



MARMARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**KENDİ KENDİNİ ONARABİLEN YARA ÖRTÜCÜ
BİYOMALZEMELERİN GELİŞTİRİLMESİ**

MERVE YAŞAR

DOKTORA TEZİ

Kimya Anabilim Dalı
Organik Kimya Programı

DANIŞMAN

Prof. Dr. Nilhan KAYAMAN APOHAN

İSTANBUL, 2023



MARMARA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



**KENDİ KENDİNİ ONARABİLEN YARA ÖRTÜCÜ
BİYOMALZEMELERİN GELİŞTİRİLMESİ**

MERVE YAŞAR
720816002

DOKTORA TEZİ
Kimya Anabilim Dalı
Organik Kimya Programı

DANIŞMAN
Prof. Dr. Nilhan KAYAMAN APOHAN

İSTANBUL, 2023

ÖNSÖZ

Bu tez çalışması Marmara Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü Polimer Araştırma Laboratuvarlarında gerçekleştirilmiştir. Çalışmalarımı maddi kaygı gözetmeksizin yürütebilmemi sağlayan, bursiyeri olduğum YÖK 100/2000 doktora bursu için YÖK'e teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmam boyunca bilgi birikimini ve önerilerini benden esirgemeyen sevgili danışman hocam Prof. Dr. Nilhan Kayaman Apohan'a ve sevgili Doç. Dr. Burcu Oktay hocama yardımları için teşekkürlerimi sunarım.

Laboratuvardaki çalışmalarım boyunca ben dahil bütün öğrencilere desteğini esirgemeyen Doç. Dr. Emrah Çakmakçı hocama, bir şeyler yapmak isteyen insanların elinden hevesle tutan diğer tüm hocalarıma, tezime çalıştığım dönemler boyunca güzel arkadaşlıklar edindiğim, yardım ve desteğini esirgemeyen laboratuvar arkadaşlarıma teşekkürlerimi sunarım.

En kritik zamanda bonkör bir şekilde bana vanilin tedarik eden AROMSA firmasına teşekkür ederim.

Konumu çok severek, inatla, sabırla ve azimle yürüdüğüm bu uzun soluklu yolculukta maddi ve manevi desteğini esirgemeyen aileme teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım.

İÇİNDEKİLER

	SAYFA
ÖNSÖZ	i
ÖZET	v
ABSTRACT..	vii
YENİLİK BEYANI	viii
SEMBOLLER.....	ix
KISALTMALAR.....	x
ŞEKİL LİSTESİ	xi
TABLO LİSTESİ.....	xiv
1.GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Yara Örtüsü	3
2.2. Hidrojel.....	6
2.2.1. Hazırlanış Şekline Göre Hidrojeller	7
2.2.2. Çapraz Bağlanma Türüne göre Hidrojeller	8
2.2.3. Kaynak Türüne göre Hidrojeller.....	9
2.3. Kendi Kendini Onarma.....	10
2.3.1. Dışsal Onarma (Extrinsic)	11
2.3.2. İçsel Onarma (Intrinsic).....	12
2.3.2.1. Kovalent Olmayan Bağ ile Kendi Kendini Onarma.....	13
2.3.3. Kovalent Bağ ile Kendi Kendini Onarma	16
2.4. Polietilen Glikol (PEG)	20
2.5. Jelatin.....	21
2.6. Vanilin	21
3. MATERYAL VE YÖNTEM	25
3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	25
3.2. Kullanılan Cihazlar.....	29
3.3. DeneySEL Yöntem	31
3.3.1. Schiff-baz Bazlı Hidrojel Sentezi	31
3.3.1.1. İzosiyanat ile Metakrillendirilmiş Vanilin Sentezi	31
3.3.1.2. Kendi Kendini Onaran Hidrojel Sentezi.....	31

3.3.2. Açılhidrazon Bazlı Hidrojel Sentezi.....	32
3.3.2.1. PEG1500-dialdehit Sentezi	32
3.3.2.2. PEGDMA1500 Sentezi.....	32
3.3.2.3. Jelatin-Açılhidrazon Bazlı Hidrojel Sentezi	33
3.3.3. Jel İçeriğinin Hesaplanması.....	33
3.3.4. Hidrojelin Şişme Davranışının İncelenmesi	34
3.3.5. Gözeneklilik Testi	34
3.3.6. Hücre Büyümesi ve Canlılık Çalışmaları	35
3.3.7. Hücre Fiksasyonu	35
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	36
4.1. Schiff-baz bazlı Hidrojel	36
4.1.1. M-VAN Karakterizasyonu	36
4.1.1.1. M-VAN FTIR Karakterizasyonu.....	36
4.1.1.2. M-VAN ¹ H-NMR Karakterizasyonu	37
4.1.2 Vanilin Bazlı Hidrojellerin Sentezi	38
4.1.2.1. Schiff-baz Bazlı Hidrojelin Karakterizasyonu	40
4.1.3. Schiff-baz Bazlı Hidrojelin Şişme Davranışının İncelenmesi.....	41
4.1.4. Schiff-baz Bazlı Hidrojelin Termal Davranışının İncelenmesi	43
4.1.5. Schiff-baz Bazlı Hidrojelin Mekanik Davranışının İncelenmesi	44
4.1.6. Schiff-baz Bazlı Hidrojelin Kendi Kendini Onarma Davranışı.....	45
4.1.7. Schiff-Baz Bazlı Kendi Kendini Onaran Hidrojelin Optik Mikroskop ve SEM Görüntüleri	47
4.1.8. In vitro Hücre Canlılığı Testi	47
4.1.8.1 Schiff-baz Bazlı Hücre Ekili Hidrojellerin Optik Mikroskop ve SEM Görüntüleri	48
4.2 Açılhidrazon Bazlı Hidrojel.....	49
4.2.1. PEG1500-dialdehit Sentezi.....	49
4.2.1.1. PEG1500-dialdehit FTIR Karakterizasyonu	50
4.2.1.2. PEG1500-dialdehit ¹ H NMR Karakterizasyonu.....	51
4.2.2. PEGDMA1500 Sentezi.....	51
4.2.2.1. PEGDMA1500 FTIR Karakterizasyonu	52
4.2.2.2. PEGDMA1500 ¹ HNMR Karakterizasyonu.....	52

4.2.3. Açilhidrazon Bazlı Hidrojel Sentezi.....	53
4.2.3.1. Açilhidrazon Bazlı Hidrojin FTIR Karakterizasyonu.....	55
4.2.4. Açilhidrazon Bazlı Hidrojin Şişme Davranışının İncelenmesi.....	58
4.2.5. Açilhidrazon Bazlı Hidrojin Termal Davranışının İncelenmesi.....	61
4.2.6. Açilhidrazon Bazlı Hidrojin Termal Davranışının İncelenmesi.....	63
4.2.7. Açilhidrazon Bazlı Hidrojin Kendi Kendini Onarma Davranışı	66
4.2.8. Açilhidrazon Bazlı Kendi Kendini Onarma Hidrojin Optik Mikroskop ve SeM Görüntüleri	66
4.2.9. Açilhidrazon Bazlı Hidrojin in vitro Hücre Canlılığı Testi	67
4.2.9.1 Açilhidrazon Bazlı Hücre Ekili Hidrojellerin Optik Mikroskop ve SEM Görüntüleri	68
5. SONUÇLAR.....	70
KAYNAKLAR.....	72
EKLER.....	84

ÖZET

KENDİ KENDİNİ ONARABİLEN YARA ÖRTÜCÜ BİYOMALZEMELERİN GELİŞTİRİLMESİ

Kendi kendini onarma, canlı sistemlerde, hasarı onarmak için oluşan otonom bir tepkidir. Malzemenin ömrünü uzatması bakımından önemlidir, hasarın onarılması için alternatif bir yoldur. Başlangıçta, sadece otomotiv sektörü ve endüstri için kullanılmıştır. Günümüzde doku mühendisliği gibi biyomedikal alanlarda kullanılmaktadır.

Kendi kendini onarma iç ve dış onarma özelliğine sahiptir. Dış onarmada, onarıcı ajan matrise enkapsüle edilir. Hasar oluştuğunda açığa çıkar, onarımı aktive eder. İç onarmada, kovalent olmayan etkileşimler ile kovalent bağlar onarım sağlar. Schiff-bazı bağlantıları, amin ve aldehit, açılhidrazon bağları hidrazit ve aldehit grupları arasında oluşan dinamik bağlardır. Fizyolojik koşullarda kullanılabilmesi, doku mühendisliği için uygundur. Sınırsız amin kaynağıyla çalışmaların olmasına rağmen, daha iyi materyaller için sınırlı aldehit kaynakları geliştirilmeye ihtiyaç duymaktadır.

İlk çalışmada, UV-ışınlarla başlatılmış serbest radikal polimerleşme tekniği ile hidrojel sentezlenmiştir. Hidrojin Schiff-bazıyla kendini onarmaya sahip olması için alternatif yeni yöntemle aldehit kaynağı monomer, polimer matrisine entegre edilmek için fonksiyonellendirilmiştir. Bu amaçla, vanilin aldehit kaynağı olarak seçilmiş, hidroksil grubu izosiyanatoetil metakrilat ile metakrillendirilmiştir. Vanilin bu yöntemle metakrillendirilmesi bilğimiz dahilinde daha önce rapor edilmemiştir. Böylelikle biyo-bazlı çapraz bağlayıcı olarak, polimer matrise katılarak yapıyı desteklemekte ve Schiff-baz bağlantıları ile kendi kendini onarım sağlamaktadır.

İkinci çalışmada PEG, daha önce kendi kendini onarma çalışmalarında kullanılmamış olan yeni bir yöntemle aldehit ile fonksiyonellendirilmiştir. Böylelikle uzun açılhidrazon bağları, kendi kendini onarım için esnek dinamik çapraz bağlantı noktaları oluşturmuştur. Ek olarak polimer matrisi desteklemek için PEG metakrillendirilmiştir. UV ışınlarıyla başlatılmış serbest radikal polimerleşme metoduyla sentezlenen

hidrojeller 24 saatte onarım göstermiştir. İyi çekme ve uzama mukavemetine sahiptir. Canlı hücrelerle çalışmak için uygundur.



ABSTRACT

DEVELOPMENT OF SELF-HEALING BIOMATERIALS FOR WOUND DRESSING

Self-healing is an autonomous reaction occurs to heal the damage on living systems. It's an important feature that expands the lifetime of the material, and it's an alternative way to damage recovery. Initially, it was used only in the automotive sector and industry. Nowadays, it has been used in biomedical application such as tissue engineering.

Self-healing has extrinsic and intrinsic characteristics. In extrinsic, the self-healing agent is encapsulated in the matrix. The healing agent released when the crack ruptures and activate healing. In intrinsic, non-covalent bonds such and covalent bonds occur to promote healing. While Schiff-base linkages are occur between amine and aldehyde, acylhydrazone linkages occur between acylhydrazide group and aldehyde group. Their ability to function in physiological conditions makes them good candidates for tissue engineering studies. Although there are studies with unlimited source of amines, limited aldehyde sources still need improvement for better materials.

In the first study, the aldehyde source was functionalized to integrate into the polymer matrix with an alternative new method. For this purpose, vanillin was selected as an aldehyde source, and its hydroxyl group was methacrylated with an isocyanatoethyl methacrylate. methacrylation of vanillin with this method has not been reported before. Thus, as a bio-based crosslinker, It joins the polymer matrix to support the main structure and provides self-healing with Schiff-base linkages.

In the second study, PEG1500 was aldehyde-functionalized by a method that hasn't been used in self-healing studies. Thus, long acylhydrazone bonds create flexible dynamic crosslink points to promote self-healing. Additionally, PEG1500 was methacrylated to support polymer matrix. The hydrogels showed self-healing in 24 hours. They have good tensile and elongation strength. They are suitable for working with living cells.

YENİLİK BEYANI

Doku mühendisliğinde kullanılmak üzere sentezlenecek hidrojin, biyouyumlu olma şartı, sınırsız monomer seçeneğini sınırlandırmaktadır. Kendi kendini onarmanın birçok türü olmasına rağmen fizyolojik sıcaklıkta ve fizyolojik pH'ta işlev gören reaksiyonların sınırlı olması çalışmamıza değer katmaktadır. Seçilen Schiff-baz ve açilhidrazon bağları, fizyolojik koşullarda kendi kendini onarabilen malzemelerin yapımında kullanılmaktadır. Çok sayıdaki sentetik ve doğal kaynaklı amin kaynağının yanında, aldehit kaynağı sınırlıdır. Bu nedenle, bilim insanları, polisakkaritlerin oksidasyonundan, aldehit içeren sayılı moleküllerin fonksiyonellendirilmesine kadar pek çok yol denemiştir. Fizyolojik sıcaklıkta ve pH'ta aktif işlev gören reaksiyon seçilmesine rağmen, imin ve açilhidrazon bağı oluşturmak için istenilen solventte çözünebilecek ve etkinlik gösterecek aldehit kaynaklarının sınırlı olması, çalışmamızı ilgi çekici hâle getirmiştir.

İlk çalışmada, daha önce sentezlenmemiş, metakrilik anhidrit türevlerine göre daha yüksek verimde ve daha hızlı sentezlenen izosiyanato etil metakrilat ile metakrillenmiş vanilin sentezlenmiştir. Biyo-çaprazbağlayıcı görevi gören monomer, hem polimer matrisine katılarak ana iskeleti desteklemiştir. Hem de dinamik imin bağı kurarak kendi kendini onarma özelliği sağlamıştır.

Güncel çalışmalarda, yapılara aldehit fonksiyonu, 4-formil benzoik asit ile kazandırılmaktadır. İkinci çalışmada, PEG1500'e yapıya aromatik yapı eklemeyen, alternatif bir yöntemle, dialdehit fonksiyonu kazandırılmıştır. PEG1500-dialdehit ile uzun zincirli açilhidrazon bağları oluşturularak, esnek dinamik bağlantı noktaları elde edilmiştir. Ayrıca polimer matrisi desteklemek için PEG1500 metakrillendirilip ana iskelet yapıya eklenmiştir. 24 saat içinde fizyolojik koşullar altında kendi kendini onarabilen ve hücreye karşı toksik olmayan, iyi mukavemete sahip orijinal içerikli hidrojenler sentezlenmiştir.

SEMBOLLER

cm^{-1}	: Dalga boyu
T_g	: Camısı geçiş sııcaklığı
t	: Zaman (dk)
T	: Sıcaklık ($^{\circ}\text{C}$)
$\%T$	: Yüzde geçirgenlik
ρ	: Etanolün yoğunluğu
ηH	: Kendi kendini onarma etkinliği
V	: Hidrojel hacmi
W_d	: Kuru hidrojel ağırlığı
W_s	: şişen dengedeki hidrojin ağırlığı
$\%$	: Yüzde

KISALTMALAR

ADH	: Adipik asit dihidrazit
cp	: Özgöl ısı kapasitesi
dk	: Dakika
EDC	: 1-Etil-3-(3-dimetilaminopropil)karbodiimit,
DBTDL	: Dibutiltin dilaurat
DCM	: Diklorometan
DMSO	: Dimetilsülfoksit
DSC	: Diferansiyel Taramalı Kalorimetre
FTIR	: Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi
IEMA	: İzosiyanatoetilmetakrilat
g	: Gram
¹HNMR	: Nükleer Manyetik Rezonans Spektrometresi
MBA	: Metilenbisakrilamit
MPa	: Megapaskal
mm	: Milimetre
MTT	: 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyl tetrazolium bromide
M-VAN	: Metakrillenmiş Vanilin
N	: Newton
NHEA	: N-hidroksietilakrilamit
PEI	: Polietilenimin
PEG	: Polietilen glikol
PEGDA	: Polietilen glikol diakrilat
ppm	: Milyonda bir birim
pH	: Potansiyel hidrojen
SEM	: Taramalı Elektron Mikroskobu
µm	: Mikrometre
TEA	: Trietilenamin
UV	: Ultraviyole ışını

ŞEKİL LİSTESİ

	SAYFA
Şekil 2.1.1. Yaralanma	3
Şekil 2.1.2 Yara Onarılma Evreleri	4
Şekil 2.2.1 Hidrojelin Gruplandırılması	7
Şekil 2.3.1 Kendi Kendini Onarma Türleri	11
Şekil 2.3.1.1 Enkapsülasyon Şeması	12
Şekil 2.3.2.1 İçsel Onarma Türleri	13
Şekil 2.3.2.2 Metal-ligand Reaksiyon Şema Örneği	16
Şekil 2.3.2.3 Boronik ester Reaksiyon Şeması	17
Şekil 2.3.2.4 Diels-Alder Reaksiyon Şeması	17
Şekil 2.3.2.5 Disülfid Reaksiyon Şeması	18
Şekil 2.3.2.6 Oksim Reaksiyon Şeması	18
Şekil 2.3.2.7 Açılhidrazon Reaksiyon Şeması	19
Şekil 2.3.2.8 Schiff-baz Reaksiyon Şeması	20
Şekil 2.5.1 Jelatinin kolajenden eldesi	21
Şekil 2.6.1 Vanilyadan Ekstrakte Edilen Moleküller	22
Şekil 2.6.2 “Vanilin Sentez Yöntemleri”	22
Şekil 3.3.1.1.1 M-VAN Reaksiyon Düzenegi ve Reaksiyon Şeması	31
Şekil 3.3.2.1.1 PEG1500-dialdehit Sentez Şeması	32
Şekil 3.3.2.2.1 PEGDMA1500 Sentez Şeması	33
Şekil 4.1.1.1.1 M-VAN FTIR spekturumu a) Vanilin, b) IEMA, c) M-VAN	36
Şekil 4.1.1.2.1 M-VAN ¹ H-NMR Spektrumu	37
Şekil 4.1.2.1 Schiff-baz Bazlı Hidrojel Şema	39
Şekil 4.1.2.2 Hidrojel sentez a) UV öncesi, b) UV sonrası	39
Şekil 4.1.2.1.1 Hidrojellerin Karşılaştırmalı FTIR Sepkturumu. A) A0, b) A2, c) A4, d) A6, e)A8	40
Şekil 4.1.3.1 Schiff-baz Bazlı Hidrojellerin Şişme Davranışları. a) Şişme Kinetiği Grafiği, b) Gözeneklilik Grafiği, c) Farklı pH Tampon Çözeltilerindeki Şişme Davranış Grafiği	41

Şekil 4.1.5.1 Schiff-bazlı Hidrojellerin Çekme-kopma Test Sonucu. a) I:A0, II:A2, III:A4, IV:A6, V:A8, *Kendi kendini onarmış hâl, A4'ün b) orijinal c) kendi kendini onarmış çekme-kopma görüntüleri	44
Şekil 4.1.6.1 Kendi Kendini Onarma	46
Şekil 4.1.7.1 Kendi Kendini Onaran A8'in Optik Mikroskop Görüntüleri 10X	47
Şekil 4.1.7.2 Kendi kendini onaran A8'in SEM görüntüleri. a) 63X b) 150X c) 500X. 47	
Şekil 4.1.8.1 MTT Testi. 1: A8, 2: A8+4µg kolajen, 3: A8+8µ g kolajen	48
Şekil 4.1.8.1 CCD-1072Sk Hücrelerinin Optik Mikroskop Görüntüleri 50 µm. a) Kontrol 0. saat b) 24. Saat hidrojel ortamında	48
Şekil 4.1.8.1.2 CCD-1072SK hücresi fikse edilmiş A8 SEM görüntüleri. a) 2000X b) 5000X c) kolajen kaplı 2000X d) Kolajen kaplı 5000X	49
Şekil 4.2.1.1 PEG1500-dialdehit reaksiyon mekanizması	50
Şekil 4.2.1.1.1 PEG1500-dialdehit sentezi. a) PEG b) PEG1500-dialdehit	50
Şekil 4.2.1.2.1 PEG1500-dialdehite ait ¹ HNMR spektrumu	51
Şekil 4.2.2.1 PEGDMA1500 reaksiyon mekanizması	52
Şekil 4.2.2.2.1.1 PEGDMA1500'e ait FTIR Spektrumu	52
Şekil 4.2.2.2.1 PEGDMA1500 ¹ HNMR Spektrumu	53
Şekil 4.2.3.1 Açılıhidrazon Bazlı Hidrojel Şema	54
Şekil 4.2.3.1.1 Hidrojel sentezi. a) jelatin, b)) PEG1500-dialdehit, c) PEGDMA1500, d) N-hidroksietil akrilamit, e) MBA, F) GA-0 Sağdaki görüntü, pik yoğunluklarını daha iyi görebilmek için 4 spektrumun ayrı çekildiği 1800-1200 cm ⁻¹ aralığındaki görüntüsü	55
Şekil 4.2.3.1.2 Hidrojel kombinasyonlarının FTIR spektrumlarının karşılaştırılması a) GA-0, b) GA-1 c) GA-2	56
Şekil 4.2.3.1.3 Hidrojel kombinasyonlarının FTIR spektrumlarının karşılaştırılması. a) GA-2, b) GA-2-1, c) GA-2-2	57
Şekil 4.2.4.1 GA-0, GA-1, GA-2 Hidrojellerinin Şişme Davranışları. a) Şişme Kinetiği Grafiği, b) Gözeneklilik Grafiği, c) Farklı pH Tampon Çözeltilerindeki Şişme Davranış Grafiği	58
Şekil 4.2.4.2 GA-2, GA-2-1, GA-2-2 Hidrojellerinin Şişme Davranışları. a) Şişme Kinetiği Grafiği, b) Gözeneklilik Grafiği, c) Farklı pH Tampon Çözeltilerindeki Şişme Davranış Grafiği	60

Şekil 4.2.6.1 Açılhidrazon Bazlı Hidrojellerin Gerilim-gerinim Grafiği. I: GA0, II:GA-1, III:GA-2. A) GA-1 Orijinal b) GA-1Kendi kendini onarmış hâl çekme-kopma görüntüsü.	64
Şekil 4.2.6.2 Açılhidrazon Bazlı Hidrojellerin Gerilim-gerinim Grafiği. I: GA-2, II:GA-2-1, III:GA-2-2. a) GA-2-2 Orijinal b) GA-2-2 kendi kendini onarmış hâl çekme-kopma görüntüsü.	65
Şekil 4.2.7.1 GA-2'nin Çekme-kopma Görüntüsü	66
Şekil 4.2.8.1 GA-1'in optik mikroskop görüntüsü kendi kendini onarma görüntüleri. a) Kesik oluşumu, b) 0. saat c) 4. saat	66
Şekil 4.2.9.1 MTT Test. 1: GA-1, 2: GA-1+ 4µg kolajen.....	67
Şekil 4.2.9.1.1 HEK293 hücrelerinin optik mikroskop görüntüleri a) kontrol 0. saat b) 24. saat hidrojel ortamında	68
Şekil 4.2.9.1.2 GA-0 ve GA-1'in hücre ekili SEM görüntüleri. a) GA-0 200X b) GA-1+4 µg kolajen 2000X büyütme c) GA-0 5000X büyütme, d) GA-1+4 µg kolajen 5000X büyütme	69

TABLO LİSTESİ

	SAYFA
Tablo 3.3.1.2 Schiff-baz Bazlı Hidrojel Kombinasyonları	32
Tablo 3.3.2.3 Açilhidrazon Bazlı Hidrojel Kombinasyonları.....	33
Tablo 4.1.4.1 Vanilin bazlı Hidrojellerin Camsı Geçiş Sıcaklık Değerleri	44
Tablo 4.1.5.1 Vanilin Bazlı Hidrojellerin Mekanik Test Sonuçları. * KO _e : Kendini Onarma etkinliği, orijinal ve kendini onarmış hidrojellerin çekme mukavemet oranlarından hesaplanmıştır.....	45
Tablo 4.2.5.1 Açilhidrazon bazlı Hidrojellerin Camsı Geçiş Sıcaklıkları	61
Tablo 4.2.6.1 Açilhidrazon-Bazlı Hidrojellerin Çekme-Kopma Test Sonuçları	63

1. GİRİŞ

Deri insan vücudunun en büyük organıdır. İç organları hasara karşı korur, mikroorganizmaların cilde nüfuz etmesini önler. Vücudun iç ortamının stabilitesini muhafaza etmede hayati bir role sahiptir [1]. İnsan derisi iç organları koruma işlevini yerine getirirken, yaşamın olağan akışında kusur ya da yaralanmaya maruz kalması kaçınılmazdır [2]. Geçmişten günümüze deri üzerinde oluşan hasarı onarmak için çeşitli materyaller sentezlenmektedir. Bilim insanları gazlı bez, pansumanlar vb. gibi geleneksel sargıların yerine kolay uygulanabilir ve daha stabil yeni materyal arama girişiminde bulunmuştur [3]. Gelişen teknoloji ve tedavi yöntemleriyle birlikte yara iyileşme süreçleri daha iyi anlaşıldıkça, yeni materyal arayışına girilerek bir adım daha ileri gidilmiş, yaranın iyileşmesine katkı sağlayan ajanlara sahip dinamik ve modern yara örtüleri geliştirilmiştir. Yaraya ilave zarar oluşturmada daha hızlı yara iyileştirme sunabilmek amacıyla hücre büyümesi ve yayılmasını destekleyen ajanların kullanılması, son yıllarda önem kazanmıştır. Biyouyumluluğu ve yara ortamına gerekli nemi sağlayabilmesi ve ihtiyaç doğrultusunda fonksiyonellendirilebilmesi açısından hidrojel ilgi çekmektedir [3].

Hidrojel, fiziksel ve kimyasal bağlarla oluşturulan hidrofilik, 3D yapılarıdır. Biyouyumluluğu, su tutabilme kapasitesi gibi özelliklerle biyomedikal alanda kullanım için idealdir. Ancak zayıf mekanik özellikleri, geri-dönüşümsüz kovalent çapraz bağlarla desteklendiğinde yapı sert hâle gelmektedir. Bu bağlamda tersinir bağlara duyulan ihtiyaç, kendi kendini onarabilen (self-healing) jellerin yara örtüsü olarak kullanılmasına yönelik çalışmaları ilgi çekici hâle getirmiştir [4-5].

Kendi kendini onarma, bir materyalin hasar oluştuktan sonra, tersinir dinamik bağlarının tamamen ya da kısmen tekrar oluşmasıdır [6]. Bu özellik malzemenin uzun ömürlü ve dayanıklı olması için umut vaat edicidir [7]. Kendi kendini onarma, içsel ve dışsal onarım olarak sınıflandırılır. Dışsal onarımda, onarıcı ajan enkapsüle edilerek yapıya entegre edilir. Hasar oluştuğunda serbest kalarak onarımı başlatan bir dizi reaksiyon gerçekleştirir. İçsel onarım kovalent olmayan etkileşimler ve kovalent bağlardan oluşur. Kovalent olmayan etkileşimler, hidrojen bağları, hidrofobik etkileşimler ve metal-ligand koordinasyon etkileşimleri vb. etkileşimlerdir. Kovalent bağlar, imin bağları, disülfid

bağları, açilhidrazon bağları ve boronat ester bağları vb. dinamik tersinir bağlardır. Dinamik tersinir kovalent bağlar arasında, Schiff-baz ve açilhidrazon bağları, fizyolojik sıcaklık ve pH'ta kullanılabilirliği açısından ilgi çekicidir [8,9].

Bu çalışmada imin ve açilhidrazon bağı oluşturmak için alternatif aldehit kaynakları sentezlenmiştir. Daha sonra aldehit kaynakları ile oluşturulan dinamik bağlara sahip hidrojeller sentezlenmiştir. 24 saat içinde kendi kendini onarabilen hidrojeller, biyouyumlu olup doku mühendisliği için uygundur.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Yara Örtüsü

Hayatın olağan akışında ne kadar kendimizi sakınırsak sakınalım yaralanabiliriz. Yarayı: zihinsel, ruhsal ya da fiziksel bütünlüğün dış sebeplerden dolayı bozulması olarak tanımlarsak, gözle görünen ya da görünmeyen bütün yaralanmalara, yaşamımız boyunca maruz kalırız. Fiziksel yaralanmalarda yara, anlık bir ihtiyaç doğurur, bakım ister ve belirli bir bakım prosedürüne ihtiyaç duyar (Şekil 2.1.1). Kimse açık yarası kanarken, kaldığı yerden hayatına devam edemez. Öteden beri önceliklendirilmiş yara türü olan fiziksel yaralanma, deri ve organları içeren biyolojik doku bütünlüğünün hasar görmesi olarak tanımlanabilir. Hasar, kesik, yanma, doku kaybı, yırtılma, ezilme, delinme veya hastalık kaynaklı, kaza kaynaklı, afet kaynaklı, kimyasal, yanık, ülser ve ameliyat yarası şeklinde oluşabilir. Yara nerede ise insanın canı oradadır. Ağrıya ve acıya dayanımı düşük olan insanoğlu, acıyı bir an önce dindirecek ürünler sentezleyerek piyasaya sürmüştür.

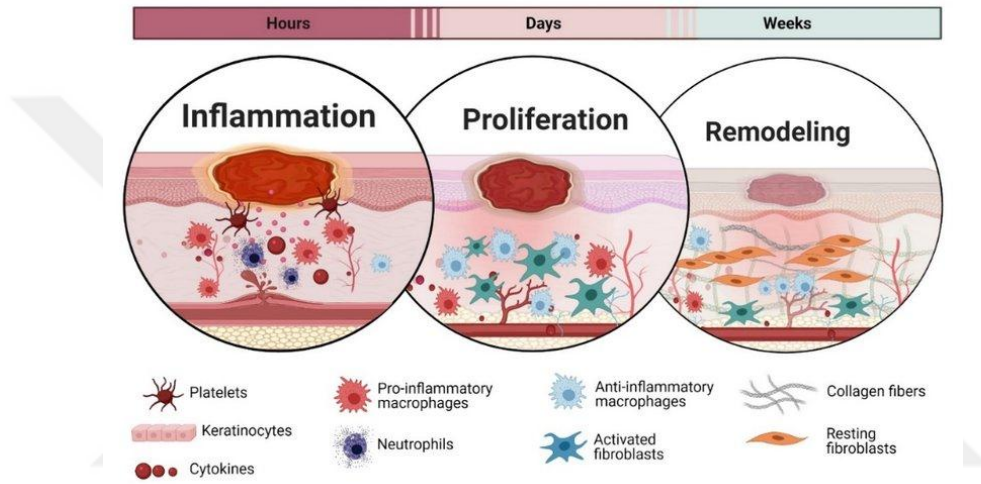


Şekil 2.1.1. Yaralanma [10]

Deri, vücudumuzda ilk göze çarpan, en büyük organımızdır. Bize dış dünyaya karşı kalkan olur, iç organları hasara karşı korur, bedeni zararlı UV ışınlarından korur ve mikroorganizmaların cilde nüfuz etmesini önler [1]. Cilt, vücut yüzeyini kaplayan epidermisten ve kollajen açısından zengin hücrelere destek sağlayan, altta kalın bağ dokusunu tutan dermisten oluşur [11]. Epidermiste salgı bezlerinden salgılanan maddeler, vücudun su-elektrolit dengesinin korunmasına yardımcı olur [3]. Yanıklar ve derin yaralar gibi cilt travmaları, deriden su, elektrolit ve protein kaybına neden olarak hayati tehlike oluşturabilir [2]. Deri, tüm korunaklı katmanlarına rağmen yaralanmaya en açık organımızdır.

Fiziksel yarayı akut ve kronik olarak ikiye ayırabiliriz. Akut yaralarda, yaranın büyüklüğü, derinliği ve derecesine bağlı olarak iyileşme kısa sürede gerçekleşir. Kronik yaralarda ise anatomik yapı ve fonksiyonlar bozulduğu için iyileşme daha uzun sürer [12].

Bir travma sonucu yara oluştuğunda, yara iyileşmesi kendiliğinden oluşur ve bir dizi biyolojik ve kimyasal karmaşık aşamada gerçekleşir. İyileşme, birbirinden bağımsız olmayan kısmen üst üste çıkışabilen hemostasis, inflammatory, proliferation ve remodeling olarak adlandırılan dört farklı fazda gerçekleşir (Şekil 2.1.2):



Şekil 2.1.2 Yara Onarılma Evreleri [13]

Hafif bir yaralanma durumunda kanama varsa, ilk olarak pıhtılaşma başlar ve kanama durdurulur. Pıhtılaşan bölge kurur ve kabuk oluşur. Yara kabuğu mikrop vb. dışsal zararlı organizmalardan iç sistemi koruyarak enfeksiyon oluşumunu önler. Yaralı bölge pembeleşir, yara yüzeyini temizlemek için irin oluşumu gözlemlenebilir. Kan ile yaralı bölgeye besin ve oksijen taşınır. Beyaz kan hücreleri mikroplarla savaşarak iyileşmeyi başlatır. Kan damarı zarar görmüşse, kan damarı onarılır. Kırmızı kan hücreleri kolajen oluşumuna yardımcı olur. Bu sayede çapraz bağlar oluşur, doku büyür, sağlamlaşır ve yeniden inşa edilir. Daha küçük yaralar daha kısa sürede iyileşirken, daha büyük ve derin yaraların iyileşmesi daha uzun zaman alır. Yeni gelen doku eskisinin aynısı olmadığı için yara izi oluşur. Bazı derin yaralarda iyileşme yeterli olmaz, yara tam kapanamayabilir ve dışarıdan ek bir desteye ihtiyaç duyar [14-16].

Yaralanma, boyutuna bağlı olarak yaşam kalitemizin, günlük hayat rutininizin bozulmasına ve iş yaşamımızdaki performansımızın düşmesine sebep olabilmektedir.

Kendi kendine yeterince iyileşemeyen yaralar için, ek yardım almak kaçınılmazdır. Yara örtüsü için kullanılan araçların performans düşüklüğünden dolayı kişi tekrar tekrar hastaneye taşınarak zaman kaybı yaşamakta, yaşam kalitesi düşmekte, kişi için ek bir maliyete sebep olmaktadır. Temel ihtiyaçlar gibi kaçınılmaz olarak hep ihtiyaç duyulacağı için, yara örtüsü çalışmaları güncelliğini her zaman koruyacaktır.

Yaralanmaya insanlık tarihinin her döneminde rastlamak mümkündür. Yara örtüsünün ilkel kullanımı Eski Mısır zamanına kadar dayanmaktadır. Eski Mısırlılar, yaralı bölgeye yağ, bal, alçı ve macun gibi malzemeleri sürerek, günümüz pansumanlarına benzer amaçla kullanmışlardır. Eski Yunanlılar ise yara bakımına odaklanarak yaraları temiz su, sirke ve şarapla yıkadıkları bilinmektedir[17]. Günümüz pansumanlarının ihtiyaçları üzerine çalışan bilim insanları, farklı türlerde yara örtüleri gelişmesine katkı sağlamışlardır. Prof. Dr. Winter'ın "Nemli Yara Teorisi" ile yara iyileşmesi için nemli ortamın oluşmasının önemine dikkat çekerken, Lawrence yaralı bölgeye yapışmayı önleyen pansumanların geliştirilmesi gerektiğini savunmuştur. Piskozub, yara sıvısını gidermek için absorbe etme yeteneğine sahip yara örtülerinin önemini araştırmıştır [18-20].

İdeal bir yara örtüsünün; non-toksik özellik göstermesi, yarayı enfeksiyon ve mikroorganizma gibi kontaminasyonlardan koruması, yaranın hava almasına izin vermesi, dokuya zarar vermemesi, yara bölgesindeki nemi kontrol edebilmesi ve nemli bir ortam sağlaması, kan dolaşımını engellememesi, yara yüzeyindeki ölü doku oluşumunu azaltması, değiştirilebilirliğinin kolay olması, biyobozunur olması, yaranın ağrısını dindirmesi elastik olması (kişiye hareket özgürlüğü tanıyarak hareketini kısıtlamaması) ve ekonomik olması gerekir. Her yaranın boyutu, derinliği, oluştuğu bölge çeşitlilik göstereceği için, her iyileşme evresinin ihtiyacı farklı olacağından, her ihtiyacı karşılayacak ideal bir yara örtüsü sentezlemek mümkün olmayabilir. Bu nedenle günümüzde farklı ihtiyaçları karşılayan farklı yara örtüleri mevcuttur [21].

Yara örtüsünü geleneksel ve modern yara örtüleri olarak ikiye ayırabiliriz.

Geleneksel yara örtülerinde sargı bezi, pamuk, gazlı bez, yapışkanlı bandajlar gibi sadece fiziksel koruma amaçlı pansumanlar kullanılmıştır. Yarayı kontaminasyondan korumaları, ucuz olmaları ve kullanım kolaylığı açısından avantajlıdır. Fakat değiştirilme sıklığı, değiştirilirken yaraya yapışarak ek bir yaralanma, ağrıya ve acıya

sebepe olma, sınırlı su tutma kapasitesi sebebiyle yaraya nemli bir ortam sağlayamamaları kullanımını sınırlandırmaktadır [21].

Geleneksel yara örtülerine alternatif, yara iyileşme süreci için uygun koşulu sağlayan film, sprey, köpük, hidrokoloid, biyo-aktif örtüler ve hidrojel gibi materyaller modern örtüler olarak sınıflandırılabilir. Biyuyumlulukları, su tutma kapasiteleri, ekstraselular matrisi taklit ederek, onarıcı ajan barındırmaları açısından öne çıkmaktadırlar. Biyo-aktif örtüler, kolajen, kitosan, hyaluronik asit, büyüme faktörü ve antimikrobiyal entegre edilmiş, yara iyileşmesini arttıran ve hızlandıran biyomalzemelerden sentezlenir. Kolajenin, fibroblast oluşumunu başlatması, hyaluronik asitin hücresel matrisin bir bileşeni olması, kitosanın proliferatif aşamasında granülasyon dokusunun oluşumunu teşvik etmesi gibi yara iyileşmesinde aktif rol oynamaları, sıklıkla kullanılmalarında önemli rol oynamıştır [21].

Hidrojel, biyolojik proseslere karşı inert olması, istenmeyen reaksiyonlara sebebiyet vermemesi, metabolitler için geçirimli olması bakımından canlı dokuda çalışmak için uygundur. Buna ek olarak, 2D yapılara alternatif hidrofilik 3D yapıları ve yüksek su tutabilme kapasiteleri sayesinde, yaraya istenilen nemli ortamı sağlayarak avantajlı hâle gelmektedirler. Yara bölgesinde gaz geçişini sağlamaları, yara bölgesinden ağrısızca uzaklaştırılabilmeleri, granülasyonu arttırmaları, yara bölgesindeki ısı dağılımını iyi yönetebilmeleri açısından yara örtüsü olarak tercih edilmektedirler [22-24].

2.2. Hidrojel

Plastikler dünyasında canlı dokuya zarar vermeden kullanılabilecek materyal sınırlıdır [23].

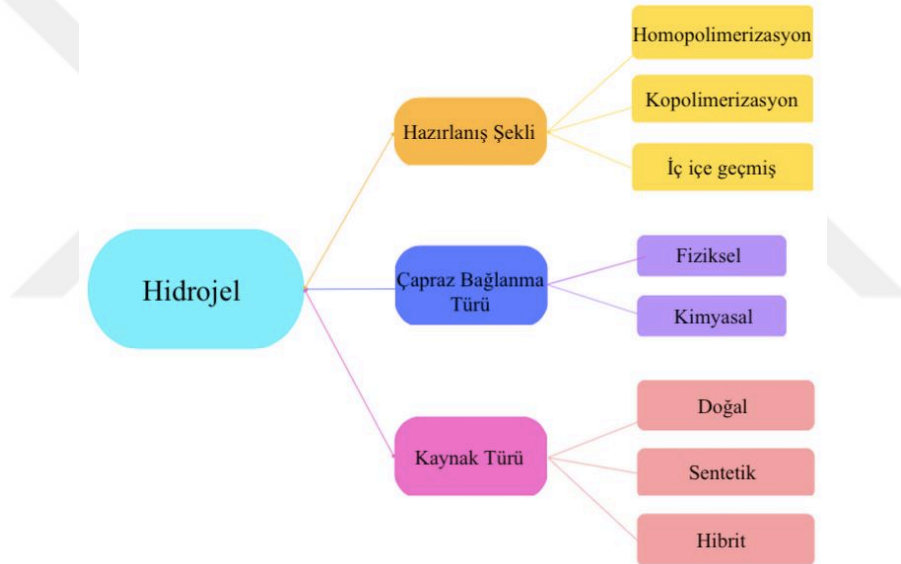
Hidrojel, insan vücudunda kullanılmak için yapılan ilk polimerlerdir. Doku mühendisliği gelişmeden önceki yıllarda bile, hidrojel, hücreyi enkapsüle etmek için kullanılmaktaydı. Günümüzde hidrojeller yara iyileşmesi gibi klinik uygulamalarda sıklıkla kullanılmaktadır [22].

Yüksek su tutma kapasitesi ve gözenekli yapıları sayesinde, büyüme faktörü, hücre, DNA ve ilaç enkapsüle edilmiş ajanların hidrojelin içine nüfuz edebilmesi kolaylaşarak ilaç taşınımında kullanılmasını sağlamaktadır. Jelleşme süresi kontrol edilerek hedef bölge odaklı çalışmalarda enjekte edilebilir hidrojeller kullanılmaktadır. Hücre yenileme

özelliğine sahip moleküller barındırmaları açısından doku mühendisliği gibi birçok biyomedikal alanda kullanılmaktadır [25].

Hidrojeller, tıpkı katılar gibi akma gerçekleştirilmeyen ve tıpkı sıvılar gibi küçük moleküllere geçirgenlik gösterebilen, suda çözünmeyen ama içerisinde büyük oranda su bulunduran, çapraz bağlı, hidrofilik polimer matrise sahip üç boyutlu materyaldir [24]. Kuru ağırlığının %10'u ila %1000'i kadar su absorbe edebilir [26]. Çevre koşullarına uygun olarak şişebilir, büzülebilir, bükülebilir ve bozunabilirler. pH, ışık, basınç, elektrik alan, sıcaklık, solvent, iyonik kuvvet gibi dış uyaranlara yanıt verecek şekilde modifiye edilebilirler [27].

Hidrojel basitçe, hazırlanış şekline, kaynağına, çapraz bağ türüne göre Şekil 2.2.1'deki gibi sınıflandırılabilir [28].



Şekil 2.2.1 Hidrojinin Gruplandırılması

2.2.1. Hazırlanış Şekline Göre Hidrojeller

Homopolimerizasyon yöntemiyle hazırlanan hidrojellerde, polimer ağ yapısı sadece tek tür monomerden sentezlenir. Stanzione ve çalışma arkadaşları, guaiakol ve ögenolün DMAP katalizörlüğünde metakrilik anhidritle esterleşmesiyle oluşan metakrilatlı bileşiklerini homopolimer olarak sentezleyerek vinil ester reçineleriyle yarışan yeni termosetler geliştirmişlerdir.

Kopolimerizasyon yöntemiyle hazırlanan hidrojellerde, içlerinden en az bir tanesinin hidrofilik yapıda olduğu, iki ya da daha fazla monomer türünün, rastgele, blok olarak

birleşmesi sonucu oluşmaktadır. Kopolimerizasyon/ çaprazbağlı serbest radikal polimerizasyon, çok fonksiyonlu çaprazbağlayıcılarla hidrofilik monomerlerin hidrojel sentezinde sıklıkla kullanılmaktadır. Örneğin Pourjavadi ve çalışma arkadaşları, kappa-karajenan ve akrilik asitin serbest radikal başlatıcı ile kopolimerizasyonu ile biyopolimer bazlı süperabsorban hidrojel sentezlemiştir [29].

İç içe geçmiş ağ yapılar (Interpenetrating), iki ya da daha fazla polimer ağ yapısının fiziksel ya da kimyasal çapraz bağlanmasıyla iç içe geçmiş yapılardır. Bu iç içe geçmiş hâl mekanik mukavemeti arttırmaktadır. Ayrıca iki farklı yapının özelliklerine sahip olduğu için tekli komponentlerden daha avantajlıdır. Suri ve çalışma arkadaşları kollajen modifiye malzeme ve fotopolimerize olabilir hyaluronik asit ile iç içe geçmiş ağ yapı sentezlemiştir. *in vitro* ve *in vivo* sonuçlarına bağlı olarak doku mühendisliğinde kullanılabilir olduğunu rapor etmişlerdir [30].

2.2.2. Çapraz Bağlanma Türüne göre Hidrojeller

Çapraz bağlanma türüne göre hidrojeller fiziksel ve kimyasal olmak üzere iki temel kısma ayrılır.

Fiziksel çaprazbağlı hidrojellerde, üç boyutlu polimer matris, polimer zincirler arasındaki hidrojen bağ, elektrostatik etkileşimler ve hidrofobik etkileşimler gibi fiziksel etkileşimlerle sağlanır. Polimer zincirindeki orijinal moleküler yapılar değişime uğramaz. Sıcaklık ve pH değişimi gibi dışsal etkiler ile geri-dönüşümlü bir yapıya sahiptir. Arnab ve çalışma arkadaşları, TiO₂ immobilize karbonlanmış polidopamin-perflorosilika ve karbonlanmış polidopamin kullanılarak elektronik deride biyosensör olarak kullanılmak üzere, görünür ışık-uyaralı ve mekanik kuvvetle tetiklenen çürüme önleyici davranış gösteren hidrojel sentezlemiştir [31].

Kimyasal hidrojellerde, üç boyutlu polimer matrisi, Micheal katılımı ya da serbest radikal polimerizasyonu gibi kimyasal olarak monomerlerin birbirine entegre olduğu, kimyasal çapraz bağa sahip suda çözünmeyen yapılardır. Kuvvetli kimyasal bağlar sayesinde yapının mekanik mukavemeti ve stabilitesi fazladır. Örneğin, jelatini polimer matrisine entegre etmek için, gluteraldehit, karbodiimit gibi çaprazbağlayıcıların yanında, jelatinin kendisine metakrilat fonksiyonu ekleyerek radikal polimerizasyonla kimyasal çaprazbağlı hidrojel elde edilmiştir [32].

Fiziksel çapraz bağlı hidroojeller, geri dönüşümlü ve kolay hazırlanabilmelerinin yanında kararlılık ve mekanik mukavemetleri düşüktür. Kimyasal çapraz bağlı hidroojeller dayanıklılık ve mekanik özellikler bakımından iyi olsa da, çapraz bağlayıcı ajanların kullanımı biyomedikal alanda kullanımını sınırlandırmaktadır. Bileşen oranı, çaprazbağlanma süresi gibi hazırlık süreci de hidrojin performansını etkilemektedir. Hidrojin ağ yapısını ve parametreleri optimize edebilmek kullanım alanını genişletmek adına önemlidir [33].

2.2.3. Kaynak Türüne göre Hidroojeller

Kaynaklarına göre hidroojeller, doğal, sentetik ve hibrit olmak üzere üçe ayrılmaktadır.

Sentetik hidroojeller, akrillenmiş polietilen glikol, poliakrilamid, akrilik asit, itakonik asit ve gibi ticari monomer ve oligomerlerden fiziksel veya kimyasal çapraz bağlanarak sentezlenir, stabil polimer ağ oluşturur [34-35].

Doğal hidroojeller, kitosan, kolajen, aljinat gibi doğal kaynaklı ya da doğal kaynaktan sentezlenir. Biyouyumluluğu, biyobozunurluğu açısından biyomedikal uygulamalar için uygundur. Kutlusoy ve çalışma arkadaşları, kitosan ve hyaluronik asit kopolimerizasyonundan kriyojel elde etmişlerdir. Gözenekli yapısı sayesinde yüksek şişme elde edilmiş, MTT sonuçları hidrojin hücre çalışmaları için uygun olduğunu rapor etmişlerdir. Zhao ve çalışma arkadaşları, polivinil alkol, sodyum aljinat ve tannik asidi, boraks çapraz bağlayıcı olarak kullanarak kompozit hidrojel sentezlemiştir. Giyilebilir cihaz olarak hazırlanan hidrojel, pH'a ve şekere duyarlı olduğu, yüksek esneklik gösterdiği rapor edilmiştir [36-37].

Hibrit hidroojeller, doğal ve sentetik polimerlerin bir kombinasyonu olarak kullanılırlar. Genellikle, doğal kaynaklı molekülün fonksiyonel bir grup ile mekanik ve fiziksel özelliklerinin geliştirilerek polimer matrise eklenmesiyle sentezlenir [38].

Hidrojel hasar gördüğünde, bağlar kırılır, geri döndürülemez hâle gelir ve işlevsizleşir. Hidrojin zayıf mekanik özellikleri, kullanımını sınırlandırmakta, geri dönüşümsüz çapraz bağlarla kuvvetlendirilmeye çalışıldığında ise hidrojel çok sert hâle gelmektedir [5]. Bu nedenle mekanik dayanımı yüksek olan hidroojellerde bile, hasar oluştuktan sonra, kendi kendini onarma özelliği göstermesi ihtiyaç duyulan bir özelliktir [39].

Son yıllarda, hasar sonrası onarılabilen dinamik kovalent bağlı birçok dikkat çekici makale yayımlanmıştır [40-41]. Hidrojeller fiziksel koşullara adapte olan dinamik materyaller olarak adlandırılır. Adapte olabilen hidrojellerin geri dönüşümlü bağlarla kullanımı, yara bakımında enfeksiyon ihtimalini azalttığı ve düzensiz yaraları kaplayabildiği için avantajlıdır. Dinamik bağlar mekanik bir kuvvetle hasar almış bölgenin onarılmasını sağlar. Bu nedenle kendi kendini onarma hidrojellerde istenilen bir özelliktir. Her ne kadar bazı ticarileşmiş ürünlerle klinik uygulamalara geçilmiş olsa da, daha etkin bir tedavi için hücre çoğalmasını ve yapışmayı destekleyen, aynı zamanda kendi kendini onarabilen yeni hidrojel yara örtülerine gereksinim duyulmaktadır [3,43].

2.3. Kendi Kendini Onarma

Kendi kendini onarma, hayatta kalma mücadelesinde yaralanma ve enfeksiyona karşı, hem doğanın hem de insanoğlunun sahip olduğu bir meziyettir. Tanımlarsak, dışsal kaynaklı hasarın kendiliğinden orijinal hâline ya da orijinaline yakın bir hâline, işlev görebilir hâline, geri dönmesidir. Biyolojik yapımız, doku, organ, kas ve deri gibi herhangi bir parçasında oluşan hafif ölçekte yaralanmayı onarabilir. Benzer şekilde doğa da kendi kendini onarma özelliğine sahiptir. Ağaçlar, her sonbahar, budanarak aldıkları yaraları, iyileşme ajanı içeren kapsül ve damarlı yapıları sayesinde, hasarlı bölgeye iyileşme ajanını doldurarak, yarasını onarır ve aynı yerden ilkbaharda yeniden filiz verebilir [44]. Bukalemunun, geri dönüşümlü kas kontrolünün, sahip olduğu rengini etrafına uyarlayabilme özelliğine kadar kendi kendine onarmayı farklı konseptlerde doğada da gözlemleyebiliriz. Bu bağlamda kendi kendini onarmanın, botanığın, zoolojinin, biyolojinin ve kimyadan malzeme bilimine kadar disiplinler arasında geniş çalışma alanı bulunmaktadır.

Köprü, bina, uçak gibi insan yapımı çoğu yapıda hasar, geri dönüşümü olmayan şekilde oluşur.

Her zaman doğadan ve kendinden ilham alan insanoğlu bunu kendisi için avantaja çevirmeye çalışmış, ürettiği şeylerde öğrendiklerini uygulamıştır. Kullanılabilirlik açısından baktığımızda kendi kendini onarma, malzemenin ömrünün uzatılması, maliyetin azaltılması anlamında avantaj sağlamaktadır.

Antik Roma’da Pantheon ve Colosseum’un yapımında kullanılan özel harç sayesinde yapıların aldıkları hasarları onardıkları böylece yüzyıllarca tarihe tanıklık etmelerini, ilk kendi kendini onarabilen malzeme olarak sayabiliriz [45-46]. Bu zamana kadar nasıl dayandıklarına anlam veremediğimiz tarihi yapıların kalıcılığının sebebi kendi kendini onarma ile ilgili olması heyecan vericidir. Antik çağlarda kullanılmasına rağmen, 1990’ların sonlarına kadar beklediği ilgiyi göremeyen kendi kendini onarma çalışmaları, ilk olarak, insanın kendinden çok kıymet verdiği arabasının yüzeyinin aldığı hasarı önlemek için otomotiv sektörünün ilgisini çekmiştir [47]. Günümüzde yoğun olarak otomotiv, enerji ve elektronik alanlarında kullanılmaktadır. Kullanım alanı olarak sağlık sektöründe kendine çok geç yer bulan kendi kendini onarma, hâlen marketteki düşük yüzdesine rağmen, çalışmaya ve gelişmeye açık bir alan olup artan bir ilgiyle çalışılmaktadır. Kendi kendini onarma, hasar aldıktan sonra tekrar kullanım imkanı sunduğu için, malzeme ömrünü uzatması ve hasar onarımına alternatif olması bakımından önemlidir [48,50].

Kendi kendini onarma Şekil 2.3.1’de verildiği şekilde içsel ve dışsal onarma olmak üzere ikiye ayrılır [50].

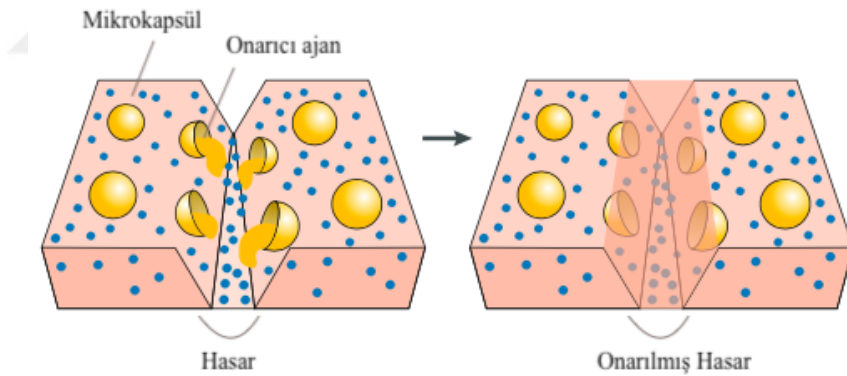


Şekil 2.3.1 Kendi Kendini Onarma Türleri

2.3.1. Dışsal Onarma (Extrinsic)

Dışsal kendi kendini onarmada, onarım kendiliğinden meydana gelmez. Sisteme ek olarak dışarıdan eklenen, monomer, ya da sertleştirici gibi aktif bileşenler, onarıcı ajan olarak bir kapsülün içine yerleştirilerek polimer matrisin içine gömülür. Hasar oluştuğunda, mikrokapsüller kırılır, açığa çıkan onarıcı ajan kimyasal bir reaksiyonu

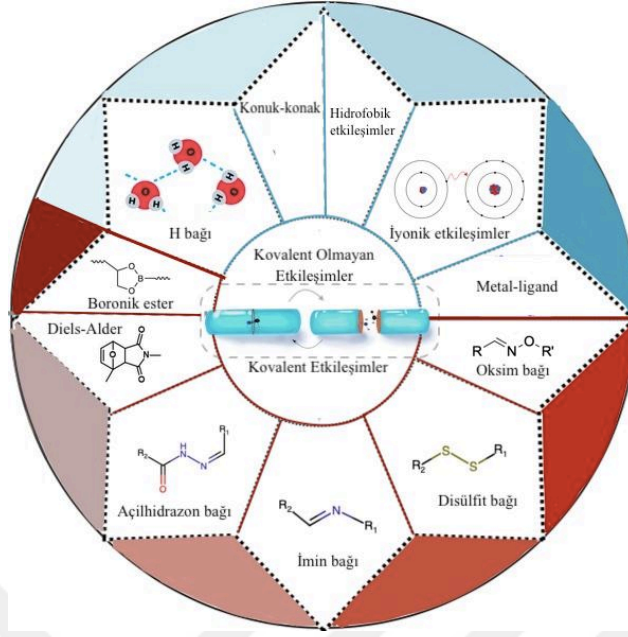
tetikleyerek hasarın onarılmasını sağlar (Şekil 2.3.1.1). Yalnızca küre şekliyle sınırlı kalmayan bilim insanları, polimer matrise gömülen 3D kılcal damar yapılar veya lif ağları da kullanmışlardır. Mikrovasküler yapıları sayesinde onarıcı ajan hasarlı bölgeye ulaşabilmektedir. Kapsülasyon olmadan da, kırık zincir uçlarıyla reaksiyona girebilen reaktif katalizör barındıran formülasyonlar, dışsal kendi kendini onarma kategorisine girmektedir. Wass ve çalışma arkadaşlarının yaptığı çalışmada, uçağın kanadındaki küçük çaplı hasarı önlemek için metal triflat onarıcı ajanı, epoksi reçine içerisine gömülerek sıcaklığa bağlı malzeme geliştirmişlerdir [51]. Sıcaklığa bağlı olduğundan uçağın uçtuğu rotaya göre onarım süresi değişmesi, onarıcı ajandan sonra rengin kırmızıya dönmesi yolcuları tedirgin edeceğinden geliştirilmeye açıktır. Benzer bir çalışma NASA'nın uzayda mikrometeor çarpması gibi ufak hasarları önlemek için orta tabakanın viskoz sıvı olduğu, hasar olduğunda sıvının boşluğu doldurması düşünülerek, sandaviç şeklinde üç katmanlı oksijenle tetiklenen malzeme sentezlenmiştir. Dışsal kendi kendini onaran materyalin dezavantajı, mikrokapsülün tek seferlik iyileşme göstermesi, vücuttaki sistemlerin daha karmaşık olması ve bunun endüstriyel üretimi azaltabilmesidir [52].



Şekil 2.3.1.1 Enkapsülasyon Şeması [53]

2.3.2. İçsel Onarma (Intrinsic)

İçsel kendi kendini onarma, bir iyileştirici ajan olmaksızın, kendiliğinden ya da dış bir uyaran kullanılarak gerçekleşir [54]. Bazı materyaller iyileşme göstermek için ısı, ışık ya da elektrik akımına ihtiyaç duyar. İçsel kendi kendini onarma kovalent bağ ve kovalent olmayan bağ şeklinde iki türde de gerçekleşebilir (Şekil 2.3.2.1).



Şekil 2.3.2.1 İçsel Onarma Türleri

2.3.2.1. Kovalent Olmayan Bağ ile Kendi Kendini Onarma

Kovalent olmayan kendi kendini onarmada, hidroforobik etkileşimler, hidrojen bağı, iyonik etkileşimler, konak-konak etkileşimleri ve metal-ligand etkileşimleri gibi non-kovalent etkileşimler fiziksel çapraz bağ olarak kullanılmıştır. Bu kovalent olmayan etkileşimler, kovalent bağlardan zayıf olmalarına rağmen, geri-dönüşümlü yapıları nedeniyle hasar sırasında kopan bağların yeniden biçimlendirilmesini sağlar [55-58]. Tek başlarına kullanılabildikleri gibi, kovalent bağlara destek olmak için sisteme ek olarak da eklenebilmektedirler.

Hidroforobik Etkileşimler

Hidroforobik etkileşimler, polar olmayan hidroforobik grupların non-kovalent etkileşimleri ile oluşan tersinir etkileşimlerdir. Hidroforobik ünite, hidrofilik ünite, sürfaktan ve elektrolitlerin olduğu miselar polimerizasyonu ile kendi kendini onarma alanında kullanılmaktadır. Örneğin, Okay ve çalışma arkadaşları, sodyum dodesilsülfat ve elektrolit varlığında hidroforobik stearil metakrilat (C18) ve hidrofilik akrilamitin kopolimerizasyonu ile kendi kendini onaran hidrojel sentezlemiştir. Uzun zincirler sayesinde 3600%'e kadar uzama ve oda sıcaklığında %100 kendi kendini onarım elde etmiştir [59].

Hidrojen Bağı

Hidrojen bağı, F,O,N elektronegatif atomlarına direkt bağlı hidrojen atomunun yaptığı tersinir elektrostatik etkileşimlerdir. Supramoleküler kimyası için yaygın olarak kullanılır. Moleküllerarası etkileşimi, kovalent ve iyonik bağdan daha düşük olmasına rağmen jelleşmeyi sağlar ve kendi kendini onarım gösterebilir [60]. Güçlü bir bağ afinitesi sağlamak için çoklu hidrojen bağlarına ihtiyaç vardır. Hidrojel sentezinde yardımcı etkileşimler olarak viskoelastik özellikleri, polimerin kristalitesini, mekanik ve şişme özelliklerini etkilemektedir. Örneğin, polivinil alkol H-bağı içeren, belirli konsantrasyonda kendi kendine onarım gösteren hidrofilik bir polimerdir. Sabzi ve çalışma arkadaşları, agar ve polivinil alkol kullanarak oluşturdukları çaprazbağlı çift ağı hidrojin 10 dk içerisinde kendi kendini onararak orijinal uzamasının 2.5 kat fazlasına kadar esneme gösterdiği rapor edilmiştir [61]. Teng ve çalışma arkadaşları, oligo etilen metakrilat ve metakrilik asit ile oluşturulan kimyasal çapraz bağlı hidrojin, H-bağları aracılığı ile 37°C’de 24 saatte kendi kendini onarabildiğini rapor etmiştir [62].

İyonik Etkileşim

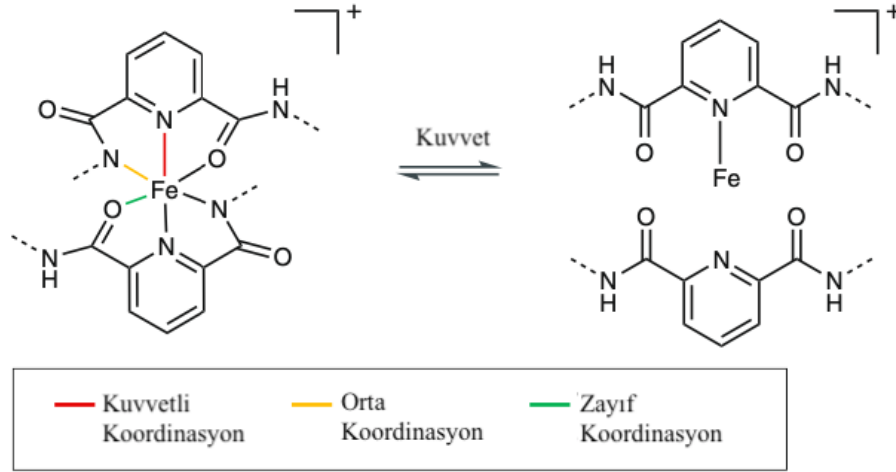
İyonik etkileşimler, zıt yüklü iyonların ve polielektrolitlerin elektrostatik etkileşimleridir ve kendi kendini onarma özelliği göstermektedirler. Polielektrolitler arasındaki zıt yüklü iyonlar etkileşimleri, basitçe karıştırılarak elde edilebilir. Ancak mekanizma net iyon yükü, pH gibi dış koşullara bağlıdır [63]. Cao ve çalışma arkadaşları, vinilden florid-co-hekzafloropropilen sentezleyerek iyon-dipol etkileşimi ile robotikte yapay kası elektronik olarak aktive etmek üzere yüksek esneklikte, transparan, iyonik iletkenlik sağlayan sistem geliştirmişlerdir. Wolverine benzeri denilen bu malzeme 24 saat içerisinde dış uyarana ihtiyaç duymadan kendi kendini onarabilme özelliğine sahiptir [64]. Zang ve çalışma arkadaşları agar/poli(akrilik asit) (PAA)-Fe⁺³ dinamik hidrojel sentezlemiştir. Hidrojen bağı ile agar birincil ağ yapısını oluştururken, PAA iyonik bağ ile ikincil ağ yapısını oluşturmaktadır. 48 saate kendi kendini onarabilen jelin, mekanik özelliklerinin ilk hâline göre azaldığı rapor edilmiştir [65].

Konak-Konuk Etkileşimleri (Host-Guest)

Konak-konuk etkileşimleri, iki ya da daha fazla bileşiğin, birbirini tamamlayan yapılarının biraraya gelmesinden oluşur. Konak-konuk arasında hidrojen bağı ya da elektrostatik etkileşimler gibi non-kovalent etkileşimler bulunmaktadır. Bu etkileşimlerin tersinir doğası supramoleküler etkileşimlerde kendi kendini onarabilen çaprazbağlı ağ yapılar oluşturmaktadır. Çapraz bağın kuvveti, seçilen konak-konuk arasındaki afiniteye bağlıdır. Konak molekülleri, farklı konuk moleküllerini barındırabilecek içsel oyuğa sahip olması gerekir. En popüler olarak kullanılan konuk molekülü, hidrofilik dış yüzeyi, hidrofilik iç yüzeyi ile amfilik özellik gösteren, kesikli koni şeklindeki biyouyumlu siklodekstrindir [66]. Liu ve çalışma arkadaşlarının sentezlediği β -siklodekstrin-ferrosen konak-konuk etkileşimi ile, boraks ve polivinil alkol arasında borat ester bağı kurarak, çift dinamik bağı %95 kendi kendini onarım gösteren hidrojel sentezlemişlerdir [67].

Metal-Ligand Etkileşimleri

Metal iyonu ve ligand, polimer zincirinin sonunda ya da askıda olmalarına bakılmaksızın biraraya gelir, kompleks koordine bağ oluşturarak polimer matrisini bir arada tutar. Metal-ligand etkileşimi, çok sayıda metal iyon varlığı, yüksek bağlanma enerjisinden dolayı yönelimli karakteristiğiyle kolaylıkla ligandına ulaşabilmesi bakımından dikkat çekicidir. Metal-ligand komplekslerinde oluşan koordine bağ disosiyasyon olup, elektromanyetik ışımayla ya da sıcaklıkla tekrar birleşerek kendi kendini onarma özelliği gösterir. Örneğin UV ışığa maruz kalan metal-ligand koordinasyonu, absorpsiyon ile elektriksel olarak uyarılır, desorpsiyonda ise enerji ısıya dönüşerek, geçici olarak metal-ligan bağının kırılmasına sebep olarak tersinir özellik gösterir. Metal-ligand kuvvetinin tek başına yeterli olduğu, 2,6-piridindikarboksamit ligandı, polidimetilsiloksan ile entegre edilerek, demir (III) ile kompleks oluşturulduğunda oda sıcaklığında kendi kendini onarma göstermiştir (Şekil 2.3.2.2). Zayıf bağlar enerjinin dağılmasını sağlarken, metal iyonu ise hızlı tersinir bağ için ligandına yakın bulunarak kuvvetli etkileşimler yapmaktadır [67-70].



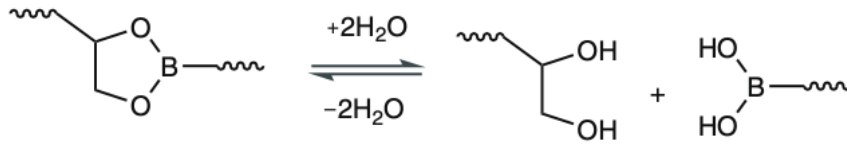
Şekil 2.3.2.2 Metal-ligand Reaksiyon Şema Örneği [70]

2.3.3. Kovalent Bağ ile Kendi Kendini Onarma

Açilhidrazon, boronik ester bağı, disülfid bağı, Diels-Alder reaksiyonları, oksim bağı ve Schiff-baz gibi dinamik kovalent bağları içermektedir. Tersinir kovalent doğaları, non-kovalent etkileşim gösteren yapılara kıyasla malzemenin mekanik dayanımını arttırmaktadır [71].

Boronik Ester Bağı

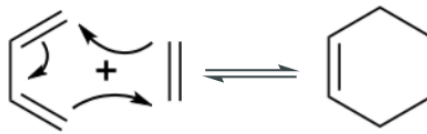
Boronik ester, boronik asit türevlerinden ve 1,2/1,3-diollerin tersinir kondensasyon reaksiyonuyla oluşmaktadır (Şekil 2.3.2.3). Örneğin, Shan ve çalışma arkadaşları, kendi kendini onaran, tersinir fenil borat ester bağına sahip yapışkan ve biyouyumlu PEG bazlı hidrojel sentezlemişlerdir. Dört kollu PEG ile fonksiyonellendirilmiş dopamin ile fenil boronik asit (PBA) modifiye edilmiş PEG'den oluşan hidrojel pH 9'da sentezlemiştir. Kesilen hidrojinin 30 sn içerisinde tekrar yapıştığı rapor edilmiştir [72]. Boronik esterin kararlılığı pH ile ayarlanarak, kendi kendini onarım için uyarı cevap şeklinde kullanılabilir. Fakat boronik ester, alkali ortamda etkinlik gösterdiği için biyolojik sistemlerde kullanımı sınırlıdır. Bunu aşmak için, Deng ve çalışma arkadaşları, boronik ester çaprazbağ içeren, karbonil oksijeni ile boron arasında iç koordinasyon ile asidik ve nötral ortamda kendi kendini onarabilen malzeme sentezlemeyi başarmışlardır [73-74].



Şekil 2.3.2.3 Boronik ester Reaksiyon Şeması [53]

Diels-Alder Siklokatılması

Diels Alder reaksiyonları (DA), yüksek seçiciliği, yüksek verimi, yan ürün oluşturmaması bakımından dinamik kovalent bağlı hidrojellerde sıklıkla kullanılmaktadır [75]. Konjuge dienlerin olefin ya da alkenlerle reaksiyonuyla altı karbonlu halka oluşturan, yüksek sıcaklıkta tersinir özellik gösteren reaksiyonlardır (Şekil 2.3.2.4). Yüksek sıcaklıktaki kararsız yapısı sebebiyle termal olarak tersinirlik gösteren (DA) ürünleri, termal uygulama gerektiren alanlarda termal onarım için kullanılabilir. Örneğin furan-maleimide DA reaksiyonu, termal uyaran sistemler için idealdir [76]. Sensör, elektronik aygıt yapımında kullanım alanı bulsa da, biyomedikal uygulamalar için hem furan türevi kimyasalların toksisitesi, hemde onarım için gereken yüksek sıcaklıktan dolayı biyomedikal uygulamalar için kullanımını sınırlandırmaktadır. Bu sebeple DA, doku mühendisliği alanında kullanılmak üzere sentezlenen hidrojellerde polimer matrisi oluşturmak için çaprazbağlanma yöntemi olarak kullanılmakta, kendi kendini onarım için ise adipik asit gibi ortam sıcaklığında onarım gösteren ek dinamik bağ eklenmektedir [77].

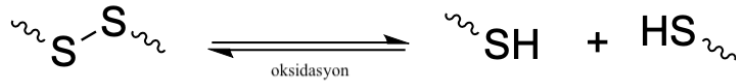


Şekil 2.3.2.4 Diels-Alder Reaksiyon Şeması [53]

Disülfid Bağı

Disülfid bağları, tiyol gruplarının oksijen ile oksidasyonundan elde edilir (Şekil 2.3.2.5). Mekanik ya da kimyasal bir uyaran ile kırılabilen bu bağlar, uyaran ortadan kaldırıldığında tiyol-disülfid değişim denilen kimyasal reaksiyona uğrayarak tekrar oluşturulur. Geleneksel metodlar saatler veya günler sürerken, disülfid bağı içeren hidrojeller dakikalar içerisinde jelleşmektedir. Geniş pH aralıklarında stabilitesini

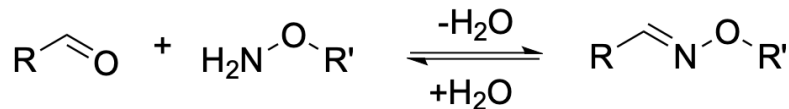
korumaktadır. Kendi kendini onarabilen disülfid bazlı hidrojel, ilaç taşınımı vb. medikal alanlarda, elektronik cihazlarda ve kaplamalarda sıklıkla kullanılmaktadır. Örneğin, Lafont ve çalışma arkadaşları, EPS25, EPS70 gibi reçineler ile penraeritritol tetrakis(3-merkaptopropionat)'ı kullanarak disülfid içeren termosetlerin çaprazbağ ve sert zincir yapısının kendi kendini onarma üzerindeki etkisini çalışmışlardır. 20-300 dk. içinde 65°C'de kendi kendine onarım olduğunu belirtmişlerdir. Oksijene duyarlı olması tiyol gruplarının zamanla okside olarak kendi kendini onarım özelliğini azaltmakta ve kullanımını sınırlandırmaktadır. Pepels ve çalışma arkadaşları, diglisidil eter T25, pentaeritritol tetrakis(2-merkaptopropionat) ve dimetilaminopropilamin kullanarak tiyol-disülfid değişim reaksiyonu ile 24 saatte kendi kendini onarmanın tamamlandığını, ancak atmosferik koşullarda uzun süre kaldığı zaman tiyol gruplarının oksidatif birleşme (coupling) reaksiyonundan dolayı kendi kendini onarma etkinliğinin azaldığını rapor etmişlerdir.



Şekil 2.3.2.5 Disülfid Reaksiyon Şeması

Oksim Bağı

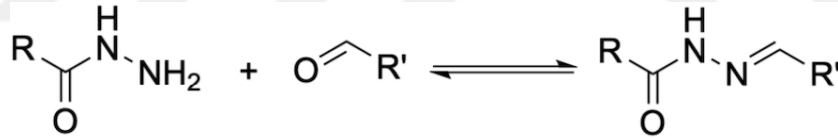
Oksim bağı, imin sınıfına ait, hidroksilamin ve aldehit/keton grupları arasında oluşan dinamik kovalent bağıdır (Şekil 2.3.2.6). Yüksek reaksiyon afinitesi, ılımlı reaksiyon koşulları, zararsız yan ürün ve stabilitesi sebebiyle tercih edilmektedir. Oksim değişim reaksiyonu, aşırı alkoksiamin ile tetiklenmektedir [78]. Mukherjee ve çalışma arkadaşları N,N-dimetakrilamit ve diaseton akrilamit ile oksim bağı içeren hidrojel sentezlemiştir. Oksim bağının kovalent yapısı mekanik bütünlüğe yardım etmektedir. Alkoksiamin aşırısı eklendiğinde, oda sıcaklığında asidik koşullar altında hasara karşı onarım gösterdiği rapor edilmiştir [79].



Şekil 2.3.2.6 Oksim Reaksiyon Şeması

Açilhidrazon

Açilhidrazon bağı, aldehit ile hidrazitin yoğunlaşma reaksiyonuyla oluşan dinamik bir bağıdır (Şekil 2.3.2.7). Ilımlı koşullar altında tersinirlik gösterir. Açilhidrazon bağının oluşturulmasında sıklıkla kullanılan adipik asit dihidrazit (ADH) homobifonksiyonel, toksik olmayan ve insan vücudunda hızlıca metabolize edilen nükleofilik bir moleküldür. Hyaluronik asit, dekstrin, aljinat gibi oksidatif yarıma ile aldehit fonksiyonellendirilmiş polisakkaritlere çapraz bağlayıcı olarak ya da yapıya entegre edilip monohidrazit fonksiyonu olarak kullanılmaktadır. Biyouyumluğu ile in vitro ve in vivo çalışmaları için sıklıkla tercih edilmektedir. Okside hyaluronik asit ve ADH herhangi bir katalizör ya da başlatıcıya ihtiyaç duymadan hızlıca açilhidrazon bağı oluşturmaktadır (80). Wang ve çalışma arkadaşları, jelatin, okside aljinat ve ADH ile Schiff-baz ve açilhidrazon içeren, birkaç dakika içinde kendi kendini onarabilen enjekte edilebilir hidrojel sentezlemiştir [53]. An ve arkadaşları, aspartik asitten süksinimit sentezlemiş, hidrazid ve etoksil grubu ile fonksiyonellendirerek polietilen glikol dialdehit ile tersinir hidrazon bağı yaparak hidrojel elde etmişlerdir.

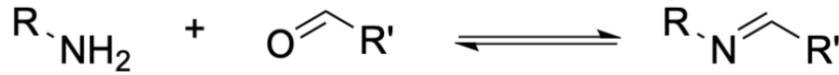


Şekil 2.3.2.7 Açilhidrazon Reaksiyon Şeması

Schiff-baz

Schiff-baz olarak da adlandırılan imin bağları, aldehit ve amin grubu arasında oluşur (Şekil 2.3.2.8). Tersinirdir ve genellikle asit katalizörlüğünde gerçekleşir. Geleneksel kovalent bağlarla karşılaştırıldığında daha ılımlı reaksiyon koşullarına sahiptir ve yan ürün üretmez. Örneğin Caia ve arkadaşlarının hazırladığı aldehit ile modifiye edilmiş PLGA ve kitosan kullanılarak elde edilen Schiff bazı hidrojel, 6 saat içinde %93'e kadar onarım göstermektedir. Zhang ve arkadaşları polietilen glikolü, 4-formilbenzoik asit ile fonksiyonellendirerek aldehit yapısı elde etmiştir. Etilendiamin ile amin fonksiyonu kazandırılan agaroz ile 15 sn reaksiyona sokarak Schiff bazı hidrojel sentezlemiştir. pH'a duyarlı hidrojele asit eklenerek bozulan yapı, baz ekleyerek nötral ya da alkali ortamda tekrar eski hâline getirilmiştir.

Kapsüllenmiş ajanın kontrollü sanılımında kullanımı için umut vaat etmektedir. Wu ve arkadaşları, alginatı okside ederek dialdehit grubu elde etmiş, kitini akrilamit ile modifiye ederek yapıya amino grubu kazandırmıştır. Kesildikten sonra parçalar birbiri ile temas ettirildiğinde dışarıdan bir müdahaleye gerek kalmadan pH'a duyarlı kendi kendini onaran özellik göstermiştir. Ayrıca kendi kendine onarmanın, dondurulduktan sonra rehidrasyonla tekrar aktive edilebildiği bulunmuştur. Oluşan yarı 10 dakika sonra onarılmaya başlanmış, 1 saat içinde tamamen izi kaybolmuştur. Zhang ve arkadaşları, etilen diamin ile fonksiyonellendirilmiş agaroz ve dialdehit ile fonksiyonellendirilmiş PEG ile, 1 saat içinde oda sıcaklığında kendi kendini onarabilen, asidik koşullarda bozulup, nötral koşulda formunu geri kazanabilen, %80'nin üstünde canlılık gösteren enjekte edilebilir hidrojel geliştirmişlerdir [81].



Şekil 2.3.2.8 Schiff-bazı Reaksiyon Şeması

Okside ksantan ve 8 kollu toksik olmayan PEG hidrazid ile sentezlenen pH'a duyarlı, enjekte edilebilir jel, fizyolojik sıcaklıkta 24 saat içinde kendi kendini onarım göstermiştir. Numune kesildikten hemen sonra dondurup, 6 saat sonrasında da kendi kendini onaran özellik gösterdiği görülmüştür. Aynı zamanda Doksorubisin gibi kemoterapötik ajan taşıyabilmesi ilaç taşınımı için uygundur. MTT testlerinde de toksik olmadığı gözlemlenmiştir.

Diels-Alder'in yüksek sıcaklıkta tersinir özellik göstermesi, disülfid bağın oksijenle temas ettiğinde kendi kendini onarım özelliğinin azalması, borat esterinin pH'a bağlı oluşu gibi kısıtlandırmalar nedeniyle, yara örtücü biyomalzemelerin yapımında fizyolojik sıcaklık ve pH'ta etkinlik gösterebilen dinamik bağlar sınırlıdır.

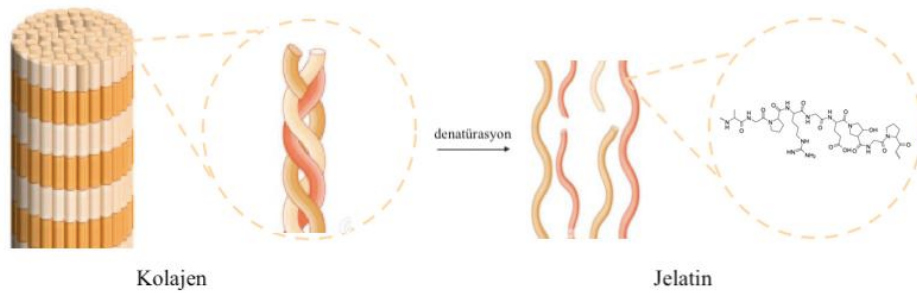
2.4. Polietilen Glikol (PEG)

Polietilen glikol (PEG) inert bir malzeme olmasının yanında kolaylıkla modifiye edilebilmesi onu tercih edilebilir kılmıştır. Biyouyumluluğu ve suda çözünürlüğü sayesinde hidrojel hazırlanmasında yaygın olarak kullanılır. Endüstriyel üretimden doku rejenerasyonunu desteklemek için ilaç dağıtım matrislerine kadar çeşitli uygulamalarda

kullanılmaktadır. Akrilat ve metakrilat modifikasyonu ile yapıya çift bağ katılarak polimer matrisinin iskelet yapısında yer alması sağlanmıştır. Radikalik başlatıcı ile kolaylıkla kürlenebilmektedir. Ticari olarak da bulunan polietilen glikol diakrilat (PEGDA), farklı molekül ağırlıklarında sentezlenebilmesi, yapının mukavemetinin kontrolü açısından önemlidir. Lin-Gibson ve çalışma arkadaşları yüksek verimle, polietilen glikolü metakrilik anhidrit ve izosiyanato etilmetakrilat ile modifiye etmişler ve hidrojel sentezlemişlerdir. Hücre çalışmalarında hücrelerin iki hafta sonrasına kadar canlı kaldığını tespit etmişlerdir [82].

2.5. Jelatin

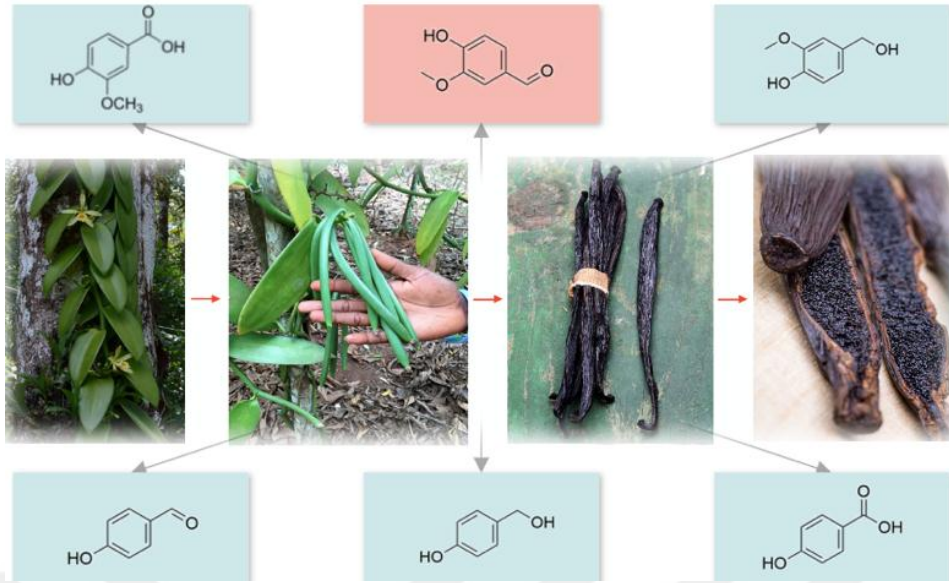
Jelatin kendi kendini onarma çalışmalarında sıklıkla kullanılmaktadır. Jelatin, kolajenin denatüre edilmesiyle elde edilir (Şekil 2.5.1). Biyoyumluluğu, biyobozunurluğu, dokulardaki ekstraselüler matris (ECM) ile kimyasal benzerlikleri, 3-D hücre kültürü için uygun oluşu, işlevsel fonksiyonel gruplara sahip olması bakımından biyomalzemelerin yapımında sıklıkla kullanılmaktadır. Dezavantaj olarak zayıf mekanik özellikleri, enzimatik bozunmaya duyarlılığı, yüksek viskozitesi sayılabilir. Ayrıca jelatinin 37°C'nin altında üçlü heliks yapısı fiziksel olarak jel oluşturmaktadır. Ancak bu kovalent olmayan etkileşimler, 37 °C'nin üstünde kolaylıkla bozulmaktadır. Bu da jelatini farklı kimyasallarla birlikte kullanılma ya da modifiye edilme ihtiyacını doğurmuştur. Birçok çalışmada jelatin metakrillenerek polimer matrise eklenmiştir, ya da ADH çapraz bağ modifiye edilerek açilhidrazit bağı eklenmiştir [83]



Şekil 2.5.1 Jelatinin kolajenden eldesi

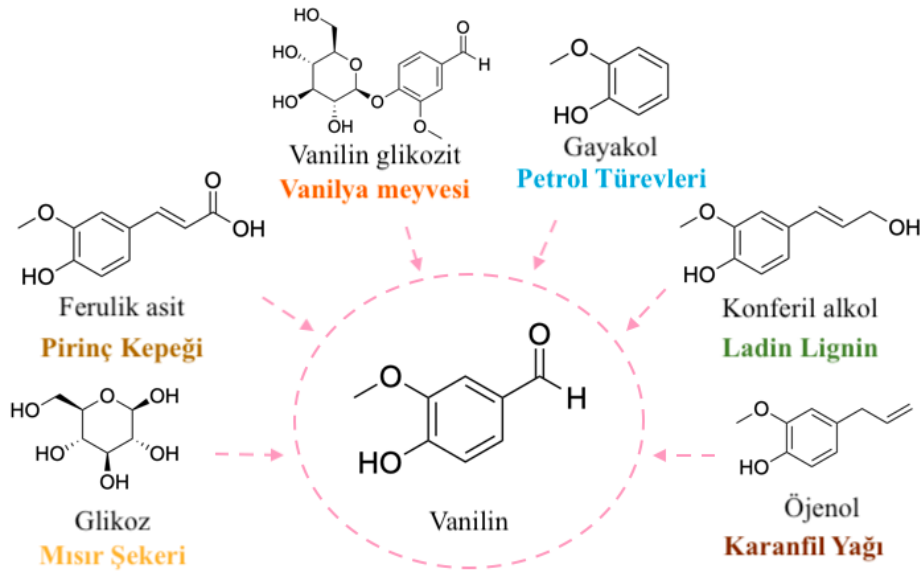
2.6. Vanilin

Vanilyanın, parfümden yemeğe oldukça geniş kullanım alanı bulunmaktadır. Çiçekleri tozlaşma için arı ve sinek kuşlarına ihtiyaç duyar. Dünyanın vanilya ihtiyacının %80'ini Madagaskar karşılarsa da, Meksika vanilyanın arılar tarafından tozlaştırıldığı tek yerdir.



Şekil 2.6.1 Vanilyadan Ekstrakte Edilen Moleküller

Vanilin (4-hidroksi-3-metoksi benzaldehit), vanilya meyvesinden ekstrakte edilir (Şekil 2.6.1). Ekstrakte etmek oldukça maliyetli olduğu için kimyasal olarak da sentezlenmektedir (Şekil 2.6.2). Vanilin raf ömrünün kısa olması, suda çözünürlüğünün az olması ve termal stabilitesinin düşük olması onun çalışma ortamının özenle seçilmesi gerektiğini gösterir [84].



Şekil 2.6.2 Vanilin Sentez Yöntemleri

Vanilinin doğal fenolik yapıda olması onun biyoaktivitesinin bir göstergesidir. Antimikrobiyal ve antioksidan özellikte olması, Cava-roda ve çalışma arkadaşlarının sentezlediği kitosan membranda bakteriyel büyümeyi engellediği görülmüştür [85].

Aldehit ve hidroksil gruplarının varlığı birçok kimyasal modifikasyon yapılmasını sağlayarak vanilin polimerik materyallerin üretilmesinde kullanımını arttırmaktadır [86]. Vanilin bazlı dinamik kovalent bağa sahip çalışmalar sınırlıdır ayrıca mekanik ve kendi kendini onarma özellikleri geliştirilmeye açıktır. Lin ve çalışma arkadaşlarının rapor ettiği, vanilin konsantrasyonu, vanilin-kitosan hidrojellerinin, kendi kendini onarma kapasitesi için kritiktir. Lee ve çalışma arkadaşları, fonksiyonellendirilerek polimer matrise entegre edilen vanilin ve sisteinin, imin ve disülfid bağları sayesinde ısı ya da UV ışınla ile kendi kendini onarabildiği rapor edilmiştir. Hunger ve çalışma arkadaşları, vanilin miktarını iki kat arttırmanın basma kuvvetini geliştirdiği ve daha yavaş biyobozunma sağladığını rapor etmiştir [87-89].

Son zamanlarda Schiff-bazı içeren kendi kendini onarma ile ilgili yapılan çalışmalar, çoğunlukla oksidatif yarıma, ile aldehitle fonksiyonellendirilen polisakkaritlerin ya da 4-formilbenzoik asit içerikli polimerlerin sentezinde kullanıldığı rapor edilmiştir [90]. Bu yöntemlerin her birinde, polimerin yapısal özelliklerinden ödün verilmesi veya çok aşamalı sentezden kaynaklanan safsızlıkların göz ardı edilememesi kaçınılmazdır. Ayrıca, imin bazlı hidrojellerin çapraz bağları daha zayıf olduğu için mekanik özellikler tatmin edici değildir. Bununla birlikte, mekanik olarak güçlü bir geleneksel hidrojele bu özelliklerden ödün vermeden kendi kendini iyileştirme özellikleri eklemenin en kullanışlı ve en kolay bir yolu, tek adımda sentezlenebilen vanilin metakrilat monomerini kullanmaktır.

Bu nedenle, bu tez çalışmasının ilk çalışmasında metakrilat ile fonksiyonelleştirilmiş vanilin (M-VAN) basit ve etkili bir teknik kullanılarak sentezlenmiştir. Ayrıca M-VAN, diğer aldehit kaynakları gibi dinamik tersinir bir bağ için sadece Schiff baz oluşumuna katkıda bulunmamış; aynı zamanda radikal polimerizasyon ile güçlü bir polimer zincirinin oluşumunda da görev almıştır. Bu amaçla, hazırlanan hidrojeller, Schiff baz reaksiyonu ve UV ile başlatılan polimerizasyon teknikleri ile hazırlanmıştır. PEI'nin amin grupları, M-VAN ile dinamik imin bağları oluşturmuş, aynı zamanda hidrojinin mekanik mukavemetine de katkıda bulunmuştur. Eşzamanlı olarak, kararlı kovalent ağ yapı, UV ışınlarıyla başlatılmış serbest radikal polimerizasyonuyla sentezlenmiştir.. Güçlü kovalent bağlantılar hidrojellerin mekanik özelliklerini geliştirirken, monomerlerin (veya oligomerlerin) fonksiyonel yan grupları kendi kendini iyileştirmeye yardımcı olmak için ekstra bir H-bağı sağlamıştır.

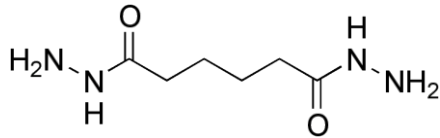
Schiff-baz ve açilhidrazon reaksiyonlarında aldehit kaynağı olarak genellikle gluteraldehit gibi küçük çaprazbağlayıcı kullanılmaktadır. Ancak gluteraldehitin, sitotoksik olmasından dolayı, doğal kaynaklı ya da sentetik alternatif arayışına gidilmiştir. Günümüzde dekstran, hyaluronik asit ve aljinat gibi polisakkaritlerin oksidasyonu ile elde edilen reaktif aldehit grupları ile aldehit grupları oluşturulmuştur. Polisakkaritlerin zayıf mukavemetine alternatif dialdehit ile fonksiyonellendirilmiş PEG polimer matrise esneklikle birlikte dinamik çaprazbağ kazandırması yönünden avantajlıdır. Dialdehit ile fonksiyonellendirilen PEG genellikle 4-formil benzoik asit DMAP/DCC katalizörlüğünde esterleşme ile sentezlenmektedir.

İkinci çalışmada ise dış uyarana ihtiyaç duymadan dinamik ve tersinir açilhidrazon bağı ile oda sıcaklığında kendi kendini onarabilen hidrojel sentezlenmiştir. Yapıya hem esneklik hem de dinamik çapraz bağ katmak adına PEG1500, dialdehit ile fonksiyonellendirilmiştir. Bunun için aldehit kaynağı olarak katalizör ile sentezlenen muadillerine alternatif daha kolay bir yöntem olan asetik anhidrit varlığında DMSO ile okside edilmiştir. PEG zincirine 4-formil-benzoik asitte olduğu gibi aromatik grup eklenmemesi, sentez kolaylığı açısından avantajlıdır. Polimer matrisi desteklemek için ise PEG1500-diakrilat sentezlenmiştir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

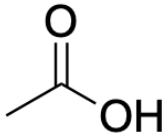
3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Adipik asit dihidrazit (ADH)



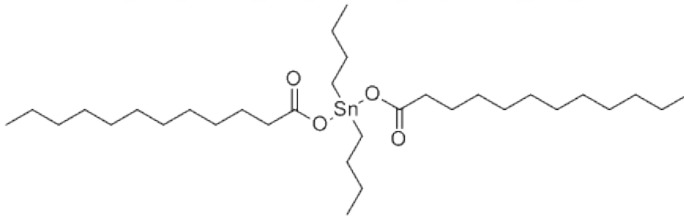
Molekül Ağırlığı: 174,2 g/mol

Asetik Asit



Molekül Ağırlığı: 60,052g/mol

Dibutyltin Dilaurat (DBTDL)



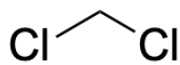
Molekül Ağırlığı: 631,56 g/mol

Dietil eter



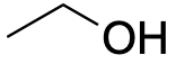
Molekül Ağırlığı: 74,12g/mol

Diklorometan



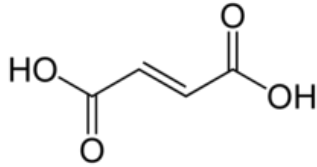
Molekül Ağırlığı: 84,93g/mol

Etanol



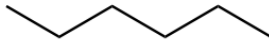
Molekül Ağırlığı: 46,07 g/mol (%99)

Fümarik asit



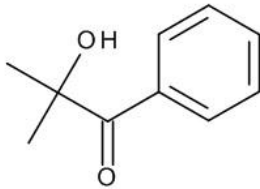
Molekül Ağırlığı: 116.072 g/mol

Hekzan



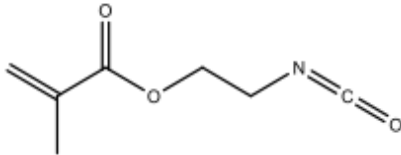
Molekül Ağırlığı: 86,18 g/mol

2-Hidroksi-2-Metilpropiofenon (Daracure 1173)



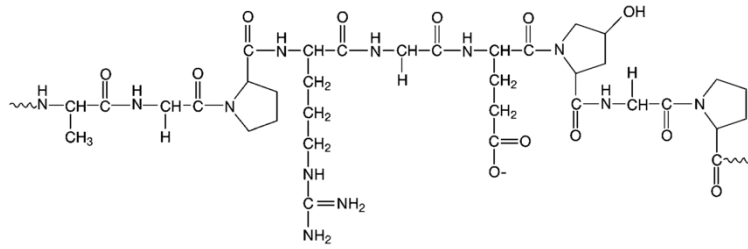
Molekül Ağırlığı: 164,20 g/mol

Izosiyanato etilmetakrilat (IEMA)



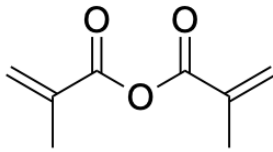
Molekül Ağırlığı: 155,15 g/mol, Sigma Aldrich

Jelatin



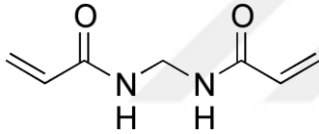
Molekül Ağırlığı: 300 g, Bloom

Metakrilik anhidrit



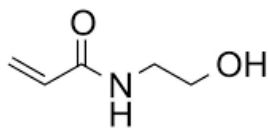
Molekül Ağırlığı: 156,16 g/mol

Metilen bisakrilamit (MBA)



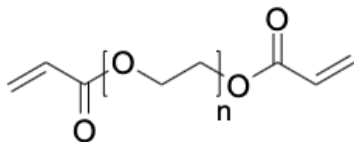
Molekül Ağırlığı: 154,17 g/mol

N-hidroksietilakrilamit



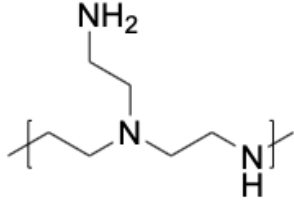
Molekül Ağırlığı: 115,13 g/mol

Poli(etilenglikol)diakrilat (PEGDA)



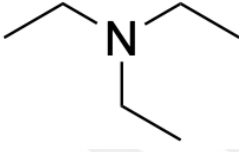
Molekül Ağırlığı: 700 g/mol

Polietilenimin (PEI)



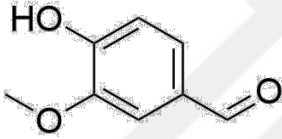
Molekül Ağırlığı: 50.000-100.000 g/mol, 30 % w/v sulu çözeltisi

Trietilamin (TEA)



Molekül Ağırlığı: 101,193 g/mol

Vanillin



Molekül Ağırlığı: 152,15 g/mol, AROMSA

3.2. Kullanılan Cihazlar

UV Reaktör

Hidrojel içindeki, çift bağlı monomerlerin fotopolimerizasyonu gerçekleştirmek için Luzchem Research inc. ICH-2 249 model fotoreaktör kullanılmıştır.

Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR)

Sentezlenen polimerin fonksiyonel gruplarının karakterizasyonu için Perkin Elmer Spektrum 100 kullanılmıştır. Örneklerin fonksiyonel grupları 4000 ile 600 cm^{-1} arasında direkt ölçüm yapıldı.

Proton Nükleer Manyetik Rezonans Spektrofotometresi (^1H NMR)

Fonksiyonellendirilmiş monomerlerin, fonksiyonel grup tayini için Varian Gemini 400 MHz ^1H NMR kullanıldı. Solvent olarak dötero kloroform kullanıldı.

Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DSC)

Hidrojellerin, Tg değerini ölçmek için Perkin Elmer Diamond DSC kullanılmıştır. Örnekler, safsızlıklarının uzaklaştırılması için gece boyu suda bırakıldı ve tartımda sabitlenene kadar 2 gün etüvde bırakıldı. İlk çalışmada, sıcaklık ilk tur -50°C 'den 70°C 'e, ikinci tur -50°C 'den 200°C 'ye $10^\circ\text{C}/\text{dk}$ ısıtma hızıyla arttırıldı. İkinci çalışmada sıcaklık ilk tur -30°C 'dan 150°C 'ye, ikinci tur -30°C 'den 200°C 'ye $10^\circ\text{C}/\text{dk}$ ısıtma hızıyla arttırıldı.

Çekme-Kopma Mekanik Testi

Hidrojellerin, mekanik mukavemetini ölçmek için Zwick-Roell BDO-FB0.5TH marka cihazı kullanılarak yapıldı. Örnekler 50x5x1 mm ebatlarında hazırlandı. Test %100 deformasyon ile oda sıcaklığında ilk çalışma için ön yükü 0,01 N ve test hızı 10 mm/dk, ikinci çalışma için ön yükü 0,01 N ve test hızı 40 mm/dk olarak uygulandı. Test en az üç kez tekrar edildi.

Taramalı Elektron Mikroskobu ve Taramalı Geçirimli Elektron Mikroskobu (SEM ve STEM)

Hidrojellerin morfolojik karakterizasyonu için Phillips XL 30 ESEM-FEG cihazı kullanılarak SEM ve STEM analizleri yapılmıştır.

Optik Mikroskop

Hücre ekili hidrojel görüntüleri ve kendi kendini onaran hidrojel görüntüleri için Zeiss Axio ZI Invert Mikroskop kullanıldı.

Plate Okuyucu

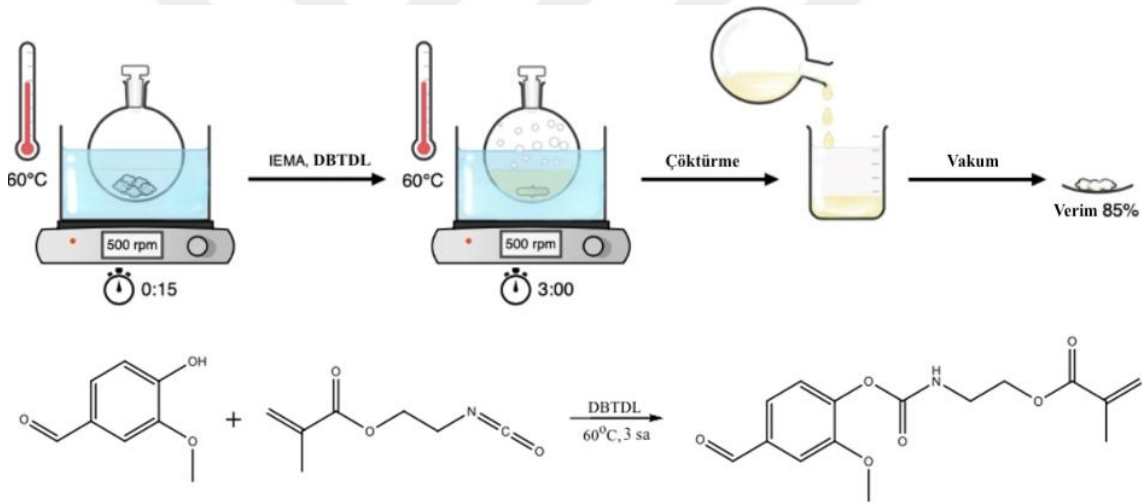
Hücre canlılığı testlerinde absorbanslar 570 nm'de, Thermo Multiskan GO microplate spektrofotometre (Fisher Scientific) ile okundu.

3.3. Deneysel Yöntem

3.3.1. Schiff-baz Bazlı Hidrojel Sentezi

3.3.1.1. İzosiyanat ile Metakrillendirilmiş Vanilin Sentezi

M-VAN, vanilin ile IEMA'nın reaksiyonundan sentezlenmiştir (Şekil 3.3.1.1.1). Bunun için 1 g vanilin, 10 ml toluende 60°C'de çözüldü. Azot atmosferi altında 1.5 damla DBTDL eklendi. Ardından damla damla 1,020 ml izosiyanatoetil metakrilat eklendi. Reaksiyon hızı 300 rpm, reaksiyon süresi ise 3 saat olarak ayarlandı. Saflaştırmak için hekszanda çöktürüldü. 10000 rpm'de santrifüjlendi. Elde edilen metakrillenmiş vanilin iki gün vakum etüvünde 30°C'de bırakıldı. (Verim %85). Sentezlenen M-VAN'nın FTIR ve ¹H NMR ile karakterizasyonu yapıldı.



Şekil 3.3.1.1.1 M-VAN Reaksiyon Düzenegi ve Reaksiyon Şeması

3.3.1.2. Kendi Kendini Onaran Hidrojel Sentezi

Hidrojel kombinasyonları fotopolimerizasyon yöntemiyle sentezlendi. İlk olarak M-VAN, 4,5 ml etanolde çözüldü. Çözeltiye fümariik asit, polietilen glikol diakrilat (PEGDA 700) eklendi. Ardından Polietilen imin (PEI) ve Daracure 1173 eklenerek, prepolimer karışım 1 dk. vortekslendi. Her iki tarafı ısı ile sabitlenen pipetlere doldurulan monomer karışımı UV reaktörde 15 dk. polimerleştirildi. Reaksiyon sonrasında hidrojellerin FTIR ile karakterizasyonu yapıldı. Jel kombinasyonları Tablo 3.3.1.2'de verilmiştir.

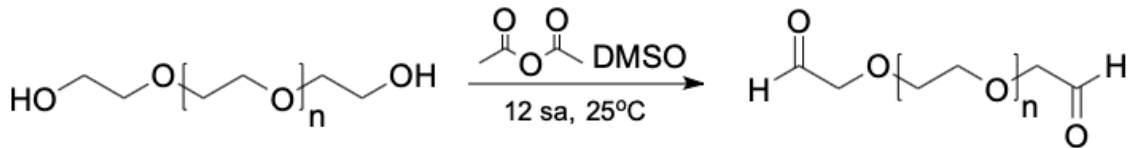
Tablo 3.3.1.2 Schiff-baz Bazlı Hidrojel Kombinasyonları

No	M-VAN(g)	PEI(g)	PEGDA(g)	Fümarik asit(g)	Jel İçeriği (%)
A0	0,3	0,013	0,2	0,1	88,5
A2	0,3	0,013	0,2	0,3	91,8
A4	0,3	0,03	0,2	0,1	93,7
A6	0,4	0,013	0,2	0,1	94,6
A8	0,3	0,013	0,25	0,1	92,6

3.3.2. Açılhidrazon Bazlı Hidrojel Sentezi

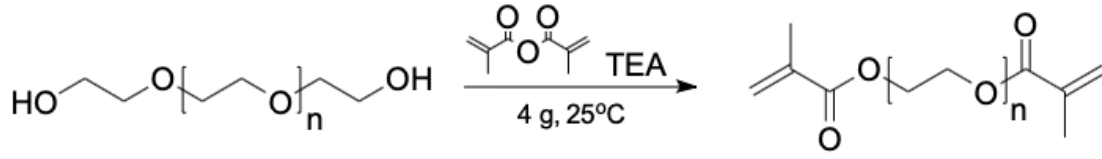
3.3.2.1. PEG1500-dialdehit Sentezi

Albright-Goldman oksidasyon yöntemiyle sentezlenmiştir (Şekil 3.3.2.1.1). 3 g Peg-1500 nemini kurutmak için gece boyu 65°C’de vakumda bırakıldı. 10 ml DMSO’da çözüldü. 1 ml kloroform ve 2 ml asetik anhidrit eklendi. Reaksiyon oda sıcaklığında 12 saat 500 rpm’de karıştırıldı. Dietil eterde çöktürüldü. Kurutmak için 40°C’de gece boyu vakumda bırakıldı [88].

**Şekil 3.3.2.1.1 PEG1500-dialdehit Sentez Şeması [88]**

3.3.2.2. PEGDMA1500 Sentezi

Anhidrit esterleşme tepkimesi ile sentezlenmiştir (Şekil 3.3.2.2.1). 10 g PEG-1500, olası nemini kurutmak için gece boyu 65°C’de vakumda bırakıldı. 100 ml DCM’de çözüldü. İnert ortamda damla damla 2 g metakrilik anhidrit eklendi. Ardından 1 g TEA eklendi. 250 rpm’de 4 gün boyunca karıştırıldı. Dietil eterde çöktürüldü.



Şekil 3.3.2.2.1 PEGDMA1500 Sentez Şeması

3.3.2.3. Jelatin-Açılhidrazon Bazlı Hidrojel Sentezi

0,2 g Jelatin, 40°C’de 3 ml suda çözüldü. Çözeltiye 0,2-0,6 g PEG1500-dialdehit, 0,1 g PEGDMA-1500, 0,02-0,06 g adipik asit dihidrazit ve 0,3 g N-hidroksietil akrilamit eklendi. 3 dk vorteksledi. Ardından 0,004 g MBA ve Daracure 1173 üç damla eklendi 1 dk. vorteksledi. Her iki tarafı da kapatılan pipetlere doldurulan monomer karışımı UV reaktörde 15 dk. UV ışınlarıyla polimerleştirildi.

Tablo 3.3.2.3 Açılhidrazon Bazlı Hidrojel Kombinasyonları

No	Jelatin (g)	ADH (g)	PEG1500- dialdehit (g)	PEGDMA- 1500 (g)	NHEA (g)	MBA (g)	Jel İçeriği (%)
GA-0	0,2	0,02	0,2	0,11	0,3	0,005	72
GA-1	0,2	0,04	0,2	0,11	0,3	0,005	70
GA-2	0,2	0,06	0,2	0,11	0,3	0,005	66
GA-2-1	0,2	0,06	0,4	0,11	0,3	0,005	57
GA-2-2	0,2	0,06	0,6	0,11	0,3	0,005	55

3.3.3. Jel İçeriğinin Hesaplanması

Hidrojel örnekleri jel içeriğinin hesaplanması için 0,05 g alınarak liyofilizatörde gece boyu kurutuldu ve (W_d) olarak tartıldı. Kuru hidrojeller, deiyonize suyun içerisinde oda sıcaklığında bırakılarak reaksiyona girmemiş kısımlarından arındırıldı. Ardından, liyofilizatörde kurutuldu ve (W_g) olarak tartıldı. Jel içeriği aşağıdaki Denklem (1) ile hesaplandı:

$$Jel \text{ İçeriği } \% = \frac{W_g}{W_d} \times 100\% \quad (1)$$

3.3.4. Hidrojelin Şişme Davranışının İncelenmesi

Hidrojeller şişme testinin yapılması için saf su içersine konularak reaksiyona girmemiş kısımlarından arındırıldı. Gece boyu liyogilize edildi ve kuru hidrojeller W_d olarak tartıldı. Kuru hidrojeller distile suyun içine konularak (5 ml) düzenli zaman aralıklarında (5-2880 dk.) W_s olarak tartıldı. Ölçüm sırasında suyun fazlası filtre kağıdı ile giderildi. Şişme testi 3 kez tekrar edildi. Şişme oranı Denklem (2) 'e göre hesaplandı:

$$\text{ŞO} = \frac{W_s - W_d}{W_d} \times 100\% \quad (2)$$

ŞO: Şişme oranı

Hidrojel örneklerin farklı pH'lardaki davranışını belirlemek için gece boyu liyofilize edildi ve W_d olarak tartıldı. Kuru hidrojeller pH'ı 2, 4.5, 7, 8 ve 10 olan tampon çözeltilerine konuldu, dengeye geldiklerinde W_s olarak tartıldı. Şişme oranı Denklem (2)'deki gibi hesaplandı.

3.3.5. Gözeneklilik Testi

Hidrojellerin gözenekliliği gözeneklilik testi ile belirlenmiştir. Hidrojeller, eşit şekilde kesilerek tartılmıştır (W_1). Gece boyu etanolde bırakılmıştır. Etanolün fazlası filtre kağıdı ile alınarak şişme sonrası tekrar tartılmıştır (W_2). Gözeneklilik aşağıdaki Denklem 3 ile hesaplanmıştır:

$$\text{Gözeneklilik } (\%) = \frac{W_2 - W_1}{V\rho} \times 100\% \quad (3)$$

V: Hidrojel hacmi, ρ : etanolün yoğunluğu

3.3.6. Hücre Büyümesi ve Canlılık Çalışmaları

İnsan fibroblast hücreleri (CDD-1072Sk) ve insan embriyonik böbrek hücreleri (HEK293) kullanılmıştır. %10 fetal sıgır serumu ve 100UI/ml penisilin/streptomisin içeren Dulbecco'nun modifiye edilmiş Eagle medyumunda 37°C'de %5 CO₂ inkübatöründe tutuldu. Hücre canlılığı, Tiazoil Mavi terazolyum bromit (MTT) ajanı ile belirlendi. Kolajen modifiye edilmiş yapı, 4 µg ve 8 µg Tip I collagen'ın 0,1 M asetik asit çözeltisinde şiştikten sonra hidrojel yüzeyine entegre edildi. Bu yapılar oda sıcaklığında tüm gece desikatörde inkübe edildi. Sonrasında hidrojeller eşit parçalara kesilerek (1 cm x 1 cm) UV altında 1 saat sterilize edildi. Hücreler 24 kuyulu plate'lere yoğunluğu 5 x 10⁴ hücre/kuyu olacak şekilde eklenerek 24 saat hidrojellerle birlikte inkübe edildi. İnkübasyon sonunda, hidrojeller çıkarıldı ve 0.1 mg/ml MTT ajanı eklenerek 37°C'de 2 saat inkübe edildi. Kuyucuklar içerisindeki tüm medya çıkarıldı ve 300 µl DMSO eklendi. Absorbans değerleri 570 nm'de okundu. Hücre canlılığı Denklem (4) göre hesaplanmıştır:

$$\text{Hücre Canlılığı \%} = \frac{\text{Uygulamanın ortalama absorbansı}}{\text{Kontrolün ortalama absorbansı}} \times 100 \quad (4)$$

3.3.7. Hücre Fiksasyonu

CCD-1072Sk ve HEK293 hücreleri 24 kuyulu plate'e ekildi ve 24 saat hidrojellerle entegre edildi. İnkübasyondan sonra, hidrojeller uzaklaştırıldı ve 1xPBS ile yıkandı. Fiksasyon işlemi için %2.5'lik glutaraldehit (GA) çözeltisinden 1'er ml kuyucuklara eklenerek 2 saat oda sıcaklığında bırakıldı. Sonrasında 1xPBS ile yıkanarak GA uzaklaştırıldı. Fikse edilmiş hidrojeller, artan konsantrasyonlarda (%50'den %100'e) her 10 dk bir değiştirilmek üzere etanolde bekletildi. Hidrojeller SEM analizi öncesi -20 °C'de saklandı.

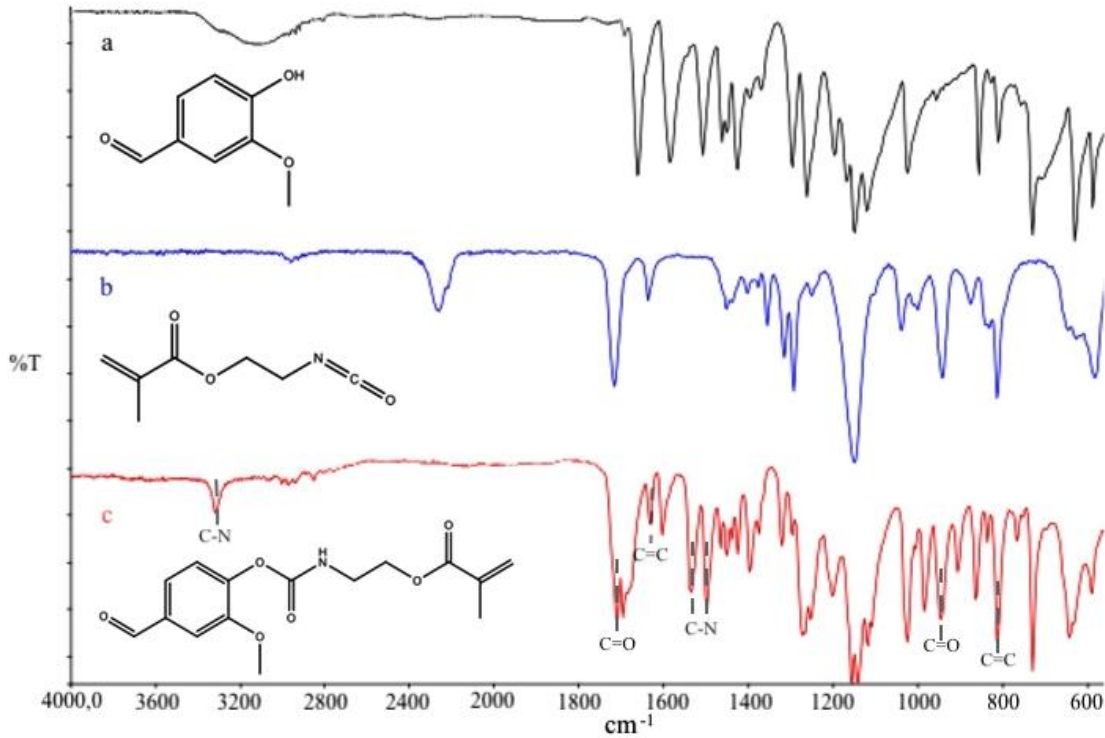
4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Schiff-baz bazlı Hidrojel

4.1.1. M-VAN Karakterizasyonu

Vanilinin sahip olduğu aldehit ve hidroksil grubu modifikasyon yapılabilmesi açısından farklı amaçlarla kullanımına imkân sağlamaktadır [90, 91]. M-VAN sentezi, IEMA'nin izosiyanat grubu ile vanilinin hidroksil grubu arasında 60°C'de inert koşullar altında üretilen bağ oluşturması ile sentezlenmiştir. İzosiyanat grubunun amine dönüşmemesi için inert koşullar altında üretilmesi önemlidir. DBTDL, reaksiyon oranını arttırmak için M-VAN'daki hidroksil grubunu katalizleyerek reaktivitesini arttırmıştır. Ürün %85 verim ile sentezlenmiştir. Metakrilik anhidrit eşleniklerine kıyasla, reaksiyon yan ürün vermeden daha hızlı gerçekleşir ve kolay ekstrakte edilmesiyle küçük miktarlarda çalışma imkânı sunmaktadır. Ek olarak IEMA'nın hidrojen bağ yapabilecek gruplara sahip olması kendi kendini onarma özelliğini desteklemektedir.

4.1.1.1. M-VAN FTIR Karakterizasyonu

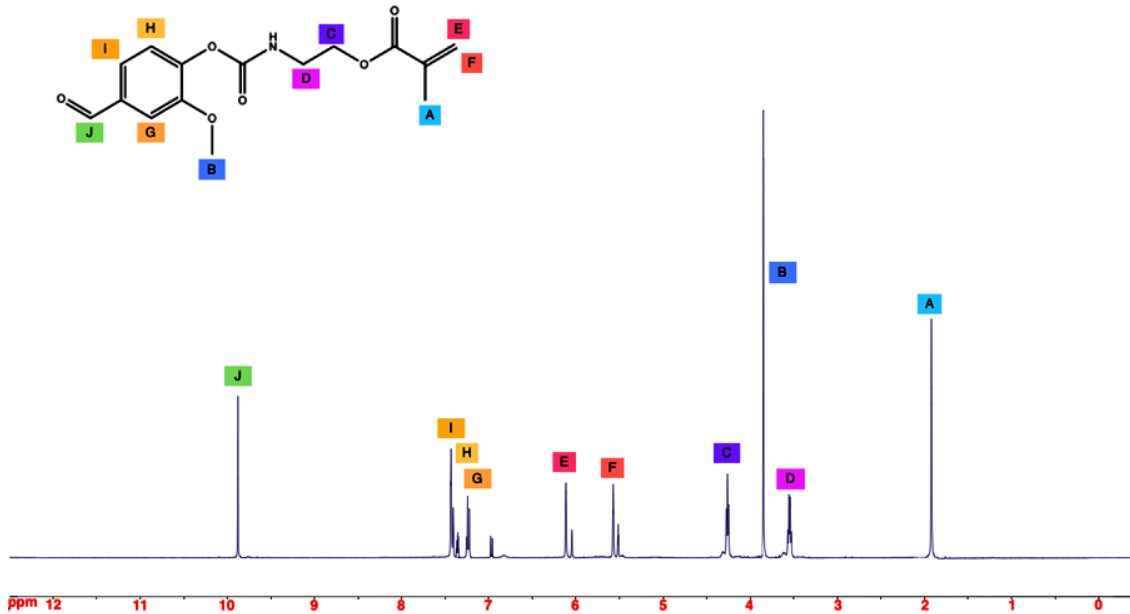


Şekil 4.1.1.1.1 M-VAN FTIR spekturumu a) Vanilin, b) IEMA, c) M-VAN

Şekil 4.1.1.1.1'de M-VAN'ın FTIR sentez spektrumu verilmiştir. Şekil 4.1.1.1.1-a'da vanilinin 3157 cm^{-1} ve 1263 cm^{-1} 'deki (-OH) gerilme ve eğilme titreşim pikleri görülmektedir. Aldehit gerilme titreşimi ($\text{C}=\text{O}$) 1662 cm^{-1} görülmektedir [92]. IEMA'ya ait IR spektrumunda karakteristik izosiyanat piki ($-\text{NCO}$) 2261 cm^{-1} 'de görülmektedir [93].

M-VAN'a ait spektrumda, hidroksil gerilme ve eğilme piklerinin kaybolduğu görülmektedir. (N-H) gerilme ve (C-N) gerilme titreşimlerinin 3319 cm^{-1} ve 1536 cm^{-1} , 1499 cm^{-1} 'de olduğu görülmektedir [94]. 1426 cm^{-1} 'de C-NH gerilme piki üretan bağının oluştuğunun bir kanıtıdır. ($\text{C}=\text{O}$) ester gerilme ve eğilme pikleri 1710 cm^{-1} ve 949 cm^{-1} 'de oluşmuştur. Akrilat çift bağı ($\text{C}=\text{C}$) 1633 cm^{-1} ve 813 cm^{-1} 'de oluşmuştur. Ayrıca izosiyanat pikinin kaybolması da reaksiyonun başarıyla tamamlandığının kanıtıdır [95].

4.1.1.2. M-VAN ^1H -NMR Karakterizasyonu



Şekil 4.1.1.2.1 M-VAN ^1H -NMR Spektrumu

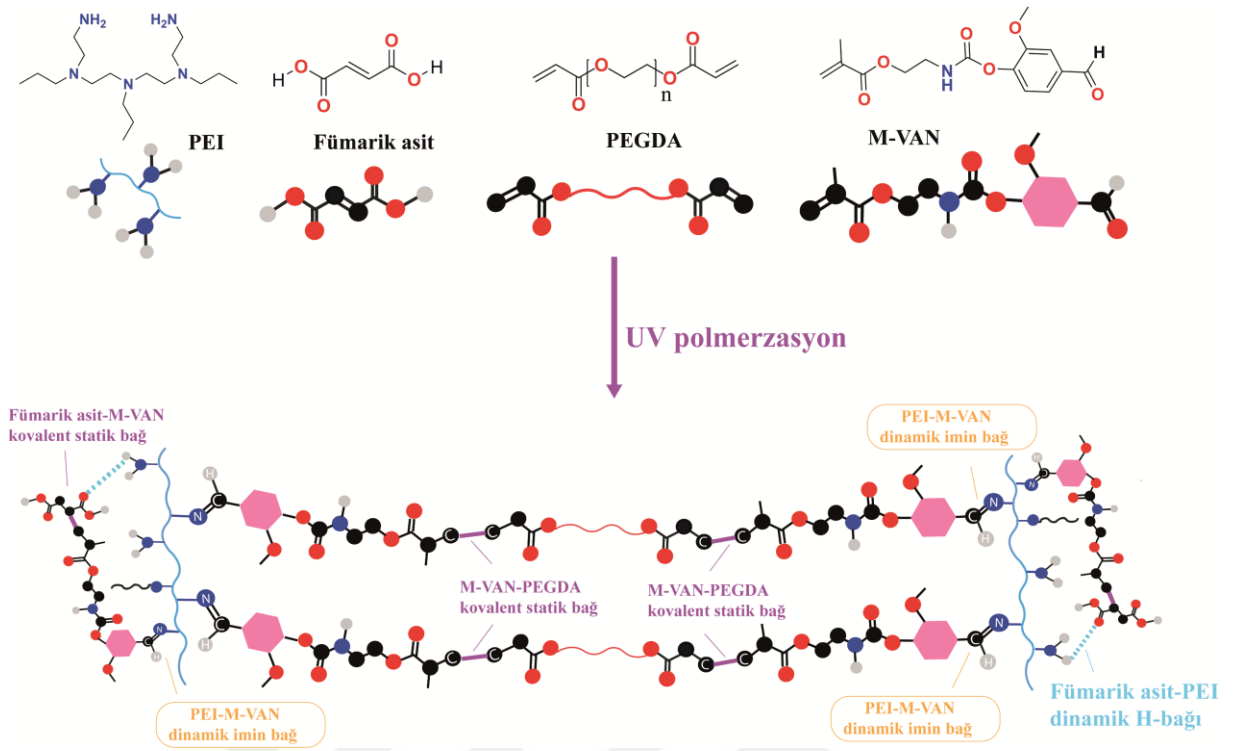
Şekil 4.1.1.2.1'de M-VAN'a ait ^1H -NMR spektrumu verilmiştir. 1.8 ppm'deki singlet (A) metakrilatin metil grubunun protonlarına aittir. Benzil grubuna bağlı metoksi grubu 3.87 ppm'de görülmektedir (B). 4.3 ppm (C) ve 3.6 ppm (D) etilenin protonlarına aittir. 4.45 ppm'deki pik ester grubunun yanındaki triplete aittir. Vinil grubun varlığına dair

kanıt 6.2 ppm ve 5.6 ppm (F) piklerinin oluşmasıdır. 7.5 ppm civarındaki pikler (I,H,G), aromatik grubun protonlarına aittir. 7 ppm'deki pikler solvente aittir. 9.9 ppm'deki singlet (J) aldehit grubuna aittir. [96].

4.1.2 Vanilin Bazlı Hidrojellerin Sentezi

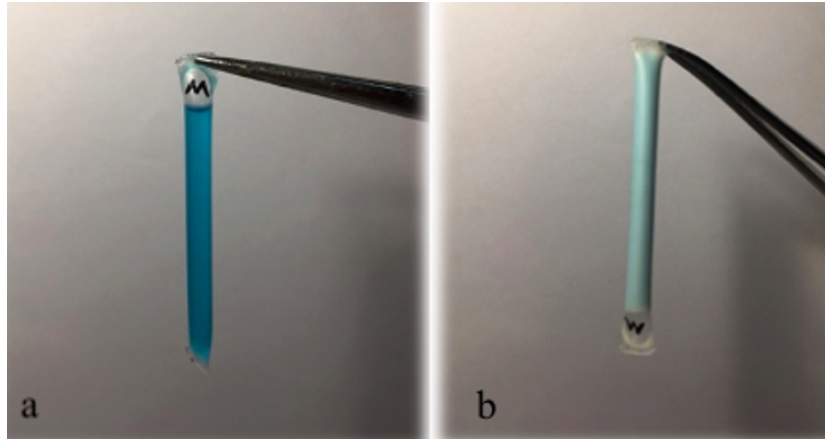
Ünlü kimyager Hugo Schiff 1864'te keşfettiği alt sınıf bir imin bağı, “Schiff-baz” olarak literatüre yerleşmiştir. Kimyasal formülü $R_1R_2C=NR'$ ($R' \neq H$) olan Schiff-baz'ın iminden farkı azota bağlı grubun hidrojen olmayıp alkil ya da aril grubu olmasıdır. Schiff-baz, primer aminin nükleofilik atak ile aldehit ya da keton grubunun aktif karbonil grubuna saldırması ile hemiaminal oluşmasını takiben dehidrasyon ile oluşur.

Hidrojel sentezinde, metakrilat ile fonksiyonellendirilmiş M-VAN, PEGDA ve fümariik asitle birlikte radikalik kopolimerizasyon ile UV altında polimerleşerek polimer ana iskeletini oluşturmuştur. Biyo-çapraz bağlayıcı görevi gören M-VAN aynı zamanda aldehit fonksiyonuyla Schiff-baz oluşturmak üzere PEI'nin amin gruplarıyla dinamik bağ oluşturmuştur (Şekil 4.1.2.1). Reaksiyonun tamamlanması 15 dk. sürmektedir. Hidrojelin polimerizasyon boyunca opak renge döndüğü gözlemlenmiştir. Jel içeriği % 89-95 arasında hesaplanmıştır.



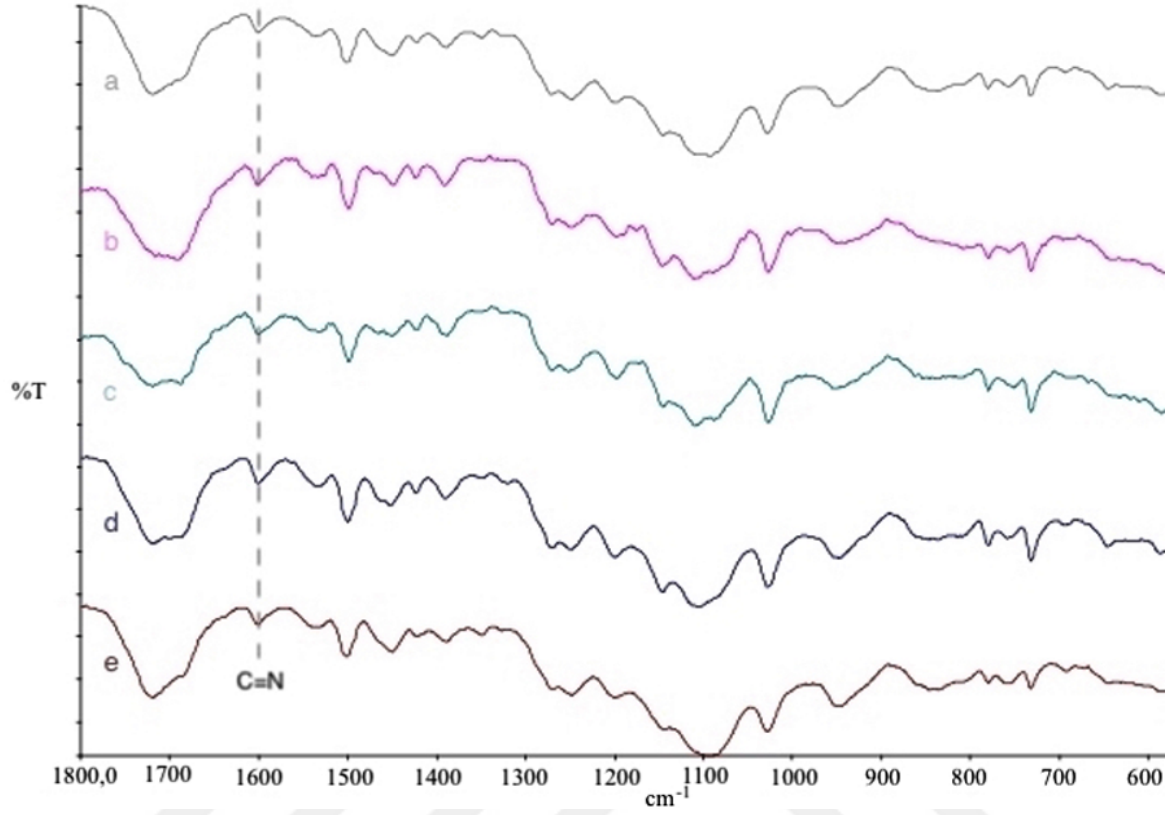
Şekil 4.1.2.1 Schiff-baz Bazlı Hidrojel Şema

Şekil 4.1.2.2’de plastik pipetlerin içerisinde UV ışık ile sentezlenen hidrojellerin ters-yüz tüp tekniğiyle kontrol edilerek başarıyla sentezlendiği görülmektedir.



Şekil 4.1.2.2 Hidrojel sentezi a) UV öncesi, b) UV sonrası

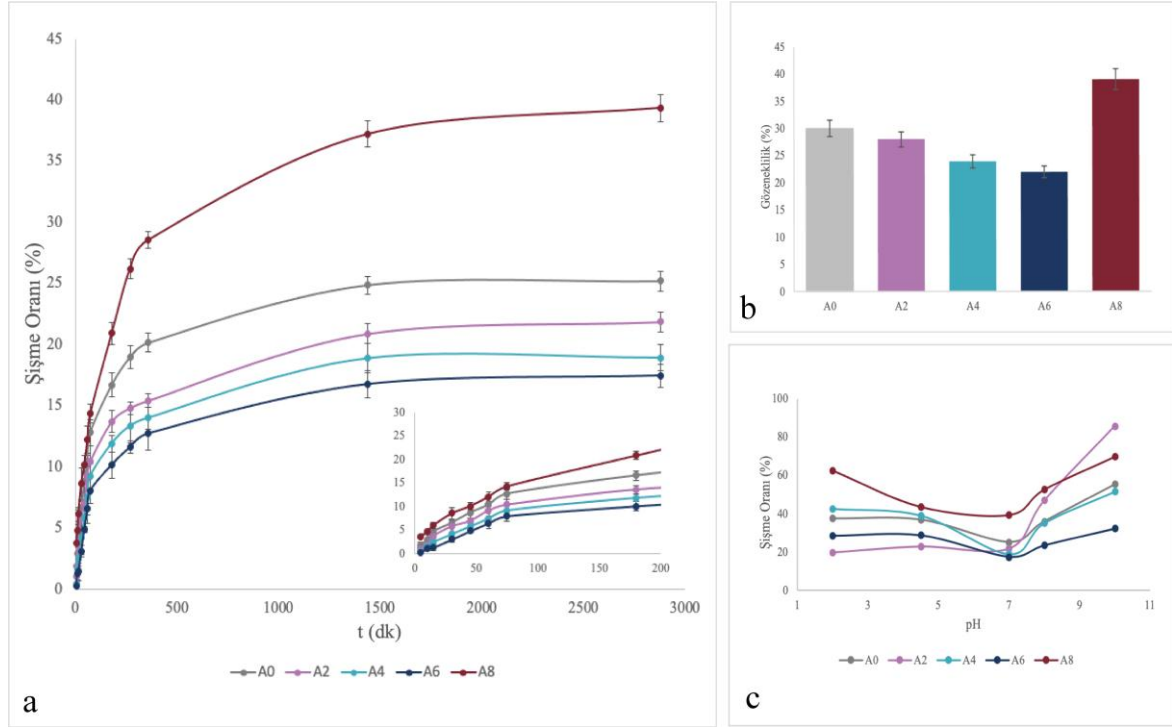
4.1.2.1. Schiff-baz Bazlı Hidrojelin FTIR Karakterizasyonu



Şekil 4.1.2.1.1 Hidrojellerin Karşılaştırmalı FTIR Sepktrumu. A) A0, b) A2, c) A4, d) A6, e)A8

Şekil 4.1.2.1.1’de hidrojellerin 1800-600 cm^{-1} spektral aralığındaki karşılaştırmalı olarak FTIR spektrumu verilmektedir. C=O gerilmesi 1719 cm^{-1} ’de görülmektedir. 1636 cm^{-1} ve 813 cm^{-1} ’deki karakteristik C=C akrilat çift bağının kaybolması, polimerizasyonun başarıyla tamamlandığının bir kanıtıdır. M-VAN’nın aldehitine ait 1662 cm^{-1} ’deki C=O pikinin de kaybolduğu görülmektedir. Ayrıca PEI’ye ait 1450 cm^{-1} ’deki C-N gerilme titreşimi ve 1560 cm^{-1} ’deki NH_2 makaslama titreşim pikininde kaybolduğu görülmektedir [97-99]. C=N gerilme pikinin 1602 cm^{-1} ’de oluşması M-VAN ve PEI arasındaki Schiff-baz imin bağının oluştuğunun kanıtıdır. [97-101].

4.1.3 Schiff-baz Bazlı Hidrojelin Şişme Davranışının İncelenmesi



Şekil 4.1.3.1 Schiff-baz Bazlı Hidrojellerin Şişme Davranışları. a) Şişme Kinetiği Grafiği, b) Gözeneklilik Grafiği, c) Farklı pH Tampon Çözeltilerindeki Şişme Davranış Grafiği

Hidrojellerin şişme davranış grafikleri Şekil 4.1.3.1’de verilmiştir. Zamana karşı nötral pH’daki şişme grafiği Şekil 4.1.3.1-a’ da verilmiştir. Görüldüğü gibi 80 dk. içinde tüm hidrojellerin şişme oranı hızla artmıştır. Hidrojel örnekleri 24 saat içinde dengeye gelmiştir. A8 hidrojel örneği tüm örnekler içinde en yüksek şişme oranı gösteren hidrojel olmuştur. Bu da şişme derecesinin PEG zincir oranının artmasıyla arttığının bir göstergesidir. Denge oranı M-VAN (A6) ve PEI (A4) miktarı arttıkça azaldığı gözlemlenmiştir. Bu da M-VAN ve PEI miktarlarının artmasıyla muhtemel olarak Schiff-base oluşumunda dolayı polimer zincirleri arasında dinamik çapraz bağın artmasından dolayıdır. Bilindiği gibi çaprazbağlayıcı yoğunluğunun artmasıyla şişme kapasitesi arasında ters bir ilişki bulunmaktadır [102]. Ek olarak, A0 ile A2 karşılaştırıldığında şişme oranında görülen azalma, fümariik asit miktarının PEI ile FA polimerler arası kompleks oluşturmasından olmuş olabilir. PEI’deki amino grupları fümariik asitteki karboksilik asit gruplarıyla etkileşime girmiştir. Sonuç olarak Şişme

derecesi doku mühendisliği ve yara-onarım uygulamalarında kullanmak için uygundur [103].

Hidrojellerin gözenekliliği ile ilgili hesaplama Şekil 4.1.3.1-b’de verilmiştir. Gözeneklilik, monomer ve hazırlama koşulları değiştirilerek kontrol edilebilir. Hidrojeller %22-40 gözeneklilik göstermiştir. Bunun sebebi yüksek polimer yoğunluğu ve çaprazbağ oranı olduğu düşünülmektedir. Hidrojellin kovalent çaprazbağlı yapısının yanında, A4 ve A6 örnekleri ek bir çaprazbağ olarak yüksek Schiff-bazı bağı içermektedir. Bundan dolayı yapının gözenekliliği düşmüştür. Ek olarak PEI zincirleri, jeldeki gözeneklerin içerisinde dolanıklık göstermektedir. A8’de, PEGDA’nın düşük miktarda artırılması, polieter segment yoğunluğunu arttırmış ve düğüm noktaları arasındaki mesafeyi arttırarak daha yüksek gözenekli bir ağ yapı oluşturmuştur. Gözeneklilik sonuçları şişme derecesiyle uyumluluk göstermektedir.

Şekil 4.1.3.1-c’de hidrojellerin pH’a bağlı dengedeki şişme oranları verilmiştir. Hidrojeller fümarik asitteki karboksilik asit gruplarının yanı sıra PEI ve M-VAN’daki amin gruplarından dolayı amfoterik özellik göstermektedir. Düşük pH değerlerinde hidrojelin amfoterik karakteristiğinden dolayı asidik ve bazik gruplar arasındaki yarışma oldukça yoğundur. Asidik koşullar altında, anyonik karboksilat ve amin grupları protonlanır. A4’te daha net gördüğümüz gibi amonyum iyonları arasındaki iyonik itme daha fazla boşluk yaratacağı için su alımını arttırmıştır. Bunun yanında karboksilik asit grupları, kendi aralarında ve su molekülleriyle H-bağı oluşturarak karboksilat iyonları arasındaki elektronik itmeyi engeller. Karboksilik asit gruplarının disosiyasyonu $pK_a=3$ aşılana kadar ihmal edilebilir düzeydedir. Hidrojel, iyonik gruplar arasındaki denge sebebiyle nötral koşullarda denge göstermiştir. Yüksek pH’ta, A2’de daha açık bir şekilde gördüğümüz gibi, karboksilik gruplar deprotone olmuş ve iyonik itme sebebiyle polimer zincirleri birbirini iterek su alımı için daha fazla alan yaratmıştır. Hidrojeller, az bir farkla, karboksilat iyonunun baskın etkisinden dolayı alkali pH’ta daha fazla şişme göstermiştir. Benzer şekilde daha önce yayınlanan çalışmalarda da asidik ve bazik koşullardaki şişmenin nötral koşullardaki şişmeden daha fazla olduğu görülmüştür [104-106].

Schiff-bazları düşük ve yüksek pH’ta bozulduğu için, dinamik çapraz bağlanma noktalarının azalması da şişme kapasitesini arttıran etki göstermiştir. Schiff-bazı

bağlantısı nötral koşullarda etkili olduğundan, pH 7’de dinamik çapraz bağ yoğunluğu artmış ve jelin şişme oranını düşürmüştür. pH’a bağlı şişme testi Schiff-bazının etkililiğini kanıtlamaktadır.

Hidrojel gözenekliliği monomer oranı ve hazırlanma koşulları değiştirilerek değişkenlik gösterir. Standart koşullarda, hidrojellerin gözenekliliği birbirine benzer çıkmıştır. A2 fumarik asitteki suda çözünen karboksilat iyonlarının birbirini itmesi sebebiyle gözenekliliğin artmasına sebep olduğu düşünülmektedir. A4 ve A6 kombinasyonlarında Schiff-baz sayesinde dinamik çapraz bağ miktarı arttığı için gözenek yapısı hem küçüldüğü hem de azaldığı düşünülmektedir. A8, PEG zincir oranının artmasından dolayı yapıda gözenekliliği arttırmıştır.

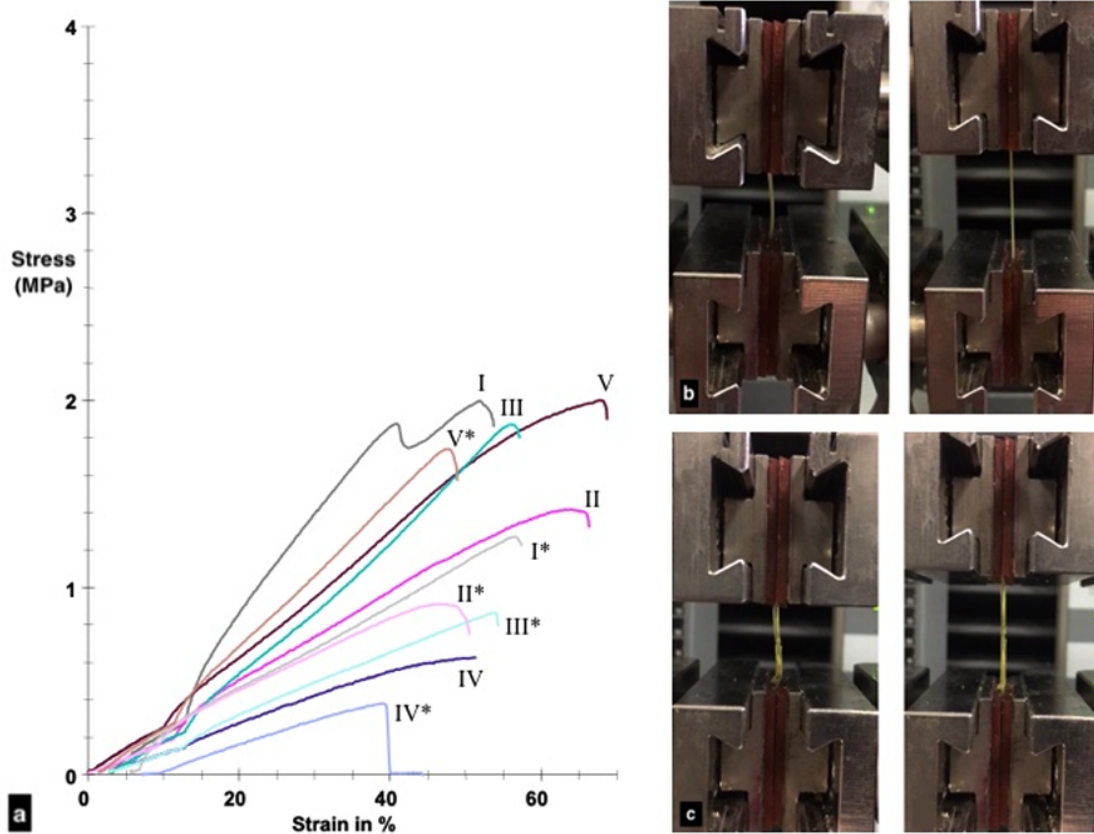
4.1.4. Schiff-baz Bazlı Hidrojin Termal Davranışının İncelenmesi

Hidrojellerin camısı geçiş sıcaklığı Tablo 4.1.4.1’de gösterilmiştir. Hidrojellerde iki tane Tg görülmüştür. İlk Tg (T_{g1})’ler -39°C ve -25°C arasında, PEI ve PEG zincirlerinin termal geçişlerine aittir. A4’ün fazla miktarda PEI içermesi, onun dallanmış yapısı sebebiyle baskın kılmakta ve en düşük T_{g1} ’ye sahip olmasına sebep olmaktadır. Bilindiği gibi dallanma, uç grup sayısını arttırarak serbest hacimi arttırdığından polimer zincirinin kolaylıkla hareket etmesini sağlayarak Tg’yi azaltacaktır [99]. Olefin monomerlerinin zincir polimerizasyonundan dolayı ikinci Tg (T_{g2}) 79°C ve 109°C ’de gözlemlenmiştir. Güçlü moleküllerarası etkileşim, sterik engel ve düşük serbest hacim, yüksek Tg’lerin sebebi olarak açıklanabilir. M-VAN’ın sahip olduğu aromatik yapı, dönüş hareketini azalttığı, fumarik asitin sahip olduğu karboksilik asit grubu polar-polar etkileşimi arttırdığı için Tg değerini de yükseltmiştir. A2 ve A6 formülasyonlarında sırasıyla fazla miktarda fumarik asit ve M-VAN bulunması T_{g1} ’i gözlemlememizi engellemiş olabileceği düşünülmektedir. Stiren benzeri aromatik gruba sahip M-VAN serbest hacmi engellemiş ve orto pozisyonundaki metoksi grubunun aromatik yapıya bağlı olması da sterik etkiyi arttırmıştır [107]. A8 için diakrilat miktarındaki az miktardaki değişim, çapraz bağlanma noktalarını arttırdığı için Tg’yi arttırmıştır. [108].

Tablo 4.1.4.1 Vanilin bazlı Hidrojellerin Camı Geçiş Sıcaklık Değerleri

No	T _{g1}	T _{g2}
A0	-26	92
A2	-	79
A4	-39	87
A6	-	93
A8	-25	109

4.1.5 Schiff-baz Bazlı Hidrojelin Mekanik Davranışının İncelenmesi



Şekil 4.1.5.1 Schiff-bazlı Hidrojellerin Çekme-kopma Test Sonucu. a) I:A0, II:A2, III:A4, IV:A6, V:A8, *Kendi kendini onarmış hâl, A4'ün b) orijinal c) kendi kendini onarmış çekme-kopma görüntüleri

Tablo 4.1.5.1’de çekme kopma test sonuçları verilmiştir. Gerilme-gerinim eğrisi Şekil 4.1.5.1’de verilmiştir. A2 ve A0 karşılaştırıldığında, fümariik asit miktarının artması uzamayı geliştirmiş fakat çekme mukavemetini azaltmıştır. Zincirler arasındaki hidrojen bağı uzamayı arttırmıştır fakat çekme mukavemetini geliştirmeye yeterli gelmemiştir. PEI miktarını arttırmak farkedilebilir ölçüde bir fark yaratmamıştır. Büyük polimer zincire sahip dallanmış yapısıyla PEI mukavemeti az da olsa geliştirmiştir. Literatürde de bahsedildiği gibi, vanilin miktarı hem kendi kendini onarma hem de mekanik mukavemet için kritiktir. [109, 110]. Bu çalışmada M-VAN kütlece %40 (A0)’dan %55(A6)’e artan miktarlarda kullanılmıştır. A6 yüksek module ve düşük çekme mukavemetine sahiptir. Bunun sebebi polimer matristeki fazla miktardaki aromatik yapının aromatik-aromatik etkileşim ile sertliği arttırması olarak açıklanabilir. Ayrıca A0’daki aldehit miktarına kıyasla A6’daki miktar daha yüksek kendini onarma kapasitesi için etkili değildir. A8’de ise yüksek PEGDA miktarı E-modülü, çekme mukavemetini ve uzamayı geliştirmiştir [111].

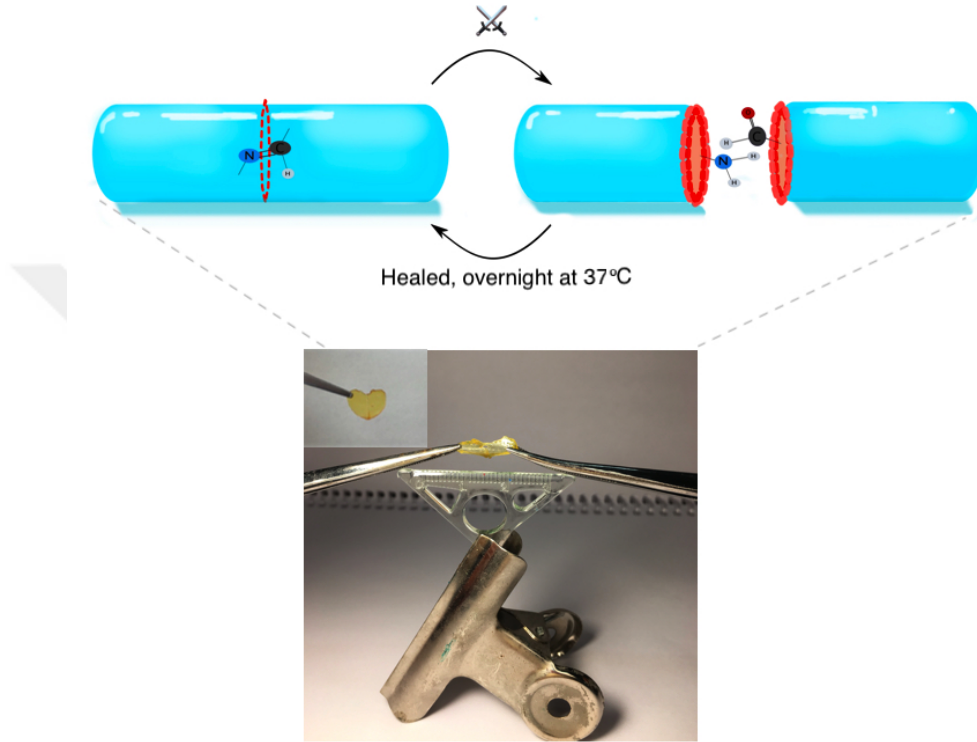
Tablo 4.1.5.1 Vanilin Bazlı Hidrojellerin Mekanik Test Sonuçları. * KO_e: Kendini Onarma etkinliği, orijinal ve kendini onarmış hidrojellerin çekme mukavemet oranlarından hesaplanmıştır.

No	E-modülü (N/mm ²)	Orijinal	Kendi kendini Onarmış				
		Çekme Mukavemeti (MPa)	Çekme Uzaması (%)	E-modülü (N/mm ²)	Çekme Mukavemeti (MPa)	Çekme Uzaması (%)	KO _e * (%)
A0	23	66	49	28	42	51	64
A2	33	47	62	21	30	51	64
A4	24	62	54	13	39	51	63
A6	55	21	48	32	12	34	57
A8	88	67	68	80	58	46	87

4.1.6. Schiff-baz Bazlı Hidrojelin Kendi Kendini Onarma Davranışı

Şekil 4.1.6.1’de gösterildiği gibi hidrojeller, hasar oluşturmak için bıçak yardımıyla ikiye kesildi. Kesildikten sonra kesilen parçalar tekrar birleştirildi ve 37°C’deki etüvde gece boyu bırakıldı. Kendi kendini onarma davranışı, fiziksel koşullarda

gerçekleşebilmesi bakımından önem taşımaktadır. M-VAN'ın sahip olduğu aldehit grubu, hasar sonrası kendi kendini onarım için PEI'nin amin grubu ile Schiff-baz oluşturmaktadır. Ek olarak fumarik asit ve PEI hidrojen bağı ile kendi kendini onarım sürecini desteklemektedir. İmin oluşumunda pH önemli bir faktördür. Reaksiyon pH'ı 5.5'tir ve bu fizyolojik koşullarda çalışabilmek için idealdir. [112, 113].



Şekil 4.1.6.1 Kendi Kendini Onarma

Hidrojinin kendi kendini onarma performansı çekme kopma testi ve morfolojik analiz ile kanıtlanmıştır. Tablo 4.1.5.1'de kendi kendini onarmış hidrojinler için E-modül, çekme mukavemeti, uzama değerleri verilmiştir. Görüldüğü gibi modül başlangıç değerine oldukça yakındır. Tersinir bağlar enerjiyi daha iyi dağıtmış ve uzamayı geliştirmiştir. Bu da kendi kendini onarmış hâldeki hidrojin, orijinal hâli kadar etkili olduğunu göstermektedir. Ek olarak, kendi kendini onarma etkinliği (KO_e) çekme mukavemeti değerlerine göre hesaplanmıştır. Görüldüğü gibi A8 haricindeki tüm örnekler benzer kendi kendini onarma etkinliğine sahiptir ve bu da yaklaşık %60'tır. A8'in daha yüksek (%87) kendi kendini onarma etkinliğine sahip olması, üstün şişme oranı ve çekme kopma mukavemeti de göz önüne alındığında şaşırtıcı değildir. Şekil

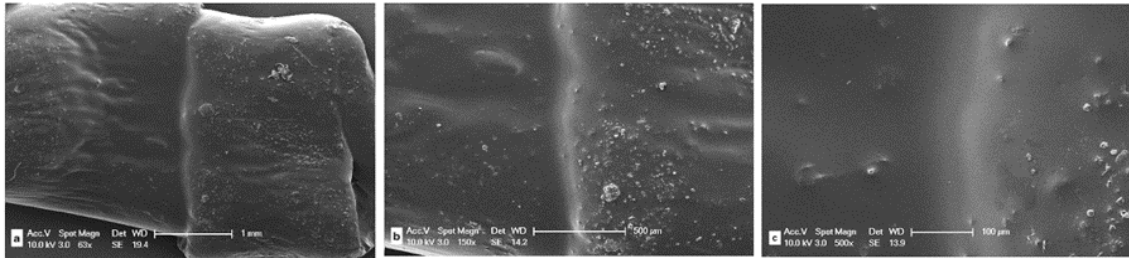
4.1.7.2’de A8’e ait kendi kendini onardıktan sonraki SEM görüntüleri verilmiştir. Görüldüğü gibi hidrojel düzgünce birleşmiş ve kendini başarıyla onarmıştır.

4.1.7. Schiff-Baz Bazlı Kendi Kendini Onaran Hidrojelin Optik Mikroskop ve SEM Görüntüleri



Şekil 4.1.7.1 Kendi Kendini Onaran A8’in Optik Mikroskop Görüntüleri 10X

Şekil 4.1.7.1’de A0 hidrojelinin optik mikroskop görüntüleri verilmiştir. Fizyolojik sıcaklıkta, kesik oluşturulduğu andaki ve 4 saat sonraki görüntülerde görüldüğü gibi, henüz kesik çizgisinde bir kaybolma meydana gelmemiştir. Bu da alkoldeki polar gruplardan dolayı imin bağının oluşum hızının yavaş olduğunu göstermektedir. Şekil 4.1.7.2’de 24 saat sonraki SEM görüntülerine baktığımız zaman ise kesik bölgesindeki yara izinin tamamen kaybolduğunu görebiliriz. Bu da kendi kendini onarma için optimum sürenin 24 saat olduğunu göstermektedir.

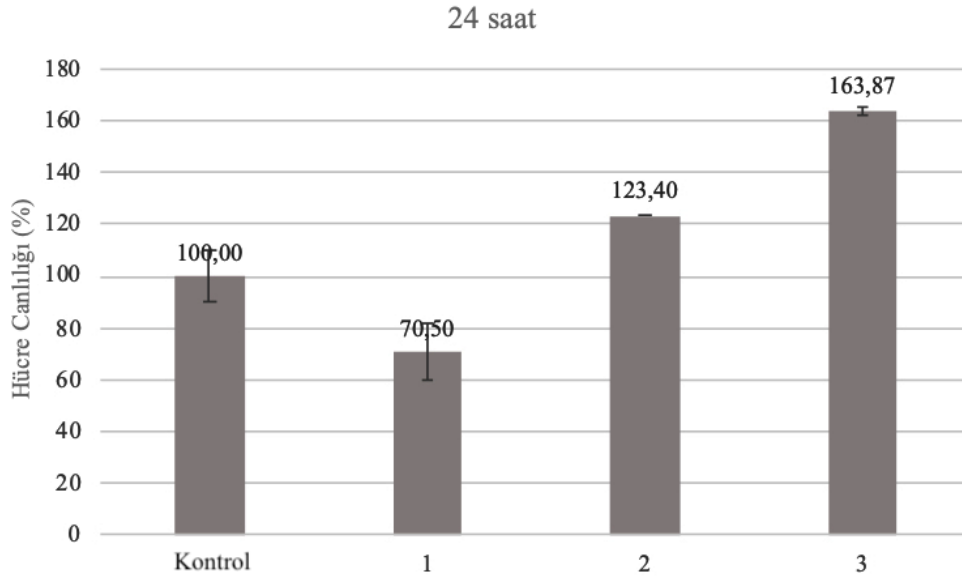


Şekil 4.1.7.2 Kendi kendini onaran A8’in SEM görüntüleri. a) 63X b) 150X c) 500X

4.1.8. In vitro Hücre Canlılığı Testi

Hidrojellerin sitotoksitesi kolajenli ve kolajensiz olmak üzere MTT deneyi ile test edilmiştir (Şekil 4.1.8.1). Hidrojellerin 24 saat için yapılan canlılık testinde non-sitotoksik oldukları gözlemlenmiştir. Hidrojele kaplanan kolajen miktarı artırıldığında canlılığında önemli ölçüde arttığı gözlemlenmiştir. Hücre canlılığı oranı hidrojel için %71’dir. Kolajen kaplandıktan sonra bu miktar düzenli şekilde artarak %124 ve %163’e

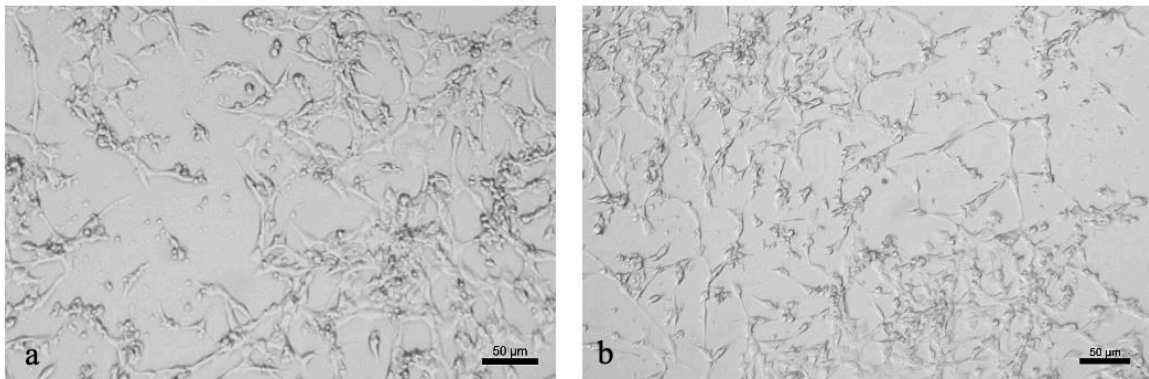
yükselmiştir. Kolajen kaplı yapı, hücrenin yapışması için iyi bir destek sağlamaktadır. [114].



Şekil 4.1.8.1 MTT Testi. 1: A8, 2: A8+4 μ g kolajen, 3: A8+8 μ g kolajen

4.1.8.1 Schiff-baz Bazlı Hücre Ekili Hidrojellerin Optik Mikroskop ve SEM Görüntüleri

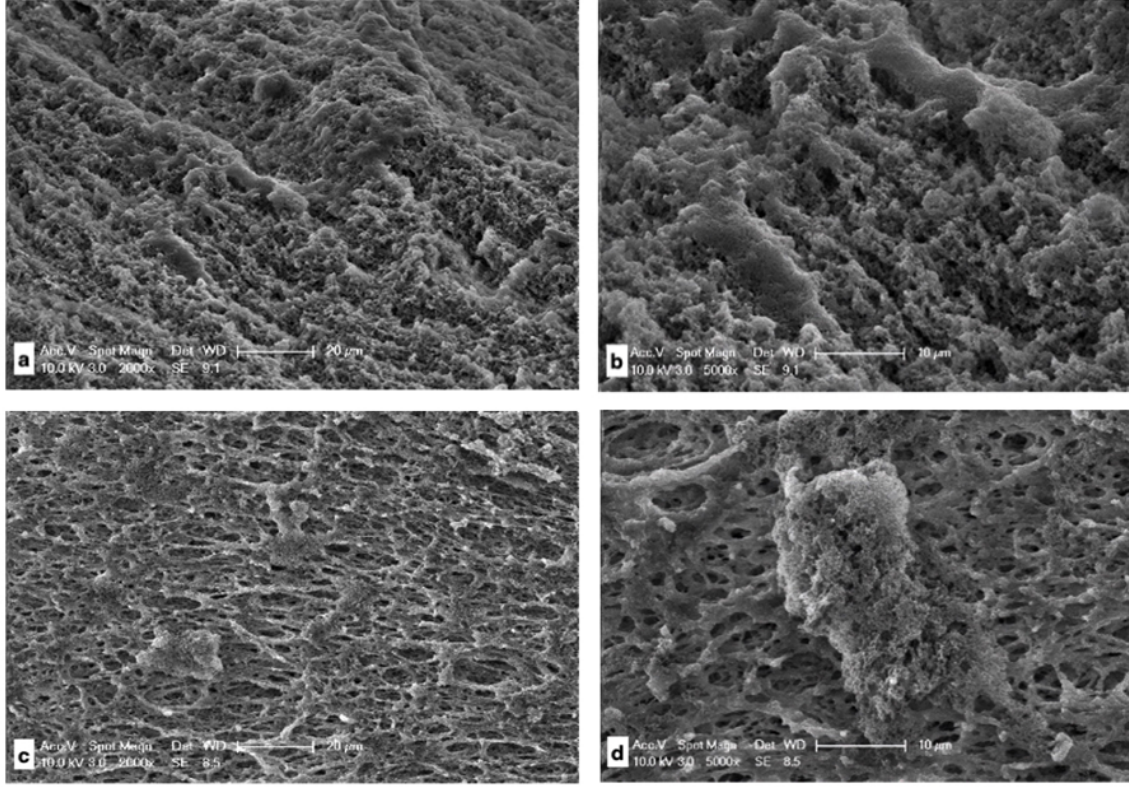
Optik mikroskop görüntüleri Şekil 4.1.8.1.1’de verilmiştir. 0. saat ve 24. saatler arasında herhangi bir fark gözlemlenmemiştir. Her iki görüntüde de hücreler, hidrojel ortamında MTT testiyle uyumlu şekilde yayılmış ve canlı hâlde görüntülenmiştir.



Şekil 4.1.8.1.1 CCD-1072Sk Hücrelerinin Optik Mikroskop Görüntüleri 50 μ m. a) Kontrol 0. saat b) 24. Saat hidrojel ortamında

Şekil 4.1.8.1.1.2’de hücre fikse edilmiş hidrojellerin SEM görüntüleri verilmiştir. Görüldüğü gibi hücreler hidrojel yüzeyine yapışmış ve yayılmış hâldedir. Yüzey

tamamen CCD-1072Sk ile sarılmıştır. Malzeme yüzeyi hücrenin bağlanması açısından önemli bir role sahiptir. Kolajen ile kaplanmış hidrojelde, hücrelerin morfolojileri değişerek düzleşmiş ve birbiriyle bağlantı kurmuştur. Bundan dolayı kolajen kaplı Hidrojellerin hücre bağlanması için uygun bir destek olduğu söylenebilir. [114].

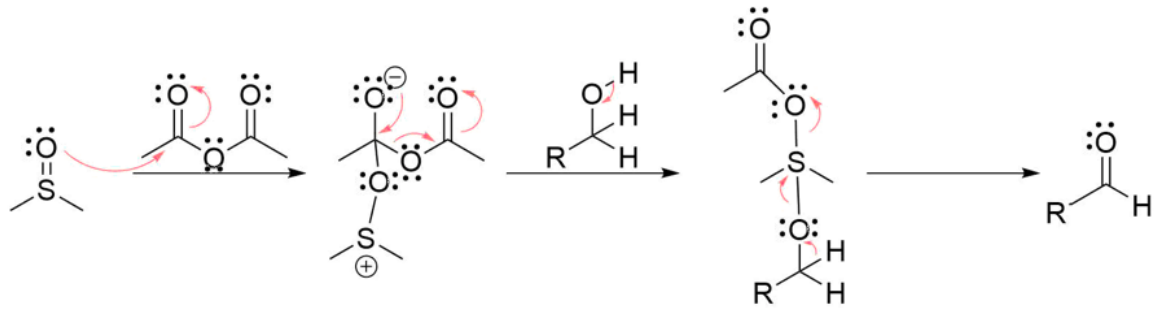


Şekil 4.1.8.1.1.2 CCD-1072SK hücresi fikse edilmiş A8 SEM görüntüleri. a) 2000X b) 5000X c) kolajen kaplı 2000X d) kolajen kaplı 5000X

4.2 Açıldırazon Bazlı Hidrojel

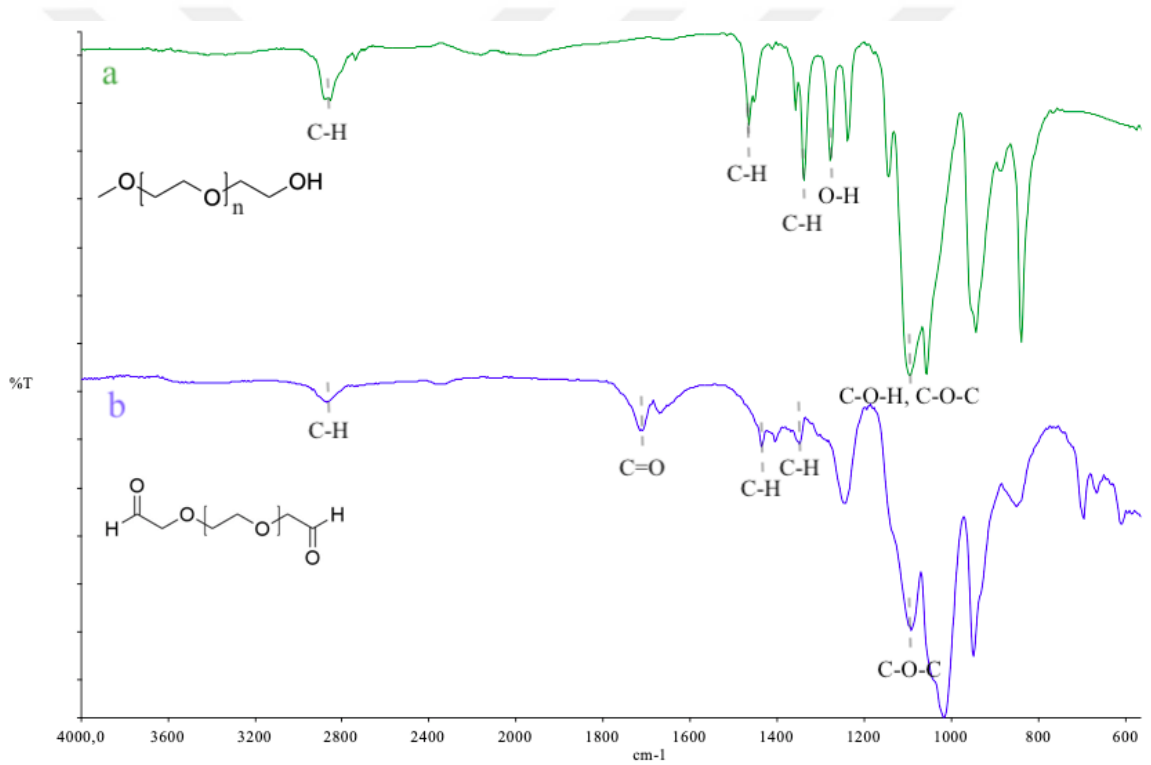
4.2.1. PEG1500-dialdehit Sentezi

PEG1500-dialdehit sentezinin reaksiyon mekanizması Şekil 4.2.1.1’de verilmiştir. Reaksiyon oda sıcaklığında 15-24 saat içerisinde gerçekleşmektedir. Hidroksil grubuna göre molce aşırı eklenen asetik anhidrit ile yüksek verim elde edilir. Dimetil sülfoksit hem solvent hem de reaktant olarak kullanılır. Asetik anhidritle reaksiyona girerek sulfonyum iyonunu oluşturur. Bu da primer alkol ile katılma reaksiyonu gösterir. Asetik anhidrit ikiye ayrılarak ara ürün oluşturur. Daha sonra eliminasyon ile asetik asit ve dimetil sülfid ayrılarak aldehit elde edilir [115].



Şekil 4.2.1.1 PEG1500-dialdehit reaksiyon mekanizması

4.2.1.1. PEG1500-dialdehit FTIR Karakterizasyonu



Şekil 4.2.1.1.1 PEG1500-dialdehit sentezi. a) PEG b) PEG1500-dialdehit

Şekil 4.2.2’de PEG1500-dialdehit’in FTIR spektrumu verilmiştir. Şekil 4.2.1.1.1-a’da PEG’e ait 2856 cm^{-1} ’de (C-H) alifatik zincire ait gerilme titreşimleri, 1466 cm^{-1} ve 1340 cm^{-1} (C-H) eğilme titreşimleri görülmektedir. (O-H) ve (C-O-H) gerilme titreşimlerine ait pikler 1278 cm^{-1} ve 1096 cm^{-1} ’de görülmektedir [116].

PEG1500-dialdehit’in spektrumunda PEG’e ait 2871 cm^{-1} ’de (C-H) alifatik zincire ait gerilme titreşimleri, 1466 cm^{-1} ve 1340 cm^{-1} (C-H) eğilme titreşimleri görülmektedir.

1018 cm^{-1} 'de (C-O-C) gerilme titreşimleri görülmektedir. 1716 cm^{-1} aldehit piki reaksiyonun başarıyla tamamlandığının göstergesidir.

4.2.1.2. PEG1500-dialdehit ^1H NMR Karakterizasyonu



Şekil 4.2.1.2.1 PEG1500-dialdehite ait ^1H NMR spektrumu

Şekil 4.2.1.2.1'de PEG1500-dialdehite ait ^1H NMR spektrumu verilmiştir. 2.9 ppm'deki triplet, eter zincirleri arasındaki CH₂ gruplarına aittir (C). PEG-1500 çok uzun zincir olduğu için 9.1 ppm'deki (A) küçük görünen triplet, aldehite aittir. 3.9 ppm singlet aldehitin yanındaki gruba aittir (B). 7 ppm civarındaki pik solvent pikidir. 2.1'deki singlet asetik asite aittir. 1.4 ppm civarında singlet dietil eter kalıntısıdır.

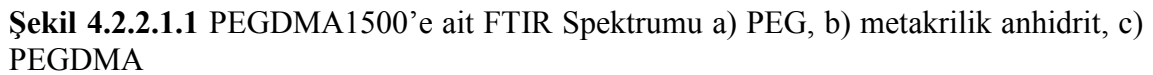
4.2.2. PEGDMA1500 Sentezi

Şekil 4.2.2.1'de reaksiyon mekanizması verilmiştir. PEGDMA1500 sentezinde açıl klorürle ester sentezine benzer şekilde, asit anhidritle hidroksil grubu arasında gerçekleşir. Esterin yanında yan ürün olarak HCl yerine, karboksilik asit oluşur. PEG zincirindeki hidroksil grubu, metakrilik anhidritin karboniline nükleofilik atak yapar.

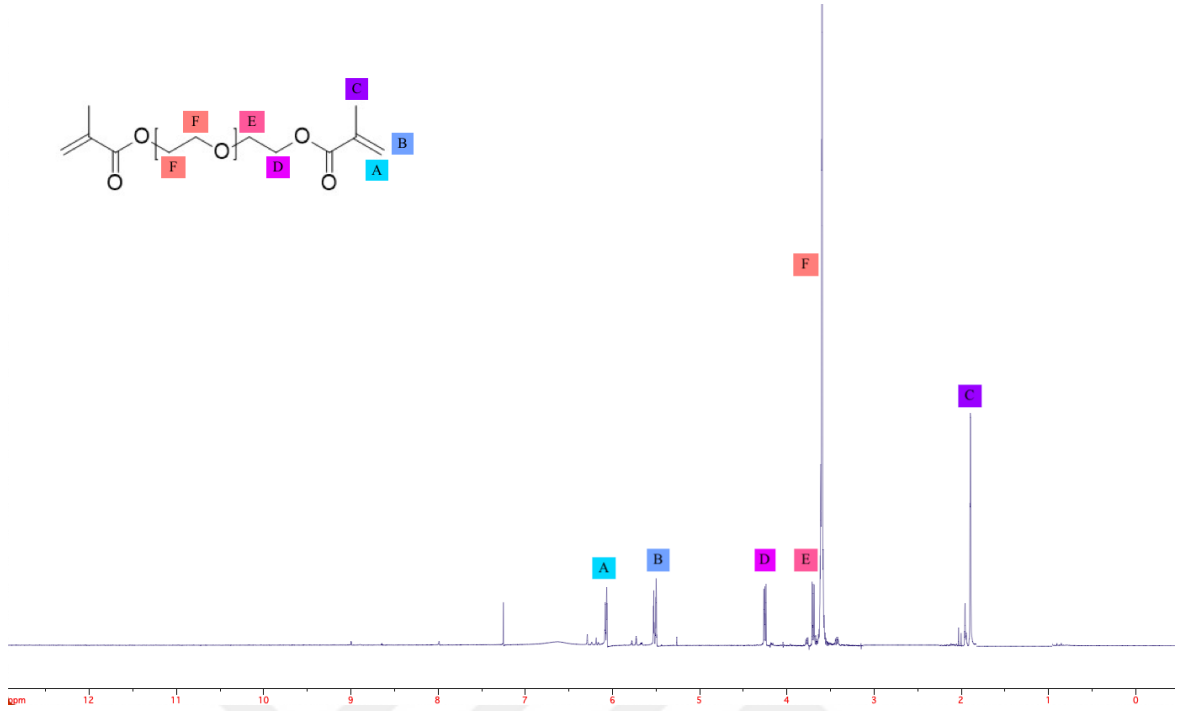
The diagram illustrates the chemical reaction mechanism for the synthesis of an enone from an alcohol and an enone. The reaction proceeds through three main steps:

- Protonation:** The alcohol ($R-OH$) is protonated by the enone ($CH_2=C(CH_3)COCH_3$). The lone pair on the oxygen of the alcohol attacks the carbonyl carbon of the enone, forming a tetrahedral intermediate. This intermediate is then protonated by the enone, resulting in a protonated alcohol ($R-OH_2^+$) and a carboxylic acid ($CH_2=C(CH_3)COOH$).
- Deprotonation:** The carboxylic acid is deprotonated by the enone, forming a carboxylate anion ($CH_2=C(CH_3)COO^-$) and a protonated enone ($CH_2=C(CH_3)COH_2^+$).
- Elimination:** The carboxylate anion undergoes elimination of water to form the enone ($CH_2=C(CH_3)COCH_3$).

4.2.2.1. PEGDMA1500 FTIR Karakterizasyonu



4.2.2.2. PEGDMA1500 ¹H NMR Karakterizasyonu



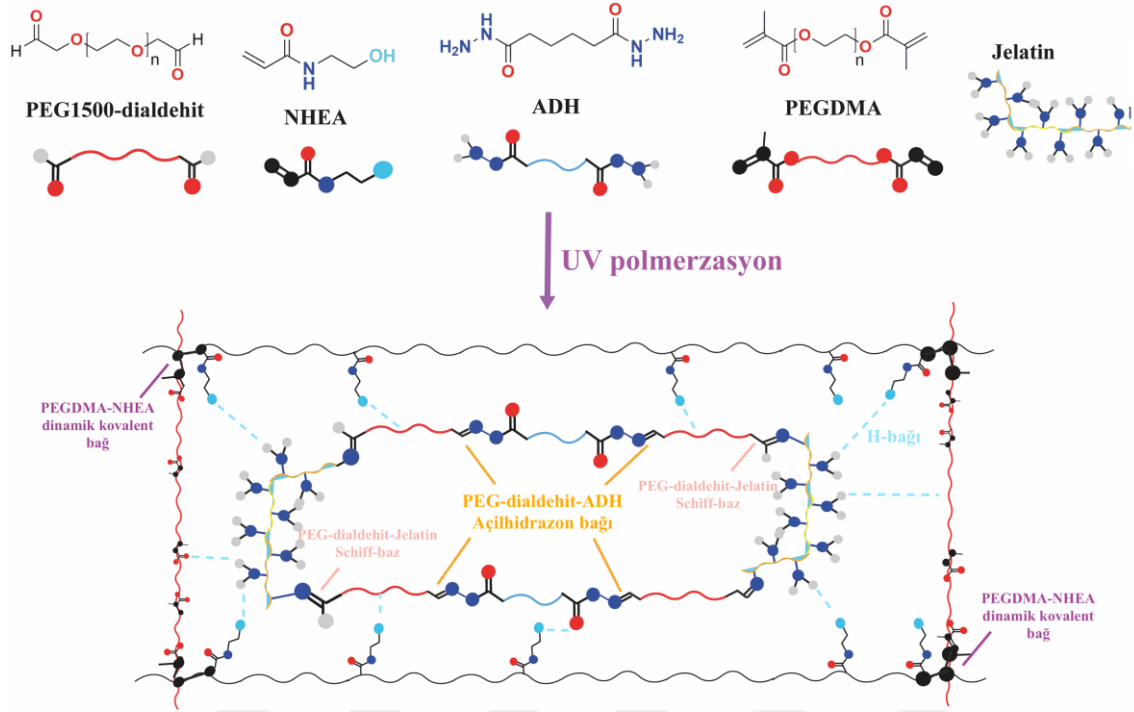
Şekil 4.2.2.2.1 PEGDMA1500 ¹H NMR Spektrumu

Şekil 4.2.2.2.1’de PEGDMA1500’e ait ¹H NMR spektrumu verilmiştir. 1.9 ppm’de metakrilat grubunun singleti bulunmaktadır (C). 3.6 ppm’de PEG zincirine ait etere komşu triplet görülmektedir (F). 3.7 ppm’de metakrilat bağlanan eter kısmındaki, uzakta bulunan (E) hidrojenin tripleti görülmektedir. 4.2 ppm’deki triplet, metakrilat bağlanan eter grubunun oksijenine komşu olan hidrojenin triplet yarılması (D) görülmektedir. Reaksiyonun tamamlandığına dair kanıt ise 5.5 ppm ve 6.1 ppm’deki çift bağa ait (A,B) hidrojenlerin dubletleridir.

4.2.3 Açılhidrazon Bazlı Hidrojel Sentezi

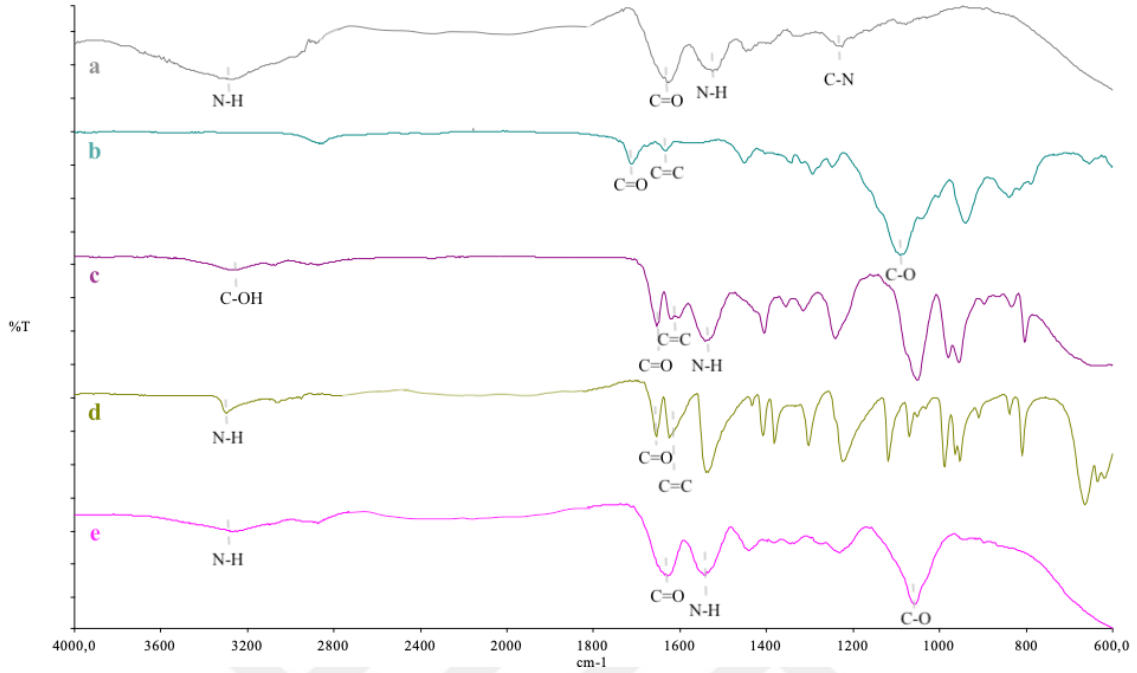
Hidrojel sentezinde polimer matrisinde iki ana yapı bulunmaktadır. Bunlardan ilki başlatıcının (Darocur 1173) UV ışık altında bozunarak NHEA, PEGDMA1500 ve MBA’in çift bağlarına saldırmasıyla radikalik kopolimerizasyon ile sentezlenen polimer zinciridir. Ek olarak büyük molekül ağırlığına sahip olan jelatinin amin gruplarıyla PEG1500-dialdehit’in kondensasyonu ile oluşan dinamik imin bağıdır. Aynı zamanda PEG1500-dialdehit ile ADH’n oluşturduğu dinamik açılhidrazon bağı mevcuttur (Şekil 4.2.3.1). Radikalik polimerizasyonla sentezlenen polimer matris, yapıyı destekleyen ana

iskelet olarak görev görürken, dinamik bağlar hasar oluştuğunda, hidrojelin kendi kendini onarmasını sağlar.



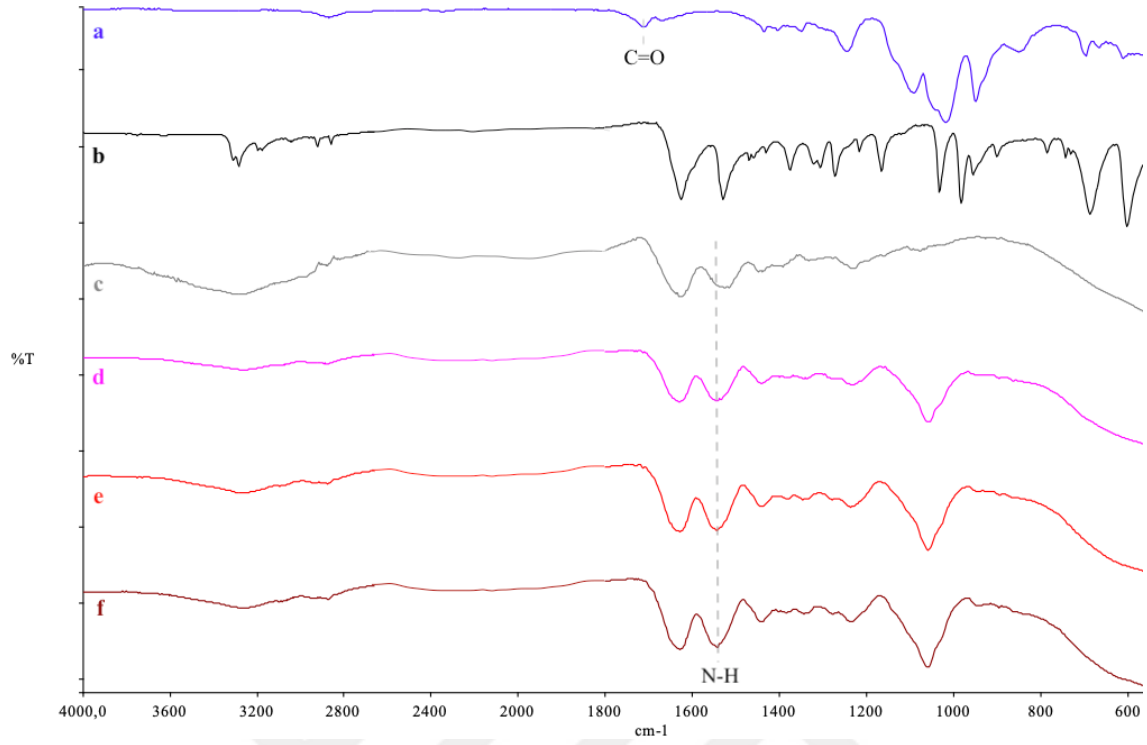
Şekil 4.2.3.1 Açılhidrazon Bazlı Hidrojel Şema

4.2.3.1. Açılıhidrazon Bazlı Hidrojelin FTIR Karakterizasyonu



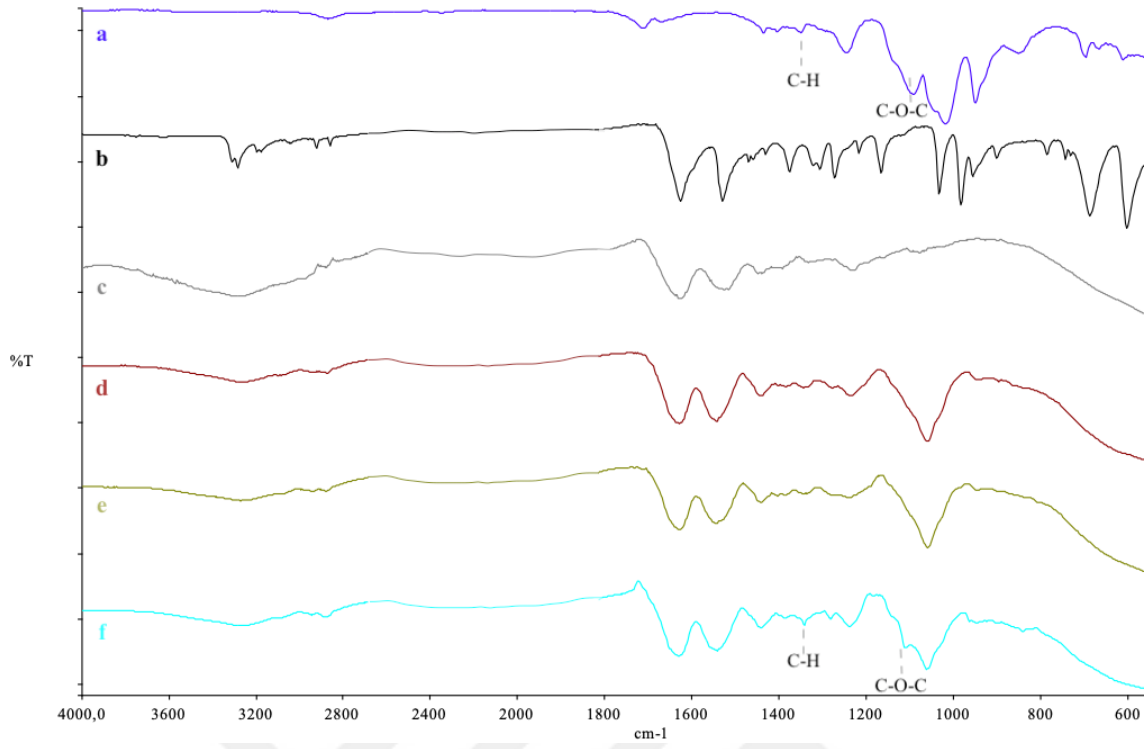
Şekil 4.2.3.1.1 Hidrojel sentezi. a) jelatin, b) PEGDMA1500, c) N-hidroksietil akrilamit, d) MBA, e) GA-0

Şekil 4.2.3.1.1’de hidrojel sentezinde kullanılan monomerler ile hidrojinin kuru hâlinin FTIR görüntüsü verilmiştir. Jelatinin 3278 cm⁻¹’deki (N-H) gerilme titreşimi, 1630 cm⁻¹’deki amit I (C=O) gerilmesi, amit II (N-H) 1525 cm⁻¹’de ve amit III (C-N) görülmektedir [117]. b’nin FTIR pikleri bir önceki bölümde açıklanmıştır. N-hidroksietil akrilamitin, 3264 cm⁻¹’deki OH gerilme titreşimi, 1654’teki (C=O) gerilme titreşimi, 1619 cm⁻¹’deki (C=C) gerilme ve 1541 cm⁻¹’de (N-H) gerilme titreşimi görülmektedir. MBA’nın 3300 cm⁻¹’deki (N-H) gerilme titreşimi, 1655’deki (C=O) gerilme titreşimi, 1625 cm⁻¹’deki (C=C) gerilme titreşimi ve 1541 cm⁻¹’deki (N-H) gerilme titreşimi görülmektedir [118]. Şekil 4.4.3.1-e’de jelatindeki 3278 cm⁻¹’deki N-H gerilme titreşimi imin bağı oluşumundan dolayı azaldığı görülmektedir. 1056 cm⁻¹’de yeni oluşan pik PEG zincirlerinin (C-O-C)’ye ait pikleridir. (C=C) bağların olmaması ve şişme testlerinde hidrojinin dağılmadan şişme gösterebilmesi polimerizasyonun gerçekleştiğinin kanıtıdır.



Şekil 4.2.3.1.2 Hidrojel kombinasyonlarının FTIR spektrumlarının başlangıç maddeleri ile karşılaştırılması a) PEG-dialdehit, b) ADH, c) jelatin d) GA-0, e) GA-1 f) GA-2

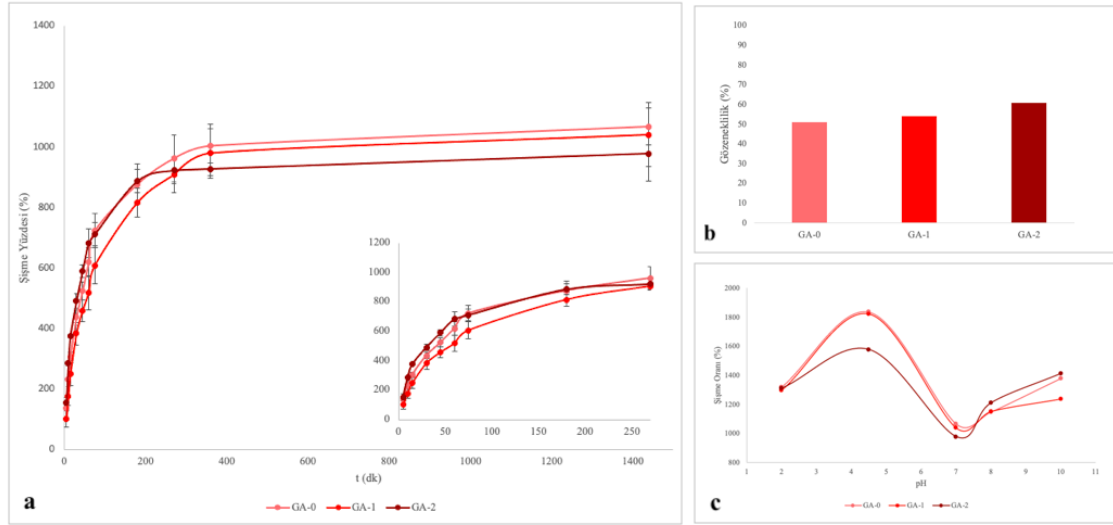
Şekil 4.2.3.1.2’de GA-0, GA-1, GA-2’nin FTIR spektrumu verilmiştir. Şekil 4.4.3.2-b’de açılhidrazon bağına ait 1626 cm^{-1} ’de (C=O), 1530 cm^{-1} ’de (N-H) pikleri görülmektedir. GA-0’da Peg1500-dialdehit’e ait 1716 cm^{-1} ’deki aldehit piki kaybolmuştur. Jelatine ait 1530 cm^{-1} ’deki (N-H) pikinin 1545 cm^{-1} ’e kayması ve şiddetini arttırması, (C=N) hidrazon bağının oluşmasıyla oluşan (N-H) piki ile yorumlanabilir.



Şekil 4.2.3.1.3 Hidrojel kombinasyonlarının FTIR spektrumlarının karşılaştırılması. A) PEG-dialdehit, b) ADH, c) jelatin, d) GA-2, e) GA-2-1, f) GA-2-2

Şekil 4.2.3.1.3’de GA-2, GA-2-1, GA-2-2 FTIR spektrumları verilmiştir. PEG-dialdehit miktarı arttığı için GA-2-2’de 1343 cm^{-1} ’deki (C-H) gerilme titreşimi ve 1108 cm^{-1} ’deki (C-O-C) pikleri şiddetini arttırdığı görülmektedir.

4.2.4. Açılıhidrazon Bazlı Hidrojelin Şişme Davranışının İncelenmesi



Şekil 4.2.4.1 GA-0, GA-1, GA-2 Hidrojellerinin Şişme Davranışları. a) Şişme Kinetiği Grafiği pH=7, b) Gözeneklilik Grafiği, c) Farklı pH Tampon Çözeltilerindeki Şişme Davranış Grafiği

Şekil 4.2.4.1’de GA-0, GA-1 ve GA-2 hidrojellerinin şişme davranış grafikleri verilmiştir. Hidrojeldaki şişme, polimer matrisinde bulunan hidrofilik monomer ve oligomerlerden kaynaklanmaktadır. N-hidroksietilakrilamitteki polar C=O ve amid grubu ve -OH grubu’nun su molekülleriyle H-bağı yapmasından, PEG uzun zincirlerindeki eter yapıları ve jelatinin hidrofilik fonksiyonel grupları (amin ve karboksilik asit grupları) jelin su ile etkileşimini H-bağı yapmasından dolayı gerçekleştirir. Polar etkileşimler, H bağları, çapraz bağlar arasına diffüzlenmiş su moleküllerinin yaptığı osmotik basınç ile jel şişer. Şekilde görüldüğü gibi hidrojeller, kendi ağırlığından 1000 kat daha fazla şişme gösterebilmektedir. İlk 4 saatte yaklaşık üç farklı kompozisyonda hazırlanan jeller benzer şişme trendi göstermiştir. Temel olarak iki değişken üzerinden formülize edildiği için şişmeyi esas etkileyen faktör ADH miktarıdır. GA-0’dan GA-2’ye doğru ADH miktarı arttığından yapıdaki açılıhidrazon bağlarının artması beklenir. Dinamik çapraz bağın artması, yapıda çapraz bağlanma noktalarını arttıracığından şişme miktarını azaltmaktadır. Liu ve çalışma arkadaşları benzer bir çalışmada Hyaluronik asit üzerine EDC ile ADH modifiye ettiklerinde, ADH miktarını arttırdıkça ADH çapraz bağlayıcı görevi gördüğü için şişmeyi azalttığını raporlamışlardır [119]. GA-2’nin ilk 4 saatte diğer hidrojellerden daha hızlı bir şekilde şişerek dengeye geldiği görülmektedir. Bunun sebebi GA-2 jelinin gözenekliliğinin

daha fazla olması ve hızlı su absorpsiyonu olabileceği gibi artan ADH'nın sahip olduğu ilave fonksiyonel gruplar nedeniyle su ile etkileşimin hızlı olmasıdır.

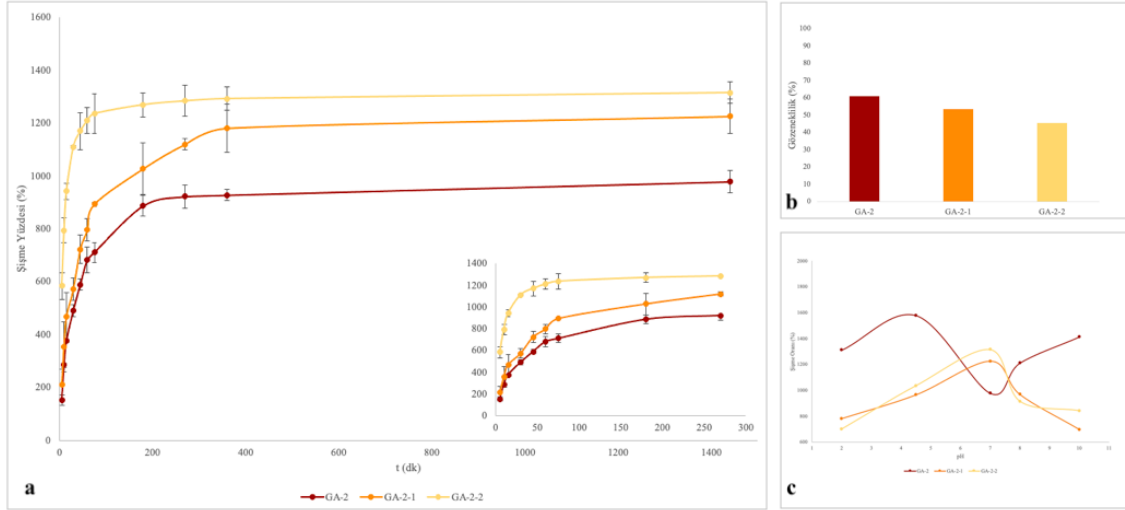
Hidrojellerin gözenekliliği ile ilgili hesaplama Şekil 4.2.4.1-b'de verilmiştir. GA-0'dan GA-2'ye doğru ADH miktarı arttarken, jel içeriği %72 den %66'ya azalmıştır. Jel kompozisyonunda radikal polimerleşme ile dönüşümü olmayan çapraz bağların olmasının dışında dinamik kovalent bağlarda çapraz bağlanmaya etki sağlamaktadırlar. Ancak jel içeriği deneyi sırasında jeller 24 saat suda şişmeye bırakıldığında dinamik bağların kısmen bozulması nedeniyle suda çözünebilen polimerlerin ayrılmasıyla jel içeriğinin düşmesi uyumludur. Öte yandan gözeneklilik G-0 dan G-2 ye doğru %50 den %60'a artmıştır. Bunun nedeni etanolde çözünebilen kısımların jel dışına difüzenmesi ve çapraz bağlar arasında boşlukların artması ile ilişkilidir. Bu sonuçlar dinamik çapraz bağların kovalent bağlar kadar güçlü olmadığını ve uzun süre iyi çözücülerde beklenildiğinde bir kısım dinamik bağın bozulup çözünebilir kısımların jelden ayrılabilceği söylenebilir.

24 saat sonundaki denge şişme oranları kıyaslandığında ise daha düşük oranda ADH içeren hidrojelin (GA-0) beklenildiği gibi en fazla şiştiği görülmüştür.

Şekil 4.2.4.1-c'de farklı pH'taki tampon çözeltilerinde dengeye gelmiş hidrojellerin şişme davranışları grafiği verilmiştir. Jel yapısındaki amin, amid, ve karboksilik asit gruplarından dolayı, yapı amfoterik özeliğe sahiptir.

pH=4 de baskın olan serbest amin gruplarının protonlanmasından dolayı, katyonik olan jel pozitif yüklerin birbirini itmesiyle şişer. Açıl hidrazon bağları ve Schiff-bazı etkileşimleri pH'a duyarlı olmasına rağmen, polimer matris eğer farklı çapraz bağlar ile örneğin diels-Alder gibi pH değişimi ile sol jel geçişinin olmadığı önceden rapor edilmiştir [120]. Jel bütünlüğü korunabilmektedir. Bu çalışmada da jel bütünlüğü radikal polimerizasyon ile oluşturulmuş kovalent çapraz bağlar nedeniyle jel formunun pH değişimi ile kaybetmemektedir. Öte yandan pH=2 de pH=4 e göre azalan bir şişme davranışının olması, açılhidrazon bağının pH <4'te bozularak, açığa çıkan amin gruplarının polarize olmasıyla birlikte ortamdaki mobil anyonlarla birleşerek iyon çiftleri oluşturması ve jelin büzülmesine sebep olmasıdır. Hidrojel yükleri pH 7'de dengeye gelmiştir. Yüksek pH'ta ise amin grupları nötral hâle gelmiştir. Jelatinin sahip olduğu karboksilik asit grupları deprotone olarak, negatif yüklerin birbirini itmesiyle su girişini arttırmıştır. Amin grubu baskın fonksiyonel grup olduğu için en yüksek şişme

düşük pH'ta gerçekleşmiştir. Asidik ve bazik ortamdaki şişme nötral ortamdaki şişmeden daha yüksek çıkmıştır. Yu Su ve çalışma arkadaşlarının rapor ettiği gibi daha yüksek ADH'a sahip olan GA-2'nin açılhidrazon bağının hidroliz hızı GA-0 ve GA-1'inkinden daha yavaş olduğu için dinamik çaprazbağ yoğunluğu daha fazla olduğundan şişme daha az olmuştur [121-122].



Şekil 4.2.4.2 GA-2, GA-2-1, GA-2-2 Hidrojellerinin Şişme Davranışları. a) Şişme Kinetiği Grafiği pH=7, b) Gözeneklilik Grafiği, c) Farklı pH Tampon Çözeltilerindeki Şişme Davranış Grafiği

Şekil 4.2.4.2'de GA-2, GA-2-1, GA-2-2 hidrojenlerinin şişme davranış grafikleri verilmiştir. Daha önce rapor edilen çalışmalarda çapraz bağ yoğunluğunun düşük olması, PEG zincirinin molekül ağırlığı ve hidrofilik eter yapısının yüksek şişmeye sebep olduğu bilinmektedir. [123]. GA-2' den GA-2-2' ye doğru hidrojel yapısındaki tek değişken PEG dialdehitdir. Diğer tüm değişkenler sabittir. Yapıda PEG dialdehit oranı arttıkça, aldehit gruplarının dinamik çapraz bağları arttırması ve jelin daha az şişmesine neden olması beklenir. Ancak şekilde de görüldüğü üzere düğüm noktaların fazla olmasının etkisinden daha baskın olarak hidrofilik yapıdaki PEG zincir yapısının oranca artması daha baskın davranmıştır ve GA-2'den GA-2-2'ye gidildiğinde şişme oranı arttırmıştır.

Hidrojenlerin gözenekliliği ile ilgili hesaplama Şekil 4.2.4.2-b'de verilmiştir. Hidrojel gözenekliliği GA-2'den GA-2-2'ye gidildiğinde %60'dan %45'e azalmıştır. GA-2-1 ve GA-2-2'nin düşük gözenekli olmasının nedeni aldehit fonksiyonlarının dinamik çapraz bağ oluşturarak çapraz bağları arttırması ve uzun PEG zincirlerinin de zincir dolanmalarını arttırmasıyla gözenekliliği düşürmesi olarak söylenebilir. Ayrıca denge

şişme deneylerinden hesaplanan jel yüzdesi GA-2'den GA-2-2'ye artan PEGdialdehit oranı ile %66'dan %55'e düşmüştür. Bu durum uzun süre su içerisinde bekletilen jellerde bir kısım dinamik bağların parçalanmasıyla çözünebilen kısmın su fazına geçmesi olduğu düşünülmüştür.

Şekil 4.2.4.2-c'de pH'a bağlı şişme testi verilmiştir. Düşük pH'ta ve yüksek pH'ki şişme derecesi nötral ortamdaki şişme davranışından oldukça farklıdır. pH 7'de sistem dengede iken şişme trendi GA-2 < GA-2-1 < GA-2-2 olarak sıralanır. Bunun nedenin de PEG dialdehit oranının artması ve PEG zincirinin hidrofilik yapısının daha baskın olması şeklinde yorumlanmıştır. Görüldüğü gibi GA-2'den GA-2-2'ye doğru gidildiğinde, PEG aldehit konsantrasyonunun artmasıyla daha fazla imin ve açilhidrazon bağı oluşmuş, bu bağlar gerek düşük pH da gerekse yüksek pH da jelin pH=7 ye göre daha az şişmesine neden olmuştur. Düşük pH'da yapıdaki protonlanmış grupların ortamdaki serbest anyonlarla iyon çifti oluşturması da jelin büzülmesine katkı sağlamıştır. Yüksek pH'da da artan PEG aldehit oranıyla eter bağlarının polarize olmasıyla ortamdaki diğer deprotone olmuş fonksiyonel gruplarla birlikte ortamdaki serbest katyonlarla iyon çifti oluşturarak şişme derecesinde düşüşe neden olmuştur. Hidroliz olan açil hidrazon yapısından kaynaklı fonksiyonel gruplar ve serbest aldehit grupları da polar yapılarından dolayı serbest hâlde bulunan protonlarla etkileşerek, hidrojel büzülmesine katkı sağlamışlardır.

4.2.5. Açilhidrazon Bazlı Hidrojelin Termal Davranışının İncelenmesi

Tablo 4.2.5.1 Açilhidrazon bazlı Hidrojellerin Camsı Geçiş Sıcaklıkları

No	T _{g1}	T _{g2}
GA-0	8	58
GA-1	25	69
GA-2	28	73
GA-2-1	-12	13
GA-2-2	-	34

Tablo 4.2.5.1’de açilhidrazon bazlı hidrojellerin Tg verilmiştir. İki farklı Tg gözlemlenmiştir. Bunlardan ilki PEGDMA1500 ve PEG1500-dialdehit polieter zincirlerinden kaynaklanmaktadır. Saf jelatinin Tg’si 50-60°C civarındadır. İkinci Tg, hidrojel esnek bir yapıda olduğu için ortalama bir sıcaklıkta çıkmıştır.

GA-0’dan GA-2’ye dinamik çapraz bağ arttığında, hareket alanının kısıtlanmasından dolayı Tg’lerinde arttığı görülmektedir. GA-2’den GA-2-2’ye gidildiğinde çekme kopma sonuçlarıyla uyumlu şekilde, PEG zinciri arttıkça polimerin hareket alanı genişleyerek Tg₁’in eksiye düştüğü, Tg₂’de ise homojen bir yapı oluştuğu görülmektedir.



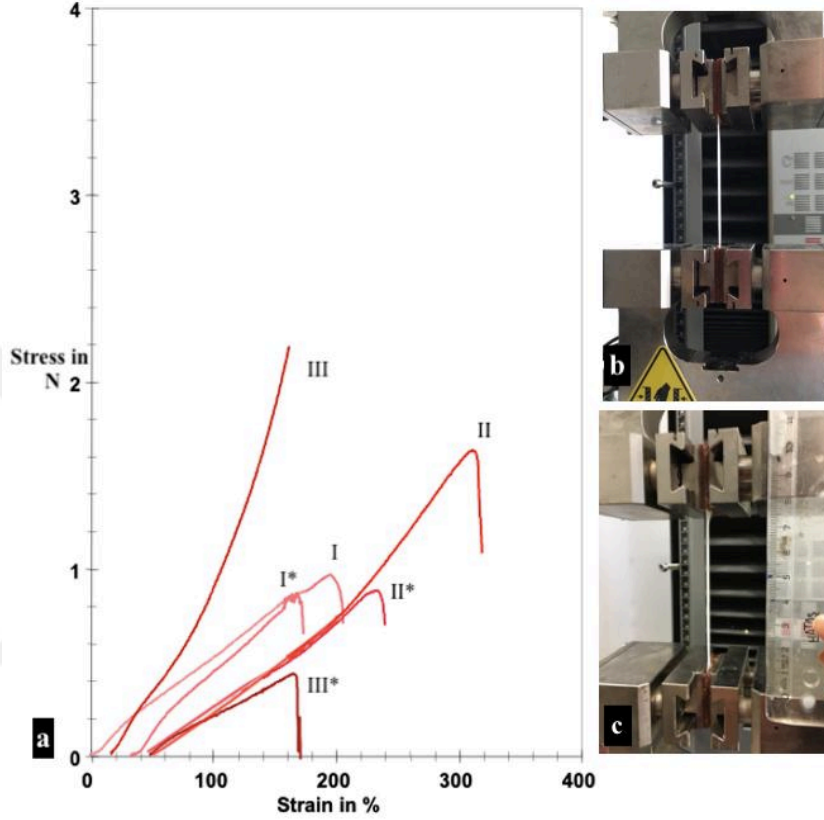
4.2.6. Açilhidrazon Bazlı Hidrojelin Mekanik Davranışının İncelenmesi

Tablo 4.2.6.1 Açilhidrazon-Bazlı Hidrojellerin ekme-Kopma Test Sonuçları

No	Orişinal			Kendi kendini Onarmış			
	E-modülü (N/mm ²)	ekme Mukavemeti (MPa)	ekme Uzaması (%)	E-modülü (N/mm ²)	ekme Mukavemeti (MPa)	ekme Uzaması (%)	KO _e (%)
GA-0	22	16	194	14	14	135	90
GA-1	9	27	310	6	15	200	54
GA-2	9	36	145	14	7	115	20
GA-2-1	15	15	226	23	11	227	74
GA-2-2	14	10	285	21	11	232	103

Tablo 4.2.6.1’de açilhidrazon bazlı hidrojellerin çekme kopma değerleri verilmiştir. GA-0, GA-1 ve GA-2’nin gerilim-gerinim eğrisi şekil 4.2.6.1’de verilmiştir. ADH, PEG1500-dialdehitin aldehit gruplarıyla dinamik açilhidrazon bağı kurarak, dinamik çapraz bağlanma bölgeleri oluşturmaktadır. ADH miktarı arttıkça bu çapraz bağlanma bölgelerinin yoğunluğu arttararak malzemenin mukavemetini arttırdığı için çekme mukavemetini arttıracaktır. Tablo 4.2.6.1’de GA-0, GA-1 ve GA-2’ye baktığımızda benzer şekilde ADH miktarı arttırıldıkça çekme mukavemetinin arttığı görülmektedir. Çapraz bağlanma noktalarından dolayı artan çekme mukavemetinin yanında moleküller arası etkileşim artacağı için uzamanın azalması beklenir. GA-0’dan GA-2’ye bakıldıkında bu ikili arasında uzamada bir azalma gözlemlenmiştir. Fakat GA-1’de oldukça yüksek bir uzama gözlemlenmiştir. Bunun sebebi GA-0 ve GA-1 yapı olarak oldukça yumuşak bir dokuya sahiptir. Dinamik apraz bağ yoğunluğunun henüz uzamayı azaltacak yoğunlukta olmaması, aksine yeni kurulan dinamik bağların zincire hareket esnekliği kazandırarak uzamaya katkı sağladığı söylenebilir. GA-2’nin, jelin fiziksel görüntüsünden de anlaşılacağı üzere, dinamik çapraz bağ yoğunluğu arttarak, moleküllerarası etkileşimin kuvvetlenmesinden dolayı uzamayı azaltmıştır. Benzer etkileri kendi kendini onarmış hâllerinde de görülmektedir.

Kendi kendini onarmış hallerinin mukavemetinin GA-0'dan GA-1'e giderken arttığı GA-2'de ise azaldığı görülmektedir. Bunun sebebi polimer matrisindeki yoğunluktan dolayı kırılan bağların tekrar biraraya gelmesini, moleküllerarası yoğun etkileşimin görece engellemiş olabileceğidir. GA-2'nin kendi kendini onarma etkinliğinin % 20 olması da benzer sebeple açıklanabilir.

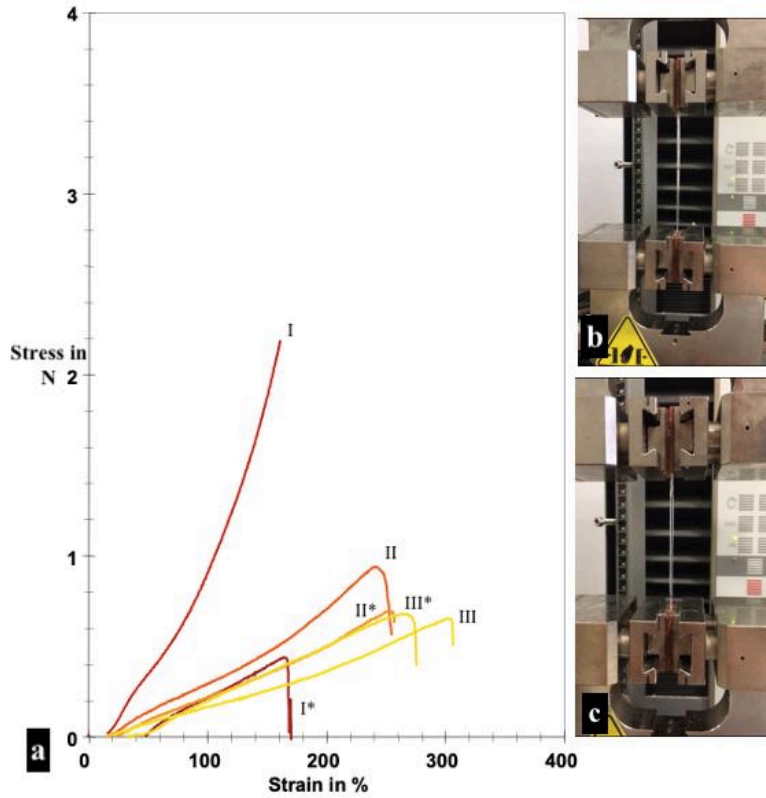


Şekil 4.2.6.1 Açılhidrazon Bazlı Hidrojellerin Gerilim-gerinim Grafiği. I: GA0, II:GA-1, III:GA-2. a) GA-1 Orijinal b) GA-1 Kendi kendini onarmış hâl çekme-kopma görüntüsü.

GA-2, GA-2-1 ve GA-2-2'nin gerilim-gerinim eğrisi Şekil 4.2.6.2'de verilmiştir. Uzun zincirli PEGDMA1500'ün kullanılması çapraz bağlanma noktaları arasındaki bağ uzunluğunu arttırdığından, çaprazbağ yoğunluğunu azalttığı rapor edilmiştir [14]. PEG1500-dialdehit miktarı arttıkça dinamik açılhidrazon bağı artarak mukavemeti arttıracaktır, PEG1500-dialdehit miktarı ADH'tan fazla olduğunda bir kısmı jelatindeki amin grubuyla imin bağ yapacak geri kalan kısmı ise polar etkileşimle ya da H-bağı ile moleküllerarası etkileşimler yapacaktır. PEG1500-dialdehit miktarı arttıkça dinamik açılhidrazon bağları artsa bile uzun zincirden dolayı mukavemet üzerinde arttırıcı etki yapmamıştır. Beklendiği şekilde, GA-2'den GA-2-2'ye doğru gidildiğinde uzamayı arttırmıştır. Kendi kendini onaran hâllerinde çekme mukavemetine baktığımızda, uzun

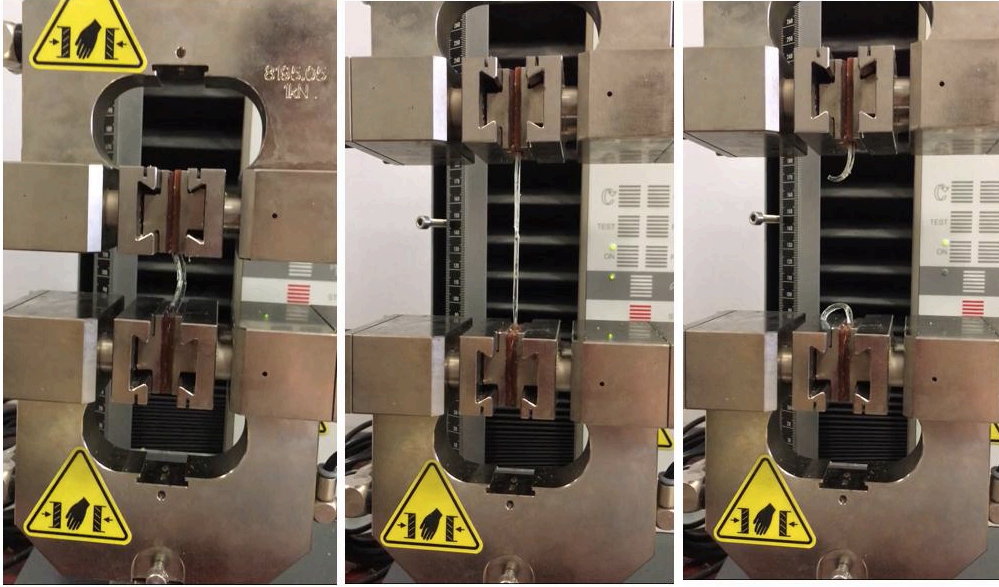
zincirler sayesinde kırılan bağların hareket alanı artırarak yeniden birleşmelerini kolaylaştırdığı, GA-2'den daha fazla mukavemete sahip oldukları görülmektedir. Uzamaların ise orijinal hâllerine benzer şekilde arttıkları görülmektedir.

Orijinal hâl ve kendi kendini onaran hâlleri arasında karşılaştırma yapıldığında, kendi kendini onaran hidrojellerde beklendiği şekilde çekme mukavemetlerinde ve uzamalarında görece düşüş yaşanmıştır. İçlerinden en ilginç olanı %103 onarma gösteren GA-2-2'dir. Bunun sebebi, PEG1500-dialdehit fazlasının bağlar kırıldığında yeniden bağ yapma şansının fazla olması olabilir.



Şekil 4.2.6.2 Açılıdrazon Bazlı Hidrojellerin Gerilim-gerinim Grafiği. I: GA-2, II:GA-2-1, III:GA-2-2. a) GA-2-2 Orijinal b) GA-2-2 Kendi kendini onarmış hâl çekme-kopma görüntüsü.

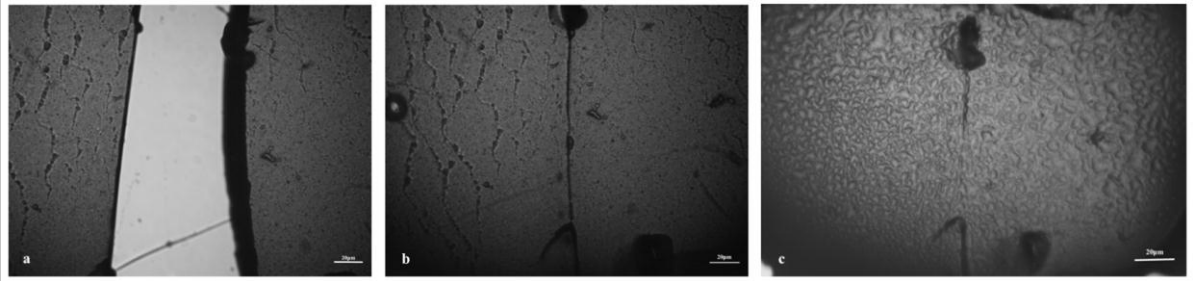
4.2.7. Açilhidrazon Bazlı Hidrojin Kendi Kendini Onarma Davranışı



şekil 4.2.7.1 GA-2'nin çekme-kopma grntş

Tablo 4.2.7.1'de kendi kendini onarmış hidrojinler için çekme kopma test değerleri verilmiştir. Orijinal hâl ile onarılmış hâl sonuçları birbirine yakındır ve tersinir bağlar uzamayı geliştirmiştir. Kendi kendini onarmış hâl, jelin orijinal hâli kadar etkilidir. şekil 4.2.7.1'de GA-2'ye ait çekme kopma görüntüleri verilmiştir. Görüldüğü gibi hidrojin kendini başarıyla onarmış, çekme kopma testinde iki ucundan çekilmesine rağmen, yeniden oluşan dinamik bağlar yapıyı koruyarak esneklik sağlamaktadır.

4.2.8. Açilhidrazon Bazlı Kendi Kendini Onarma Hidrojin Optik Mikroskop ve SEM Görüntüleri

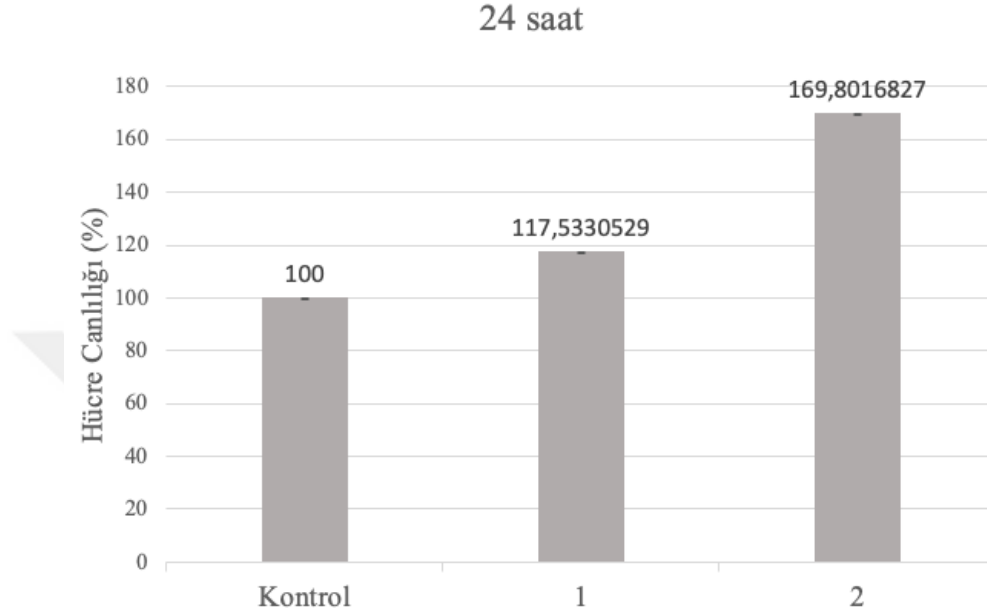


şekil 4.2.8.1 GA-1'in optik mikroskop grntş kendi kendini onarma görüntüleri. a) Kesik oluşumu, b) 0. saat c) 4. saat

şekil 4.2.8.1'de GA-1 hidrojin örneğinin optik mikroskop görüntüleri verilmiştir. İki ayrı parçaya ayrılan hidrojin, birleştirildikten sonra oda sıcaklığında 4 saat sonraki

görüntüsünde de görüldüğü gibi, onarılma başlamış ve kesik çizgisi yok olmaya başlamıştır.

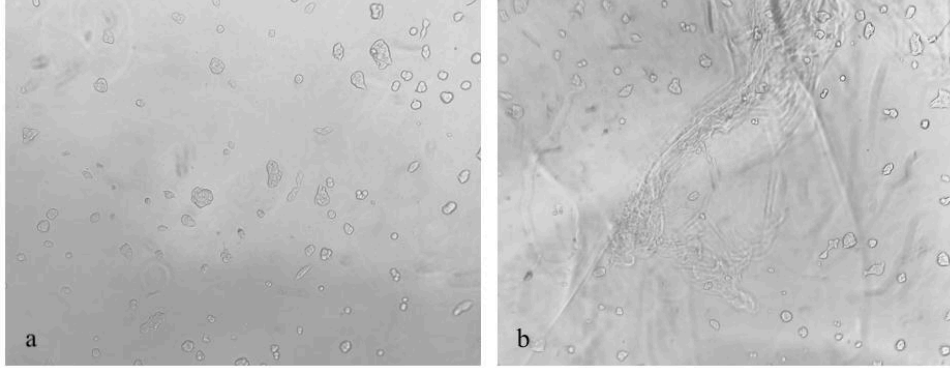
4.2.9. Açılıhidrazon Bazlı Hidrojelin in vitro Hücre Canlılığı Testi



Şekil 4.2.9.1 MTT Test. 1: GA-1, 2: GA-1+ 4µg kolajen

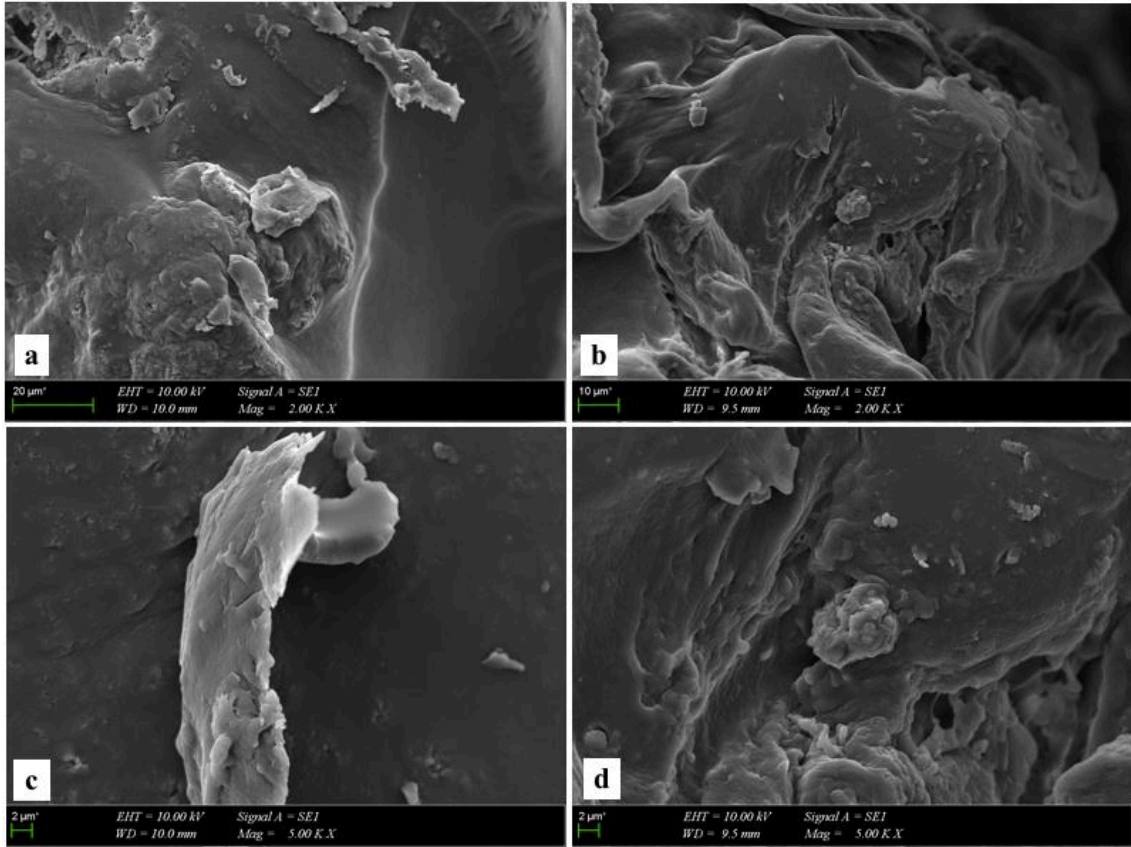
Hidrojellerin kolajenli ve kolajensiz olarak MTT deneyi ile test edilmiştir. (Şekil 4.2.9.1). Test sonuçlarından, hidrojellerin 24 saat için yapılan teste hücre için toksik olmadığı gözlemlenmiştir. Hidrojele kolajen kaplandığında ise canlılığın arttığı gözlemlenmiştir. Hücre canlılığı oranı %117'dir. Kolajen kaplandıktan sonra %169'a yükselmiştir. Kolajenli yapı hücrenin yapışması açısından destek sağlamaktadır.

4.2.9.1 Açilhidrazon Bazlı Hücre Ekili Hidrojellerin Optik Mikroskop ve SEM Görüntüleri



Şekil 4.2.9.1.1 HEK293 hücrelerinin optik mikroskop görüntüleri a) kontrol 0. saat b) 24. saat hidrojel ortamında

Optik mikroskop görüntüleri Şekil 4.2.9.1.1’de verilmiştir. Kontrol ile karşılaştırıldığında 24 saat sonrasında HEK293 hücrelerinin hidrojel içerisinde canlılığını koruduğu gözlemlenmiştir.



Şekil 4.2.9.1.2 GA-0 ve GA-1'in hücre ekili SEM görüntüleri. a) GA-0 200X b) GA-1+4 µg kolajen 2000X büyütme c) GA-0 5000X büyütme, d) GA-1+4 µg kolajen 5000X büyütme

Şekil 4.2.9.1.2'de HEK293 hücresi fikse edilmiş hidrojellerin SEM görüntüleri verilmiştir. Görüldüğü gibi hücreler hidrojel yüzeyine yapışmış ve yayılmış hâldedir. Kolajen ile kaplanmış hidrojelde, girintili yüzey yapısına rağmen hücreler tutunmuştur. Bundan dolayı hidrojelin hücre bağlanması için uygun bir destek olduğu söylenebilir [58].

5. SONUÇLAR

Bu çalışmada Schiff-baz ve açilhidrazon bağı ile kendi kendini onarabilen hidrojeller sentezlenmiştir. Öncelikle, kararlı yapıda hidrojel sentezi için UV polimerizasyon süresi, başlatıcı türü ve monomer kombinasyonlarında optimizasyonlar yapılmıştır. 100'e yakın deneme yapılarak kendi kendini onarabilen nihai formülasyonlar sentezlenmiştir. Birçok sentetik ve doğal kaynaklı amin kaynağının yanında, istenilen koşullarda kullanılabilecek, aktif aldehit kaynağı sınırlıdır. Fizyolojik sıcaklıkta ve pH'ta aktif işlev gören imin ve açilhidrazon reaksiyonları seçilmesine rağmen, bu koşullarda istenilen solventte çözünebilecek ve etkinlik gösterebilecek aldehit kaynaklarının sınırlı olması, çalışmamızı ilgi çekici hâle getirmiştir.

Literatürde, polisakkaritlerin oksidasyonuna, aldehit içeren sayılı moleküllerin fonksiyonellendirilmesine kadar pek çok yol denemiştir. Hyaluronik asit gibi polisakkaritlerin oksidasyonu denenmiş, hem ana kaynak maliyeti hem de uzun saflaştırma sürelerinden dolayı tercih edilmemiştir. Bunun yerine ilk çalışmada alternatif yeni bir sentezleme yöntemi ile aldehit kaynağı polimer matrisine entegre edilmek üzere fonksiyonellendirilmiştir. Vanilin aldehit kaynağı olarak seçilmiş, sahip olduğu hidroksil grubu, izosiyanatoetil metakrilat ile üretan bağı aracılığıyla metakrallendirilmiştir. Çift bağı sayesinde hem polimer yapı iskeletinde kullanılmış, hem de aldehit fonksiyonu ile dinamik imin bağının yapımında kullanılmıştır. Böylelikle kendi kendini onarabilen biyobazlı çaprazbağ görevi görmüştür. Sentezlenen hidrojeller fizyolojik sıcaklıkta kendi kendini onarım göstermiştir. Çekme kopma testinde iyi mukavemet ile %50'den fazla kendi kendine onarım göstermektedir. Amfoterik yapısı nedeniyle asidik ve bazik ortamda daha fazla şişme göstererek pH'a duyarlı yapıdadır.

Benzer şekilde ikinci çalışmada, yapıya hem esneklik hemde dinamik çapraz bağ katmak adına PEG1500 dialdehit ile fonksiyonellendirilmiştir. Polimer matrisi desteklemek için ise PEG1500-diakrilat sentezlenmiştir. Uzun Peg zincirleri sayesinde %1000'den fazla şişme göstermiştir. Peg miktarı arttıkça şişmesi artarken, açilhidrazon miktarının artmasıyla çapraz bağlanma arttığı için şişmede azalma gözlemlenmiştir. pH'a duyarlı yapısının aldehit ve açilhidrazon miktarına bağlı olarak karakteristiğinde değişim gözlemlenmiştir. Oda sıcaklığında 4 saat içerisinde kendini onarımının başladığı 24 saatte yapılan çekme kopma denemeleriyle de %100'e yakın bir oranda

kendi kendini onardığı görülmüştür. Orijinal ve kendi kendini onaran hidrojellerin yüksek uzamasına karşılık iyi mukavemet göstermiştir. Her iki çalışmada hücre canlılık testlerinde hidrojin hücre canlılığını olumlu etkilediği, kolajen kaplı hidrojellerde ise canlılığın belirli miktarda arttığı görülmüştür.

Geliştirilen hidrojel ve fonksiyonel monomerlerle, kendi kendini onarabilen biyomalzemelere ve alandaki üretime geçilmemiş çalışma boşluğuna dikkat çekilmiştir. Farklı şişme özellikleriyle farklı tip yara örtücü biyomalzemelerin kullanıma alan açılmıştır. Doku mühendisliğinde ilerideki çalışmalar için, literatüre, inovasyona açık, umut vaat eden çalışmalar sunulmuştur.



KAYNAKLAR

- [1]. Bhat, S., Kumar, A. (2012). Cell proliferation on three-dimensional chitosan–agarose–gelatin cryogel scaffolds for tissue engineering applications. *Journal of bioscience and bioengineering*, 114(6), 663-670.
- [2]. Croce, M. A., Silvestri, C., Guerra, D., Carnevali, E., Boraldi, F., Tiozzo, R., & Parma, B. (2004). Adhesion and proliferation of human dermal fibroblasts on collagen matrix. *Journal of biomaterials applications*, 18(3), 209-222.
- [3]. Sezer, A. D., & Cevher, E. (2011). Biopolymers as wound healing materials: challenges and new strategies. *Biomaterials applications for nanomedicine*, 383-414.
- [4]. Oktay, B., Kayaman-Apohan, N., Süleymanoğlu, M., & Erdem-Kuruca, S. (2017). Zwitterionic phosphorylcholine grafted chitosan nanofiber: Preparation, characterization and in-vitro cell adhesion behavior. *Materials Science and Engineering: C*, 73, 569-578.
- [5]. Sani, N. F. M., Yee, H. J., Othman, N., Abd Talib, A., & Shuib, R. K. (2022). Intrinsic self-healing rubber: A review and perspective of material and reinforcement. *Polymer Testing*, 107598.
- [6]. Brochu, A. B., Craig, S. L., & Reichert, W. M. (2011). Self- healing biomaterials. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 96(2), 492-506.
- [7]. Bai, T., Liu, S., Sun, F., Sinclair, A., Zhang, L., Shao, Q., & Jiang, S. (2014). Zwitterionic fusion in hydrogels and spontaneous and time-independent self-healing under physiological conditions. *Biomaterials*, 35(13), 3926-3933.
- [8]. An, S. Y., Noh, S. M., & Oh, J. K. (2017). Multiblock Copolymer- Based Dual Dynamic Disulfide and Supramolecular Crosslinked Self- Healing Networks. *Macromolecular Rapid Communications*, 38(8), 1600777.
- [9]. Deng, G., Li, F., Yu, H., Liu, F., Liu, C., Sun, W., ... & Chen, Y. (2012). Dynamic hydrogels with an environmental adaptive self-healing ability and dual responsive sol–gel transitions. *ACS Macro Letters*, 1(2), 275-279.
- [10]. <https://www.istockphoto.com/tr> (2018) ID:1026132910
- [11]. Priya, S. G., Jungvid, H., & Kumar, A. (2008). Skin tissue engineering for tissue repair and regeneration. *Tissue Engineering Part B: Reviews*, 14(1), 105-118.

- [12]. Shi, C., Wang, C., Liu, H., Li, Q., Li, R., & Zhang, Y. (2020). Selection of appropriate wound dressing for various wounds. *Front Bioeng Biotechnol.* 2020; 8: 182.
- [13]. Petkovic, Marija & Vang Mouritzen, Michelle & Mojsoska, Biljana & Jenssen, Håvard. (2021). Immunomodulatory Properties of Host Defence Peptides in Skin Wound Healing. *Biomolecules.* 11. 952.
- [14]. KURTOĞLU, A. H., & KARATAŞ, A. (2009). Current approaches to wound therapy: modern wound dressings. *Journal of Faculty of Pharmacy of Ankara University*, 38(3), 211-232.
- [15]. Smith SF, Duell DJ, Martin BC, Aebersold M, Gonzalez L. Wound care and
- [16]. Boukovalas S, Aliano KA, Leong M, Murphy KD, Phillips LG, Norbury WB. Wound healing. In: Townsend CM Jr, Beauchamp RD, Evers BM, Mattox KL, eds. *Sabiston Textbook of Surgery*. 21st ed. Philadelphia, PA: Elsevier; 2022:chap 6.
- [17]. dressings. In: Smith SF, Duell DJ, Martin BC, Aebersold M, Gonzalez L, eds. *Clinical Nursing Skills: Basic to Advanced Skills*. 9th ed. New York, NY: Pearson; 2017:chap 25
- [18]. Queen, D., Orsted, H., Sanada, H., & Sussman, G. (2004). A dressing history. *International wound journal*, 1(1), 59-77.
- [19]. Lawrence, J. C. (1982). What materials for dressings?. *Injury*, 13(6), 500-512.
- [20]. Winter, G. D. (1962). Formation of the scab and the rate of epithelization of superficial wounds in the skin of the young domestic pig. *Nature*, 193(4812), 293-294.
- [21]. Piskozub, Z. T. (1968). The efficiency of wound dressing materials as a barrier to secondary bacterial contamination. *British Journal of Plastic Surgery*, 21(4), 387-401.
- [22]. Dhivya, S., Padma, V. V., & Santhini, E. (2015). Wound dressings—a review. *BioMedicine*, 5(4), 22.
- [23]. Blackshaw, S. E., Arkison, S., Cameron, C., & Davies, J. A. (1997). Promotion of regeneration and axon growth following injury in an invertebrate nervous system by the use of three-dimensional collagen gels. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 264(1382), 657-661.

- [24]. Wichterle, O., & Lim, D. (1960). Hydrophilic gels for biological use. *Nature*, 185(4706), 117-118.
- [25]. Paleos G. A. What are Hydorgels? Pittsburgh Plastics Manufacturing <http://www.pittsburghplastics.com/>
- [26]. KURTOĞLU, A. H., & KARATAŞ, A. (2009). Current approaches to wound therapy: modern wound dressings. *Journal of Faculty of Pharmacy of Ankara University*, 38(3), 211-232.
- [27]. Hoffman, A. S. (2001). Hydrogels for biomedical applications. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 944(1), 62-73
- [28]. Yu, L.; Ding, J. (2008) Injectable hydrogels as unique biomedical materials. *Chem. Soc. Rev.* 37, 1473–1481
- [29]. Sadeghi, M., & Soleimani, F. (2011). Synthesis of novel polysaccharide-based superabsorbent hydro gels via graft copolymerization of vinylic monomers onto kappa-carrageenan. *International Journal of Chemical Engineering and Applications*, 2(5), 304.
- [30]. Hsieh, F. Y., Tao, L., Wei, Y., & Hsu, S. H. (2017). A novel biodegradable self-healing hydrogel to induce blood capillary formation. *Npg Asia Materials*, 9(3), e363-e363.
- [31]. Sadeghi, M., & Soleimani, F. (2011). Synthesis of novel polysaccharide-based superabsorbent hydro gels via graft copolymerization of vinylic monomers onto kappa-carrageenan. *International Journal of Chemical Engineering and Applications*, 2(5), 304.
- [32]. Suri, S., & Schmidt, C. E. (2009). Photopatterned collagen–hyaluronic acid interpenetrating polymer network hydrogels. *Acta biomaterialia*, 5(7), 2385-2397.
- [33]. Shit, A., Giang, N. N., & Park, S. Y. (2022). Visible light-responsive mechanically and electronically controllable conductive carbon dot-hydrogel-based pressure-strain sensor for wireless monitoring of antifouling performance. *Composites Science and Technology*, 218, 109212.
- [34]. Hoch, E., Schuh, C., Hirth, T., Tovar, G. E., & Borchers, K. (2012). Stiff gelatin hydrogels can be photo-chemically synthesized from low viscous gelatin solutions using molecularly functionalized gelatin with a high degree of

- methacrylation. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 23, 2607-2617.
- [35]. Shi, C., Yang, F., Hu, L., Wang, H., Wang, Y., Wang, Z., ... & Chen, J. (2022). Construction of polysaccharide based physically crosslinked double-network antibacterial hydrogel. *Materials Letters*, 316, 132048.
- [36]. Lin-Gibson, S., Bencherif, S., Cooper, J. A., Wetzel, S. J., Antonucci, J. M., Vogel, B. M., ... & Washburn, N. R. (2004). Synthesis and characterization of PEG dimethacrylates and their hydrogels. *Biomacromolecules*, 5(4), 1280-1287.
- [37]. Kangwansupamonkon, W., Klaikaew, N., & Kiatkamjornwong, S. (2018). Green synthesis of titanium dioxide/acrylamide-based hydrogel composite, self degradation and environmental applications. *European Polymer Journal*, 107, 118-131
- [38]. Kutlusoy, T., Oktay, B., Apohan, N. K., Süleymanoğlu, M., & Kuruca, S. E. (2017). Chitosan-co-Hyaluronic acid porous cryogels and their application in tissue engineering. *International journal of biological macromolecules*, 103, 366-378.
- [39]. Bouhadir, K. H., Lee, K. Y., Alsberg, E., Damm, K. L., Anderson, K. W., & Mooney, D. J. (2001). Degradation of partially oxidized alginate and its potential application for tissue engineering. *Biotechnology progress*, 17(5), 945-950
- [40]. Fan, X., Geng, J., Wang, Y., & Gu, H. (2022). PVA/gelatin/ β -CD-based rapid self-healing supramolecular dual-network conductive hydrogel as bidirectional strain sensor. *Polymer*, 246, 124769
- [41]. Qu, J., Zhao, X., Liang, Y., Zhang, T., Ma, P. X., & Guo, B. (2018). Antibacterial adhesive injectable hydrogels with rapid self-healing, extensibility and compressibility as wound dressing for joints skin wound healing. *Biomaterials*, 183, 185-199.
- [42]. Geng, H., Wang, Y., Yu, Q., Gu, S., Zhou, Y., Xu, W., ... & Ye, D. (2018). Vanillin-based polyschiff vitrimers: reprocessability and chemical recyclability. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 6(11), 15463-15470.

- [43]. Lee, S. H., Shin, S. R., & Lee, D. S. (2019). Self-healing of cross-linked PU via dual-dynamic covalent bonds of a Schiff base from cystine and vanillin. *Materials & Design*, 172, 107774.
- [44]. Li, Z., Zhou, F., Li, Z., Lin, S., Chen, L., Liu, L., & Chen, Y. (2018). Hydrogel cross-linked with dynamic covalent bonding and micellization for promoting burn wound healing. *ACS applied materials & interfaces*, 10(30), 25194-25202.
- [45]. Uto, K., Tsui, J. H., DeForest, C. A., & Kim, D. H. (2017). Dynamically tunable cell culture platforms for tissue engineering and mechanobiology. *Progress in polymer science*, 65, 53-82.
- [46]. Van Tittelboom, K., & De Belie, N. (2013). Self-healing in cementitious materials—A review. *Materials*, 6(6), 2182-2217.
- [47]. <https://www.theguardian.com/science/2023/jan/06/self-healing-roman-concrete-could-aid-modern-construction-study-suggests>
- [48]. Sastry, Srikumar. (2018). Engineered Materials SC221 Self Healing Materials. 10.13140/RG.2.2.26170.49601.
- [49]. Kardar, P. (2016). The effect of polyurethane-isophorone microcapsules on self-healing properties of an automotive clearcoat. *Pigment & Resin Technology*.
- [50]. Tu, Y., Chen, N., Li, C., Liu, H., Zhu, R., Chen, S., ... & He, L. (2019). Advances in injectable self-healing biomedical hydrogels. *Acta Biomaterialia*, 90, 1-20.
- [51]. Wass, D., & Harrison, T. (2016). Self-healing aircraft wings: a dream or a possibility? *Science in School, The European journal for science teachers*, (37).
- [52]. Multi-layered Self-healing Material System for Impact Mitigation (LAR-TOPS-122), <https://technology.nasa.gov>,
- [53]. Wang, S., & Urban, M. W. (2020). Self-healing polymers. *Nature Reviews Materials*, 5(8), 562-583.
- [54]. Yang, Y., & Urban, M. W. (2013). Self-healing polymeric materials. *Chemical Society Reviews*, 42(17), 7446-7467.
- [55]. Chen, Y., Diaz-Dussan, D., Wu, D., Wang, W., Peng, Y. Y., Asha, A. B., ... & Narain, R. (2018). Bioinspired self-healing hydrogel based on benzoxaborole-catechol dynamic covalent chemistry for 3D cell encapsulation. *ACS Macro Letters*, 7(8), 904-908.

- [56]. Talebian, S., Mehrali, M., Taebnia, N., Pennisi, C. P., Kadumudi, F. B., Foroughi, J., ... & Dolatshahi- Pirouz, A. (2019). Self- healing hydrogels: The next paradigm shift in tissue engineering?. *Advanced Science*, 6(16), 1801664.
- [57]. Wang, S., & Urban, M. W. (2020). Self-healing polymers. *Nature Reviews Materials*, 5(8), 562-583.
- [58]. Kuhl, N., Bode, S., Hager, M. D., & Schubert, U. S. (2016). Self-healing polymers based on reversible covalent bonds. *Self-Healing Materials*, 1-58.
- [59]. Gulyuz, U., & Okay, O. (2014). Self-healing poly (acrylic acid) hydrogels with shape memory behavior of high mechanical strength. *Macromolecules*, 47(19), 6889-6899.
- [60]. Maiz-Fernández, S., Pérez-Álvarez, L., Ruiz-Rubio, L., Vilas-Vilela, J. L., & Lanceros-Mendez, S. (2020). Polysaccharide-based in situ self-healing hydrogels for tissue engineering applications. *Polymers*, 12(10), 2261.
- [61]. Sabzi, M., Samadi, N., Abbasi, F., Mahdavinia, G. R., & Babaahmadi, M. (2017). Bioinspired fully physically cross-linked double network hydrogels with a robust, tough and self-healing structure. *Materials Science and Engineering: C*, 74, 374-381.
- [62]. Teng, L., Chen, Y., Jin, M., Jia, Y., Wang, Y., & Ren, L. (2018). Weak hydrogen bonds lead to self-healable and bioadhesive hybrid polymeric hydrogels with mineralization-active functions. *Biomacromolecules*, 19(6), 1939-1949.
- [63]. Taylor, D. L., & in het Panhuis, M. (2016). Self- healing hydrogels. *Advanced Materials*, 28(41), 9060-9093.
- [64]. Cao, Y., Morrissey, T. G., Acome, E., Allec, S. I., Wong, B. M., Keplinger, C., & Wang, C. (2017). A transparent, self- healing, highly stretchable ionic conductor. *Advanced Materials*, 29(10), 1605099.
- [65]. Jing, Zhanxin & Zhang, Qiangshan & Liang, Yan- Qiu & Zhang, Zhaoxia & Hong, Pengzhi & Li, Yong. (2019). Synthesis of poly(acrylic acid)-Fe³⁺/Gelatin/Polyvinyl alcohol triple- network supramolecular hydrogels with high- toughness, high- strength and self- healing properties. *Polymer International*. 68.

- [66]. Wang, W., Narain, R., & Zeng, H. (2018). Rational design of self-healing tough hydrogels: a mini review. *Frontiers in chemistry*, 6, 497.
- [67]. Liu, X., Ren, Z., Liu, F., Zhao, L., Ling, Q., & Gu, H. (2021). Multifunctional self-healing dual network hydrogels constructed via host–guest interaction and dynamic covalent bond as wearable strain sensors for monitoring human and organ motions. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 13(12), 14612-14622.
- [68]. Goshe, A. J., Steele, I. M., Ceccarelli, C., Rheingold, A. L., & Bosnich, B. (2002). Supramolecular recognition: On the kinetic lability of thermodynamically stable host–guest association complexes. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 99(8), 4823-4829.
- [69]. Lawrance, G. A. (2013). *Introduction to coordination chemistry*. John Wiley & Sons.
- [70]. Li, C. H., Wang, C., Keplinger, C., Zuo, J. L., Jin, L., Sun, Y., ... & Bao, Z. (2016). A highly stretchable autonomous self-healing elastomer. *Nature chemistry*, 8(6), 618-624.
- [71]. Hager, M. D., Greil, P., Leyens, C., van der Zwaag, S., & Schubert, U. S. (2010). Self- healing materials. *Advanced Materials*, 22(47), 5424-5430.
- [72]. Shan, M., Gong, C., Li, B., & Wu, G. (2017). A pH, glucose, and dopamine triple-responsive, self-healable adhesive hydrogel formed by phenylborate–catechol complexation. *Polymer Chemistry*, 8(19), 2997-3005.
- [73]. Kilic, R., & Sanyal, A. (2020). Self-healing hydrogels based on reversible covalent linkages: a survey of dynamic chemical bonds in network formation. *Self-healing and self-recovering hydrogels*, 243-294
- [74]. Deng, C. C., Brooks, W. L., Abboud, K. A., & Sumerlin, B. S. (2015). Boronic acid-based hydrogels undergo self-healing at neutral and acidic pH. *ACS Macro Letters*, 4(2), 220-224.
- [75]. Kramer, R. K., Belgacem, M. N., Carvalho, A. J. F., & Gandini, A. (2019). Thermally reversible nanocellulose hydrogels synthesized via the furan/maleimide Diels-Alder click reaction in water. *International journal of biological macromolecules*, 141, 493-498
- [76]. Kwart, H., King K. (1968), *Chem.Rev.*, 68, 414-447.

- [77]. Liu, Y. L., Hsieh, C. Y., & Chen, Y. W. (2006). Thermally reversible cross-linked polyamides and thermo-responsive gels by means of Diels–Alder reaction. *Polymer*, 47(8), 2581-2586.
- [78]. Kalia, J., & Raines, R. T. (2008). Hydrolytic stability of hydrazones and oximes. *Angewandte Chemie International Edition*, 47(39), 7523-7526.
- [79]. Mukherjee, S., Hill, M. R., & Sumerlin, B. S. (2015). Self-healing hydrogels containing reversible oxime crosslinks. *Soft matter*, 11(30), 6152-6161.
- [80]. Su, W. Y., Chen, K. H., Chen, Y. C., Lee, Y. H., Tseng, C. L., & Lin, F. H. (2011). An injectable oxidated hyaluronic acid/adipic acid dihydrazide hydrogel as a vitreous substitute. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, 22(13), 1777-1797.
- [81]. Zhang, Z., Wang, X., Wang, Y., & Hao, J. (2018). Rapid-forming and self-healing agarose-based hydrogels for tissue adhesives and potential wound dressings. *Biomacromolecules*, 19(3), 980-988.
- [82]. Lin-Gibson, S., Bencherif, S., Cooper, J. A., Wetzel, S. J., Antonucci, J. M., Vogel, B. M., ... & Washburn, N. R. (2004). Synthesis and characterization of PEG dimethacrylates and their hydrogels. *Biomacromolecules*, 5(4), 1280-1287.
- [83]. Kilic, R., & Sanyal, A. (2020). Self-healing hydrogels based on reversible covalent linkages: a survey of dynamic chemical bonds in network formation. *Self-healing and self-recovering hydrogels*, 243-294.
- [84]. <https://canopytower.com/vanilla-orchid/>
- [85]. Cava-Roda, R. M., Taboada-Rodríguez, A., Valverde-Franco, M. T., & Marín-Iniesta, F. (2012). Antimicrobial activity of vanillin and mixtures with cinnamon and clove essential oils in controlling *Listeria monocytogenes* and *Escherichia coli* O157: H7 in milk. *Food and Bioprocess Technology*, 5, 2120-2131.
- [86]. M.S.A. Abdelaty, D. Kuckling, (2016) Synthesis and Characterization of New Functional Photo Cross-Linkable Smart Polymers Containing Vanillin Derivatives, *Gels*. 2 (1) 3.
- [87]. Lee, S. H., Shin, S. R., & Lee, D. S. (2019). Self-healing of cross-linked PU via dual-dynamic covalent bonds of a Schiff base from cystine and vanillin. *Materials & Design*, 172, 107774

- [88]. Cheng, H., Zhu, J. L., Zeng, X., Jing, Y., Zhang, X. Z., & Zhuo, R. X. (2009). Targeted gene delivery mediated by folate-polyethylenimine-block-poly (ethylene glycol) with receptor selectivity. *Bioconjugate chemistry*, 20(3), 481-487.
- [89]. Stroescu, M., Stoica-Guzun, A., Isopencu, G., Jinga, S. I., Parvulescu, O., Dobre, T., & Vasilescu, M. (2015). Chitosan-vanillin composites with antimicrobial properties. *Food Hydrocolloids*, 48, 62-71.
- [90]. J. Xu, Y. Liu and S. Hsu, (2019) Hydrogels Based on Schiff Base Linkages for Biomedical Applications, *Molecules*. 24 (16) 3005.
- [91]. Veith, C., Diot-Néant, F., Miller, S. A., & Allais, F. (2020). Synthesis and polymerization of bio-based acrylates: A review. *Polymer Chemistry*, 11(47), 7452-7470.
- [92]. Fatoni, A., Hariani, P. L., Hermansyah, H., & Lesbani, A. (2018). Synthesis and characterization of chitosan linked by methylene bridge and schiff base of 4, 4-diaminodiphenyl ether-vanillin. *Indonesian Journal of Chemistry*, 18(1), 92-101.
- [93]. Wang, G., Li, P. W., Peng, Z., Huang, M. F., & Kong, L. X. (2011). Formulation of vanillin cross-linked chitosan nanoparticles and its characterization. In *Advanced Materials Research* (Vol. 335, pp. 474-477). Trans Tech Publications Ltd.
- [94]. Ji, Y., Yang, X., Ji, Z., Zhu, L., Ma, N., Chen, D., ... & Cao, Y. (2020). DFT-calculated IR spectrum amide I, II, and III band contributions of N-methylacetamide fine components. *ACS omega*, 5(15), 8572-8578.
- [95]. Bayramoğlu, G., Kayaman- Apohan, N., Kahraman, M. V., Karadenizli, S., Kuruca, S. E., & Güngör, A. (2012). Preparation of bow tie-type methacrylated poly (caprolactone- co- lactic acid) scaffolds: effect of collagen modification on cell growth. *Polymers for Advanced Technologies*, 23(10), 1403-1413
- [96]. Stanzione III, J.M. Sadler, J.J. La Scala, K.H. Reno, R.P. Wool, Vanillin-based resin for use in composite applications, *Green Chem*
- [97]. Xuan, H., Wu, S., Fei, S., Li, B., Yang, Y., & Yuan, H. (2021). Injectable nanofiber-polysaccharide self-healing hydrogels for wound healing. *Materials Science and Engineering: C*, 128, 112264.

- [98]. Liu, D., Qiu, J., Xu, R., Liu, J., Feng, J., Ouyang, L., ... & Liu, X. (2022). β -CD/PEI/PVA composite hydrogels with superior self-healing ability and antibacterial activity for wound healing. *Composites Part B: Engineering*, 238, 109921.
- [99]. Li, F., Ye, Q., Gao, Q., Chen, H., Shi, S. Q., Zhou, W., ... & Li, J. (2019). Facile fabrication of self-healable and antibacterial soy protein-based films with high mechanical strength. *ACS applied materials & interfaces*, 11(17), 16107-16116.
- [100]. Xuan, H., Wu, S., Fei, S., Li, B., Yang, Y., & Yuan, H. (2021). Injectable nanofiber-polysaccharide self-healing hydrogels for wound healing. *Materials Science and Engineering: C*, 128, 112264.
- [101]. Konstantinović, S. S., Konstantinović, B. V., & Jovanović, J. M. (2009). Synthesis and structure of vanillin azomethines. *Chemical Industry and Chemical Engineering Quarterly/CICEQ*, 15(4), 279-281.
- [102]. Hasan, M. M., Uddin, M. F., Zabin, N., Shakil, M. S., Alam, M., Achal, F. J., ... & Morshed, M. M. (2021). Fabrication and characterization of chitosan-polyethylene glycol (CH-Peg) based hydrogels and evaluation of their potency in rat skin wound model. *International Journal of Biomaterials*, 2021
- [103]. Xu, C., Zhan, W., Tang, X., Mo, F., Fu, L., & Lin, B. (2018). Self-healing chitosan/vanillin hydrogels based on Schiff-base bond/hydrogen bond hybrid linkages. *Polymer testing*, 66, 155-163.
- [104]. Luo, Y., Peng, H., Wu, J., Sun, J., & Wang, Y. (2011). Novel amphoteric pH-sensitive hydrogels derived from ethylenediaminetetraacetic dianhydride, butanediamine and amino-terminated poly (ethylene glycol): Design, synthesis and swelling behavior. *European Polymer Journal*, 47(1), 40-47.
- [105]. Yao, F., Chen, W., Liu, C., & De Yao, K. (2003). A novel amphoteric, pH-sensitive, biodegradable poly [chitosan- g- (l- lactic- co- citric) acid] hydrogel. *Journal of Applied Polymer Science*, 89(14), 3850-3854.
- [106]. Abd El-Ghany, N. A., & Mahmoud, Z. M. (2021). Synthesis, characterization and swelling behavior of high-performance antimicrobial amphoteric hydrogels from corn starch. *Polymer Bulletin*, 78, 6161-6182

- [107]. Zhou, J., Zhang, H., Deng, J., & Wu, Y. (2016). High Glass- Transition Temperature Acrylate Polymers Derived from Biomasses, Syringaldehyde, and Vanillin. *Macromolecular Chemistry and Physics*, 217(21), 2402-2408.
- [108]. Ding, X., Li, G., Xiao, C., & Chen, X. (2019). Enhancing the stability of hydrogels by doubling the schiff base linkages. *Macromolecular Chemistry and Physics*, 220(3), 1800484.
- [109]. Gong, X., Cheng, Z., Gao, S., Zhang, D., Ma, Y., Wang, J., ... & Chu, F. (2020). Ethyl cellulose based self-healing adhesives synthesized via RAFT and aromatic schiff-base chemistry. *Carbohydrate polymers*, 250, 116846.
- [110]. Zhang, C., Yan, M., Cochran, E. W., & Kessler, M. R. (2015). Biorenewable polymers based on acrylated epoxidized soybean oil and methacrylated vanillin. *Materials Today Communications*, 5, 18-22.
- [111]. Kim, S., Kim, J. H., Kim, J. O., Ku, S., Cho, H., Han, D. H., & Huh, P. (2014). Fabrication of poly (ethylene oxide) hydrogels for wound dressing application using E-beam. *Macromolecular Research*, 22, 131-138.
- [112]. Srisawang, N., Nobsathian, S., Wirasate, S., & Chitichotpanya, C. (2019). pH-induced crosslinking of rice starch via schiff base formation. *Macromolecular Research*, 27, 1193-1199.
- [113]. T. W. Graham Solomons, C. B. Fryhle (2011) Organic Chemistry, Tenth Ed., John Wiley & Sons, Inc, Hoboken, pp. 751-752
- [114]. Oktay, B., Kayaman- Apohan, N., Erdem- Kuruca, S., & Süleymanoğlu, M. (2015). Fabrication of collagen immobilized electrospun poly (vinyl alcohol) scaffolds. *Polymers for Advanced Technologies*, 26(8), 978-987.
- [115]. Albright, J. D., & Goldman, L. (1967). Dimethyl sulfoxide-acid anhydride mixtures for the oxidation of alcohols. *Journal of the American Chemical Society*, 89(10), 2416-2423.
- [116]. Zahir, M. H., Rahman, M. M., Irshad, K., & Rahman, M. M. (2019). Shape-stabilized phase change materials for solar energy storage: MgO and Mg (OH) 2 mixed with polyethylene glycol. *Nanomaterials*, 9(12), 1773.
- [117]. Billiet, T., Gasse, B. V., Gevaert, E., Cornelissen, M., Martins, J. C., & Dubruel, P. (2013). Quantitative Contrasts in the Photopolymerization of Acrylamide and

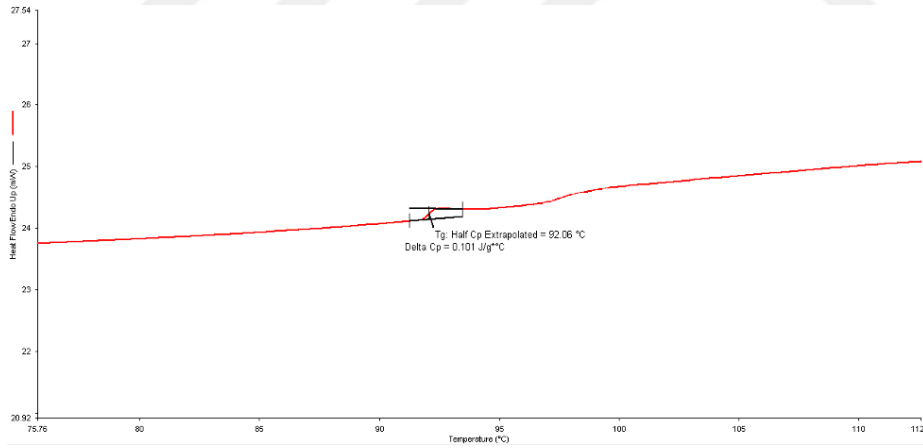
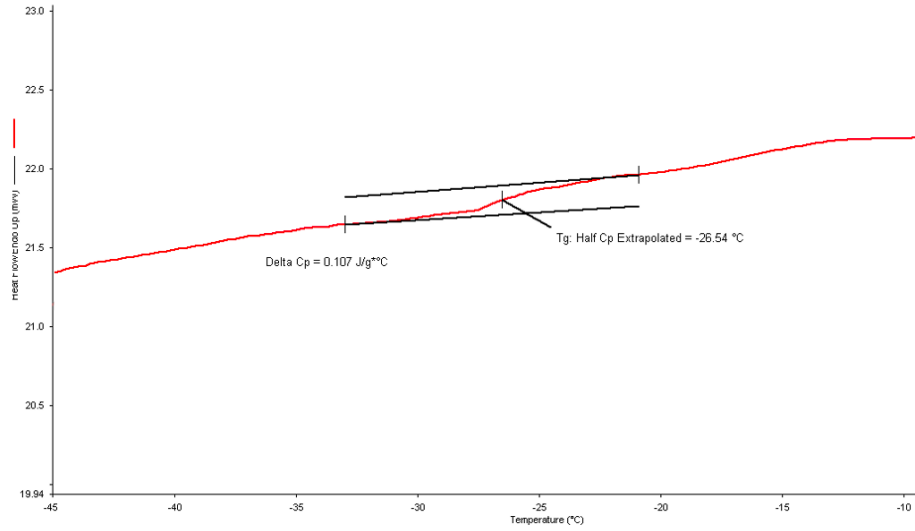
- Methacrylamide- F unctionalized Gelatin Hydrogel Building Blocks. *Macromolecular bioscience*, 13(11), 1531-1545.
- [118]. Laksanawati, T. A., & Trisanti, P. N. (2019, April). Synthesis and characterization of composite gels starch-graftacrylic acid/bentonite (St-g-AA/B) using N'Nmethylenebisacrylamide (MBA). In *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering* (Vol. 509, No. 1, p. 012150). IOP Publishing.
- [119]. Liu, L., Liu, D., Wang, M., Du, G., & Chen, J. (2007). Preparation and characterization of sponge-like composites by cross-linking hyaluronic acid and carboxymethylcellulose sodium with adipic dihydrazide. *European polymer journal*, 43(6), 2672-2681.
- [120]. Feng, Y., Xiaodong, C., Jie, D., Gang, W., & Xiaofeng, C. (2015). Multifunctional Hydrogel with Good Structure Integrity, Self-Healing, and Tissue-Adhesive Property Formed by Combining Diels–Alder Click Reaction and Acylhydrazone Bond.
- [121]. Su, W. Y., Chen, K. H., Chen, Y. C., Lee, Y. H., Tseng, C. L., & Lin, F. H. (2011). An injectable oxidated hyaluronic acid/adipic acid dihydrazide hydrogel as a vitreous substitute. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, 22(13), 1777-1797
- [122]. Liu, X. J., Li, H. Q., Zhang, B. Y., Wang, Y. J., Ren, X. Y., Guan, S., & Gao, G. H. (2016). Highly stretchable and tough pH-sensitive hydrogels with reversible swelling and recoverable deformation. *Rsc Advances*, 6(6), 4850-4857.

EKLER

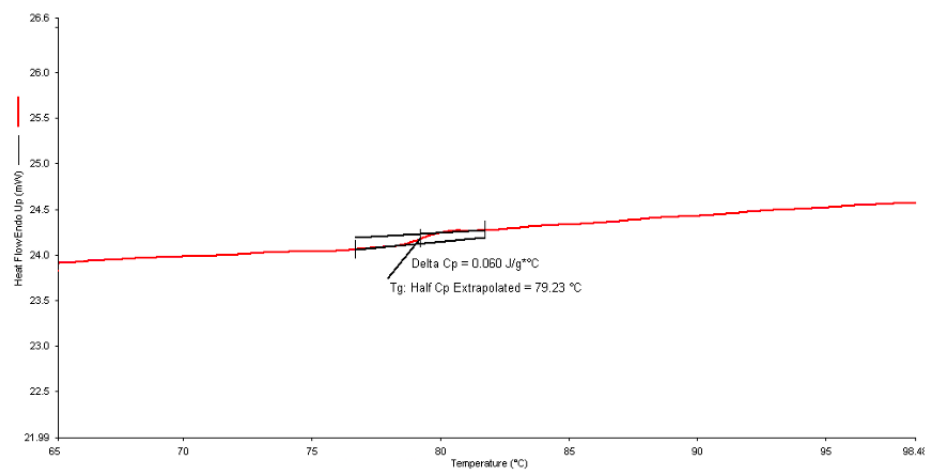
EK-4.3.3

Hidrojenlerin Camsı Geçiş Sıcaklığını (T_g) içeren DSC Termogramları

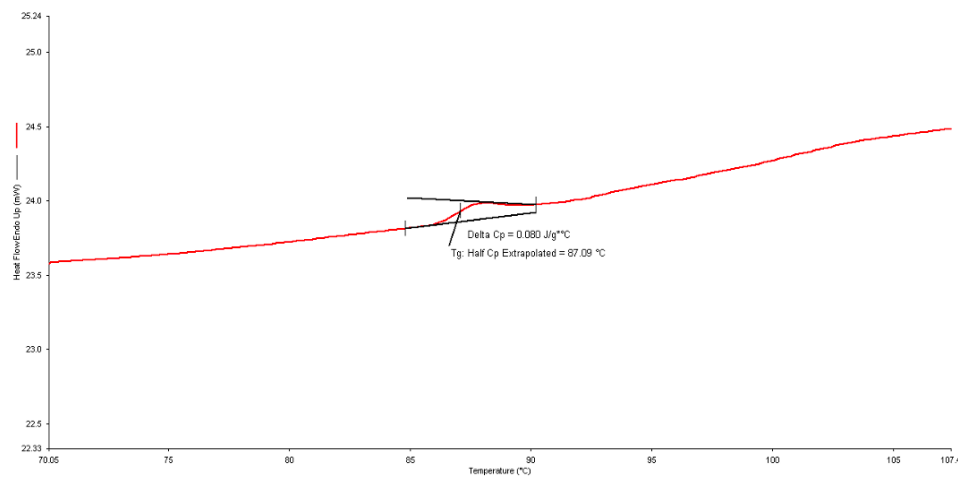
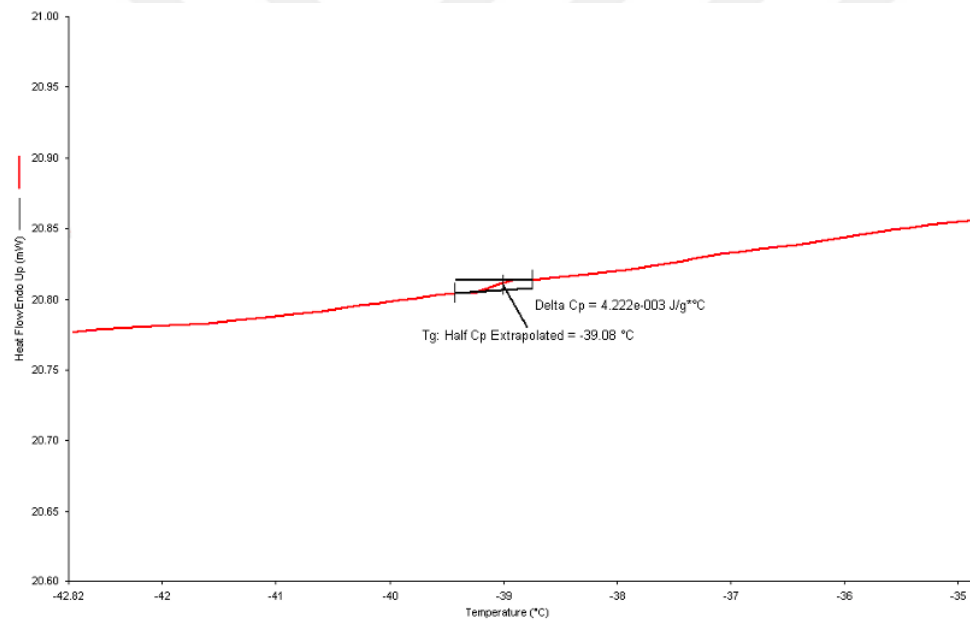
A0



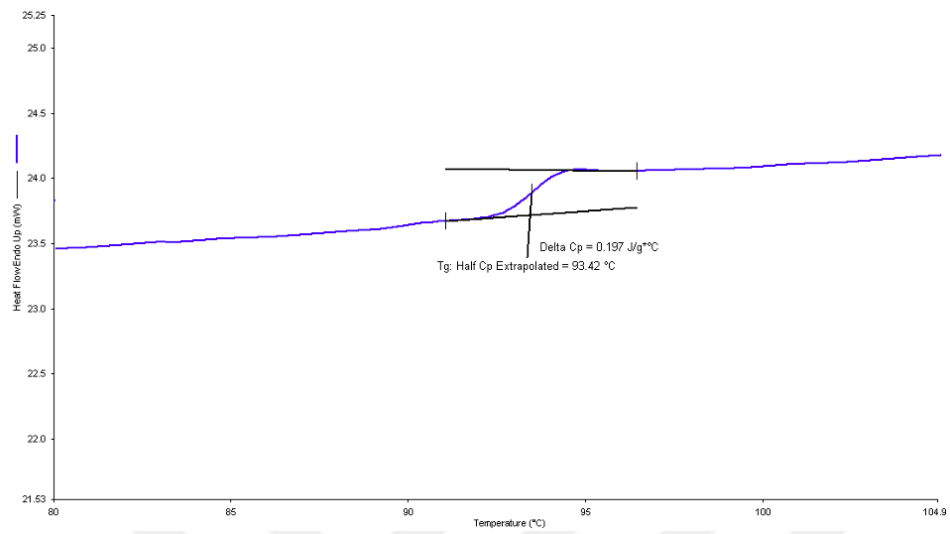
A2



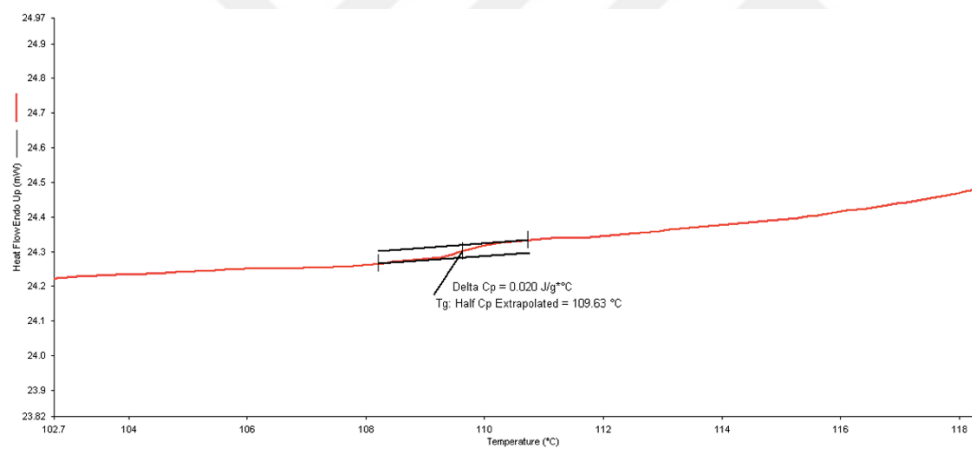
A4



A6

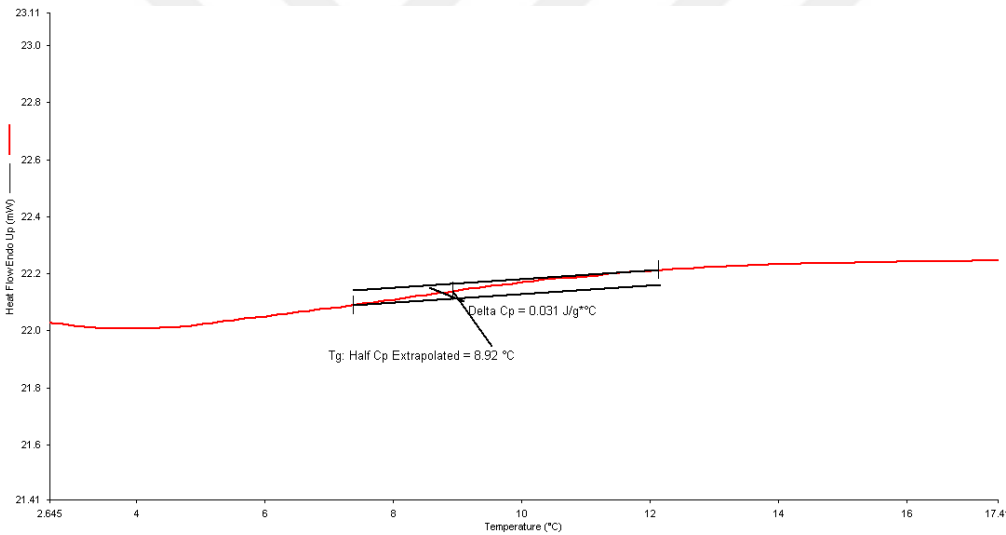
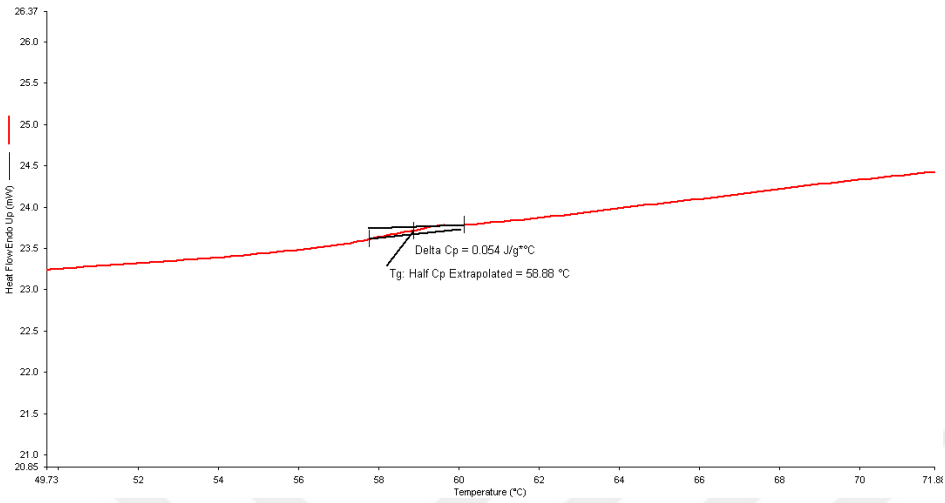


A8

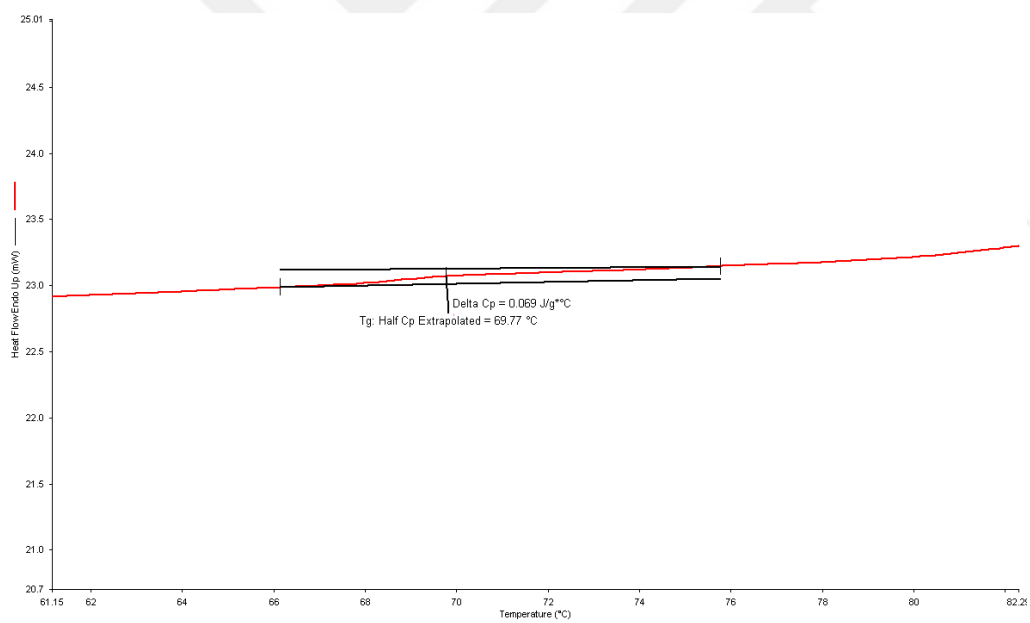
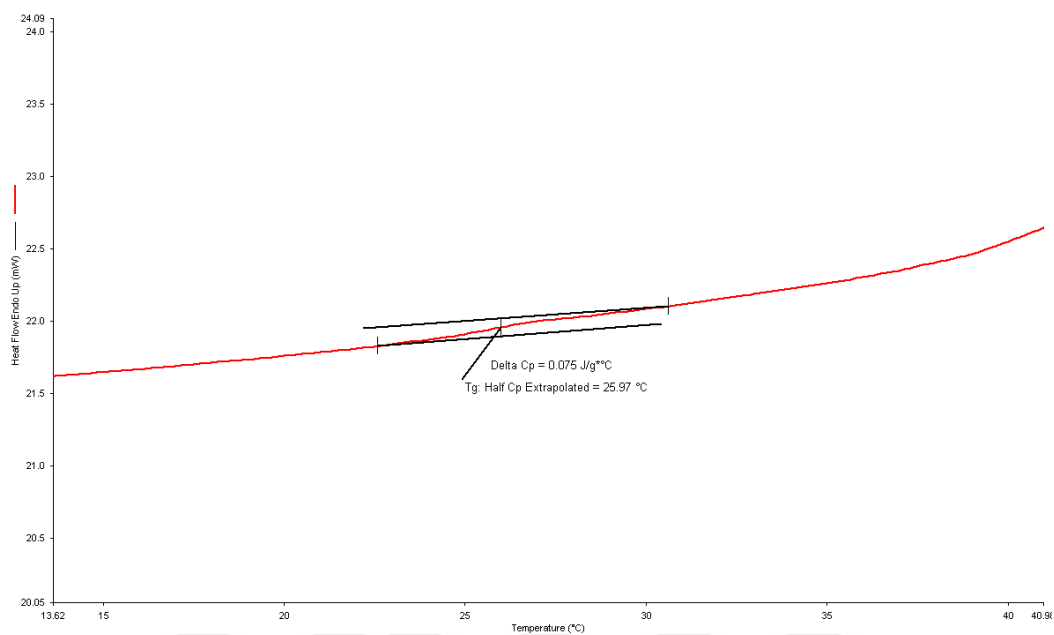


EK-4.5.5

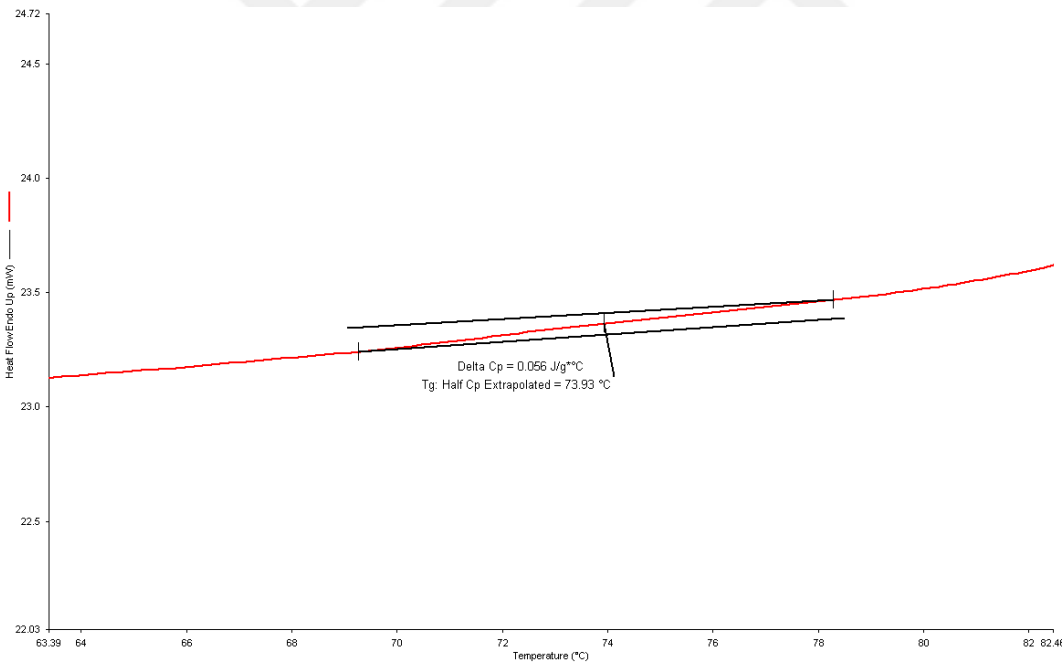
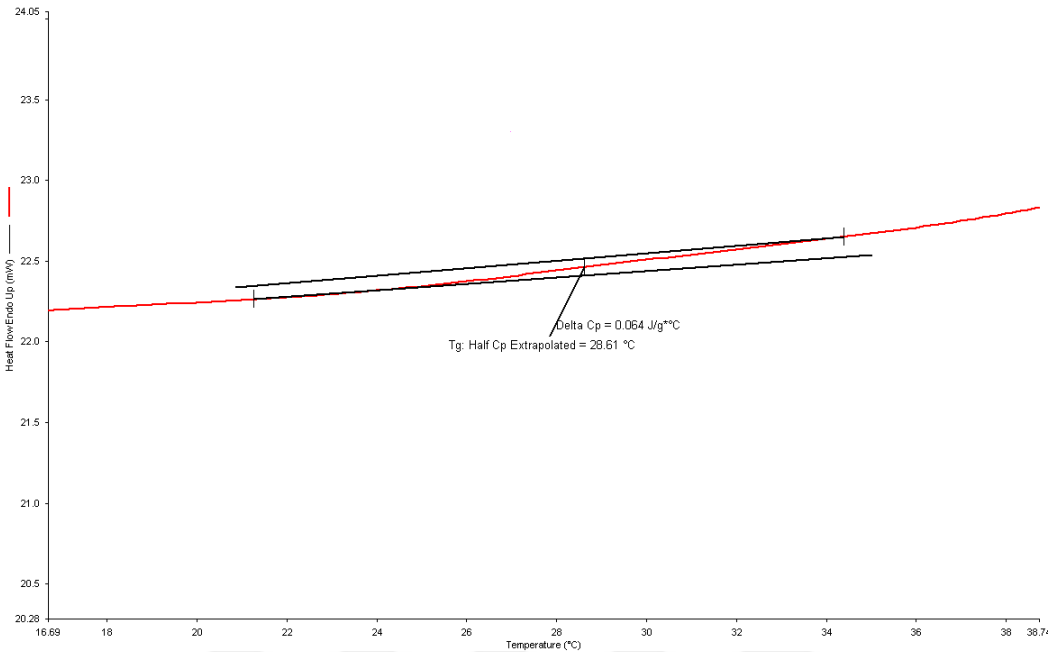
GA-0



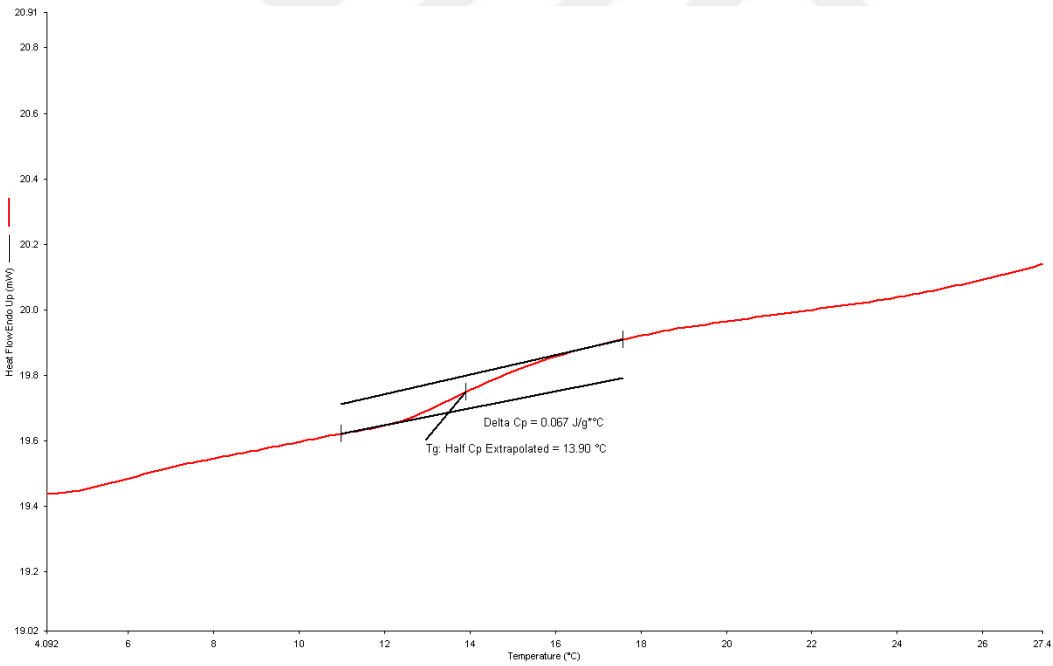
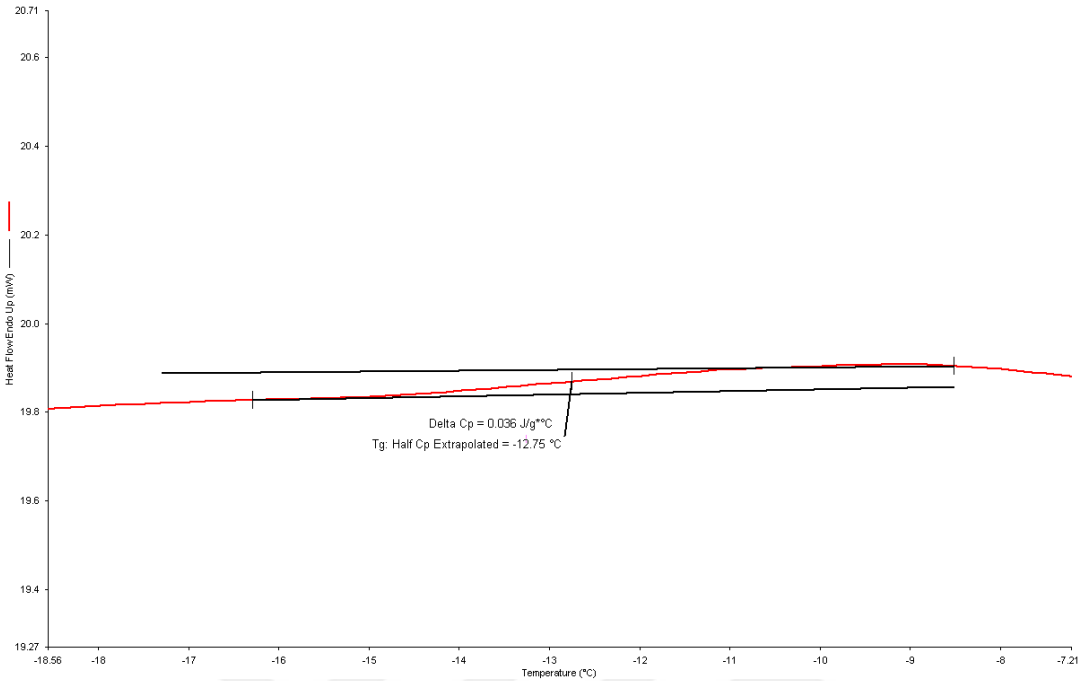
GA-1



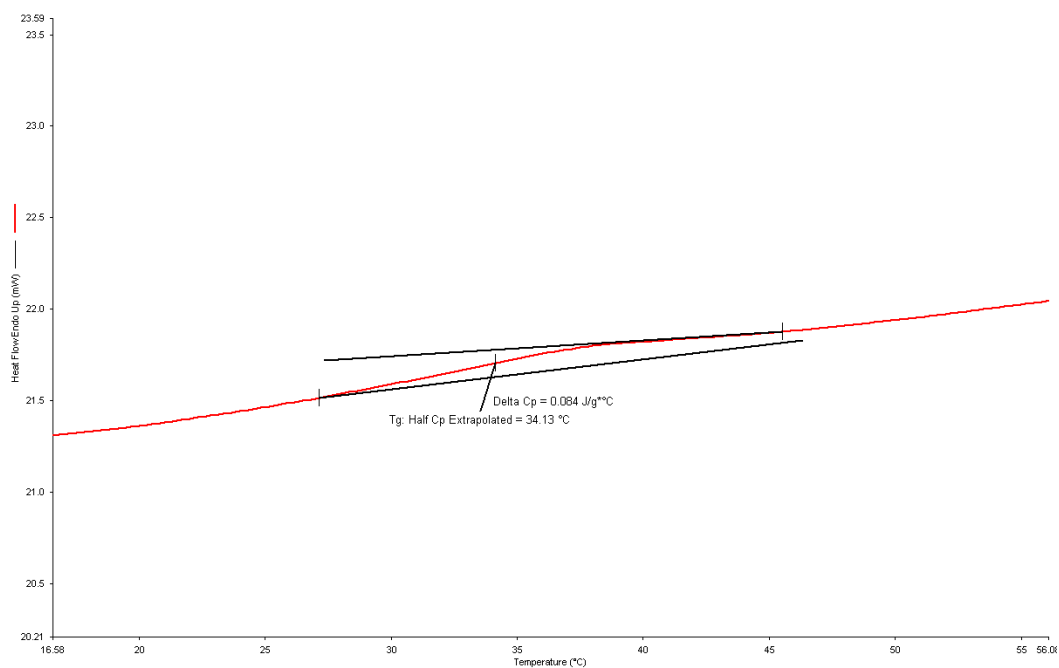
GA-2



GA-2-1



GA-2-2



Başarılı Kendini Onarım Göstermeyen Hidrojel Çalışmaları

NO	İtosan(m)	Jelatin	VIM (g)	MV (g)	PEI (g)	ADH (g)	PEGD A	MBA(g)	EGDMA	N-3-DMAP	NHEA	MA	FA	HEMA	PVA	GA	t (dk)
H-1	1		0.01														30
4	1		0.1														5
5	2		0.1														5
6	1		0.1		0.05												10
8	1		0.095		0.097												
9	1		0.205														10
10	1		0.205			0.053											11
11	0.5			0.110													15
12	1		0.2	0.208				0.0130									15
13	1		0.2			0.1		0.05									25
14	1		0.3			0.1049		0.05013									22
15		1	0.2			0.1		0.01									15
16		1	0.14					0.022									10
17-T	1			0.2002	0.079 -0.5			0.014-									15
18-T	1			0.2106				0.1073-									15
19-T	1			0.2	0.1			0.104-									15
20-T	1			0.2020	0.1021			0.1048									0-30-60
21-T	1		0.2042		0.1058			0.1026									0-30-60
22	1		0.2030		0.1058			0.0232									15
23		1	0.2033		0.1053			0.0237									15
24	1				0.14			0.0024									
25	1		0.2008					0.0517									
26				0.2063	0.1			0.0552									
27	1			0.2008				0.0529									
28			0.2067		0.1018												
29																	
30																	
31																	
32	1		0.6071		0.1091	0.2070	0.3019	0.03082						0.0265			15
33	1		0.3016		0.01	0.0507	0.1982	0.015						0.0143			15
34	1		0.3026			0.0507	0.1498	0.154						0.0144			15
35			0.3060		0.05	0.05	0.1552	0.0155						0.0187			25
36	1		0.3052		0.05	0.1035	0.1649	0.0155						0.0153			30
37	1			0.3030	0.05	0.1009	0.1494	0.0159						0.0140			30
38			0.3003		0.05	0.0512	0.15002	0.0149						0.0137			20
39				0.3003	0.05	0.0848	0.1518	0.0149						0.0130			20
40			0.3021			0.1683	0.2728	0.0036						0.1165			15
41			0.3004			0.1678	0.1465	0.0032						0.1113			15
42			0.3013			0.1682	0.2727		0.0057					0.1129			15
43			0.3014			0.0849	0.2724	0.0052						0.1176			15
44			0.3004			0.0400	0.2739		0.0056					0.1234			15
45			0.3004		0.0124		0.2703		0.0055					0.1100			15
46			0.3000		0.1584		0.2712		0.0056					0.1109			15
47			0.3007		0.006	0.02	0.2718		0.0055					0.116			15
48	2		0.3006			0.039	0.3329		0.006					0.1124			15
49			0.3000		0.0706		0.2702		0.0055					0.1126			15
50			0.3000		0.0301		0.2723		0.0053					0.1205			15
51			0.3001		0.0103		0.3245		0.0026					0.1104			15
52			0.3004		0.0702		0.3222		0.0025					0.115			15
53	1		0.3001			0.0402	0.2709		0.0022					0.0578			15
HT-54																	
HT-55																	
HT-56			0.3012		0.1099		0.3342		0.0032					0.043			15
HT-57			0.2998			0.0515	0.3243	0.0021		0.0736							15
58			0.3003		0.0565		0.3121		0.0033			0.045					15
59			0.3005			0.0509	0.3255	0.0031				0.037					15
60																	15
61			0.3024		0.049		0.3028		0.0032						0.015		15
62			0.3028		0.0713		0.5013		0.0053					0.1001		0.306	15
63			0.3068			0.0518	0.7027		0.0324	0.0260		0.013					15
64																	
65			0.3000		0.0709		0,5		0.004					0.0518			15
66			0,3016			0,0454	0,1		0,0029			0,0045					15
67																	
68			0,3			0,0405	0,213	0,0063		0,03	0,1019						15
69			0,3		0,043		0,203	0,006			0,1028						15
70			0,3024		0,037		0,304	0,0051					0,075				
71																	
72			0,3035		0,013		0,206						0,103				15
74			0,311		0,0248		0,206						0,05				15