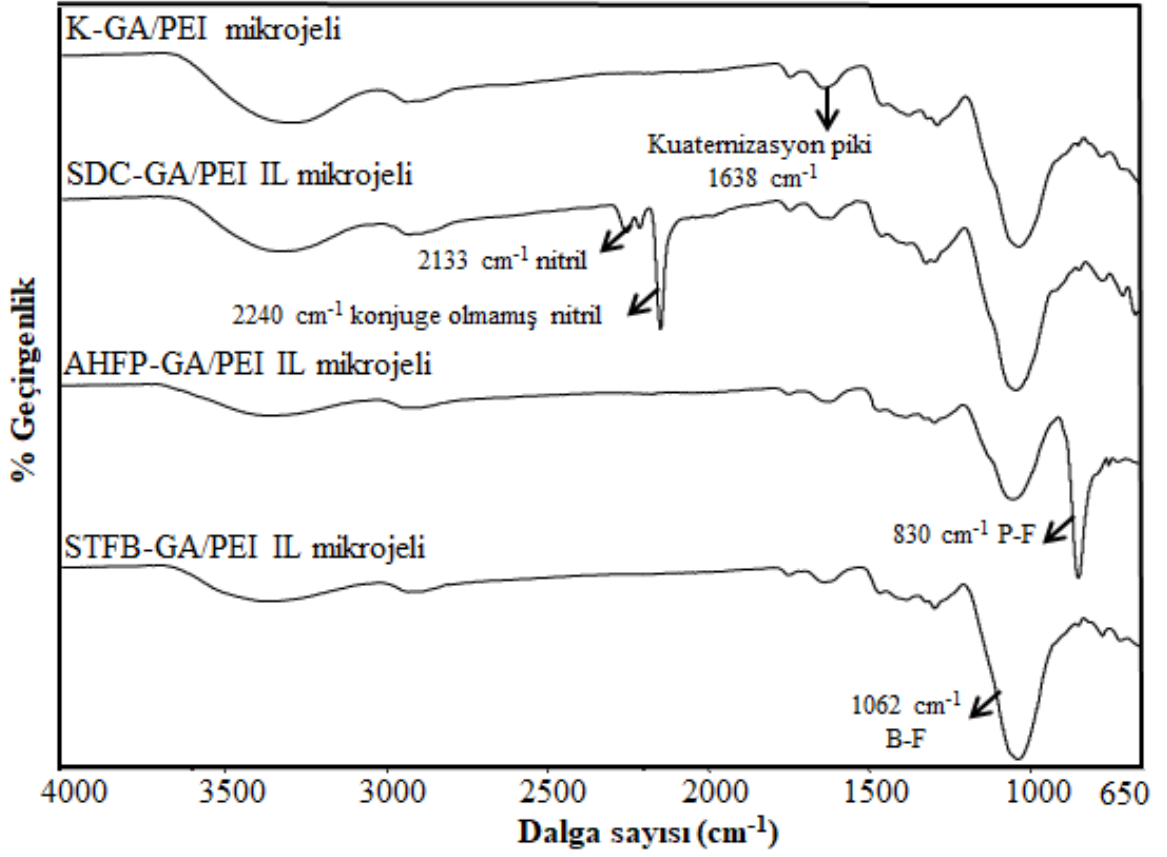
Lineer GA, çapraz bağlı GA mikrojelleri ve modifiye formlarının fonksiyonel gruplarını belirlemek amacı ile FT-IR spektrumları incelenmiş ve sonuçlar Şekil 4.12.'de verilmiştir. Lineer GA'in spesifik pikleri olan 3500-3000 cm⁻¹ arasında görülen geniş gerilme bandı -OH grubundan, 1606 cm⁻¹'deki pikin -C=O gerilmesi, 1023 cm⁻¹'deki titreşim pikinin C-O grubunun titreşimlerinden gelmektedir. Çapraz bağlı GA mikrojellerinin FT-IR spektumunda ise 1317-1285 cm⁻¹ arasında görülen piklerin DVS çapraz bağlayıcısından gelen S=O titreşim piklerinden kaynaklanmaktadır. Kuaternize amin grubu ile modifiye edilen GA/CHPACl mikrojellerinde 1453 cm⁻¹'deki titreşim pikinin yapıdaki -C-N grubundan, amin modifiye GA/DETA, GA/TETA ve GA/PEI

mikrojellerinin FT-IR spektrumlarında ise 1695-1650 cm^{-1} aralığında görülen titreşim piklerinin modifiye ajanların -NH gruplarından gelmektedir.



Şekil 4.12. Lineer GA, GA mikrojel ve modifiye GA mikrojellerinin FT-IR spektrumları

GA/PEI mikrojellerinin kuaternizasyonu ve anyon değişim reaksiyonu ardından moleküler yapıda oluşan gruplar FT-IR spektrumları ile belirlenmiş ve sonuçlar Şekil 4.13.'de gösterilmiştir. K-GA/PEI mikrojellerinde görülen 1638 cm^{-1} 'deki titreşim piki kuaternize amin grubuna aittir. Yapısında $[\text{N}(\text{CN})_2]^+$, $[\text{PF}_6]^-$ ve $[\text{BF}_4]^-$ anyonlarını içeren SDC-GA/PEI, AHFP-GA/PEI ve STFB-GA/PEI mikrojellerinde sırasıyla 2133 ve 2240 cm^{-1} 'de görülen piklerin nitril ve konjuge olmamış nitril gerilmelerine, 830 cm^{-1} 'deki şiddetli pikin P-F gerilme titreşimine, 1062 cm^{-1} 'deki şiddetli pikin ise B-F antisimetrik gerilmesine aittir.



Şekil 4.13. Kuaternize GA/PEI mikrojel ve iyonik sıvı (IL) formdaki GA esaslı mikrojellerin FT-IR spektrumları

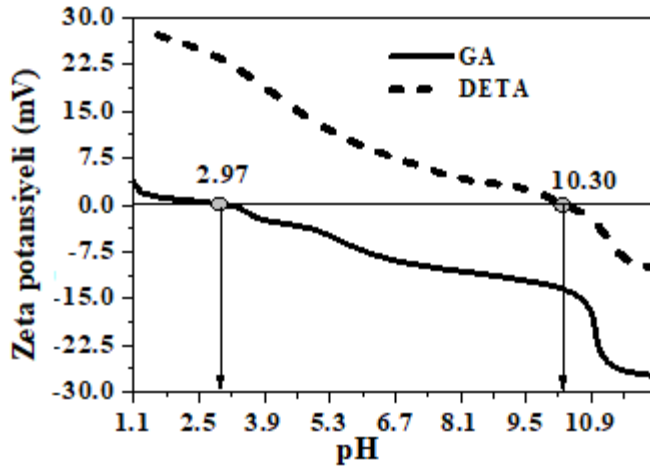
Hazırlanan GA esaslı mikrojellerin saf su içerisindeki yüzey potansiyelleri, zeta potansiyel ölçümleri ile belirlenmiş ve sonuçlar Çizelge 4.1.'de verilmiştir. Sonuçlar incelendiğinde, $-27,30 \pm 4,20$ mV değerindeki GA mikrojelleri modifikasyonlardan sonra GA/CHPACl, GA/DETA, GA/TETA ve GA/PEI mikrojelleri için sırasıyla $-12,31 \pm 1,14$, $+5,23 \pm 4,07$, $+32,15 \pm 0,32$ ve $+45,66 \pm 5,30$ mV değerlerinde ölçülmüştür. Yapısındaki hidroksil gruplarından dolayı negatif özellikteki GA mikrojelleri CHPACl gibi kuaternize amin grubu ile modifiye edildiğinde zeta potansiyel değeri pozitif doğru giderken, farklı sayıda ve yapıda amin grubu içeren moleküller ile modifikasyonundan sonra modifiye ajanın yapısındaki amin sayısı arttıkça zeta potansiyel değeri daha pozitif elde edilmiştir. Böylece en katyonik yapıdaki GA/PEI mikrojelleri HCl ile kuaternize edildikten sonra $+52,15 \pm 4,80$ mV değerlerine kadar yükselmiştir.

Çizelge 4.1. GA esaslı mikrojjellerin zeta potansiyel (mV) değeri

Mikrojjeller	Zeta Potential (mV)
GA	-27,30 ± 4,20
GA/CHPACl	-12,31 ± 1,14
GA/DETA	+5,23±4,07
GA/TETA	+32,15 ± 0,32
GA/PEI	+45,66 ± 5,30
K-GA/PEI	+52,15 ± 4,80
SDC-GA/PEI IL	+21,26 ± 0,94
AHFP-GA/PEI IL	+20,39 ± 1,26
STFB-GA/PEI IL	+24,19 ± 2,04

Bunun dışında IL formundaki SDC-GA/PEI, AHFP-GA/PEI ve STFB-GA/PEI mikrojjellerinde zeta potansiyel değeri sırasıyla +21,26±0,94, +20,39±1,26 ve +24,19±2,04 mV olarak ölçülmüştür. Sonuçlara göre, GA mikrojjellerine bağı PEI'den kaynaklı katyonik amin grupları ile etkileşime geçen $[N(CN)_2]^+$, $[PF_6]^-$ ve $[BF_4]^-$ anyonları ile zeta potansiyel değeri oldukça düştüğü görülmektedir.

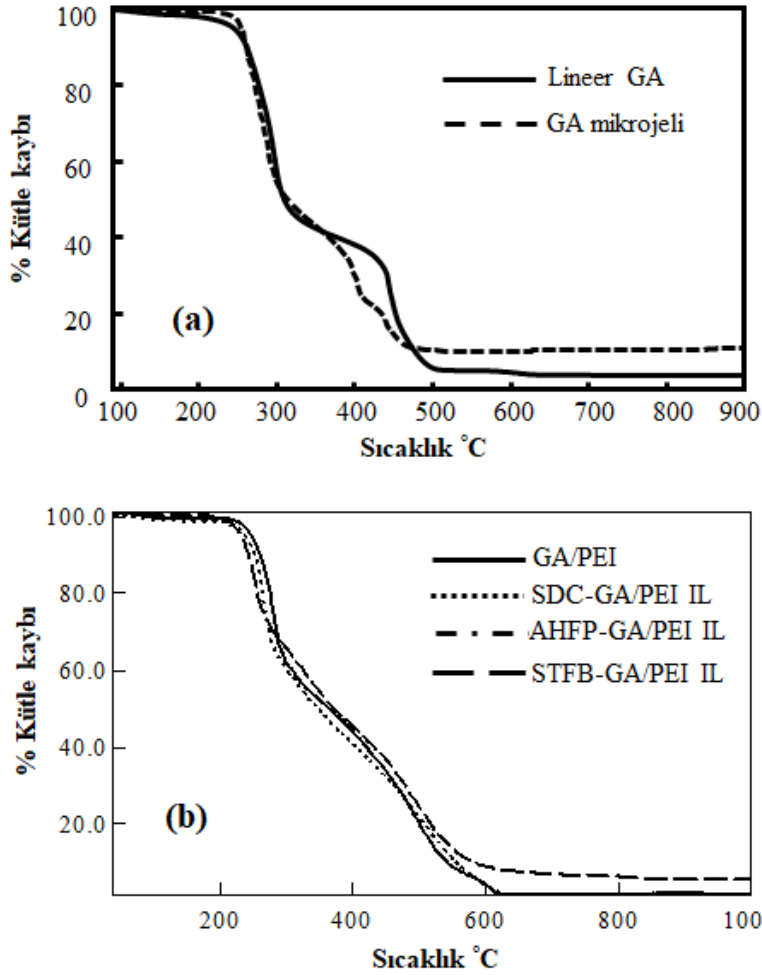
GA ve modifiye GA/DETA mikrojjellerinin farklı pH değeriinde zeta potansiyel ölçümleri ile malzemelerin izoelektronik noktaları belirlenmiş ve Şekil 4.14'de verilmiştir. Sonuçlar incelendiğinde, GA mikrojjellerinin pH 3 ile pH 12 değeri arasında negatif yüzey yüküne sahip iken, pH 2,9 ve altındaki asidik koşullarda pozitif karakterdedir. Modifiye GA/DETA mikrojjellerinde ise yüzeydeki çok sayıdaki amin gruplarından dolayı pH 1 ile pH 10 gibi çok geniş bir aralıkta pozitif zeta potansiyel değeriine sahiptir. Malzemelerin izoelektronik noktaları incelendiğinde GA ve GA/DETA mikrojjellerinin izoelektronik noktaları pH 2,97 ve 10,30 olarak belirlenmiştir.



Şekil 4.14. GA mikrojel ve modifiye GA/DETA mikrojellerinin farklı pH değerlerinde zeta potansiyel ölçümleri

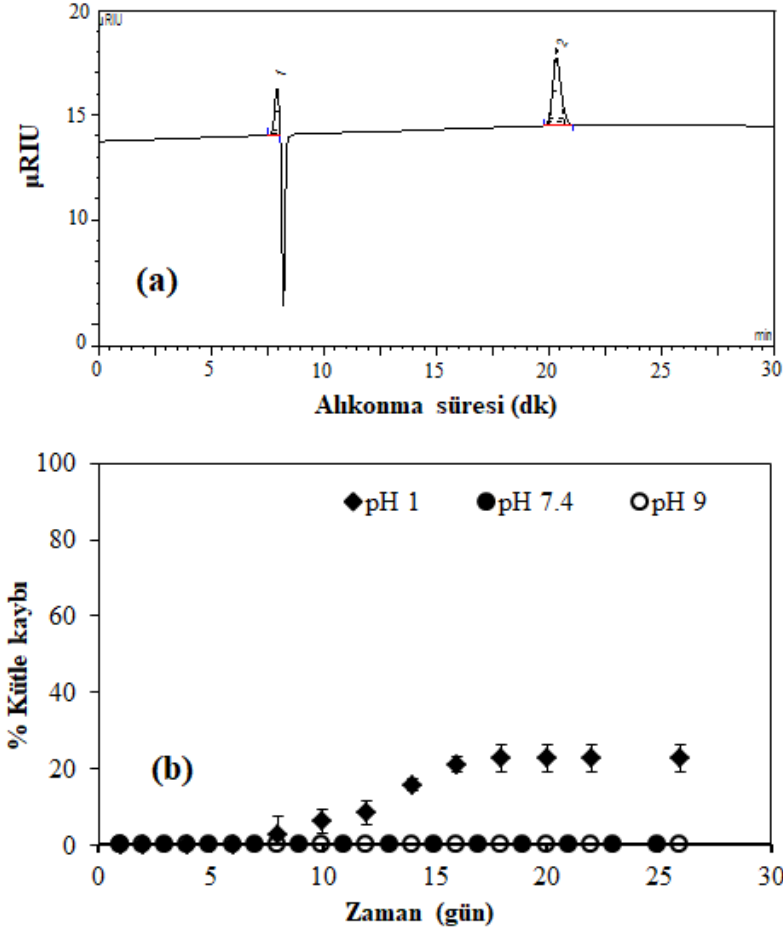
Lineer GA ve çapraz bağlı GA mikrojellerinin termal bozunma analizleri Şekil 4.15. (a)'da verilmiştir. Sonuçlar incelendiğinde, lineer GA 190-293 °C sıcaklık aralığında % 43,4 kütle kaybı ve 310-490 °C sıcaklık aralığında % 91 kütle kaybı görülmüştür. GA mikrojellerinde ise, 260-303 °C sıcaklık aralığında % 47 kütle kaybı ve 310-449 °C sıcaklık aralığında % 88 kütle kaybı ile 2 basamakta bozunmuştur. Lineer GA ve GA mikrojelleri 900 °C'de toplamda % 4 ve % 10'luk bozunmadan kalan malzeme kütlelerine sahiptir.

Modifiye GA/PEI mikrojelleri ve IL yapısındaki SDC-GA/PEI, AHFP-GA/PEI ve STFB-GA/PEI mikrojellerinin termal bozunma grafiği Şekil 4.15. (b)'de gösterilmiştir. Sonuçlar incelendiğinde, GA esaslı modifiye ve IL formundaki mikrojeller 260-300 °C sıcaklık aralığında yaklaşık % 62 kütle kaybı ve 310-570 °C sıcaklık aralığında ise yaklaşık % 92 kütle kaybı ile 570 °C'a kadar benzer bozunma özelliğine sahiptir. Modifiye GA/PEI mikrojelleri 647 °C'de % 1,62'lik kütlesi bozunmadan kalırken, aynı sıcaklıkta IL yapısındaki SDC-GA/PEI, AHFP-GA/PEI ve STFB-GA/PEI mikrojellerinin sırasıyla % 0,76, % 1,1 ve % 7,75 oranındaki kütleleri bozunmadan kalmıştır.



Şekil 4.15. (a) Lineer GA ve GA mikrojel (b) modifiye GA/PEI ve IL yapısındaki SDC-GA/PEI, AHFP-GA/PEI ve STFB-GA/PEI mikrojellerinin termal bozunmaları

Biyomalzemelerin ortam pH'ı veya çeşitli enzimler varlığında bozunabilir olmaları, vücut içi uygulamalarda işlevini yitirdikten sonra vücutta birikmemesi yani vücuttan atılabilmesi açısından oldukça önemlidir. Hatta bazı ileri uygulamalarda polimerik yapıların bozunmaları sonucunda yapısına bağlanan aktif molekülleri etkin hale getirerek kontrollü ve uzun sürelerde etkinliğini sürdüren malzemeler geliştirilebilir. GA mikrojellerinin pH 1 (mide pH'ı), pH 7,4 (kan pH'ı) ve pH 9 (yaklaşık bağırsak pH'ı) tampon çözeltileri içerisinde 30 güne kadar hidrolitik bozunma özellikleri incelenmiştir. Bozunan lineer GA miktarının analizi HPLC cihazında Na^+ rezex şeker kolonu ile refraktif indeks dedektörde yapılmıştır.

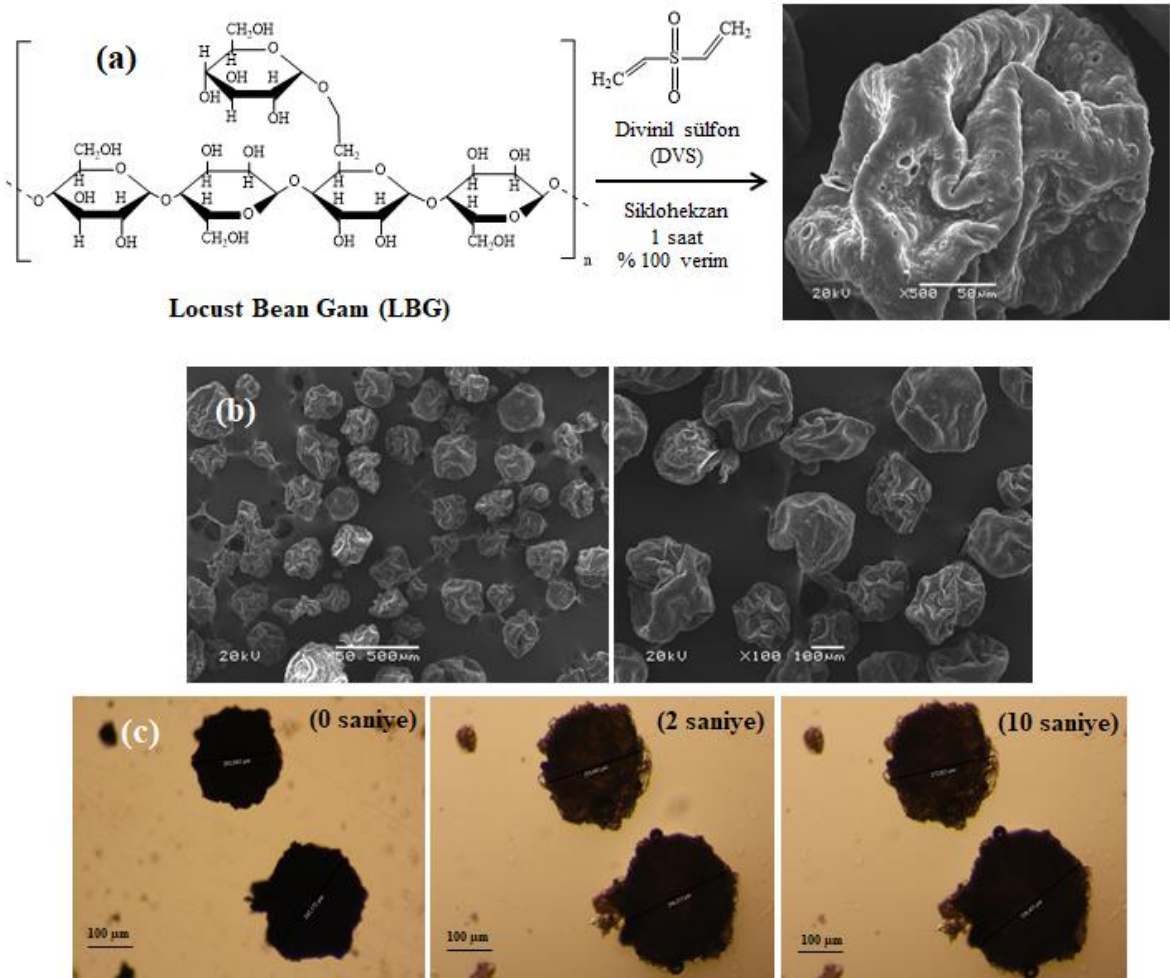


Şekil 4.16. (a) Saf suda çözülmüş 500 mg/L, 20 µL lineer GA'nın kromatogramı ve (b) GA mikrojelinin pH 1, pH 7,4 ve pH 9 tampon çözeltilerindeki hidrolitik bozunmaları

Şekil 4.16. (a)'da verilen lineer GA'nın HPLC'deki kromatogramı incelendiğinde GA'nın 7,14 dk'daki alıkonma süresinde geldiği görülmektedir. Böylece çapraz bağlı GA mikrojellerinin farklı pH tamponlarında bozunarak ortamda oluşan lineer GA miktarı HPLC ile belirlenmiş ve zamana karşı % kütle kaybı olarak sonuçlar Şekil 4.16. (b)'de verilmiştir. GA mikrojelleri pH 7,4 ve pH 9 ortamlarında 27. güne kadar çapraz bağlı yapısı bozulmazken, pH 1 gibi asidik koşullarda 8. günde bozunmaya başlayarak 20. güne kadar yavaş yavaş bozunarak yaklaşık % 22,8±3,5 kütle kaybı olmuştur. Çapraz bağlı polimerik yapıların bozunma özellikleri hidrojelilerin şişme oranı ve çapraz bağlayıcı miktarı, ortamın pH ve sıcaklık koşullarına bağlı olarak değişmektedir (Sailema-Palate ve ark., 2016). Benzer şekilde yapılan bozunma sonuçlarına göre çapraz bağlı GA mikrojellerinin hidrolitik olarak bozunma özellikleri farklı pH koşullarından etkilenerek kan ve bağırsak gibi koşullarda bozunmazken, mide pH koşullarında mikrojellerin çok fazla şişerek çapraz bağlı yapısının bozunduğu görülmüştür.

4.1.4. Locust Bean Gam Mikrojelleri (Mikrokapsülleri)

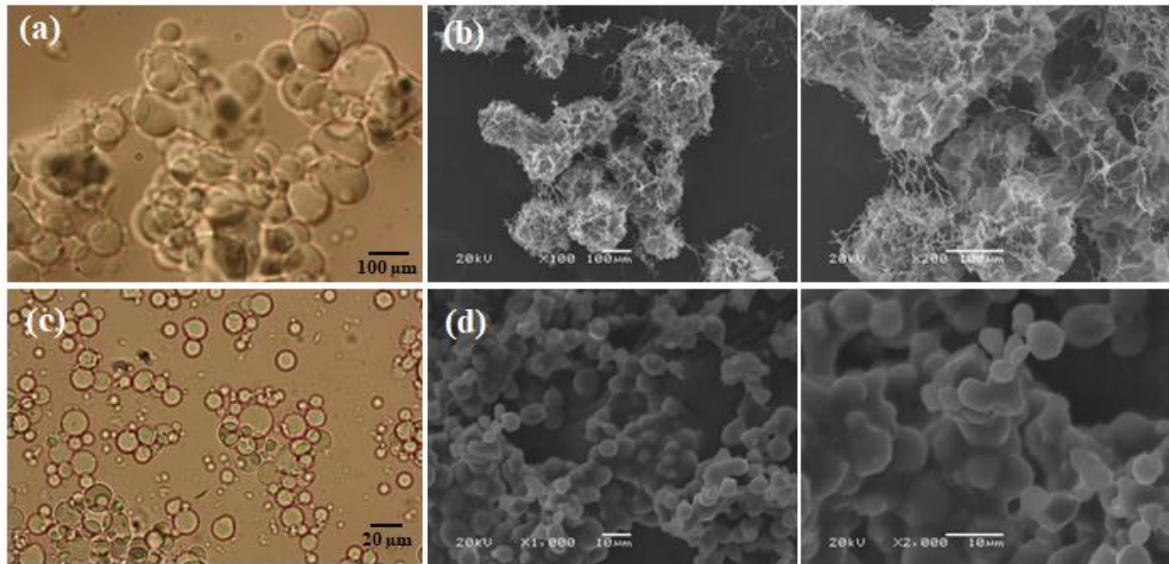
Gam esaslı bir diğer karbonhidrat olan LBG, galaktomannan ana zincirinden oluşan lineer bir polisakkarittir. Şekil 4.17. (a)'da gösterildiği gibi moleküler yapısındaki çok sayıda hidroksil grubu içermesinden dolayı DVS çapraz bağlayıcısının vinil grupları ile kolayca çapraz bağlı üç boyutlu ağ yapısına sahip mikrojel formunu oluşturmaktadır. LBG mikrojelleri, bazik LBG çözeltisini yüzey aktif madde içermeyen sikloheksan mikro emülsiyon ortamı içerisinde süspansiyon edildikten sonra ortama LBG'nin tekrar eden biriminin molce % 100 oranında DVS çapraz bağlayıcısı eklenmesi ile 1 saat gibi kısa bir süresinde % 100 verim ile sentezlenmiştir (Sagbas ve Sahiner 2018). LBG mikrojellerinin yüzey aktif madde içermeyen sikloheksan ortamında sentezlenmesinde molce % 25 ile 100 arasında değişen farklı çapraz bağlayıcı oranlarında DVS kullanılmış ve minimum % 100 oranındaki DVS ile LBG mikrojelleri hazırlanabilmiştir. Hazırlanan LBG mikrojellerinin SEM ve optik mikroskop görüntüleri Şekil 4.17. (b) ve (c)'de gösterilmiştir.



Şekil 4.17. (a) Çapraz bağlı LBG mikrojellerinin şematik gösterimi ve LBG mikrojellerinin (b) SEM ve (c) optik mikroskop görüntüleri

SEM görüntüleri incelendiğinde, kuru LBG mikrojel boyutlarının 100 ile 400 μm arasında değiştiği ve küresel yapıdaki mikrojellerin içi boş kapsül şeklinde olduğu görülmektedir. Ayrıca, yüzeylerinin pürüzlü ve makro gözenekli yapıda oldukları gösterilmiştir. Şekil 4.17. (c)'de gösterildiği gibi, saf su ile şişmiş LBG mikrojellerinin morfolojik yapıları optik mikroskop görüntüleri ile incelenmiş ve mikrojellerin yapısındaki hidroksil gruplarından dolayı hidrofilik yapıda olduğu ve saf su içerisinde şişerek 242 ± 12 μm boyutlarındaki LBG mikrojelleri yaklaşık $328\pm 16\mu\text{m}$ boyutlarına geldikleri gözlemlenmiştir.

Ayrıca, LBG çözeltisi AOT yüzey aktif maddesini içeren izooktan/AOT ters misel mikro emülsiyon ortamında süspansiyon edilip, LBG'ın tekrar eden biriminin molce % 10, % 50 ve % 100 çapraz bağlayıcı oranlarında DVS ile sentezlenmiştir. LBG mikrojelleri yüzey aktif madde içeren izooktan/AOT ters misel ortamında minimum % 10 oranında DVS ile çapraz bağlanmıştır. LBG'ın tekrar eden biriminin molce % 10 ve % 100 oranında çapraz bağlı şişmiş LBG mikrojellerinin optik mikroskop görüntüleri Şekil 4.18. (a) ve (c)'de verilmiştir.

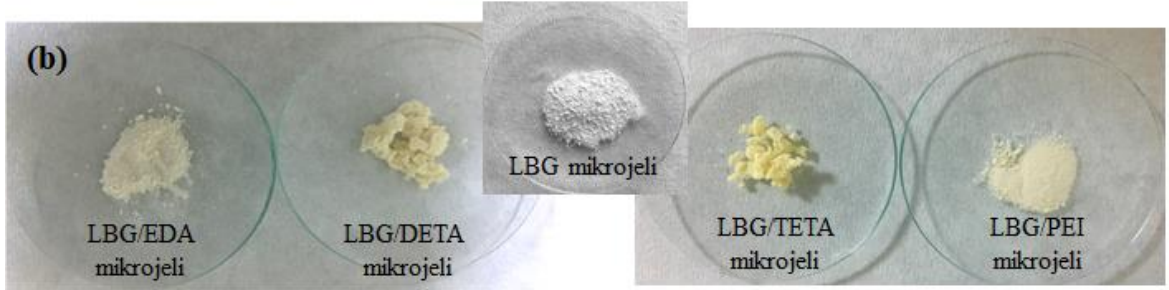
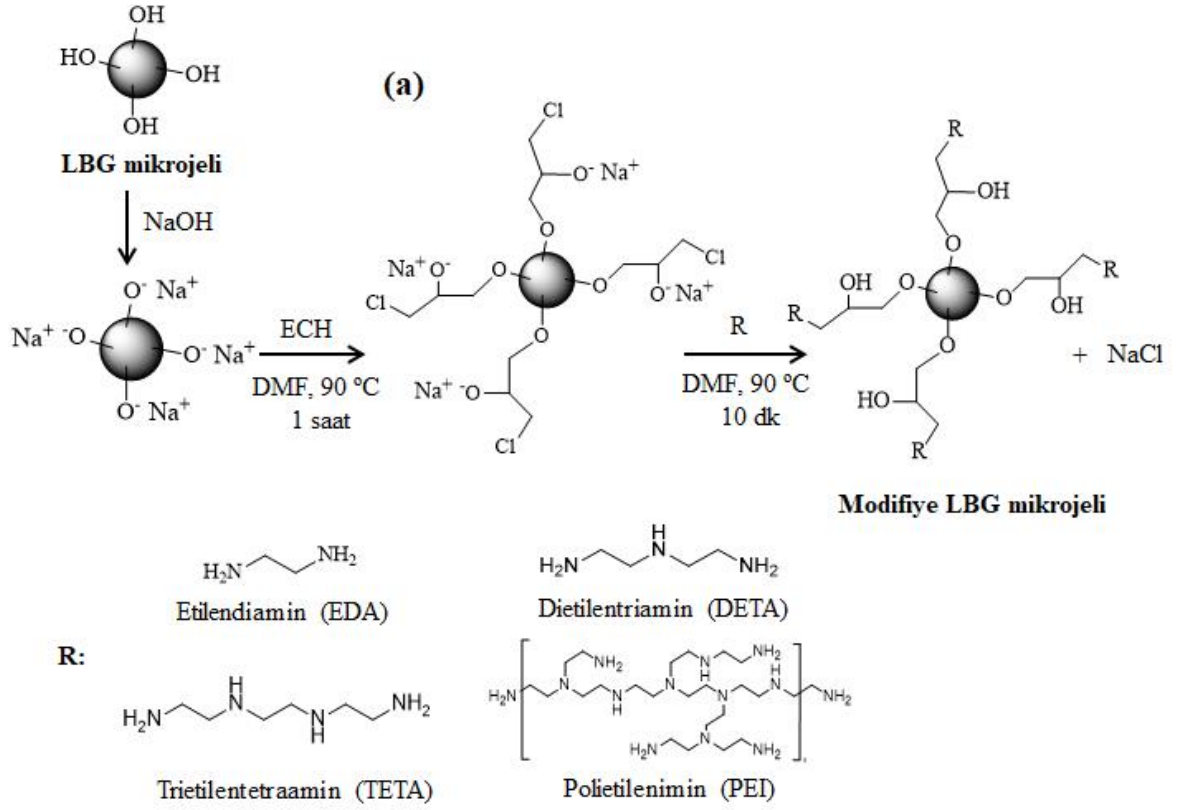


Şekil 4.18. Yüzey aktif madde içeren AOT/izooktan ortamında sentezlenen LBG'ın tekrar eden biriminin molce % 10 ve % 100 oranında çapraz bağlı LBG mikrojellerinin (a,c) optik mikroskop ve (b,d) SEM görüntüleri

Görüntüler incelendiğinde, % 100 DVS ile sentezlenmiş LBG mikrojel boyutları 1 ile 20 μm arasında değişirken, % 10 DVS ile hazırlanan LBG mikrojelleri 50 ile 200 μm boyutları arasındadır. Mikrojellerin şişme kapasiteleri polimer matriksindeki çapraz

bağlayıcı oranına önemli ölçüde bağlıdır ve çapraz bağlayıcı oranı azaldıkça mikrojenlerin boyutlarında artış gözlemlenmiştir. Bunun nedeni DVS miktarının artışına bağlı olarak LBG zincirleri daha sık oranda çapraz bağlanarak daha sert ve az şişme özelliğine sahip malzemeler hazırlanmıştır. Molce % 10 ve % 100 oranında çapraz bağlı şişmiş LBG mikrojenlerinin SEM görüntüleri Şekil 4.18. (b) ve (d)'de verilmiştir. Görüntüler incelendiğinde LBG mikrojenleri % 10 gibi düşük çapraz bağlayıcı oranında sentezlendiğinde makro gözenekli yapıda ve yaklaşık 100 µm boyutlarında iken, % 100 oranında çapraz bağlı LBG mikrojenleri gözeneksiz yapıda ve yaklaşık 10 µm boyutlarındadır. Biyomedikal uygulamalar için yumuşak ve elastik yapıda ve yüksek şişme kapasitesine sahip, gözenekli yapıda mikrojenlerin hazırlanması oldukça önemlidir. Bu amaç doğrultusunda LBG mikrojenlerinin minimum oranda çapraz bağlandığı miktar % 10 olarak belirlenmiş ve böylece gözenekli LBG mikrojenleri hazırlanarak malzemenin yüzey alanı artırılmıştır. Ayrıca LBG mikrojenleri yüzey aktif madde içeren mikro emülsiyon ortamında hazırlandığında, içermeyen ortamda hazırlanan LBG mikrojenlerine göre daha küçük boyutlarda ve pürüzsüz yüzeylere sahip olduğu görülmektedir. Bunun nedeni emülsiyon ortamında karar kılıcı olarak kullanılan yüzey aktif madde sayesinde LBG çözeltisinin daha iyi süspansiyon olarak miseller içerisinde çapraz bağlanmıştır. Böylece, daha küçük boyutlarda LBG mikrojenleri hazırlanarak mikrojenlerin boyutlarının ve yüzey morfolojilerinin sentez koşullarının değişimi ile kontrol edilebileceği gösterilmiştir.

Anyonik LBG mikrojenleri, yapısında farklı sayıda ve yapıda amin grubu içeren EDA, DETA, TETA ve PEI modifiye ajanları ile modifiye edilerek katyonik yapıda LBG mikrojenleri hazırlanmıştır. Şekil 4.19. (a)'da LBG mikrojenlerinin modifikasyon prosesi şematik olarak gösterilmiştir. Kısaca, LBG mikrojenleri NaOH ile muamele edilerek yapıdaki -OH grupları -O⁻ formuna dönüştürülmüştür. Ardından mikrojenler ECH ara bağlayıcı ajanı kullanılarak, ECH'in epoksi grubu açılarak LBG mikrojenlerinin -O⁻ grubuna diğer uçundan ise modifiye ajanların serbest amin grubuna kimyasal olarak bağlanmıştır. Böylece, katyonik özellikteki modifiye LBG/EDA, LBG/DETA, LBG/TETA ve LBG/PEI mikrojenleri hazırlanmıştır. Hazırlanan LBG esaslı mikrojenlerin dijital kamera görüntüleri Şekil 4.19. (b)'de gösterilmiştir. LBG mikrojenleri beyaz renkte iken, modifiye LBG/EDA ve PEI/LBG mikrojenleri açık sarı, modifiye LBG/DETA ve LBG/TETA mikrojenleri ise sarı renklidir.



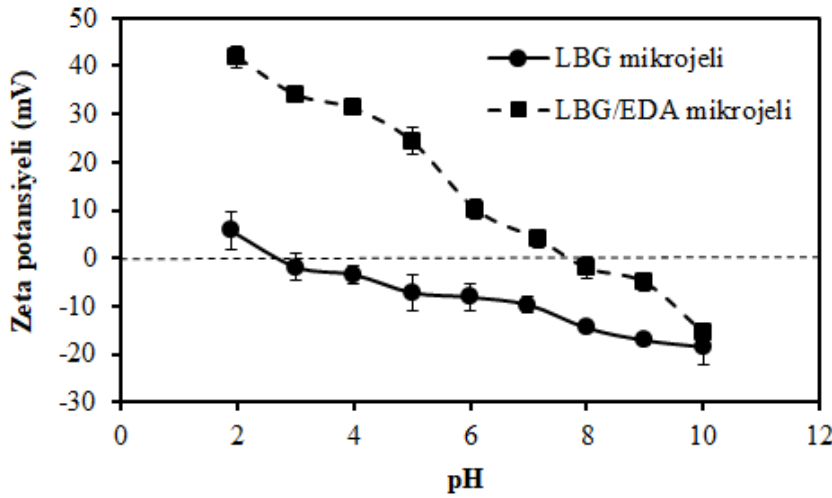
Şekil 4.19. (a) EDA, DETA, TETA ve PEI gibi farklı amin kaynakları ile LBG mikrovelllerinin modifikasyonunun şematik gösterimi ve (b) LBG ve modifiye LBG mikrovelllerinin dijital kamera görüntüleri

LBG mikrovelllerinin yüzey yükünü belirlemek amacı ile saf suda süspanse edilmiş LBG mikrovelllerinin zeta potansiyel ölçümleri alınmış ve sonuçlar Çizelge 4.2.'de verilmiştir. Sonuçlara göre, $-17,67 \pm 3,42$ mV zeta potansiyel değerindeki LBG mikrovellleri, EDA, DETA, TETA ve PEI ile modifikasyonu sonucunda sırasıyla $+31,67 \pm 0,65$, $+39,75 \pm 3,15$, $+35,58 \pm 0,72$ ve $+44,92 \pm 2,63$ mV olarak ölçülmüştür.

Çizelge 4.2. LBG ve modifiye LBG mikrojjellerinin zeta potansiyel değeri (mV)

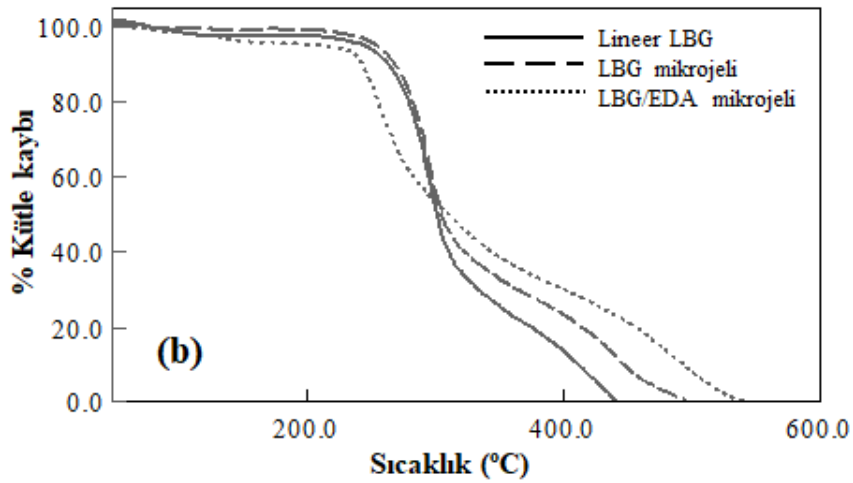
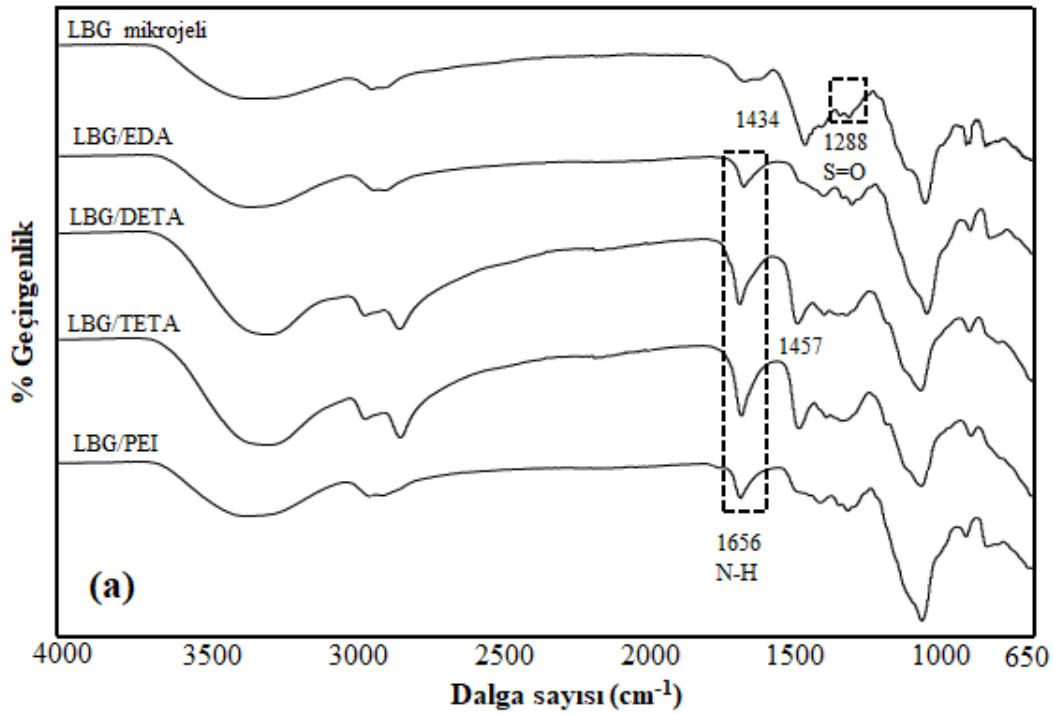
Mikrojjeller	Zeta potansiyeli (mV)
LBG	-17,67±3,42
LBG/EDA	+31,67±0,65
LBG/DETA	+39,75±3,15
LBG/TETA	+35,58±0,72
LBG/PEI	+44,92±2,63

Boş LBG mikrojjellerinin ve modifiye formunun pH 2 ile 10 arasında değışen farklı pH değeriindeki zeta potansiyel değışimleri incelenerek malzemelerin izoelektronik noktaları belirlenmiş ve sonuçlar Şekil 4.20.'de verilmiştir. Grafik incelendiğinde, LBG mikrojjellerinin pH 3 ile pH 10 arasında negatif yüzey yüküne sahip iken, modifiye LBG/EDA mikrojjelleri yapısındaki çok sayıda amin grubundan dolayı asidik ve nötr pH koşullarında pozitif yüzey yüküne sahiptir. Ayrıca, LBG ve LBG/EDA mikrojjellerinin izoelektronik değeri pH 2,68 ve pH 7,70 olarak belirlenmiştir.



Şekil 4.20. LBG mikrojjeli ve modifiye LBG/EDA mikrojjelinin farklı pH değeriinde zeta potansiyel ölçümleri

LBG esaslı mikrojellerin fonksiyonel gruplarını belirlemek amacı ile FT-IR spektrumları incelenmiştir. Şekil 4.21. (a)'da gösterildiği gibi, LBG esaslı bütün mikrojellerde görülen 3600-3200 cm^{-1} aralığında görülen gerilme bandı -OH gruplarından, 2950-2820 cm^{-1} aralığındaki titreşim piklerinin -CH ve C-O gruplarından, 1200-950 cm^{-1} aralığındaki titreşim piklerinin ise LBG'nin yapısındaki C-C, halkasal yapı ve CH_2OH gruplarının titreşimlerinden gelmektedir (Yuen ve ark., 2009). Ayrıca, DVS ile çapraz bağlı LBG mikrojellerinin çapraz bağlayıcı pikleri spesifik S=O gruplarından kaynaklanan 1434 ve 1288 cm^{-1} titreşim pikleridir.



Şekil 4.21. (a) LBG mikrojelinin ve modifiye formlarının FT-IR spektrumları. (b) Lineer LBG, LBG mikrojeli ve modifiye LBG/EDA mikrojellerinin termogramları

LBG mikrojjellerinin modifikasyonu sonucunda yapıdaki amin gruplarından gelen N–H piki 1656 cm⁻¹'deki titreşim pikinde açıkça görölmektedir. Sonuçlara göre, LBG mikrojjellerinin başarılı bir şekilde çapraz bağlandığı ve 4 farklı amin kaynağı ile modifiye edildiği gösterilmiştir.

Lineer LBG, çapraz bağlı LBG mikrojjeli ve modifiye LBG/EDA mikrojjelinin 50 ile 1000 °C sıcaklık aralığındaki termal bozunma özellikleri incelenmiş ve malzemelerin termogravimetrik analiz sonuçları Şekil 4.21. (b)'de verilmiştir. Bütün malzemelerde görölen 50-150 °C sıcaklık aralığındaki yaklaşık % 3±2 kütle kaybı yapıdaki bağlı sudan kaynaklanmaktadır. Düz çizgi ile gösterilen lineer LBG'ın termogravimetrik bozunması incelendiğinde, 220-350 °C sıcaklık aralığındaki % 74,69 kütle kaybı ve 355-442 °C sıcaklık aralığında tamamen bozularak iki aşamada gerçekleştiği görölmektedir. LBG'ın çapraz bağlı formu olan LBG mikrojjellerinin termal bozunması incelendiğinde, mikrojjellerin bozunmaları 250 °C başlayarak 320 °C kadar lineer bir şekilde devam ederek malzemenin % 59,13 oranında bozunmuştur. Sıcaklık yükseldikçe 325-465 °C sıcaklık aralığında % 96,15'lik ikinci bozunma gerçekleşerek 497 °C'de tamamen bozunmuştur. Noktalı çizgi ile gösterilen modifiye LBG/EDA mikrojjellerinin termal bozunması ise diğer malzemelere kıyasla % 61,28'lik kütle kaybı ile 220-350 °C gibi daha düşük sıcaklıklarda başlayarak, 355-542 °C sıcaklık aralığında görölen ikinci bozunma aşaması ile termal olarak daha dayanıklı olduğu görölmüştür. Sonuçlar incelendiğinde, lineer LBG 442 °C sıcaklıkta tamamen bozunurken, LBG mikrojjellerinin 451 °C ve modifiye LBG/EDA mikrojjellerinin ise yaklaşık 473 °C sıcaklıkta tamamen bozunmuştur. Bu sonuçlara göre, mikrojel yapısındaki DVS çapraz bağlayıcısından ve EDA modifiye ajanından kaynaklı malzemelerin termal olarak daha dayanıklı oldukları görölmektedir.

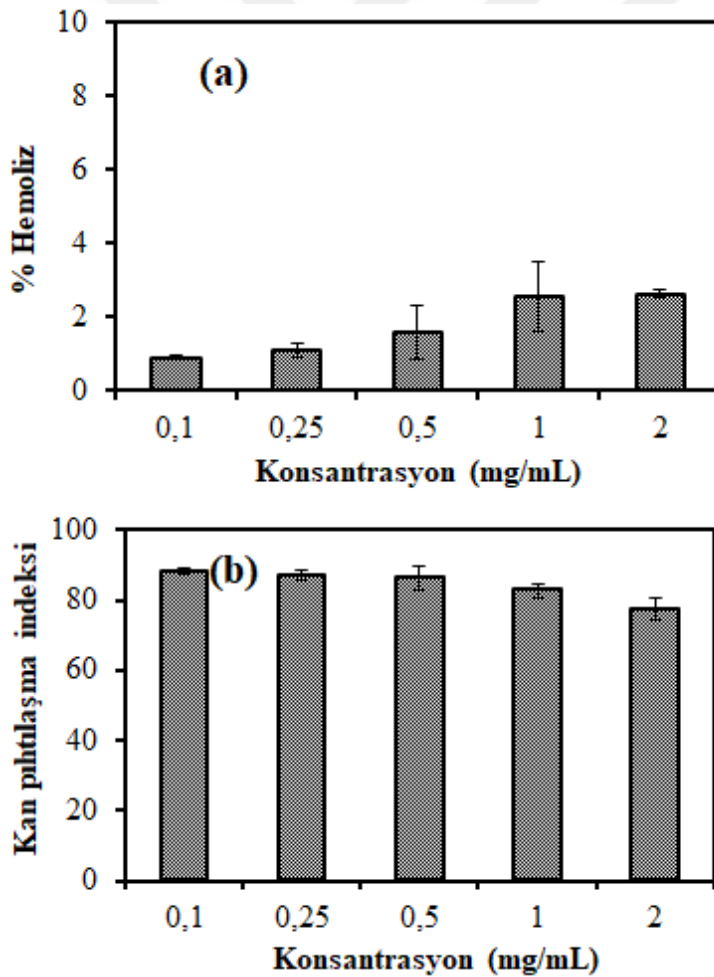
4.2. Gam Esaslı Makro, Mikro ve Nano Yapıların Biyomedikal Alanda Kullanımı

4.2.1. Kan Uyumlulukları

Özellikle vücut sıvısı ile temas edebilecek yeni biyomalzemelerin uygulama alanlarının belirlenmesi için bu malzemelerin kan uyumluluklarının bilinmesi gerekmektedir. Eritrositlerin (alyuvarların) ozmotik dengesinin bozulması veya çeşitli kimyasal, fiziksel, mekanik etmenlerden dolayı hücre zarlarının parçalanması sonucunda vücutta hemoliz olayı gerçekleşir. Hazırlanan gam esaslı polimerik yapıların % 0-2 arasında hemolitik olmayan, % 2-5 az hemolitik ve % 5 ve üzeri hemoliz oranlarında hemolitik malzeme olarak adlandırılır. Ayrıca, % hemoliz oranının % 5'in altında olması

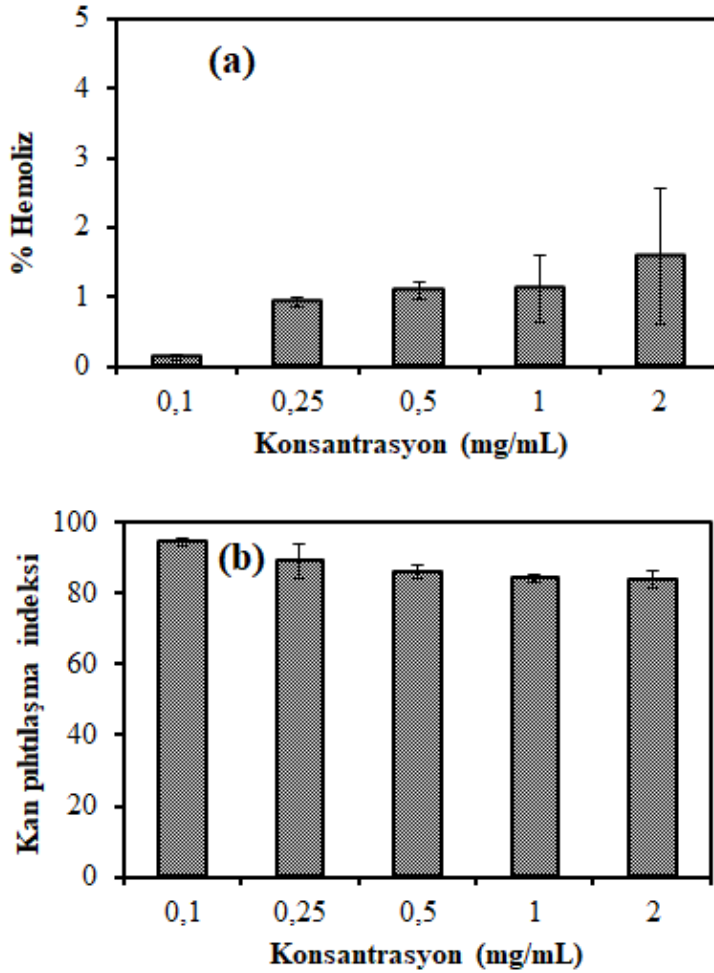
vücut içerisinde kan ile uyumlu sayılmaktadır (Li ve ark., 2015). Hazırlanan polimerik yapıların tıp alanında kullanım potansiyellerini incelemek amacı ile polimerik yapıların kan ile etkileştiğinde kanın % hemoliz oranı araştırılarak gam esaslı polimerik yapıların kan uyumlulukları belirlenmiştir.

Bunun dışında açık yaralarda kan akışının durdurulamayarak meydana gelebilecek kan kaybının önlenmesi için kanın pıhtılaşması önemlidir. Bazı hastalarda kendinden ya da kullanılan ilaçlardan dolayı kan akışı durdurulamayarak oluşabilecek yaralanmalarda kan kaybından ölümler gerçekleşebilmektedir. Özellikle yara kaplama malzemelerinin kanın pıhtılaşmasını sağlayacak bileşenler içermesi malzemeye oldukça önemli bir özellik kazandırmış olur. Böylece hazırlanan gam esaslı polimerik yapıların % kan pıhtılaşma indeksleri araştırılarak biyomedikal alanda potansiyel kullanımları için uygunluğu belirlenmiştir.



Şekil 4.22. Farklı konsantrasyonlardaki XG mikrojellerinin (a) hemoliz ve (b) kan pıhtılaşma testleri ile kan uyumlulukları

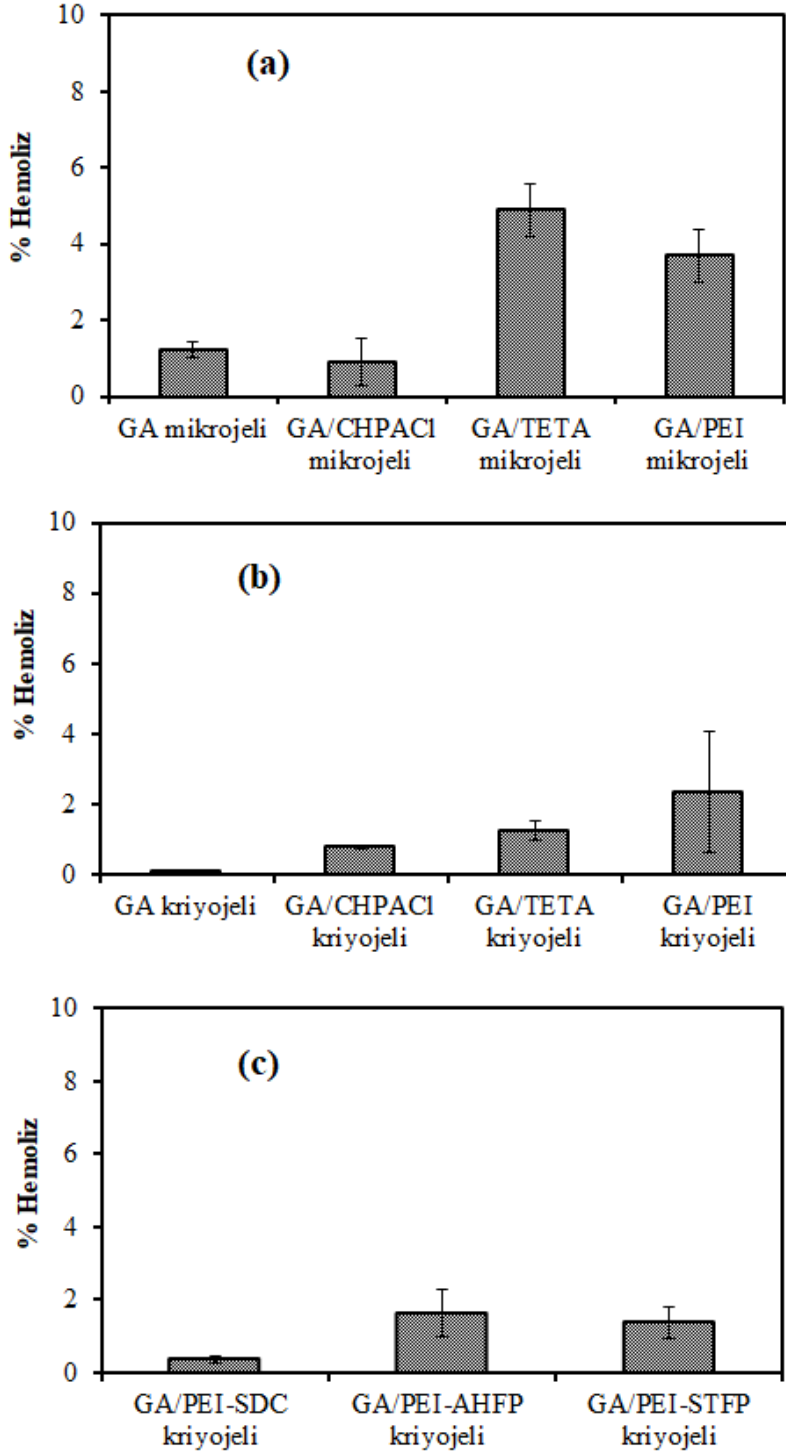
XG mikrojellerinin hemoliz ve kan pıhtılaşma testlerine göre 0,1 ile 2 mg/mL arası değişen farklı konsantrasyonlardaki kan uyumlulukları Şekil 4.22. (a) ve (b)'de verilmiştir. Sonuçlara göre, XG mikrojellerinin kan ile temas ettiğinde % $0,88 \pm 0,06$ ile % $2,61 \pm 0,12$ arasında değişen hemoliz oranları ile kan içi uygulamalarında biyouyumlu olduğu bulunmuştur. Ayrıca 0,1 ile 2 mg/mL arası konsantrasyonlarda % $88,14 \pm 0,8$ ile % $77,59 \pm 2,9$ arasında değişen kan pıhtılaşma indekslerine göre, XG mikrojellerinin kanın pıhtılaşma mekanizması üzerinde önemli ölçüde bir etkisinin olmadığı ve böylece kan içi uygulamalarda kullanılabilceği sonucuna varılmıştır. Hazırlanan GG mikrojellerinin göre 0,1 ile 2 mg/mL arasındaki beş farklı konsantrasyon değerinde kan uyumlulukları hemoliz (a) ve kan pıhtılaşma testleri (b) ile belirlenmiş ve sonuçlar Şekil 4.23.'de verilmiştir



Şekil 4.23. Farklı konsantrasyonlardaki GG mikrojellerinin (a) hemoliz ve (b) kan pıhtılaşma testleri ile kan uyumlulukları

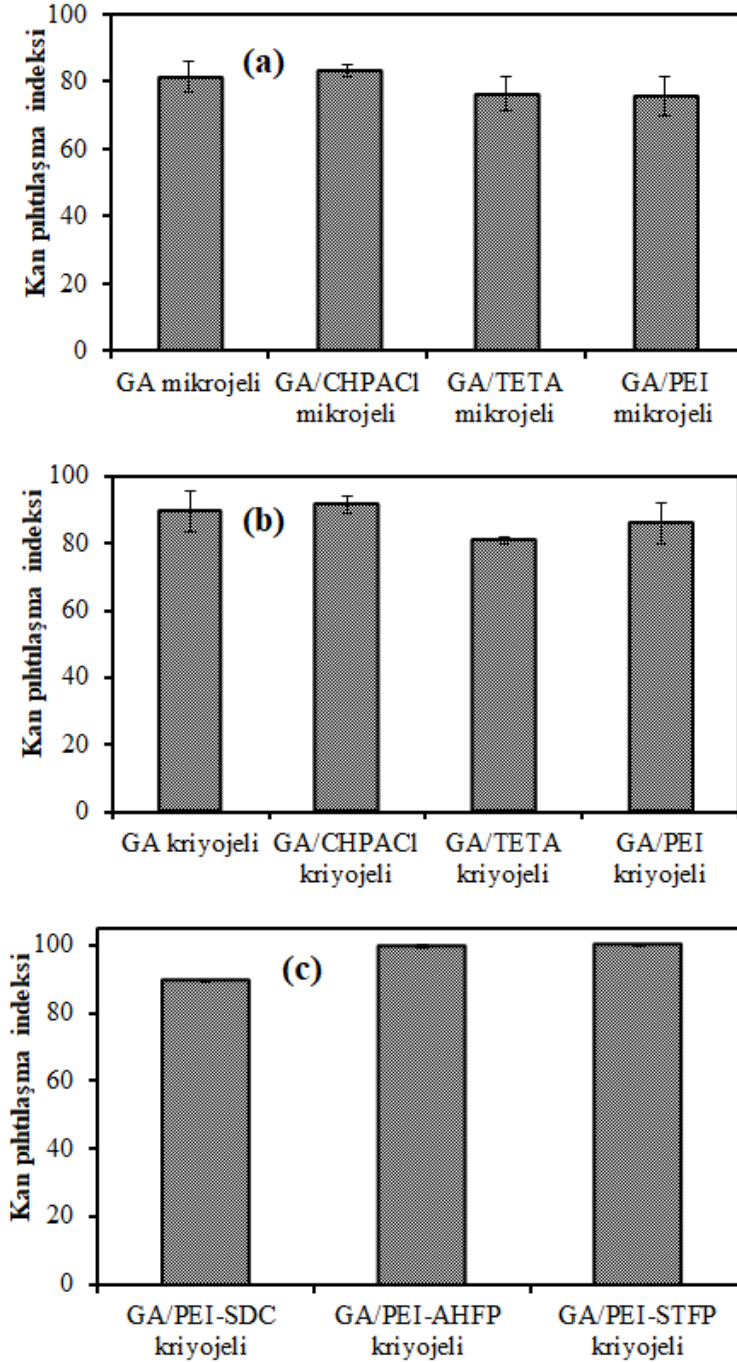
GG mikrojellerinin 2 mg/mL konsantrasyon değerine kadar maksimum % $1,59 \pm 0,97$ hemoliz oranı ve minimum % $84 \pm 2,61$ kan pıhtılaşma indeksi ile kan içi uygulamalarda

kullanıldığında kan hücrelerine ve kanın pıhtılaşma mekanizmasına herhangi bir olumsuz etkisi olmadığı görülmektedir. Böylece hazırlanan GG mikroenjelleri kan ile temas edebilecek biyomedikal uygulamalarda kullanılabilme potansiyelinin oldukça yüksek olduğu sonucuna varılmıştır.



Şekil. 4.24. GA ve modifiye GA (a) mikroenjelleri, (b) kriyojenlerinin ve (c) GA esaslı iyonik sıvı kriyojenlerin hemoliz testine göre kan uyumlulukları

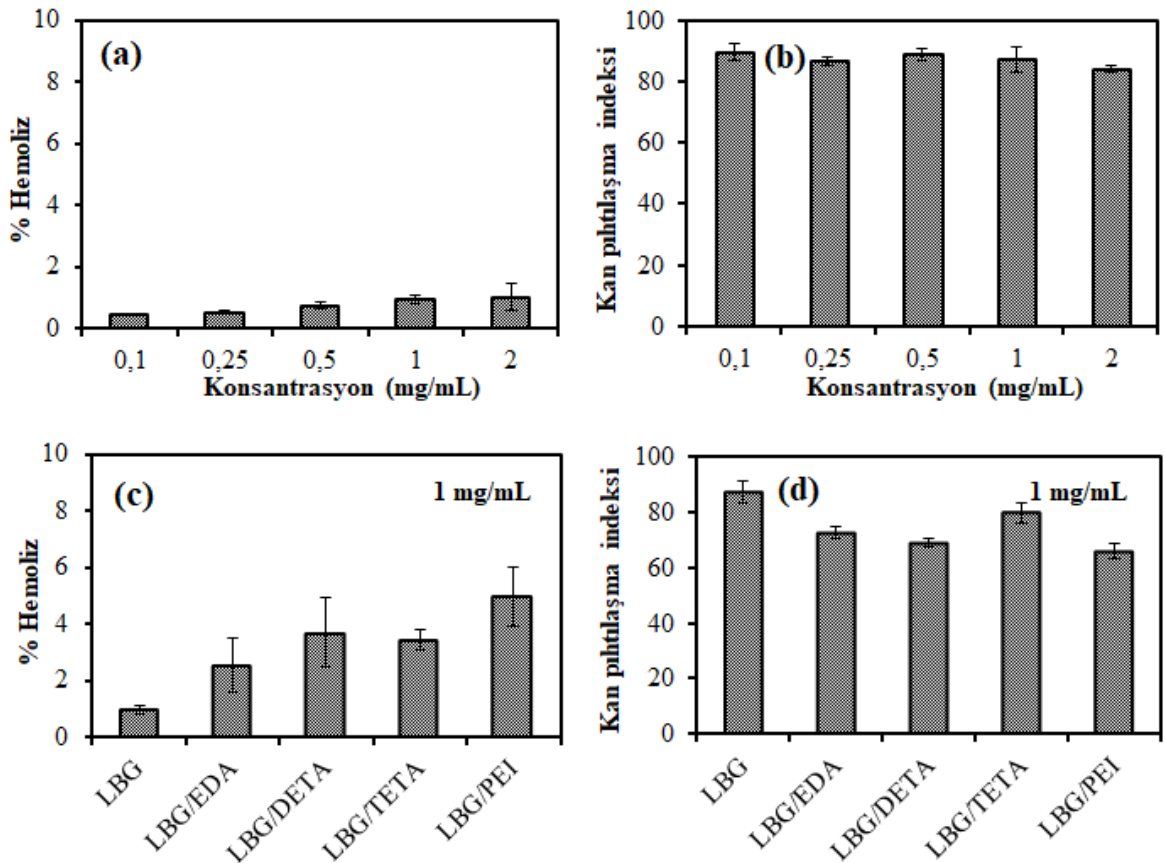
Boş, modifiye ve IL formdaki GA esaslı mikrojel ve kriyojellerin kan uyumlulukları hemoliz ve kan pıhtılaşma testlerine göre belirlenmiştir. Şekil 4.24. (a) ve (b)'deki verilere göre, GA ve GA/CHPACI mikrojel/kriyojelleri kırmızı kan hücreleri üzerinde önemli ölçüde hemolitik etkileri görülmezken, TETA ve PEI ile modifiye edilmiş GA mikrojellerin yapısındaki amin gruplarından dolayı % $4,89 \pm 0,69$ ve % $3,68 \pm 0,68$ oranında hemolitik etkisi olduğu görülmüştür.



Şekil 4.25. GA ve modifiye GA (a) mikrojelleri, (b) kriyojellerinin ve (c) GA esaslı iyonik sıvı kriyojellerin kan pıhtılaşma testine göre kan uyumlulukları

Ayrıca, IL formundaki GA kriyojellerinin hemolitik oranları incelenerek sonuçlar Şekil 4.24. (c)'de verilmiştir. Sonuçlara göre, SDC-GA/PEI, AHFP-GA/PEI ve STFB-GA/PEI kriyojellerinin hemolitik etkileri sırasıyla % $0,36\pm0,11$, % $1,63\pm0,67$ ve % $1,38\pm0,43$ değerleri ile kan için oldukça uyumlu bulunmuştur.

Şekil 4.25. (a) ve (b)'deki verilen kan pıhtılaşma testine göre ise, GA ve modifiye GA mikrojel/kriyojellerinin kan pıhtılaşma indeksleri % 78,6 ile % 91,57 arasında değişmektedir. Sonuçlara göre, GA mikrojel/kriyojellerini TETA ve PEI ile modifiye formlarının kan pıhtılaşma indeksleri biraz düşerken, kan pıhtılaşma mekanizması üzerinde herhangi bir olumsuz etkisinin olmadığı ve kan pıhtılaşma testine göre kan uyumlu malzemeler olduğu bulunmuştur. Şekil 4.25. (c)'de verilen sonuçlara göre, IL formundaki SDC-GA/PEI, AHFP-GA/PEI ve STFB-GA/PEI kriyojelleri % $89,42\pm0,37$, % $99,68\pm0,44$ ve % $99,74\pm0,16$ gibi oldukça yüksek kan pıhtılaşma indeksleri ile oldukça kan uyumlu malzemeler olduğu sonucuna varılmıştır.



Şekil 4.26. Farklı konsantrasyonlardaki LBG mikrojellerinin (a) hemoliz ve (b) kan pıhtılaşma testleri ile kan uyumlulukları, 1 mg/mL konsantrasyondaki LBG mikrojel ve modifiye formlarının (c) hemoliz ve (d) kan pıhtılaşma testleri ile kan uyumlulukları

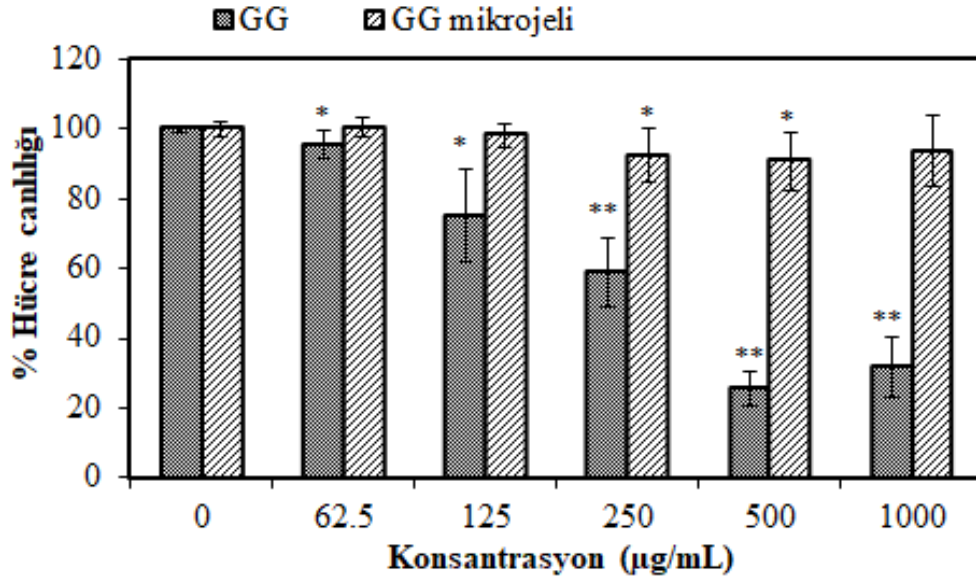
LBG mikrojelinin ve modifiye formlarının kan uyumlulukları hemoliz ve kan pıhtılaşma testlerine göre belirlenmiş ve sonuçlar Şekil 4.26.'da verilmiştir. Şekil 4.26. (a)'daki sonuçlara göre, LBG mikrojellerinin kan içerisindeki konsantrasyonu 0,1 mg/mL'den 2 mg/mL'ye kadar arttırıldığında, kanın % 0,49±0,02 ile % 1,03±0,46 oranları arasında hemoliz olduğu görülmektedir.

Şekil 4.26. (b)'de gösterilen kan pıhtılaşma testine göre, aynı konsantrasyon aralığındaki LBG mikrojellerinin % 89,63±2,6 ile % 84,22±1,2 arasında değişen kan pıhtılaşma indekslerine sahip olduğu görülmüştür. Kan testi sonuçlarına göre, LBG mikrojellerinin çok yüksek konsantrasyonlarda bile çok düşük hemoliz oranı ve yüksek kan pıhtılaşma indeksi ile eritrosit hücrelerine zarar vermediği ve kanın pıhtılaşma mekanizması üzerinde olumsuz bir etkisinin olmayışı ile kan için uyumlu bir malzeme olduğu sonucuna varılmıştır.

Farklı amin kaynakları ile modifiye edilmiş LBG mikrojellerinin de kan uyumlulukları hemoliz ve kan pıhtılaşma testlerine göre araştırılmıştır ve sonuçlar Şekil 4.26. (c) ve (d)'de verilmiştir. Sonuçlar incelendiğinde, 1 mg/mL konsantrasyondaki modifiye LBG/EDA, LBG/DETA, LBG/TETA ve LBG/PEI mikrojelleri sırasıyla % 2,54±0,96, % 3,69±1,23, % 3,42±0,36 ve % 4,96±1,03 hemoliz oranlarına ve % 72,65±2,3, % 68,95±1,23, % 79,62±3,56 ve % 65,98±2,55 kan pıhtılaşma indekslerine sahip olduğu bulunmuştur. Amin grupları bağlanmış modifiye LBG mikrojellerinin kan uyumlulukları modifiye ajanın yapısındaki amin sayısı arttıkça azaldığı görülmektedir. Elde edilen kan testi sonuçlarına göre, modifiye LBG mikrojelleri kan ile etkileştiğinde az hemolitik seviyesi ve yüksek kan pıhtılaşma indeksleri ile kan için uyumlu malzemeler oldukları bulunmuştur.

4.2.2. Sitotoksisiteleri

Biyomedikal uygulamalarda kullanılacak malzemelerin vücut içerisinde hücrelerle etkileştiğinde hücreler üzerindeki toksik etkisinin yani sitotoksitesinin belirlenmesi malzemelerin kullanılabilirlikleri açısından oldukça önemlidir. Farklı konsantrasyon değerlerindeki lineer GG ve GG mikrojellerinin COS-1 fibroblast hücreleri üzerindeki sitotoksisiteleri incelenerek Şekil 4.27'de verilmiştir. ISO 10993-5 standartlarına göre, hücreler ile etkileşen malzemeler, % 100-60 hücre ölümü oranları arasında biyoyumlu olarak kabul edilmektedirler (ISO 10993-5, 2009; Sarika ve James, 2015).



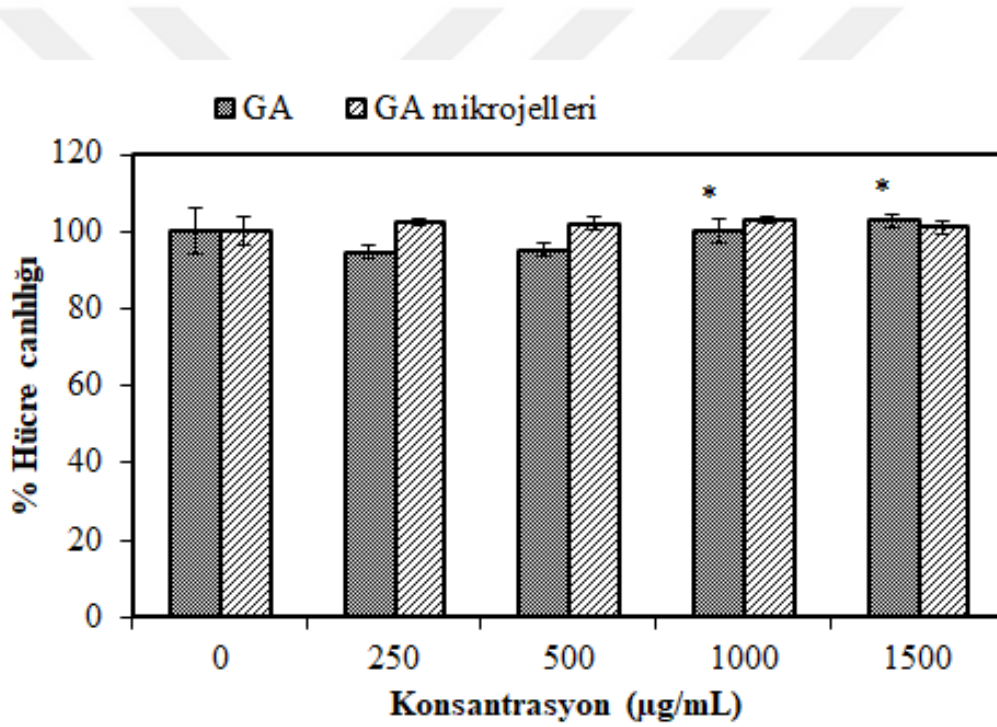
Şekil 4.27. Linear GG ve GG mikrojellerinin COS-1 fibroblast hücreleri üzerindeki sitotoksisite (t testine göre * $p < 0,05$ ve ** $p < 0,0001$)

Sonuçlar incelendiğinde 62,5 ile 1000 µg/mL konsantrasyon aralığındaki linear GG'nin COS-1 fibroblast hücreleri ile etkileştiğinde 125 µg/mL konsantrasyon değerlerine kadar minimum % 75,21±13,14 hücre canlılığı elde edilmiştir. GG mikrojellerinin COS-1 fibroblast hücreleri üzerindeki sitotoksisite incelendiğinde, 1000 µg/mL konsantrasyonda bile % 93,69±10,27 hücre canlılığı görülmektedir.

Çizelge 4.3. Farklı konsantrasyonlardaki gam esaslı malzemelerinin sitotoksisite sonuçlarının kontrol grubuna göre istatistiksel analiz sonuçları (p değerleri)

Konsantrasyon (µg/mL)	GG	GG mikrojel	GA	GA mikrojel	LBG	LBG mikrojel
62,5	0,0081	0,5314	-	-	0,0009	0,1708
125	0,0016	0,0682	-	-	0,3532	0,0055
250	< 0,0001	0,0249	0,1348	0,1505	0,003	0,8746
500	< 0,0001	0,015	0,0654	0,0525	0,3553	0,8746
1000	< 0,0001	0,0978	0,0214	0,079	0,0965	0,5778
1500	-	-	0,0023	0,5161	-	-

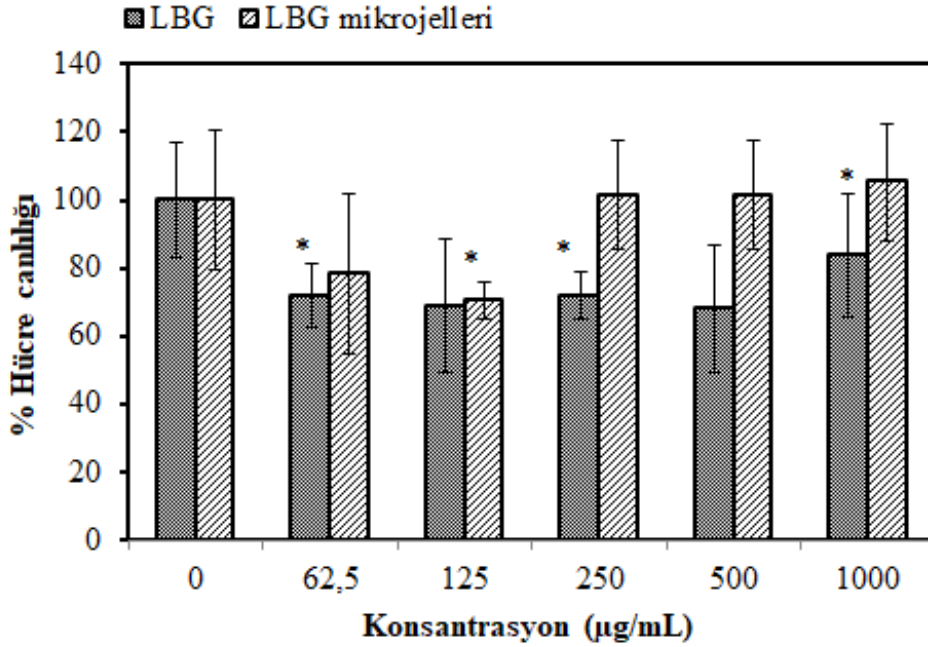
Farklı konsantrasyon değerlerindeki gam esaslı malzemelerin kontrol grubu ile kıyaslanarak istatistiksel analiz sonuçları yani p değerleri Çizelge 4.3.'te verilmiştir. Lineer GG'in istatistiksel analiz sonuçları incelendiğinde, 125 µg/mL konsantrasyona kadar $p < 0,05$ değeri ile kontrol grubu ile kıyaslandığında aralarında anlamlı bir fark vardır. Daha yüksek konsantrasyonlardaki lineer GG için ise hücre canlılıkları oldukça düştüğü ve $p < 0,0001$ değerleri ile kontrol ile kıyaslandığında istatistiksel olarak çok büyük fark olduğu bulunmuştur. Çapraz bağlı GG mikrojuellerinin istatistiksel analiz sonuçlarına göre genel olarak $p > 0,05$ değerleri ile kontrol grubu ile aralarında bir fark olmadığı görülmektedir. Böylece biyomedikal uygulamalar için hazırlanan GG mikrojuellerinin COS-1 fibroblast hücreleri üzerinde hiçbir toksik etkisinin olmadığı ve biyouyumlu olduğu sonucuna varılmıştır.



Şekil 4.28. Lineer GA ve GA mikrojuellerinin COS-1 fibroblast hücreleri üzerindeki sitotoksiteleri (t testine göre $*p < 0,05$)

Lineer GA ve çapraz bağlı GA mikrojuellerinin COS-1 fibroblast hücreleri üzerindeki sitotoksik etkileri incelenmiş ve sonuçlar Şekil 4.28.'de verilmiştir. Sonuçlara göre, lineer GA ve GA mikrojuelleri için 250-1500 µg/mL konsantrasyon değerleri arasında hiçbir toksik etki görülmezken, 1500 µg/mL konsantrasyon değerlerinde hücre canlılığını arttırarak % $102 \pm 1,7$ ve % $101 \pm 0,3$ olarak ölçülmüştür. Değerlerin % 100'ün üzerinde olması GA mikrojuellerinin hücrelerin gelişimi ve çoğalmasını tetikleyici etkisi olduğunu

göstermektedir. Ayrıca Çizelge 4.3.'te verilen istatistiksel analiz sonuçlarına bakıldığında GA mikrojuellerinin $p>0,05$ değerleri ile kontrol grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak aralarında anlamlı bir fark görülmemiştir. Böylece GA mikrojuellerinin fibroblast hücreleri üzerinde herhangi bir toksik etkisinin olmadığı ve aynı kontrol grubu gibi davrandığı gözlemlenmiştir.



Şekil 4.29. Lineer LBG ve LBG mikrojuellerinin COS-1 fibroblast hücreleri üzerindeki sitotoksisiteleri (t testine göre $*p<0,05$)

Lineer LBG ve LBG mikrojuellerinin COS-1 fibroblast hücreleri ile etkileştiğinde % hücre canlılığı sonuçları Şekil 4.29'da verilmiştir. Sonuçlara göre, Lineer LBG'ın 62,5 ile 1000 µg/mL konsantrasyon aralığındaki % 72,00±9,35 ile % 83,71±18,01 arası değişen hücre canlılığı ile COS-1 fibroblast hücrelerine karşı biyoyumlu yapıda olduğu görülmektedir. LBG mikrojuellerinin etkileşen COS-1 fibroblast hücrelerinin hücre canlılıkları incelendiğinde, minimum % 70,52±5,24 ve maksimum % 105,37±17,16 hücre canlılıkları ile çapraz bağlı LBG mikrojuellerinin lineer yapıdaki LBG'a kıyasla daha biyoyumlu yapıda olduğu sonucuna varılmıştır. Çizelge 4.3.'teki istatistiksel analiz sonuçlarına göre ise, lineer LBG'ın $p<0,05$ değerleri ile kontrol grubuyla aralarında fark olduğu fakat LBG mikrojuellerinin $p>0,05$ değerleri ile kontrol grubuyla kıyaslandığında aralarında anlamlı bir fark olmadığı sonucuna varılmıştır.

4.2.3. Antimikrobiyal Özellikleri

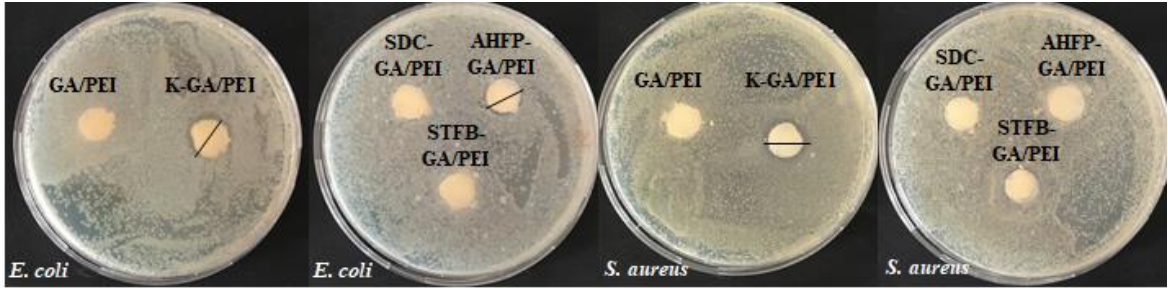
Yaşadığımız ortamda yaygın olarak bulunan ve birçok hastalığın başlıca nedeni olan zararlı mikroorganizmalar, antimikrobiyal özellik gösteren malzemeler sayesinde inhibe edilebilir ve hatta yok edilebilirler. Bu amaç doğrultusunda son yıllarda, antimikrobiyal duyarlılığı olan polimerik yapıların hazırlanması biyomedikal uygulamalar için oldukça önemli bir konu haline almıştır. Tez kapsamında sentezlenen GA mikroenjelleri, yapısında dallanmış amin grupları içeren ve antimikrobiyal etkinliği ile bilinen PEI ile modifiye edilerek katyonik yapıdaki GA/PEI mikroenjelleri hazırlanmış ve HCl ile muamele edilerek yapıdaki NH₂ grupları protonlanmıştır. GA esaslı mikroenjellerinin *E. coli* (gram -) ve *S. aureus* (gram +) bakterileri üzerindeki antimikrobiyal etkinlikleri makro dilüsyon ve difüzyon testlerine göre belirlenmiş ve sonuçlar Çizelge 4.4.'te verilmiştir.

Çizelge 4.4. GA esaslı mikroenjellerin makro dilüsyon ve difüzyon metodlarına göre *Escherichia coli* ATCC 8739 (gram -) ve *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 (gram +) mikroorganizmaları üzerinde minimum inhibisyon konsantrasyonları ve zon çapları

Mikroenjeller	Minimum inhibisyon konsantrasyonu (mg/mL)		Zon çapı (mm)	
	<i>E. coli</i> (gram -)	<i>S. aureus</i> (gram +)	<i>E. coli</i> (gram -)	<i>S. aureus</i> (gram +)
GA	-	-	-	-
GA/PEI	-	-	-	-
K-GA/PEI	5	10	13 ± 2	13 ± 1
SDC-GA/PEI	-	-	-	-
AHFP-GA/PEI	10	10	11 ± 1	-
STFB-GA/PEI	20	20	-	-

Sonuçlar incelendiğinde, GA ve modifiye GA/PEI mikroenjellerinin her iki mikroorganizma üzerinde herhangi bir antimikrobiyal etkinliği bulunmazken, HCl ile protonlanarak kuaternize edilmiş GA/PEI mikroenjellerinin *E. coli* ve *S. aureus* bakterilerine karşı makro dilüsyon yöntemine göre MİK değerlerinin 5 ve 10 mg/mL olduğu bulunmuştur. GA esaslı mikroenjellerinin difüzyon metoduna göre *Escherichia coli*

ATCC 8739 (gram -) ve *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 (gram +) mikroorganizmaları üzerindeki zon çaplarının dijital kamera görüntüleri Şekil 4.30.'da gösterilmiştir. Görüntüler incelendiğinde K-GA/PEI mikrojelleri difüzyon testine göre *E. coli* ve *S. aureus* bakterilerine karşı sırasıyla 13±2 ve 13±1 mm zon çapı oluşturduğu görülmektedir.



Şekil 4.30. GA esaslı mikrojellerinin difüzyon metoduna göre *Escherichia coli* ATCC 8739 (gram -) ve *Staphylococcus aureus* ATCC 6538 (gram +) mikroorganizmaları üzerindeki zon çaplarının dijital kamera görüntüleri

Ardından polimerik iyonik sıvı (IL) formundaki SDC-GA/PEI, AHFP-GA/PEI ve STFB-GA/PEI mikrojellerinin *E. coli* ve *S. aureus* bakterileri üzerindeki antimikrobiyal etkileri makro dilüsyon ve difüzyon testleri ile incelenmiş ve sonuçlar Çizelge 4.4.'te verilmiştir. Yapısında $\text{NH}_3^+[\text{N}(\text{CN})_2]^-$ IL grubu içeren SDC-GA/PEI mikrojellerinin *E. coli* ve *S. aureus* üzerinde herhangi bir inhibe edici etkisinin olmadığı bulunmuştur. Ayrıca, $\text{NH}_3^+[\text{PF}_6]^-$ grubuna sahip AHFP-GA/PEI mikrojelleri *E. coli* ve *S. aureus* mikroorganizmalarına karşı 10 mg/mL MİK değerine sahipken, difüzyon metoduna göre sadece *E. coli* türüne karşı 11±1 mm çapında inhibisyon sağladığı bulunmuş ve görüntüler Şekil 4.30'da verilmiştir. Bir diğer malzeme olan STFB-GA/PEI mikrojellerinin ise yapısındaki $\text{NH}_3^+[\text{BF}_4]^-$ gruplarını sayesinde *E. coli* ve *S. aureus* mikroorganizmalarına karşı 20 mg/mL MİK değerine sahipken, difüzyon testine göre bakteriler üzerinde herhangi bir inhibe edici etkisinin olmadığı görülmektedir. Sonuçlara göre, biyoyumlulukları yüksek olan boş ve modifiye GA ve GA/PEI mikrojelleri protonlandıklarında +52,15±4,80 mV gibi yüksek zeta potansiyel değeri ile etkili bir antimikrobiyal malzeme formuna dönüştürülmüştür. İyonik sıvılar hidrofobik yapıları ve iyonik yapıdaki çeşitli grupları ile çeşitli mikroorganizmalar üzerinde antimikrobiyal etkilerinin olduğu bilinmektedir. IL formundaki GA/PEI esaslı mazlemelerinin antimikrobiyal etkilerinin kuaternize GA/PEI mikrojellerine kıyasla daha düşük olduğu görülmektedir.

4.2.4. *In Vitro* İlaç Salımı

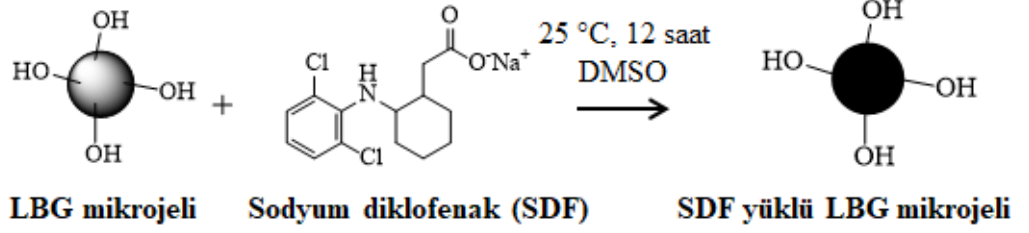
Biyouyumlu ve biyobozunur özelliklerinden dolayı yenilenebilir kaynaklardan elde edilen doğal polimerlerden hazırlanan biyomalzemeler, ilaç taşıyıcı ve kontrollü salım sistemleri olarak kullanım potansiyelleri oldukça yüksektir.

Özellikle yüzey morfolojileri ve moleküler yapılarının kontrol edilebilir olması, yumuşak ve elastik yapıdaki doğal polimerlerden hazırlanan farklı şekil ve boyutlardaki mikrojeller ilaç salımı çalışmalarında yaygın olarak kullanılmaktadır. Gam esaslı polimerik yapıların ilaç salım çalışmalarında kullanım potansiyellerini araştırmak amacı ile LBG esaslı mikrojellere model ilaç olarak sodyum diklofenak (SDF) etken maddesi yüklenerek pH 7,4 ve 37,5 °C olan fizyolojik koşullarda salım profilleri incelenmiştir.

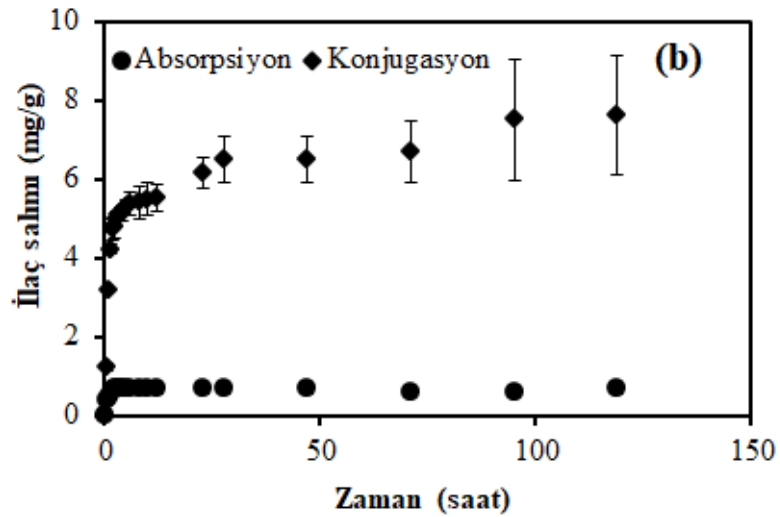
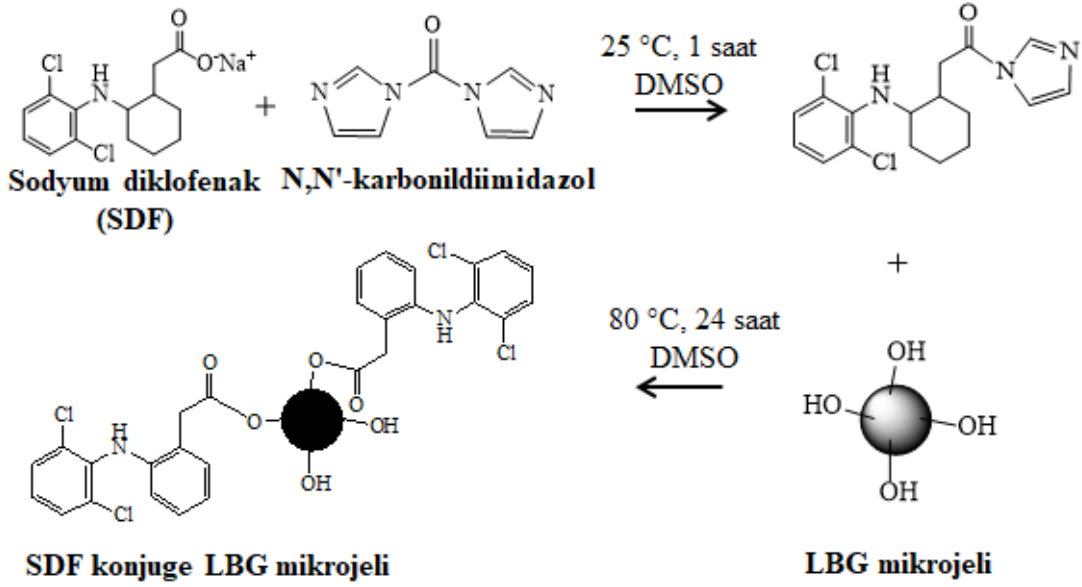
Şekil 4.30. (a)'da gösterildiği gibi, ilaç yükleme kapasitesini arttırmak, uzun süreli, lineer bir salım sağlamak ve kontrol edilebilir bir salım gerçekleştirmek için SDF ilacı LBG mikrojellerine fiziksel olarak yani absorpsiyon yöntemi ile ve kimyasal olarak yani konjugasyon yöntemi kullanılarak iki farklı şekilde yüklenmiştir. 1. yöntemde DMSO içerisinde çözülmüş SDF ilacı doğrudan absorpsiyon yoluyla LBG mikrojellerine 12 saatte yüklenmiştir. 2. yöntem olan konjugasyon metoduna göre, DMSO içerisinde çözülmüş SDF, N,N'-karbonildiimidazol aktifleştirici ajanı ile oda sıcaklığında 1 saat reaksiyona bırakılmış ve ardından ortama LBG mikrojelleri eklenerek 12 saat 80 °C sıcaklıkta LBG mikrojellerine kimyasal olarak bağlı SDF konjugasyonu gerçekleştirilmiştir. Reaksiyon mekanizması incelendiğinde N,N'-karbonildiimidazol molekülü SDF ilacının karboksilik asit grubuna bağlanarak, ilacın karboksilik asit grubunun LBG mikrojellerinin hidroksil gruplarına esterifikasyon bağı ile bağlanması için aktifleştirici ajan olarak kullanılmıştır (Zhang ve ark., 2014).

Absorpsiyon ve konjugasyon yöntemleri ile yüklenen ilacın fizyolojik koşullardaki *in vitro* salım profilleri incelenerek sonuçlar 4.30. (b) ve Çizelge 4.5.'de verilmiştir. Absorpsiyon ile ilaç yüklenmiş LBG mikrojelleri pH 7,4 ve 37,5 °C sıcaklıkta 0,69±0,14 mg/g ilacı 2,5 saat gibi çok kısa bir sürede salarken, SDF konjuge LBG mikrojelleri 7,63±1,5 mg/g ilacı lineer bir şekilde 120 saatte salmıştır. Sonuçlara göre, SDF ilacını LBG mikrojellerine kimyasal olarak bağlandığında yani konjugasyon yolu ile ilaç yüklemesi yapıldığında, fiziksel yolla yani doğrudan ilacın absorpsiyonu ile ilaç yüklenmesine nazaran yaklaşık 10 katı ilacın uzun süreli ve belirli dozajlarda salarak LBG mikrojellerinin kontrollü bir salım profili sergilediği görülmektedir.

(1) İlaç absorpsiyonu:



(2) İlaç konjugasyonu:



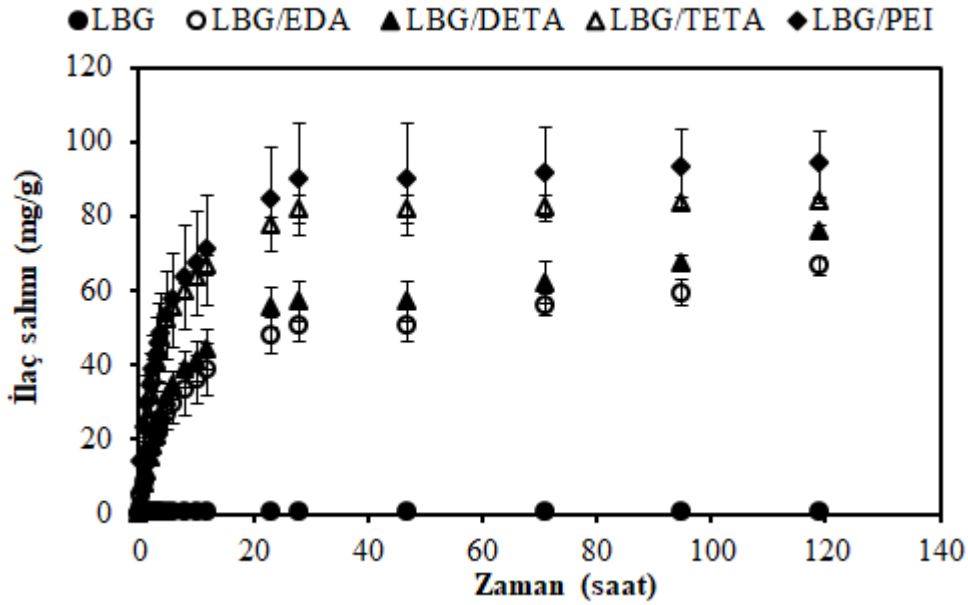
Şekil 4.30. (a) LBG mikrojeline absorpsiyon ve konjugasyon yöntemleri ile sodyum diklofenak (SDF) ilacının yüklenmesinin şematik gösterimi. (b) Absorpsiyon ve konjugasyon yöntemleri ile ilaç yüklenmiş LBG mikrojellerinden pH 7,4 ve 37,5 °C olan fizyolojik koşullarda SDF salımı

LBG ve farklı amin kaynakları ile modifiye edilmiş LBG mikroenjellerinin SDC ilacını yükleyerek, pH 7,4 ve 37,5 °C olan fizyolojik koşullarda salım profilleri incelenmiştir. Çizelge 4.2. incelendiğinde, LBG mikroenjellerinin 0,95 mg/g SDC ilacı yüklerken, modifiye LBG mikroenjelleri yapısındaki amin gruplarının sayısına bağlı olarak 89,18 ile 101,4 mg/g SDC ilacı yüklemiştir. Sonuçlara göre, amin grupları içeren modifiye LBG mikroenjelleri SDC ilacı ile daha fazla etkileşime geçerek modifiye edilmemiş LBG formuna göre yaklaşık 100 katı fazla ilacı yüklediği görülmektedir. Ayrıca modifiye ajanların yapısındaki amin sayısı arttıkça modifiye LBG mikroenjellerinin daha fazla ilaç yüklediği sonucuna varılmıştır.

Çizelge 4.5. LBG ve modifiye LBG mikroenjellerinin SDC ilacını yükleme ve salma miktarları

Mikroenjeller	Yüklenen ilaç (mg/g)	Salınan ilaç (mg/g)	Salınan ilaç (%)
LBG	0,95	0,69±0,14	72,6±9,1
LBG/EDA	89,18	66,62±2,25	74,7±2,5
LBG/DETA	94,16	75,82±1,73	80,5±1,8
LBG/TETA	96,50	84,07±0,67	87,1±0,7
LBG/PEI	101,4	94,14±4,84	92,8±4,7

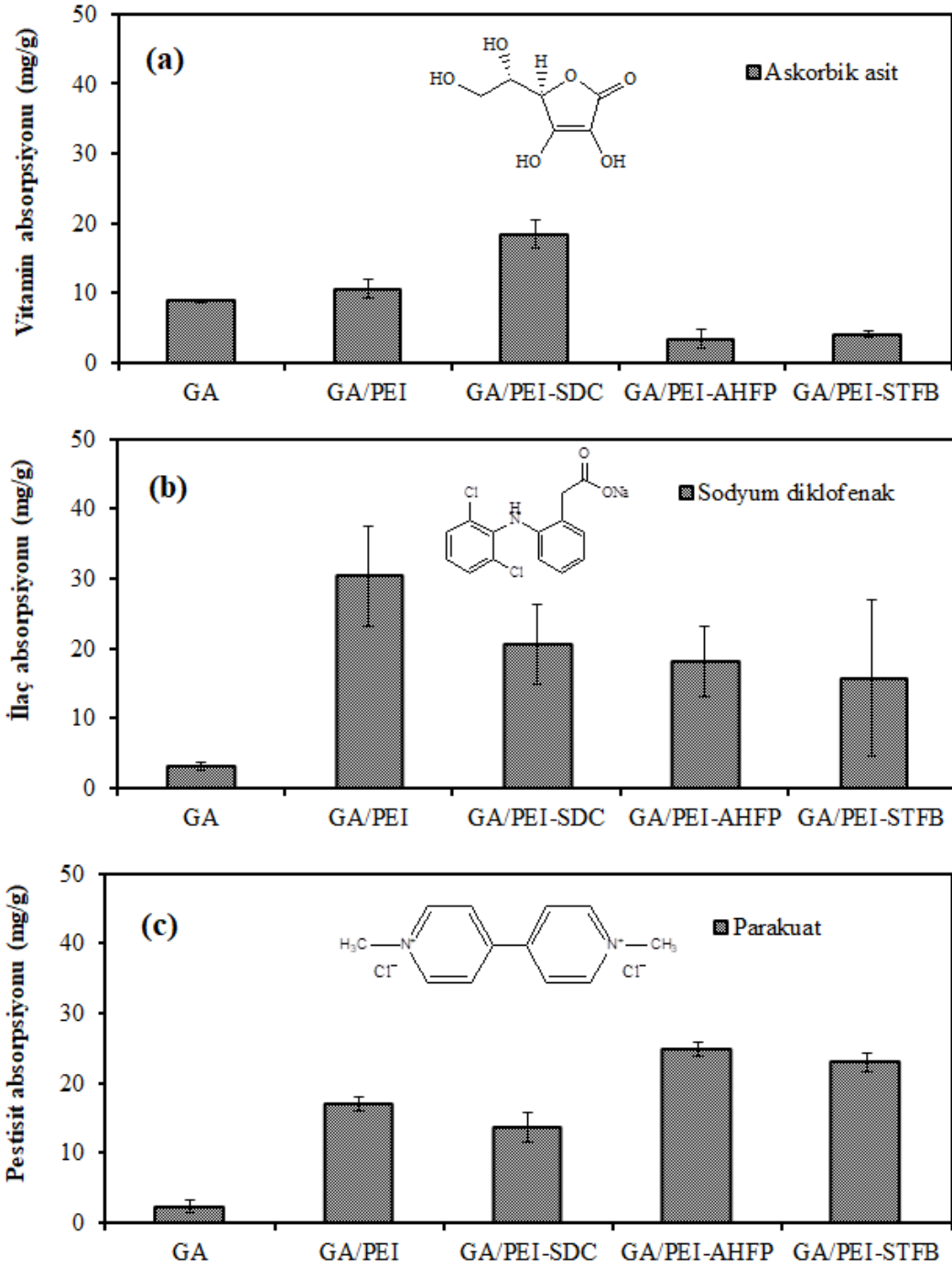
SDF model ilacı yüklü LBG ve modifiye LBG mikroenjellerinin pH 7,4 ve 37,5 °C olan fizyolojik koşullarda salım profilleri Şekil 4.31.'de verilmiştir. Sonuçlar incelendiğinde, LBG mikroenjeli yüklediği ilacın % 72,6±9,1'ini yani 0,69±0,14 mg/g ilacı 2,5 saat gibi çok kısa bir sürede salarken, modifiye LBG/PEI mikroenjellerinin yüklediği ilacın % 92,8±4,7'sini yani 94,14±4,7 mg/g ilacı 120 saatte lineer bir şekilde saldığı görülmektedir.



Şekil 4.31. İlaç yüklü LBG ve modifiye LBG mikrojellerinden pH 7,4 ve 37,5 °C koşullarındaki fizyolojik koşullarda SDF salımı

4.2.5. Biyoayırma ve Saflaştırma Özellikleri

Makro ve süper gözenekli hidrojeller olarak bilinen kriyojeller sünger benzeri yapılardır ve uygun bir çözücü içerisinde birbirleriyle bağlantılı süper gözenekli yapıları sayesinde yaklaşık 10 sn gibi hızlı bir sürede şişerek maksimum şişme kapasitelerine ulaşmalarından dolayı son yıllarda biyoayırma ve saflaştırma çalışmalarında oldukça tercih edilen malzemeler olmuşlardır. Gözenekli yapısının yanı sıra kimyasal yapısının kolayca modifiye edilmesi ile saflaştırmak istenilen moleküllere karşı daha seçici kriyojeller basit modifikasyonlar ile sağlanabilmektedir. Hazırlanan GA kriyojelleri ve bu kriyojellerin PEI gibi yapısında dallanmış amin grupları içeren katyonik bir molekül ile modifiye formu ve hatta $\text{Na}[\text{N}(\text{CN})_2]^-$ (SDC), $\text{NH}_4[\text{PF}_6]^-$ (AHFP) ve $\text{Na}[\text{BF}_4]^-$ (STFB) gibi iyonik yapılar ile hazırlanan polimerik iyonik sıvı (IL) formlarının çeşitli moleküller üzerindeki absorpsiyon etkileri incelenmiştir. Biyoayırma ve saflaştırma çalışmalarında insan vücuduna çeşitli etmenlerden ötürü alınan ve belirli oranlardan sonra toksik etkileri olabilecek askorbik asit (AA) vitamini (C vitamin), sodyum diklofenak (SDF) ilacı ve oldukça toksik yapıdaki parakuat (PK) pestisiti gibi biyoaktif moleküller kullanılmıştır. Model olarak seçilen vitamin, ilaç ve toksin yani pestisit moleküller yapıları ile GA esaslı kriyojellerinin pH 7,4 ve 37,5 °C olan fizyolojik koşullarda bu molekülleri absorpsiyon miktarları Şekil 4.32.'de verilmiştir.



Şekil 4.32. GA esaslı kriyojellerin (a) askorbik asit vitamini, (b) sodyum diklofenak ilacı ve (c) parakuat pestisitini absorpsiyon miktarı

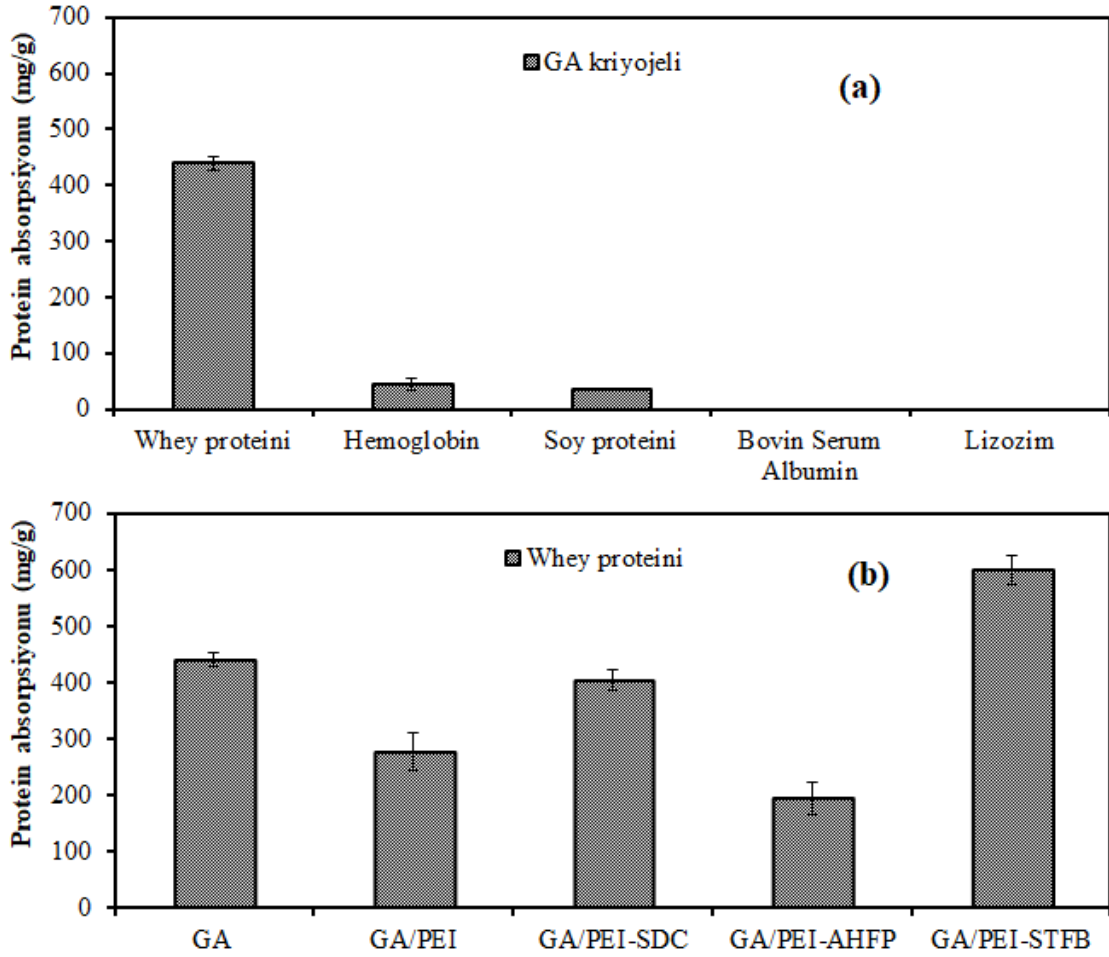
Şekil 4.32. (a)'daki sonuçlar incelendiğinde GA kriyojeli $8,86 \pm 0,26$ mg/g AA'ı absorbe edebilirken, modifiye GA/PEI ve GA/PEI-SDC IL kriyojelleri sırasıyla $10,60 \pm 1,40$ ve $18,48 \pm 2,04$ mg/g AA absorplamıştır. Yapısında $[PF_6]^-$ ve $[BF_4]^-$ anyonları içeren GA/PEI-AHFP ve GA/PEI-STFB IL kriyojellerinin AA absorpsiyon miktarları

3,44±1,27 ve 4,04±0,44 mg/g değerlerine düşmüştür. Sonuçlara göre, GA kriyojellerinin yapısına bağlanan -NH₂ grupları ile modifikasyondan sonra AA tutma kapasitelerinin arttığı ve hatta NH₃⁺[N(CN)₂]⁻ iyonik gruplarını içeren GA/PEI-SDC IL kriyojellerinin 2 katı fazla askorbik asit vitamini yükleyerek bu moleküle karşı seçici olduğu bulunmuştur.

GA esaslı kriyojellerin SDF ilacını yükleme miktarları Şekil 4.32. (b)'de verilmiştir. GA kriyojeli 3,11±0,5 mg/g ilaç yüklerken, modifiye GA/PEI ve IL formundaki GA/PEI-SDF, GA/PEI-AHFP ve GA/PEI-STFB kriyojelleri sırasıyla 30,43±7,19, 20,60±5,67, 18,14±5,08 ve 15,68±11,18 mg/g SDF ilacı yüklenmiştir. Sonuçlara göre, GA kriyojellerinin amin grupları içeren PEI ile modifikasyonu ile ilaç yükleme miktarının yaklaşık 10 kat arttığı ve hatta IL formlarında GA kriyojellerinin SDF ilacını tutma kapasitelerini arttırdığı bulunmuştur.

Ziraai ilaç olarak yaygın bir kullanımı olan parakuat (PK), insan sağlığını tehdit eden önemli bir toksindir. Bu nedenle, GA esaslı kriyojeller kullanılarak PK'nın absorpsiyonu araştırılmış ve sonuçlar Şekil 4.32. (c)'de verilmiştir. Sonuçlara göre GA kriyojeli 2,26±0,86 mg/g PK absorplarırken, modifiye GA/PEI mikrojelleri 17,02±1,06 mg/g PK absorplamıştır. Ayrıca, IL formdaki GA/PEI-SDC, GA/PEI-AHFP ve GA/PEI-STFB kriyojelleri sırasıyla 13,62±2,07, 24,83±1,08 ve 23,01±1,35 mg/g PK yüklenmiştir.

Hazırlanan GA esaslı kriyojellerin; izole whey protein, hemoglobin, soy protein, bovin serum albumin ve lizozim gibi proteinik yapıdaki biyomakromolleri ayırma ve saflaştırma özellikleri araştırılmıştır. Şekil 4.33. (a)'da GA kriyojellerinin, pH 7,4 olan PBS içerisinde hazırlanmış beş farklı çeşit proteinin absorplama kapasiteleri incelenmiştir. Sonuçlara göre GA kriyojeli, izole whey proteinini 440,35±12 mg/g absorbe ederken, hemoglobin, soy protein, bovin serum albumin ve lizozim proteinlerini sırasıyla 45,23±11, 35,29±2,5, 1,16±0,33 ve 0,10±0,03 mg/g olarak absorbe etmiştir. Bu sonuçlara göre, GA kriyojellerinin farklı proteinler arasında yüksek absorplama miktarı ile whey proteinlerine karşı seçici olduğu bulunmuştur. Literatürde yapılan çalışmalara göre, gam esaslı moleküllerin peynir altı suyundan elde edilen whey proteinlerine karşı seçici etkisinin olduğu whey proteinlerin yapısındaki disülfid bağları ile etkileşerek bu proteinler ile kompleks yapılar oluşturdukları bilinmektedir (Loveday ve ark., 2014). Böylece hazırlanan GA kriyojelleri whey proteinlerinin ayırma ve saflaştırılmasında kullanılabilir potansiyel bir malzeme olduğu sonucuna varılmıştır. Şekil 4.33. (b)'de GA, modifiye GA ve IL formundaki GA kriyojellerinin whey proteinini absorpsiyon etkileri kıyaslanmıştır.



Şekil 4.33. (a) GA kriyojelinin farklı proteinleri absorpsiyon miktarları (b) GA esaslı kriyojellerin (b) whey proteini absorpsiyon miktarı

Sonuçlar incelendiğinde, boş GA kriyojeli $440,35 \pm 12$ mg/g absorbe ederken, STFB-GA/PEI IL kriyojeli $599,12 \pm 11$ mg/g whey proteinin absorbe ettiği bulunmuştur. Buna karşın, modifiye GA/PEI kriyojeli ve IL formundaki SDC-GA/PEI ve AHFP-GA/PEI kriyojellerinde absorpsiyon miktarları sırasıyla $227,21 \pm 33$, $404,66 \pm 18$ ve $194,79 \pm 26$ mg/g değerlerine düşmüştür. Sonuçlara göre, $\text{NH}_3^+[\text{BF}_4]^-$ grubuna sahip olan STFB-GA/PEI IL kriyojelinin whey proteinlerine oldukça seçici olduğu ve ayırma ve saflaştırma çalışmalarında kullanılabileceği gösterilmiştir.

BÖLÜM 5

SONUÇ VE ÖNERİLER

5.1. Sonuçlar

- Ksantan gam (XG) makrojelleri STMP çapraz bağlayıcısı ile sentezlenirken, XG mikrojel ve nanojelleri span 80/siklohegzan ters misel ortamında, mikro emülsiyon yöntemi kullanılarak, PEGGE çapraz bağlayıcısı ile % 81±5 gibi yüksek bir verim ile başarılı bir şekilde sentezlenmiştir. Aynı ortamda sentezlenen XG mikrojel/nanojel karışımı filtrasyon tekniği ile XG mikrojeli ve XG nanojeli olarak ayrılmıştır.
- Guar gam (GG) makrojel ve mikrojel/nanojelleri DVS çapraz bağlayıcısı ile % 94±4 ve % 91±6 gibi yüksek verimler ile başarılı bir şekilde hazırlanmıştır. GG mikrojellerinin sentezinde AOT/izooktan ters misel ortamında, mikro emülsiyon yöntemi kullanılarak sentezlenmiş ve filtrasyon tekniği ile mikro ve nano boyutlara ayrılmıştır.
- Gam arabik (GA) makrojelleri, mikrojelleri ve kriyojelleri DVS çapraz bağlayıcısı kullanılarak % 100±0, % 78,5±5 ve % 95±4 gibi yüksek verimlerde başarılı bir şekilde sentezlenmiştir. GA mikrojelleri AOT/izooktan ters misel ortamında mikro emülsiyon yöntemi kullanılarak hazırlanırken, makro gözenekli yapıdaki GA kriyojelleri -20 °C'deki kriyojenik koşullarda hazırlanmıştır. Hazırlanan GA mikro/kriyojellerini kuaternize, lineer ve dallanmış amin grupları içeren modifiye ajanlar ile modifiye edilerek katyonik yapıda GA mikrojel/kriyojelleri hazırlanmıştır. Kuaternize edilmiş amin modifiye GA/PEI mikrojel/kriyojellerinin $-NH_3^+Cl^-$ grupları anyon değişimi reaksiyonu ile polimerik iyonik sıvı (IL) formdaki $-NH_3^+[N(CN)_2]^-$, $-NH_3^+[PF_6]^-$ veya $-NH_3^+[BF_4]^-$ gruplarını içeren SDC-GA/PEI, AHFP-GA/PEI ve STFB-GA/PEI mikro/kriyojelleri hazırlanmıştır.
- Locust bean gam (LBG) mikrojelleri, DVS çapraz bağlayıcısı kullanılarak yüzey aktif madde içermeyen siklohegzan ortamında sentezlendiğinde, 100-400 µm boyutları aralığında mikrokapsül şeklinde içi boş yapılar % 100 gibi yüksek bir verimle hazırlanmıştır. LBG mikrojelleri AOT/izooktan ters misel mikro emülsiyon ortamında hazırlandığında ise, boyutlarının yaklaşık 10 µm boyutlarını mikrojeller sentezlenmiştir. Ayrıca LBG mikrojelleri, LBG'ın tekrar eden biriminin molce % 100 ile % 10 oranlarında çapraz bağlanmış ve % 10 gibi düşük çapraz bağlayıcı oranlarında mikrojin makro gözenekli yapıda olduğu sonucuna varılmıştır.

- Hazırlanan gam esaslı polimerik yapıların morfolojik yapıları optik mikroskop ve SEM görüntüleri ile boyut dağılımları DLS ölçümleri ile yüzey potansiyelleri zeta potansiyel ölçümleri ile fonksiyonel grupları FT-IR spektrumları ile termal bozunma özellikleri TGA analizleri ile yapılmıştır.
- Biyomedikal uygulamalarda kullanılacak olan gam esaslı polimerik yapıların, hemoliz ve kan pıhtılaşma testleri ile kan uyumlulukları belirlenmiştir. Sonuçlara göre kan içerisinde 0,1 ile 2 mg/mL konsantrasyon değerlerinde gam esaslı mikrojel/kriyojel kullanıldığında, % 2'nin altındaki hemoliz oranı ve % 80'nin üzerindeki kan pıhtılaşma indeksleri ile kan uyumlu malzemeler hazırlanmıştır. Ayrıca, modifiye edilmiş gam esaslı polimerik yapıların kan uyumlulukları azalırken, kan içi uygulamalarda kullanılabilir değerlerde elde edilmiştir. IL formundaki gam esaslı polimerik yapılar ise, kan için oldukça uyumlu malzemeler olduğu sonucu elde edilmiştir.
- Gam esaslı polimerik yapıların biyouyumluluklarını belirlemede kullanılacak olan bir diğer parametre olan sitotoksikite testleri COS-1 fibroblast hücreleri üzerinde yapılmıştır. Sonuçlar incelendiğinde, gam esaslı polimerik yapıların 1000 µg/mL gibi çok yüksek konsantrasyon değerlerinde bile fibroblast hücrelerinin hücre canlılıklarını azaltmadığı ve hatta LBG gibi bazı mikrojellerin fibroblast hücrelerinin hücre canlılıklarını kontrole kıyasla arttırarak hücrelerin gelişimi ve çoğalmasını tetikleyici yapılar olduğu görülmüştür.
- Gam esaslı polimerik yapılar antimikrobiyal özellik kazandırmak amacıyla, yapısında dallanmış amin grupları bulunan PEI ile modifiye edilmiş ve ardından HCl ile yapıdaki amin grupları kuaternize edilmiştir. Boş ve modifiye GA mikrojel antimikrobiyal özellik göstermezken, 5 ve 10 mg/mL MİK değeri ve 13±2 ve 13±1 mm inhibisyon çapları ile kuaternize GA/PEI mikrojel *E. coli* ve *S. aureus* bakterilerini inhibe ettiği görülmüştür. Ayrıca, IL formundaki mikrojellerin antimikrobiyal etkileri araştırıldığında, sadece yapısında $\text{NH}_3^+[\text{PF}_6]^-$ grubularını içeren AHFP-GA/PEI mikrojelinin 10 mg/mL MİK değeri ve 11±2 mm inhibisyon çapı ile antimikrobiyal etkinliğinin olduğu bulunmuştur.
- Gam esaslı polimerik yapılar kontrollü ilaç salım çalışmalarında kullanılmıştır. İlaç yüklemesi, ilacın mikrojel yapısına kimyasal olarak bağlanması yani konjugasyon veya fiziksel etkileşimler ile yüklenmesi yani absorpsiyon yöntemleri ile yapılmıştır. Konjugasyon ile yüklenen ilacın, absorpsiyon tekniğine nazaran 10 katı fazla olduğu

bulunmuştur. Ayrıca, ilaç yükleme miktarını arttırmak için LBG mikroenjelleri farklı amin grupları ile modifiye edilmiş ve sonuçta boş LBG mikroenjellerine göre yaklaşık 100 kat daha fazla ilaç mikrojenle yüklenmiştir. Bu sonuçlara göre, ilaç yükleme miktarı konjugasyon gibi farklı ilaç yükleme teknikleri ile veya mikrojenel yapısını modifiye ederek kontrol edilebileceği sonucuna varılmıştır. İlaç yüklü LBG esaslı mikroenjeller, kontrollü ilaç salım çalışmalarında kullanım potansiyelleri pH 7,4 ve 37,5 °C olan fizyolojik koşullarda incelenmiştir. İlaç konjugasyonu ve LBG mikroenjellerinin modifikasyonu ile yüksek miktarlarda yüklenen ilacın yavaş yavaş ve lineer bir şekilde 120 saate ortama salındığı görülmüştür. Böylece ilaç yükleme salım miktarları, ilaç konjugasyonu ve hatta mikroenjellerin modifikasyonu ile kontrol edilebileceği gösterilmiştir.

- Boş, modifiye ve IL formundaki GA kriyoenjelleri, makro gözenekli yapısı, geniş yüzey alanı ile hızlıca absorplama ve şişme özelliklerinden dolayı askorbik asit vitaminini, sodyum diklofenak ilacını, parakuat toksinini ve whey protein, hemoglobin, soya proteini, bovin serum albumin ve lizozim proteinlerini absorplama kapasiteleri araştırılmıştır. Sonuç olarak molekülün yapısına bağlı olarak modifikasyon veya IL yapıların hazırlanması ile model olarak seçilen biyoaktif moleküllerin ayırımı kontrol edilmiştir. Özellikle GA kriyoenjellerinin 599,12±11 mg/g absorpsiyon kapasitesi ile whey proteininin ayırımı ve saflaştırılmasında kullanılabilecek potansiyel bir malzeme olduğu görülmüştür.

5.2. Öneriler

İlerleyen çalışmalarda;

- Hazırlanan gam esaslı polimerik yapılar düşük çapraz bağlayıcı oranlarında sentezlenerek bozunabilir özellikte polimerik yapılar hazırlanabilir.
- Gam esaslı polimerik yapılar kullanım amacına bağlı olarak farklı monomerler/polimerler ile birlikte hazırlanarak biyomedikal alanda kullanım alanları genişletilebilir.
- Gam esaslı polimerik yapılar istenilen boyut aralıklarında sentezlenerek biyomedikal uygulamalarda partikül boyutunun etkisi incelenebilir.
- Gam esaslı polimerik yapıları, yapısında kükürt, fosfor ve azot grupları içeren çeşitli modifiye ajanlar ile modifiye ederek malzemelerin antimikrobiyal özellikleri artırılabilir. Hatta polimerik yapı içerisinde Ag ve Cu nanopartikülleri hazırlanarak antimikrobiyal etkinliği daha da artırılabilir.

- Kan ve fibroblast hücreleri üzerinde biyouyumlu yapıda olduğu bulunan gam esaslı polimerik yapıların *in vivo* çalışmalarda kullanım potansiyelleri araştırılabilir.
- Ayırma ve saflaştırma çalışmalarında farklı pH değerlerinde hazırlanan biyomoleküllerin ayırımı ve saflaştırması araştırılarak, GA esaslı kriyojellerin pH değişimine bağlı olarak biyomakromoleküllerin ayırma kapasiteleri artırılabilir.



KAYNAKLAR

- Ahmad R., Mirza A., 2017. Green Synthesis of Xanthan Gum/Methionine-Bentonite Nanocomposite for Sequestering Toxic Anionic Dye. *Surfaces and Interfaces* 8: 65-72.
- Ahmed J., Thomas L., 2018. Effect of Xanthan and Guar Gum on the Pasting, Stickiness and Extensional Properties of Brown Wheat Flour/B-Glucan Composite Doughs. *LWT - Food Science and Technology* 87: 443-449.
- Alhaique F., Casadei M.A., Cencetti C., Coviello T., Meo C.D., Matricardi P., Montanari E., Pacelli S., Paolicelli P., 2016. From Macro to Nano Polysaccharide Hydrogels: an Opportunity for the Delivery Of Drugs. *Journal of Drug Delivery Science and Technology* 3: 88-99.
- Archana D., Dutta J., Dutta P.K., 2013. Evaluation of Chitosan Nano Dressing for Wound Healing: Characterization, In Vitro and In Vivo Studies. *International Journal of Biological Macromolecules* 57: 193-203.
- Bajpai A.K., Shukla S.K, Bhanu S., Kankane S., 2008. Responsive Polymers in Controlled Drug Delivery. *Progress in Polymer Science* 33: 1088–1118.
- Banerjee S.S., Chen D.-H., 2007. Fast Removal of Copper Ions by Gum Arabic Modified Magnetic Nano-Adsorbent. *Journal of Hazardous Materials* 147: 792–799.
- Barbucci R., Pasqui D., Favaloro R., Panariello G., 2008. A Trioxotropic Hydrogel from Chemically Cross-linked Guar Gum: Synthesis, Characterization and Rheological Behaviour. *Carbohydrate Polymer* 343: 3058-3065.
- Barak S., Mudgil D., 2014. Locust Bean Gum: Processing, Properties and Food Applications-A Review. *International Journal of Biological Macromolecules* 66: 74-80.
- Bellini M.Z., Pires A.L.R., Vasconcelos M.O., Moraes A.M. 2012. Comparison of the Properties of Compacted and Porous Lamellar Chitosan-Xanthan Membranes as Dressings and Scaffolds for the Treatment of Skin Lesions. *Journal of Applied Polymer Science* 125(S2): E421-E431.

- Bejenariu A., Popa M., Dulong V., Picton L., Cerf D.L. 2009. Trisodium Trimetaphosphate Crosslinked Xanthan Networks: Synthesis, Swelling, Loading and Releasing Behaviour. *Polymer Bulletin* 62: 525-538.
- Beneke C.E., Viljoen A.M., Hamman J.H., 2009. Polymeric Plant-Derived Excipients in Drug Delivery. *Molecules* 14: 2602-2620.
- Bhattacharya S.S., Ghosh A.K., Banerjee S., Chattopadhyay P., Ghosh A., 2012. Al³⁺ Ion Cross-linked Interpenetrating Polymeric Network Microbeads from Tailored Natural Polysaccharides. *International Journal of Biological Macromolecules* 51: 1173-1184.
- Bhardwaj T.R., Kanwar M., Lal R., Gupta A., 2000. Natural Gums and Modified Natural Gums as Sustained-Release Carriers. *Drug development and industrial pharmacy* 26(10): 1025-1030.
- Chang Y., McLandsborough L., McClements D.J., 2014. Antimicrobial Delivery Systems Based on Electrostatic Complexes of Cationic Polylysine and Anionic Gum Arabic. *Food Hydrocolloids* 35: 137-143.
- Chen H., Fu X., Luo Z., 2015. Effect of Gum Arabic on Freeze-Thaw Stability, Pasting and Rheological Properties of Tapioca Starch and Its Derivatives. *Food Hydrocolloids* 51: 355-360.
- Coviello T., Alhaique F., Dorigo A., Matricardi P., Grassi M., 2007. Two Galactomannans and Scleroglucan as Matrices for Drug Delivery: Preparation and Release Studies. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics* 66: 200-209.
- Costa A.M.S., Mano J.F. 2015. Extremely Strong and Tough Hydrogels as Prospective Candidates for Tissue Repair – A Review. *European Polymer Journal* 72: 344–364.
- Demirci A.S., Arici M., Gumus T., 2012. Xanthan Gum Production from Hydrolyzed Rice Bran as a Carbon Source by *Xanthomonas spp.* *Journal of Microbiology and Biotechnology* 40: 356-363.
- Demirci S., Suner S.S., Sahiner M., Sahiner N., Superporous Hyaluronic Acid Cryogel Composites Embedding Synthetic Polyethyleneimine Microgels and Halloysite Nanotubes as Natural Clay. *European Polymer Journal* 93: 775-784.
- Dey P., Maiti S., Sa B., 2013. Gastrointestinal Delivery of Glipizide from Carboxymethyl

- Locust Bean Gum-Al³⁺-Alginate Hydrogel Network: In Vitro and In Vivo Performance. *Journal of Applied Polymer Science* 128(3): 2063-2072.
- Ekici S., Ilgin P., Butun S., Sahiner N., 2011. Hyaluronic Acid Hydrogel Particles with Tunable Charges as Potential Drug Delivery Devices. *Carbohydrate Polymers* 84: 1306-1313.
- Ertürk G., Mattiasson B., 2014. Cryogels-Versatile Tools in Bioseparation. *Journal of Chromatography A* 1357: 24-35.
- Farooq M., Sagbas S., Sahiner M., Siddiq M., Turk M., Aktas N., Sahiner N., 2017. Synthesis, Characterization and Modification of Gum Arabic Microgels for Hemocompatibility and Antimicrobial Studies. *Carbohydrate Polymers* 156: 380-389.
- Ferrero C., Martino M., Zaritzky N., 1994. Corn Starch-Xanthan Gum Interaction and Its Effect on the Stability During Storage of Frozen Gelatinized Suspension. *Starch* 46: 300-308.
- Ferguson L.R., Harris P.J., 2005. Dietary Fibres and Human Health. *Molecular Nutrition & Food Research* 49: 517.
- Fried J.R., 2003. *Polymer Science & Technology*. (2th ed.) Prentice Hall, United States of America. 582 p.
- Galvez J., Rodriguez-Cabezas M.E., Zarzuelo A., 2005. Effects of Dietary Fiber on Inflammatory Bowel Disease. *Molecular Nutrition & Food Research* 49: 601-608.
- García-Ochoa F., Santos V.E., Casas J.A., Gómez E., 2000. Xanthan Gum: Production, Recovery, and Properties. *Biotechnology Advances* 18: 549-579.
- Gliko-Kabir I., Yagen B., Penhasi A., Rubinstein A., 2000a. Phosphated Crosslinked Guar for Colon-Specific Drug Delivery I. Preparation and Physicochemical Characterization. *Journal of Controlled Release* 63: 121-127.
- Gliko-Kabir I., Yagen B., Penhasi A., Rubinstein A., 2000b. Phosphated Crosslinked Guar for Colon-Specific Drug Delivery II. *In Vitro* and *In Vivo* Evaluation in the Rat. *Journal of Controlled Release* 63: 129-134.
- Gliko-Kabir I., Yagen B., Penhasi A., Rubinstein A., 1998. Low Swelling, Crosslinked

- Guar And Its Potential Use as Colon-Specific Drug Carrier. *Pharmaceutical Research* 15: 1019-1025.
- Ghosh S.K., Abdullah F., Mukherjee A., 2015. Fabrication and Fluorescent Labeling of Guar Gum Nanoparticles in a Surfactant Free Aqueous Environment. *Materials Science and Engineering C* 46: 521–529.
- Guo J., Xu Q., Zheng Z., Zhou S., Mao H., Wang B., Yan F., 2015. Intrinsically Antibacterial Poly(Ionic Liquid) Membranes: The Synergistic Effect of Anions. *ACS Macro Letters* 4: 1094–1098.
- Gong F., Qian J., Chen Y., Yao S., Tong J., Guo H., 2018. Preparation and Properties of Gum Arabic Cross-link Binding Nisin Microparticles. *Carbohydrate Polymers* 197: 608-613.
- Han G., Shao H., Zhu X., Wang G., Liu F., Wang F., Ling P., Zhang T., 2012. The Protective Effect of Xanthan Gum On Interleukin-1 β Induced Rabbit Chondrocytes. *Carbohydrate Polymers* 89(3): 870–875.
- Hayrabolulu H., Şen M., Çelik G., Kavaklı P.A., 2014. Synthesis of Carboxylated Locust Bean Gum Hydrogels by Ionizing Radiation. *Radiation Physics and Chemistry* 94: 240-244.
- Hixon K.R., Lu T., Sell S.A., 2017. A Comprehensive Review of Cryogels and Their Roles in Tissue Engineering Applications. *Acta Biomaterialia* 62: 29-41.
- Horne W.J., Andrews M.A., Terrill K.L., Hayward S.S., Marshall J., Belmore K.A., Shannon M.S., Bara J.E., 2015. Poly(Ionic Liquid) Superabsorbent for Polar Organic Solvents. *ACS Applied Material & Interfaces* 7: 8979-8983.
- ISO 10993-5, 2009. Biological Evaluation of Medical Devices-Part 5: Tests for *In Vitro* Cytotoxicity.
- Ishizaka S., Sugawara I., Hasuma T., Morisawa S., Möller G., 1983. Immune Responses to Xanthan Gum I. The Characteristics of Lymphocyte Activation by Xanthan Gum. *European Journal of Immunology* 13(3): 225-231.
- Izawa H., Kaneko Y., Kadokawa J., 2009. Unique Gel of Xanthan Gum with Ionic Liquid and Its Conversion into High Performance Hydrogel. *Journal of Material Chemistry*

19: 6969-6972.

- Izawa H., Kadokawa, J. I., 2010. Preparation and Characterizations of Functional Ionic Liquid-Gel and Hydrogel Materials of Xanthan Gum. *Journal of Materials Chemistry* 20(25): 5235–5241.
- Jing L., Shim K., Toe C.Y., Fang T., Zhao C., Amal R., Sun K.-N., Kim J.H., Ng Y.H., 2016. Electrospun Polyacrylonitrile–Ionic Liquid Nanofibers for Superior Pm_{2.5} Capture Capacity. *ACS Applied Material & Interfaces* 8: 7030–7036.
- Kaith B.S., Sharma R., Kalia S., 2015. Guar Gum Based Biodegradable, Antibacterial and Electrically Conductive Hydrogels. *International Journal of Biological Macromolecules* 75: 266-275.
- Kobori T., Matsumoto A., Sugiyama S., 2009. pH-Dependent Interaction between Sodium Caseinate and Xanthan Gum. *Carbohydrate Polymers* 75: 719–723.
- Kuo S.M., Chang S.J., Wang H.-Y., Tang S.C., Yang S.W., 2014. Evaluation of the Ability of Xanthan Gum/Gellan Gum/Hyaluronan Hydrogel Membranes to Prevent The Adhesion of Postrepaired Tendons. *Carbohydrate Polymers* 114: 230-237.
- Kumar A., Rao K.M., Han S.S., 2018. Application of Xanthan Gum as Polysaccharide in Tissue Engineering: A Review. *Carbohydrate Polymers* 180: 128–144.
- Kratz K., Hellweg T., Eimer W., 2000. Influence of Charge Density on the Swelling of Colloidal Poly(N-Isopropylacrylamide-Co-Acrylic Acid) Microgels. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects* 170: 137-149.
- Lee S.H., Miyauchi M., Dordick J.S., Linhardt R.J., 2010. Chapter 10: Preparation of Biopolymer-Based Materials Using Ionic Liquids for the Biomedical Application. In: Malhotra S. Ed. *Ionic Liquid Applications: Pharmaceuticals, Therapeutics, and Biotechnology*. ACS Symposium Series, American Chemical Society, Washington, DC. 116-134.
- Loveday S.M., Ye A., Anema S.G., Singh H. 2014. Tuning Heat-Induced Colloidal Aggregation of Whey Proteins, Sodium Caseinate and Gum Arabic: Effect of Protein Composition, Preheating and Gum Arabic Level. *Food Research International* 62: 128-136.

- Le Goff G.C., Srinivas R.L., Hill W.A., Doyle P.S., 2015. Hydrogel Microparticles for Biosensing. *European Polymer Journal* 72: 386-412.
- Le X.T., Turgeon S.L. 2015. Textural and Waterbinding Behaviors of B-Lactoglobulin-Xanthan Gum Electrostatic Hydrogels in Relation to Their Microstructure. *Food Hydrocolloids* 49: 216-223.
- Li, R., Wu, G., Ye, Y. 2015. *In Vitro* Hemocompatibility of Sulfonated Polypropylene Non-Woven Fabric Prepared via a Facile Γ -Ray Pre-Irradiation Grafting Method. *Applied Surface Science* 356: 1221-1228.
- Liu S., Yao F., Oderinde O., Zhang Z., Fu G., 2017a. Green Synthesis of Oriented Xanthan Gum-Graphene Oxide Hybrid Aerogels for Water Purification. *Carbohydrate Polymers* 174: 392-399.
- Liu S., Yao F., Kang M., Zhao S., Huang Q., Fu G., 2017b. Hierarchical Xanthan Gum/Graphene Oxide Nanocomposite Film Induced by Ferric Ions Coordination. *Materials and Design* 113: 232-239.
- Lu Y., Yu G., Wang W.-J., Ren Q., Li B.-G., Zhu S., 2015. Design and Synthesis of Thermoresponsive Ionic Liquid Polymer in Acetonitrile as a Reusable Extractant for Separation of Tocopherol Homologues. *Macromolecules* 48: 915–924.
- Mudgil D., Barak S., Khatkar B.S., 2012. X-Ray Diffraction, IR Spectroscopy and Thermal Characterization of Partially Hydrolyzed Guar Gum. *International Journal of Biological Macromolecules* 50: 1035-1039.
- Mei L., Shen B., Xue J., Liu S., Ma A., Liu F., Shao H., Chen J., Chen Q., Liu F., Ying Y., Ling P., 2017. Adipose Tissue-Derived Stem Cells in Combination with Xanthan Gum Attenuate Osteoarthritis Progression in an Experimental Rat Model. *Biomedical and Biophysical Research Communications* 494: 285-291.
- Niu F., Kou M., Fan J., Pan W., Feng Z.-J., Su Y., Yang Y., Zhou W., 2018. Structural Characteristics and Rheological Properties of Ovalbumin-Gum Arabic Complex Coacervates. *Food Chemistry* 260: 1-6.
- Novac O., Lisa G., Profire L., Tuchilus C., Popa M.I., 2014. Antibacterial Quaternized Gellan Gum Based Particles for Controlled Release of Ciprofloxacin with Potential Dermal Applications. *Materials Science and Engineering C* 35: 291–299.

- Oh J.K., Drumright R., Siegwart D.J., Matyjaszewski K., The Development of Microgels/Nanogels for Drug Delivery Applications. *Progress in Polymer Science* 33: 448-477.
- Oprea A.M., Neamtu A., Stoica B., Petreus T., Vasile C., 2012. Biocompatibility Evaluation of Xanthan Gum/Chondroitin Sulfate Hydrogels. *Analele Stiintifice Ale Universitatii Al. I. Cuza Din Iasi. (Serie Noua). Sectiunea 2. A. Genetica Si Biologie Moleculara*, 13(1): 81.
- Okay O., Lovinsky V.I., 2014. Synthesis and Structure-Property Relationships of Cryogels. *Advance Polymer Science* 263: 103-157.
- Phillips G., Williams P., 2001. Tree Exudate Gums: Natural and Versatile Food Additives and Ingredients. *Food Ingredients and Analysis International* 23: 26-28.
- Ponnusamy T., Yu H. John V.T., Ayyala R.S., Blake D.A., 2014. A Novel Antiproliferative Drug Coating for Glaucoma Drainage Devices. *Journal of Glaucoma* 23: 526-534.
- Pawar H.A., Lalitha K.G., Ruckmani K., 2015. Alginate Beads of Captopril Using Galactomannan Containing Sennatorra Gum, Guar Gum and Locust Bean Gum. *International Journal of Biological Macromolecules* 76: 119–131.
- Ragothaman M., Palanisamy T., Kalirajan C., 2014. Collagen–Poly(Dialdehyde) Guar Gum Based Porous 3D Scaffolds Immobilized with Growth Factor for Tissue Engineering Applications. *Carbohydrate Polymers* 114: 399–406.
- Rao K.M., Kumar A., Han S.S. 2017. Polysaccharide Based Bionanocomposite Hydrogels Reinforced with Cellulose Nanocrystals: Drug Release and Biocompatibility Analyses. *International Journal of Biological Macromolecules* 101: 165–171.
- Reddy T., Tammishetti S., 2002. Gastric Resistant Microbeads of Metal Ion Cross-linked Carboxymethyl Guar Gum for Oral Drug Delivery. *Journal of Microencapsulation* 19: 311-318.
- Riduan S.N., Zhang Y., 2013. Imidazolium Salts and Their Polymeric Materials for Biological Applications. *Chemical Society Reviews* 42: 9055–9070.

- Romo-Hualde A., Yetano-Cunchillos A., González-Ferrero C., Sáiz-Abajo M., González-Navarro C., 2012. Supercritical Fluid Extraction and Microencapsulation of Bioactive Compounds from Red Pepper (*Capsicum Annum L.*) By-Products. *Food Chemistry* 133(3): 1045-1049.
- Roy I., Sardar M., Gupta M.N., 2005. Cross-linked Alginate–Guar Gum Beads as Fluidized Bed Affinity Media For Purification of Jacalin. *Biochemical Engineering Journal* 23: 193-198.
- Sagbas S., Sahiner N., 2018. Modifiable Natural Gum Based Microgel Capsules as Sustainable Drug Delivery Systems. *Carbohydrate Polymers* 200: 128-136.
- Salama S.M., Mariod A.A., 2018. Gastroprotective Activity of Gum Arabic: A Review. *26*: 305-312.
- Sandolo C., Bulone D., Mangione M.R., Margheritella S., Meo C.D., Alhaiquea F., Matricardi P., Coviello T., 2010. Synergistic Interaction of Locust Bean Gum and Xanthan Investigated by Rheology and Light Scattering. *Carbohydrate Polymers* 82: 733-741.
- 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: 1329-1356.
- Sahiner N., Sagbas S., 2014. Multifunctional Tunable P(Inulin) Microgels. *Materials Science and Engineering C* 40: 366-372.
- Sahiner N., Sagbas S., Sahiner M., Silan C., Aktas N., Turk M., 2016a. Biocompatible and Biodegradable Poly(Tannic Acid) Hydrogel with Antimicrobial and Antioxidant Properties. *International Journal of Biological Macromolecules* 82: 150–159.
- Sahiner N., Sagbas S., Aktas N., 2016b. Preparation of Macro-, Micro-, and Nano-Sized Poly(Tannic Acid) Particles with Controllable Degradability and Multiple Biomedical Uses. *Polymer Degradation and Stability* 129: 96-105.
- Sahiner N., Sagbas S., Yılmaz S., 2017. Microgels Derived from Different Forms of Carrageenans, Kappa, Iota, and Lambda for Biomedical Applications. *MRS Advances* 2: 2521-2527.

- Sahiner N., Sagbas S., 2018a. Sucrose Based Ionic Liquid Colloidal Microgels in Separation of Biomacromolecules. *Separation and Purification Technology* 196: 191-199.
- Sahiner N., Sagbas S., 2018b. Polymeric Ionic Liquid Materials Derived from Natural Source for Adsorption Purpose. *Separation and Purification Technology* 196: 208-216.
- Sarika P.R., Pavithran A., James N.R., 2015. Cationized Gelatin/Gum Arabic Polyelectrolyte Complex: Study of Electrostatic Interactions. *Food Hydrocolloids* 49: 176-182.
- Sarika P.R., James N.R., 2015. Preparation and Characterisation of Gelatin–Gum Arabic Aldehyde Nanogels via Inverse Miniemulsion Technique. *International Journal of Biological Macromolecules* 76: 181-187.
- Sarika P.R., Nirmala R.J., 2016. Curcumin Loaded Gum Arabic Aldehyde-Gelatin Nanogels for Breast Cancer Therapy. *Materials Science And Engineering C* 65: 331-337.
- Snedden P., Cooper A.I., Scott K., Winterton N., 2003. Cross-linked Polymer-Ionic Liquid Composite Materials. *Macromolecules* 36: 4549-4556.
- Soumyaa R.S., Ghosh S., Abraham E.T., 2010. Preparation and Characterization of Guar Gum Nanoparticles. *International Journal of Biological Macromolecules* 46: 267-269.
- Sujja-Areevath J., Munday D.L., Cox P.J., Khan K.A., 1996. Release Characteristics of Diclofenac Sodium From Encapsulated Natural Gum Mini-Matrix Formulations. *International Journal of Pharmaceutics* 139: 53-62.
- Suner S.S., Sahiner N., 2018. Humic Acid Particle Embedded Super Porous Gum Arabic Cryogel Network for Versatile Use. *Polymer Advanced Technology* 29: 151-159.
- Suner S.S., Sahiner M., Sengel S.B., Ress D.J., Redd W.F., Sahiner N., 2018. Chapter 17: Responsive Biopolymer-Based Microgels/Nanogels for Drug Delivery Applications. In: Makhlof A.S.H., Abu-Thabit N.Y. Ed. *Stiuli Responsive Polymeric Nanocarriers for Drug Delivery Applications*. Woodhead, Elsevier. 453-500.

- Tao Y., Zhang R, Xu W., Bai Z., Zhou Y., Zhao S., Xu Y., Yu D., 2016. Rheological Behavior and Microstructure of Release-Controlled Hydrogels Based on Xanthan Gum Crosslinked with Sodium Trometaphosphate. *Food Hydrocolloids* 52: 923-933.
- Thombarea N., Jha U., Mishra S., Siddiqui M.Z., 2016. Guar Gum as a Promising Starting Material for Diverse Applications: A Review. *International Journal of Biological Macromolecules* 88: 361–372.
- Thakur S., Pandey S., Arotiba O.A. Sol-Gel Derived Xanthan Gum/Silica Nanocomposite- A Highly Efficient Cationic Dyes Adsorbent in Aqueous System. *International Journal of Biological Macromolecules* 103: 596-604.
- Tokuda M., Shindo T., Minami H., 2013. Preparation of Polymer/Poly(Ionic Liquid) Composite Particles by Seeded Dispersion Polymerization. *Langmuir* 29: 11284–11289.
- Qin X., Zhu X., 2017. Ionic Liquid-B-Cyclodextrin Polymer for The Separation/Analysis of Lornoxicam. *Supramolecular Chemistry* 29: 205-214.
- Quintanilha R.C., Orth E.S., Grein-Iankovski A., Riegel-Vidotti I.C., Vidotti M., 2014. The Use of Gum Arabic As “Green” Stabilizer of Poly(Aniline) Nanocomposites: A Comprehensive Study of Spectroscopic, Morphological and Electrochemical Properties. *Journal of Colloid and Interface Science* 434: 18-27.
- Ullah F., Hafi Othman M.B., Javed F., Ahmad Z., Akil Md.H., 2015. Classification, Processing and Application of Hydrogels: A Review. *Materials Science and Engineering C* 57: 414-433.
- Wang L., Sanchez-Soto M., Abt T., 2016. Properties of Bio-Based Gum Arabic/Clay Aerogels. *Industrial Crops and Products* 91: 15-21.
- Weinbreck F., Wientjes R.H., Nieuwenhuijse H., Robijn G.W., De Kruif, C.G., 2004. Rheological Properties of Whey Protein/Gum Arabic Coacervates. *Journal of Rheology* 48(6): 1215-1228.
- Wu W., Li J., Zou S., Guo J., Zhou H., 2017. Construction of Au@Pt Core-Satellite Nanoparticles Based on In-Situ Reduction of Polymeric Ionic Liquid Protected Gold Nanoparticles. *Frontiers of Materials Science* 11: 42–50.

- Valetti N.W., Pico G., 2016. Adsorption Isotherms, Kinetics and Thermodynamic Studies Towards Understanding the Interaction between Cross-linked Alginate-Guar Gum Matrix and Chymotrypsin. *Journal of Chromatography B* 1012-1013: 204-210.
- Verbeken D., Dierckx S., Dewettinck K., 2003. Exudate Gums: Occurrence, Production, and Applications. *Applied Microbiology and Biotechnology* 63(1): 10-21.
- Xu L., Xu G., Liu T., Chen Y., Gong H., 2013. The Comparison of Rheological Properties of Aqueous Welan Gum and Xanthan Gum Solutions. *Carbohydrate Polymers* 516-522.
- Ye A., Edwards P.J.B., Gilliland J., Jameson G.B., Singh H., 2012. Temperature Dependent Complexation between Sodium Caseinate and Gum Arabic. *Food Hydrocolloids* 26(1): 82-88.
- Yuen S.-N., Choi S.-M., Phillips D.L., Ma C.-Y., 2009. Raman and FTIR Spectroscopic Study of Carboxymethylated Non-Starch Polysaccharides. *Food Chemistry* 114: 1091-1098.
- Zhang L., Li Y., Wang C., Li G., Zhao Y., Yang, Y., 2014. Synthesis of Methylprednisolone Loaded Ibuprofen Modified Inulin Based Nanaoparticles and Their Application for Drug Delivery. *Materials Science and Engineering C* 42: 111-115.
- Zheng Z., Xu Q., Guo J., Qin J., Mao H., Wang B., Yan F., 2016. Structure-Antibacterial Activity Relationships of Imidazolium-Type Ionic Liquid Monomers. Poly(Ionic Liquids) And Poly(Ionic Liquid) Membranes: Effect of Alkyl Chain Length and Cations. *ACS Applied Material & Interfaces* 8: 12684-12692.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : Selin SAĞBAŞ SUNER

Doğum Yeri : ADANA

Doğum Tarihi : 15/08/1986

EĞİTİM DURUMU

Lisans : Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi

Fen-Edebiyat Fakültesi

Biyoloji Bölümü

2004-2008

Yüksek Lisans: Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Bölümü

2008-2011

Tez başlığı: Çanakkale Boğazındaki (Çanakkale, Türkiye) bazı kırmızı alglerde agar miktarının yıllık değişimi

Bildiği Yabancı Diller : İngilizce

İLETİŞİM

E-posta Adresi : sagbassel@gmail.com

BİLİMSEL FAALİYETLERİ

a. Yayınlar -SCI -Diğer

Uluslararası hakemli dergilerde yayımlanan makaleler:

1. **S. Sagbas Suner**, N. Sahiner, “Humic acid particles embedded super porous gum Arabic cryogel network for versatile use” Polymer Advanced Technologies 29 (2018) 151-159.
2. **S. Sagbas**, N. Sahiner, “Modifiable Natural Gum Based Microgel Capsules as Sustainable Drug Delivery Systems” Carbohydrate Polymers 200 (2018) 128-136.
3. N. Sahiner, **S. Sagbas**, “Sucrose based ionic liquid colloidal microgels in separation

- of biomacromolecules” Separation and Purification Technology 196 (2018) 191-199.
4. N. Sahiner, **S. Sagbas**, “Polymeric ionic liquid materials derived from natural source for adsorption purpose” Separation and Purification Technology 196 (2018) 208-216.
 5. N. Sahiner, S. Yıldız, **S. Sagbas**, “Graphene Oxide Embedded P(4-VP) Cryogel Composites for Fast Dye Removal/Separations” Polymer Composites 39 (2018) 1694-1703.
 6. N. Sahiner, **S. Sagbas**, M. Sahiner, C. Silan, N. Aktas, M. Turk “Agar/Chitosan IPN thin hydrogel films with antimicrobial and antioxidant properties for potential dressing application” Current Applied Polymer Science 1 (2017) 52-62.
 7. N. Sahiner, **S. Sagbas**, S. Yılmaz, “Microgels Derived from Different Forms of Carrageenans, Kappa, Iota, and Lambda for Biomedical Applications” MRS Advances (2017).
 8. M. Farooq, **S. Sagbas**, M. Yildiz, K. Meral, M. Siddiq, N. Aktas, N. Sahiner, “Gum Arabic microgels as template for in situ metal-sulfide based quantum dots preparation and their thermal, spectroscopic, optical, and magnetic characterization” Journal of Electronic Materials 46 (2017) 4373-4383.
 9. S. Demirci, **S. Sagbas Suner**, M. Sahiner, N. Sahiner, “Superporous hyaluronic acid cryogel composites embedding synthetic polyethyleneimine microgels and halloysite nanotubes as natural clay” European Polymer Journal 93 (2017) 775-784.
 10. N. Sahiner, M. Farooq, S. Rehman, **S. Sagbas**, M. Sahiner, M. Siddiq, N. Aktas, “Synthesis, characterization, and use of carbon microspheres for removal of different dyes from aqueous environments” Water, Air, and Soil Pollution (2017)228:382.
 11. N. Sahiner, **S. Sagbas**, M. Sahiner, R.S. Ayyala, “Polyethyleneimine modified poly(Hyaluronic acid) particles with controllable antimicrobial and anticancer effects” Carbohydrate Polymers 159 (2017) 29–38.
 12. N. Sahiner, **S. Sagbas**, M. Sahiner, C. Silan, “P(TA) macro-, micro-, nanoparticle-embedded super porous p(HEMA) cryogels as wound dressing material” Materials Science and Engineering C 70 (2017) 317–326.
 13. M. Farooq, **S. Sagbas**, M. Sahiner, M. Siddiq, M. Turk, N.Aktas, N. Sahiner, “Synthesis, Characterization and Modification of Gum Arabic Microgels for Hemocompatibility and Antimicrobial Studies” Carbohydrate Polymer 156 (2017) 380-389.
 14. N. Sahiner, **S. Sagbas**, M. Sahiner, C. Silan, N.Aktas, Mustafa Turk, “Biocompatible

- and biodegradable poly(Tannic Acid) hydrogel with antimicrobial and antioxidant properties” *International Journal of Biological Macromolecules* 82 (2016) 150–159.
15. N. Sahiner, **S. Sagbas**, M. Sahiner, S. Demirci, “Degradable tannic acid/polyethyleneimine polyplex particles with highly antioxidant and antimicrobial effects” *Polymer Degradation and Stability* 133 (2016) 152-161.
 16. N. Sahiner, **S. Sagbas**, N.Aktas, “Preparation and characterization of monodisperse, mesoporous natural poly(tannic acid)-silica nanoparticle composites with antioxidant properties” *Microporous and Mesoporous Materials* 226 (2016) 316-324.
 17. N. Sahiner, **S. Sagbas**, N.Aktas, C. Silan, “Inherently antioxidant and antimicrobial tannic acid release from poly(tannic acid) nanoparticles with controllable degradability” *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 142 (2016) 334–343.
 18. N. Sahiner, **S. Sagbas**, N.Aktas, “Preparation of macro-, micro-, and nano-sized poly(Tannic acid) particles with controllable degradability and multiple biomedical uses” *Polymer Degradation and Stability* 129 (2016) 96-105.
 19. **S. Sagbas**, N. Sahiner, N. Aktas, “Modified biofunctional p(tannic acid) microgels and their antimicrobial activity” *Applied Surface Science*, 354 (2015) 306-313.
 20. N. Sahiner, **S. Sagbas**, N. Aktas, “Very fast catalytic reduction of 4-nitrophenol, methylene blue and eosin Y in natural waters using green chemistry: p(tannic acid)-Cu ionic liquid composites” *RSC Advances* 5 (2015) 18183-18195.
 21. N. Sahiner, **S. Sagbas**, N. Aktas, “Single step natural poly(tannic acid) particle preparation as multitasking biomaterial” *Materials Science and Engineering C* 49 (2015) 824-834.
 22. M. Sahiner, **S. Sagbas**, B.O. Bitlisli, “p(AAm/TA)-based IPN hydrogel films with antimicrobial and antioxidant properties for biomedical applications” *Journal of Applied Polymer Science* 132 (2015) 41876.
 23. N. Sahiner, **S. Sagbas**, H. Yoshida, L.A. Lyon, “Synthesis and Properties of Inulin Based Microgels” *Colloids and Interface Science Communications* 2 (2014) 15-18.
 24. N. Sahiner, **S. Sagbas**, “Multifunctional tunable p(inulin) microgels” *Materials Science and Engineering C* 40 (2014) 366-372.
 25. N. Sahiner, **S. Sagbas**, M. Turk, “Poly(sucrose) micro particle preparation and their use as biomaterials” *International Journal of Biological Macromolecules* 66 (2014) 236-244.
 26. N. Sahiner, **S. Sagbas**, “The use of poly(vinyl phosphonic acid) microgels for the

- preparation of inherently magnetic Co metal catalyst particles in hydrogen production” *Journal of Power Sources* 246 (2014) 55-62.
27. **S. Sagbas**, C. Kantar, N. Sahiner, “Preparation of Poly(Humic Acid) Particles and Their Use in Toxic Organo-Phenolic Compound Removal from Aqueous Environments” *Water Air Soil Pollut* (2014) 225:1809.
 28. N. Sahiner, **S. Sagbas**, “The preparation of poly(vinyl phosphonic acid) hydrogels as new functional materials for in situ metal nanoparticle preparation” *Colloids and Surfaces A: Physicochem. Eng. Aspects* 418 (2013) 76–83.
 29. **S. Sagbas**, N. Sahiner, “Tunable poly(2-acrylamido-2-methyl-1-propan sulfonic acid) based microgels with better catalytic performances for Co and Ni nanoparticle preparation and their use in hydrogen generation from NaBH₄” *Int. J. Hydrogen Energy*, 37 (2012)18944-18951.
 30. **S. Sagbas**, S. Butun, N. Sahiner, “Modifiable chemically crosslinked poli(k-carrageenan) particles” *Carbohydrate Polymers* 87 (2012) 2718– 2724.
 31. N. Sahiner, C. Silan, **S. Sagbas**, P. Ilgin, S. Butun, H. Erdugan, R.S. Ayyala, “Porous and modified HA particles as potential drug delivery systems” *Microporous and Mesoporous Materials* 155 (2012) 124–130.
 32. **S. Sagbas**, N. Sahiner, “A novel p(AAm-co-VPA) hydrogel for the Co and Ni nanoparticle preparation and their use in hydrogel generation from NaBH₄” *Fuel Processing Technology* 104 (2012) 31–36.

Kitap Bölümü:

1. S. Butun, S. Demirci, A.O. Yasar, **S. Sagbas**, N. Aktas, N. Sahiner, Morphological, Compositional, and Shape Control of Materials for Catalysis, Volume 177, 1st. Edition, Editors: Paolo Fornasiero, Matteo Cargnello, Chapter 9: 0, 1, 2, 3-D soft and hard templates for catalysis. Elsevier, 1st June 2017.
2. **S. Sagbas Suner**, M. Sahiner, S. Butun Sengel, D.J. Ressa, W.F. Redd, N. Sahiner, 2018. Chapter 17: Responsive Biopolymer-Based Microgels/Nanogels for Drug Delivery Applications. In: Makhoulouf A.S.H., Abu-Thabit N.Y. Ed. *Stiuli Responsive Polymeric Nanocarriers for Drug Delivery Applications*. Woodhead, Elsevier. 453-500.

b. Bildiriler -Uluslararası -Ulusal

Uluslararası kongrelerde sunulan bildiriler:

1. **S. Sagbas**, C. Silan, N. Sahiner, “Microgels From Xanthan Gum And Locust Bean Gum For Potential Biomedical Applications” 255th American Chemical Society National Meeting & Exposition, Nexus of Food, Energy, and Water Location, 18-22, March 2018, New Orleans, LA, USA.
2. **S. Sagbas**, C. Silan, N. Sahiner, “Amino Acids Derived Multifunctional N-, S-doped Carbon Dots for Biomedical Applications” 255th American Chemical Society National Meeting & Exposition, Nexus of Food, Energy, and Water Location, 18-22, March 2018, New Orleans, LA, USA.
3. F. C. Onder, **S. Sagbas**, M. Ay, B. Ozpolat, N. Sahiner, “ In vitro drug release studies for the treatment of TNBC and pancreatic cancers from natural derivated polymeric micro- and nano-particles” 255th American Chemical Society National Meeting & Exposition, Nexus of Food, Energy, and Water Location, 18-22, March 2018, New Orleans, LA, USA.
4. N. Sahiner, **S. Sagbas**, “Polymeric ionic liquid materials derived from natural source for adsorption purpose” 3rd International Conference on Ionic Liquids in Separation and Purification Technology, 8-11 January 2017, Kuala Lumpur, Malaysia.
5. N. Sahiner, **S. Sagbas**, “Sucrose based ionic liquid colloidal microgels in separation of biomacromolecules” 3rd International Conference on Ionic Liquids in Separation and Purification Technology, 8-11 January 2017, Kuala Lumpur, Malaysia.
6. C. Silan, **S. Sagbas**, N. Sahiner, “Modifiable natural gum based particles as controlled drug delivery system” 4th International Conference on Nanotechnology in Medicine (NANOMED), 7-9 November 2016, Warsaw, Poland.
7. N. Sahiner, **S. Sagbas**, M. Sahiner, N. Aktas, “Degradable macro-, micro- and nano-sized natural phenolic based particles” 4th International Conference on Nanotechnology in Medicine (NANOMED), 7-9 November 2016, Warsaw, Poland.
8. N. Aktas, **S. Sagbas**, N. Sahiner, “Surface Modification of poly(sucrose) and poly(maltitol) particles for biomedical applications” 4th International Conference on Nanotechnology in Medicine (NANOMED), 7-9 November 2016, Warsaw, Poland.
9. **S. Sagbas**, N. Sahiner, “Poly(Humic Acid) particle embedded super porous poly(Gum Arabic) Cryogel network for versatile use” 3rd International Conference

- on Bio-based Polymers and Composites, August 28- September 1 2016, Szeged, Hungary.
10. S. Demirci, **S. Sagbas**, M. Sahiner, N. Sahiner, “Superporous HA cryogels embedding synthetic PEI microgels and HNT as natural Clays” 3rd International Conference on Bio-based Polymers and Composites, August 28-September 1 2016, Szeged, Hungary.
 11. S.B. Sengel, **S. Sagbas**, N. Sahiner “Polyethyleneimine modified Halloysite embedding p(Acrylamide) Cryogel Composites” 46th IUPAC World Polymer Congress, 17-21 July 2016, Istanbul, Turkey.
 12. C. Silan, **S. Sagbas**, M. Sahiner, N. Sahiner, “P(Tannic Acid) hydrogel template for in situ metal nanoparticle preparation and use as catalyst for elimination of toxic organic compounds” European Biotechnology Congress, 5-7 May 2016, Riga, Latvia.
 13. N. Sahiner, **S. Sagbas**, N. Aktas, M. Sahiner, “Controlled Release Of Tannic Acid From Poly(Tannic Acid) Microgel, And Nanogel” NANOSMAT-USA 2016, 3rd International Conference on Surfaces, Coatings and Nanostructured Materials, 18-20 May 2016, Arlington, Texas, USA.
 14. M. Sahiner, **S. Sagbas**, N. Sahiner, “Poly(Tannic Acid) Particles Embedded Superporous Poly(Hydroxyethyl Metacrylate) Cryogel For Biomedical Applications” International Porous and Powder Materials Symposium & Exhibition, 15-18 September 2015, Cesme-Izmir, Turkey.
 15. N. Sahiner, **S. Sagbas**, M. Sahiner, N. Aktas, “Natural p(TA) hydrogel and microgel networks for diverse potential biomedical uses”. 249th American Chemical Society National Meeting & Exposition, Chemistry of Natural Resources, 22-26 March 2015, Denver, Colorado, USA.
 16. N. Sahiner, **S. Sagbas**, N. Aktas, “Tannic acid based natural particle for versalite use” 247th American Chemical Society National Meeting & Exposition, Chemistry and Materials for Energy, 16-20 March 2014, Dallas, TX, USA.
 17. **S. Sagbas**, N. Aktas, N. Sahiner, “Modifiable Natural P(Tannic Acid) Microgels for Biomedical Use” ECOSS 30 European Conference on Surface Science, 31 August-5 September 2014, Antalya, Turkey.
 18. N. Sahiner, **S. Sagbas**, N. Aktas, “Tannic microgel and their use in biomedical applications” 8th ISANH Congress on Polyphenols Applications, 2-4 July 2014

Polyphenol, Lizbon, Portugal.

19. **S. Sagbas**, C. Kantar, N. Sahiner “Humic acid particles: Synthesis and characterization” 245th American Chemical Society National Meeting & Exposition, Chemistry of Energy & Food, April 7-11 2013, New Orleans, LA, USA.
20. **S. Sagbas**, N. Sahiner “Preparation of p(vinyl phosphonic acid) microgels and its metal nanoparticle containing composites for H₂ generation from the hydrolysis sodium borohydride” 245th American Chemical Society National Meeting & Exposition, Chemistry of Energy & Food, April 7-11 2013, LA, New Orleans, USA.
21. **S. Sagbas**, N. Sahiner, C. Silan “Preparation of biopolymeric particles from natural inulin” 245th American Chemical Society National Meeting & Exposition, Chemistry of Energy & Food, April 7-11 2013, LA, New Orleans, USA.
S. Demirbas, H.N. Gorkem, **S. Sagbas**, O. Acar, N. Sahiner “Suicidal germination of some broomrape species under the influence of polymeric particles” 16th European Weed Research Society Symposium, 24-27 June, 2013, Samsun, Turkey.
22. N. Sahiner, O. Ozay, **S. Sagbas**, A. Yasar, N. Aktas “The utilization of smart hydrogels and composites with controllable porosity in the preparation of metal nanocatalyst” TechConnect World Summit, NanoTech, MicroTech, BioTech, CleanTech, June 18-21, 2012, Santa Clara, CA-USA.
23. N. Sahiner, **S. Sagbas**, T. Turhan, E. Karacan, F. Seven, A. Yasar, D. Alpaslan, N. Aktas, “The utilization of smart hydrogels and composites with controllable porosity in the preparation of metal nanocatalyst” 244th American Chemical Society National Meeting & Exposition, Division of Energy & Fuels, August 19-23, 2012, Philadelphia, PA-USA.

Ulusal kongrelerde sunulan bildiriler:

1. **S. Sağbaş**, Ş. Demirci, A.R. Fırat, H. Erduğan, S. Yıldız, S. Yılmaz, N. Şahiner “Biyopolimerlerden Hazırlanan Mikrojellerde Antioksidan Madde Salınımının HPLC Tekniği ile Belirlenmesi” Kromatografi kongresi 19-22 Haziran 2013, Bursa, Türkiye.
2. **S. Sağbaş**, N. Şahiner, C. Silan, “Gözenekli, Manyetik ve Modifiye Edilmiş

P(inülin) Mikro Partiküllerinin Karakterizasyonu ve İlaç Salınım Sistemlerinde Kullanılması” IV. Ulusal Polimer Bilim ve Teknolojisi Kongresi, 5-8 Eylül 2012, Çanakkale, Türkiye.

c. Katıldığı Projeler

1. Bursiyer 214M130, Tübitak 1001 Projesi, Kriyojel/iletken polimer kompozitlerinin hazırlanması ve sensör olarak uygulanabilirliğinin incelenmesi (2016-2017).
2. Bursiyer 113Z238, Tübitak 1001 projesi, Doğal Bir Molekül Olan Tannik Asitten Partiküller Hazırlanması ve Bunların Biyomedikal Uygulamaları (2013-2016).
3. Bursiyer 110T649, Tübitak 1001 projesi, Gözenekliliği kontrol edilebilen akıllı hidrojel ve kompozitleri içerisinde sentezlenen metal nanokatalizlerin hidrojen üretiminde kullanılmasının araştırılması (2011-2013).