

**BEZMİALEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**PLURONİK ESASLI ENJEKTE EDİLEBİLİR HİDROJELLER**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Sevgi SEÇER**

**Biyoteknoloji Anabilim Dalı**

**Biyoteknoloji Tezli Yüksek Lisans Programı**

**Tez Danışmanı: Doç. Dr. Deniz CEYLAN TUNCABOYLU**

**HAZİRAN 2019**

**BEZMİALEM VAKIF ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**PLURONİK ESASLI ENJEKTE EDİLEBİLİR HİDROJELLER**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Sevgi SEÇER  
(160305011)**

**Biyoteknoloji Anabilim Dalı**

**Biyoteknoloji Tezli Yüksek Lisans Programı**

**Tez Danışmanı: Doç. Dr. Deniz CEYLAN TUNCABOYLU**

**HAZİRAN 2019**

Bezmialem Vakıf Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü'nün 160305011 numaralı Yüksek Lisans Öğrencisi Sevgi SEÇER, ilgili yönetmeliklerin belirlediği gerekli tüm şartları yerine getirdikten sonra hazırladığı "PLURONİK ESASLI ENJEKTE EDİLEBİLİR HİDROJELLER" başlıklı tezini aşağıda imzaları olan jüri önünde başarı ile sunmuştur.

**Tez Danışmanı :** **Doç. Dr. Deniz CEYLAN TUNCABOYLU**  
Bezmialem Vakıf Üniversitesi

**Jüri Üyeleri :** **Prof. Dr. Gülten GÜRDAĞ** .....

**Doç. Dr. Binnur TEMEL** .....

**Teslim Tarihi :**  
**Savunma Tarihi : 20 Haziran 2019**

*Aileme,*



## ÖNSÖZ

Tez çalışmalarına başladığım ilk günden bu yana tüm bilgi ve birikimini bana sunan, her koşulda yanımda ve beni destekleyerek motivasyon kaynağı olan, kariyer yönetimimde beni tüm hayallerime ve hedeflerime bir adım daha yaklaştıran, maddi ve manevi desteklerini esirgemeyen, eğitimci olmanın tüm gereklerini yerine getiren, değerli hocam Doç. Dr. Deniz CEYLAN TUNCABOYLU' ya teşekkür ederim.

Ayrıca çalışmalarım esnasında beni destekleyen ve yardımına ihtiyacım olan her konuda yanımda olan sayın hocam Doç. Dr. Binnur TEMEL'e de teşekkürlerimi iletiyorum. Çalışma ortamımda bana eşlik eden ve arkadaşlıkları ile gerek çalışma esnasında gerekse manevi olarak beni destekleyen Mahinur TUNCEL, Merve KEKLİK ve Fatih GENÇ' e teşekkür ederim.

Hayata adım attığım ilk günden bu yana her zaman yanımda olan, her düştüğümde beni kaldıran, bugünlere gelmemin esas sebepleri olan, maddi ve manevi her yükün altında çekinmeden giren ve beni destekleyen, bu hayattaki en büyük şansım olduğunu düşündüğüm başta annem Ayşe SEÇER, babam Halil SEÇER olmak üzere; hayattaki ilk arkadaşlarım olan ablam SEDA ARDIÇ ve kardeşim İhsan SEÇER'e teşekkür ediyorum. Son olarak yüksek lisans tezimi, eğitim hayatıma başladığımdan bu yana yıllarca bana yol gösteren ve destekleyen, birçok şeyi borçlu olduğum merhum Hasan YELMEN anısına adıyorum.

Bu çalışma, Bezmialem Vakıf Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) birimi tarafından 12.2018/18 numaralı proje ile desteklenmiştir.

Haziran 2019

Sevgi SEÇER  
(Moleküler Biyolog)

## BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını beyan ederim.

Sevgi SEÇER

İmza

## İÇİNDEKİLER

### Sayfa

ÖNSÖZ.....	v
BEYAN.....	vi
İÇİNDEKİLER.....	vii
KISALTMALAR .....	ix
SEMBOLLER.....	x
TABLO LİSTESİ.....	xi
ŞEKİL LİSTESİ.....	xii
ÖZET.....	xv
SUMMARY.....	xvii
<b>1. GİRİŞ .....</b>	<b>1</b>
<b>2. TEORİK KISIM .....</b>	<b>3</b>
2.1 Hidrojeller.....	3
2.1.1 Kimyasal çapraz bağlı hidrojeller.....	6
2.1.2 Fiziksel çapraz bağlı hidrojeller .....	6
2.1.2.1 Hidrofobik etkileşimler .....	6
2.1.2.2 Van der Waals etkileşimleri .....	7
2.1.2.3 Elektrostatik etkileşimler .....	8
2.1.3 Uyarı cevap hidrojelleri .....	8
2.1.3.1 Sıcaklığa duyarlı hidrojeller .....	9
2.1.3.2 pH'ya duyarlı hidrojeller.....	10
2.1.4 Enjekte edilebilir ve muko-adeziv hidrojeller.....	10
2.1.5 Hidrojel sistemlerinde kullanılan bazı polimerler.....	14
2.1.5.1 Hiyalüronik asit .....	14
2.1.5.2 Jelatin .....	15
2.1.5.3 PLGA .....	16
2.2 Pluronik .....	17
2.2.1 Pluronik® F127 .....	20
2.3 Siklodekstrin .....	24
<b>3. MATERYAL VE METOD .....</b>	<b>28</b>
3.1 Malzemeler .....	28
3.2 Cihazlar.....	28
3.3 Deneysel Kısım.....	29
3.3.1 Jel sistemlerinin hazırlanması .....	29
3.3.1.1 F127 jelleri .....	29

3.3.1.2 F127 jelatin jelleri.....	29
3.3.1.3 F127- HA-SD jelleri .....	29
3.3.1.4 F127- PEG/PLGA jelleri.....	30
3.3.2 Jel sistemlerinin karakterizasyonu.....	31
3.3.2.1 Sıcaklık profili oluşturulması .....	31
3.3.2.2 Frekans ve deformasyon taramaları.....	32
3.3.2.3 Muko-adezyon.....	33
3.3.2.4 Enjekte edilebilirlik testleri .....	33
<b>4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....</b>	<b>35</b>
4.1 F127 Jelleri .....	35
4.2 F127 - Hiyalüronik Asit (HA) Jelleri .....	39
4.3 F127 - HA - Siklodekstrin (SD) Jelleri .....	41
4.4 F127 - Jelatin Jelleri .....	47
4.5 F127 - PLGA/PEG Jelleri.....	49
<b>5. SONUÇ .....</b>	<b>54</b>
<b>KAYNAKLAR.....</b>	<b>56</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ .....</b>	<b>56</b>



## KISALTMALAR

<b>Ağ</b>	: Ağırlık
<b>AKÇS</b>	: Alt kritik çözelti sıcaklığı
<b>CDCl<sub>3</sub></b>	: Dötero kloroform
<b>CMC</b>	: Karbokimetil selüloz
<b>ECM</b>	: Extracellular matrix
<b>FT-IR</b>	: Fourier Dönüşümlü İnfrared Spektrometresi
<b>GPC</b>	: Jel geçirgenlik kromatografisi
<b>HA</b>	: Hiyalüronik asit
<b>Hac</b>	: Hacim
<b><sup>1</sup>H-NMR</b>	: Proton Nükleer Manyetik Rezonans Spektroskopisi
<b>IPN</b>	: Interpenetrating Polymer Network
<b>KMK</b>	: Kritik misel konsantrasyonu
<b>KMS</b>	: Kritik misel sıcaklığı
<b>PBS</b>	: Fosfat tamponlu tuz çözeltisi
<b>PEG</b>	: Poli(etilen glikol)
<b>PGA</b>	: Poli(glikolik asit)
<b>PİK</b>	: Polimer inklüzyon kompleksleri
<b>PLA</b>	: Poli(laktik asit)
<b>PLGA</b>	: Poli(laktik asit-ko-glikolik asit)
<b>PPR</b>	: Polipseudorotaksan
<b>SD</b>	: Siklodekstrin
<b>U.S. FDA</b>	: Amerikan Gıda ve İlaç Kurumu (USA Food and Drug Administration)
<b>ÜKÇS</b>	: Üst kritik çözelti sıcaklığı
<b>T<sub>g</sub></b>	: Camısı geçiş sıcaklığı

## SEMBOLLER

<b>°C</b>	: Derece Santigrat
<b>kDA</b>	: Kilodalton
<b>mL</b>	: Mililitre
<b>µL</b>	: Mikrolitre
<b><i>G'</i></b>	: Elasik modül
<b><i>G''</i></b>	: Viskoz modül
<b>Pa</b>	: Paskal



## TABLO LİSTESİ

### Sayfa

<b>Tablo 2.1</b> : Enjeksiyon kuvvetinin <i>in vitro</i> ve <i>in vivo</i> korelasyonu .....	13
<b>Tablo 2.2</b> : Misel özelliklerine göre kullanılan yöntemler .....	19



## ŞEKİL LİSTESİ

### Sayfa

Şekil 1.1 : Genel hidrojel yapısı. Sırasıyla, çapraz bağlanma noktaları Mc, ortalama moleküler ağırlığa sahip olan çapraz bağlanmış bir hidrojin gözenek büyüklüğü $\epsilon$ .....	1
Şekil 2.1 : Hidrojellerin sınıflandırılması .....	4
Şekil 2.2 : Hidrofobik etkileşimlerden kaynaklanan fiziksel jelleşme mekanizması..	7
Şekil 2.3 : Pluronik polimerlerinin tersinir bir şekilde sıcaklığa bağlı misel ve sonrasında hidrojel yapısını oluşturması.....	8
Şekil 2.4 : Fizyolojik sıcaklıkta ters termal jelleşmeye maruz kalabilen bazı yaygın hidrofobik blokların kimyasal yapıları. ....	9
Şekil 2.5 : Farklı hidrojel hazırlama teknikleri .....	11
Şekil 2.6 : Enjekte edilebilir hidrojellerin genel yapıları kıyasla avantajları .....	12
Şekil 2.7 : Hiyalüronik asitin kimyasal yapısı .....	14
Şekil 2.8 : PLGA polimerinin hidrolizi .....	16
Şekil 2.9 : Pluronik moleküllerinin genel gösterimi ve farklı pluronik moleküllerinin EO ve PO değerleri.....	18
Şekil 2.10 : PEO-PPO-PEO triblok kopolimerlerinin sulu çözeltideki faz davranışı	19
Şekil 2.11 : Pluronik F127 molekülünün kimyasal yapısı.....	20
Şekil 2.12 : Sentezlenen kompozit yapıların tekli ağ yapıları ile kıyaslanması.....	21
Şekil 2.13 : IPN yapı tasarlanmasının şematik gösterimi. ....	21
Şekil 2.14 : Jelatin/F127 kompoziti oluşturulması.....	22
Şekil 2.15 : F127 moleküllerinin fonksiyonlandırılması.....	22
Şekil 2.16 : F127 misellerinin HA molekülleri ile bir araya getirilerek fiziksel hidrojel yapısının oluşturulması .....	23
Şekil 2.17 : İlacın, inklüzyon kompleksi içerisinde taşındığı hidrojel sistemi .....	24
Şekil 2.18 : F127HA kompozit jel yapısının gösterilmesi ve HA'nın mekanik dayanımı artması.....	24
Şekil 2.19 : Konuk-konakçı ilişkisinin şematik gösterimi.....	25
Şekil 2.20 : Siklodekstrin moleküllerinin genel yapısı.....	26
Şekil 2.21 : $\alpha$ , $\beta$ ve $\gamma$ -SD'lerin çözünürlükleri .....	27
Şekil 3.1 : Lineer PLGA polimerizasyonu.....	30
Şekil 3.2 : Yıldız PLGA polimerizasyonu.....	30
Şekil 3.3 : Kullanılan reometre cihazı. ....	32
Şekil 3.4 : Reometrede ısıtma-soğutma test protokolleri.....	32
Şekil 3.5 : Reometre yapılan zaman, frekans, deformasyon ve viskozite test protokolleri. ....	33
Şekil 3.6 : Teksütür Analiz Cihazında enjekte edilebilirlik testinin şırınga probu ile uygulanması. ....	34
Şekil 4.1 : F127 çözeltisinin (%20 ağırlık hac) farklı ısıtma hızlarında 24-37 °C arasında elastik ( $G'$ , içi dolu semboller) ve viskoz ( $G''$ içi boş semboller)	

	modüllerinin değişimi (A). Örneklerin sabit sıcaklıkta (37 °C) zamana bağlı $G'$ ve $G''$ modüllerinin değişimi (B). ....	35
<b>Şekil 4.2</b>	: F127 çözeltilerinin (%20 ağırlık) çözeltilerinin 37 °C'de elastik ( $G'$ , içi dolu semboller) ve viskoz ( $G''$ , içi boş semboller) modüllerinin zamana bağlı (A), frekansa bağlı (B) ve deformasyon yüzdesine bağlı (C) değişimleri. ....	36
<b>Şekil 4.3</b>	: F127 ve F127+ilaç formülasyonlarının şırınga testi uygulanarak incelenmesi. ....	37
<b>Şekil 4.4</b>	: F127 çözeltisinin enjeksiyon testi sırasında (sol) ve sonrasında (sağ) 37°C'de görüntüsü. ....	37
<b>Şekil 4.5</b>	: F127, F127-ilaç ve F127-HA-ilaç formülasyonlarının reometrede sıcaklık profilleri (A,C). $G'$ (içi dolu semboller), $G''$ (içi boş semboller) modüllerinin 37 °C'de zamana bağlı değişimi (B). ....	38
<b>Şekil 4.6</b>	: Farklı konsantrasyonda HA içeren F127+HA jellerinin reometrede sıcaklık ve zamana bağlı analizi. Örneklerin $G'$ (içi dolu semboller), $G''$ (içi boş semboller) modüllerinin sıcaklığa bağlı değişimi (A,C). Örneklerin $G'$ , $G''$ modüllerinin sabit sıcaklıkta zamana bağlı değişimi (B). Jellerin HA konsantrasyonuna bağlı olarak modül grafikleri (D). ....	40
<b>Şekil 4.7</b>	: F127 ve F127+SD jellerinin reometre de sıcaklık profilleri (A,C). Elastik modül ( $G'$ , içi dolu semboller) ve viskoz modül ( $G''$ , içi boş semboller) değerlerinin 37 °C'de zamana bağlı değişimi (B). ....	41
<b>Şekil 4.8</b>	: F127 ve F127+siklodekstrin jellerinin 37 °C'de elastik ( $G'$ , içi dolu semboller) ve viskoz ( $G''$ , içi boş semboller) modüllerinin frekansa bağlı (A) ve deformasyon yüzdesine bağlı (C) değişimleri. ....	42
<b>Şekil 4.9</b>	: F127 ve F127-HA-SD jellerinin reometre de sıcaklık profilleri (A,C). Elastik modül ( $G'$ , içi dolu semboller) ve viskoz modül ( $G''$ , içi boş semboller) değerlerinin 37 °C'de zamana bağlı değişimi (B). ....	43
<b>Şekil 4.10</b>	: F127 ve F127-HA-SD jellerinin 37 °C'de elastik ( $G'$ , içi dolu semboller) ve viskoz ( $G''$ , içi boş semboller) modüllerinin frekans (A) ve deformasyon yüzdesine bağlı (B) değişimleri. ....	44
<b>Şekil 4.11</b>	: F127 - HA - SD jellerinin enjekte edilebilirlik testi. ....	45
<b>Şekil 4.12</b>	: F127-HA- $\alpha$ -SD çözeltisinin enjeksiyon testi sırasında (sol) ve sonrasında (sağ) 37°C'de görüntüsü. ....	46
<b>Şekil 4.13</b>	: F127+HA+siklodekstrin formülasyonu ile hazırlanan jellerin musin protein çözeltisi ile karıştırıldıktan sonra reometre de kayma hızına bağlı olarak muko-adezyon özelliklerinin incelenmesi. ....	47
<b>Şekil 4.14</b>	: Jelatin-F127 ile farklı konsantrasyonlarda hazırlanan jellerin, reometre cihazı ile 5 °C ve 37 °C olmak üzere sıcaklığa ve zamana bağlı davranışlarının incelenmesi. Örneklerin $G'$ (içi dolu semboller), $G''$ (içi boş semboller) modüllerinin sıcaklığa bağlı değişimi (A,C). Örneklerin $G'$ , $G''$ modüllerinin zamana bağlı değişimi (B,D). ....	48
<b>Şekil 4.15</b>	: Jelatin-F127 ile farklı konsantrasyonlarda hazırlanan jellerin, reometre cihazı ile 5 °C ve 37 °C olmak üzere sıcaklığa ve zamana bağlı davranışlarının incelenmesi. Örneklerin $G'$ (içi dolu semboller), $G''$ (içi boş semboller) modüllerinin sıcaklığa bağlı değişimi (A,C). Örneklerin $G'$ , $G''$ modüllerinin zamana bağlı değişimi (B,D). ....	49
<b>Şekil 4.16</b>	: Lineer PLGA polimerinin CDCl <sub>3</sub> içinde çekilmiş NMR spektrumu .....50	50
<b>Şekil 4.17</b>	: Star PLGA polimerinin CDCl <sub>3</sub> içinde çekilmiş NMR spektrumu. ....50	50
<b>Şekil 4.18</b>	: Lineer ve yıldız PLGA polimerlerine ait FT-IR spektrumları. ....51	51
<b>Şekil 4.19</b>	: Lineer ve yıldız PLGA polimerlerinin GPC kromatogramları.....52	52

**Şekil 4.20** : F127- PLGA/PEG ve F127 formülasyonu ile sentezlenen jellerin reometrede sıcaklık ve zamana bağlı analizi. Örneklerin  $G'$  (*içi dolu semboller*),  $G''$  (*içi boş semboller*) modüllerinin sıcaklığa bağlı değişimi (A,C). Örneklerin  $G'$ ,  $G''$  modüllerinin sabit sıcaklıkta zamana bağlı değişimi (B).....53



## PLURONİK ESASLI ENJEKTE EDİLEBİLİR HİDROJELLER

### ÖZET

Geçmişten günümüze dek ilaç keşfi, ilaçların uygulama yöntemleri, ilaç salım sistemleri ve ilacın doz ayarlama stratejileri ile verimini artırmak gibi önemli konular sıkça çalışılmış olup özellikle ‘kontrollü ve hedefli’ biçimde, ilaçların istenilen bölgeye ulaşması amaçlanmıştır. Bu doğrultuda çok sayıda strateji geliştirilmiş olsa da birçok çalışmada gerek toksisite, gerekse biyouyumluluk ve biyobozunurluk kriterlerine uyum konusunda sorun yaşanmıştır. Basit bir ilacın vücutta taşınmasından gen terapiye kadar söz konusu olan tüm süreçler için, onaylı, belli koşulları sağlamış, birbirinden çok farklı kökenlere sahip yapılar kullanılarak, çeşitli yöntemlerin ve sistemlerin oluşturulması hedeflenmiştir.

Polimerik jeller, çapraz bağlı polimer zincirlerinin oluşturduğu ağ şeklinde yapı ve bu ağın içindeki çözücünün bir arada olduğu ikili sistemlerdir. Fiziksel özellikleri sıcaklık ve zaman değişimine bağlı olarak katı-sıvı arasındadır. Jeller, daha yüksek sıcaklıkta ve kısa zaman skalasında sıvı formdadır. Genel olarak, sıvı jeller viskoz davranış sergilerken, katı jeller elastik davranış sergilemektedir. Bu durum viskoelastik davranış olarak ifade edilmektedir. Eğer bir jelin ağ yapısı içinde var olan sıvı ortam su ise, bu jeller hidrojel olarak adlandırılmakta olup bu yapılar üstün ve benzersiz özelliklerinden dolayı en önemli jel sistemlerindedir. Bu durumun temel sebepleri arasında hem kendi özelliklerinden dolayı gerçek doku ve organlara yüksek oranda benzerlikler göstermeleri hem de çoğu zaman jeli oluşturan temel moleküllerin istenilen özelliklere sahip seçilebilme, uyarlanabilme ve yönetilebilme gibi avantajları gösterilmektedir. Özellikle sıcaklığa ve pH’ya duyarlı hidrojeller, ayarlanabilir şişme ve ilaç salım özelliklerinden dolayı ilaç taşıyıcı sistemi olarak en çok tercih edilen hidrojel yapılarındandır.

Blok kopolimerler bu hidrojel sistemlerinin oluşturulmasında kullanılan önemli polimer gruplarındandır. Bu polimer çözeltilerinin en önemli iki özelliği sıcaklığa bağlı miselleşmesi ve jel oluşumudur. Poloksamerler, diğer bir adıyla pluronikler, söz konusu blok kopolimer sınıfında olup, belli koşullarda jelleşme özelliğine sahip, hidrofilik ve hidrofobik bölgeleri sayesinde hem kendi içinde hem de moleküller arasında etkileşimler gösterebilen yapılardır. Pluronik sınıfının içerisinde en çok bilinen türlerinden olan Pluronik F127 (F127) polimeri, sıkça çalışılan hidrojel yapılarının temelinde rastlanan bir polimer grubudur. Amerikan Gıda ve İlaç Kurumu (U.S. FDA) onaylı olan F127, gıda katkısı, kozmetik, ilaç endüstrisi gibi alanlarda çok farklı uygulamalarda kullanılmasına rağmen fiziksel etkileşimlerle biraraya getirilen bu jellerin mekanik dayanımlarının yetersiz olması ve fizyolojik çevrede çok hızlı çözünüyor olması en büyük dezavantajlarındandır. Bu durumu iyileştirmek amacıyla, karışık misel yapılarının kullanılması, farklı polimer zincirleri ile etkileşimlerin artırılması, sisteme nanoparçacıkların eklenmesi veya iç-içe ağ yapılı sistemlerin oluşturulması gibi çok farklı yöntemler kullanılmaktadır.

Bu alışma kapsamında F127 esaslı, biyouyumlu, fiziksel çapraz bağlı, vucut ısısında jelleşebilen, muko-adeziv ve enjekte edilebilir ve en önemlisi mekanik dayanımları arttırılmış jel sistemleri oluşturulması amaçlanmıştır. Bu doğrultuda, F127 içeren ozeltilere sırasıyla hiyaluronik asit, siklodekstrinler ve turevleri, jelatin ve poli(laktik-ko-glikolik asit) (PLGA)/polietilen glikol (PEG) yapıları katılarak dört farklı sistem uzerinde çalışılmıştır. Her bir formulasyon için değişen konsantrasyonlarda yapıların akış davranışları, enjekte edilebilirlikleri ve muko-adeziv özellikleri detaylı bir şekilde incelenmiştir. Hedeflenen amaç doğrultusunda elde edilecek jellerin ilerleyen donemlerde kulak cerrahi operasyonlarında kullanılması planlanmaktadır.

**Anahtar Kelime:** F127; Pluronik; polimerik jel; enjekte edilebilirlik; muko-adezyon.





## **PLURONIC BASED INJECTABLE HYDROGELS**

### **SUMMARY**

From past to the present, important discoveries such as drug discovery, drug administration methods, drug delivery systems and dose adjustment strategies of the drug and their efficiency have been studied and it has been aimed to reach the desired area of drugs, especially in a controlled and targeted manner. Although a number of strategies have been developed in this direction, many studies have experienced problems in compliance with toxicity, biocompatibility and biodegradability criteria. It is aimed to create a variety of methods and systems by using structures (such as polymers, molecules) with very different origins from each other, which have approved certain conditions, for all processes ranging from transporting of a simple drug in the body up to gene therapy.

A polymer gel is a network formed by cross-linked polymer chains. This structure consists of two parts, a cross-linked network structure and a liquid part in the network. Characteristic properties of gels are between solid and liquid phase depending on temperature and time scales. Gels are in liquid form at higher temperatures and short time scales. In general, the liquid gels exhibit viscous behavior, while the solid gels exhibit elastic behavior. If the liquid phase is water in the gel network structure, these gels are known as hydrogels. These gels are one of the most important gel systems due to their superior and unique structure. Other main reason for this situation is that they show a high degree of similarity to tissues and organs due to their characteristics. In addition, hydrogel components can be selected and adapted with the desired properties. Especially, pH and temperature sensitive gels are the most preferred hydrogel structures as drug carrier systems due to their adjustable swelling and drug release properties.

Block copolymers are important polymer groups used in the formation of hydrogel systems. The most important properties of these polymer solutions are temperature-related micellization and gel formation. Poloxamers, in other words pluronics are in block copolymer class and they are capable of forming a physical cross-linked gel under appropriate conditions which have interactions between hydrophobic and hydrophilic regions and between other pluronic molecules. The pluronic F127 polymer, one of the most well-known species in the pluronic class, is a polymer group found on the basis of the frequently studied hydrogel structures. F127 is approved by U.S. Food and Drug Administration (U.S. FDA). This polymer can be used for many different applicatiob areas such as food additive, cosmetics and pharmaceutical industries. Disadvantages of using F127 hydrogels as biomarkers is limited due to their mechanical weakness and their rapid dissolution in the physiological environment. In order to improve mechanical properties of polymeric materials, many different methods are used such as using of mixed micelle structures, increasing interactions

with different polymer chains, addition of nanoparticles to gel system or to create interpenetrating polymer networks (IPN).

In this study, F127 based, biocompatible, physically cross-linked, muco-adhesive and injectable, being a gel at body temperature, and most importantly mechanical strength-enhanced gel systems are aimed to be created. In this respect, four different systems were studied by adding hyaluronic acid, cyclodextrins and derivatives, gelatin and

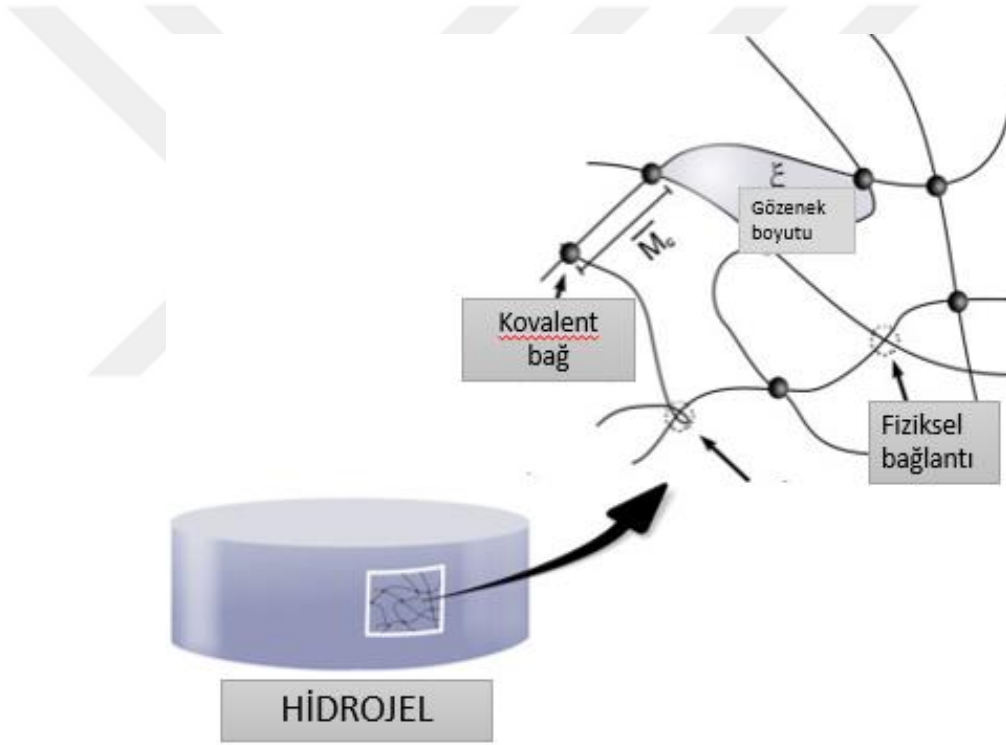
poly(lactic-co-glycolic acid) (PLGA) / polyethylene glycol (PEG) structures to the F127 solutions, respectively. The flow behaviors, injectability and muco-adhesive properties of gel structures were examined in details at variable concentrations for each formulation. In next stages, it is planned to use F127 hydrogels in ear surgical operations.

**Keywords:** F127; Pluronic; polymeric gel; injectability; muco-adhesion



## 1. GİRİŞ

Hidrojeller; yüksek oranda su tutma kapasitesine sahip, ağ yapılı, hidrofilik homopolimerlerden, kopolimerlerden ya da makromerlerden oluşan çapraz bağlı ve çözünmeyen üç-boyutlu polimerik yapılardır. Matriks yapılarını, içerdikleri çapraz bağlar, kristal ve amorf bölgeleri, hidrofilik ve hidrofobik bölümlerinin birbirleri ve moleküller arasında etkileşimler oluşturmakta ve bu sayede karakteristik özellikler kazandırmaktadır [1].



**Şekil 1.1** : Genel hidrojel yapısı. Sırasıyla, çapraz bağlanma noktaları  $M_c$ , ortalama moleküler ağırlığa sahip olan çapraz bağlanmış bir hidrojinin gözenek büyüklüğü  $\epsilon$  [2].

Yarım asırdan fazla bir süreden beri bilinen ve araştırılan yapılar olmakla birlikte, hidrojeller, birbirinden farklı alanlardaki birçok araştırmacının halen yakından ilgilendiği, sürekli olarak formülasyonları ve uygulamaları geliştirilen sistemlerdir.

Bir malzeme sınıfı olarak hidrojel sistemleri, moleküllerin ve hücrelerin difüzyonuna ve aynı zamanda bağlanmalarına izin veren, kendi kendini destekleyen yapılardır. Bununla

birlikte, hidrojeller son zamanlarda hücre terapötikleri, yara iyileşmesi, kırık / kemik rejenerasyonu ve sürekli ilaç salımı gibi çok çeşitli biyomedikal uygulamalarda kullanılmaktadır. Bu durumun temel sebepleri, biyouyumlulukları ve fiziksel özelliklerinden dolayı doğal dokulara büyük oranda benzerlik göstermeleridir [3].

Pluronic molekülleri, temelde A-B-A üçlü blok yapısındadır [4, 5]. Pluronic sınıfında bulunan ve hem çözünürlük hem de yapısında dolayı hidrofobik etkileşimlere sahip ve farklı moleküller ile etkileşime girebilmesinden dolayı geniş kullanım alanına sahip üyesi Pluronic® F127 (F127)'dir [6]. F127 moleküllerinin en büyük dezavantajı ise mekanik dayanımlarının yetersiz olmasıdır [7].

Tez çalışması kapsamında mekanik dayanımı artırmak amacı ile hem biyouyumlu hem de enjekte edilebilir olan jel sistemleri sentezlenmesi hedeflenmiştir. Bu bağlamda hiyalüronik asit, siklodekstrinler, PLGA ve jelatin gibi farklı polimerler ve bu polimerlerin kombinasyonları kullanılarak formülasyonlar hazırlanmıştır. Öncelikle en uygun çözelti konsantrasyonları ve jel bileşimindeki miktar tayinlerini belirlemek amacı ile optimizasyon çalışmaları yapılmıştır ve PLGA polimerinin sentezi gerçekleştirilmiştir. Sonrasında hazırlanan her jel formülasyonu için sıcaklık profil testleri, deformasyon ve frekans taramaları yapılmıştır. Ayrıca enjekte edilebilirlik ve muko-yapışkanlık özelliklerini belirlemek adına çeşitli yöntemler uygulanmıştır.

## 2. TEORİK KISIM

### 2.1 Hidrojeller

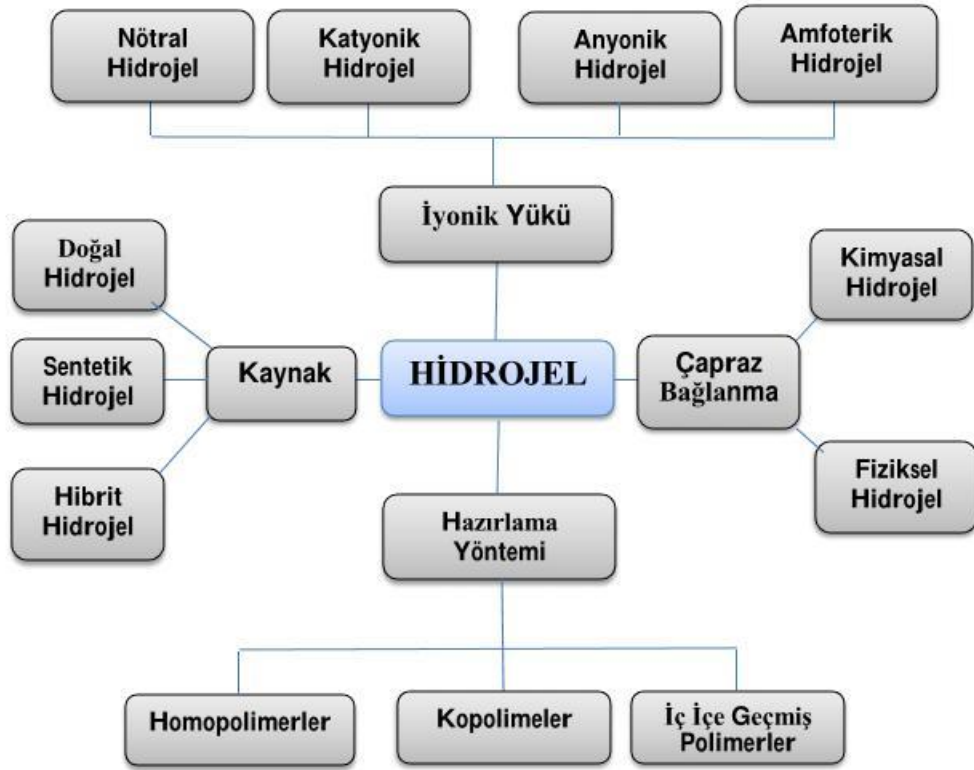
Hidrojeller yüksek miktarlarda su veya biyolojik materyal yükleme kapasitesine sahip üç boyutlu polimerik ağ şeklinde yapılardır [8]. Hidrojellerin şişme-büzülme, uyarılara cevap verme, sıvı-jel geçişleri, şekil hafızası gibi özellikleriyle birlikte proteinleri ve ilaçları dış çevreden korumaları, kozmetik, ilaç sektörü ve gıda endüstrisi gibi pek çok alanda geniş uygulama alanına sahip olmalarını sağlamıştır [3]. Ayrıca, büyük bir kısmı sudan oluşan (>%90) hidrojellerin hem biyoyumlu olmaları hem de çok farklı şekilde uygulanabiliyor olmaları da uygulama alanlarını arttırmıştır [9, 10]. Özellikle sıcaklığa ve pH'ya duyarlı akıllı hidrojeller, ayarlanabilir şişme ve ilaç salma özelliklerinden dolayı ilaç taşıyıcı sistem olarak kullanılmışlardır [11].

Hidrojeller, levhalar, mikropartiküller, nanopartiküller, kaplamalar ve filmler dahil olmak üzere çeşitli fiziksel formlarda formüle edilmektedir. Bu jel yapıları yaygın olarak klinik uygulamalarda ve deneysel tıpta, doku mühendisliği, rejeneratif tıp, diagnostik, hücre immobilizasyon, biyomoleküllerin veya hücrelerin ayrılmasını kapsayan ve biyolojik adezyonu düzenleyen bariyerler dahil olmak üzere çok çeşitli uygulamalar için kullanılmaktadır [12].

Şişme özellikleri, bu malzeme sınıfının çözücünün kendisi için sahip olduğu yüksek termodinamik afinite ile ilişkilidir. Geçtiğimiz yıllarda, bu özellik, çok yönlülük ve malzemelerin özelliklerinin yüksek düzeyde ayarlanabilmesiyle birlikte, hidrojellerin derinlemesine araştırılmasına yol açmıştır [13]. Bu ağlar, şekil ve mekanik dayanıklılık için çevrelerinin sıvı ortamları ve sıcaklıkları ile bağlantılı olarak bir denge kurmaktadır. Bu tür jellerde kullanılan monomerin ve/veya çapraz bağlayıcının konsantrasyon, yapı ve/veya işlevselliğindeki değişiklikler yapıyı değiştirebilmektedir. Buna bağlı olarak birçok yeni jel materyali, birçok amaç ile geliştirilmiş ve test edilerek belirli uygulamalarda kullanılmaya başlanmıştır

Yapısal olarak çeşitli duyarlı kısımlara sahip akıllı hidrojel sistemleri, sıcaklık, pH, iyon konsantrasyonu, ışık, manyetik alanlar, elektrik alanları ve kimyasallar dâhil olmak üzere birçok dış uyarana karşı duyarlılık gösterir. Ayrıca iki veya daha fazla uyarana duyarlı mekanizmayı birleştiren, çoklu tepki özelliklerine sahip polimerler de geliştirilmiştir.

Şekil 2.1’de görüldüğü üzere hidrojeller kaynaklarına, hazırlanma yöntemine, içerdikleri bağlara veya iyonik yükler gibi çok farklı özelliklerine göre sınıflandırılmaktadır. En yaygın sınıflandırmada, hidrojeller polimer zincirlerinin kimyasal ve fiziksel çapraz bağlar ile bir arada tutulmasına bağlı olarak sırasıyla kimyasal jeller ve fiziksel jeller olmak üzere iki ana gruba ayrılmaktadır. Kovalent bağlar kimyasal jelleri hazırlamakta kullanılırken fiziksel jeller de non-kovalent etkileşimler yani dipol-dipol bağları, hidrojen bağları, hidrofobik etkileşimler, van der Waals bağları gibi bağlar kullanılarak hazırlanır. Bu ikincil etkileşimler kendiliğinden toplanma (self-assembly) ve sonrasında gerçekleşen hidrojelleşmeden sorumludurlar [12, 14-16]. Fiziksel çapraz bağlar ile bir arada duran makromoleküller, pH, sıcaklık, ışık değişimleri, enzimler ve çözücü polaritesi gibi ortam koşullarının değişimi ile uyarılırlar [17-20].



Şekil 2.1 : Hidrojellerin sınıflandırılması [21].

İçeriklerine göre ise hidrojeller, genel anlamda doğal ve sentetik hidrojeller olmak üzere iki ayrı kategoride sınıflandırılabilir. Doğal hidrojeller arasında kollajen, fibrin, hiyalüronik asit, matrijel, kitosan ve aljinat gibi doğal malzemelerin türevleri bulunur. Bu bileşenler, hücre dışı matrisin (ECM) *in vivo* bileşenleri oldukları için fizyolojik hidrojeller olarak bilinmektedirler. Bununla birlikte, doğal hidrojellerin iki ana dezavantajı, mikro yapılarının ve özelliklerinin deneyler arasında tekrarlanabilir bir şekilde kontrol edilmesinin zor olmasıdır. Mekanik özelliklerinin ve detaylarının ince ayrıntıları, polimerizasyona veya jelleşme koşullarına bağlı olarak çoğu zaman iyi anlaşılammaktadır. Ayrıca kullanılan doğal polimerlerin kökenlerinden kaynaklı olarak tekrar birebir elde edilmeleri pek mümkün olmadığından, ürün partileri birbirinden farklılık göstermektedir. Bu sebeple elde edilen hidrojellerde de farklılık gözlemlenmektedir.

Buna karşılık, poli(etilen glikol) diakrilat, poli(akril amit), poli(vinil alkol) gibi sentetik hidrojeller, daha tekrarlanabilir yapılardır. Bu gereklilik sebebiyle polimerizasyon koşulları, sıcaklık ve çevre kontrolü de dahil olmak üzere dikkatli bir şekilde hazırlanmaktadır. Sentetik yapıli hidrojeller, jel kompozisyonu ve mekanik özellikler açısından istenilen malzemeyi oluştururken öncül yapıların konsantrasyonunu veya moleküler ağırlığını değiştirebilme veya çapraz bağlayıcıların yüzdesini değiştirebilme gibi imkanlardan dolayı daha güvenilir ve kolaylık sağlayan sistemlerdir. Ayrıca, değişken zaman aralıklarında hidrolizlenebilir veya biyolojik olarak çözünebilir olması için seçilebilir veya ayarlanabilirler [22].

Hidrojeller, jel matriksindeki çapraz bağların yoğunluğu kontrol edilerek, gözenekli yapıları ve şişme özelliği gösterdikleri sulu ortam için hidrojellerin afiniteleri kolayca ayarlanabilmektedir. Gözenekli yapıları, ilaçların jel matrisine yüklenmesine ve ardından ilaç salımının küçük bir molekülün veya bir makromolekülün jel matrisi boyunca difüzyon katsayısına bağlı bir oranda uygulanmasına izin vermektedir. Aslında, hidrojellerin ilaç salımı için yararları büyük ölçüde farmakokinetik olmasına ve spesifik olarak sistemik dağılım için de kullanılabilmelerine rağmen, çevre dokularda yüksek bir lokal ilaç konsantrasyonunu koruyarak, ilaçların yavaşça salım yapıldığı bir depo formülasyonu da oluşturulmaktadır. Hidrojeller, peritondaki ve diğer canlı ortamlardaki *in vivo* kullanımlarında gösterildiği gibi genellikle biyoyuyumludurlar [23].

Hidrojellerin yüksek oranda su içermesi ve doğal ekstraselüler matrikse fizyokimyasal benzerliği biyoyuyumlu olmalarının temelini oluşturmaktadır. Biyobozunurluk veya

çözünme enzimatik, hidrolitik veya çevresel yollar ile olacak biçimde tasarlanmaktadır. Hidrojeller nispeten deforme olmakta ve uygulandıkları yüzeyin şekline uyum sağlamaktadırlar. İkinci bağlamda, bazı hidrojellerin muko veya biyo-yapışkan özellikleri, bunları uygulama bölgesinde immobilize etmede avantaj olarak gösterilmektedir [12].

### **2.1.1 Kimyasal çapraz bağlı hidrojeller**

Kimyasal çapraz bağlı hidrojeller, ağ yapısında kovalent bağlar içeren ve mekanik dayanıklılıkları, fiziksel hidrojellere göre çok daha fazla olan jel sistemleridir. Fiziksel jellerin aksine, herhangi bir çevresel faktörden etkilenmeksizin, ağ yapıları tersinmezdir. Bu hidrojel sistemlerinde, hidrofilik monomerler çapraz bağlayıcı monomer varlığında, polimerizasyon ve çapraz bağlanma reaksiyonları ile üç boyutlu kimyasal çapraz bağlı jel yapısı oluşmaktadır. Jel sentezlerinde kullanılan üç veya daha fazla fonksiyonlu monomere çapraz bağlayıcı denir. Polimerizasyon sırasındaki konsantrasyonu jellerin şişme ve elastik özelliklerini belirlemektedir. Kullanılan çapraz bağlama reaktifinin miktarının fazla olması çapraz bağ yoğunluğunun yüksek olmasına yol açar. Bu da şişme değerlerini azaltır [8].

### **2.1.2 Fiziksel çapraz bağlı hidrojeller**

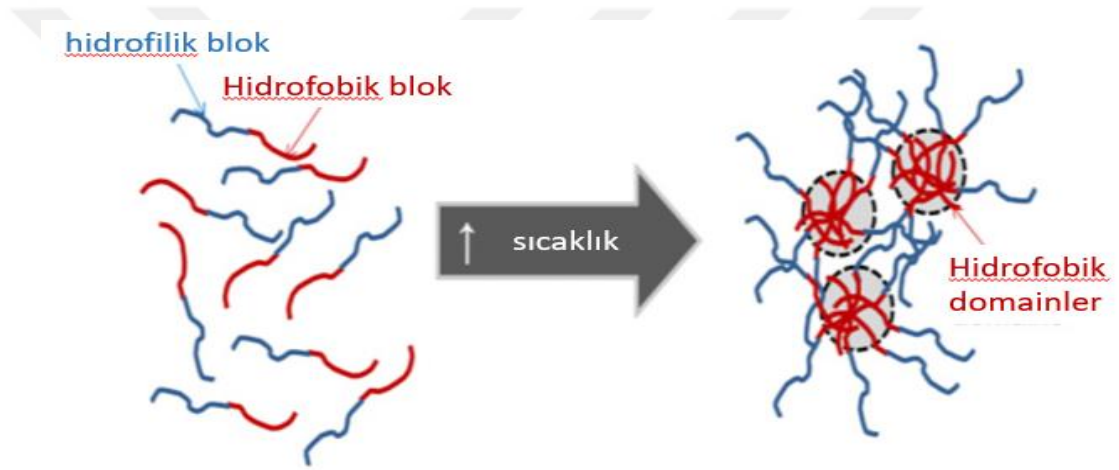
Polimer zincirlerinin fiziksel çapraz bağlanması, çeşitli pH, sıcaklık, iyonik kuvvet gibi çevresel tetikleyiciler ve hidrofobik etkileşimler, yük yoğunlaşması, hidrojen bağları gibi çeşitli fizikokimyasal etkileşimler kullanılarak gerçekleştirilmektedir. Fiziksel hidrojellerdeki ağ yapıları tersinirdir ve hem aynı zincir üzerindeki molekül içi bağlarla hem de farklı zincirler arasındaki moleküller arası bağların varlığıyla oluşmaktadır. Bu yöntem ile hazırlanan jeller biyouyumluluk ve toksisite açısından büyük bir avantaj sağlamaktadır. Diğer yandan mekanik dayanımları zayıftır [12].

#### **2.1.2.1 Hidrofobik etkileşimler**

Hidrofobik bölgelere sahip polimerler, sulu ortamlarda sol-jel kimyası olarak da bilinen ters termal jelleşme ile çapraz bağlanmaktadır. Bu tür jelleşme özelliklerine sahip polimerler jelatörlar olarak adlandırılır ve tipik olarak orta derecede hidrofobiktir. Hidrofobikliğe dayalı jelleşme genellikle Şekil 2.2'de gösterilen mekanizma yoluyla meydana gelir. Hidrofobik bölüm, post-polimerizasyon graft veya amfilik blok kopolimer sentezleme yoluyla doğrudan polimerin hidrofilik bölümüne



bağlanır. Bu amfifilik polimerler düşük sıcaklıkta suda çözünürdür. Bununla birlikte, sıcaklık arttıkça, hidrofobik ünitelere, suyla temas eden hidrofobik yüzey alanını en aza indirmek, hidrofobik alanları çevreleyen su miktarını azaltmak ve çözücü entropisini en üst seviyeye çıkarmak için bir araya gelirler. Hidrofobik etkileşim, entalpi ve entropi kaynaklı olup sıcaklıktan oldukça fazla etkilenmektedir. Sıcaklık arttıkça hidrofobik grupların çevresindeki su moleküllerinin kafes yapısı bozulmakta ve hidrofobik gruplar birbirini daha çok çekmektedir [24]. Jelleşme sıcaklığı, polimerin konsantrasyonuna, hidrofobik bloğun uzunluğuna ve polimerin kimyasal yapısına bağlıdır. Hidrofobik blok sayısı ne kadar fazla olursa, hidrofobik kümelenme için itici kuvvet o kadar artmakta ve jelleşme düşük sıcaklıklarda gerçekleşmektedir [25].



**Şekil 2.2 :** Hidrofobik etkileşimlerden kaynaklanan fiziksel jelleşme mekanizması [25].

### 2.1.2.2 Van der Waals etkileşimleri

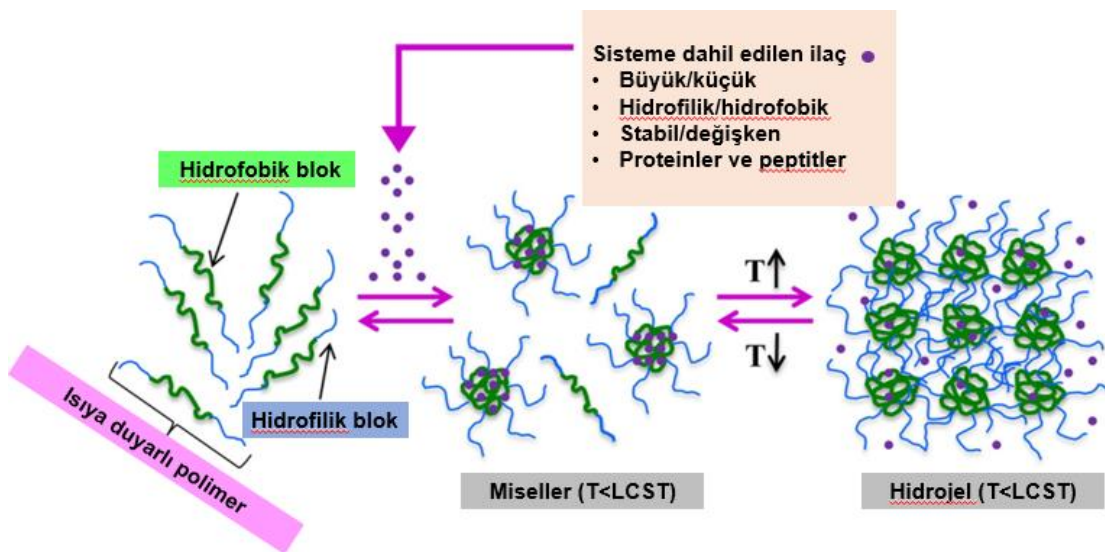
Van der Waals etkileşimi, herhangi bir anda bir atomun veya molekülün çevresinde bulunan elektronik yük dağılımındaki değişiktir. Bu değişiklik ile atomda veya molekülde pozitif ve negatif yük merkezleri oluşmaktadır. Yük merkezleri diğer moleküllerde de zayıf bir polarizasyona neden olmaktadır. Söz konusu polarizasyonla meydana gelen dipol yapıları birbirlerini çekmekte ve bu kuvvet “dispersiyon kuvveti” olarak bilinmektedir. Van der Waals etkileşimleri, polimer ağyapıdaki zincirler üzerinde bulunan gruplar arasında da bulunmaktadır. Böylelikle polimer zincirleri arasında oluşan çekim kuvveti, jel yapısının büzülme davranışı göstermesinde etkili olmaktadır [24, 26].

### 2.1.2.3 Elektrostatik etkileşimler

Elektrostatik etkileşim sonucunda aynı cins yüklü gruplar birbirini iterken, farklı cins gruplar birbirini çekmektedir. Bu durum, yüklü gruplar içeren polimer zincirleri ve bu zincirlerden oluşmuş polielektrolit jeller için de geçerlidir. Jeli meydana getiren ağ yapıdaki polimer zincirlerinin pozitif veya negatif yüklü grupları arasında itme kuvvetleri meydana gelir ve ağyapı genişleyerek jelin şişmesine neden olur [27].

### 2.1.3 Uyarı cevap hidrojelleri

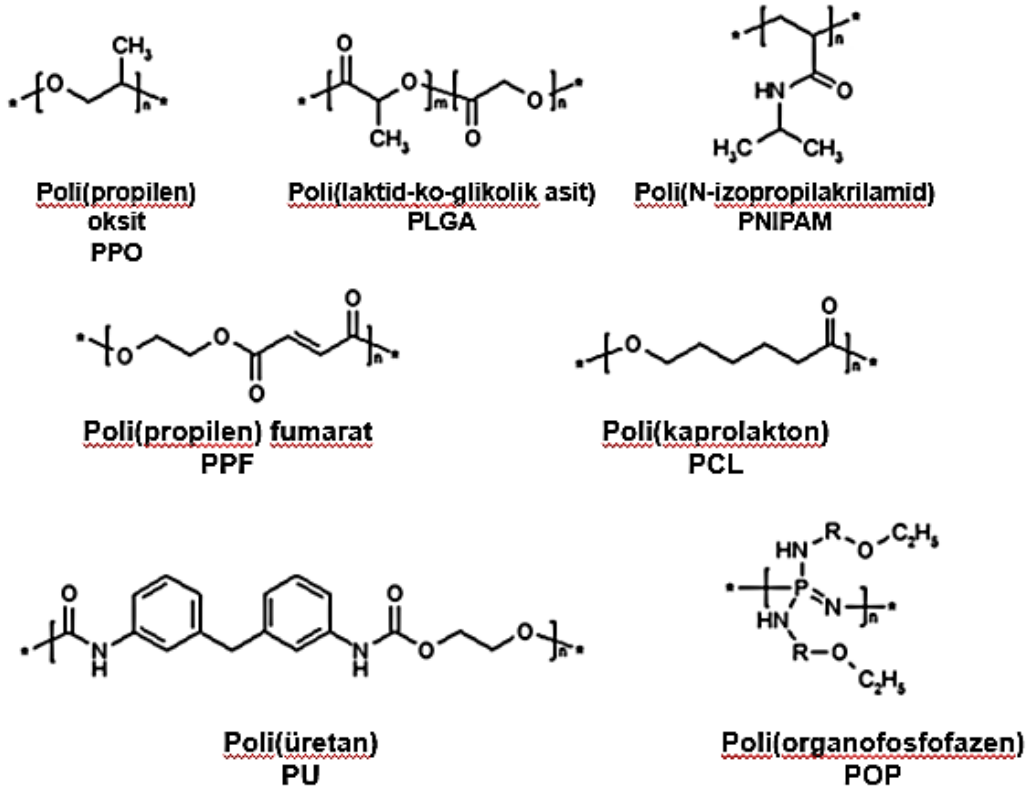
Sıcaklık, pH, ışık, iyonik kuvvet, elektrik ve manyetik alan gibi çevresel faktörlerin değişimine karşı şişme özelliklerinde, ağ yapılarında, geçirgenliklerinde ve mekanik dayanımlarında ani değişimler göstererek cevap veren jeller uyarı cevap hidrojelleridir. Aynı zamanda “akıllı” veya “duyarlı” hidrojeller de denmektedir [28, 29]. pH, iyonik faktörler ve kimyasal ajanlar gibi uyaranlar, polimer zincirleri arasındaki veya polimer zincirleri ile çözücü arasındaki moleküler seviyede etkileşimleri değiştirirken, sıcaklık, elektrik veya manyetik alanlar ve mekanik gerilme gibi fiziksel uyaranlar çeşitli enerji kaynaklarının seviyesini etkileyerek, kritik başlangıç noktalarındaki moleküler etkileşimleri değiştirir. Bazı uyarı-cevap mekanizmaları, ikili yanıt veren polimer sistemler olarak adlandırılan tek bir polimer sisteminde birleştirilmek üzere geliştirilmiştir [30]. Bu tarz ikili ve hatta ikiden fazla uyarıya tepki veren ağyapılar içeren çoklu yanıt veren sistemler de mümkündür.



Şekil 2.3 : Pluronic polimerlerinin tersinir bir şekilde sıcaklığa bağlı misel ve sonrasında hidrojel yapısını oluşturması [31].

### 2.1.3.1 Sıcaklığa duyarlı hidrojeller

Akıllı jeller içerisinde en çok çalışılan grup sıcaklığa duyarlı sistemlerdir. Sıcaklık hidrojel yapılarının faz geçişlerini ve fiziksel özelliklerini etkileyebilen temel faktörlerdendir. Sıcaklık değişimi ile lipofilik denge değişmekte olup jel yapısını oluşturan hidrofilik ve hidrofobik grupların su ile etkileşimi de değişmektedir. Bu durum hacim-faz değişmelerine sebep olmaktadır [32]. Sıcaklığa duyarlı hidrojellerde; ağ yapıyı oluşturan polimerden en az birinin, sıcaklığa bağlı olarak çözücü ortamında çözünürlük derecesi farklı olmalıdır. Aynı zamanda sıcaklığa duyarlı hidrojeller oluşturulurken, jel bileşenlerinin belli sıcaklıkların üzerinde veya altında çözünmemeleri gerekmektedir. Bu sıcaklıkta görülen hacim değişimi polimer zincirinin bileşenlerine ve hidrojelin iyonizasyon derecesine bağlı olarak geri dönüşümlüdür. Faz değişimi gözlemlenen düşük sıcaklığa “alt kritik çözelti sıcaklığı - AKÇS (Lower Critical Solution Temperature - LCST)” ve en yüksek sıcaklığı ise “üst kritik çözelti sıcaklığı - ÜKÇS (Upper Critical Solution Temperature - UCST)” denir [33].



Şekil 2.4 : Fiziyojik sıcaklıkta ters termal jelleşmeye maruz kalabilen bazı yaygın hidrofobik blokların kimyasal yapıları [12].

### **2.1.3.2 pH'ya duyarlı hidrojeller**

pH duyarlı hidrojeller, çevresel pH değişimlerine, yapılarında bulunan karboksilik asit veya birincil amin gibi zayıf asidik veya bazik gruplar, veya sülfonik asit ya da kuaterner amonyum tuzları gibi kuvvetli asit veya bazlar sayesinde yanıt oluşturmaktadır. Bu gruplar sayesinde verdiği tepki sonucu jelin iyonizasyonu da değişmektedir. Bu ani değişim ozmotik şişme kuvveti yaratan iyonize gruplar arasındaki elektrostatik itme kuvvetlerini oluşturarak ani hacim geçişine neden olmaktadır [34]. Katyonik uyarıya duyarlı polimerler ile oluşturulan jeller düşük pH değerlerinde şişmiş, yüksek pH değerlerinde ise büzülmüş halde bulunmaktadır. Anyonik uyarıya duyarlı polimerlerle oluşan yapılar ise bazik pH değerlerinde şişerken, asidik pH'larda büzülmüş halde bulunmaktadır. Yapılarında hem pozitif hem de negatif yüklü gruplar bulunduran poliamfolit yapılı jeller ise, hem düşük hem de yüksek pH değerlerinde fazla miktarda çözücü (su) absorplarken, yapıdaki anyonik ve katyonik yük miktarlarının eşit olduğu bir pH değerinde minimum miktarda su absorplamaktadır [35, 36].

### **2.1.4 Enjekte edilebilir ve muko-adeziv hidrojeller**

Enjekte edilebilir polimerik jel sistemleri, oda sıcaklığında sıvı halde bulunan ve vücut sıcaklığında jelleşerek katılaşma özelliğine sahip sistemlerdir. Bu ağ yapılar, hücre ve ilaç taşıma, hücre immobilizasyonu ve doku rejenerasyonu gibi alanlarda kullanılmak üzere araştırmacıların ilgisini çekmektedir [37]. İn-situ oluşturulmuş hidrojeller, kontrollü ve hedefli taşıma için depo görevi görür. Basit formülasyonları, yüksek yükleme kapasiteleri, uygulama kolaylığı ve toksik etkiden uzak olmaları başlıca avantajlarıdır. Enjekte edilebilir hidrojeller, çeşitli fiziksel ve kimyasal çapraz bağlanma yöntemleri kullanılarak Şekil 2.5'teki gibi hazırlanmaktadır [38]. Bununla birlikte, kimyasal yöntemler ile elde edilen jel sistemleri daha önce belirtildiği üzere geri dönüşümlü değildir ve jel-sol durumuna geçememektedir [39].



**Şekil 2.5 :** Farklı hidrojel hazırlama teknikleri [22]

Kimyasal yöntemlerin aksine, stereo kompleksleşme, iyonik etkileşimler, hidrojen bağı ve hidrofobik etkileşimler gibi fizikokimyasal etkileşimler ile elde edilebilen, fiziksel çapraz bağlı, tersinir özelliğe sahip jel sistemleri oluşturulmaktadır [40, 41]. Bu fiziksel jeller mekanik olarak zayıf olduğu için geri dönüşümlüdür. Fiziksel birleşme, ağda herhangi bir bozulma meydana gelirse, jellerin kendiliğinden iyileşmesini veya yeniden birleştirilmesini sağlar. Bu geri dönüşümlü, kendiliğinden iyileşen ve uyarılara duyarlı jeller, sol-jel veya jel-sol geçişlerinden dolayı dış uyarılara tepki gösterebilmektedirler [15, 42].

Son yıllarda özellikle geleneksel açık ameliyatları en aza indirme isteği ve ihtiyacı, intravenöz kemoterapötik uygulaması gibi olumsuz ve zorlukları olan tedavi ve uygulamalar yerine, enjekte edilebilir, invaziv olmayan, hedefli ve kontrollü salım yapabilen hidrojel-ilaç sistemleri oluşturulması amaçlanmıştır. Enjekte edilebilir jeller uygulanma kolaylığı, defektli bölgeyi tamamen doldurulması ve geçirgenlikleri gibi sahip oldukları önemli özellikler sayesinde oldukça kullanışlı biyomalzemeler olarak ortaya çıkmıştır (Şekil 2.6).



**Şekil 2.6 :** Enjekte edilebilir hidrojellerin genel yapılara kıyasla avantajları [22].

Enjekte edilebilir hidrojellerin hazırlanmasında biyolojik olarak çözünebilen doğal kökenli ve sentetik olmak üzere farklı kökenlerde polimerler kullanılmaktadır. Kitosan, hiyalüronik asit, kondroitin sülfat, dekstran sülfat, aljinat, pektin, kolajen, jelatin, heparin ve fibrin gibi yapılar doğal olarak türetilmiş polimerler grubunu oluştururken sentetik polimerler grubu polipeptitler, poliesterler, polifosfazenler gibi polimer yapılarından oluşmaktadır. Sentetik polimerlere kıyasla genellikle doğal olarak türetilmiş polimerler, hücre çoğalması ve farklılaşmasını indüklemekte ve hücrelerle daha iyi etkileşime girmektedir. Diğer yandan, sentetik polimerler ayarlanabilir mekanik özelliklere ve bozulma profillerine sahiptir [22].

Yapıların enjekte edilebilirliklerini ölçmek amacıyla çeşitli yöntemler mevcut olmakla birlikte Tekstür Analiz cihazında standart bir şırınga testi uygulanmaktadır. Bu teste göre, 10 mm'lik bir yer değiştirme ve 1mm/s'lik enjeksiyon hızı, hastaya el ile şırınga salımına karşılık gelmektedir. Pistonu yerinden çıkarmak için gereken enjeksiyon kuvveti, 50 Hz'lik bir frekansta pistonun yer değiştirmesinin (mm) bir fonksiyonu olarak ölçülmektedir [43]. Kuvvet-yer değiştirme sistemine dair elde edilecek olan sonuçları etkileyen parametreler,

- Başlangıç kayma kuvveti: Pistonun hareketini başlatmak için gereken kuvvet;
- Maksimum kuvvet ( $F_{max}$ ): Pistonun şırınganın ön ucundaki rotasını bitirmesinden önce ölçülen en yüksek kuvvet;
- Dinamik kayma kuvveti: Şırınganın içeriğini dışarı atmak üzere pistonun hareketini sürdürmek için gereken kuvvet şeklindedir.

Ayrıca Tablo 2.1’de gösterildiği üzere uygulanan enjeksiyon kuvvetinin enjekte edilebilirlik ile korelasyonu gösterilmiştir [43].

**Tablo 2.1 :** Enjeksiyon kuvvetinin *in vitro* ve *in vivo* korelasyonu [43].

Enjeksiyon kuvveti, N ( <i>in vitro</i> )	Enjekte Edilebilirlik ( <i>in vivo</i> )
0-10	Çok kolay enjekte edilebilir, iğne boyutunu küçültmek mümkündür
11-25	Enjekte edilmesi kolay
26-50	Enjekte edilebilir
51-100	Bazı zorluklarla enjekte edilebilir
100-130	Enjekte edilmesi zor, daha büyük iğne boyutu önerilir
>130	Enjekte edilmesi çok zor, daha büyük iğne boyutu gereklidir

Biyo-yapışkanlık sentetik ya da biyolojik kökenli makromoleküllerin ve hidrokoloidlerin biyolojik dokulara adezyonu olarak tanımlanmaktadır. Biyo-adezyon kuvveti, yapışkan özellikteki materyal ile dokuların bir arada tutulması için gereken kuvveti ifade eden yüzeyler arası kuvvet olarak bilinmektedir. Bu özelliğin belirlenmesi için çok farklı sistemler mevcut olmakla birlikte temelde çekme-yapışma ve kayma dayanımı gibi yapıların tahribatına dayanmaktadır [44].

Muko-yapışkan polimerler, farklı farmasötik sistemlerde kullanılan materyaller grubudur. Mukozal membranlarla etkileşimi sağlayabilen çok sayıda fonksiyonel organik grup (yani karboksilik, hidroksil, amid ve amin grupları) içeren hidrofilik makromoleküller olarak tanımlanmaktadır [45, 46]. Bu polimerler mukoza ile etkileşimlerine göre sınıflandırılabilir (kovalent bağlar veya kovalent olmayan moleküller arası etkileşimler). Muko-yapışkanlığı arttırdığına inanılan kovalent olmayan bağlar arasında hidrojen bağları, hidrofobik etkileşimler ve elektrostatik etkileşimler bulunmaktadır. İyonik olmayan muko-yapışkan polimerler olabildiği gibi katyonik veya anyonikte olabilmektedir [47-49]. Anyonik polimerler olan akrilik asit türevlerinin, mukus glikoproteininin karboksil ve hidroksil grupları arasında, pKa'larının altında hidrojen bağları oluşturduklarına inanılmaktadır. Ayrıca karboksilat formundayken iyon-dipol etkileşimlerinin olabileceği de öne sürülmüştür [48].

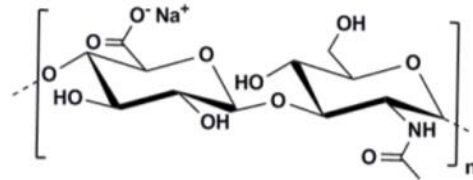
Dahası, poli(akrilik asit) türevlerinin, yapışkanlığı arttırmak için poloksamer 407 (F127) gibi ısıya duyarlı polimerler ile çözeltileri hazırlanmaktadır [50]. Isıya duyarlı polimerler, kritik jel sıcaklığında çözelti formunda jel formuna geçiş yapmadan önce malzemenin vücuda verildiği esnada aplikatörden geçişine olanak sağlamaktadır [50-52].

### 2.1.5 Hidrojel sistemlerinde kullanılan bazı polimerler

Polimerik jellerin ağyapılarını oluşturmak üzere kullanılan sentetik ve doğal polimer sistemleri oldukça fazla olmakla birlikte bu tez kapsamında çalışılan hiyalüronik asit, jelatin ve sonrasında pluronik yapılarından detaylı bir şekilde bahsedilecektir.

#### 2.1.5.1 Hiyalüronik asit

Hiyalüronik asit (HA), doğal ekstrasellüler matriste (ECM) bulunan, çekirdeği suya karşı yüksek afinite gösteren polisakkarit yapıdan oluşan, glikozaminoglikandır (Şekil 2.7). Genellikle, bu biyomateryalin mekanik özelliklerini arttırmak için zincirleri arasında kovalent çapraz bağlanma sağlanır. Ancak çok fazla değişiklik yapılması ve çapraz bağlanma yönteminin kullanılması malzemenin biyoyumluluk özelliğini etkileyebilmektedir. HA, farklı moleküler ağırlıklara sahip olabilir. Düşük ve yüksek moleküler ağırlıklı HA, birbirine zıt hücre davranışlarına sebep olmaktadır [53].



Şekil 2.7 : Hiyalüronik asitin kimyasal yapısı [31].

HA makromolekülleri anti-enflamatuar etki, immünosüpresif ve anjiyojenezi bloke etme özelliği göstermektedir. Daha küçük HA molekülleri ise endotel hücrelerinin göçü ve anjiyojenezi sağlayarak zıt davranışı tetiklemektedir [54, 55]. HA, doğada ısıya duyarlı değildir, ancak, biyolojik olarak parçalanabilir, biyolojik olarak uyumlu ve ısıya duyarlı olan modifiye bir hidrojel oluşturmak için ısıya duyarlı polimerler ile konjüge edilmektedir [56]. Bir maddenin parçalanması sırasında molekülün anjiyojenik gücünden yararlanmak için HA hidrojelleri elde edilebilmektedir. Kisiel ve ark., hücre yapışma ligandlarının da var olduğu, proteazlar ile yıkılabilen peptidlerle



HA moleküllerini çapraz bağlayarak hücre yayılımını geliştirmek üzere ağ yapıyı oluşturmuştur [57]. Diğer yandan, Shu ve ark. ECM'yi kopolimerize eden HA ve jelatine benzeyen yapıları oluşturmayı denemişlerdir. Hyaluronan'a bir tiyol grubu eklenmesi ve bu şekilde disülfid bağları sayesinde fonksiyon kazandırılmış hyaluronan ve jelatini çapraz bağlayarak ağ yapıyı oluşturmuşlardır [58].

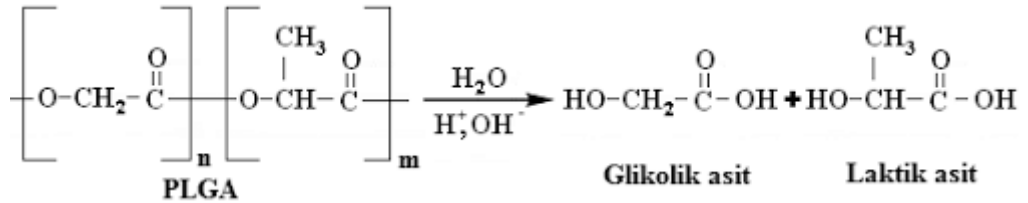
### 2.1.5.2 Jelatin

Jelatin, ECM'nin ana bileşenlerinden biri olan kollajenin denatürasyonu ile oluşan, ısıya duyarlı bir proteindir [59]. Kollajen orijinal dokudaki antijenlerin varlığı nedeniyle immünojeniklik problemleri taşımaktadır. Jelatin, glisin içeriği yüksek ( $\approx 25\%$ ), uzun  $\alpha$  heliks yapısında bir protein maddesidir [60]. Proses yöntemine göre jelatin genelde, tip A (asit proses) ve tip B (alkalin proses) jelatin olmak üzere iki türdür. Farklı yöntem ile elde edilen jelatinlerin, izoelektrik noktaları ve pH'ları farklıdır. Ayrıca jelatin, mükemmel biyoyumluluk, biyobozunurluk ve biyoadeziv özellik gösteren, immün sistemi uyardırmayan, hücreye bağlanma ve çoğalma kapasitesi yüksek polimerlerdendir [61-63]. Ancak insan vücut ısısında jelatinin sıvı formda olması, mekanik sağlamlığının ve stabilizasyonun zayıf olması, jelatin içeren hidrojellerin kullanım alanlarını sınırlamaktadır [64]. Bu problemleri ortadan kaldırmak üzere kullanılan yöntemlerden bazıları kimyasal çapraz bağlayıcı ya da foto çapraz bağlayıcı ajanlar varlığında jelatinin kimyasal modifikasyonun gerçekleştirilmesidir [65]. Bu konuda literatürde birçok çalışma olmasına rağmen kullanılan çapraz bağlayıcıların varlığı hem biyoyumluluk hem de hücresel toksisite gibi sorunların ortaya çıkmasına neden olmuştur [66]. Doğal ECM ile olan benzerliğinden dolayı, jelatin ile kaplanan veya jelatin içeren yapılar oluşturulmak hedeflenmiştir. Kitosan-jelatin, fibroin-jelatin, aljinat-jelatin, dekstran-jelatin en bilinen yapılarıdır [22]. Das ve ark., üç boyutlu doku yapılarında kullanılmak üzere basılabilen, bir fibroin-jelatin biyomateryali oluşturmayı hedeflemişlerdir ve buna bağlı olarak iki çeşit hidrojel geliştirmişlerdir. Ağ yapılar oluşturulurken sonikasyon ile çapraz bağlanma ve tirozinaz enzimi ile çapraz bağlanma yöntemleri kullanılmıştır. Sonuçlara göre sonikasyon ile elde edilen jelatin-fibroin hidrojelleri, osteojenik farklılaşmayı daha iyi desteklerken, diğer yöntem ile hazırlanmış jelatin-fibroin daha iyi kondrojenik ve adipogenik farklılaşmayı desteklediği belirtilmiştir [67]. Başka bir çalışma da ise jelatin farklı konsantrasyonlarda hiyalüronik asit ile bir araya getirilerek jelatinin mekanik dayanımını artırmayı hedeflemişlerdir [68].

Pluronic içeren sistemlerde olduğu gibi deri, kemik ve bağ dokularından ekstrakte edilen kolajenin kısmi hidrolizi sonucu oluşan jelatin biyopolimeri de bir jel-sol geçişi göstermektedir. Jelatin için geçiş sıcaklığı 30°C dolaylarında olup vücut sıcaklığında çözelti formuna geçmesi uygulama alanlarını sınırlandırmaktadır. Düşük sıcaklıklarda sol formunda olan F127 zincirlerinin tam tersi davranışa sahip jelatin üniteleriyle birlikte kullanımına dair çok az sayıda çalışma mevcuttur. Zhao ve ark. çalışmasında, hem jelatin türü hem de konsantrasyonlar göz önünde bulundurularak, F127-jelatin kompozitleri oluşturulmuş ve mekanik dayanım artırılmasında jelatin konsantrasyonunun yanı sıra türünün oldukça etkili olduğu gösterilmiştir [69]. Ayrıca Tatini ve ark.'da jelatin/F127 kompozitleri hazırlayarak, tekli polimer jellerine kıyasla, fiziksel etkileşimler ile bir araya getirilmiş daha stabil yapılar sayesinde hidrofobik ve hidrofilik ilaçlar için taşıma sistemi oluşturmayı hedeflemişlerdir [70].

### 2.1.5.3 PLGA

Poliester PLGA, poli(laktik asit) (PLA) ve poli(glikolik asit) (PGA) yapılarının bir kopolimeridir. FDA onaylı olmakla birlikte tasarım ve performans bakımından ilaç teslimi için mevcut en iyi tanımlanmış biyomateryaldir. Poli(laktik asit), tipik olarak klasik stereokimyasal terimlerde sırasıyla D veya L formunda ve bazen R ve S formunda tarif edilen bir asimetrik  $\alpha$ -karbon içerir. Polimer PLA'nın enantiyomerik formları poli(D-laktik asit) (PDLA) ve poli(L-laktik) asittir (PLLA). PLGA genellikle D ve L-laktik asit formlarının eşit oranda olduğu poli(D, L-laktik-ko-glikolik asit) için bir kısaltmadır [71].



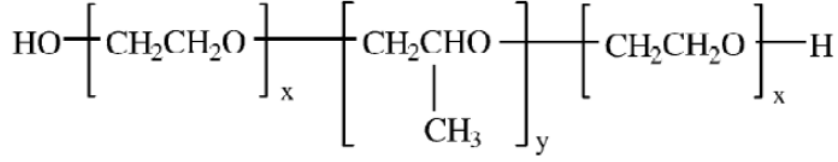
Şekil 2.8 : PLGA polimerinin hidrolizi [72].

Bu kopolimeri oluşturan monomerlerin oranları ve farklı molekül ağırlıklarındaki monomerler kullanılması, farklı fiziksel, kimyasal ve fizikokimyasal özelliklerde PLGA polimerleri sentezlenmesini sağlamaktadır. Polimer özelliklerine bağlı olarak ilaç taşıyıcı sistemlerde ilaç salımının zaman ve kontrolü belirlenerek ayarlanabilmektedir [73]. PLGA'nın kristal yapısı kopolimer zincirindeki iki

monomer bileşeninin molar oranına bağlıdır. %70'den az PGA içeren PLGA kopolimerleri amorf yapıda olup, diklorometan, etil asetat gibi organik çözücülerde kolaylıkla çözünürler. Ayrıca PGA hidrofilik özellikte olduğundan hücre içi koşullarda kolaylıkla çözünmektedir. PLA ise yan zincirinde PGA'ya göre fazladan bir metil grubu taşıdığından daha hidrofobik özelliktedir. Bu özellik PLA'nın fizyolojik koşullarda PGA'ya göre çok daha uzun sürede bozunmasına neden olmaktadır. Dolayısıyla ile PLGA'nın vücut ortamında bozunma özelliği kopolimerin molekül ağırlığına ve laktik:glisolik oranına bağlıdır. Yüksek glisolik asit içeriği ve düşük molekül ağırlığı, biyobozunma oranını artırırken laktid içeriği yüksek olan PLGA, daha az hidrofiliktir, daha az su absorplar ve daha yavaş bir şekilde hidrolize olur [74, 75]. Literatürde PLGA polimerinin PEG ile bir araya getirilerek oluşturulan polimer karışımının  $T_g$  değerinin  $37^\circ\text{C}$  olduğu belirtilmiştir. Bu polimer karışımının F127 kopolimeri ile bir araya getirilerek enjekte edilebilir, biyoyumlu bir kompozit yapı oluşturarak doku mühendisliği uygulamalarında kullanılması amaçlanmıştır [76].

## 2.2 Pluronik

Pluronik® blok kopolimerleri diğer bir adıyla poloksamerler, hidrofilik poli(etilen oksit) (PEO) ve hidrofobik poli(propilen oksit) (PPO) bloklardan oluşmaktadır. FDA onaylı, iyonik olmayan yüzey aktif madde özelliği gösteren bu polimerlerin toksisitesi tolere edilmektedir. Sıcaklığa duyarlı ve vücut ısısında jelleşebilen pluronik molekülleri, temelde A-B-A ( $\text{EO}_x\text{-PO}_y\text{-EO}_x$ ) üçlü blok yapısı göstermektedir [4, 5]. Temel sistemi oluşturan hidrofilik EO (x) ve hidrofobik PO (y) birimlerinin sayısının değişmesi ile farklı amfifilik blok kopolimerler oluşmaktadır. Çeşitli x ve y değerlerine sahip kopolimerler, farklı hidrofilik-lipofilik denge (HLB) ile karakterize edilmektedir (Şekil 2.9).



EO

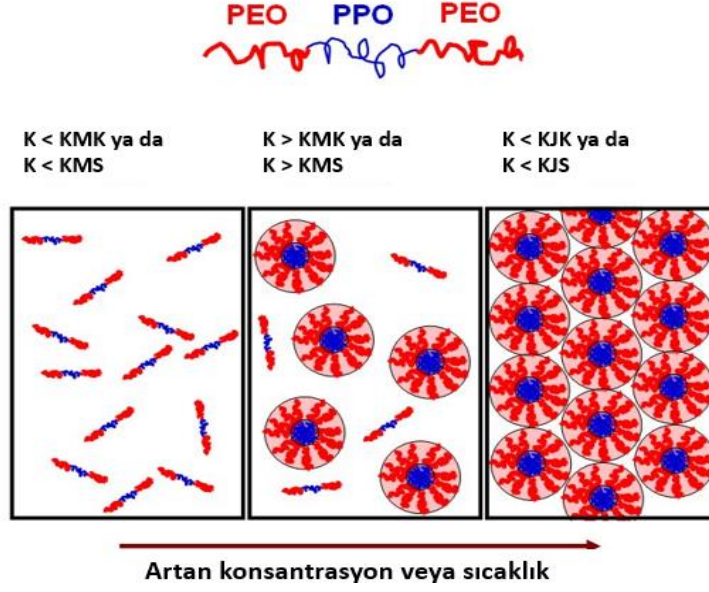
PO

EO

<b>Pluronic L61</b>	EO <sub>2</sub> -PO <sub>30</sub> -EO <sub>2</sub>	MA = 1950	HİDROFOBİSİTE	↑
<b>Pluronic P85</b>	EO <sub>26</sub> -PO <sub>40</sub> -EO <sub>26</sub>	MA = 4600		
<b>Pluronic F127</b>	EO <sub>100</sub> -PO <sub>65</sub> -EO <sub>100</sub>	MA = 12600	HLB	↓

**Şekil 2.9** : Pluronic moleküllerinin genel gösterimi ve farklı pluronic moleküllerinin EO ve PO değerleri [4].

Pluronic, genellikle sodyum veya potasyum hidroksit gibi bir alkalın katalizör varlığında alkil oksidin anyonik polimerizasyonu ile sentezlenmektedir [77]. Polimerizasyonda önce, propilen oksit grupları yapıya eklenip ardından düşük molekül ağırlıklı propilen glikole (750'den az molekül ağırlığı) etilen oksit molekülleri eklenerek devam edilmektedir. Reaksiyondan sonra, nötrleştirme işlemi yapılarak katalizör uzaklaştırılmaktadır [78]. Bu üçlü blok kopolimer çözeltilerinin en önemli iki özelliği sıcaklığa bağlı miselleşmesi ve jel oluşumudur. Hidrofilik ve hidrofobik bloklara sahip poloksamerler, PPO blok uzunluğuna bağlı olarak sulu çözeltide misel oluşturmaktadır. Kritik misel sıcaklığı (KMS) altında ve üzerindeki sulu ortamda unimer birimler halinde bulunurlar ve bu birimler belirli bir konsantrasyon aralığında miseller oluşturmak için toplanırken birleşmemiş unimerler ile de dengededirler [79]. Poloksamerlerin tek bir kritik misel konsantrasyon (KMK) ve kritik misel sıcaklık (KMS) değeri yoktur. PEO-PPO-PPO blok kopolimerleri, oda sıcaklığında KMK değerinin üzerinde veya oda sıcaklığından KMS değeri üzerine ısıtıldığında sulu çözeltilerinde misel oluşturmaktadır (Şekil 2.10) [80]. Pluronic kopolimerler, düşük molekül ağırlıklı yüzey aktif moleküllere kıyasla çok daha düşük konsantrasyonda misel oluşturmaktadır. Polimer konsantrasyonu arttıkça jelleşme daha düşük sıcaklıklarda gerçekleşmektedir [80]. Miseller PPO blokları ile oluşan hidrofobik çekirdekten ve PEO blokları ile oluşan hidrofilik dış yüzey yapısından meydana gelmektedir. Pluroniclerin miselizasyonu, KMS, KMK değerleri, miselin molekül ağırlığı ve birleşme numarası yani blok kopolimer sayısı ile karakterize edilmektedir [79].



**Şekil 2.10** : PEO-PPO-PEO triblok kopolimerlerinin sulu çözeltideki faz davranışı [81].

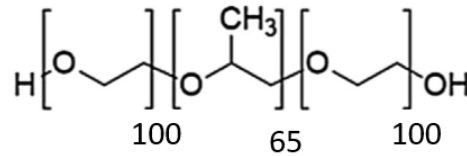
Miseller ayrıca dönme yarıçapı ( $R_g$ ), çekirdek yarıçapı ( $R_c$ ), koronun kalınlığı ( $L$ ), hidrodinamik yarıçap ( $R_h$ ) ve  $R_g / R_h$  oranını içeren boyut ve şekillerine göre de karakterize edilebilmektedir. Misellerin yapısı, istenen özelliklere bağlı olarak çeşitli karakterizasyon teknikleri kullanılarak da belirlenebilmektedir. Tablo 2.2 farklı misel özellikleri için kullanılan farklı tekniklerin listesini göstermektedir [82].

**Tablo 2.2** : Misel özelliklerine göre kullanılan yöntemler [82].

Teknikler	Misel Özellikleri
TEM (geçirmeli elektron mikroskobu)	Şekil ve boyut
SANS ve SAXS (dar açılı nötron saçılımı ve X-ışını saçılım yöntemi)	Moleküler ağırlık, $R_g$ , $R_{kor}$
SLS (static ışık açılımı)	Moleküler ağırlık, $R_g$
DLS (dinamik ışık saçılımı)	$R_h$
SEC (boyut dışlama kromatografisi)	$R_h$
Ultrasantrüfikasyon	$R_h$ , misellerin denge dinamikleri
Floresans Teknikler	Zincir dinamikleri, misel hibridizasyonu
NMR (nükleer manyetik rezonans)	Zincir dinamikleri

### 2.2.1 Pluronic® F127

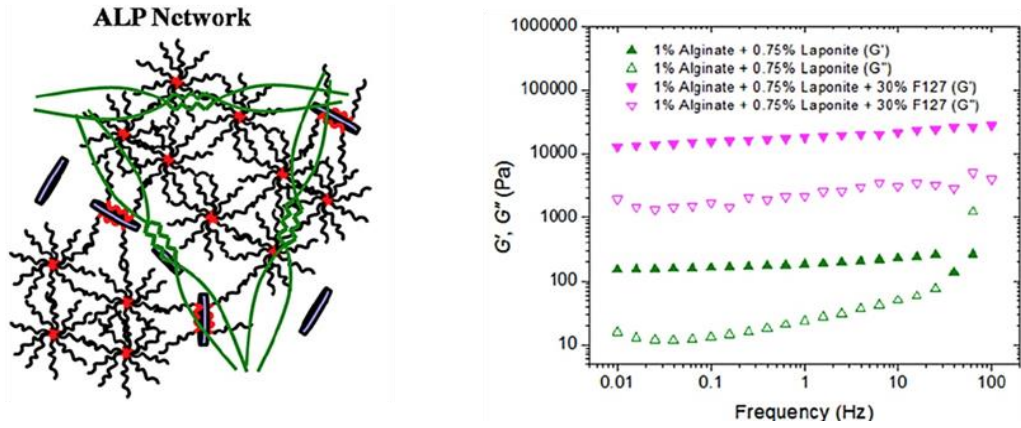
Pluronic ailesi içerisinde, sudaki çözünürlüğünün yüksek olması ve relatif olarak uzun hidrofobik üniteleri sayesinde yüksek hidrofobik etkileşimlere sahip olması gibi nedenlerden dolayı medikal ve farmasötik uygulamalarda en çok tercih edilen üyesi Pluronic® F127 (F127)'dir. Pluronic F127 molekülün moleküler ağırlığı, Şekil 2.11'da gösterildiği üzere 100 tekrar ünitesinden oluşan iki PEO bloğu ve 65 tekrar ünitesinde oluşan bir PPO bloğu olacak şekilde ile yaklaşık 12.6 kDa'dır [6].



**Pluronic F127**

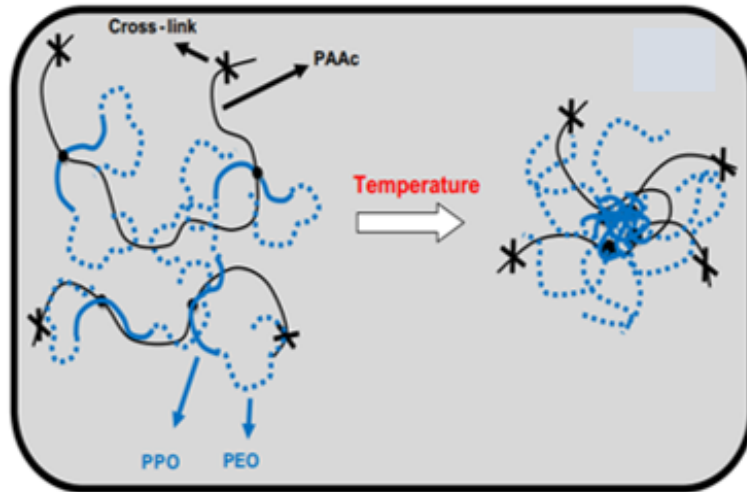
**Şekil 2.11** : Pluronic F127 molekülünün kimyasal yapısı [83].

Literatürde, %20 (ağ/hac) F127 çözeltisinin 25 °C'de, %30 (ağ/hac) F127 çözeltisinin ise 15 °C'de jelleştiği belirtilmiştir [7]. Pluronic kopolimerlerinin sulu çözeltileri, sıcaklığa ve pH'ya duyarlıdır ve bu sayede biyomedikal uygulamalarda kullanım alanına sahiptir. Pluronic kopolimerleri belirli bir sıcaklıkta çok hızlı bir şekilde çözelti formundan jel formuna geçse de, oluşan hidrojeller mekanik dayanımlarının yetersiz olmasından dolayı, fizyolojik koşullarda uzun süre dayanmamakta ve böylelikle taşıdığı ilacı ani bir şekilde salmaktadır (burst drug release). Pluronic esaslı jellerin mekanik dayanımını arttırmak amacıyla literatürde çeşitli yöntemler kullanılmıştır. Jellerin mekanik özelliklerini iyileştirmek amacıyla uygulanan yöntemlerden biri çift/üçlü ağ yapılı jellerin (double/triple network gels) hazırlanmasıdır [84, 85]. Bu düşünceyle sentezlenen, aljinat, sentetik kil (Laponite®) ve F127 nanokompozit ALP jellerinin elastik ve viskoz modül değerlerinin tekli ağ yapılarla kıyasla çok daha iyi olduğu ortaya konmuştur (Şekil 2.10) [86].



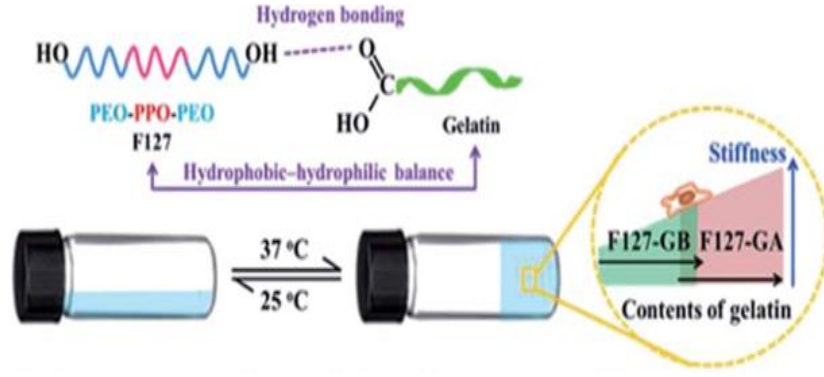
Şekil 2.12 : Sentezlenen kompozit yapıların tekli ağ yapılar ile kıyaslanması [86].

F127 varlığında poliakrilik asit çapraz bağlanmasıyla hazırlanan içiçe ağyapılı jellerde (interpenetrating polymer network, IPN) malzemenin daha tok olduğu gözlemlenmiş, %78 deformasyonda parçalanarak tekli ağ yapının, IPN olarak tasarlanmasıyla %98 deformasyonlara kadar dayandığı belirtilmiştir (Şekil 2.13) [87].



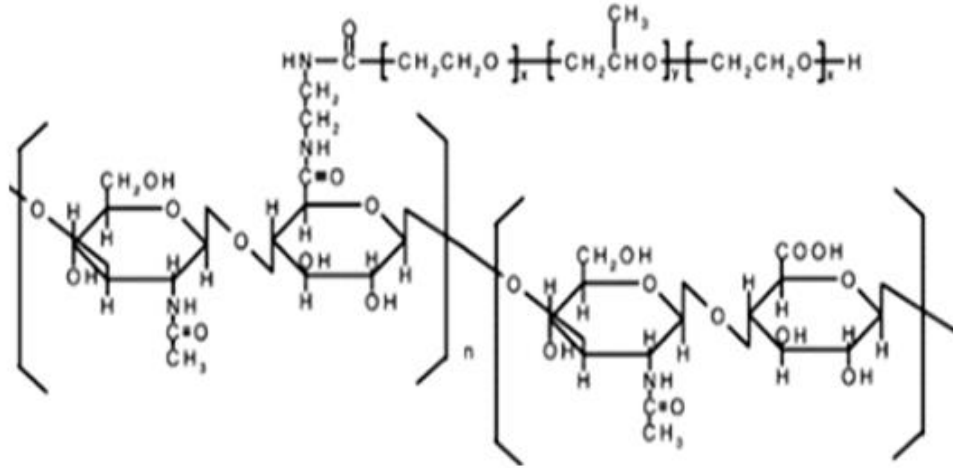
Şekil 2.13 : IPN yapı tasarlanmasının şematik gösterimi [87].

Şekil 2.14'de görüldüğü üzere, F127 zincirlerinin jelatin ile birlikte kullanımıyla elde edilen kompozit yapıların sertliğinin jelatin içeriğinin artırılmasıyla lineer bir şekilde arttığı gözlemlenmiştir [69].



**Şekil 2.14 :** Jelatin/F127 kompoziti oluşturulması [69].

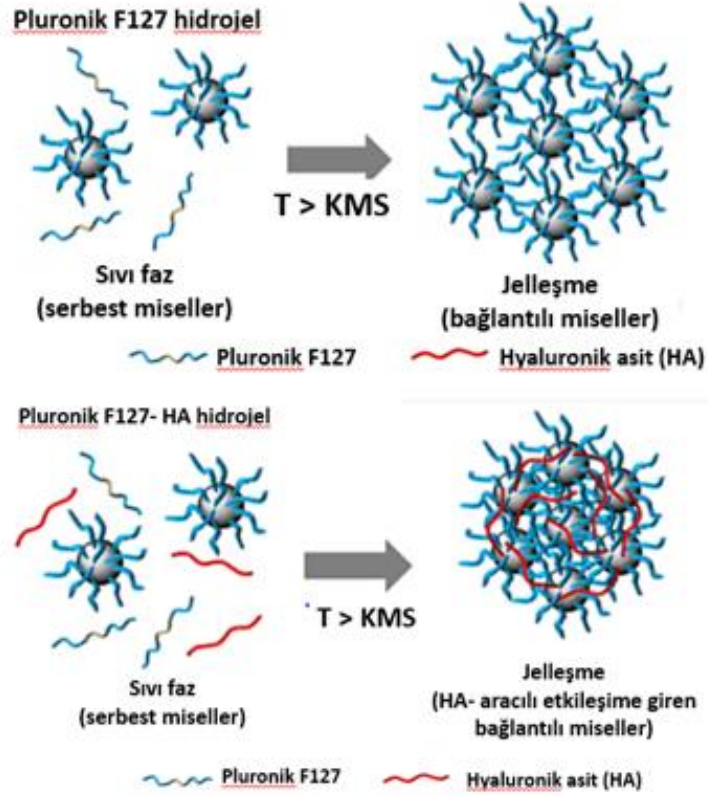
Başka bir çalışmada, akrilat ile fonksiyonlandırılmış F127 ve PEG kullanılarak kimyasal çapraz bağlı hidrojel nanopartikülleri hazırlanmıştır [88]. Oluşturulan F127 jellerinin fizyolojik sıvılarda dağılma hızını düşürmek amacıyla, amin ile sonlandırılmış pluronik üniteleri üzerinde lineer polisakkarit hiyalüronik asit aşılansarak jeller oluşturulmuştur (Şekil 2.15) [89].



**Şekil 2.15 :** F127 moleküllerinin fonksiyonlandırılması [89].

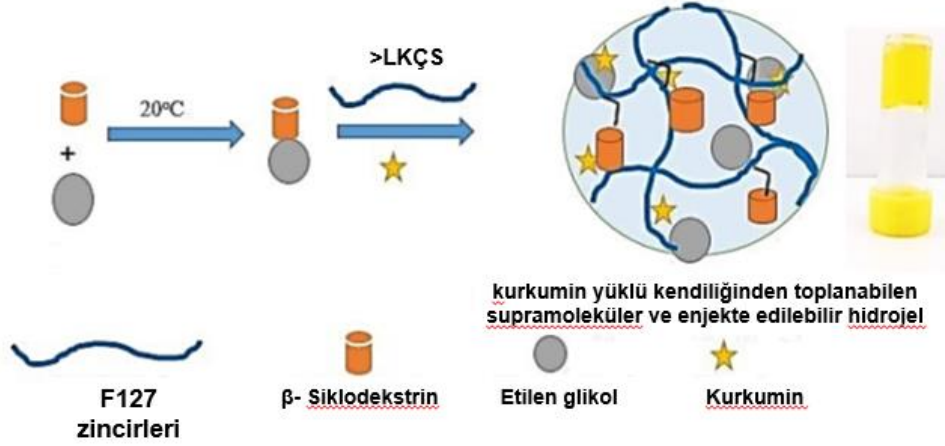
Pluronik F127 (F127) jelleri, düşük toksisiteleri, tersinir termal jelleşme göstermeleri, yüksek ilaç yükleme kapasiteleri ve fizyolojik koşullarda jelleşmeleri için gereken nispeten düşük konsantrasyon seviyeleri gibi özellikleri sayesinde literatürde geniş çapta araştırılmıştır [5]. Jung ve arkadaşlarının çalışmasında, eklem içi enjeksiyona uygun, ısıya duyarlı ve uzun süreli piroksikam salımı yapabilecek hidrojel oluşturmayı hedeflemişlerdir. Bu sebeple hiyalüronik asit ve F127 çözeltilerini Şekil 2.16'da gösterildiği gibi fiziksel karışım yöntemiyle bir araya getirmişlerdir.





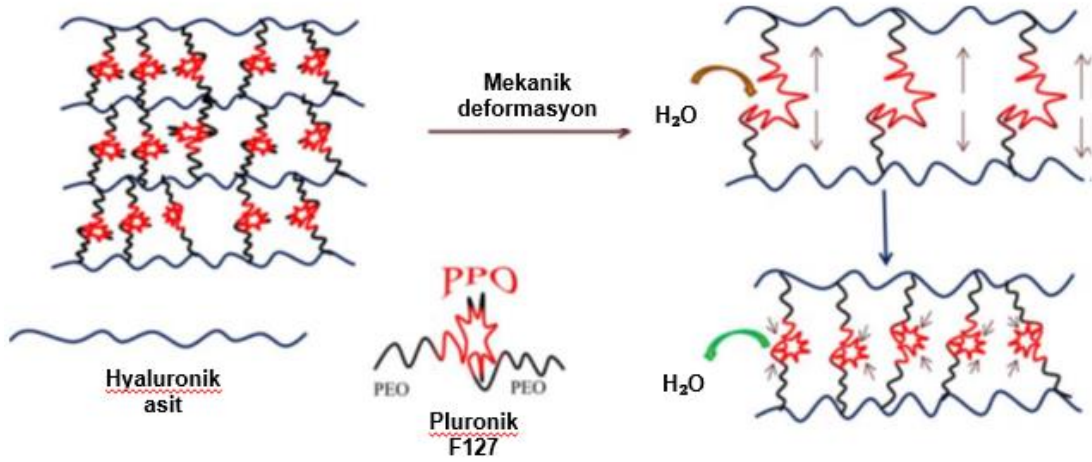
**Şekil 2.16 :** F127 misellerinin HA molekülleri ile bir araya getirilerek fiziksel hidrojel yapısının oluşturulması [90].

Yapılan başka bir çalışmada, tersinir ve kendiliğinden toplanabilen ve konakçı (host) molekül olarak kullanılan  $\beta$ -siklodekstrin molekülleri ve düşük molekül ağırlıklı etilen glikol üniteleri ile difoksiyonel Pluronic F127 molekülleri bir araya getirilerek inklüzyon kompleksleri oluşturulmuş ve hidrofobik yapıya sahip kurkumin moleküllerinin taşınması ve salımı yapılmıştır (Şekil 2.17). Kanser hücreleri üzerinde uygulanan bu enjekte edilebilir supramoleküler jellerden ilaç salımının gerçekleştiği ve hücrelerin öldüğü tespit edilmiştir [91].



**Şekil 2.17 :** İlacın, inklüzyon kompleksi içerisinde taşındığı hidrojel sistemi [91].

Sohn ve ark.'nın yaptıkları çalışmada, doku mühendisliği uygulamalarında kullanılmak üzere Şekil 2.18'de görüldüğü gibi F127 ve HA içeren foto çapraz bağlama yöntemi ile oluşturulmuş biyosentetik ve mekanik dayanımı artırılmış jel yapıları oluşturmuşlardır [92].



**Şekil 2.18 :** F127HA kompozit jel yapısının gösterilmesi ve HA'nın mekanik dayanımı artırılması [92].

### 2.3 Siklodekstrin

Kimyasal yöntemler ile sentezlenen jeller tersinir özelliğe sahip olmadıklarından jel-sol durumuna tekrar geçememektedir [93]. Kimyasal yöntemlerin aksine, tersinir fiziksel çapraz bağlar ile oluşmuş jeller, stereo kompleksleşme, yük yoğunlaşması, hidrojen bağı ve hidrofobik etkileşimler gibi fizikokimyasal yapı değişiklikleri ile elde edilebilmektedir [40, 41]. Bu fiziksel jeller mekanik olarak zayıf olmalarına rağmen

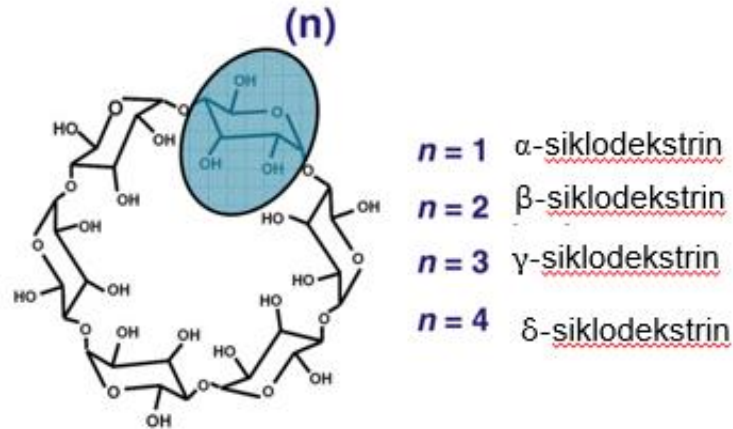
kazandıkları fiziksel formların geri dönüşümlü olması, jellerin kendilerini iyileştirme veya herhangi bir bozulma meydana geldiğinde tekrar bir araya gelmelerini sağlamaktadır. Aynı zamanda bölgeye özgü ilaç verme sistemleri alanında sol-jel veya jel-sol geçişlerinden ve dış uyaranlara tepki gösterdiklerinden dolayı söz konusu sistemler büyük öneme ve potansiyele sahiptir [42, 94]. Kendiliğinden toplanabilen (self assembled), sıcaklığa duyarlı, enjekte edilebilir bu jeller sıcaklığa duyarlı polimerlerin, omurgaları içerisinde oluşan misafir molekül aracılı supramoleküler etkileşimler veya hidrojen bağları gibi etkileşimler aracılığı ile inklüzyon kompleksleri oluşmaktadır [95, 96]. Son zamanlarda, ayarlanabilir çok işlevli malzemelerin tasarımında, supramoleküler polimer kimyasının, özellikle konukçu-konuk etkileşimleri ile oluşturulan polimer inklüzyon kompleksleri (PİK'ler) üzerinde geniş ölçüde çalışılmıştır (Şekil 2.19) [97-99].



PİK'lerden oluşan duyarlı jeller, kendi kendini iyileştirme ve tiksotropik davranış gibi üstün özellikleri nedeniyle, sıkça araştırılan fiziksel hidrojeller yapılarıdır [101-103]. Ancak benzersiz özelliklerine rağmen birden fazla uyanara cevap verebilen jellerin tasarımı, bu tür hassas ve kompleks özelliklere sahip polimerler üretme konusundaki teknik sorunlar nedeniyle zorlaşmaktadır [104].

Siklodekstrin (SD) molekülleri genellikle türleri alfa ( $\alpha$ ), beta ( $\beta$ ) ve gama ( $\gamma$ ) olmak üzere sırasıyla 6, 7 ve 8 glukoz ünitesinden oluşan tipik konakçı moleküllerdendir. Bu yapılar, farklı konuk moleküller ile bir araya gelerek kendiliğinden toplanma özelliği olan kompleksleri oluşturmaktadır [105]. Sulu ortamdaki siklodekstrinler, hidrofilik dış halkaları ve hidrofobik iç kısımları sayesinde konuk-konukçu etkileşimi yoluyla vitaminler, deterjanlar ve ilaçlar gibi hidrofobik yapılar ile kompleks oluşturmaktadır [105, 106]. Bu mekanizmaya dayanarak, birkaç siklodekstrin molekülü bir polimer zincirine geçirilebilmekte ve polipsödrotaksan (PPR) adlı kolye benzeri bir supramolekül elde edilebilmektedir. Sulu ortamda, PPR yapılarının siklodekstrin

molekülleri, aynı PPR üzerindeki komşu siklodekstrinlerle etkileşime girme eğilimindedir. PPR'lerin içerisinde hidrojen bağı ile kurulan bu etkileşimler, yapının hidrofobikliğini artırarak birleşmeyi tetiklemektedir [107]. PPR'leri hazırlamak için yeterli moleküler ağırlığına sahip polimerler kullanıldığında, ayrı ayrı polimer zincirlerinden gelen bölümler, PPR'lerin agregasyonu ve kendiliğinden toplanma özelliği yoluyla fiziksel olarak çapraz bağlanmaktadır. İn-situ jelasyon sonucu, tiksotropik ve ısıya duyarlı tersinir özellikler taşıyan ve enjekte edilebilir ve yarışmacı olan jeller, ilaç taşıma sistemi olarak kullanılmaktadır [108]. Üçlü blok kopolimer yapıda olan Pluronik molekülleri, belli sıcaklık veya konsantrasyonda blok yapılarına göre jelleşebilen yüzey aktif moleküllerdir. Bu yapılar ile etkileşime girebilen siklodekstrinler ortama dahil edildiğinde, pluronik blokları ile kompleksleşme göstermekte ve zincirleri arasında çapraz bağları oluşturarak jelasyonu indüklemektedir.

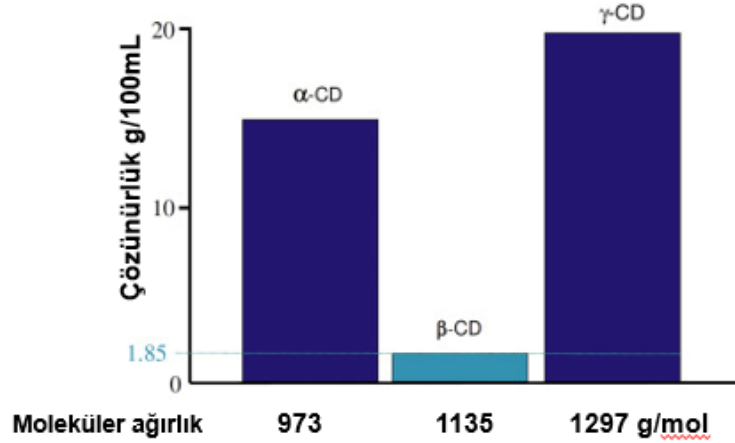


**Şekil 2.20** : Siklodekstrin moleküllerinin genel yapısı [109].

Siklodekstrinler, poli(etilen glikol), poliizobütilen, poli( $\epsilon$ -lisin), poli( $\epsilon$ -kaprolakton) ve poli(propilen glikol) gibi oligomerler veya polimer ile supramoleküler hidrojeller oluşturularak incelenmiştir [110, 111]. Li ve ark. bir çalışmada, kontrollü ilaç salımı için PEO-PHB-PEO'lu  $\alpha$ -SD'den oluşan enjekte edilebilir hidrojel hazırlamıştır [112]. Ayrıca poli(propilen glikol), gibi makromoleküller de SD'ler için konuk moleküller olarak kullanılmıştır [113]. Konakçı ve konuk moleküller arasındaki inklüzyon kompleksleşme aktivitelerinin, hidrojen bağlarının dinamik bir şekilde kendiliğinden yeniden yapının düzelmesini sağlayarak gerçekleştiği düşünülmektedir [37].

Jellerin özellikleri, polimer yapıları ve kompozisyonlarına [112, 114] bağlı olduğundan kullanılacak olan pluronik molekülünün doğru seçilmesi ve siklodekstrin

dozajının ayarlanması gerekmektedir. 1900 ila 8400 arasında değişen molekül ağırlığına sahip pluronikler ve ağırlık olarak % 25 ile 80 arasında değişen EO miktarı ve  $\alpha$ -siklodekstrin ile ağ yapısını oluşturmak için kullanılmıştır.  $\alpha$ -SD miktarının artmasıyla jelleşme sıcaklığı aralığının daha da arttığı ve model ilacın jelden ortama serbest bırakılma oranının, pluronik molekülünün sahip olduğu blokların oranı ile ayarlanabildiği ortaya konmuştur [114, 115]. Diğer çalışmalarda, jel yapılarında nanoparçacıklar [116] veya kimyasal çapraz bağ kullanılarak [117, 118] moleküller eklenmiş ve ağ yapının mekanik özelliklerinin iyileştiği ortaya konmuştur. Ayrıca siklodekstrinler ve pluronik molekülleri arasındaki etkileşim, misel ve trombosit benzeri yapılarının oluşumu [119, 120] ve sütun formunda gözenekli silika yapıları gibi diğer ürün formlarını değiştirmek veya oluşturmak için de kullanılmaktadır [121]. Her iki ucunda da toplu şekilde pluroniklerin üzerine hapsedilen siklodekstrin gruplarına sahip olan jel yapılarda oluşturulmuştur. Bununla birlikte, bu komplekslerle ilişkili en büyük dezavantaj, büyük moleküler ağırlıklarından ötürü, *in vivo* uygulamalarında vücuttan uzaklaştırılmalarıdır (Şekil 2.21) [91].



Şekil 2.21 :  $\alpha$ ,  $\beta$  ve  $\gamma$ -SD'lerin çözünürlükleri [109].

Çalışmalar arasında  $\beta$ -SD'ler, çözünürlüğü (25°C'de 1,85 g / 100 mL su) çok düşük olduğundan çoğunlukla PPR'nin jelleşmeyen ürünlerini hazırlamak için kullanılmaktadır. Sonuç olarak, SD-bazlı PPR jelleri üzerinde yapılan çalışmalarda, daha iyi çözünen  $\alpha$  ve  $\gamma$ -SD'ler kullanılmaktadır [105].

### 3. MATERYAL VE METOD

#### 3.1 Malzemeler

Pluronic® F127 (Sigma Aldrich), jelatin (Merck) ,  $\alpha$ -siklodekstrin (Ashland),  $\beta$ -siklodekstrin (Ashland),  $\gamma$ -siklodekstrin (Ashland), poli (etilen glikol) (PEG400, (Sigma Aldrich), domuz mide musini (tip II, Sigma Aldrich), hiyalüronik asit (Sigma Aldrich), glikolit (Sigma Aldrich), fosfat tamponlu tuz çözeltisi (PBS, Sigma Aldrich), laktit (Sigma Aldrich), tin(II) 2-etilhekzanoat ( $\text{Sn}(\text{Oct})_2$ , Sigma Aldrich), 2-bromoetanol (Sigma Aldrich), toluen (Sigma Aldrich), pentaeritritol (Sigma Aldrich).

#### 3.2 Cihazlar

Çözeltiler ve jel sistemlerinin sıcaklık profilleri, frekans ve deformasyon taramaları ve muko-yapışkanlık özellikleri Anton Paar MCR 102 Reometre cihazı kullanılarak belirlenmiştir. Sistemlerin enjekte edilebilirlikleri Tekstür Analiz Cihazı (Stable Micro Systems, Texture Analyzer TA.XT.Plus) ile ölçülmüştür. Sentezlenen polimerlerin varlığını doğrulamak için Fourier dönüşümlü infrared (FT-IR) spektrumları platin-ATR aksesuarı ile (ZnSe kristali) ALPHA Bruker spektrometresinde ölçülmüştür. H NMR ölçümleri, 500 MHz'lik Bruker NMR cihazında  $\text{CDCl}_3$  çözücüsü kullanılarak alınmıştır. Sentezlenen polimerin ortalama molekül ağırlığını belirlemek için jel geçirgenlik kromatografisi (GPC) ölçümleri, bir pompa ve Viscotek VE 3580 refraktif indeks (RI) dedektöründen oluşan Viscotek GPCmax VE 2001 Autosampler sistemi kullanılarak yapılmıştır. Seri olarak bağlanmış üç Viscotek GPC kolonu (T3000, LT4000L ve LT5000L) (ic cap 7.8 mm, 300 mm uzunluk) ve bir Viscotek guard kolonu (CLM3008, ic cap 4.6 mm, 10 mm uzunluk) kullanılmıştır. Ölçümler 35 °C'de 1.0 mL/dakika akış hızında yapılmıştır ve çözücü olarak THF kullanılmıştır. Dedektör, dar molekül ağırlığı dağılımına sahip PS standartlarıyla kalibre edilmiş ve veriler Viscotek OmniSEC 4.7.0 yazılımı kullanılarak analiz edilmiştir.

### 3.3 Deneysel Kısım

#### 3.3.1 Jel sistemlerinin hazırlanması

##### 3.3.1.1 F127 jelleri

Katı formdaki pluronik F127 polimeri, çözeltilerin son konsantrasyonu %20 - 33 arasında olacak şekilde tartılarak distile su (dH<sub>2</sub>O) içerisine eklendi. Manyetik balık yardımı ile ~1400 rpm'de, buz banyosunda 24 saat karıştırılarak ve ultrasonik su banyosunda bekletilerek çözünmesi sağlandı. Daha sonra kullanılmak üzere +4 °C' de muhafaza edildi. F127 çözeltileri daha sonraki aşamalar için kullanılmak üzere PBS içerisinde de aynı koşullarda hazırlandı.

##### 3.3.1.2 F127 jelatin jelleri

Katı formdaki sığır jelatini, çözeltinin son konsantrasyonu %20 olacak şekilde tartılarak (20 g) soğuk distile su (dH<sub>2</sub>O) içerisine (100 mL) eklendi. Manyetik balık yardımı ile ~1400 rpm'de, 30 dk ve 50 °C'de karıştırılarak çözüldü. dH<sub>2</sub>O içerisinde çözünerek hazırlanmış %20'lik F127 çözeltisi ile belirlenen konsantrasyonlarda karıştırıldı ve jelleşmenin gerçekleşmesi için gece boyu 37°C'de inkübatörde bekletildi.

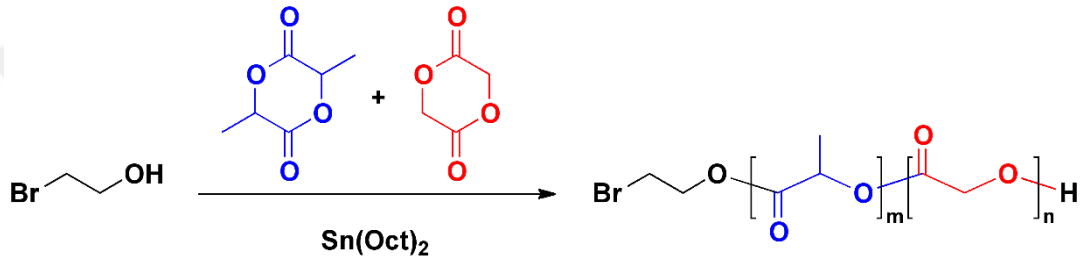
##### 3.3.1.3 F127- HA-SD jelleri

Yapılan optimizasyon çalışmalarından sonra belirlenen konsantrasyonlar doğrultusunda PBS içerisinde hazırlanan %33'lük F127 çözeltisi kullanıldı. F127 çözeltisi içerisinde son konsantrasyonları %0.5-2 olacak şekilde HA eklenerek, buz banyosunda, manyetik karıştırıcı ve vorteks yardımı ile 24 saatte çözüldü.  $\alpha$ -,  $\beta$ - ve  $\gamma$ - siklodekstrin (SD) türlerinden her biri için çözeltilerin son konsantrasyonu %15 olacak şekilde PBS içerisinde, 50 °C'de ~2 saat boyunca manyetik balık ile karıştırılarak hazırlandı. Daha sonrasında F127-HA-SD jellerini oluşturmak amacı ile F127-HA çözeltileri üzerine farklı türlerde hazırlanan SD çözeltileri, belirlenen konsantrasyonlarda ve sistem sürekli karışacak şekilde yavaş yavaş eklendi. 24 saat boyunca, buz banyosunda ve karıştırıcıda bekletilen örnekler, +4 °C'de muhafaza edildi.

### 3.3.1.4 F127- PEG/PLGA jelleri

#### Lineer PLGA polimerinin sentezi

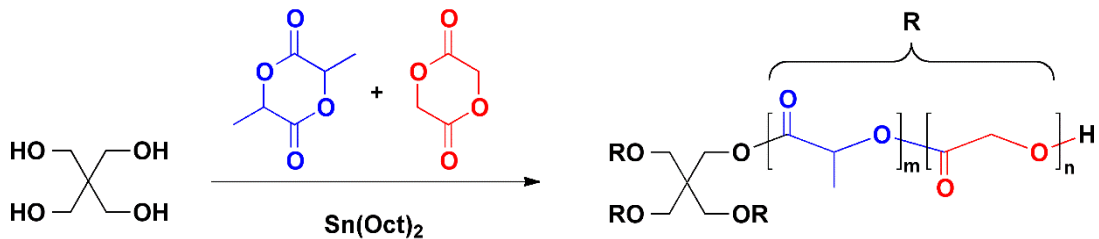
Laktit (10.87 g, 0.065 mol), glikolit (2.5 g, 0.215 mol), toluen (10 mL), Sn(Oct)<sub>2</sub> (70 µL, 1.72 x 10<sup>-5</sup> mol) ve başlatıcı olarak 2-bromoetanol (20.5 µL, 1.87 x 10<sup>-4</sup> mol) sırası ile Schlenk tüp içerisine aktarıldı. Tüp, sıvı azota daldırıldıktan sonra üç kez dondurma-çözme-vakum işlemi uygulandı ve reaksiyon karışımı yağ banyosunda, 130 °C'de, ~90 saat karıştırıldı. Süre sonunda elde edilen polimer diklorometan içerisinde çözündürüldü ve ~20 katı kadar metanol (400 mL) içerisinde çöktürüldü. Süzülükten sonra vakum etüvünde 40 °C'de kurutuldu.



Şekil 3.1 : Lineer PLGA polimerizasyonu.

#### Yıldız PLGA polimerinin sentezi

Laktit (12 g, 0.01728 mol), glikolit (0.669 g, 5x10<sup>-3</sup> mol), Sn(Oct)<sub>2</sub> (70 µL, 1.72x10<sup>-5</sup> mol) ve başlatıcı olarak pentaeritritol (21 mg, 1.53 x 10<sup>-4</sup> mol), sırası ile Schlenk tüp içerisine aktarıldı. Tüp, sıvı azota daldırıldıktan sonra üç kez dondurma-çözme-vakum işlemi uygulandı ve reaksiyon yağ banyosunda, 160 °C'de, ~66 saat karıştırıldı. Süre sonunda elde edilen polimer diklorometan içerisinde çözündürüldü ve ~20 katı kadar metanol (400 mL) içerisinde çöktürüldü. Süzülükten sonra vakum etüvünde 40 °C'de kurutuldu.



Şekil 3.2 : Yıldız PLGA polimerizasyonu.



## **F127-PEG/PLGA Jellerinin Sentezi**

Sentezlenen lineer ve yıldız PLGA polimerleri hazırlanacak olan çözelti konsantrasyonu (PLGA:PEG, %93.5:%6.5, m/V) ve miktarına göre tartılarak, 85 °C’ de eritildi. Daha sonra üzerine PEG polimeri damlatılarak kuru olan PLGA polimeri ıslatıldı ve ~15 dk boyunca ısıtıldı. Birbirine karışan ve katılaşılan polimer karışımı soğutulduktan sonra cam vial içerisinde teflon çubuk yardımı ile kazınarak havan kabına aktarıldı. Havadaki polimer karışımı iyice ezildikten ve partiküller toz haline geldikten sonra tartıldı. Elde edilen polimer karışımı doğrultusunda %20’lik F127 çözeltisi ile 0.6:1 (F127:PLGA-PEG) oranında karıştırıldı. Hazırlanan formülasyonlar jelleşmenin gerçekleşmesi ve polimerler arası etkileşimlerin oluşması için 37 °C’ de karıştırıcı balık yardımı ile karıştırılarak inkübe edildi.

### **3.3.2 Jel sistemlerinin karakterizasyonu**

#### **3.3.2.1 Sıcaklık profili oluşturulması**

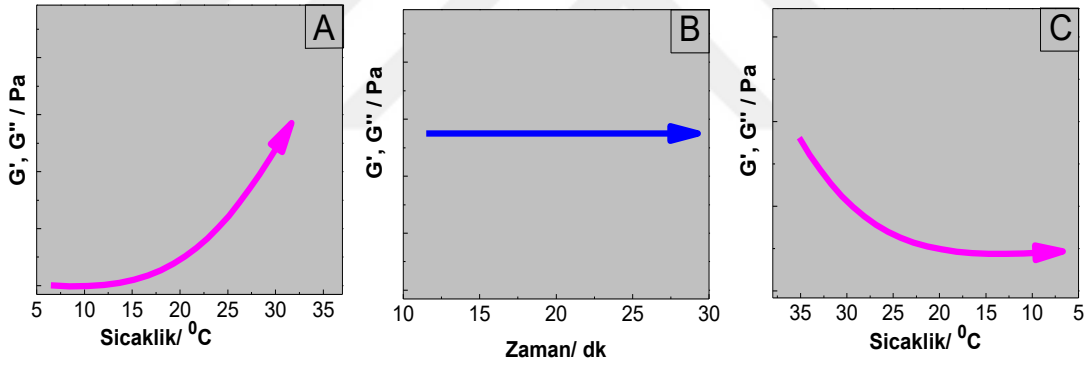
Reometre cihazında çözeltiler için sıcaklık profilleri, frekans-deformasyon taramaları ve muko-yapışkanlık özelliklerinin belirlenmesi amacıyla birçok farklı test protokolü uygulanmıştır. Hazırlanacak jellerin enjekte edilebilir olması ve enjeksiyon sonrası gönderilen bölgede vücut sıcaklığının farklı olmasına bağlı olarak kısa süre içerisinde jelleşmesi gerekmektedir. Çözelti halinden jel haline geçen bu yapıların sabit bir şekilde tutulması gerektiğinden enjekte edilen bölgedeki jellerin bu süre boyunca stabil bir şekilde kalması istenmektedir. Tüm bu gereksinimleri karşılamak adına hazırlanan jel formülasyonlarının akış davranışlarının izlenmesi ve reolojik profillerinin oluşturularak modül değerlerinin belirlenmesi sağlanmıştır.

Bu amaç doğrultusunda, hazırlanan çözelti ve jellerin reolojik özelliklerini incelemek amacıyla Reometre cihazı (Anton Paar MCR 102) kullanılmıştır (Şekil 3.3).



Şekil 3.3 : Kullanılan reometre cihazı.

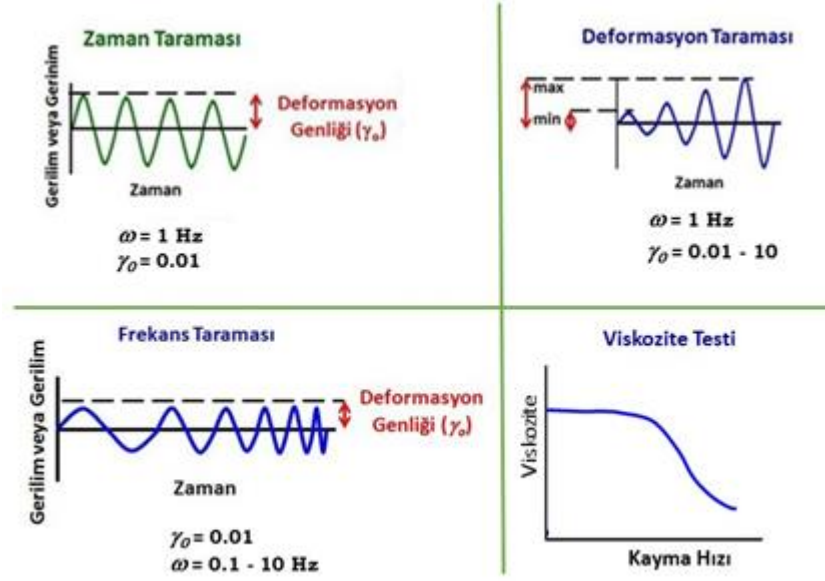
Formülasyonların sıcaklığa bağlı modül ve viskozite değerleri Şekil 3.4'teki protokoller uygulanarak incelenmiştir.



Şekil 3.4 : Reometrede ısıtma-soğutma test protokolleri.

### 3.3.2.2 Frekans ve deformasyon taramaları

Hazırlanan sistemlere Şekil 3.5'te şematik olarak gösterilen zaman, deformasyon ve frekans taramaları ve viskozite testleri de yapılmıştır. Jellerin depo modül ( $G'$ ) ve kayıp modül ( $G''$ ) değerleri osilasyon testleri ve %0.1 sabit deformasyon altında ve 0.1-100 Hz frekans aralığında incelenmiştir. Jellerin sağlamlıklarını test etmek amacıyla, kayma kuvvet (shear stress) değeri 0.1-1500 Pa aralığında değiştirilerek genlik taraması yapılmıştır. Ayrıca, malzemelerin kayma viskozite değerleri 0.1-1000  $\text{s}^{-1}$  kayma hızına (shear rate) bağlı olarak değerlendirilmiştir.



Şekil 3.5 : Reometre yapılan zaman, frekans, deformasyon ve viskozite test protokolleri.

### 3.3.2.3 Muko-adezyon

Bu çalışmada musin polimeri ile biyo-yapışkanlık testi uygulanmıştır. Literatürde belirtildiği üzere musin-polimer etkileşimi ile biyo-adhezyon kuvvetini reometrede ölçmek için basit bir viskometrik yöntem kullanılmıştır. 0.1 N HCl (pH 1) içerisinde % 15 (ağ/hac) mide musin dispersiyonlarının viskoziteleri, seçilen polimerlerin yokluğunda ( $\eta_m$ ) ve varlığında ( $\eta_t$ ) % 0.1-2.5, ağ/hac konsantrasyonunda da olacak şekilde ölçülmüştür. Biyo-yapışkanlığın viskozite bileşenleri, denklem 3.1 denkleminde hesaplanmıştır. Bu denkleme göre  $\eta_p$ , ölçülen saf polimer çözeltisinin viskozitesidir. Biyo yapışma kuvvetleri (F),  $\sigma$  kayma/ sn olmak üzere  $F = \eta_b \sigma$  denkleminde hesaplanmıştır.

$$\eta_t = \eta_m + \eta_p + \eta_b \quad (3.1)$$

### 3.3.2.4 Enjekte edilebilirlik testleri

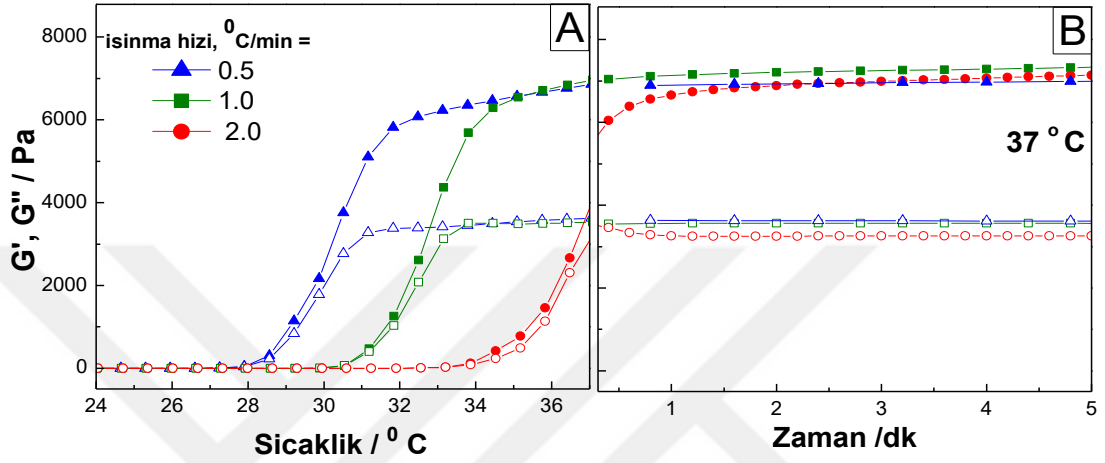
Enjekte edilebilirlik testleri Tekstür Analiz cihazında (Stable Micra Sytems, Texture Analyzer TA.XT.Plus) 50 kg'lık yük hücresi kullanılarak, şırınga probu ile 40 mm/sn yer değiştirme yapacak şekilde ayarlanan test protokolü ile yapılmıştır (Şekil 3.6).



**Şekil 3.6** : Tekstür Analiz Cihazında enjekte edilebilirlik testinin şırınga probu ile uygulanması.

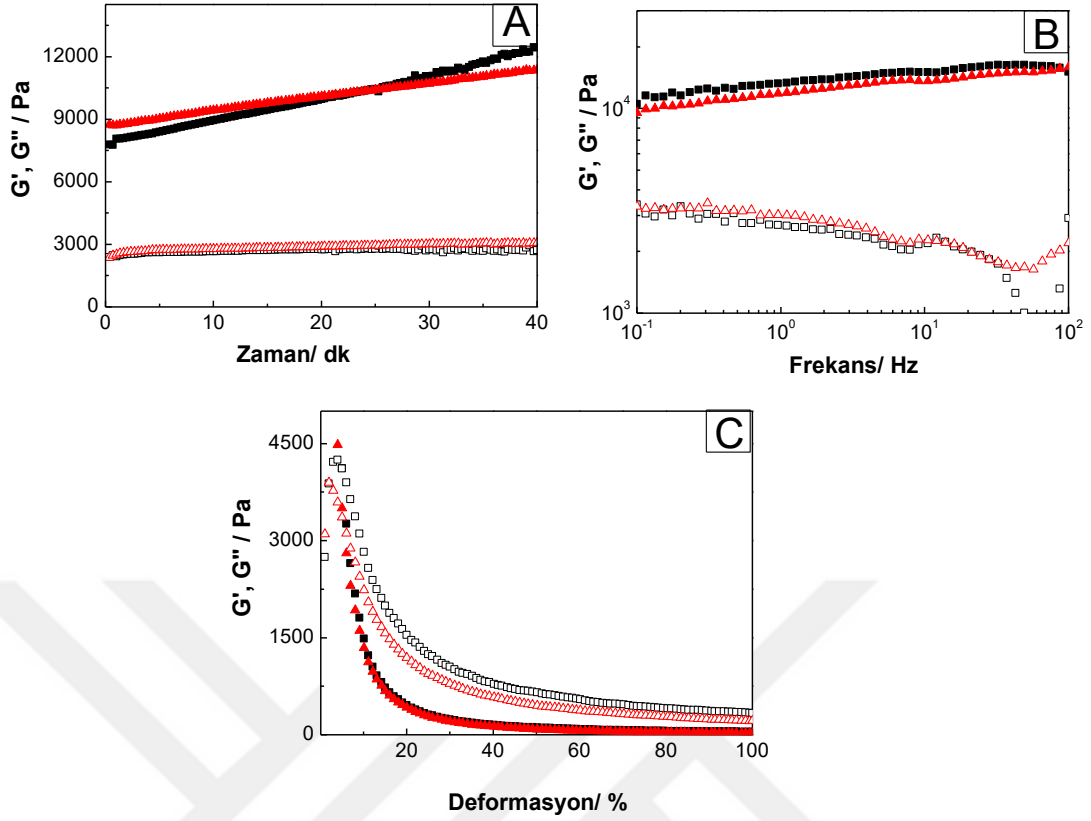
## 4. BULGULAR VE TARTIŞMA

### 4.1 F127 Jelleri



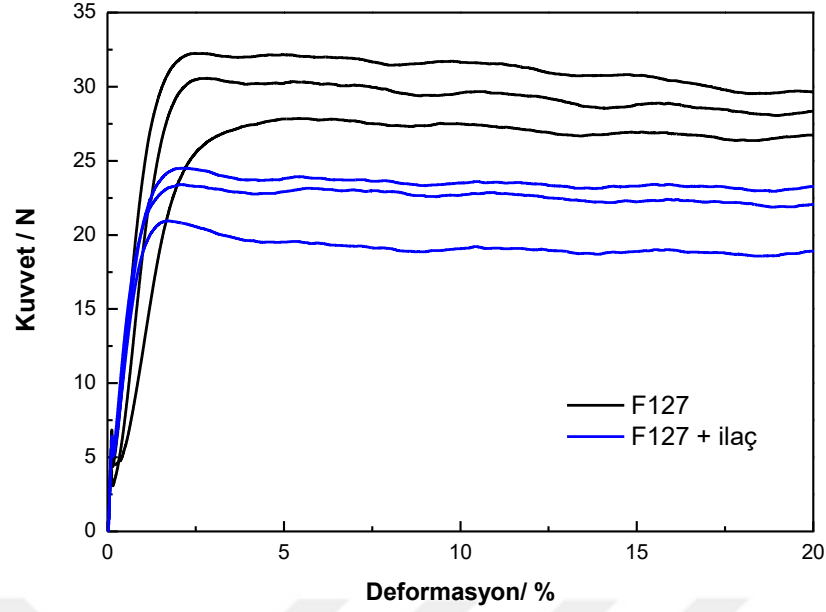
**Şekil 4.1 :** F127 çözeltisinin (%20 ağ/hac) farklı ısıtma hızlarında 24-37 °C arasında elastik ( $G'$ , içi dolu semboller) ve viskoz ( $G''$  içi boş semboller) modüllerinin değişimi (A). Örneklerin sabit sıcaklıkta (37 °C) zamana bağlı  $G'$  ve  $G''$  modüllerinin değişimi (B).

%20 F127 çözeltisi reometre cihazının plakaları arasında Şekil 4.1'de görüldüğü üzere, 5 °C'den 37 °C'ye kontrollü bir şekilde ısıtılmış ve daha sonra 37 °C'de belirli bir süre bekletilmiştir. Düşük sıcaklık değerlerinde sistem çözelti halinde olup  $G'$  değerleri  $G''$ 'den daha küçüktür. Isıtma ile birlikte çözeltiden jelle (sol-jel) geçişi vurgulamak adına grafikte stabil olan 5-24 °C aralığı gösterilmemiştir. Sıcaklığın artırılmasıyla elastik ve viskoz modül değerleri kademeli olarak artarken, ısıtma hızının artmasıyla elastik modülün viskoz modülün üzerine çıktığı ve dolayısı ile sol-jel geçiş sıcaklığının daha yüksek değerlere kaydığı görülmüştür (Şekil 4.1A). Isıtma hızı 0.5 °C/dk olarak belirlenen örneğin sol-jel geçiş sıcaklığı 28 °C olarak kaydedilirken, 2 °C/dk şeklinde ısıtıldığında sistemin geçiş sıcaklığının 34 °C olduğu gözlemlenmiştir. Bu davranışın düşük ısıtma hızlarında misel etkileşimlerinin çok daha hızlı olması ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Şekil 4.1B'ye bakıldığında denge modül değerlerinin ısıtma hızından bağımsız olarak aynı olduğu gözlemlenmiştir.



**Şekil 4.2 :** F127 çözeltilerinin (%20 ağırlık/hac) çözeltilerinin 37 °C’de elastik ( $G'$ , içi dolu semboller) ve viskoz ( $G''$ , içi boş semboller) modüllerinin zamana bağlı (A), frekansa bağlı (B) ve deformasyon yüzdesine bağlı (C) değişimleri.

Sıcaklığa bağlı akış davranışları incelenen F127 (%20) çözeltilerinin sabit sıcaklıkta (37 °C) frekans ve deformasyon taramaları yapılmıştır. İlk olarak, sabit deformasyon (%1) ve frekans (Hz) değerlerinde F127 jel sisteminin yaklaşık 8-9 kPa  $G'$  ve 2-3 kPa  $G''$  modül değerlerine sahip olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 4.2A). Ölçüm 7 kez tekrar edilmiş olup benzer sonuçlar elde edilmiştir. Frekans değişimine (0.1-100 Hz) bağlı olarak çözeltiler incelendiğinde Şekil 4.2B’de görüldüğü üzere frekans değişimine bağlı bir davranış gözlemlenmiştir. F127 jellerine farklı deformasyon oranlarında (%0-100) uygulanan osilasyon testlerinde, artan deformasyon ile birlikte elastik modül değerlerinin azaldığı ve %5 deformasyon değerinde viskoz modül değerlerinin elastik modül değerleri üzerine çıktığı gözlemlenmiştir ki bu da bilindiği üzere sistemin jelden çözelti formuna geçtiğini göstermektedir (Şekil 4.2C).



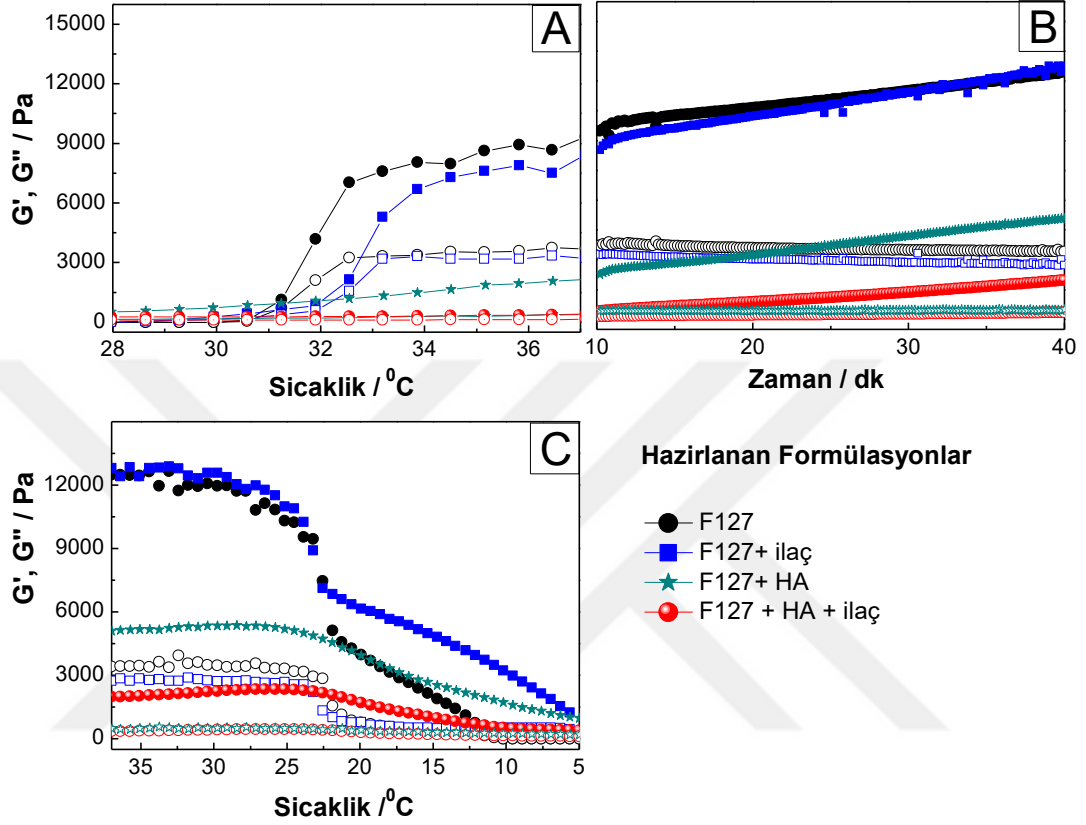
**Şekil 4.3 :** F127 ve F127+ilaç formülasyonlarının Őırına testi uygulanarak incelenmesi.

Pluronic özeltilerinin enjekte edilebilirliklerini göstermek amacıyla, Tekstür Analiz cihazında Őırına probu ile birlikte 25G'luk iğneler kullanılmıştır. G (gauge) olarak ifade edilen ölçü birimi iğne ucunun çapını ifade etmektedir. F127 zeltilerinin enjeksiyonu için ölçülen maksimum kuvvet değerleri ( $F_{max}$ )  $29.8 \pm 2.2$  N iken sisteme ilaç dahil edilmesiyle birlikte bu değerler düŐerek  $22.3 \pm 1.6$  N Şeklinde llmüŐtr (Şekil 4.3). Hem ilaç içeren hem de ilaç içermeyen F127 zeltilerinin enjeksiyonu için gerekli kuvvetlerin Tablo 2.1'de verildiği üzere enjekte edilebilir aralıktadır olduğu görülmektedir [43].



**Şekil 4.4 :** F127 zeltisinin enjeksiyon testi sırasında (sol) ve sonrasında (sağ) 37°C'de görüntüsü.

Şırınga testi uygulanan çözeltiler için 3 farklı ölçüm alınmak üzere, Tekstür Analiz cihazında enjekte edilebilirlik test protokolü uygulanmıştır. Enjeksiyon yapılan çözeltiler  $\sim 37^{\circ}\text{C}$ 'ye ısıtılmış cam plaka üzerine damlatılmış ve Şekil 4.4'te görüldüğü üzere plaka üzerinde akmayacak şekilde jelleşmiştir.



**Şekil 4.5 :** F127, F127-ilaç ve F127-HA-ilaç formülasyonlarının reometrede sıcaklık profilleri (A,C).  $G'$  (içi dolu semboller),  $G''$  (içi boş semboller) modüllerinin  $37^{\circ}\text{C}$ 'de zamana bağlı değişimi (B).

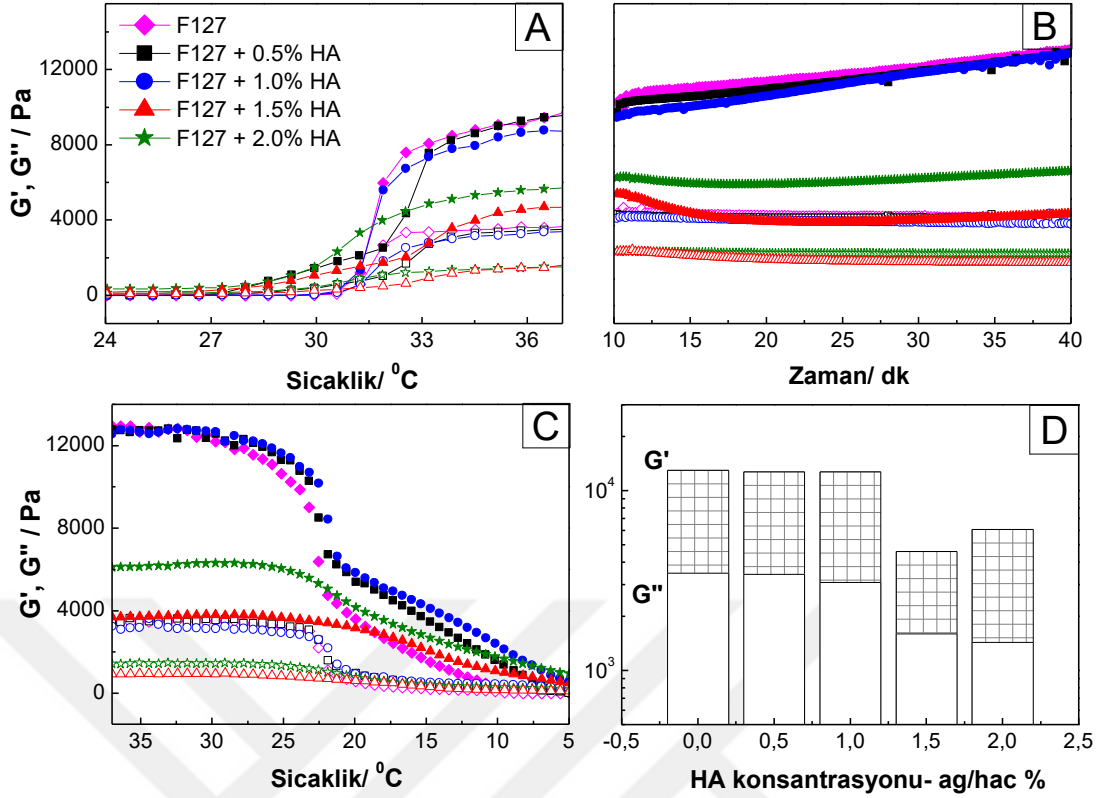
Kulak cerrahilerinde, yeni kulak zarı ve var olan kulak zarı arasındaki epitelizasyonu ve damarlanmayı sağlamak için zarların stabil halde tutulması gerekmektedir. Bu amaçla günümüzde farklı sünger yapıları sistemler hazırlanarak, zarın hem alt kısmı olan orta kulağa hem de üst kısmı, dış kulak yoluna yerleştirilmektedir. Ancak bu uygulama sırasında sistem stabilitesi bozulmakta ve işlem uzun zaman almaktadır. Bu problemin, enjekte edilebilir, ısıya duyarlı ve gerekli ilaçları içeren akıllı bir jel sistemi kullanılması ile çözülebileceği düşünülmüş olup, bu çalışmanın çıkış noktası söz konusu jel sisteminin hazırlanmasıdır. Bu doğrultuda, hem pluronik hem de HA içeren pluronik jel sistemlerine ilaç ilave edilmesinin, reolojik davranışları üzerine etkilerini incelenmiştir (Şekil 4.5). Literatürde yapılan F127 ve hiyalüronik asit (HA) içeren çalışmalar dikkate alınarak, bu çalışmada F127 çözeltileri üzerine ilaç ile birlikte



hiyalüronik asit (HA) de eklenerek akış davranışları üzerine etkileri gözlemlenmiştir [1, 2]. F127 çözeltisine ek olarak F127+ilaç ve F127+HA+ilaç formülasyonlarının  $G'$  ve  $G''$  modül değerleri, 5-37 °C arasında sıcaklık değişimi ile belirlenmiştir (Şekil 4.5A). Zamana bağlı, 37 °C' de söz konusu sistemlerin stabil durumları incelenmiştir (Şekil 4.5B). Tersinir olduğu bilinen ve ısıtılan jel sistemlerinin soğutulması ile oluşan sıcaklık profilleri gösterilmiştir (Şekil 4.5C). Isıtma profillerine bakıldığında, sadece F127 çözeltisi 31 °C'de sol-jel geçişi gösterirken ilaç eklendiğinde bu sıcaklık değeri 32 °C'ye kaymıştır. Soğutma profillerinde ise herhangi bir değişim gözlemlenmemiştir. 37 °C'deki F127 ve F127+ilaç formülasyonlarının denge modül değerlerine bakıldığında, sistem dengeye geldiğinde benzer değerler gözlemlenirken, HA içeren sistemin modül değerlerinin denge anında daha düşük değerlere kaydığı belirlenmiştir. Dolayısıyla, sadece F127 ile çalışılan bir formülasyon için ilaç katkısının sisteme belirgin bir etkisi olmazken F127 ve HA içeren bir formülasyon hazırlandığında akış profillerinin değişebileceği dikkate alınmalıdır. İlaç katkısının yanında sisteme HA dahil edilmesinin modül değerlerini beklenenin aksine oldukça düşürdüğü ortaya konmuştur. Bu etkinin nedenlerini araştırmak amacıyla F127 ve HA içeren sistemler bir sonraki bölümde detaylı bir şekilde incelenmiştir.

#### **4.2 F127 - Hiyalüronik Asit (HA) Jelleri**

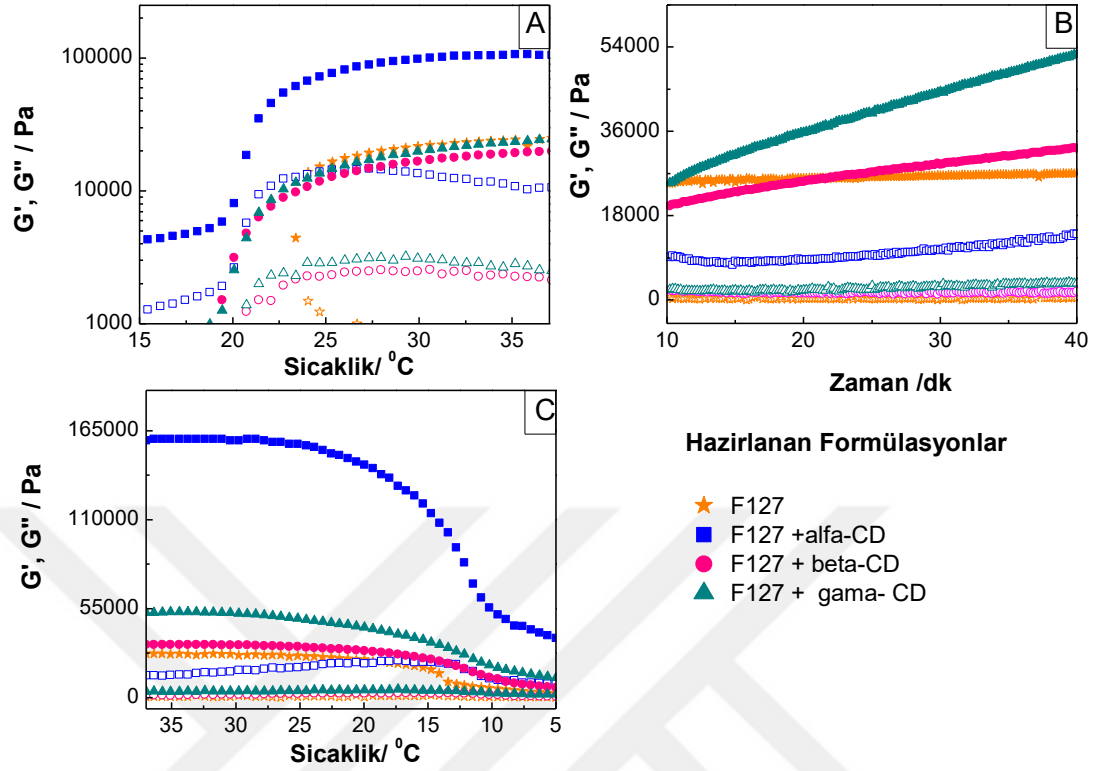
F127 içeren jellerin reolojik özellikleri incelendikten sonra, çözeltiler üzerine % 0.5-2.0 ağırlık/hac oranlarında HA eklenmiştir. HA ilavesiyle birlikte sistemin elastik ve viskoz modülleri ısıtma-soğutma profilleri izlenerek reometre cihazında takip edilmiştir. Formülasyonların akış davranışları ve bunlara HA'nın etkisi belirlenmiş olup sonuçlar Şekil 4.6'da verilmiştir. 5 °C'den 37 °C'ye ısıtılan çözeltilerin sol-jel geçiş sıcaklıklarının artan HA ile birlikte daha düşük sıcaklıklara (31 °C'den 27 °C'ye) kaydığı gözlemlenmiştir. Sol-jel geçiş sıcaklıklarının vücut ısısının altında olması enjekte edilme koşullarını etkileyeceğinden %1'in üzerinde HA katkılı sistemleri oda sıcaklığında daha hızlı jelleşme göstereceğinden, uygulama esnasında zorluk çıkaracağı düşünülmektedir.



**Şekil 4.6 :** Farklı konsantrasyonda HA içeren F127+HA jellerinin reometrede sıcaklık ve zamana bağlı analizi. Örneklerin  $G'$  (içi dolu semboller),  $G''$  (içi boş semboller) modüllerinin sıcaklığa bağlı değişimi (A,C). Örneklerin  $G'$ ,  $G''$  modüllerinin sabit sıcaklıkta zamana bağlı değişimi (B). Jellerin HA konsantrasyonuna bağlı olarak modül grafikleri (D).

Ayrıca % 1 konsantrasyonun üzerinde HA içeren jellerin denge modül değerlerinin çok düşük olması bu sistemin istenilen fiziksel özelliklerde de olmadığını göstermiştir (Şekil 4.6B). % 0.5 ve 1 konsantrasyonda eklenen HA'nın, sadece F127 içeren jel sistemine benzer çıkması ve % 1 HA içeren sistemin jelleşmeye başladığı sıcaklığın vücut ısısına en yakın olan sistem olması nedeniyle bu konsantrasyonun bundan sonraki çalışmalarda uygulanmasına karar verilmiştir.

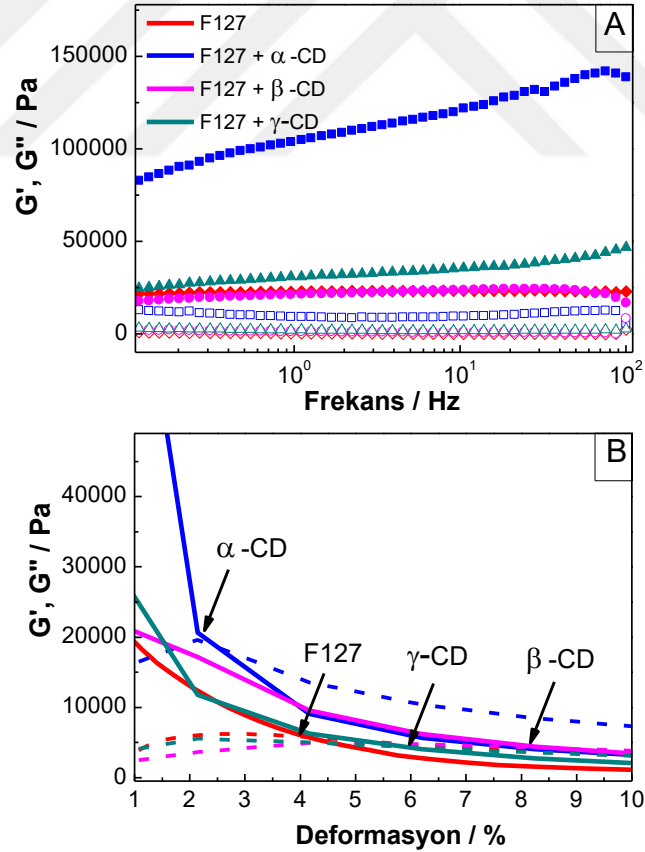
### 4.3 F127 - HA - Siklodekstrin (SD) Jelleri



**Şekil 4.7 :** F127 ve F127+SD jellerinin reometre de sıcaklık profilleri (A,C). Elastik modül ( $G'$ , içi dolu semboller) ve viskoz modül ( $G''$ , içi boş semboller) değerlerinin 37 °C'de zamana bağlı değişimi (B).

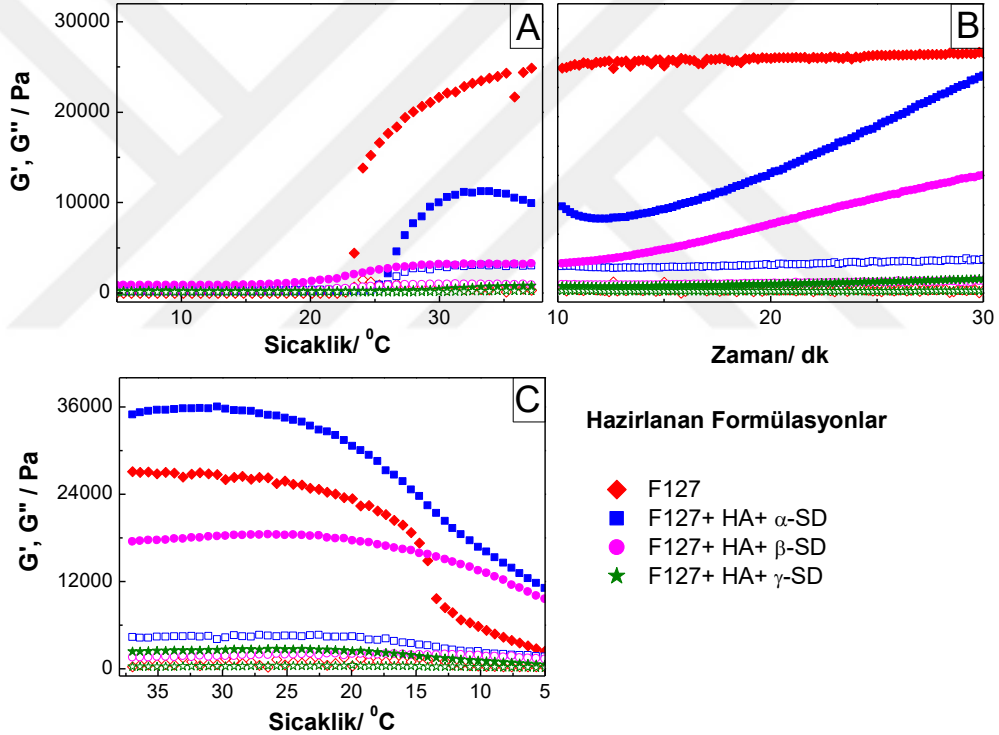
F127 kopolimerlerinin farklı polimerler ya da moleküller ile birleştirilerek özelliklerinin iyileştirilmesindeki temel sebeplerin başında mekanik dayanımlarının yetersiz olması gelmektedir. Bunun yanı sıra, fiziksel çapraz bağ yolu ile hazırlanan jeller hem düşük toksisite hem de tersinir olma özelliklerinden dolayı bu çalışmada tercih edilmiştir. Sistem içerisindeki fiziksel etkileşimleri güçlendirmek adına çözelti içerisine mekanik karıştırma yöntemi ile farklı boyutlara sahip siklodekstrinler dahil edilmiştir. Oluşturulan çözeltilerde SD yapılarının etkisini görmek amacıyla daha önce uygulanan parametreler doğrultusunda ısıtma-soğutma profilleri incelenmiştir. Sol-jel geçiş sıcaklığı incelendiğinde F127 yapılarından farklı bir eğilim gözlemlenmiştir (Şekil 4.7A). % 26 F127 içeren çözeltinin 24 °C dolaylarında bir sol-jel geçişi gösterdiği gözlemlenirken SD içeren yapıların başlangıç noktası olan 5 °C'den itibaren jel formunda olduğu belirlenmiştir. Ancak, 19 °C civarında tüm SD içeren yapıların modül değerlerinde ısıtmaya bağlı olarak artan hidrofobik etkileşimlerle birlikte bir artış olduğu görülmüştür.

37 °C'de 30 dk bekletilerek dengeye ulaşan jel sistemlerinin modül değerleri incelendiğinde ise,  $\alpha$ -,  $\beta$ - ve  $\gamma$ -SD içeren jellerin elastik modüllerinin sırasıyla 160, 56 ve 30 kPa dolaylarında olduğu gözlemlenirken aynı konsantrasyonda hazırlanan F127 çözeltisinin  $G'$  değeri 25 kPa olarak ölçülmüştür. Özellikle  $\alpha$ -SD eklenmesiyle, modül değerlerinde gözlemlenen bu artışın sebebinin  $\alpha$ -SD ünitelerinin PEO zincirleriyle inklüzyon kompleksleri oluşturması ve böylelikle mevcut yapının sağlamlaşması olduğu düşünülmektedir.  $\beta$ - ve  $\gamma$ -SD ünitelerinde benzer etki görülmemesinin nedeni ise daha büyük çapa sahip olan bu moleküllerin hem PEO hem de PPO üniteleriyle inklüzyon kompleksleri oluşturabilmesi ve böylece var olan hidrofobik etkileşimleri perdelemesi olarak düşünülmektedir.  $\beta$ -SD'nin çözünürlüğü diğer SD türlerine kıyasla oldukça düşüktür [105].  $\beta$ -SD ve  $\gamma$ -SD içeren jel formülasyonları kıyaslandığında,  $\beta$ -SD içeren jel yapılarının daha düşük modül değerlerine sahip olması düşük çözünürlük nedeni ile başlangıçta eklenen SD miktarının yapıya tam olarak dahil edilememesine bağlanmıştır.



**Şekil 4.8** : F127 ve F127+siklodekstrin jellerinin 37 °C'de elastik ( $G'$ , içi dolu semboller) ve viskoz ( $G''$ , içi boş semboller) modüllerinin frekansa bağlı (A) ve deformasyon yüzdesine bağlı (C) değişimleri.

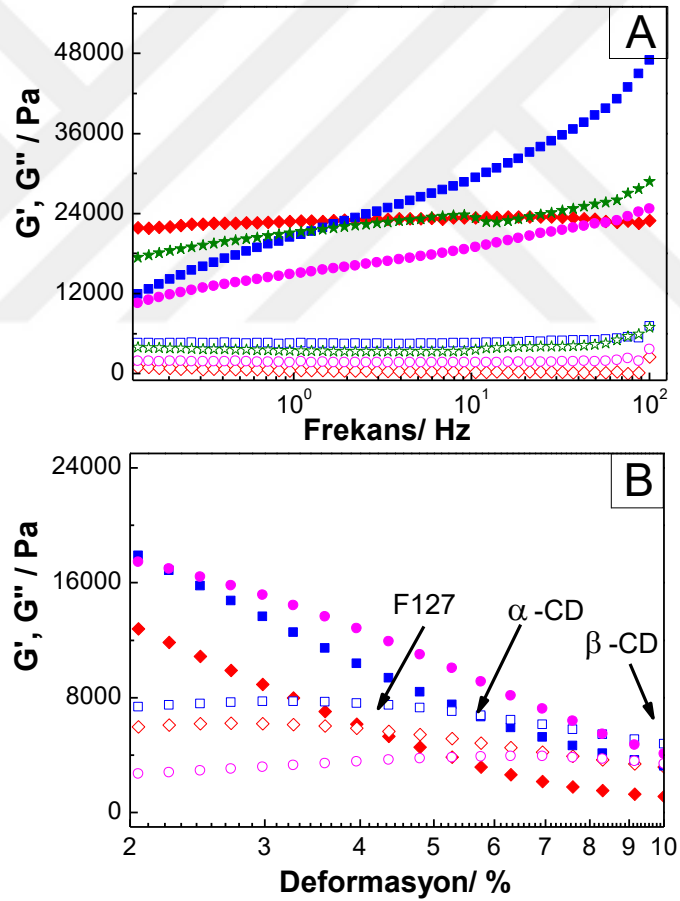
Isıtma profilleri izlenen sol-jel sistemleri Şekil 4.8'de görüldüğü üzere frekans ve deformasyon taramalarına da tabi tutulmuştur. Siklodekstrin içeren jel yapılarının sadece F127 içeren sistemlerde olduğu gibi kullanılan SD türünden bağımsız bir şekilde frekansa bağlı bir davranış sergilediği gözlemlenmiştir (Şekil 4.8A). Bu durumun fiziksel çapraz bağlı yapıların dinamik karakterinden kaynaklandığı düşünülmüştür. Deformasyon testi sonucunda ise F127 çözeltisi % 4 deformasyonda parçalanırken  $\alpha$ -,  $\beta$ - ve  $\gamma$ -SD içeren jeller sırası ile % 2, 8 ve 6 deformasyon değerlerinde parçalanmaktadır. Öncesinde yapılan sıcaklık profilleri sonucuna bakıldığında her ne kadar modül değerleri yüksek olsa da beklenenin aksine düşük deformasyon yüzdelerinde yapıların bozulması SD ilavesi ile sisteme dahil edilen yeni etkileşimlerin yeteri kadar kuvvetli ve kalıcı olmadığı gösterilmiştir.



**Şekil 4.9 :** F127 ve F127-HA-SD jellerinin reometre de sıcaklık profilleri (A,C). Elastik modül ( $G'$ , içi dolu semboller) ve viskoz modül ( $G''$ , içi boş semboller) değerlerinin 37 °C'de zamana bağlı değişimi (B).

Çalışmanın bu aşamasında, F127-SD ikili sistemine HA zincirleri dahil edilerek yapıdaki değişim, hem ısıtma-soğutma profillerinin takibi, hem osilasyon testleri hem de enjekte edilebilirliklerinin ve muko-yapışkanlıklarının izlenmesiyle belirlenmiştir. Isıtma protokolü uygulandıktan sonra üçlü formülasyonların sol-jel geçişleri incelendiğinde, ortama HA moleküllerinin dahil edilmesiyle ikili sistemler (F127-SD)

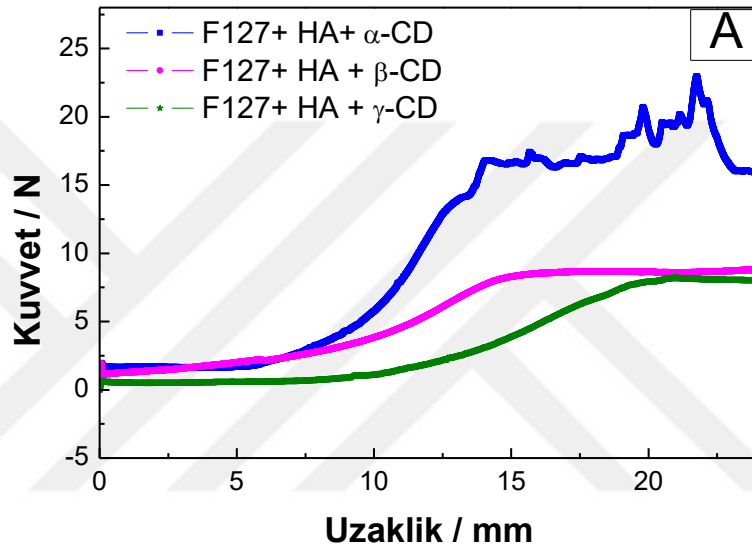
için  $\sim 5^{\circ}\text{C}$  olan geçiş sıcaklıklarının artarak vücut ısısına oldukça yaklaştığı görülmüştür (Şeki 4.9A).  $\alpha$ -,  $\beta$ - ve  $\gamma$ -SD içeren jellerin sırası ile sol-jel geçiş sıcaklıkları 27, 21 ve  $25^{\circ}\text{C}$  olarak ölçülmüştür. Isıtma protokolü esnasında sadece F127 içeren jellerin viskoz ve elastik modül değerleri her ne kadar daha yüksek olsa da,  $37^{\circ}\text{C}$ 'de bekletilerek ısısal dengeye ulaşmış HA ve SD içeren yapıların modül değerlerinde bu durumun tersine döndüğü anlaşılmıştır (Şekil 4.9B). HA ilavesiyle, hem sol-jel geçiş sıcaklıklarının yüksek değerlere kayması hem de modül değerlerinin daha uzun sürede dengeye geliyor olması üçlü yapılarda moleküller arası etkileşimlerin (HA ve SD molekülleri arasında hidrojen bağları kurulması ve SD üniteleri ile oluşturulan inklüzyon kompleksleri içerisindeki hidrofobik etkileşimler) artmasına bağlı olduğu düşünülmüştür.



**Şekil 4.10** : F127 ve F127-HA-SD jellerinin  $37^{\circ}\text{C}$ 'de elastik ( $G'$ , içi dolu semboller) ve viskoz ( $G''$ , içi boş semboller) modüllerinin frekans (A) ve deformasyon yüzdesine bağlı (B) değişimleri

F127-HA-SD içeren üçlü sistemlerin frekans taramaları incelendiğinde Şekil 4.10A'da verildiği üzere F127-SD yapılarına benzer bir davranış gözlemlenmiştir. Relatif olarak

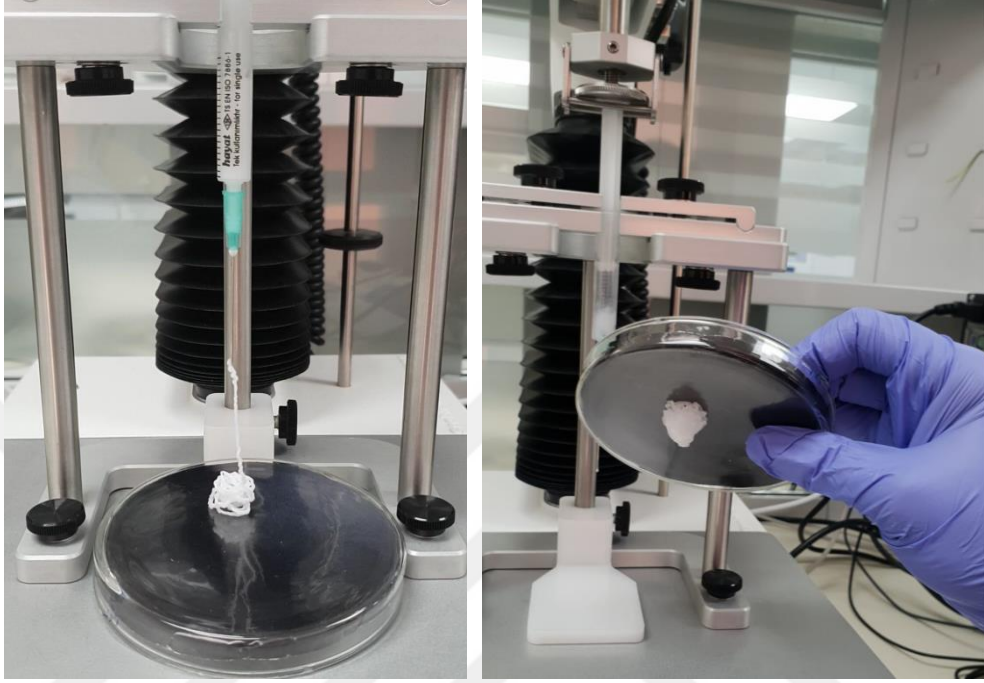
stabil etkileşimlere sahip F127 çözeltileri diğer bileşenler varlığında çok daha dinamik olarak bir yapıya sahip olup frekansa bağlı bir davranış sergilemektedir. Çalışmanın temel amacı doğrultusunda sentezlenen jel sistemlerinin enjeksiyon esnasında uygulanan kuvvete dayanıklılıklarını ölçmek ve bozulma ya da zarar görme ihtimallerini saptayabilmek amacı ile tüm yapılar % 0.1-100 aralığında deformasyon taramalarına tabi tutulmuştur (Şekil 4.10B). İkili sistemler ile kıyaslandığında F127-HA-SD yapılarının % deformasyon dayanımlarının çok az bir oranda arttığı ve F127 içeren çözeltilerden daha yüksek değerlere kaydığı görülmüştür.



Şekil 4.11 : F127 - HA - SD jellerinin enjekte edilebilirlik testi.

Pluronic çözeltilerine benzer şekilde formülasyonların enjekte edilebilirlik testleri 25G'luk iğneler kullanılarak yapılmaya çalışılmış ancak iğne boyutları bu sistemler için yetersiz kalmıştır. Dolayısıyla bu üçlü formülasyonlarda 21 G'luk iğne uçları kullanılmıştır (yeşil). Tüm sistemler için Şekil 4.3'den farklı olarak, yaklaşık 7 mm'ye kadar enjeksiyon için gerekli kuvvet değerlerinin artmadığı bu durumun da formülasyonların yüksek viskozitesinden dolayı şırınga içerisinde oluşan boşlukların bulunmasına bağlı olduğu düşünülmüştür. Şırınga pistonunun aşağı inmesiyle beraber boşluklar dolmakta ve yaklaşık 7 mm sonrasında kuvvet değerleri artarak maksimum noktaya ( $F_{max}$ ) ulaşmaktadır.  $\alpha$ -SD içeren üçlü sistemde  $F_{max}$  değeri ~17 N civarında olduğu görülmüştür (Şekil 4.11). Ancak yine malzemenin viskozitesinden kaynaklı olarak enjektör içerisine alınırken hava boşlukları oluştuğundan görüldüğü üzere elde edilen grafikte dalgalanmalar oluşmuştur.  $\beta$ - ve  $\gamma$ -SD içeren üçlü sistemlerde ise  $F_{max}$

değerleri sırası ile ~6 ve 7 N civarında ölçülmüştür. Şekil 4.12’de  $\alpha$ -SD içeren sisteme ait enjekte edilebilirlik testi sırasında ve sonrasında alınmış görüntüler mevcuttur. Enjeksiyon sonrasında  $\sim 37^{\circ}\text{C}$ ’de oluşan jellerin plakadan akmadığı ve hatta F127’ye kıyasla formunun daha stabil olduğu gözlemlenmiştir.

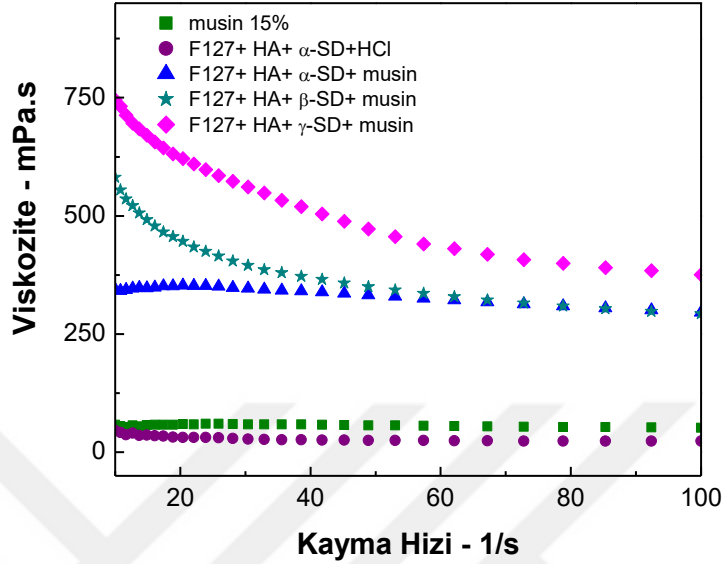


**Şekil 4.12 :** F127-HA- $\alpha$ -SD çözeltisinin enjeksiyon testi sırasında (sol) ve sonrasında (sağ)  $37^{\circ}\text{C}$ ’de görüntüsü.

F127-HA-SD üçlü sistemine ait çözeltilerin muko-adhezyon davranışa sahip olup olmadığını ortaya koymak amacıyla literatürde rapor edilen metot doğrultusunda musin proteini içeren çözeltiler hazırlanmış ve Reometre cihazında değişen kayma hızı değerlerinde viskoziteleri kaydedilmiştir (Şekil 4.13). Sadece musin çözeltisi ve musin içermeyen F127-HA-  $\alpha$ -SD sistemine ait viskozite değerlerinin kayma hızından bağımsız oldukça düşük viskozite değerlerine sahip olduğu görülmüştür. Farklı türde SD içeren formülasyonlara final konsantrasyonları aynı olacak şekilde musin eklendiğinde, çözeltilerin viskozite değerlerinin oldukça yükseldiği belirlenmiştir. Yapısı gereği muko-adeziv yapılar ile fiziksel etkileşime giren protein yapılı musin molekülleri, Şekil 4.13’de görüldüğü üzere,  $\alpha$ ,  $\beta$ - ve  $\gamma$ -SD içeren sistemlerin farklı viskoz davranışlar sergilemesine sebep olmuştur. Örneğin, tek başına 45 ve 58 mPa.s ( $10 \text{ s}^{-1}$  kayma hızı) viskozite değerine sahip F127-HA-  $\alpha$ -SD sistemi ve musin çözeltisinin biraraya getirilmesiyle oluşan yapının viskozite değeri 344 olarak ölçülmüş olup bölüm Denklem 3.1’e göre bu değer için muko-adezyon kuvveti ( $F$ ) 2.4



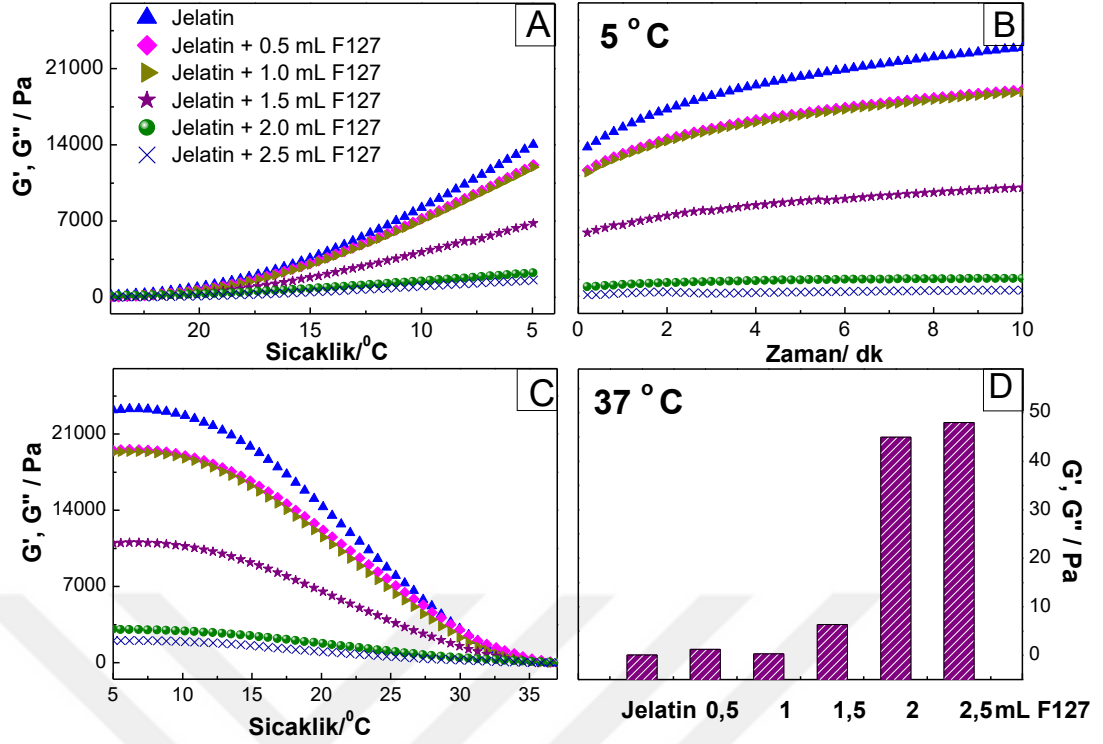
Pa olarak hesaplanmıştır. SD türüne bağlı olarak muko-adhezyon verileri kıyaslandığında, yapışkanlığı en fazla olandan az olana doğru sırasıyla  $\gamma$ ,  $\beta$  ve  $\alpha$  şeklinde olup yüksek kayma hızı değerlerinde aradaki farklar azalmaktadır.



**Şekil 4.13 :** F127+HA+siklodekstrin formülasyonu ile hazırlanan jellerin musin protein çözeltisi ile karıştırıldıktan sonra reometre de kayma hızına bağlı olarak muko-adezyon özelliklerinin incelenmesi.

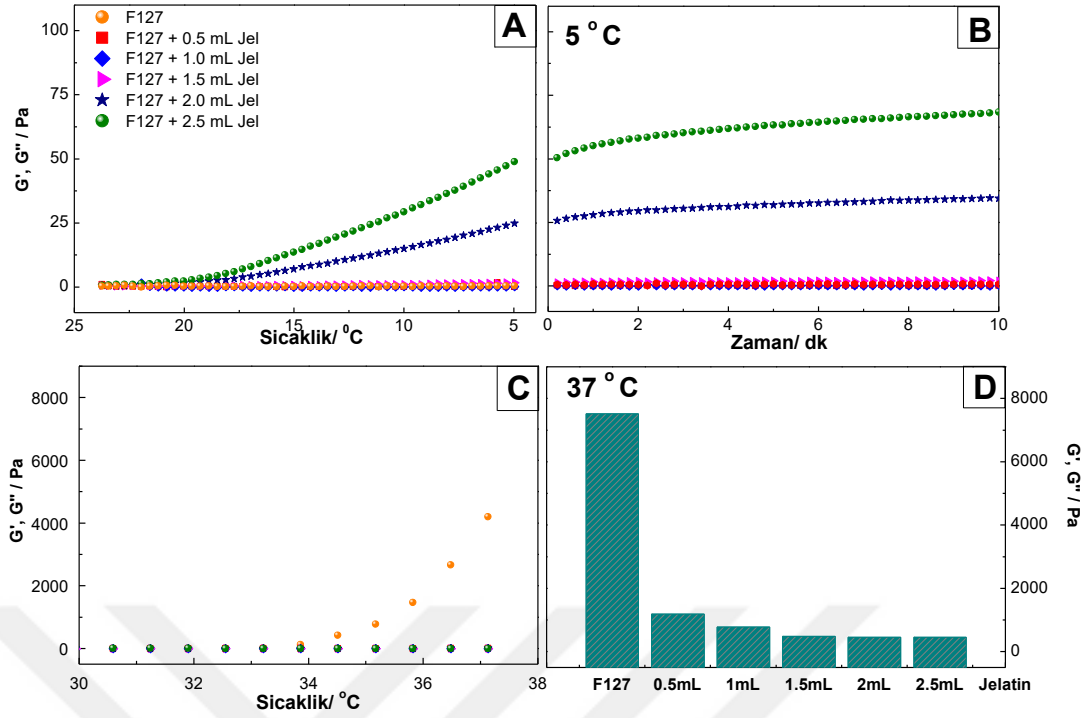
#### 4.4 F127 - Jelatin Jelleri

F127 jellerini daha sağlam yapabilmek adına yürütülen bu tez kapsamında F127 ve jelatin yapıları arasında kimyasal bağ olmaksızın sadece fiziksel etkileşimler sayesinde oluşturulan yapılar incelenmiştir. Bölüm 2.1.5'te belirtildiği üzere enjekte edilebilir F127-jelatin yapıları ile ilgili mevcut az sayıda çalışma dikkate alınarak, hem jelatin çözeltileri üzerine F127 katkısı hem de F127 yapılarına jelatin katkısı ayrı ayrı incelenmiştir. Şekil 4.14'te görüldüğü üzere çözeltiler ilk olarak oda sıcaklığından 5 °C'ye soğutulmuş ve burada bekletildikten sonra tekrar vücut sıcaklığına kontrollü bir şekilde ısıtılmıştır. Isıtma-soğutma profilleri incelendiğinde sadece jelatin (%20 ağ/hac) için 20 °C civarında jelleşme başlarken 5 °C'de  $G'$  ve  $G''$  değerleri sırasıyla 23 ve 0.3 kPa olarak ölçülmüştür ve sıcaklığın arttırılmasıyla elastik modül değerleri azalırken 37 °C'de neredeyse sıfıra ulaşarak çözelti formuna geçmiştir. Sisteme F127 eklenmesiyle 5 °C'deki  $G'$  değeri artan konsantrasyonla birlikte kademeli olarak azalırken, F127 polimerinin jel formunda olduğu 37 °C'de çok az da olsa artmıştır. Uygulamaya yönelik kullanım noktasında 37 °C'de Jelatin-F127 sistemine ait modül değerlerinin oldukça düşük olduğu görülmüştür.



**Şekil 4.14 :** Jelatin-F127 ile farklı konsantrasyonlarda hazırlanan jellerin, reometre cihazı ile 5  $^{\circ}\text{C}$  ve 37  $^{\circ}\text{C}$  olmak üzere sıcaklığa ve zamana bağlı davranışlarının incelenmesi. Örneklerin  $G'$  (içi dolu semboller),  $G''$  (içi boş semboller) modüllerinin sıcaklığa bağlı değişimi (A,C). Örneklerin  $G'$ ,  $G''$  modüllerinin zamana bağlı değişimi (B,D).

Bu çalışmanın ikinci basamağında ise F127 (%20 ağ/hac) çözeltileri üzerine jelatin eklenerek ısıtma-soğutma profilleri incelenmiştir. Şekil 4.15'de görüldüğü üzere F127-jelatin yapısı artan jelatin ile birlikte düşük sıcaklıklarda zayıf bir jel formunda iken vücut sıcaklığında jelatin katkısı modül değerlerini düşürmektedir. Çözeltilerin hazırlama prosesinde yapılan; bileşenlerin konsantrasyonları, CMC katkısı, manyetik karıştırıcı yerine ultrasonik homojenizatör kullanılması gibi değişikliklere rağmen F127 sistemine eklenen jelatinin jellerin yapısını zayıflattığı görülmüştür. Tezin ana amacı doğrultusunda, bu çalışmaların devamının getirilmemesine karar verilmiştir. Literatür verilerinden beklenenin tersi bu davranışın neden kaynaklandığı belirlenmemiştir.

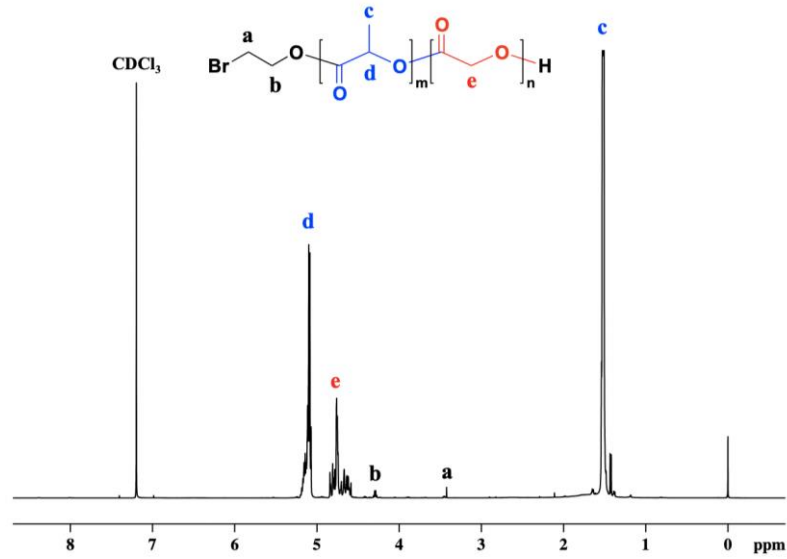


**Şekil 4.15 :** Jelatin-F127 ile farklı konsantrasyonlarda hazırlanan jellerin, reometre cihazı ile 5 °C ve 37 °C olmak üzere sıcaklığa ve zamana bağlı davranışlarının incelenmesi. Örneklerin  $G'$  (içi dolu semboller),  $G''$  (içi boş semboller) modüllerinin sıcaklığa bağlı değişimi (A,C). Örneklerin  $G'$ ,  $G''$  modüllerinin zamana bağlı değişimi (B,D).

#### 4.5 F127 - PLGA/PEG Jelleri

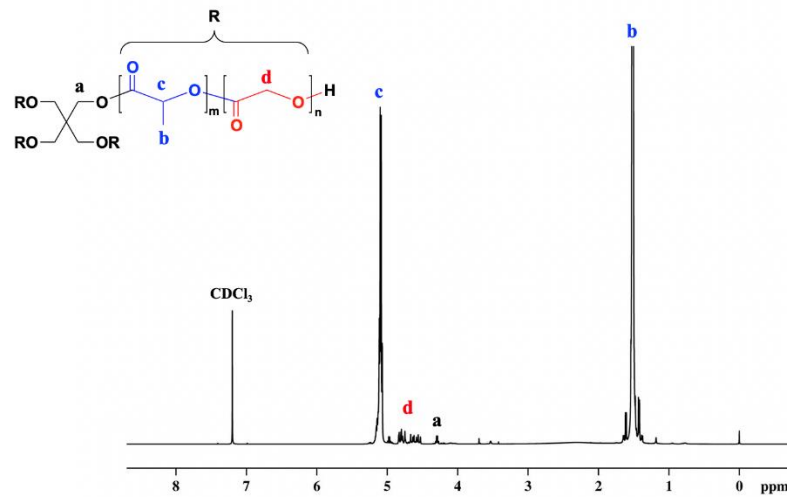
F127 çözeltileri lineer PLGA ve PEG zincirleri ile belirli bir prosedüre göre karıştırıldığında enjekte edilebilen jellerin mekanik olarak iyileştiği gösterilmiştir[76]. Bu bilgiye dayanarak, tezin son aşamasında lineer ve yıldız PLGA zincirleri yine PEG üniteleri ile birlikte F127 çözeltilerine karıştırılmış ve ilk defa bu tez kapsamında her iki sistem karşılaştırılmıştır. Yıldız şeklinde olan PLGA zincirlerinin F127 miselleri arasında bir çapraz bağlayıcı görevi yapacağı ve böylelikle etkileşimleri daha da güçlendireceği düşünülerek bu çalışma tasarlanmıştır. Bu amaç doğrultusunda ilk olarak lineer ve yıldız PLGA zincirleri deneysel kısımda belirtildiği üzere sentezlenmiş,  $^1\text{H}$  NMR ve FT-IR ile yapı tayini yapılmış, GPC ile molekül ağırlıkları belirlenmiştir.

Şekil 4.16'da lineer PLGA kopolimerine ait  $^1\text{H}$  NMR spektrumunu gösterilmektedir. Laktik asitin tekrarlayan metil grupları 1.5 ppm'de ve -CH protonları 5.2 ppm'de gözlenmiştir. Glikolik asitin -CH<sub>2</sub>- protonları ise 4.8 ppm'de görülmektedir. 3.4 ppm'de gözlenen -CH<sub>2</sub>-Br protonları ve 4.2 ppm'de gözlenen -CH<sub>2</sub>-O- protonları polimerizasyonun başlatıcı molekül üzerinden gittiğini doğrulamaktadır.



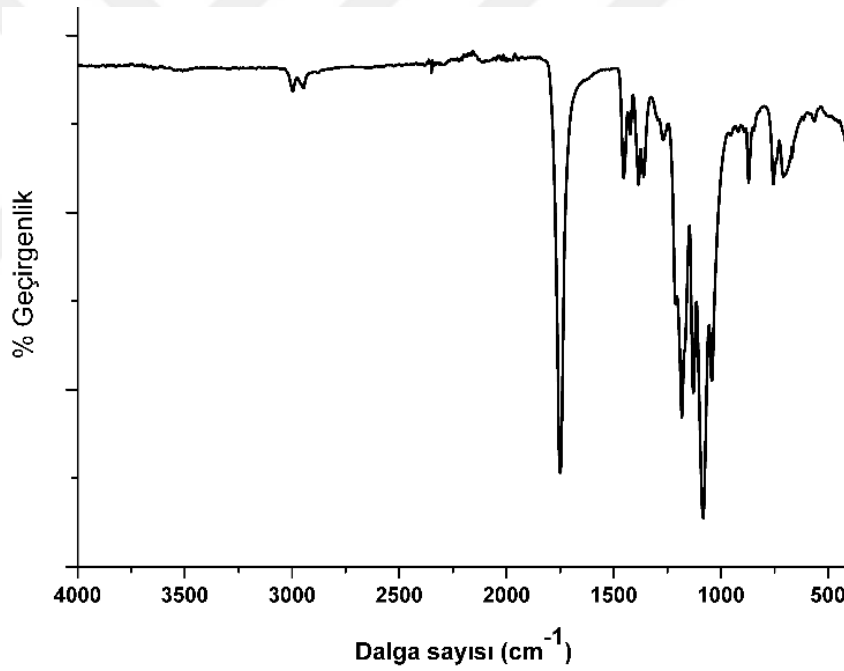
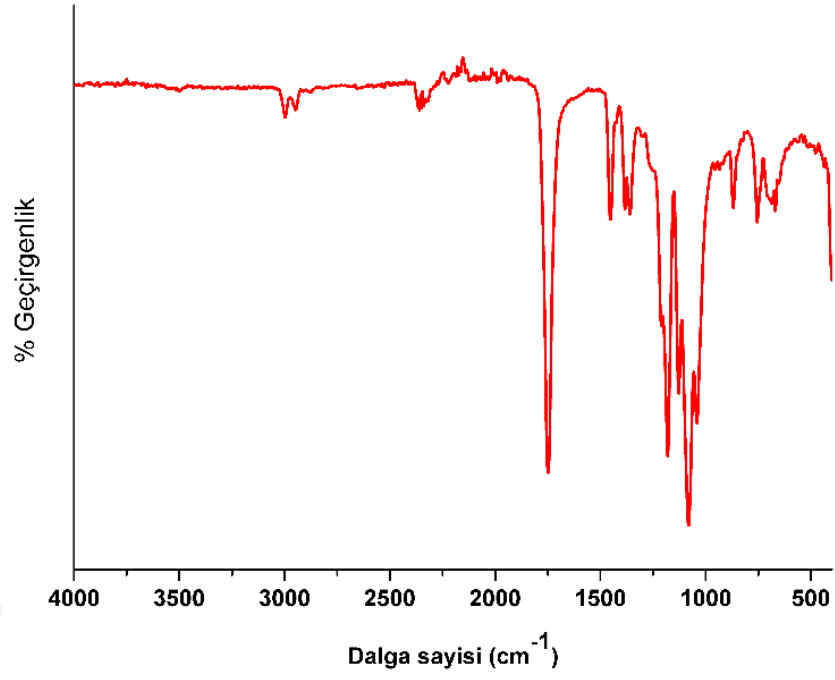
**Şekil 4.16 :** Linear PLGA polimerinin CDCl<sub>3</sub> içinde çekilmiş NMR spektrumu

Yıldız PLGA kopolimerinin <sup>1</sup>H NMR spektrumu Şekil 4.16’da görülmektedir. Linear PLGA polimerine benzer şekilde laktik asitin metil grupları 1.5 ppm’de ve -CH protonları 5.2 ppm’de gözlenmiştir. 4.8 ppm’de gözlenen protonlar glikolik asitin -CH<sub>2</sub>- protonları olup, pentaeritritolden gelen -CH<sub>2</sub>- protonları 4.3 ppm’de görülmektedir.



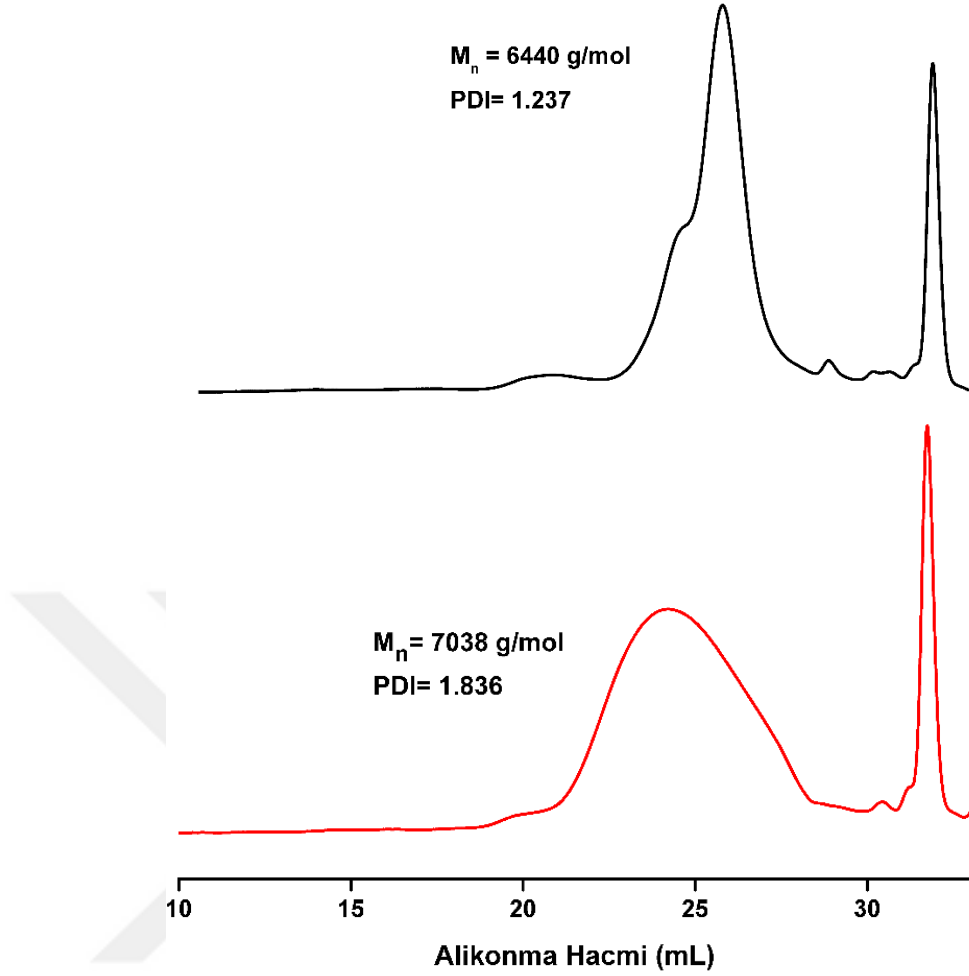
**Şekil 4.17 :** Star PLGA polimerinin CDCl<sub>3</sub> içinde çekilmiş NMR spektrumu.

NMR ile kopolimerlerin varlığı doğrulanırken FT-IR ölçümleri alınarak fonksiyonel gruplar gösterilmiştir (Şekil 4.18).



**Şekil 4.18** : Lineer ve yıldız PLGA polimerlerine ait FT-IR spektrumları.

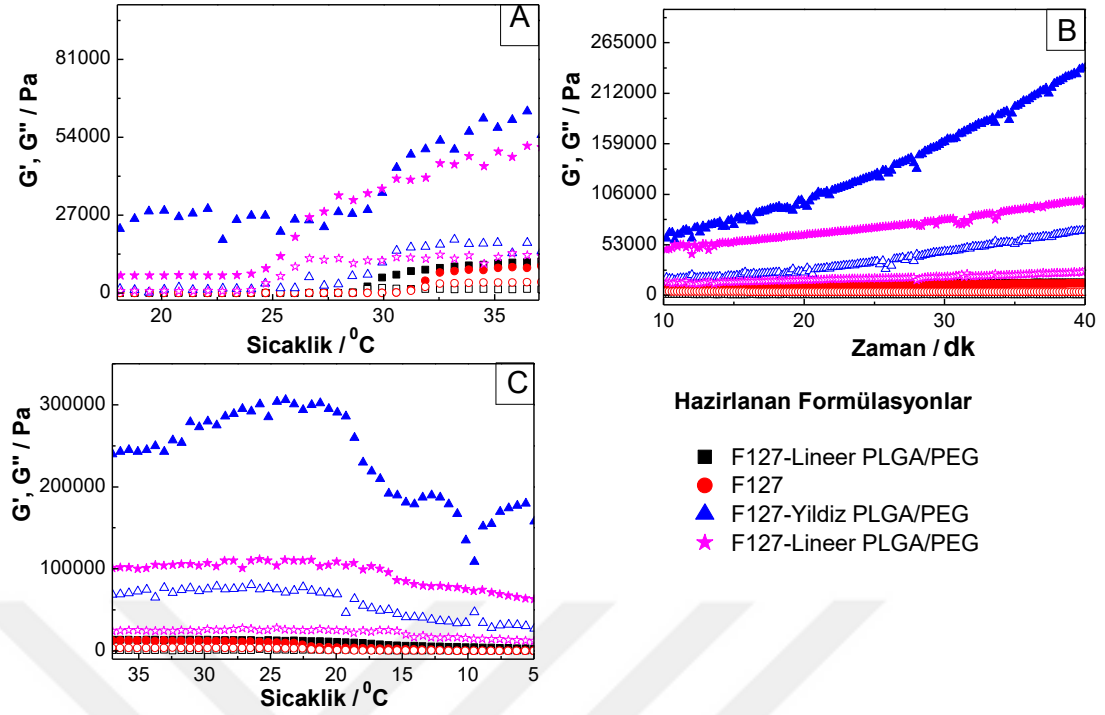
Yapılara ait FT-IR spektrumlarına bakıldığında PLGA zincirlerine ait CH, CH<sub>3</sub> ve CH<sub>2</sub> fonksiyonel gruplarının gerilme titreşim bantlarına karşılık gelen karakteristik pikler 2948 ve 2998 cm<sup>-1</sup>'de görülmektedir. 1397, 1426 ve 1454 cm<sup>-1</sup> 'deki pikler ise C=O gruplarının bükülme titreşimine ait olduğu düşünülmektedir [122].



**Şekil 4.19** : Lineer ve yıldız PLGA polimerlerinin GPC kromatogramları

Sentezlenen lineer ve yıldız PLGA polimerleri jel geçirgenlik kromatografisinde (GPC) incelenerek Şekil 4.19’da gösterildiği gibi ortalama molekül ağırlıkları belirlenmiştir. Buna göre lineer PLGA’nın molekül ağırlığı 6640 g/mol olarak kaydedilirken, yıldız PLGA’ nın molekül ağırlığı 7038 g/mol olarak ölçülmüştür. NMR, FT-IR ve GPC ile sentezlenen lineer ve yıldız PLGA zincirlerinin yapı tayinleri yapılarak bir sonraki aşamada kullanılmak üzere hazırlanmıştır.

Sentezi gerçekleştirilen yapılar daha önce hazırlanan F127 çözeltileriyle Rahman ve ark. yaptığı çalışmada verilen yöntemde olduğu gibi karıştırılmış ancak literatürde gösterildiği şekilde jel yapılarının elde edilemediği görülmüştür [76]. Belirtilen F127 konsantrasyonları PLGA/PEG karışımını ıslatacak miktarda olmadığından F127 konsantrasyonu 2 katına çıkarılmıştır. Aynı metot hem lineer hem de yıldız PLGA için uygulanmıştır. Şekil 4.20’de her iki sisteme ait ısıtma-soğutma profilleri verilmiştir.



**Şekil 4.20 :** F127- PLGA/PEG ve F127 formülasyonu ile sentezlenen jellerin reometrede sıcaklık ve zamana bağlı analizi. Örneklerin  $G'$  (içi dolu semboller),  $G''$  (içi boş semboller) modüllerinin sıcaklığa bağlı değişimi (A,C). Örneklerin  $G'$ ,  $G''$  modüllerinin sabit sıcaklıkta zamana bağlı değişimi (B).

F127- PLGA/PEG jelleri fiziksel karıştırma yöntemi ile hazırlandığından her defasında hazırlanan PLGA/PEG polimer karışımının partikül boyutlarının gözle görülür farklılıklara sahip olduğu deney esnasında gözlemlenmiştir. Tüm koşullara rağmen reolojik ölçümleri alınan jel sisteminin tekrarı yapılmış ve bu reolojik ölçümlerde aynı içerik ve koşullarda hazırlanan lineer PLGA sistemi için gösterilmiştir. İlk yapılan karşılaştırmada beklendiği üzere yapıya yıldız PLGA sistemi eklenmesindeki fark ortaya konya da lineer PLGA içeren sistemin ikinci tekrar ile karşılaştırma yapıldığında sistemler arasındaki denge değişmiştir.

## 5. SONUÇ

Pluronik esaslı, mekanik dayanımları iyileştirilmiş enjekte edilebilir bir formülasyon hazırlamak amacıyla yola çıkılan bu tez çalışmasında ilk olarak F127 çözeltilerinin akış dinamikleri incelenerek bundan sonraki aşamalarda kullanılmak üzere optimum konsantrasyonlar belirlenmiştir. Bu noktadan itibaren F127 çözeltilerine sırasıyla HA, HA-SD, jelatin ve PLGA/PEG yapılarının dahil edilmesiyle dört farklı sistem üzerinde çalışılmıştır.

F127-HA sistemi için kritik bir konsantrasyon (%1) üzerinde HA kullanıldığında jellerin modül değerleri düşerken bu konsantrasyonun altında çalışıldığında ise herhangi bir değişim gözlemlenmemiştir. Bunun yanısıra, artan HA katkısının sol-jel geçiş sıcaklığını düşük sıcaklıklara çektiğinden %1 konsantrasyonun bir sonraki aşamada kullanılmasına karar verilmiştir. İkinci aşamada sisteme SD üniteleri dahil edildiğinde yapıya eklenen SD'lerin kısmen mekanik dayanımı arttırsa da, gösterdikleri etkinin yeteri kadar kalıcı ve güçlü olmadığı anlaşılmıştır. Tüm bu bilgiler ışığında F127-HA-SD jelleri hazırlanmış ve üçlü sistemler için analizler sonucunda üç farklı yapının bir arada bulunmalarının hem sol-jel geçiş sıcaklığını vücut ısısına yaklaştırdığı hem de az miktar da olsa mekanik dayanımı arttırdığı ortaya konmuştur. Ayrıca üçlü sistemlerin amaçlandığı gibi enjekte edilebilir ve mukoadesiv özellikte olduğu gösterilmiştir. Tez kapsamında sentezlenen diğer bir sistem olan F127-jelatin jelleri belirlenen protokol doğrultusunda sentezlenmiş ancak incelemeler yapıldığında vücut ısısında istenilen özelliklere sahip olmadığı ve mekanik olarak zayıf özellikte oldukları anlaşılmıştır. Son sistem olan F127-PLGA/PEG jelleri için lineer ve yıldız PLGA polimerleri başarı ile sentezlenmiş olup iki farklı polimer için aynı protokol uygulanarak jeller oluşturulmuştur. Literatürdeki protokol sonucu F127-PLGA/PEG jel sistemleri elde edilememiş olup, deneysel kısımda değişiklikler yapılmıştır. Ancak fiziksel karışım yöntemine dayanan bu sistem için katı formdaki PLGA ve PEG polimer karışımını hazırlarken her defasında farklı partikül boyutuna sahip yapılar oluşmuş ve her ne kadar yapı jel özelliği gösterecek şekilde sistemin enjekte edilemediği görülmüştür. Tüm bu çalışmalar sonucunda, F127-HA-



SD jellerinin amaçlandığı doğrultuda istenilen özelliklere sahip olduğu görülmüş olup bu üçlü sistemin hücre kültürü çalışmaları yapılarak literatüre birçok farklı uygulamada kullanılabileceği düşünülmektedir.



## KAYNAKLAR

- [1] Gudeman, L.F. ve N.A. Peppas, *Preparation and characterization of pH-sensitive, interpenetrating networks of poly(vinyl alcohol) and poly(acrylic acid)*. 1995. 55(6): p. 919-928.
- [2] Buenger, D., F. Topuz, ve J. Groll, *Hydrogels in sensing applications*. Progress in Polymer Science, 2012. 37(12): p. 1678-1719.
- [3] Wu, C.-J., ve ark., *Mechanically Tough Pluronic F127/Laponite Nanocomposite Hydrogels from Covalently and Physically Cross-Linked Networks*. Macromolecules, 2011. 44(20): p. 8215-8224.
- [4] Kabanov, A.V., E.V. Batrakova, ve V.Y. Alakhov, *Pluronic® block copolymers as novel polymer therapeutics for drug and gene delivery*. Journal of Controlled Release, 2002. 82(2): p. 189-212.
- [5] Gioffredi, E., ve ark., *Pluronic F127 Hydrogel Characterization and Biofabrication in Cellularized Constructs for Tissue Engineering Applications*. Procedia CIRP, 2016. 49: p. 125-132.
- [6] Fakhari, A., M. Corcoran, ve A. Schwarz, *Thermogelling properties of purified poloxamer 407*. Heliyon, 2017. 3(8): p. e00390.
- [7] Bromberg, L., *Scaling of Rheological Properties of Hydrogels from Associating Polymers*. Macromolecules, 1998. 31(18): p. 6148-6156.
- [8] Brannon-Peppas, L., *Preparation and Characterization of Crosslinked Hydrophilic Networks*, in *Studies in Polymer Science*, L. Brannon-Peppas and R.S. Harland, Editors. 1990, Elsevier. p. 45-66.
- [9] Pawan, P., M. Porwal, ve A. Saxena, *Role of natural polymers in sustained release drug delivery system: Applications and recent approaches*. Vol. 2. 2011.
- [10] Hoffman, A.S., *Hydrogels for biomedical applications*. Advanced Drug Delivery Reviews, 2002. 54(1): p. 3-12.
- [11] Zhao, S., ve ark., *Synthesis and characterization of biodegradable thermo- and pH-sensitive hydrogels based on pluronic F127/poly( $\epsilon$ -caprolactone) macromer and acrylic acid*. Macromolecular Research, 2009. 17(12): p. 1025-1031.
- [12] Hoare, T.R. ve D.S. Kohane, *Hydrogels in drug delivery: Progress and challenges*. Polymer, 2008. 49(8): p. 1993-2007.
- [13] Varaprasad, K., ve ark., *A mini review on hydrogels classification and recent developments in miscellaneous applications*. Materials Science and Engineering: C, 2017. 79: p. 958-971.
- [14] Bhattacharjee, S. ve S. Bhattacharya, *Role of synergistic  $\pi$ - $\pi$  stacking and X-H...Cl (X = C, N, O) H-bonding interactions in gelation and gel phase crystallization*. Chemical Communications, 2015. 51(32): p. 7019-7022.
- [15] Appel, E.A., ve ark., *Self-assembled hydrogels utilizing polymer-nanoparticle interactions*. Nature Communications, 2015. 6: p. 6295.

- [16] Zhou, K., ve ark., *Self-assembly of the sodium salts of fatty acids into lipid hydrogels through non-covalent interactions with peptides*. RSC Advances, 2015. 5(76): p. 61719-61724.
- [17] Hu, J., ve ark., *Unique Thermo-Induced Sequential Gel– Sol– Gel Transition of Responsive Multiblock Copolymer-Based Hydrogels*. Macromolecules, 2010. 43(12): p. 5184-5187.
- [18] Wu, H., L. Zhu, ve V.P. Torchilin, *pH-sensitive poly(histidine)-PEG/DSPE-PEG co-polymer micelles for cytosolic drug delivery*. Biomaterials, 2013. 34(4): p. 1213-1222.
- [19] Chen, W. ve J. Du, *Ultrasound and pH Dually Responsive Polymer Vesicles for Anticancer Drug Delivery*. Scientific Reports, 2013. 3: p. 2162.
- [20] Katz, J.S. ve J.A. Burdick, *Light-Responsive Biomaterials: Development and Applications*. Macromolecular Bioscience, 2010. 10(4): p. 339-348.
- [21] Brahma, S., *Synthesis of Ph And Temperature Sensitive Hydrogels and Modelling of Drug Release Behavior*, in Department of Chemical Engineering. 2006, Inonu University.
- [22] Yahia, L., *History and Applications of Hydrogels*. Journal of Biomedical Sciences, 2015. 04(02).
- [23] *Gynaecological and Obstetric Management of Women With Inherited Bleeding Disorders*. Journal of Obstetrics and Gynaecology Canada, 2005. 27(7): p. 707-718.
- [24] Hirokawa, Y., T. Tanaka, ve T. T., *Volume phase transition in a nonionic gel*. 1984. 81(12): p. 6379-6380.
- [25] Xiong, X., K. Tam, ve L. H Gan, *Polymeric Nanostructures for Drug Delivery Applications Based on Pluronic Copolymer Systems*. Vol. 6. 2006. 2638-50.
- [26] T., T., *Gels*. sci. am., 1981. 244: p. 110.
- [27] Çakmak, H., *Synthesis and Characterization of Physical and Chemical DNA Hydrogels*. 2013, Istanbul Technical University.
- [28] Gil, E.S. ve S.M. Hudson, *Stimuli-responsive polymers and their bioconjugates*. Progress in Polymer Science, 2004. 29(12): p. 1173-1222.
- [29] Peppas, N.A., ve ark., *Hydrogels in pharmaceutical formulations*. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, 2000. 50(1): p. 27-46.
- [30] Kim, S.J., S.J. Park, ve S.I. Kim, *Properties of smart hydrogels composed of polyacrylic acid/poly(vinyl sulfonic acid) responsive to external stimuli*. Smart Materials and Structures, 2004. 13(2): p. 317-322.
- [31] Matanović, M.R., J. Kristl, ve P.A. Grabnar, *Thermoresponsive polymers: Insights into decisive hydrogel characteristics, mechanisms of gelation, and promising biomedical applications*. International Journal of Pharmaceutics, 2014. 472(1): p. 262-275.
- [32] Chai, Q., Y. Jiao, ve X. Yu, *Hydrogels for Biomedical Applications: Their Characteristics and the Mechanisms behind Them*. Gels, 2017. 3(1): p. 6.
- [33] Bromberg, L.E. ve E.S. Ron, *Temperature-responsive gels and thermogelling polymer matrices for protein and peptide delivery*. Advanced Drug Delivery Reviews, 1998. 31(3): p. 197-221.
- [34] Patel, A. ve K. Mequanint, *Hydrogel Biomaterials*. 2011.
- [35] Brøndsted, H. ve J. Kopeček, *pH-Sensitive Hydrogels*, in *Polyelectrolyte Gels*. 1992, American Chemical Society. p. 285-304.

- [36] Ni, H., H. Kawaguchi, ve T. Endo, *Preparation of Amphoteric Microgels of Poly(acrylamide/methacrylic acid/dimethylamino ethylene methacrylate) with a Novel pH–Volume Transition*. *Macromolecules*, 2007. 40(17): p. 6370-6376.
- [37] Miao, T., ve ark., *Self-Healing and Thermoresponsive Dual-Cross-Linked Alginate Hydrogels Based on Supramolecular Inclusion Complexes*. 2015. 16(12): p. 3740-3750.
- [38] Sivashanmugam, A., ve ark., *An overview of injectable polymeric hydrogels for tissue engineering*. *European Polymer Journal*, 2015. 72: p. 543-565.
- [39] Rodell, C.B., A.L. Kaminski, ve J.A. Burdick, *Rational Design of Network Properties in Guest–Host Assembled and Shear-Thinning Hyaluronic Acid Hydrogels*. 2013. 14(11): p. 4125-4134.
- [40] Berger, J., ve ark., *Structure and interactions in covalently and ionically crosslinked chitosan hydrogels for biomedical applications*. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 2004. 57(1): p. 19-34.
- [41] Chen, Q., ve ark., *A Novel Design Strategy for Fully Physically Linked Double Network Hydrogels with Tough, Fatigue Resistant, and Self-Healing Properties*. Vol. 25. 2015.
- [42] Wang, F., ve ark., *Metal Coordination Mediated Reversible Conversion between Linear and Cross-Linked Supramolecular Polymers*. 2010. 49(6): p. 1090-1094.
- [43] Rungseevijitprapa, W. ve R. Bodmeier, *Injectability of biodegradable in situ forming microparticle systems (ISM)*. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 2009. 36(4-5): p. 524-531.
- [44] Hassan, E.E. ve J.M.J.P.R. Gallo, *A Simple Rheological Method for the in Vitro Assessment of Mucin-Polymer Bioadhesive Bond Strength*. 1990. 7(5): p. 491-495.
- [45] Almeida, H., ve ark., *In situ gelling systems: a strategy to improve the bioavailability of ophthalmic pharmaceutical formulations*. *Drug Discov Today*, 2014. 19(4): p. 400-12.
- [46] Lejoyeux, F., ve ark., *Bioadhesive Tablets Influence of the Testing Medium Composition on Bioadhesion*. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 1989. 15(12): p. 2037-2048.
- [47] Mansuri, S., ve ark., *Mucoadhesion: A promising approach in drug delivery system*. Vol. 100. 2016.
- [48] Peppas, N.A. ve Y. Huang, *Nanoscale technology of mucoadhesive interactions*. *Adv Drug Deliv Rev*, 2004. 56(11): p. 1675-87.
- [49] Woertz, C., ve ark., *Assessment of test methods evaluating mucoadhesive polymers and dosage forms: An overview*. Vol. 85. 2013.
- [50] Karolewicz, B., *A review of polymers as multifunctional excipients in drug dosage form technology*. Vol. 39. 2015.
- [51] Junqueira, M.V., ve ark., *Evaluation of the methylene blue addition in binary polymeric systems composed by poloxamer 407 and Carbopol 934P using quality by design: rheological, textural, and mucoadhesive analysis*. *Drug Dev Ind Pharm*, 2016. 42(12): p. 2009-2019.
- [52] Chang, J.Y., ve ark., *Prolonged antifungal effects of clotrimazole-containing mucoadhesive thermosensitive gels on vaginitis*. *J Control Release*, 2002. 82(1): p. 39-50.
- [53] Tezel, A. ve G.H. Fredrickson, *The science of hyaluronic acid dermal fillers*. *Journal of Cosmetic and Laser Therapy*, 2008. 10(1): p. 35-42.

- [54] Lam, J., N.F. Truong, ve T. Segura, *Design of cell–matrix interactions in hyaluronic acid hydrogel scaffolds*. 2014. 10(4): p. 1571-1580.
- [55] West, D.C. ve S. Kumar, *Hyaluronan and angiogenesis*. Ciba Found Symp, 1989. 143: p. 187-201; discussion 201-7, 281-5.
- [56] Ohya, S., Y. Nakayama, ve T. Matsuda, *Thermoresponsive artificial extracellular matrix for tissue engineering: hyaluronic acid bioconjugated with poly(N-isopropylacrylamide) grafts*. Biomacromolecules, 2001. 2(3): p. 856-63.
- [57] Slevin, M., ve ark., *Hyaluronan, angiogenesis and malignant disease*. Int J Cancer, 2004. 109(5): p. 793-4; author reply 795-6.
- [58] Shu, X.Z., ve ark., *Disulfide-crosslinked hyaluronan-gelatin hydrogel films: a covalent mimic of the extracellular matrix for in vitro cell growth*. Biomaterials, 2003. 24(21): p. 3825-3834.
- [59] Schrieber, R. ve H. Gareis, *Gelatine handbook: theory and industrial practice*. 2007: John Wiley & Sons.
- [60] Liu, Y. ve M.B. Chan-Park, *A biomimetic hydrogel based on methacrylated dextran-graft-lysine and gelatin for 3D smooth muscle cell culture*. Biomaterials, 2010. 31(6): p. 1158-1170.
- [61] Huang, S. ve X. Fu, *Naturally derived materials-based cell and drug delivery systems in skin regeneration*. Journal of Controlled Release, 2010. 142(2): p. 149-159.
- [62] Neffe, A.T., ve ark., *Gelatin functionalization with tyrosine derived moieties to increase the interaction with hydroxyapatite fillers*. Acta Biomaterialia, 2011. 7(4): p. 1693-1701.
- [63] Lin, Y.-H., ve ark., *Physically crosslinked alginate/N,O-carboxymethyl chitosan hydrogels with calcium for oral delivery of protein drugs*. Biomaterials, 2005. 26(14): p. 2105-2113.
- [64] Feng, Q., ve ark., *Mechanically resilient, injectable, and bioadhesive supramolecular gelatin hydrogels crosslinked by weak host-guest interactions assist cell infiltration and in situ tissue regeneration*. Biomaterials, 2016. 101: p. 217-228.
- [65] Bigi, A., ve ark., *Mechanical and thermal properties of gelatin films at different degrees of glutaraldehyde crosslinking*. Biomaterials, 2001. 22(8): p. 763-768.
- [66] Shim, W.S., ve ark., *Novel Injectable pH and Temperature Sensitive Block Copolymer Hydrogel*. Biomacromolecules, 2005. 6(6): p. 2930-2934.
- [67] Das, S., ve ark., *Bioprintable, cell-laden silk fibroin–gelatin hydrogel supporting multilineage differentiation of stem cells for fabrication of three-dimensional tissue constructs*. Acta Biomaterialia, 2015. 11: p. 233-246.
- [68] Sanmartín-Masiá, E., S. Poveda-Reyes, ve G. Gallego Ferrer, *Extracellular matrix–inspired gelatin/hyaluronic acid injectable hydrogels*. International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials, 2017. 66(6): p. 280-288.
- [69] Yeh, M.-Y., ve ark., *Reverse thermo-responsive hydrogels prepared from Pluronic F127 and gelatin composite materials*. RSC Advances, 2017. 7(34): p. 21252-21257.
- [70] Tatini, D., ve ark., *Pluronic/gelatin composites for controlled release of actives*. Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 2015. 135: p. 400-407.

- [71] Makadia, H.K. ve S.J. Siegel, *Poly Lactic-co-Glycolic Acid (PLGA) as Biodegradable Controlled Drug Delivery Carrier*. *Polymers*, 2011. 3(3): p. 1377-1397.
- [72] Derman, S., K. Kizilbey, ve Z. Akdeste, *Polymeric Nanoparticles*. 2013.
- [73] Parveen, S. ve S.K. Sahoo, *Nanomedicine: clinical applications of polyethylene glycol conjugated proteins and drugs*. *Clin Pharmacokinet*, 2006. 45(10): p. 965-88.
- [74] Vroman, I. ve L. Tighzert, *Biodegradable Polymers*. *Materials*, 2009. 2(2): p. 307-344.
- [75] Danhier, F., ve ark., *PLGA-based nanoparticles: An overview of biomedical applications*. *Journal of Controlled Release*, 2012. 161(2): p. 505-522.
- [76] Rahman, C.V., ve ark., *PLGA/PEG-hydrogel composite scaffolds with controllable mechanical properties*. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, 2013. 101(4): p. 648-55.
- [77] Szwarc, M., M. Levy, ve R. Milkovich, *Polymerization initiated by electron transfer to monomer. A new method of formation of block polymers I*. *Journal of the American Chemical Society*, 1956. 78(11): p. 2656-2657.
- [78] Schmolka, I.R.J.J.o.t.A.O.C.S., *A review of block polymer surfactants*. 1977. 54(3): p. 110-116.
- [79] Riess, G., *Micellization of block copolymers*. *Progress in Polymer Science*, 2003. 28(7): p. 1107-1170.
- [80] Nagarajan, R., *Solubilization of hydrocarbons and resulting aggregate shape transitions in aqueous solutions of Pluronic® (PEO-PPO-PEO) block copolymers*. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 1999. 16(1): p. 55-72.
- [81] Cho, J., *The dynamics and phase behavior of suspensions of stimuli-responsive colloids*. 2019.
- [82] V. M. Nace, M.D., *A review of: "Nonionic Surfactants, Polyoxyalkylene Block Copolymers"*. *Surfactant Science Series*, 1996. 60(1): p. 111-111.
- [83] Zhai, J., ve ark., *Amphiphilic brush polymers produced using the RAFT polymerisation method stabilise and reduce the cell cytotoxicity of lipid lyotropic liquid crystalline nanoparticles*. *Faraday Discussions*, 2016. 191(0): p. 545-563.
- [84] Gong, J.P., ve ark., *Double-Network Hydrogels with Extremely High Mechanical Strength*. *Advanced Materials*, 2003. 15(14): p. 1155-1158.
- [85] Argun, A., ve ark., *Nonionic Double and Triple Network Hydrogels of High Mechanical Strength*. *Macromolecules*, 2014. 47(18): p. 6430-6440.
- [86] Hom, W.L. ve S.R. Bhatia, *Significant enhancement of elasticity in alginate-clay nanocomposite hydrogels with PEO-PPO-PEO copolymers*. *Polymer*, 2017. 109: p. 170-175.
- [87] Baskan, T., D.C. Tuncaboylu, ve O. Okay, *Tough interpenetrating Pluronic F127/polyacrylic acid hydrogels*. *Polymer*, 2013. 54(12): p. 2979-2987.
- [88] Missirlis, D., J.A. Hubbell, ve N. Tirelli, *Thermally-induced glass formation from hydrogel nanoparticles*. *Soft Matter*, 2006. 2(12): p. 1067-1075.
- [89] Cho, K.Y., ve ark., *Release of ciprofloxacin from poloxamer-graft-hyaluronic acid hydrogels in vitro*. *Int J Pharm*, 2003. 260(1): p. 83-91.
- [90] Jung, Y.-s., ve ark., *Thermo-sensitive injectable hydrogel based on the physical mixing of hyaluronic acid and Pluronic F-127 for sustained NSAID delivery*. *Carbohydrate Polymers*, 2017. 156: p. 403-408.

- [91] Khan, S., ve ark., *Self-assembled supramolecular thermoreversible  $\beta$ -cyclodextrin/ethylene glycol injectable hydrogels with difunctional Pluronic®127 as controlled delivery depot of curcumin. Development, characterization and in vitro evaluation.* Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition, 2018. 29(1): p. 1-34.
- [92] Sohn, S.S., ve ark., *Biomimetic and photo crosslinked hyaluronic acid/pluronic F127 hydrogels with enhanced mechanical and elastic properties to be applied in tissue engineering.* Macromolecular Research, 2016. 24(3): p. 282-291.
- [93] Rodell, C.B., A.L. Kaminski, ve J.A. Burdick, *Rational Design of Network Properties in Guest–Host Assembled and Shear-Thinning Hyaluronic Acid Hydrogels.* Biomacromolecules, 2013. 14(11): p. 4125-4134.
- [94] Appel, E.A., ve ark., *Self-assembled hydrogels utilizing polymer–nanoparticle interactions.* Nature Communications, 2015. 6(1): p. 6295.
- [95] Liu, Y., ve ark., *Water-soluble supramolecular polymerization driven by multiple host-stabilized charge-transfer interactions.* Angew Chem Int Ed Engl, 2010. 49(37): p. 6576-9.
- [96] Moon, H.J., ve ark., *Temperature-responsive compounds as in situ gelling biomedical materials.* Chem Soc Rev, 2012. 41(14): p. 4860-83.
- [97] Zhang, Z.X., K.L. Liu, ve J. Li, *A thermoresponsive hydrogel formed from a star-star supramolecular architecture.* Angew Chem Int Ed Engl, 2013. 52(24): p. 6180-4.
- [98] Huang, F. ve O.A. Scherman, *Supramolecular polymers.* Chemical Society Reviews, 2012. 41(18): p. 5879-5880.
- [99] Guvendiren, M., H.D. Lu, ve J.A. Burdick, *Shear-thinning hydrogels for biomedical applications.* Soft Matter, 2012. 8(2): p. 260-272.
- [100] Crini, G., ve ark., *Fundamentals and Applications of Cyclodextrins*, in *Cyclodextrin Fundamentals, Reactivity and Analysis*, S. Fourmentin, G. Crini, and E. Lichtfouse, Editors. 2018, Springer International Publishing: Cham. p. 1-55.
- [101] Wei, Z., ve ark., *Self-Healing Materials: Novel Biocompatible Polysaccharide-Based Self-Healing Hydrogel (Adv. Funct. Mater. 9/2015).* 2015. 25(9): p. 1471-1471.
- [102] Lin, N. ve A. Dufresne, *Supramolecular Hydrogels from In Situ Host–Guest Inclusion between Chemically Modified Cellulose Nanocrystals and Cyclodextrin.* Biomacromolecules, 2013. 14(3): p. 871-880.
- [103] Appel, E.A., ve ark., *Supramolecular polymeric hydrogels.* Chemical Society Reviews, 2012. 41(18): p. 6195-6214.
- [104] Wu, X., ve ark., *Supramolecular Drug Delivery Systems Based on Water-Soluble Pillar[n]arenes.* Chem Rec, 2016. 16(3): p. 1216-27.
- [105] Kuo, W.-Y. ve H.-M. Lai, *Morphological, structural and rheological properties of beta-cyclodextrin based polypseudorotaxane gels.* Vol. 52. 2011. 3389-3395.
- [106] Szejtli, J., *CHEMICAL AND FUNCTIONAL PROPERTIES OF FOOD SACCHARIDES: 17. CYCLODEXTRINS.* 2004. p. 271-289.
- [107] Araki, J. ve K. Ito, *Recent advances in the preparation of cyclodextrin-based polyrotaxanes and their applications to soft materials.* Soft Matter, 2007. 3(12): p. 1456-1473.

- [108] **Li, J. ve X.J. Loh**, *Cyclodextrin-based supramolecular architectures: syntheses, structures, and applications for drug and gene delivery*. *Adv Drug Deliv Rev*, 2008. 60(9): p. 1000-17.
- [109] **Zarzycki, P.K., B.e. Fenert, ve B.K. Glód**, 17 - *Cyclodextrins-based nanocomplexes for encapsulation of bioactive compounds in food, cosmetics, and pharmaceutical products: principles of supramolecular complexes formation, their influence on the antioxidative properties of target chemicals, and recent advances in selected industrial applications*, in *Encapsulations*, A.M. Grumezescu, Editor. 2016, Academic Press. p. 717-767.
- [110] **Zhang, J. ve P.X. Ma**, *Cyclodextrin-based supramolecular systems for drug delivery: Recent progress and future perspective*. 2013. 65(9): p. 1215-1233.
- [111] **Tian, Z., C. Chen, ve H.R. Allcock**, *Injectable and Biodegradable Supramolecular Hydrogels by Inclusion Complexation between Poly(organophosphazenes) and  $\alpha$ -Cyclodextrin*. *Macromolecules*, 2013. 46(7): p. 2715-2724.
- [112] **Li, J., ve ark.**, *Self-assembled supramolecular hydrogels formed by biodegradable PEO-PHB-PEO triblock copolymers and alpha-cyclodextrin for controlled drug delivery*. *Biomaterials*, 2006. 27(22): p. 4132-40.
- [113] **Okada, M., M. Kamachi, ve A. Harada**, *Preparation and Characterization of Inclusion Complexes of Poly(propylene glycol) with Methylated Cyclodextrins*. *The Journal of Physical Chemistry B*, 1999. 103(14): p. 2607-2613.
- [114] **Li, J., ve ark.**, *Formation of Supramolecular Hydrogels Induced by Inclusion Complexation between Pluronic and  $\alpha$ -Cyclodextrin*. *Macromolecules*, 2001. 34(21): p. 7236-7237.
- [115] **Ni, X., A. Cheng, ve J. Li**, *Supramolecular hydrogels based on self-assembly between PEO-PPO-PEO triblock copolymers and  $\alpha$ -cyclodextrin*. *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 2009. 88A(4): p. 1031-1036.
- [116] **Zu, S.-Z. ve B.-H. Han**, *Aqueous Dispersion of Graphene Sheets Stabilized by Pluronic Copolymers: Formation of Supramolecular Hydrogel*. *The Journal of Physical Chemistry C*, 2009. 113(31): p. 13651-13657.
- [117] **Zhao, S.-P. ve W.-L. Xu**, *Thermo-sensitive hydrogels formed from the photocrosslinkable polypseudorotaxanes consisting of  $\beta$ -cyclodextrin and Pluronic F68/PCL macromer*. *Journal of Polymer Research*, 2010. 17(4): p. 503-510.
- [118] **Zhao, S.-P., ve ark.**, *Fabrication of Novel Supramolecular Hydrogels with High Mechanical Strength and Adjustable Thermosensitivity*. *The Journal of Physical Chemistry B*, 2006. 110(33): p. 16503-16507.
- [119] **Perry, C., ve ark.**, *Pluronic and  $\beta$ -cyclodextrin in water: from swollen micelles to self-assembled crystalline platelets*. *Soft Matter*, 2011. 7(7): p. 3502-3512.
- [120] **Huang, J., ve ark.**, *Soy protein-based nanocomposites reinforced by supramolecular nanoplatelets assembled from pluronic polymers/ $\beta$ -cyclodextrin pseudopolyrotaxanes*. 2008. 107(1): p. 409-417.



- [121] **Han, B.-H. ve M. Antonietti**, *Cyclodextrin-Based Pseudopolyrotaxanes as Templates for the Generation of Porous Silica Materials*. *Chemistry of Materials*, 2002. 14(8): p. 3477-3485.
- [122] **Singh, R., ve ark.**, *Development and characterization of folate anchored Saquinavir entrapped PLGA nanoparticles for anti-tumor activity*. *Drug Dev Ind Pharm*, 2015. 41(11): p. 1888-901.



## ÖZGEÇMİŞ

**Ad-Soyad** : Sevgi SEÇER  
**Doğum Tarihi ve Yeri** : 23.02.1994, İstanbul  
**E-posta** : sevgi\_secer@hotmail.com

### ÖĞRENİM DURUMU:

- **Lisans** : 2016, İstanbul Yeni Yüzyıl Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik

### DİĞER TEZLER VE SUNUMLAR:

- **Lisans Tezi** : ‘*Bölünen Maya Modelinde Antisense RNA ve Stres Yanıtı Arasındaki İlişkinin Anlaşılması*’.
- **Poster Sunumu** : Sevgi SEÇER, Deniz CEYLAN TUNCABOYLU, ‘*Mechanically Enhanced and Mucoadhesive Injectable Hydrogels*’, SUPRABIO Sempozyumu, 2019.