

T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SİKLODEKSTRİN TEMELLİ BİYOUYUMLU HİDROJELLERİN
SENTEZİ VE ASHERMAN SENDROMUNDA UYGULANMASI

BÜŞRA AKSOY ERDEN

DOKTORA TEZİ
KİMYA ANABİLİM DALI

MALATYA
TEMMUZ 2019

Tezin Başlığı : Siklodekstrin Temelli Biyouyumlu Hidrojellerin Sentezi ve Asherman Sendromunda Uygulanması

Tezi Hazırlayan : Büşra AKSOY ERDEN

Sınav Tarihi : 12.07.2019

Yukarıda adı geçen tez jürimizce değerlendirilerek Kimya Ana Bilim Dalında Doktora Tezi olarak kabul edilmiştir.

Sınav Jürisi Üyeleri (ilk isim jüri başkanı, ikinci isim tez danışmanı)

Prof. Dr. Turgay SEÇKİN
İnönü Üniversitesi

Prof. Dr. Süleyman KÖYTEPE
İnönü Üniversitesi

Prof. Dr. Burhan ATEŞ
İnönü Üniversitesi

Prof. Dr. Hüseyin ZENGİN
Gaziantep Üniversitesi

Doç. Dr. Gamze BARIM
Adıyaman Üniversitesi

İnönü Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Onayı
Prof. Dr. H. İbrahim ADIGÜZEL
Enstitü Müdürü

ONUR SÖZÜ

Doktora Tezi olarak sunduğum “Siklodekstrin Temelli Biyouyumlu Hidrojellerin Sentezi ve Asherman Sendromunda Uygulanması” başlıklı bu çalışmanın bilimsel ahlak ve geleneklere aykırı düşecek bir yardıma başvurmaksızın tarafımdan yazıldığını ve yararlandığım bütün kaynakların hem metin içinde hem de kaynakçada yöntemine uygun biçimde gösterilenlerden oluştuğunu belirtir, bunu onurumla doğrularım.

Büşra AKSOY ERDEN

ÖZET

DOKTORA TEZİ

SİKLODEKSTRİN TEMELLİ BİYUYUMLU HİDROJELLERİN SENTEZİ VE ASHERMAN SENDROMUNDA UYGULANMASI

Büşra AKSOY ERDEN

İnönü Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Kimya Anabilim Dalı

207 + xvii sayfa

2019

Danışman: Prof. Dr. Süleyman KÖYTEPE

Bu çalışmanın amacı, ameliyat sonrası hasarlı rahim dokusunun yeniden oluşması sırasında olası rahim içi yapışmaları önlemek için farklı gözenek boyutları ile siklodekstrin temelli hidrojellerin sentezlenmesi, karakterizasyonu ve Asherman sendromunda uygulamalarının araştırılmasıdır. Bu nedenle, yapılan çalışmada Asherman sendromunu önlemek amacıyla mekanik bariyer özelliği taşıyan siklodekstrin temelli enjekte edilebilir hidrojeller sentezlenmiştir. Bu hidrojel yapıları beş farklı PEG, beş farklı polifenol ve çapraz bağlayıcı olarak üç farklı siklodekstrinden oluşmaktadır. Hidrojellerin sentezi için öncelikle epoksi fonksiyonel PEG yapıları, PEG ile epiklorhidrinin etkileştirilmesiyle elde edilmiştir. Daha sonra bu yapılar ile siklodekstrin ve polifenol gruplarının bir arada çapraz bağlanması sonucunda hidrojeller sentezlenmiştir. Sentezlenen hidrojellerin yapısal karakterizasyonları FTIR spektroskopisi ile aydınlatılmıştır, yüzey özellikleri SEM ve AFM teknikleri ile gerçekleştirilmiştir. Ayrıca hidrojellerin ısı kararlılıkları ve ısı özellikleri TGA ve DSC analizleri ile belirlenmiştir. Hidrojellerin şişme, enjekte edilebilirlik ve biyoyumluluk özellikleri araştırılmıştır. Ayrıca bu hidrojellerin ilaç salım özellikleri incelenmiş ve melatonin ve östrojen içeren en uygun uygulama formu saptanmıştır. Bu özelliklerin bir sonucu olarak seçilen hidrojel yapısı, *in vivo* testlerde kullanılarak Asherman sendromunun engellenmesindeki potansiyeli belirlenmiştir. Sonuç olarak, farklı PEG, polifenol ve siklodekstrin kullanılması ile ısı kararlılığı 200 °C civarında ve mekanik bariyer özelliği yüksek, enjekte edilebilir hidrojeller elde edilmiştir. Biyoyumluluk sonucuna göre, hidrojellerin grade 0 ve grade 1 düzeyinde biyoyumlu olduğu belirlenmiştir. Biyokimyasal ve histolojik verilere göre, östrojen ve melatonin içeren siklodekstrin temelli hidrojel uygulamasının Asherman sendromunun zararını azaltmada etkisi olduğu saptanmıştır.

ANAHTAR KELİMELE: Hidrojel, Siklodekstrin, Asherman sendromu, Östrojen, Biyoyumluluk.

ABSTRACT

PhD THESIS

SYNTHESIS AND APPLICATION IN ASHERMAN'S SYNDROME OF CYCLODEXTRIN-BASED BIOCOMPATIBLE HYDROGELS

Büşra AKSOY ERDEN

İnönü University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Chemistry

207 + xvii pages

2019

Supervisor: Prof. Dr. Süleyman KÖYTEPE

The aim of this study is synthesis, characterization of cyclodextrin-based hydrogels with different pore sizes, for prevent possible intrauterine adhesions during the regeneration of damaged uterine tissue post-surgical intervention, and investigation of their applications in Asherman syndrome. Therefore, in this study cyclodextrin-based injectable hydrogels with mechanical barrier properties have been synthesized to prevent the formation of Asherman's syndrome. The structures of these hydrogels are composed of five different PEGs, five different polyphenols and three different cyclodextrin groups as crosslinkers. For the synthesis of hydrogels, firstly, epoxy functional PEG structures were obtained by interacting PEG with epichlorohydrin. Then, hydrogels were synthesized by cross-linking cyclodextrin and polyphenol groups with them. Structural characterizations of hydrogels were elucidated with FTIR spectroscopy, surface properties were performed by AFM and SEM techniques. In addition, thermal stability and thermal properties of hydrogels were determined by TGA and DSC analyzes. Swelling, injectability and biocompatibility properties of hydrogels were investigated. In addition, the drug release properties of the hydrogels were examined and the most appropriate application form containing melatonin and estrogen was determined. As a result of these properties, the selected hydrogel structure was used in *in vivo* tests to determine its potential in preventing Asherman syndrome. Consequently, injectable hydrogels with thermal stability of 200 °C and high mechanical barrier properties were obtained by using different PEGs, polyphenols and cyclodextrins. According to the biocompatibility test, it was determined that these hydrogels were biocompatible at grade 0 and grade 1 levels. According to biochemical and histological data, the application of cyclodextrin-based hydrogel containing estrogen and melatonin has been determined to have an effect on reducing Asherman's syndrome damage.

KEYWORDS: Hydrogel, Cyclodextrin, Asherman's syndrome, Estrogen, Biocompatibility.

TEŞEKKÜR

Lisansüstü öğrenimim süresince bilgi ve deneyimlerinden her zaman faydalandığım, deneysel çalışmalarım sırasında her türlü desteği ve yardımı sağlayan kıymetli danışman hocam Prof. Dr. Süleyman KÖYTEPE'ye,

Bana her zaman ve her anlamda yardımcı olan ve desteğini esirgemeyen değerli hocam İnönü Üniversitesi Fen Fakültesi Fizikokimya Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Turgay SEÇKİN'e,

Tezim ve her konuda beni her zaman sabırla dinleyip yardımcı olan, tezime katkısı büyük olan değerli hocam, İnönü Üniversitesi Fen Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Burhan ATEŞ'e, bana her zaman destek olan ve güler yüzünü hiçbir zaman esirgemeyen değerli hocam İnönü Üniversitesi Fen Fakültesi Biyokimya Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. İsmet YILMAZ'a, katkılarından dolayı SANKO Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Ilgın TÜRKÇÜOĞLU'na, İzmir Katip Çelebi Üniversitesi Tıp Fakültesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Prof. Dr. Meltem KURUŞ'a, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Kadın Hastalıkları ve Doğum Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. Rauf Melekoğlu'na, histolojik ölçümlerin gerçekleştirilmesinde yardımcı olan Doktora Öğrencisi Birgül YİĞİTCAN'a, bana her konuda destek olan çok sevdiğim değerli hocalarım Dr. Öğretim Görevlisi İdil KARACA AÇARI'ya ve Dr. Öğretim Üyesi Ünzile KELEŞTEMUR'a, çalışmalarım boyunca yardımlarını esirgemeyen Selda SEZER, İmren ÖZCAN, Evren SEL, Merve TÜRKER ve Öğretim Görevlisi Sevgi BALCIOĞLU'na,

Küçüklüğümünden bu yana haklarını asla ödeyemeyeceğim, yaşantımın her döneminde hem maddi hem manevi destekçilerim olan, fedakarlıkları takdire şayan canımdan çok sevdiğim kıymetli AİLEM'e ve bu süreçte göstermiş olduğu sonsuz fedakarlığı, anlayışı, sabrı, desteği ve tüm yardımlarından dolayı biricik eşim Yavuz ERDEN'e teşekkür ederim.

“Siklodekstrin Temelli Multi Fonksiyonel Biyouyumlu Hidrojellerin Sentezi ve Cerrahi Hasar Sonrası Uterus içi Yapışıklıkların (Asherman Sendromu) Önlenmesinde Kullanımı” başlıklı ve 215Z322 numaralı proje ile bu tezin gerçekleşmesine destek veren TÜBİTAK'a teşekkürlerimi sunarım.

Büşra AKSOY ERDEN

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	x
ÇİZELGELER DİZİNİ	xvii
1. GİRİŞ	1
2. KURAMSAL TEMELLER	5
2.1. Hidrojeller ve Genel Özellikleri.....	6
2.1.1. Hidrojellerin sentez yöntemleri.....	7
2.2. Doğal ve Sentetik Hidrojeller.....	9
2.3. Siklodekstrin Temelli Hidrojeller.....	10
2.4. Hidrojellerin Uygulama Alanları	12
2.4.1. Hidrojellerin biyomedikal uygulamaları	13
2.4.1.1. Hidrojellerin ilaç salımı uygulamaları.....	14
2.4.1.2. Asherman sendromu ve rahim içi hidrojel uygulamaları	16
2.5. Amaç	19
3. MALZEME VE YÖNTEM.....	20
3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler	20
3.2. Kullanılan Cihazlar	23
3.3. Hidrojel Yapılarının Sentezi	24
3.3.1. Poli(etilen glikol) diglisidil eter yapılarının sentezi.....	24
3.3.2. Hidrojel sentezinde monomer oranlarının tespiti ve sıcaklık optimizasyonu	24
3.3.3. Siklodekstrin temelli hidrojel yapılarının sentezi.....	25
3.4. Poli(etilen glikol) diglisidil eter ve Hidrojel Yapılarının Karakterizasyonu.....	27
3.5. Hidrojel Yapılarının Şişme Özelliklerinin Belirlenmesi	29
3.6. Hidrojellerin Enjekte Edilebilirliklerinin Belirlenmesi.....	29
3.7. Hidrojellerin Biyouyumluluklarının Belirlenmesi	30
3.8. İlaç Yükleme	31

3.9.	İlaç Salım Çalışması.....	31
3.10.	En Uygun Hidrojel Seçimi	31
3.11.	Deney Hayvanı Çalışmaları	32
3.11.1.	Deney hayvanı.....	32
3.11.2.	Hayvan gruplarının oluşturulması.....	32
3.12.	Histolojik Değerlendirme	39
3.13.	Dokudaki Oksidatif Stres Düzeyinin Değerlendirilmesi.....	39
3.13.1.	Lipit peroksidasyonunun (MDA) belirlenmesi	40
3.13.2.	Miyeloperoksidaz (MPO) aktivitesi ölçümü	40
3.13.3.	NO ölçümü	40
3.14.	İstatistiksel Analiz	41
4.	BULGULAR VE TARTIŞMA	42
4.1.	Poli(etilen glikol) diglisidil eter Yapısının Elde Edilmesi	43
4.2.	Hidrojel Sentezi için Monomer Oranlarının Tespiti ve Hidrojel Sentez Sıcaklığının Optimizasyonu	49
4.3.	α , β ve γ -Siklodekstrin Temelli Hidrojel Yapılarının Sentezi.....	51
4.4.	Hidrojel Yapılarının Yapısal Karakterizasyonu.....	55
4.4.1.	α -Siklodekstrin temelli hidrojel yapılarının karakterizasyonu.....	56
4.4.1.1.	PEG 400 ve α -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarının karakterizasyonu.....	57
4.4.1.2.	PEG 600 ve α -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarının karakterizasyonu.....	63
4.4.1.3.	PEG 800 ve α -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarının karakterizasyonu.....	69
4.4.1.4.	PEG 1000 ve α -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarının karakterizasyonu.....	76
4.4.1.5.	PEG 2000 ve α -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarının karakterizasyonu.....	83
4.4.2.	β -Siklodekstrin temelli hidrojel yapılarının karakterizasyonu	89
4.4.2.1.	PEG 400 ve β -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarının karakterizasyonu.....	90
4.4.2.2.	PEG 600 ve β -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarının karakterizasyonu.....	98

4.4.2.3.	PEG 800 ve β -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarının karakterizasyonu.....	102
4.4.2.4.	PEG 1000 ve β -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarının karakterizasyonu.....	107
4.4.2.5.	PEG 2000 ve β -Siklodekstrin temelli hidrojel yapılarının karakterizasyonu.....	113
4.4.3.	γ -Siklodekstrin temelli hidrojel yapılarının karakterizasyonu	118
4.4.3.1.	PEG 400 ve γ -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarının karakterizasyonu.....	119
4.4.3.2.	PEG 600 ve γ -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarının karakterizasyonu.....	124
4.4.3.3.	PEG 800 ve γ -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarının karakterizasyonu.....	129
4.4.3.4.	PEG 1000 ve γ -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarının karakterizasyonu.....	135
4.4.3.5.	PEG 2000 ve γ -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarının karakterizasyonu.....	140
4.5.	Hidrojellerin Şişme Özelliklerinin Belirlenmesi.....	148
4.6.	Hidrojellerin Enjekte Edilebilirliklerinin Test Edilmesi	156
4.7.	Sentezlenen Hidrojellerin <i>İn vitro</i> Hücre Kültür Sisteminde Biyouyumluluk Özelliklerinin Ölçülmesi	161
4.8.	İlaç Salım Çalışmaları	167
4.9.	<i>İn vivo</i> Asherman Hayvan Model Sisteminde Hidrojellerin Uygulanması.....	170
4.10.	Histolojik Değerlendirme.....	170
4.10.1.	Epitel hasarı, dökülmesi, konjesyon.....	171
4.10.2.	Endometriyum kalınlığı.....	178
4.10.3.	Hücre infiltrasyonu.....	179
4.10.4.	Fibrozis düzeyi	180
4.11.	Biyokimyasal Değerlendirme.....	182
4.11.1.	MDA düzeyi.....	182
4.11.2.	MPO aktivitesi.....	183
4.11.3.	NO düzeyi	184
5.	SONUÇLAR VE ÖNERİLER	186

6.	KAYNAKLAR.....	190
	ÖZGEÇMİŞ	206



SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

α SD	α -siklodekstrin
β SD	β -siklodekstrin
γ SD	γ -siklodekstrin
PEG	Poli(etilen glikol)
PEGDGE	Poli(etilen glikol) diglisidil eter
KA	Kafeik asit
GA	Gallik asit
Ek	Epikateşin
Kuar	Kuarsetin
Kur	Kurkumin
DSC	Diferansiyel taramalı kalorimetri
TGA	Termogravimetrik analiz
FTIR	Fourier transform infrared spektroskopisi
FTIR-ATR	Fourier transform infrared spektroskopisi ATR çekimi
NMR	Nükleer manyetik rezonans spektroskopisi
EA	Elemental Analiz
SEM	Taramalı elektron mikroskobu
AFM	Atomik kuvvet mikroskobu
UV-Vis	Ultraviyole Görünür Bölge Spektroskopisi
DMSO	Dimetil sülfoksit
ASH	Asherman sendromu
OST	Östrojen
MEL	Melatonin
HDJ	Hidrojel
α SD-PEG-400	α SD ve PEG400 ile sentezlenen hidrojeller
α SD-PEG-600	α SD ve PEG600 ile sentezlenen hidrojeller
α SD-PEG-800	α SD ve PEG800 ile sentezlenen hidrojeller
α SD-PEG-1000	α SD ve PEG1000 ile sentezlenen hidrojeller
α SD-PEG-2000	α SD ve PEG2000 ile sentezlenen hidrojeller

β SD-PEG-400	β SD ve PEG400 ile sentezlenen hidrojeller
β SD-PEG-600	β SD ve PEG600 ile sentezlenen hidrojeller
β SD-PEG-800	β SD ve PEG800 ile sentezlenen hidrojeller
β SD-PEG-1000	β SD ve PEG1000 ile sentezlenen hidrojeller
β SD-PEG-2000	β SD ve PEG2000 ile sentezlenen hidrojeller
γ SD-PEG-400	γ SD ve PEG400 ile sentezlenen hidrojeller
γ SD-PEG-600	γ SD ve PEG600 ile sentezlenen hidrojeller
γ SD-PEG-800	γ SD ve PEG800 ile sentezlenen hidrojeller
γ SD-PEG-1000	γ SD ve PEG1000 ile sentezlenen hidrojeller
γ SD-PEG-2000	γ SD ve PEG2000 ile sentezlenen hidrojeller



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1.	Asherman sendromunun oluşumu ve planlanan tedavi yöntemi.....	3
Şekil 2.1.	Siklodekstrin temelli hidrojel yapısı ve şematik gösterimi	7
Şekil 2.2.	Üç boyutlu polimerizasyon ile hidrojel üretimi.....	8
Şekil 2.3.	Polimerlerin çapraz bağlanması ile hidrojel üretimi	9
Şekil 2.4.	Kimyasal yapıları (a) α -siklodekstrin (α -SD) (b) β -siklodekstrin (β -SD) (c) γ -siklodekstrin (γ -SD)	10
Şekil 2.5.	Siklodekstrin molekülünün 3D sistematik gösterimi ve α -siklodekstrin, β -siklodekstrin ve γ -siklodekstrin için belirtilen fiziksel boyutları.....	11
Şekil 2.6.	Siklodekstrin ve konuk bileşik ile inklüzyon kompleks (1:1) oluşumu	12
Şekil 2.7.	Sentezlenen hidrojellere östrojen ve melatonin absorpsiyonunun şematik gösterimi.....	16
Şekil 3.1.	Çalışmada sentezi gerçekleştirilen hidrojel yapıları.....	26
Şekil 3.2.	Hidrojellerin enjekte edilebilirlik testlerinde kullanılan 18, 20, 22, 24 ve 26 gauge iğne uçları.....	29
Şekil 3.3.	Deneysel Asherman rat modelinin oluşturulması ve hidrojel tedavisinin şematik gösterimi	34
Şekil 3.4.	Ratların alt karın bölgesinin açılması	35
Şekil 3.5.	Ratın rahim hornlarının tespiti.....	35
Şekil 3.6.	Asherman oluşması için rahim hornlarının 18 gauge iğne ucu ile çizilmesi.....	36
Şekil 3.7.	Asherman oluşması için uterus hornlarının 18 gauge iğne ucu ile çizilmesi.....	36
Şekil 3.8.	Asherman oluşması için zedelenmiş uterus hornlarına hidrojelin enjeksiyonu-1	37
Şekil 3.9.	Asherman oluşması için zedelenmiş iki uterus hornuna hidrojelin enjeksiyonu-2	37
Şekil 3.10.	Operasyon sonrası uterus hornları yerleştirilmiş ratın karın alt batımının kapatılması	38
Şekil 3.11.	14 günlük uygulama sonrası Ratların karın alt batımlarının tekrardan açılması.....	38

Şekil 3.12.	Uygulama sonrası Ratların uterus hornlarına ait görüntü.....	39
Şekil 4.1.	PEG ve epiklorhidrin 1:1, 1:2 ve 1:3 oranlarında üç farklı olacak şekilde elde edilen epoksi fonksiyonel PEG yapılarına ait FTIR spektrumları.....	44
Şekil 4.2.	PEG 400 ve PEG 400 diglisidil eter yapılarına ait FTIR spektrumları.....	45
Şekil 4.3.	PEG 400 diglisidil eter yapısına ait ¹ H NMR spektrumları.....	46
Şekil 4.4.	PEG 400 diglisidil eter yapısına ait ¹³ C NMR spektrumları.....	46
Şekil 4.5.	PEG 2000 ve PEG 2000 diglisidil eter yapılarına ait FTIR spektrumları.....	47
Şekil 4.6.	PEG 2000 diglisidil eter yapısına ait ¹ H NMR spektrumları.....	48
Şekil 4.7.	PEG 2000 diglisidil eter yapısına ait ¹³ C NMR spektrumları.....	49
Şekil 4.8.	Farklı sıcaklıklarda elde edilen hidrojel yapılarına ait FTIR spektrumları.....	50
Şekil 4.9.	Yapılan çalışmada kullanılan temel reaksiyon ve jellerin genel görünümü.....	52
Şekil 4.10.	Saf α , β ve γ -siklodekstrin yapılarının FTIR spektrumları.....	52
Şekil 4.11.	KA içeren α , β ve γ -siklodekstrin yapılarının FTIR spektrumları.....	53
Şekil 4.12.	Ek içeren α , β ve γ -siklodekstrin yapılarının FTIR spektrumları.....	54
Şekil 4.13.	Kur içeren α , β ve γ -siklodekstrin yapılarının FTIR spektrumları.....	54
Şekil 4.14.	Sentezlenen α -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait genel görünüm.....	57
Şekil 4.15.	PEG 400 ve α -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait fotoğraflar.....	58
Şekil 4.16.	PEG-400-DGE ve bu yapıdan elde edilen α -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait FTIR spektrumları.....	59
Şekil 4.17.	PEG 400 ve α -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait SEM görüntüleri.....	61
Şekil 4.18.	PEG 400 ve α -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait TGA ve DSC termogramları.....	63
Şekil 4.19.	PEG 600 ve α -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait fotoğraflar.....	64
Şekil 4.20.	PEG-600-DGE ve bu yapıdan elde edilen α -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait FTIR spektrumları.....	66

Şekil 4.21.	PEG 600 ve α -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait SEM görüntüleri	67
Şekil 4.22.	PEG 600 ve α -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait TGA ve DSC termogramları.....	69
Şekil 4.23.	PEG 800 ve α -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait fotoğraflar	71
Şekil 4.24.	PEG-800-DGE ve bu yapıdan elde edilen α -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait FTIR spektrumları.....	72
Şekil 4.25.	PEG 800 ve α -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait SEM görüntüleri	73
Şekil 4.26.	PEG 800 ve α -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait TGA ve DSC termogramları.....	75
Şekil 4.27.	PEG 1000 ve α -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait fotoğraflar	77
Şekil 4.28.	PEG-1000-DGE ve bu yapıdan elde edilen α -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait FTIR spektrumları.....	78
Şekil 4.29.	PEG 1000 ve α -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait SEM görüntüleri	80
Şekil 4.30.	PEG 1000 ve α -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait TGA ve DSC termogramları.....	82
Şekil 4.31.	PEG 2000 ve α -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait fotoğraflar	84
Şekil 4.32.	PEG-2000-DGE ve bu yapıdan elde edilen α -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait FTIR spektrumları.....	85
Şekil 4.33.	PEG 2000 ve α -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait SEM görüntüleri	87
Şekil 4.34.	PEG 2000 ve α -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait TGA ve DSC termogramları.....	88
Şekil 4.35.	Sentezlenen β -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait genel görünüm.....	90
Şekil 4.36.	PEG 400 ve β -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait fotoğraflar	92
Şekil 4.37.	PEG-400-DGE ve bu yapıdan elde edilen β -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait FTIR spektrumları.....	93

Şekil 4.38.	PEG 400 ve β -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait SEM görüntüleri	95
Şekil 4.39.	Sentez sonrası elde edilen hidrojin görüntüsü	96
Şekil 4.40.	PEG 400 ve β -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait TGA ve DSC termogramları.....	97
Şekil 4.41.	PEG 600 ve β -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait fotoğraflar	98
Şekil 4.42.	PEG-600-DGE ve bu yapıdan elde edilen β -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait FTIR spektrumları.....	99
Şekil 4.43.	PEG 600 ve β -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait SEM görüntüleri	100
Şekil 4.44.	PEG 600 ve β -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait TGA ve DSC termogramları.....	101
Şekil 4.45.	PEG 800 ve β -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait fotoğraflar	103
Şekil 4.46.	PEG-800-DGE ve bu yapıdan elde edilen β -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait FTIR spektrumları.....	104
Şekil 4.47.	PEG 800 ve β -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait SEM görüntüleri	105
Şekil 4.48.	PEG 800 ve β -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait TGA ve DSC termogramları.....	106
Şekil 4.49.	PEG 1000 ve β -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait fotoğraflar	108
Şekil 4.50.	PEG-1000-DGE ve bu yapıdan elde edilen β -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait FTIR spektrumları.....	109
Şekil 4.51.	PEG 1000 ve β -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait SEM görüntüleri	111
Şekil 4.52.	PEG 1000 ve β -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait TGA ve DSC termogramları.....	112
Şekil 4.53.	PEG 2000 ve β -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait fotoğraflar	114
Şekil 4.54.	PEG-2000-DGE ve bu yapıdan elde edilen β -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait FTIR spektrumları.....	115

Şekil 4.55.	PEG 2000 ve β -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait SEM görüntüleri	116
Şekil 4.56.	PEG 2000 ve β -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait TGA ve DSC termogramları.....	117
Şekil 4.57.	Sentezlenen γ -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait genel görünüm.....	118
Şekil 4.58.	PEG 400 ve γ -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait fotoğraflar	120
Şekil 4.59.	PEG-400-DGE ve bu yapıdan elde edilen γ -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait FTIR spektrumları.....	121
Şekil 4.60.	PEG 400 ve γ -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait SEM görüntüleri	122
Şekil 4.61.	PEG 400 ve γ -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait TGA ve DSC termogramları	124
Şekil 4.62.	PEG 600 ve γ -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait fotoğraflar	125
Şekil 4.63.	PEG-600-DGE ve bu yapıdan elde edilen γ -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait FTIR spektrumları.....	126
Şekil 4.64.	PEG 600 ve γ -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait SEM görüntüleri	127
Şekil 4.65.	PEG 600 ve γ -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait TGA ve DSC termogramları	129
Şekil 4.66.	PEG 800 ve γ -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait fotoğraflar	131
Şekil 4.67.	PEG-800-DGE ve bu yapıdan elde edilen γ -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait FTIR spektrumları.....	132
Şekil 4.68.	PEG 800 ve γ -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait SEM görüntüleri	133
Şekil 4.69.	PEG 800 ve γ -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait TGA ve DSC termogramları	134
Şekil 4.70.	PEG 1000 ve γ -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait fotoğraflar	136
Şekil 4.71.	PEG-1000-DGE ve bu yapıdan elde edilen γ -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait FTIR spektrumları.....	137

Şekil 4.72.	PEG 1000 ve γ -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait SEM görüntüleri	138
Şekil 4.73.	PEG 1000 ve γ -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait AFM görüntüleri	139
Şekil 4.74.	PEG 1000 ve γ -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait TGA ve DSC termogramları.....	140
Şekil 4.75.	PEG 2000 ve γ -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait fotoğraflar	141
Şekil 4.76.	PEG-2000-DGE ve bu yapıdan elde edilen γ -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait FTIR spektrumları.....	142
Şekil 4.77.	PEG 2000 ve γ -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait SEM görüntüleri	143
Şekil 4.78.	PEG 2000 ve γ -siklodekstrin temelli yapılardan a) KA, b) GA, c) Ek, d) Kuar ve e) Kur içeren hidrojellerin AFM görüntüleri	144
Şekil 4.79.	PEG 2000 ve γ -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait TGA termogramları	145
Şekil 4.80.	Hidrojel sentezinde kullanılan polifenol ve siklodekstrin yapılarına ait DSC termogramları	147
Şekil 4.81.	PEG 2000 ve γ -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait DSC termogramları	148
Şekil 4.82.	ASD-PEG-400 ve ASD-PEG-600 hidrojellerinin şişme test sonuçları	149
Şekil 4.83.	ASD-PEG-800, ASD-PEG-1000 ve ASD-PEG-2000 hidrojellerinin şişme test sonuçları.....	150
Şekil 4.84.	BSD-PEG-400 ve BSD-PEG-600 hidrojellerinin şişme test sonuçları	151
Şekil 4.85.	BSD-PEG-800, BSD-PEG-1000 ve BSD-PEG-2000 hidrojellerinin şişme test sonuçları.....	152
Şekil 4.86.	GSD-PEG-400 ve GSD-PEG-600 hidrojellerinin şişme test sonuçları	153
Şekil 4.87.	GSD-PEG-800, GSD-PEG-1000 ve GSD-PEG-2000 hidrojellerinin şişme test sonuçları.....	154
Şekil 4.88.	a) α -Siklodekstrin, b) β -siklodekstrin ve c) γ -siklodekstrin içeren hidrojellerin zamana bağlı şişme görüntüleri	155

Şekil 4.89.	Hidrojellerin enjekte edilebilirlik testlerinde kullanılan 18, 20, 22, 24 ve 26 gauge iğne uçları.....	156
Şekil 4.90.	Hidrojel yapılarının enjekte edilebilirlik deney görüntüleri.....	156
Şekil 4.91.	Sentezlenen α -SD-PEG-600 yapılarına ait L929 hücre hattına ait hücre canlılığı	162
Şekil 4.92.	Sentezlenen β -SD-PEG-600 yapılarına ait L929 hücre hattına ait hücre canlılığı	163
Şekil 4.93.	Sentezlenen γ -SD-PEG-600 yapılarına ait L929 hücre hattına ait hücre canlılığı	164
Şekil 4.94.	Sentezlenen α -SD-PEG-800 yapılarına ait L929 hücre hattına ait hücre canlılığı	165
Şekil 4.95.	Sentezlenen β -SD-PEG-800 yapılarına ait L929 hücre hattına ait hücre canlılığı	166
Şekil 4.96.	Sentezlenen γ -SD-PEG-800 yapılarına ait L929 hücre hattına ait hücre canlılığı	167
Şekil 4.97.	Melatonin salım sonuçları	168
Şekil 4.98.	β -SD-PEG-600-Ek jelinin melatonin salım sonuçları	169
Şekil 4.99.	β -SD-PEG-600-Ek jelinin östrojen salım sonuçları	170
Şekil 4.100.	SHAM grubuna ait dokuların H&E boyaması	173
Şekil 4.101.	ASH grubuna ait dokuların H&E boyaması.....	174
Şekil 4.102.	ASH+HDJ grubuna ait dokuların H&E boyaması	175
Şekil 4.103.	ASH+HDJ+MEL grubuna ait dokuların H&E boyaması.....	175
Şekil 4.104.	ASH+HDJ+OST grubuna ait dokuların H&E boyaması (B; ince ok: epitelde incelme)	176
Şekil 4.105.	ASH+HDJ+MEL+OST grubuna ait dokuların H&E boyaması.....	176
Şekil 4.106.	Dokuların PASx40 boyaması	177
Şekil 4.107.	Dokuların Masson Trikrom boyaması (TRK x20)	181
Şekil 4.108.	Hidrojel formülasyonlarının Asherman hasarına karşı uterus horn dokularındaki MDA düzeyine etkisi	183
Şekil 4.109.	Hidrojel formülasyonlarının Asherman hasarına karşı uterus horn dokularındaki MPO aktivitesine etkisi	184
Şekil 4.110.	Hidrojel formülasyonlarının Asherman hasarına karşı uterus horn dokularındaki NO düzeyine etkisi	185

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 3.1.	Hidrojel sentez çalışmasında kullanılan bileşikler.	20
Çizelge 3.2.	Yapılan çalışmada sentezlenen hidrojellerin isim ve içerikleri.....	27
Çizelge 4.1.	α -siklodekstrin yapılı hidrojellerin enjekte edilebilirlik test sonuçları	158
Çizelge 4.2.	β -siklodekstrin yapılı hidrojellerin enjekte edilebilirlik test sonuçları	159
Çizelge 4.3.	γ -siklodekstrin yapılı hidrojellerin enjekte edilebilirlik test sonuçları	160
Çizelge 4.4.	Uterus horn dokusuna ait hasar parametrelerinin karşılaştırılması ..	178
Çizelge 4.5.	Endometriyum kalınlığı gruplar arası karşılaştırma	179
Çizelge 4.6.	Fibrozis ve inflamasyon	182

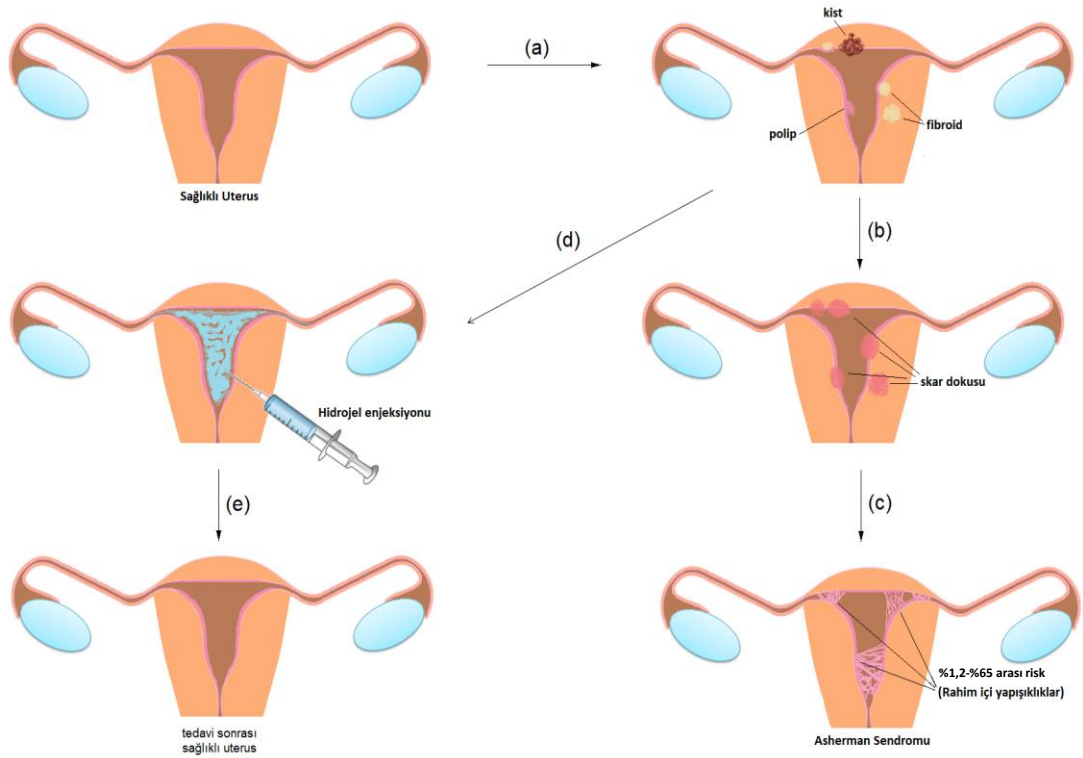
1. GİRİŞ

Gelişen teknoloji ile birlikte polimerik malzemelerin medikal alandaki önemi giderek artmaktadır. Özellikle biyomalzemeler modern insanın vazgeçilmez bir parçası haline gelmiştir. Yapay organlar, implantlar, yara ve doku destek malzemeleri, doku iskeleleri ve kontrollü ilaç salım sistemleri gibi pek çok alanda polimerik malzemeler kullanılmaktadır (Griffith, 2000; Hoffman, 2012). Bu tip malzemelerin kullanımındaki en önemli parametre ise biyouyumluluk özelliğidir. Vücut içinde kullanılacak bir malzemenin düşük toksisite, yapısal esneklik, yapısal kararlılık ve antialerjik özellikler göstermesi gerekmektedir. Biyomalzemeler vücut içi ve vücut dışı uygulamalarda kullanım alanına göre farklı özellikler sergilemektedir. Vücut içi uygulamalarda kullanılacak olan biyomalzemelerin tasarımında biyouyumluluk, uygun mekanik kararlılık, uygun ısı kararlılık, kimyasal inertlik, degradasyon süresi, degradasyon ürünleri, toksisitesi, geçirgenlik ve işlenebilirlik gibi özelliklerin mutlaka göz önünde bulundurulması gerekmektedir. Günümüzde vücut içi uygulamalarda metaller, seramikler, polimerler ve kompozit malzemeler olmak üzere dört temel yapı biyomedikal uygulamalarda kullanılmaktadır (Pasinli, 2004). Metaller genellikle ortopedik implantlarda, kalp pillerinde, laparoskopik ve kolonoskopik cihazlarda, dental implantlarda ve bazı kemik sabitleyicilerin yapısında kullanılmaktadır. Bu tür yapılar sert ve mekanik etkilere karşı dayanıklı olmalarına rağmen vücut sıvılarından kolayca etkilenebilir ve aşınabilir. Ayrıca termal iletkenlikleri vücut yapısından farklı olduğu için ani ısı değişimlerinde ağrı ve rahatsızlık verebilir. Seramik malzemeler dental ve kemik implantlarında kullanılmaktadır. Genellikle bu malzemeler yüksek dayanıklılık ve biyouyumluluk avantajına sahipken, ani yüklenmelerde kırılırlar. Seramik malzemelerin kırılma kolaylığı kompozit türü biyomalzemelerde giderilmiş olmasına rağmen, vücut içi esneklikleri iyi değildir. Polimerik malzemeler ise esnek, dayanıklı, biyouyumlu ve hafif olmaları nedeni ile biyomedikal alanda en çok tercih edilen malzeme olma özelliğini korumaktadır. Ayrıca bu malzemelerin kolay üretilmeleri ve şekillendirilebilmeleri, vücut ısısına uyumlu olmaları ve ani soğuma ve ısınma göstermeme gibi özellikleri bunlara kullanım avantajı sağlar. Ancak polimerik malzemelerde zamanla degradasyon ve esneme gibi temel dezavantajlar görülmektedir. Bu nedenle dezavantajları azaltmak ve malzemenin özelliklerini iyileştirmek için bu alandaki çalışmalar giderek artmaktadır. Biyomalzeme olarak polimerik malzemelerin kullanımında üç tür yapı dikkat çekmektedir. Bunlar

biyobozunur yapılar, biyo-kararlı polimerik yapılar ve hidrojelldir (Basan vd., 2001; Barbucci, 2009). Özellikle ameliyat iplikleri, hücre ve doku destek yapıları, doku iskeleleri ve doku yapıştırıcısı gibi zamanla bozunarak bulunduğı ortamı terk etmesi istenen yapılarda biyobozunur polimerik sistemler kullanılmaktadır. Bu polimerik yapılar genellikle modifiye doğal polimerik yapılar, karbonhidrat yapıli bileşikler ve basit polieterlerdir. Yapay organ ve implantlarda ise dayanıklı ve kalıcı polimerik yapılar tercih edilmektedir. Bunlar arasında poliimidler, poliamitler ve bazı poliolefinler yer almaktadır. Son olarak hidrojelldir ise son zamanlarda biyomedikal uygulamalarda biyomalzeme olarak kullanılan yapılar arasında yer almaktadır. Bu yapılar yüksek oranda sıvı emebilen ağ yapıli polimerlerdir ve genellikle hidrofilik karakterdedir. Bu tip hidrojelldir yapıları genellikle, vücut içi esnekliğin gerektiğı ve vücut sıvıları ile beraber düşünölen biyomalzemelerde kullanılmaktadır. Kullanım alanlarına yapay kornea, kontrollü ilaç salım sistemleri, diz eklem jel uygulamaları, yara ve yanık örtöleri gibi biyomedikal uygulamalar bunlara örnek olarak verilebilir. Hidrojelldirlerin esnek yapısı vücut içi içerisine uygulanabilirlik açısından ve vücut içi içerisine uygulandığında ise normal yaşamsal hareketleri kısıtlamaması açısından önemlidir.

Asherman sendromu olarak adlandırılan rahim içi yapışıklıklar günümüzde oldukça sık rastlanan rahatsızlıklardan bir tanesidir (Asherman, 1950; Conforti vd., 2013). Asherman sendromunun genel sonuçları, kısırlık, menströel düzensizlikler, pelvik ağrılar, tekrarlayan gebelik kayıplarıdır. Rahim içi cerrahi operasyon gerektiren pek çok durumda Asherman sendromu oluşabilir (Conforti vd., 2013). Doğum, sezeryan, küretaj, rahim kanser dokusunun alınması, miyom, polip çıkartımı, rahim içi kanamalar, enfeksiyonlar, rahim içi kistlerin (fibrokist, fibroadenoma, çikolata kistler) alınması ve menopoza sonrası dönemlerde kendiliğinden rahim duvarlarında hasarlar meydana gelmektedir (Şekil 1.1 (a)). Bu hasarların meydana gelme olasılığı, bayanlardaki yaş ve kilo artışı ile beraber oldukça artmaktadır. Rahim ve yumurtalık kanalı içi içerisinde gerçekleştirilen operasyonlar sonrasında kesik bölgeler oluşmaktadır. Meydana gelen hasarlar, endometriyumun bazı tabakalarının ortadan kalkmasına, bunun yanı sıra rahim kas tabakası zedelenmesine yol açabilir. Bu yaralar iyileşirken skar doku oluşmaktadır (Şekil 1.1 (b)) ve bazen bu alanın çok dar olması nedeni ile skar doku bitişmeleri ile rahim içi yapışıklıklar oluşabilir (Şekil 1.1 (c)) (Conforti vd., 2013). Günümüzde bu olumsuz tablonun tedavi ve önlenmesine yönelik cerrahi müdahale ve histeroskopi hariç hiçbir tedavi yöntemi bulunmamaktadır. Rahimde gerçekleştirilen cerrahi müdahaleler sonrasında oluşabilecek, belirli oranda risk teşkil

eden pek çok olumsuzluğun önlenmesine alternatif oluşturacak yeni yöntemlerin geliştirilmesi ilgili süreçte tedaviye yardımcı olabilir. Örneğin rahimde gerçekleştirilecek ameliyatlardan sonrasında Asherman sendromunun oluşmaması için enjekte edilebilir bir jelin tasarlanması ve ilgili bölgeye uygulanması (Şekil 1.1 (d)) rahim ve yumurtalık kanallarının birbirine yapışmasını önleyebilir. Ayrıca doku iyileşmesinden sonra uygulanan biyobozunur nitelikteki jelin bozunarak ilgili bölgeden uzaklaşmasıyla (Şekil 1.1 (e)) süreç tamamlanabilir. Bu sayede Asherman sendromunun engellenmesi veya tedavisi hedeflenmektedir. Elde edilen hidrojel yapıları, doğum, sezeryan, küretaj, rahim kanser dokusunun alınması, miyom, polip çıkartımı, rahim içi kanamalar, rahim içi muayeneler, rahim içi kistlerin alınması gibi pek çok durumda Asherman sendromunun oluşmaması için tedbir amaçlı olarak kullanılabilecek güvenli bir yöntem olacağı düşünülebilir.



Şekil 1.1. Asherman sendromunun oluşumu ve planlanan tedavi yöntemi

Rahim hastalıkları ve hasarlarıyla ilgili hidrojel tedavi yaklaşımları literatürde sınırlı sayıda mevcuttur. Bu çalışmalarda polivinil alkol, karboksimetilselüloz, poli(ε-kaprolakton), poliamidoamin, dendrimer/PEG, jelatin/PEG, kitosan, metil selüloz,

lipozom içerikli hidrojeller kullanılmıştır. Buna karşın rahim hasarı ve beraberinde Asherman sendromunu önleyici siklodekstrin temelli hiçbir literatüre rastlanmamıştır. Bu çalışmada vücut içi biyomedikal alanı olarak rahim içi yapışıklıkları (Asherman sendromu) önlemek için mekanik bariyer ve biyouyumluluk özelliği yüksek, ilaç salabilen, enjekte edilebilir hidrojellerin sentezlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaç doğrultusunda;

1. Siklodekstrin temelli hidrojel yapılarının sentezi, karakterizasyonu, şişme ve enjekte edilebilirlik özelliklerinin incelenmesi,
2. Sentezlenen hidrojellerin biyouyumluluk, ilaç salım özelliklerinin belirlenmesi,
3. Tüm bu özellikler dikkate alınarak seçilen en uygun hidrojel yapısının deney hayvanı çalışmaları sonucu Asherman sendromunun engellenmesindeki potansiyelinin biyokimyasal ve histolojik analizlerle araştırılması hedeflenmiştir.

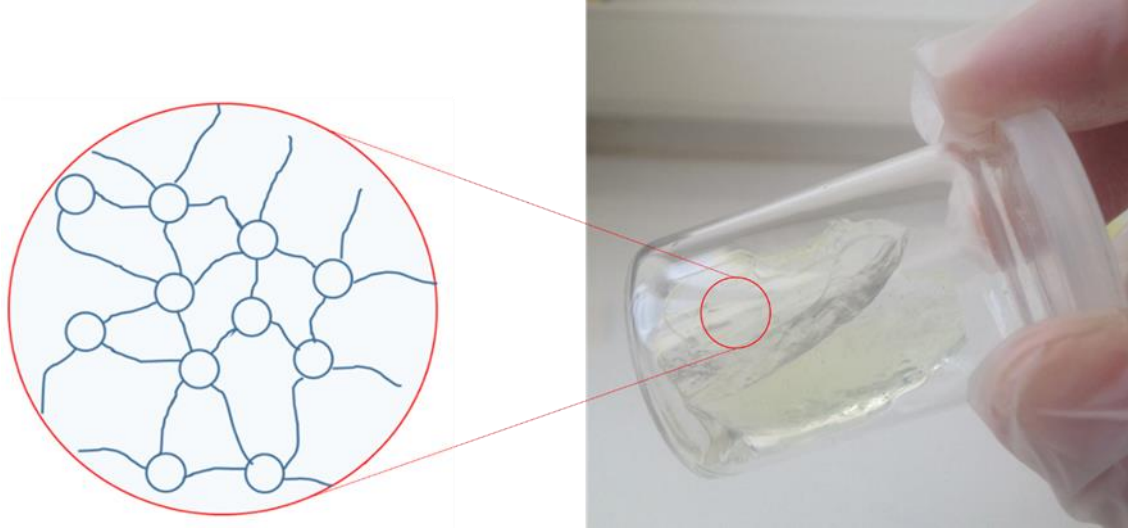
2. KURAMSAL TEMELLER

Hidrojeller, önemli miktarlarda su tutabilen, çapraz bağlı, hidrofilik, üç boyutlu ağ yapılı polimerlerdir (Peppas vd., 2006). Hidrojeller 1950 ve 1960’larda Wichterle ve Lim’in öncülüğünde yumuşak kontakt lens olarak elde edilmesinden bu yana (Otto ve Drahoslav, 1960; Bennett ve Weissman, 2005), iyi ve ayarlanabilir kimyasal ve fiziksel özelliklerinden dolayı eczacılık ve biyomedikal alanlarda yaygın olarak kullanılmaktadır (Hennink ve van Nostrum, 2002; Hoffman, 2002; Lin ve Metters, 2006; Peppas vd., 2006; Brandl vd., 2007; Fedorovich vd., 2007; Hoare ve Kohane, 2008). Hidrojel ağ yapıların yüksek su içeriği, çevre dokudaki tahrişleri en aza indiren ve genellikle iyi biyouyumluluk ile sonuçlanan yumuşak ve kauçuğumsu malzeme özelliklerine neden olur (Park ve Park, 1996). Bu nedenle hidrojeller, çoğunlukla ilaç salım aracı veya doku mühendisliğinde doku iskeleleri olarak kullanımları için protein temelli ilaçlar veya hücreler gibi biyolojik maddelerle yüklenirler (Beals ve Shanafelt, 2006; Kretlow vd., 2007). Sulu ortamda hidrojeller, hem kovalent bağlara hem de fiziksel (tersinir) etkileşimlere ya da bunların kombinasyonlarına dayanan çapraz bağlarla bir arada tutunurlar (Hennink ve van Nostrum, 2002). Hidrofilik polimer zincirlerinin kovalent bağlarla kimyasal çapraz bağlama yöntemleri, kimyasal veya UV ile başlatılan radikal polimerizasyon (van Dijk-Wolthuis vd., 1997a; van Dijk-Wolthuis vd., 1997b; Oral ve Peppas, 2004; Leach ve Schmidt, 2005; Oudshoorn vd., 2006; Oudshoorn vd., 2007), enzim aracılı bağlama (Ferreira vd., 2005), klik kimyası (Crescenzi vd., 2007), Michael katılması (Elbert vd., 2001; Hiemstra vd., 2007) ve doğal kimyasal bağlama (Hu vd., 2009) gibi tamamlayıcı reaktif grupların konjugasyonudur. Kovalent çapraz bağlardan dolayı, kimyasal olarak çapraz bağlanmış hidrojeller genellikle yüksek mekanik dayanıklılığa sahiptir. Öte yandan, çapraz bağ oluşturmak için gerekli kimyasal reaksiyonlar, kapsüllenmiş ilaçların yapısını ve biyolojik aktivitesini etkileyebilir (Lin ve Metters, 2008). Buna ek olarak, kimyasal çapraz bağlama çoğunlukla hücreler için toksik olan çapraz bağlayıcı reaktifler veya katalizörler gerektirir (Bryant vd., 2000; Williams vd., 2005). Son zamanlarda belirtilen yöntemlere alternatif birçok hidrojel sistemi geliştirilmiştir. Bu sistemlerde çapraz bağların oluşumu iyonik etkileşimler (Lee vd., 2000; Van Tomme vd., 2005), hidrofobik etkileşimler (Jeong vd., 1997; Finelli vd., 2009), hidrojen bağları (Haglund vd., 1996), kristalinite (Stenekes vd., 2001), sterokompleks oluşumu (De Jong vd., 2000; de Jong vd., 2001; Hiemstra vd., 2005; Chung vd., 2008) ve

spesifik biyomimetik etkileşimler gibi fiziksel, kalıcı olmayan etkileşimler (Nagahara ve Matsuda, 1996; Miyata vd., 1999; Cao vd., 2008) tarafından yürütülür.

2.1. Hidrojeller ve Genel Özellikleri

Biyomedikal anlamda hidrojeller genel olarak hidrofilik polimer zincirlerinden oluşmaktadır. Bu zincirler homopolimerik ve kopolimerik yapıda olabilir (Peppas vd., 2000). Bu polimerik yapılar üç boyutlu ağ yapısına sahiptir (Şekil 2.1). Bu yapı, hidrojelleri çözünmez, mekanik dayanımlı ve kimyasal olarak güçlü yapmaktadır. Üç boyutlu ağ yapı sayesinde hidrojeller, yapısını oluşturan gruplara bağlı olarak oldukça hızlı şişebilmektedir. Hidrojellerin ağ yapılarının ayarlanması ile şişme oranları ayarlanabilir ve farklı uygulamalar için kullanılabilir. Hidrojel yapılarının uygulama alanını ve temel özelliklerini belirleyen üç önemli yapısal etken bulunmaktadır. Bunlar polimerin kimyasal yapısı, çapraz bağ yoğunluğu ve bağlanma arası bölgelerin molekül ağırlığıdır. Polimerin kimyasal yapısı su ve hidrojel arasındaki ikincil etkileşimleri değiştirmektedir. Eğer polar yapılu gruplar çoğunlukta olursa hızlı şişme etkisi görülmektedir. Hidrofobik kor taşıyan hidrojel yapısı söz konusu olursa suda çözünürlüğü zayıf ilaçlar için uygun bir ilaç salım sistemi geliştirilebilir (Jeong vd., 2012). Hidrojel yapısında çapraz bağ yoğunluğunun artması hidrojin absorpsiyon ve salım hızının azalmasına, yapının mekanik ve ısı kararlılığının artmasına neden olur. Ayrıca çapraz bağ yoğunluğunun artması hidrojin şişme kapasitesinin düşük olmasına yol açar. Hidrojel yapısında, bağlanma arası bölgelerin molekül ağırlığı ise yapısal esnekliği etkileyen diğer bir önemli parametredir. Bağlanma arası bölgelerin molekül ağırlığının yüksek olması hidrojin esnek olmasını ve hızlı şişmesine neden olurken, düşük olması hidrojin sert ve şişmez bir karakter kazanmasına neden olur.



Şekil 2.1. Siklodekstrin temelli hidrojel yapısı ve şematik gösterimi

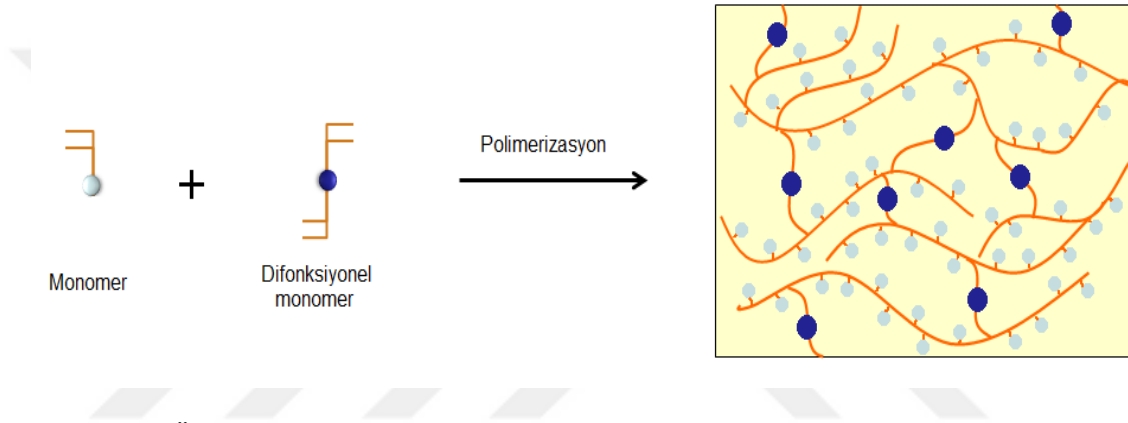
2.1.1. Hidrojellerin sentez yöntemleri

Hidrojeller çapraz bağlanma yapılarına göre iki temel sınıfa ayrılmaktadır (Caló ve Khutoryanskiy, 2015); fiziksel etkileşimler ile kurulmuş hidrojel yapıları ve kovalent bağlar ile oluşmuş olan hidrojel yapılarıdır.

Fiziksel hidrojel yapılarında hidrojin ağ yapısı, iyonik etkileşim, hidrojen bağları, koordinasyon bağları, hidrofobik etkileşimler gibi fiziksel etkileşimler sayesinde oluşur. Bu tür hidrojellerin kimyasal kararlılıkları düşüktür ve kolay hidroliz olurlar. Mekanik olarak kararlılıkları, sahip oldukları ikincil etkileşim türü ve sayısına bağlıdır. Hidrojel yapılarında fiziksel olarak oluşmuş hidrojeller, sahip oldukları ikincil etkileşimler sayesinde çoğunlukla kendiliğinden düzenlenme ile oluşurlar. Bu yapılar ısı, pH ve iyonik dış uyarıcılar karşısında bozunup tekrar oluşabildikleri için akıllı hidrojel yapıları olarak da adlandırılmaktadır.

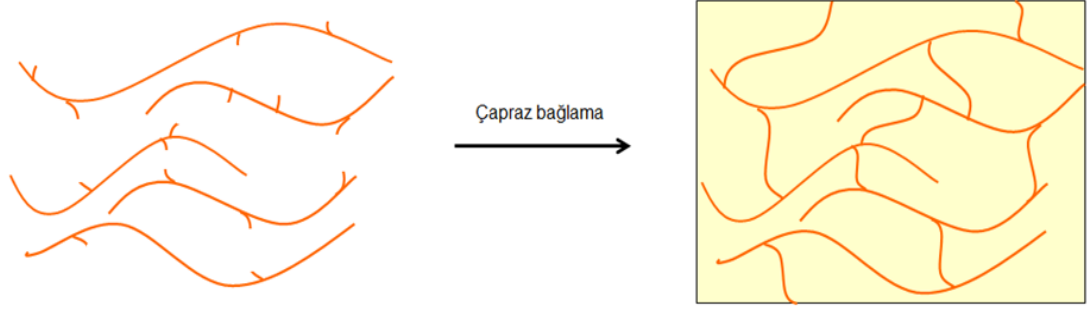
Kimyasal çapraz bağlı hidrojeller ise bir veya daha fazla monomerin çapraz bağlayıcı ajanlar ve multifonksiyonel moleküller ile doğrudan çapraz bağlanması ile oluşmaktadır. Diğer bir yöntem ise fonksiyonel yan grup bulunduran polimerlerin birbirleri ile çapraz bağlanması sonucunda elde edilebilirler. Bu tür hidrojel yapıları mekanik, ısı ve kimyasal kararlılığı yüksek yapılardır. Su ve çözücü etkilerine karşı dayanıklılığı yüksektir.

Kimyasal olarak oluşturulan hidrojel yapılarında yaygın olarak iki temel sentez söz konusudur. Bu yöntemlerin birincisinde hidrofilik bir monomer polifonksiyonel çapraz bağlayıcı bir ajan varlığında polimerleştirilir (Şekil 2.2) (Caló ve Khutoryanskiy, 2015). Bu polimerleşme yönteminde genellikle benzoil peroksit, azobisisobüronitril veya amonyum persülfat gibi serbest radikal üreten bir başlatıcı ya da UV, gama ve elektron ışınları kullanılmaktadır. Bu yöntemde reaksiyon sonrasında, genellikle az ya da çok monomer kalıntıları kalmakta ve bu durum bazı biyomedikal uygulamalar için toksik etkiler oluşturmaktadır. Hidrojelin yapısından kalıntı monomerlerin çıkarılması bazen birkaç haftalık saflaştırma işlemleri gerektirmektedir.



Şekil 2.2. Üç boyutlu polimerizasyon ile hidrojel üretimi

Kimyasal bağlı hidrojel sentezinde kullanılan bir diğer yöntem ise toksik olmayan ve fonksiyonel gruplar taşıyan polimerik yapıların bu fonksiyonel gruplar sayesinde birbirleri ile kenetlenerek ağ yapısı oluşturulmasıdır (Şekil 2.3). Bu yöntemde genellikle polimer yapısı olarak suda çözünür özellikli poliakrilik asit, polietilen glikol, polivinilalkol, poliakrilamid gibi polimerler kullanılmaktadır (Caló ve Khutoryanskiy, 2015). Bu polimerler toksik olmayan özelliğe sahip oldukları için pek çok tıbbi ve eczacılık uygulamasında kullanılmaktadır (Peppas, 1987). Bu yöntem yapıda monomer kalıntısı kalmadığı için ayrıca bir avantaja da sahiptir.



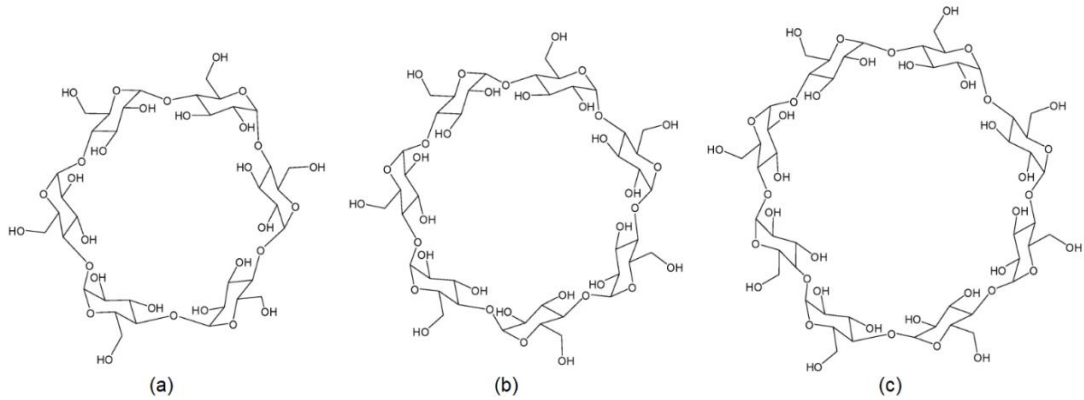
Şekil 2.3. Polimerlerin çapraz bağlanması ile hidrojel üretimi

2.2. Doğal ve Sentetik Hidrojeller

Son zamanlarda hidrojelleri hazırlamak için hem doğal hem de sentetik kaynaklı çeşitli polimerler kullanılmaktadır. Hiyaluronik asit (Allison ve Grande-Allen, 2006; Finelli vd., 2009), kitosan (Berger vd., 2004; Moura vd., 2007), dekstran (van Dijk-Wolthuis vd., 1997a; Ferreira vd., 2005; Van Tomme vd., 2005) ve aljinat (Lee vd., 2000; Luginbuehl vd., 2005; Pescosolido vd., 2010) ile kollajen (Lee vd., 2001), jelatin (Young vd., 2005; Sutter vd., 2007) ve fibrin gibi proteinleri içeren polisakaritler (Rosso vd., 2005; Peretti vd., 2006) doğal polimer örnekleri olarak verilebilir. Bunlar, çoğunlukla büyük ölçekli üretimi sınırlayan ve yüksek grup değişkenliği, immünojenikliği ve patojenler gibi kirletici maddelerin var olma riskini artıran organizmalardan elde edilir. Buna karşın, poli (etilen glikol) (PEG) (Oral ve Peppas, 2004; Hiemstra vd., 2005; Mahoney ve Anseth, 2006), poli (gliserol) (PG) (Oudshoorn vd., 2006; Oudshoorn vd., 2007), poli (2-hidroksipropil metakrilamid) (pHPMAm) (van Nostrum vd., 2004; Yang vd., 2006), poli (vinil alkol) (PVA) (Hassan ve Peppas, 2000; Masters vd., 2005) ve poli (2-hidroksietil metakrilat) (pHEMA) (Meyvis vd., 2000; Andac vd., 2008) gibi sentetik polimerler doğal polimerlere alternatif olarak hidrojel sistemlerini tasarlamak için yaygın olarak kullanılmaktadır. Doğal polimerler ile karşılaştırıldığında sentetik polimerler tekrar üretilabilir mekanik dayanımlara ve iyi ayarlanabilen ağ özelliklerine sahip hidrojeller hazırlamak için gereken polimer kimyası ve mimarisi üzerinde daha yüksek bir kontrol derecesi sunar.

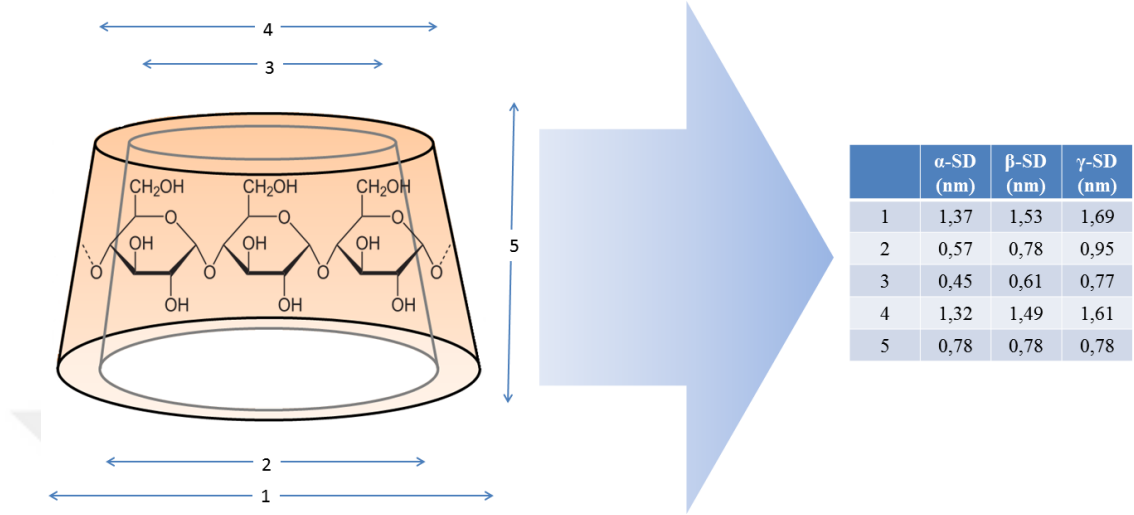
2.3. Siklodekstrin Temelli Hidrojeller

Siklodekstrinler; patates, mısır, pirinç ya da diğer kaynaklardan elde edilen nişastanın siklodekstrin glikoz transferaz enzimi ile parçalanması ile elde edilen α (1-4) glikozidik bağlı, indirgen olmayan, siklik oligosakkaritlerdir (Hennink vd., 1997; Singh vd., 2002; van de Manakker vd., 2009). Siklodekstrinler aynı zamanda, sikloamilozlar, siklomaltozlar ve Schardinger dekstrinleri olarak da isimlendirilmektedir (Hennink vd., 1997). Siklodekstrinler ilk kez 1891 yılında Fransız bilim adamı Villier tarafından nişastanın bakteriyel (*Bacillus amylobacter*) sindirim sonrası bir kristal ürünün izole edilmesi ile keşfedilmiştir (Hennink vd., 1997; van der Veen vd., 2000; Singh vd., 2002; van de Manakker vd., 2009). Villier bunlara selülozin adını vermiştir. 1903'te ise Shardingier bunların siklik yapılarını belirleyerek, bulduğu iki farklı siklodekstrine α ve β dekstrin isimlerini vermiştir (Szejtli, 2004). α , β ve γ -siklodekstrin olarak isimlendirilen ve sırası ile 6, 7 ve 8 glikoz ünitelerinden oluşan siklodekstrinler endüstriyel olarak üretilmekte ve kullanılmaktadır (Şekil 2.4) (van der Veen vd., 2000; Singh vd., 2002; Szejtli, 2004; Loftsson ve Duchene, 2007; van de Manakker vd., 2009). 6 glikoz ünitesinden daha az glikoz içeren siklodekstrinlerin üretiminin sterik olarak mümkün olmadığı bildirilmiştir (Crini ve Morcellet, 2002; Loftsson ve Duchene, 2007; van de Manakker vd., 2009).



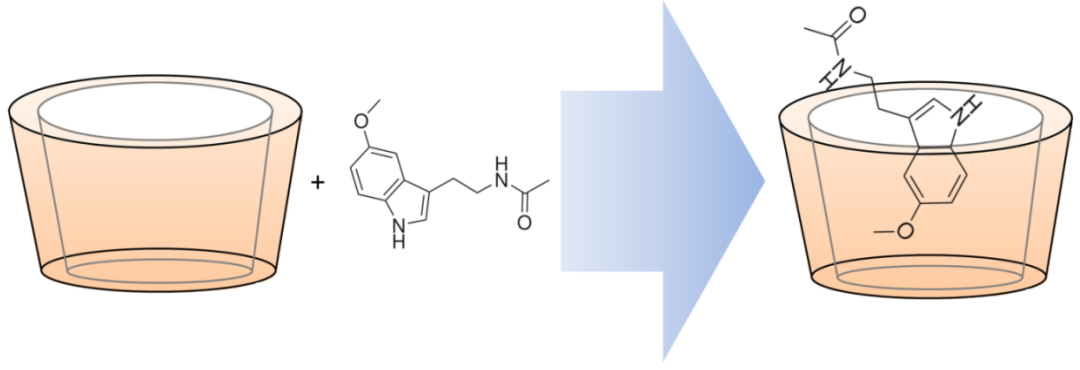
Şekil 2.4. Kimyasal yapıları (a) α -siklodekstrin (α -SD) (b) β -siklodekstrin (β -SD) (c) γ -siklodekstrin (γ -SD) (van de Manakker vd., 2009)

Bu siklodekstrinlerin üç boyutlu yapısı kesik bir koni gibi kabul edilebilir. Siklodekstrinlerin üç boyutlu yapıları ve bu yapılarla ait boşlukların boyutları nm olarak verilmiştir (Şekil 2.5).



Şekil 2.5. Siklodekstrin molekülünün 3D sistematik gösterimi ve α -siklodekstrin, β -siklodekstrin ve γ -siklodekstrin için belirtilen fiziksel boyutları (van de Manakker vd., 2009)

Siklodekstrinde bulunan hidroksil grupları molekülün dış yüzeyinde toplanmıştır (Loftsson ve Brewster, 1996; van de Manakker vd., 2009). Sekonder hidroksil grupları (C2 ve C3) halkanın geniş kenarında, primer hidroksil grupları (C6) ise diğer kenarda bulunmaktadır. Hidroksil gruplarının molekülün dış yüzeyinde bulunması siklodekstrinlerin suda çözünmesini (hidrofilik) sağlamaktadır (Loftsson ve Brewster, 1996; van de Manakker vd., 2009). Boşluk kısmında ise molekülün apolar özellikte olmasını sağlayan C3 ve C5 hidrojen atomları ve glikozidik oksijen köprüleri bulunmaktadır. Boşluk kısmın apolar özelliği siklodekstrinlerin birçok hidrofobik moleküllerle inklüzyon kompleksleri oluşturabilmesini sağlamaktadır (Şekil 2.6).



Şekil 2.6. Siklodekstrin ve konuk bileşik ile inklüzyon kompleks (1:1) oluşumu

Siklodekstrinler ilaç uygulamalarında (Szejtli, 1998; Buschmann ve Schollmeyer, 2002; Del Valle, 2004; van de Manakker vd., 2009; Liu vd., 2018), kozmetik sanayinde (Mosinger vd., 2001; Buschmann ve Schollmeyer, 2002), analitik bilimlerde (Hedges, 1998), gıda endüstrisinde (Hedges, 1998; Davis ve Brewster, 2004; Szente ve Szejtli, 2004) ve diğer birçok alanda kullanılmaktadır. Lipofilik ilaçların elde edilebilirliğinin artırılması ve/veya oral, parenteral ya da diğer yollardan alımlarında yan etkileri azaltmak için farmasötik alanında, siklodekstrinlere öncelikle başvurulmuştur. Siklodekstrin türevlerinin 2-hidroksipropil- β -siklodekstrin (HP- β SD) ve sülfobütileter- β -siklodekstrin (SBE- β SD) gibi toksik olmadığı ve parenteral yoldan enjekte edilebilirlik uygulamalarının güvenilirliği FDA tarafından onaylanmıştır (Davis ve Brewster, 2004).

2.4. Hidrojellerin Uygulama Alanları

Hidrojeller gıda katkı maddeleri, ilaçlar, biyomedikal implantlar, doku mühendisliği, hücre kapsülleme, biyomoleküllerin veya hücrelerin ayrılması ve biyolojik adezyonların düzenlenmesi için bariyer malzemeleri, biyosensörler ve biyomedikal malzemeler gibi birçok alanda kullanılmaktadır (Laftah vd., 2011; Raghavendra vd., 2015). Ayrıca sentetik dokuların üretimi, kontrollü ilaç salımı, biyosensörler, kontakt lensler, yara örtüsü ve süper emiciler gibi çeşitli uygulamalarda kullanılmaktadır (Laftah vd., 2011; Sharma vd., 2014). Son yıllarda, hidrojeller pek çok uygulamada kullanılan mevcut akıllı fonksiyonel malzemelerin çoğu ile rekabet edebilecek potansiyele sahip bir aday olarak ortaya çıkmıştır. Ayrıca, fonksiyonel monomer ve makromerlerin giderek büyüyen kullanımı hidrojellerin

uygulanabilirliğini genişletmektedir (Laftah vd., 2011; Ahmed, 2015). Bu alandaki araştırmaların, yaygın bilimsel çerçevede son derece genişlediği görülmektedir.

2.4.1. Hidrojellerin biyomedikal uygulamaları

Hidrojellerin genel olarak hazırlanmaları ve şekillendirilmeleri kolaydır ve bu nedenle tıbbi uygulamalarda dahil olmak üzere pek çok alanda kullanıma sahiptir. Hidrojeller tıp alanında esnek, gözenekli ve farklı fonksiyonel uygulamalar için biyouyumlu malzemeler olarak yoğun bir şekilde uygulama alanı bulmaktadır. Özellikle yüksek biyouyumluluğu ve dayanıklılığı nedeniyle yüksek direnç gerektiren elastik özellikli biyomalzeme olarak yaygın kullanıma sahiplerdir. Yapılarında bulundukları su nedeni ile pek çok ilacı istenilen bölgeye taşıyabilirler ve o bölgede uzun süreli bir salım yapabilirler.

1960 yılında, çapraz bağlanmış hidroksi etil metakrilat yapılı hidrojellerin Wichterle ve Lim tarafından gerçekleştirilen çalışması hidrojellerin biyomedikal alandaki uygulamaları için bir ilk niteliği taşımaktadır (Otto ve Drahoslav, 1960). Hidrofilik karakterleri ve biyouyumlu yapıları nedeniyle hidrojeller günümüze kadar biyomalzeme tasarımı yapan bilim adamları için önemli bir malzeme grubunu oluşturmuştur. 1980 yılında Lim ve Sun kalsiyum aljinat mikrokapsüllerinin hücre enkapsülasyonu için uygun olduğunu öne sürerek önemli bir adım daha atmışlardır (Lim ve Sun, 1980). 1980 yılından sonra kollajen gibi doğal polimerler içeren hidrojellerin önemini göstermişlerdir (Yannas vd., 1989). Hidrojeller doğal, yapay ve yarı sentetik yaklaşımlarla günümüze kadar hücre enkapsülasyonu için büyük bir ilgi odağı olmuştur. Bu sayede doku mühendisliği çalışmalarının güçlenmesi, yapay organ ve dokuların üretilmesi sağlanmıştır.

Hidrojeller, kuru ağırlıklarının yüzlerce katı su emebilen hidrofilik yapılı polimerik ağlardır. Bu özelliklerinden dolayı vücut esnekliğine uyum sağlar ve hücrelerin büyümesi ve gelişmesi için uygun bir ortam teşkil eder. Ayrıca iskele görünümlü ağ yapıları ise çok tabakalı hücre büyütme sistemlerinin oluşumunu mümkün kılmaktadır. Bu sayede katmanlı doku yapılarının üretilmesi de mümkündür. Organ incinmesi, doku kaybı, derin yaralanmalar gibi durumlarda biyouyumlu ve biyobozunur karakterli hidrojeller kullanılarak kaybolan dokular arasındaki boşluklar rahatlıkla yeni hücrelerin büyümesi ile onarılabilir.

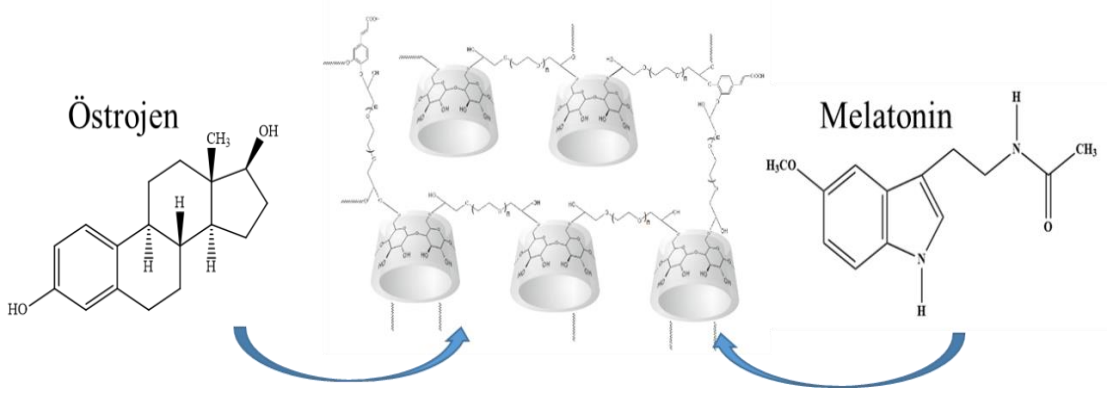
Hidrojel yapısında ağ yapısını oluşturacak polar karakterli biyouyumlu multifonksiyonel moleküllerin tasarım, sentez ve uygulanması çok önemlidir. Bu alanda multifonksiyonel yıldız tipli PEG yapıları, selüloz, bazı protein grupları ve siklodekstrinler biyouyumlu yapıları ve kolay ağ yapısı oluşturma eğilimleri ile ön plana çıkmaktadır (Mondal, 2007; Hoare ve Kohane, 2008; Slaughter vd., 2009; Weber vd., 2009; Kono ve Teshirogi, 2015).

2.4.1.1. Hidrojellerin ilaç salımı uygulamaları

Genel anlamı ile hidrojeller kontrollü ilaç salım, jel elektroforezi ve görüntüleme jelleri gibi pek çok medikal alanda yoğun bir şekilde kullanılmaktadır. Son yıllarda vücudun belirli hedef bölgelerine ilacı yönlendirebilen ve uzun süreli ilaç salım oranını kontrol edebilen sistemlerin geliştirilebilmesi üzerine çalışmalar hız kazanmıştır (Kwok vd., 2004; Yalçın vd., 2008). Geliştirilen bu sistemler kardiyoloji, oftalmoloji, endokrinoloji, onkoloji ve immünoloji gibi çok çeşitli alanlarda yaygın bir şekilde kullanılmaya başlanmıştır. Kontrollü salım sistemleri diğer tedavi yöntemlerine kıyasla önemli avantajlar sunmaktadır (Ron vd., 1993; Thacharodi ve Rao, 1995; Kwok vd., 2004; Yalçın vd., 2008). İlaç düzeyinin tedavi edici oranda tutulması, salımın belirli hücre tipi ya da dokuya hedeflenebilmesi, gerek duyulan ilaç miktarının azaltılabilmesi ve özellikle enjeksiyon yolu ile ilaç alımı sonrasında oluşan ciddi deri tahrişlerinin önlenmesi bunlardan bazılarıdır (Liu vd., 2006; Portero vd., 2007). Kontrollü salım sistemlerinde ilacın vücuda geçişi oral, rektal, vajinal, bukkal ve transdermal yollarla sağlanabilmektedir. Özellikle vajinal ve transdermal salım yapılan çalışmalarda kullanılan malzemenin salım sonrası tekrar çıkarılması gerekmektedir. Bu işlem ise hastaya ayrı bir psikolojik yük ve işlem gerektirir. Bu uygulamaları ortadan kaldırabilecek en iyi taşıyıcı biyobozunur hidrojellerdir. Literatürde kontrollü salım sistemlerinde polianhidritler (Liu vd., 2006), kitosan (Thacharodi ve Rao, 1995), poli(laktik-ko-glikolik asit) (Risbud vd., 2000), kollajen (Rao, 1995) gibi doğal ve sentetik polimerler destek malzemesi olarak kullanılmaktadır. Agaroza nötral özellikte bir polisakkarittir ve polimerizasyon sonrasında yüksek şişme özelliğine sahip hidrojeller oluşmaktadır (Zvetkov, 2002; Taşdelen vd., 2004). Hidrojeller belirli bir süre salım yaptıktan sonra bozunarak uygulama bölgesinden ayrılırlar. Son yıllarda hidrojellerin bu gibi dikkat çekici

özelliklerinden dolayı hem bilimsel hem de teknolojik açıdan önemi gittikçe artmaktadır.

Bu çalışmada literatürde bulunmayan absorpsiyon kapasitesi iyi, kontrollü salım yeteneğine sahip, biyouyumlu ve enjekte edilebilir hidrojellerin sentezlenmesi amaçlanmıştır. Sentezi gerçekleştirilen hidrojellerde yara iyileşmesini hızlandırması için östrojen ve melatonin salım özelliğinin olması beklenmektedir. Östrojen, günümüzde ilaç olarak çeşitli formlarda rahim içi cerrahi operasyon sonrasında, doğum kontrolü amaçlı kullanılan iğnelerde, tüp bebek ve kısırlık tedavilerinde, sıkça kullanılan bir hormondur. Sentetik olarak üretilen östrojenin özellikle, menopoz şikâyetleri için ve hormon replasman tedavilerindeki kullanımlarında düzenli salım yapabilen ilaç formülasyonları önemlidir. Östrojen yapısal olarak büyük bir moleküldür. Bu nedenle bu molekül hidrojelin büyük yapısal boşluklarına tutunmaktadır. Melatonin ise önemli bir antioksidandır ve medikal önemi oldukça büyüktür. Melatonin, karanlıkta pineal bezden salgılanan, uyku, üreme, sirkadiyen ritim ve immünite gibi pek çok biyolojik fonksiyonun düzenlenmesinde rol oynayan bir hormondur. Melatoninin antioksidan etkisi, literatürde ilk kez 1991 yılında Ianas vd. tarafından öne sürülmüş ve daha sonra yapılan *in vitro* ve *in vivo* çalışmalarla desteklenmiştir (Ianas vd., 1991). Direkt olarak, antioksidan enzimleri ile ve prooksidan enzimi ile gerçekleşmek üzere üç farklı antioksidan etkiye sahiptir. Melatonin yapısı gereği inklüzyon kompleksi yaparak hidrojel yapısındaki siklodekstrin gruplarına bağlanmaktadır (Şekil 2.7). Bu şekilde rahim içerisinde yavaş bir salım ile salınacaktır. Çalışmada sentezlenen hidrojel yapısının rahim içi uygulamalarda hidrolitik ortamda yaklaşık olarak 5-6 gün kimyasal kararlılığını koruması ve mekanik bariyer özelliğini göstermesi istenmektedir. Bu süreç dahilinde hidrojel, klasik ilaç salım sistemi olarak çalışacak ve rahim içersine antioksidatif melatonin ile östrojeni beraber salacaktır.



Şekil 2.7. Sentezlenen hidrojellere östrojen ve melatonin absorpsiyonunun şematik gösterimi

2.4.1.2. Asherman sendromu ve rahim içi hidrojel uygulamaları

Asherman sendromu olarak bilinen rahim içi yapışıklıklar (adezyonlar), fallop tüp ve rahim duvarlarının birbirine yapışması şeklinde gerçekleşmekte ve intrauterin adezyonlar olarak adlandırılmaktadır (Valle ve Sciarra, 1988; Berman, 2008; Şendağ vd., 2013; Khan ve Goldberg, 2018). Pek çok nedene bağlı olarak gerçekleşen bu durum önemli bir sağlık sorunudur. Genellikle küretaj ve spiral kullanımı sonrasında sıkça görülmesine rağmen rahim içerisinde mekanik hasara yol açabilecek herhangi bir operasyonda adezyon oluşumuna yol açabilmektedir (Schenker, 1996). Ayrıca doğum, sezaryen, miyom çıkarım ameliyatı, polip alınması, düşük yapma, rahim içi kanamalar veya rahim kanserinin erken teşhisinde tümörün alınması gibi süreçler rahim içindeki dokunun mekanik olarak hasar görmesine neden olabilir. Bu hasarlı doku iyileşirken skar oluşturarak rahim duvarlarının yapışmasına yol açabilir. Genital tüberküloz, uterin kavitesinin tamamen kapanmasına yol açabilen bir diğer önemli nedendir (Netter vd., 1955). Bu tür yapışıklıklar, kısırlık, menstrüel düzensizlikler, pelvik ağrılar ve tekrarlayan gebelik kayıplarına yol açabilmektedir (Şendağ vd., 2013). Ayrıca Asherman sendromu kadınlarda menopoza sonrası dönemde kendiliğinden de gelişebilir.

Asherman sendromu tedavisinde farklı yöntemler kullanılmaktadır. Günümüzde sendromun boyutuna göre histeroskop denilen aletle yapışıklıkların giderilmesi gerçekleştirilmektedir.

Normal rahim içi anatomi sağlandıktan sonra rahim içi araç ve östrojen tedavisi ile hasar görmüş rahim alanının yeniden oluşturulması ve yeni yapışıklık oluşumunun

önlenmesi tedavinin bir parçasıdır (Roge vd., 1996). Ancak, tüm bu önlemler bazen yeniden yapışmaya engel olamaz ve hasarlı doku tam iyileşmediği için rahim duvarları yeniden yapışabilir. Bilinen tedavilerde yeniden yapışma oranı yaklaşık % 60 civarındadır.

Diğer bir tedavi yöntemi ise cerrahi müdahale ile yapışıklığın giderilmesidir (Roge vd., 1996). Cerrahi tedaviyi takiben rahim içi boşluğuna yerleştirilen rahim içi aygıtın yaklaşık 2 ay süreyle bu alanda kalması istenilir. Buradaki amaç iyileşmenin başlangıç safhasında yüzeyleri birbirinden ayrı tutarak tekrar yapışmasını önlemektir (Netter vd., 1955). Rahim içi aygıtın yerleştirilerek gerçekleştirilen tedavideki başarı oranı, aygıtsız tedavilere kıyasla oldukça yüksektir. Ancak bu aygıt kişileri rahatsız edebilir ve alerjik etkileri olabilir. Her iki durumda da hasta tedavi süresince östrojen kullanmalıdır. Bunun amacı rahmi uyarıp yara oluşmuş yüzeylerin yenilenmesini sağlamaktır.

Kadınlarda doğum, sezeryan, küretaj, miyom, polip çıkarımı, rahim içi kanamalar, enfeksiyonlar, bazen de menopoz sonrası dönemde kendiliğinden rahim duvarlarında hasarlar meydana gelmektedir (Netter vd., 1955). Rahimde meydana gelen hasarlar, endometriyumun bazı tabakalarının ortadan kalkmasına, bunun yanı sıra rahim kas tabakası zedelenmesine, skar dokusu oluşumuna ve rahim içi yapışıklıkları ile problemin daha da büyümesine yol açmaktadır. Yerel hedefli tedavi yöntemlerinden olan vajinal yol yani vajinal ilaç verme sistemi oldukça rahat ve kullanışlı bir yoldur. Bu yöntem ile tedavinin birçok avantajı vardır. Oral alımda meydana gelen gastrointestinal sistem yan etkisinden kaçınmayı ve aynı zamanda rahatsız edici ve bazen ağrılı kas içi enjeksiyonu önler. Ayrıca, vajinal ilaç verme sistemi ile tercihen ilaç doğrudan rahime verildiğinden endometriyal dokunun yüksek düzeyde ilacı alması sağlanır. Son yıllarda, kadın hastalıklarında da özellikle biyomalzemede yeni bir sınıf olarak, hidrojel nanokompozitlerin uygulamalarında artış olmuş, vajinal yol ilaç tasarımları yapılmıştır (Brewster ve Loftsson, 2007).

Muller vd. tarafından pelvik yapışıklıklarında fiziksel çapraz bağlı polivinil alkol ve karboksimetilselüloz (PVA/CMC) hidrojel kullanılarak olumlu sonuçlar elde edilmiştir (Muller vd., 2011). Nijenhuis vd. tarafından tedaviye dirençli adenomiyozis hastalarında polizen-F kaplı hidrojel mikroküreleri ile üç yıl boyunca takibi yapılan hastaların büyük çoğunluğunda (% 97) iyi klinik sonuçlar elde edilmiştir (Nijenhuis vd., 2015). Gao vd. tarafından operasyon sonrası yapışıklıkları önlemek için yeni ısı duyarlı, *in vivo* olarak parçalanabilir poli(ϵ -kaprolakton)-poli(etilen glikol)-poli(ϵ -

kaprolakton) temelli hidrojeller tasarlanmış ve başarılı sonuçlar elde edilmiştir (Gao vd., 2013). Navath vd. tarafından gebelerde genital enfeksiyonları giderirken fetusa herhangi bir şekilde zarar vermeyen, içerisinde antibiyotik (amoksisilin) olan enjekte edilebilir PAMAM dendrimer-PEG hidrojel sentezlenmiştir (Navath vd., 2011). Khade vd. tarafından bakteriyel vajinozisi gidermede metronidazol yüklü jelatin/PEG temelli hidrojeller ile başarılı kontrollü ilaç salımı sağlanmıştır (Khade vd., 2014). Frank vd. tarafından katyonik ve anyonik akrilik temelli nanokapsüller ve kitosan temelli hidrojeller kullanılarak lipofilik ilaçların doku geçişini kolaylaştırma başarılmıştır (Frank vd., 2014). Zhou vd. tarafından siklodekstrin temelli baikalein ve hidroksipropil- γ -siklodekstrin kompleks-yüklü ısı duyarlı hidrojellerin kronik serviste karşı etkili olduğu çalışmalarında gösterilmiştir (Zhou vd., 2013). İntravajinal ilaç salımında, insan immün yetmezlik virüsü ve diğer vajinal enfeksiyonların cinsel yolla bulaşmasını önlemek için ilaç salımı ve kontrol kolaylığı sağlayan avantajları ile hidrojeller oldukça önemlidir. Liv vd. tarafından cinsel yolla bulaşan viral hastalıklardan kadınları korumak amacıyla stearik asit ile modifiye edilmiş ısı duyarlı metilselüloz hidrojeller sentezlenmiştir. Antiviral (tenofovir) ilaçların intravajinal uygulaması için umut verici bir taşıyıcı olmuştur (Li vd., 2012a). Li vd. tarafından vajinal ilaç verme uygulamaları için lipozomal hidrojel köpükler geliştirilmiştir (Li vd., 2012b). Abbott vd. tarafından Asherman sendromundaki yapışıklık giderimi ve gebelik olasılığının artırılmasında SprayGel™ kullanımında ve gebelik oran artışında olumlu sonuçlar elde edilmiştir (Abbott vd., 2004).

2.5. Amaç

Bu çalışmanın amacı, cerrahi müdahaleler sonrası hasar gören rahim dokusunun yeniden oluşması sırasında meydana gelen Asherman sendromu olarak bilinen rahim içi yapışıklıkları önlemek için kullanılabilecek siklodekstrin temelli biyoyumlu, enjekte edilebilir hidrojenlerin sentezlenmesi, karakterize edilmesi ve Asherman sendromunda uygulanmasının belirlenmesidir. Kadınlarda doğum, sezeryan, küretaj, miyom alınması, polip çıkarımı, rahim içi kanamalar, enfeksiyonlar sonucunda, bazen de menopoz sonrası dönemde kendiliğinden rahim duvarlarında hasarlar meydana gelmektedir. Bu hasarlar, Asherman sendromu olarak adlandırılan rahim içi yapışıklıklara neden olmaktadır. Yapılan çalışmada Asherman sendromunun önlenmesindeki potansiyelinin araştırılması amacıyla mekanik bariyer özelliği taşıyan siklodekstrin temelli biyoyumlu, enjekte edilebilir hidrojenler sentezlenmiştir. Bu hidrojel yapılarında farklı molekül ağırlığına sahip poli(etilen glikol) 400 (PEG 400), poli(etilen glikol) 600 (PEG 600), poli(etilen glikol) 800 (PEG 800), poli(etilen glikol) 1000 (PEG 1000) ve poli(etilen glikol) 2000 (PEG 2000); polifenol olarak kafeik asit (KA), gallik asit (GA), epikateşin (Ek), kuarsetin (Kuar) ve kurkumin (Kur); çapraz bağlayıcı olarak α -siklodekstrin (α -SD), β -siklodekstrin (β -SD) ve γ -siklodekstrin (γ -SD) yapıları kullanılmıştır.

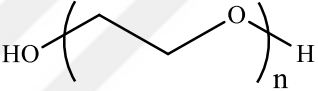
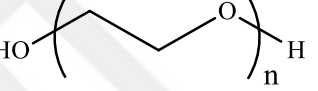
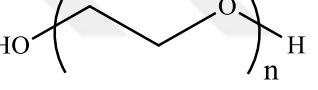
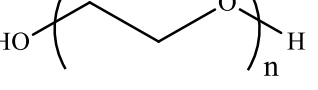
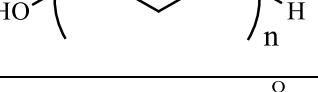
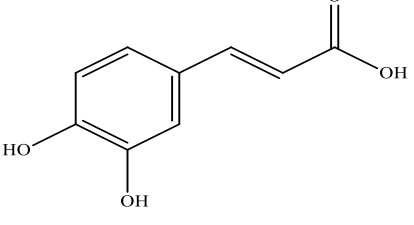
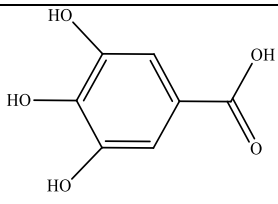
Hidrojenlerin sentezi için öncelikle PEG yapıları epiklorhidrin ile etkileştirilerek epoksi fonksiyonel hale getirilmiştir. Daha sonra elde edilen bu yapı ile siklodekstrin ve polifenol gruplarının halka açılma polimerizasyonu sonucu bir arada çapraz bağlanması ile 75 farklı hidrojel yapısı elde edilmiştir. Sentezlenen hidrojenlerin yapısal karakterizasyonu FTIR, yüzey özellikleri SEM ve AFM teknikleri ile gerçekleştirilmiştir. Ayrıca hidrojenlerin ısı kararlılıkları ve termal özellikleri TGA ve DSC analizleri ile gerçekleştirilmiştir. Daha sonra bu hidrojenlerin şişme, enjekte edilebilirlik ve biyoyumluluk özellikleri belirlenmiştir. Ayrıca bu hidrojenler arasından seçilen bazı hidrojenlerin melatonin ve östrojen salımları incelenmiştir. Tüm bu özelliklere göre seçilen bir hidrojel yapısının Asherman sendromunun engellenmesinde ve tedavi edilmesindeki potansiyeli *in vivo* testler kullanılarak biyokimyasal ve histolojik analizler ile belirlenmiştir.

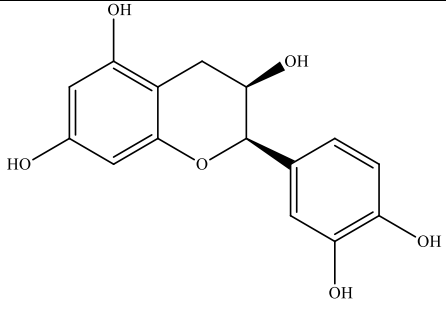
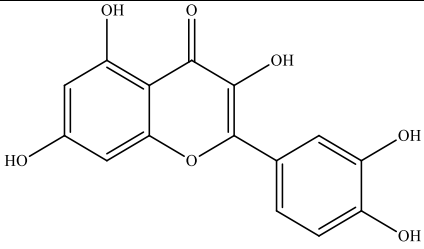
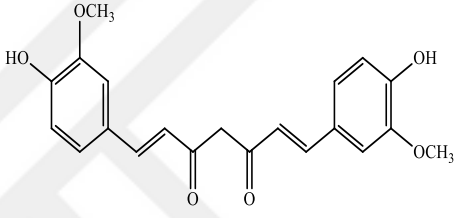
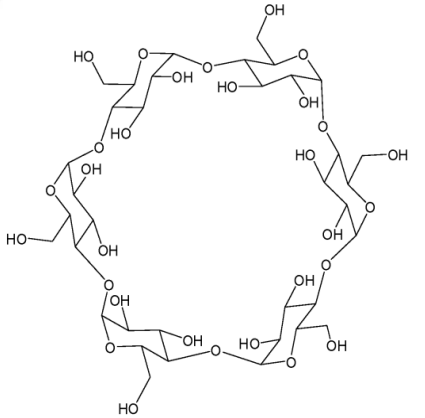
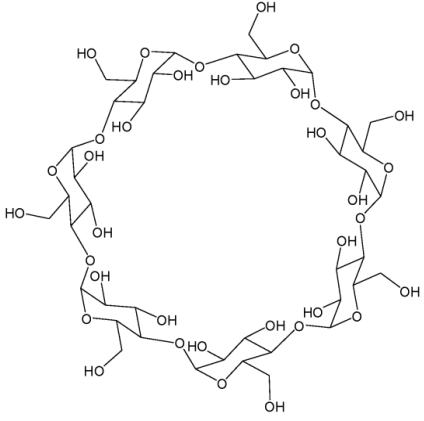
3. MALZEME VE YÖNTEM

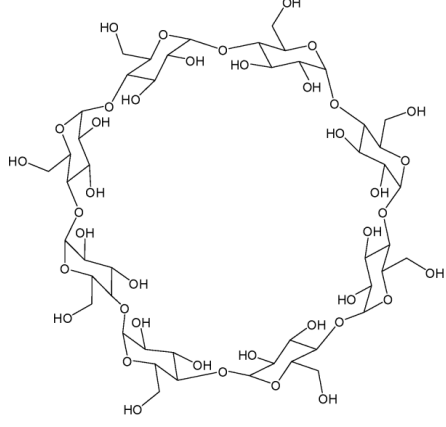
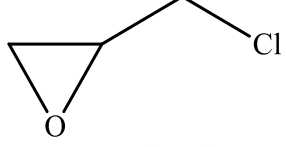
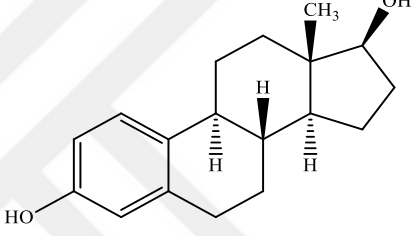
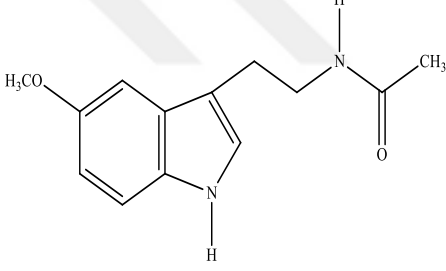
3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Bu çalışmada hidrojellerin sentezi için farklı PEG yapıları, polifenoller ve siklodekstrinler kullanılmıştır. Sentez aşamalarında kullanılan bu monomerik ünitelere ait temel yapı ve özellikler Çizelge 3.1’de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Hidrojel sentez çalışmasında kullanılan bileşikler.

Malzeme	Özellik	Yapı
PEG 400	Mw: 360-440 g/mol d:1,13 g/cm ³ (20 °C) Mp: 5 °C	
PEG 600	Mw: 570-630 g/mol d:1,13 g/cm ³ (20 °C) Mp: 17-22 °C	
PEG 800	Mw: 720-880 g/mol d:1,12 g/cm ³ (20 °C) Mp: 25-30 °C	
PEG 1000	Mw: 950-1050 g/mol Mp: 33-40 °C	
PEG 2000	Mw:1900-2200 g/mol Mp: 49-52 °C	
Kafeik Asit	Mw: 180,16 g/mol ≥ % 98 Mp: 211-213 °C	
Gallik Asit	Mw=170,12 g/mol ≥ % 97 Mp: 251 °C	

Epikateşin	Mw: 290,27 g/mol ≥ % 90 Mp: 240 °C	
Kuarsetin	Mw: 302,24 g/mol ≥ % 95 Mp: 316 °C	
Kurkumin	Mw: 368.38 g/mol ≥ % 94 Mp: 175 °C	
α-Siklodekstrin	Mw: 972,84 g/mol ≥ % 98 Mp >270 °C	
β-Siklodekstrin	Mw: 1134,98 g/mol ≥ % 97 Mp=290-305 °C	

γ -Siklodekstrin	Mw: 1297.12 g/mol $\geq \% 97$ Td= 257-265 °C (dekompozisyon)	
Epiklorhidrin	Mw: 92,52 g/mol % 99 d: 1,183 g/cm ³ Bp: 115-117 °C	
Östrojen	Mw: 272,38 g/mol > % 97 Mp: 176-180 °C	
Melatonin	Mw: 232,28 g/mol > % 98 Mp: 117-120 °C	

Sentez çalışmalarında ayrıca NaOH Merck firmasından sağlanarak kullanılmıştır. Kullanılan monomerler Sigma-Aldrich firmasından temin edilmiştir. α -siklodekstrin, β -siklodekstrin ve γ -siklodekstrin ile ilaç salım çalışmalarında kullanılan melatonin ve östrojen Tokyo Chemical Industry Co. (TCI) firmasından sağlanmıştır.

Yapısal karakterizasyon çalışmaları sırasında NMR analizlerinde çözgen olarak CDCl₃ ve D₂O kullanılmıştır. FTIR analizlerinde pelet hazırlarken KBr kullanılmıştır ve termal analizler sırasında referans olarak α -Al₂O₃ kullanılmıştır. Tüm referanslar Sigma-Aldrich firmasından temin edilmiştir.

Biyouyumluluk, biyokimyasal testler, hücre kültürü ve *in vivo* hayvan çalışmaları sırasında kullanılan DMSO, PBS, 3-[4,5-dimetiltiyazol-2-il]-2,5-

difeniltetrazolyum bromür, etanol, metanol, Na₂HPO₄, NaH₂PO₄, SDS ve Tween 80 Merck firmasından temin edilmiştir.

3.2. Kullanılan Cihazlar

Çalışmada elde edilen poli(etilen glikol) diglisidil eter yapılarının karakterizasyonu için Elemental Analiz (EA; LECO CHNS-932 Analyzer), Nükleer Manyetik Rezonans Spektrometresi (NMR; Bruker Avance 300) ve Fourier Transform Infrared Spektrometre (FTIR; Perkin Elmer Spektrum Two) cihazları kullanılmıştır.

Poli(etilen glikol) diglisidil eter yapılarından elde edilen hidrojellerin yapısındaki nem Armfield Freeze Dryer cihazı kullanılarak uzaklaştırılmıştır. Hidrojellerin yapısal özellikleri Fourier Transform Infrared Spektrometre (FTIR; Perkin Elmer Spektrum Two ve Mattson 1000) cihazları ile yüzey özellikleri Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM; Leo-Evo 40 XVP), Atomik Kuvvet Mikroskobu (AFM; Park Systems XE-100 E) kullanılarak belirlenmiştir.

Bu hidrojellerin termal özellikleri ise Termogravimetrik Analiz (TGA; Shimadzu 50) ve Diferansiyel Taramalı Kalorimetre (DSC; Shimadzu 60) cihazları kullanılarak analiz edilmiştir.

Hidrojellerin biyoyumluluk ölçümleri ve yapılan biyokimyasal testler Eon BioTek marka mikropate okuyucu ile gerçekleştirilmiştir. Hidrojellerin ilaç salım çalışmalarında Ultraviyole-Görünür Bölge Spektrofotometresi (UV-Vis; UV-1601 Shimadzu) kullanılmıştır. Histolojik ölçümler esnasında hazırlanan preparatlar Leica 280 ışık mikroskobu ve Leica Q Win Görüntü Analiz Sistemi (Leica Microsystems Imaging Solutions, Cambridge, UK) ile incelenerek fotoğraflanmıştır.

3.3. Hidrojel Yapılarının Sentezi

Hidrojel yapılarının sentezi için temel olarak iki adımlı bir sentez yöntemi kullanılmıştır. Birinci adımda öncelikle hidrojel yapısının büyük bir kısmını oluşturacak olan farklı boy ve uzunluklardaki PEG yapılarının epiklorhidrin ile reaksiyonu sonucunda epoksi fonksiyonel PEG yapıları elde edilmiştir. Daha sonra ikinci adım olarak polifenol ve siklodekstrin yapıları ile halka açılma polimerizasyonu gerçekleştirilmiştir.

3.3.1. Poli(etilen glikol) diglisidil eter yapılarının sentezi

Poli(etilen glikol) diglisidil eter yapıları epiklorhidrin ile PEG'ün reaksiyonu sonucunda elde edilmiştir. Sentez yöntemine göre 0,1 mol PEG-400, 0,6 mol NaOH ve 2,4 g su ile karıştırılmıştır. Bu çözeltiye 0,6 mol epiklorhidrin damla damla ve yavaş yavaş 45 °C'nin üzerine çıkılmayacak şekilde eklenmiştir. Daha sonra sıcaklık 40 °C'ye ayarlanarak 2 saat reaksiyona devam edilmiş ve sonrasında karışım süzölmüştür. Elde edilen ürün diklormetan ile yıkanarak vakum etüvünde kurutulmuştur (Liu vd., 2011; Zhang vd., 2014). Bu yöntem diğer PEG yapıları için de tekrarlanmış ve poli(etilenglikol) diglisidil eter yapıları elde edilmiştir. Bu yapılar FTIR, EA ve NMR analizleri ile karakterize edilmiştir.

Poli (etilen glikol) diglisidil eter 400 için; ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz, ppm): $\delta = 3,70\text{--}3,75$ (m, 2H), 3,58–3,60 (m, 34,72H), 3,33–3,39 (m, 2H), 3,06–3,12 (m, 2H), 2,71–2,75 (t, 2H), 2,53–2,57 (m, 2H); ^{13}C NMR (CDCl_3 , 75 MHz, ppm): $\delta = 71,90$; 70,63; 50,73; 44,15. EA (Teorik): C % 54,77; H % 8,73; (Deneysel): C % 52,05; H % 8,05.

Poli (etilen glikol) diglisidil eter 2000 için; ^1H NMR (CDCl_3 , 300 MHz, ppm): $\delta = 3,76\text{--}3,82$ (m, 2H), 3,58–3,72 (m, 90,09H), 3,39–3,46 (m, 2H), 3,13–3,18 (m, 2H), 2,78–2,81 (t, 2H), 2,60–2,62 (m, 2H); ^{13}C NMR (D_2O , 75 MHz, ppm): $\delta = 71,3$; 69,85; 51,45; 44,81. EA (Teorik): C % 54,60; H % 9,00; (Deneysel): C % 53,86; H % 8,43.

3.3.2. Hidrojel sentezinde monomer oranlarının tespiti ve sıcaklık optimizasyonu

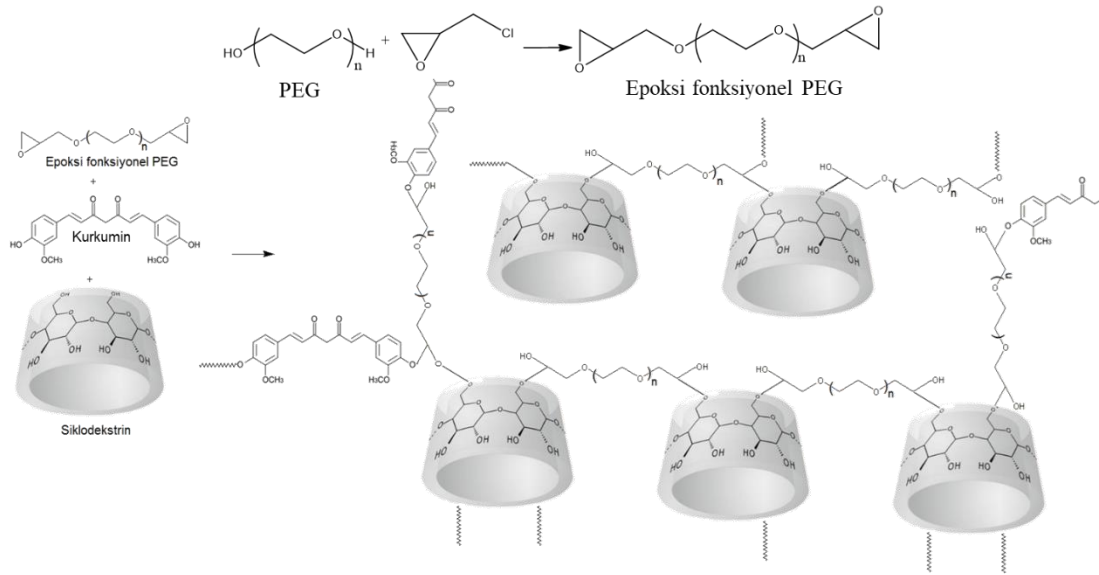
Sentez çalışmalarından önce kullanılacak olan monomer oranlarının optimizasyonu için polifenol, polietilen glikol diglisidil eter ve çapraz bağlayıcı grup

olarak siklodekstrin grupları öncelikle farklı oranlarda çalışılmıştır. Bu çalışmada optimum monomer oranları tespit edilmiştir. Poli(etilenglikol), siklodekstrin ve polifenol molar oranları sırasıyla 98/1/1, 96/3/1, 94/5/1, 96/1/3, 94/1/5, 96/2/2 ve 90/4/6 gibi oranlarda çalışılmıştır.

Bu sentezlerin gerçekleşmesinde sıcaklığın hidrojel sentezi üzerine etkisi incelenmiştir. Sentez sıcaklığı olarak 20 °C, 30 °C, 40 °C, 50 °C, 60 °C, 70 °C ve 80 °C’de çalışılmıştır. Farklı sıcaklıklarda gerçekleştirilen bu çalışma sonucu optimum sıcaklık dahilinde istenilen hidrojel yapısına ulaşılmıştır.

3.3.3. Siklodekstrin temelli hidrojel yapılarının sentezi

Hidrojellerin sentezinde farklı molekül ağırlıklarına sahip olan PEG 400, PEG 600, PEG 800, PEG 1000 ve PEG 2000 yapıları kullanılmıştır. PEG yapıları epiklorhidrin ile poli(etilenglikol) diglisidil eter yapısına dönüştürüldükten sonra farklı polifenoller ve siklodekstrinler ile halka açılma polimerizasyonu gerçekleştirilmiştir. Bu sentezlerde polifenol olarak KA, GA, Ek, Kuar ve Kur kullanılırken siklodekstrin yapısı olarak, α -SD, β -SD ve γ -SD yapıları kullanılmıştır (Çizelge 3.1). Monomer oranları sırasıyla SD/PF/PEG:4/6/90 olarak çalışılmıştır. Elde edilen hidrojellerin sentezi Şekil 3.1’de şematik olarak verilmiştir.



Şekil 3.1. Çalışmada sentezi gerçekleştirilen hidrojel yapıları

Polifenol çeşitleri	: KA, GA, Ek, Kuar, Kur
PEG çeşitleri	: PEG 400, PEG 600, PEG 800, PEG 1000, PEG 2000
Siklodekstrin çeşitleri	: α -SD, β -SD, γ -SD

Sentez yöntemine göre 9 mmol poli(etilen glikol) diglisidil eter yapısı DMSO kullanılarak derişik NaOH çözeltisi varlığında 0,4 mmol polifenol ile 1 saat boyunca karıştırılmıştır. Daha sonra 0,6 mmol siklodekstrin eklenerek reaksiyona 60 °C’de 24 saat boyunca devam edilmiştir. Reaksiyon sonunda farklı renklerde hidrojjeller elde edilmiş, saf su ve alkol ile yıkanarak kurumaya bırakılmıştır. Bu işlemler diğer hidrojjellerin sentezi için diğer poli(etilen glikol) diglisidil eter, siklodekstrin ve polifenoller ile tekrarlanmıştır (Teng vd., 2017). Tüm sentezler sonunda α -, β - ve γ -siklodekstrinler ile 75 farklı hidrojel yapısı elde edilmiştir. Sentezlenen hidrojjellerin isim ve içerikleri Çizelge 3.2’de belirtilmiştir. Elde edilen hidrojjellerin tümü analiz öncesi liyofilize edilmiştir.

Çizelge 3.2. Yapılan çalışmada sentezlenen hidrojenlerin isim ve içerikleri

α -siklodekstrin yapılı hidrojenler		β -siklodekstrin yapılı hidrojenler		γ -siklodekstrin yapılı hidrojenler	
Hdj-01	α -SD-PEG-400-KA	Hdj-26	β -SD-PEG-400-KA	Hdj-51	γ -SD-PEG-400-KA
Hdj-02	α -SD-PEG-400-GA	Hdj-27	β -SD-PEG-400-GA	Hdj-52	γ -SD-PEG-400-GA
Hdj-03	α -SD-PEG-400-EK	Hdj-28	β -SD-PEG-400-EK	Hdj-53	γ -SD-PEG-400-EK
Hdj-04	α -SD-PEG-400-Kuar	Hdj-29	β -SD-PEG-400-Kuar	Hdj-54	γ -SD-PEG-400-Kuar
Hdj-05	α -SD-PEG-400-Kur	Hdj-30	β -SD-PEG-400-Kur	Hdj-55	γ -SD-PEG-400-Kur
Hdj-06	α -SD-PEG-600-KA	Hdj-31	β -SD-PEG-600-KA	Hdj-56	γ -SD-PEG-600-KA
Hdj-07	α -SD-PEG-600-GA	Hdj-32	β -SD-PEG-600-GA	Hdj-57	γ -SD-PEG-600-GA
Hdj-08	α -SD-PEG-600-EK	Hdj-33	β -SD-PEG-600-EK	Hdj-58	γ -SD-PEG-600-EK
Hdj-09	α -SD-PEG-600-Kuar	Hdj-34	β -SD-PEG-600-Kuar	Hdj-59	γ -SD-PEG-600-Kuar
Hdj-10	α -SD-PEG-600-Kur	Hdj-35	β -SD-PEG-600-Kur	Hdj-60	γ -SD-PEG-600-Kur
Hdj-11	α -SD-PEG-800-KA	Hdj-36	β -SD-PEG-800-KA	Hdj-61	γ -SD-PEG-800-KA
Hdj-12	α -SD-PEG-800-GA	Hdj-37	β -SD-PEG-800-GA	Hdj-62	γ -SD-PEG-800-GA
Hdj-13	α -SD-PEG-800-EK	Hdj-38	β -SD-PEG-800-EK	Hdj-63	γ -SD-PEG-800-EK
Hdj-14	α -SD-PEG-800-Kuar	Hdj-39	β -SD-PEG-800-Kuar	Hdj-64	γ -SD-PEG-800-Kuar
Hdj-15	α -SD-PEG-800-Kur	Hdj-40	β -SD-PEG-800-Kur	Hdj-65	γ -SD-PEG-800-Kur
Hdj-16	α -SD-PEG-1000-KA	Hdj-41	β -SD-PEG-1000-KA	Hdj-66	γ -SD-PEG-1000-KA
Hdj-17	α -SD-PEG-1000-GA	Hdj-42	β -SD-PEG-1000-GA	Hdj-67	γ -SD-PEG-1000-GA
Hdj-18	α -SD-PEG-1000-EK	Hdj-43	β -SD-PEG-1000-EK	Hdj-68	γ -SD-PEG-1000-EK
Hdj-19	α -SD-PEG-1000-Kuar	Hdj-44	β -SD-PEG-1000-Kuar	Hdj-69	γ -SD-PEG-1000-Kuar
Hdj-20	α -SD-PEG-1000-Kur	Hdj-45	β -SD-PEG-1000-Kur	Hdj-70	γ -SD-PEG-1000-Kur
Hdj-21	α -SD-PEG-2000-KA	Hdj-46	β -SD-PEG-2000-KA	Hdj-71	γ -SD-PEG-2000-KA
Hdj-22	α -SD-PEG-2000-GA	Hdj-47	β -SD-PEG-2000-GA	Hdj-72	γ -SD-PEG-2000-GA
Hdj-23	α -SD-PEG-2000-EK	Hdj-48	β -SD-PEG-2000-EK	Hdj-73	γ -SD-PEG-2000-EK
Hdj-24	α -SD-PEG-2000-Kuar	Hdj-49	β -SD-PEG-2000-Kuar	Hdj-74	γ -SD-PEG-2000-Kuar
Hdj-25	α -SD-PEG-2000-Kur	Hdj-50	β -SD-PEG-2000-Kur	Hdj-75	γ -SD-PEG-2000-Kur

3.4. Poli(etilen glikol) diglisidil eter ve Hidrojel Yapılarının Karakterizasyonu

Gerçekleştirilen bu çalışmada öncelikle beş farklı poli(etilen glikol) diglisidil eter yapısı elde edildi ve bunların yapısal özellikleri EA, FTIR ve NMR ile karakterize

edilmiştir. Bu yapıların siklodekstrin ve polifenoller ile reaksiyonu sonucu 75 hidrojel sentezi gerçekleştirilmiş olup bunların yapısal özellikleri FTIR; morfolojik özellikleri SEM, AFM ve termal özellikleri ise TGA ve DSC analizleri ile belirlenmiştir.

Poli(etilen glikol) diglisidil eter yapılarının NMR ölçümleri için çözücü olarak CDCl_3 ve D_2O kullanılarak ^1H -NMR 300 MHz'de ve ^{13}C -NMR 75 MHz'de gerçekleştirilmiştir. EA ölçümlerinde 2 mg numune kullanılarak yüksek sıcaklıkta (1100-1200 °C) yakma yoluyla yapıdaki element yüzdeleri (elde edilen yapılardaki temel bileşen olan C ve H) belirlenmiştir.

Sentezlenen hidrojellerin analiz öncesi hazırlanmasında Armfield Freeze Dryer kullanılmış ve yapısındaki nem uzaklaştırılmıştır. Poli(etilen glikol) diglisidil eter ve bunlardan elde edilen hidrojellerin FTIR spektrumları 400-4000 cm^{-1} dalga sayısı aralığında kaydedilmiştir. FTIR-KBr ile KBr peletler hazırlanarak ölçümler gerçekleştirilmiştir. Elde edilen hidrojellerin yüzey özellikleri ve yüzeylerinin morfolojik yapıları SEM ve AFM analiz teknikleri ile belirlenmiştir. Bu hidrojel yapılarının yüzeysel özelliklerinin detaylı incelenmesi SEM ile düşük ve yüksek büyütme ölçeklerinde gerçekleştirilmiştir. Bu analizlerde hidrojel yapıları öncelikle liyofilizasyon ile kurutulmuş ve daha sonra yüzeyler spatter ile Au/Pd kaplanmıştır. Seçilen hidrojel yapılarının detaylı yüzey özellikleri AFM analizi ile temasız mod kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Sentezde kullanılan siklodekstrinler ile polifenollerin ve elde edilen hidrojellerin termal özellikleri TGA cihazı kullanılarak sıcaklık-% kütle kaybı eğrisinden % 10'luk kütle kaybı değerleri belirlenmiştir. 10 mg numune miktarı ile hava atmosferinde, 10 °C/dak ısıtma hızında ölçüm gerçekleştirilmiştir. DSC analizleri 5 mg numune miktarı ile azot atmosferinde 5 °C/dak ısıtma hızında, $\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$ referans maddesi kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

Hidrojellerin ilaç salım çalışmaları sırasında UV-Vis spektrofotometre ile melatonin 278 nm ve östrojen 280 nm dalga boyunda okuma yapılarak ölçümler gerçekleştirilmiştir. Biyokimyasal testler Eon BioTek marka mikropate okuyucu ile gerçekleştirilmiştir. Histolojik ölçümler esnasında hazırlanan preparatlar ışık mikroskobu ve Görüntü Analiz Sistemi ile incelenerek fotoğraflanmıştır.

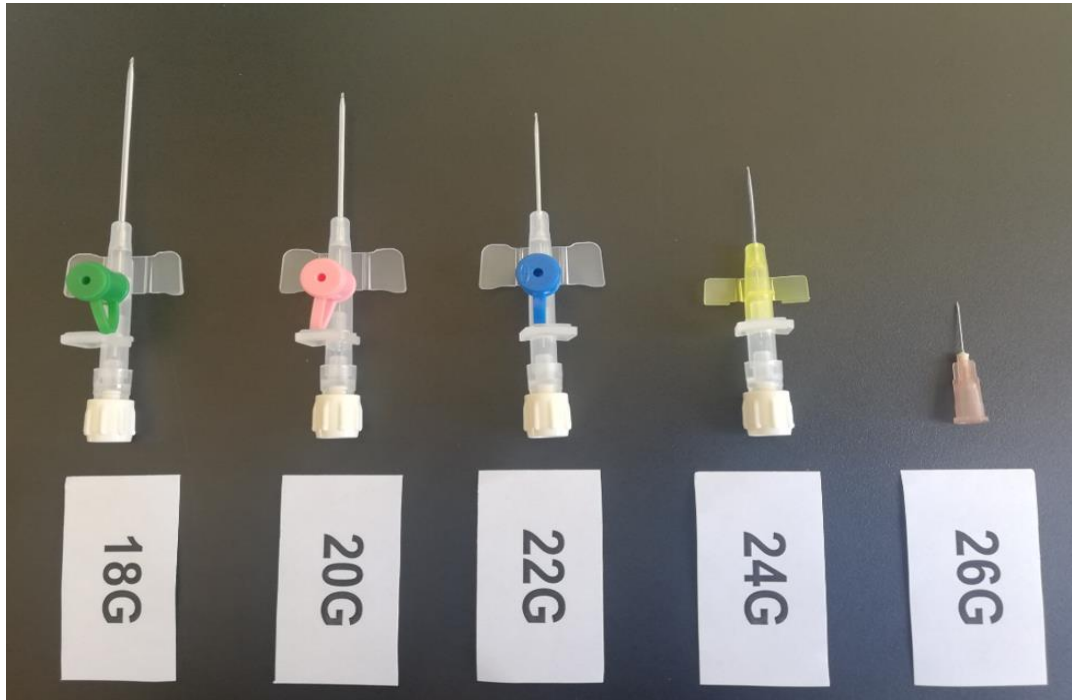
3.5. Hidrojel Yapılarının Şişme Özelliklerinin Belirlenmesi

Belirli kütlelerde tartılan kuru hidrojeller 37 °C’de 5 mL pH 7,4 PBS tamponu içerisinde şişmeye bırakılmıştır. Şişen hidrojeller belirli zaman aralıklarında PBS içerisinden çıkarılarak tartılmıştır.

% Şişme = $(m_s - m_d)/m_d * 100$ formülüne göre hesaplanarak hidrojellerin şişme derecesi belirlenmiştir (Navath vd., 2011). Burada m_s şişmiş hidrojelin t zamanındaki kütlesi, m_d ise kuru hidrojelin kütlesidir.

3.6. Hidrojellerin Enjekte Edilebilirliklerinin Belirlenmesi

Çalışmada sentezlenen hidrojellerin enjekte edilebilirliği için belirli miktarlarda alınan hidrojeller 2 mL PBS içerisinde şişirilmiştir. Hidrojellerin enjeksiyonu için 18, 20, 22, 24 ve 26 gauge şırınga uçları kullanılmıştır. Şişen hidrojeller bu gauge uçlu şırıngalara doldurularak enjeksiyonları gerçekleştirilmiştir (Khodaverdi vd., 2015). Hidrojellerin şırınga uçlarından geçip geçmemesine bağlı olarak enjeksiyon için en uygun şırınga ucu belirlenmiştir. Kullanılan şırınga uçlarının görüntüsü Şekil 3.2’de verilmiştir.



Şekil 3.2. Hidrojellerin enjekte edilebilirlik testlerinde kullanılan 18, 20, 22, 24 ve 26 gauge iğne uçları

Enjekte edilebilirlik testinde uygulama solüsyonu olarak PBS (pH=7.4) tampon içerisinde 37 °C’de test gerçekleştirilmiştir. Çalışmada sentezi gerçekleştirilen hidrojelilerin vücut içerisine uygulanabilmesi için enjekte edilebilir nitelikte olması önemlidir. Bu uygulama sırasında enjektör ucunun inceliği hastanın daha az acı hissetmesi açısından önemlidir. Bu nedenle en uygun iğnenin seçimi için farklı gauge iğneler kullanılmıştır. Bu iğnelerden en geniş iğne 18 gauge iken en küçük çaplı iğne 26 gaugedir.

3.7. Hidrojellerin Biyouyumluluklarının Belirlenmesi

Çalışmanın bu basamağında hazırlanan numunelerin L929 (*Mus musculus* fibroblast hücreleri) hücreleri üzerine, indirekt sitotoksiteleri, 3-[4,5-Dimetiltiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazolyum bromür (MTT) testi ile belirlenmiştir. Deney protokolü ISO-10993-5 “Biological Evaluation of Medical Devices” standartlarına göre yapılmıştır (ISO., 2009).

Numuneler 0.2 g ağırlıkta olacak şekilde steril 15 mL falkon tüplere yerleştirilmiştir. Her bir numunenin üzerine 1 mL saf etanol eklendi ve UV ışık altında bir saat bekletilerek steril olmaları sağlanmıştır. Daha sonra numuneler üzerindeki fazla alkol uçurulmuş ve örnekler birkaç kez steril PBS (pH: 7,4) ile yıkanmıştır. Numune ekstraktlarının hazırlanması için üzerlerine taze hazırlanmış hücre kültür besiyeri (% 10 FBS, % 1 Penisilin-Streptomisin içeren DMEM besiyeri) eklenmiştir. Numuneler 72 saat süre ile 37 °C’de bekletilmiştir. İnkübasyon sırasında fibroblast hücreleri (5×10^4 hücre/mL) 96 kuyucuklu plakalara ekilmiş ve bir gece 37 °C’de, % 5 karbondioksitli inkübatörde inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi bitiminde hücreler üzerindeki besiyerleri uzaklaştırıldı ve örnek ekstraktları 100 µL/kuyucuk olacak şekilde kuyucuklara pipetlenmiştir. Kontrol grubundaki hücreler hücre kültür besiyeri ile muamele edilmiştir. Plakalar bir gece inkübatörde bekletilmiştir. İnkübasyondan sonra örnek ekstraktları kuyucuklardan atılmış, kuyucuklara % 10 MTT (5 mg/mL, PBS, pH:7,4 içerisinde) çözeltisi içeren taze besiyeri eklenmiştir. Plakalar 4 saat etüvde inkübe edilmiştir. Daha sonra kuyucuklardaki sıvı kısım uzaklaştırılmış ve herbir kuyucuğa 100 µL DMSO pipetlenmiştir. Kuyucuklardaki absorbans değeri 540 nm’de mikropate okuyucuda okunmuştur. Hidrojel uygulaması sonrasında hücre canlılığında meydana gelen değişimler % canlılık olarak ifade edilmiştir. Kontrol kuyucuklarından alınan absorbanslar % 100 canlı olarak kabul edilmiştir.

3.8. İlaç Yükleme

Yapılan çalışmada elde edilen hidrojellerin ilaç yükleme ve salım çalışmaları gerçekleştirilmeden önce farklı konsantrasyonlarda melatonin ve östrojen içeren çözeltiler hazırlanarak kalibrasyon çalışması yapılmıştır. Sonra hidrojeller belirli miktarlarda tartılarak diyaliz torbalarına yerleştirilmiştir. Bu jeller hazırlanan 5 mg/20 mL melatonin (etanol + PBS tamponu, pH:7,4 + saf su) ve 2 mg/20 mL (etanol + PBS tamponu, pH:7,4 + Tween 80) östrojen çözeltisine 37 °C’de yükleme için bırakılmıştır. 24 saat sonra yükleme işlemi için hazırlanan çözeltiden çıkarılan jeller saf su ile durulanarak salım çalışması için kullanılmıştır.

3.9. İlaç Salım Çalışması

İlaç yüklemesi yapıldıktan sonra melatonin içeren jeller 37 °C’de 20 mL kör çözelti içerisine bırakılmış ve salım için belirli zaman aralıklarında 1 mL numune çekilerek UV-Vis spektrofotometre ile çözücüye geçen melatonin absorbansları ölçülerek salım çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Her ölçümde çekilen numune yerine alınan hacimde taze hazırlanan kör çözelti eklenmiştir. Salım çalışması sonucunda ölçülen absorbanslardan yararlanarak ortamdaki melatonin miktarı belirlenmiş ve toplam salınan melatonin miktarı hesaplanmıştır. Aynı işlemler östrojen için tekrarlanarak toplam salınan östrojen miktarı hesaplanmıştır. (Liu vd., 2000; Xu vd., 2010). Melatonin ve östrojen salımları UV-Vis spektrofotometrede sırasıyla 278 nm ve 280 nm dalga boyunda okunarak belirlenmiştir (Salmaso vd., 2007; Yavaş vd., 2016).

3.10. En Uygun Hidrojel Seçimi

En uygun hidrojel yapısının saptanmasında hidrojelin, şişme oranı, enjekte edilebilirliği, biyouyumluluk oranı dikkate alınmıştır. Bu çalışmalar sonrası belirlenen hidrojel yapısının melatonin ve östrojen salım çalışmalarına ait sonuçlar değerlendirilerek, hayvan çalışmaları için en uygun hidrojelin β -SD-PEG-600-Ek olduğu belirlenmiştir. Belirlenen bu hidrojel yapısı Asherman sendromunun engellenmesindeki potansiyelinin araştırılması amacıyla gerçekleştirilen hayvan çalışmalarında kullanılmıştır.

3.11. Deney Hayvanı Çalışmaları

Deney hayvanı çalışmaları İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Merkezinde gerçekleştirilmiştir. Deney hayvanları üzerine gerçekleştirilen bütün çalışmalar İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurulundan alınan izin ile yürütülmüştür. Yapılan bu çalışma İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Etik Kurulu tarafından 2015/A-27 Protokol numarası ile onaylanmıştır.

3.11.1. Deney hayvanı

Deneysel modellemede 9 aylık (250-300 gram) yetişkin dişi Wistar Albino sıçanlar kullanılmıştır. Sıçanlar 22 °C sabit oda sıcaklığında 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık sikluslar şeklindeki ortamda tutulmuştur. Sıçanlar deney süreci boyunca kısıtlama olmaksızın standart sıçan yemi ve musluk suyu ile beslenmiştir.

3.11.2. Hayvan gruplarının oluşturulması

Tüm sıçanların menstrual siklusları vajinal smear alınarak senkronize edilmiştir. Deneysel çalışmada hayvanlar 6 gruba ayrılmış (her bir grup için n=8) ve gruplardaki hayvanlara şu işlemler uygulanmıştır.

Grup 1 - SHAM: Sham grubu: Sıçanın karın ön duvarı ve rahmi kesi yapılarak açılmış ancak Asherman modeli oluşturulmadan kapatılmıştır.

Grup 2 - ASH: Kontrol grubu: Grup 1'deki işlemlere ilave olarak Asherman modeli oluşturulmuştur.

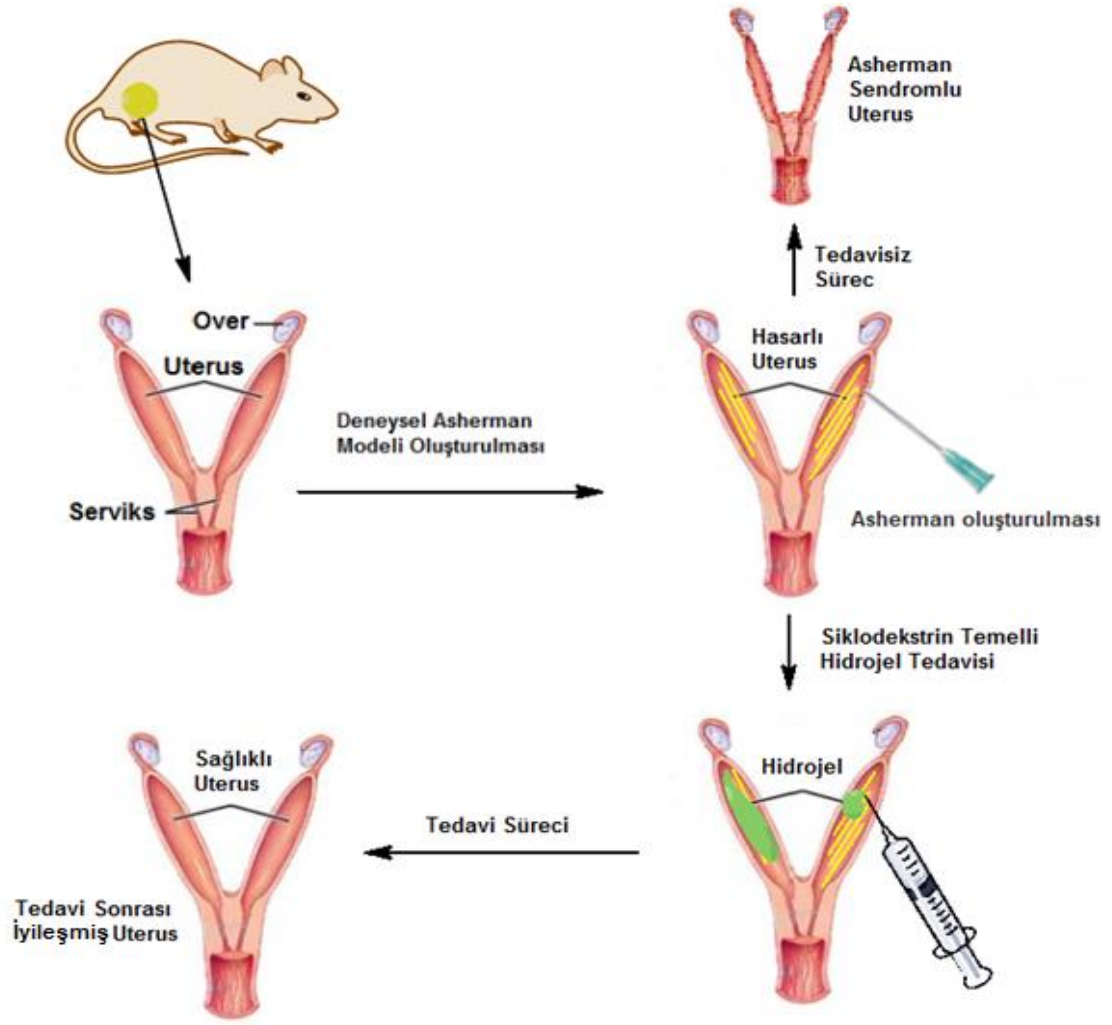
Grup 3 - ASH+HDJ: Hidrojel grubu: Grup 2'de ki işlemlere ek olarak hayvanların rahmi içerisine hidrojel enjekte edilmiştir.

Grup 4 - ASH+HDJ+MEL: Hidrojel + Melatonin grubu: Grup 2'de ki işlemlere ek olarak hayvanların rahmine melatonin yüklü hidrojel enjeksiyonu gerçekleştirilmiştir.

Grup 5 - ASH+HDJ+OST: Hidrojel + Östrojen grubu: Grup 2'de ki işlemlere ek olarak hayvanların rahmine östrojen yüklü hidrojel enjeksiyonu gerçekleştirilmiştir.

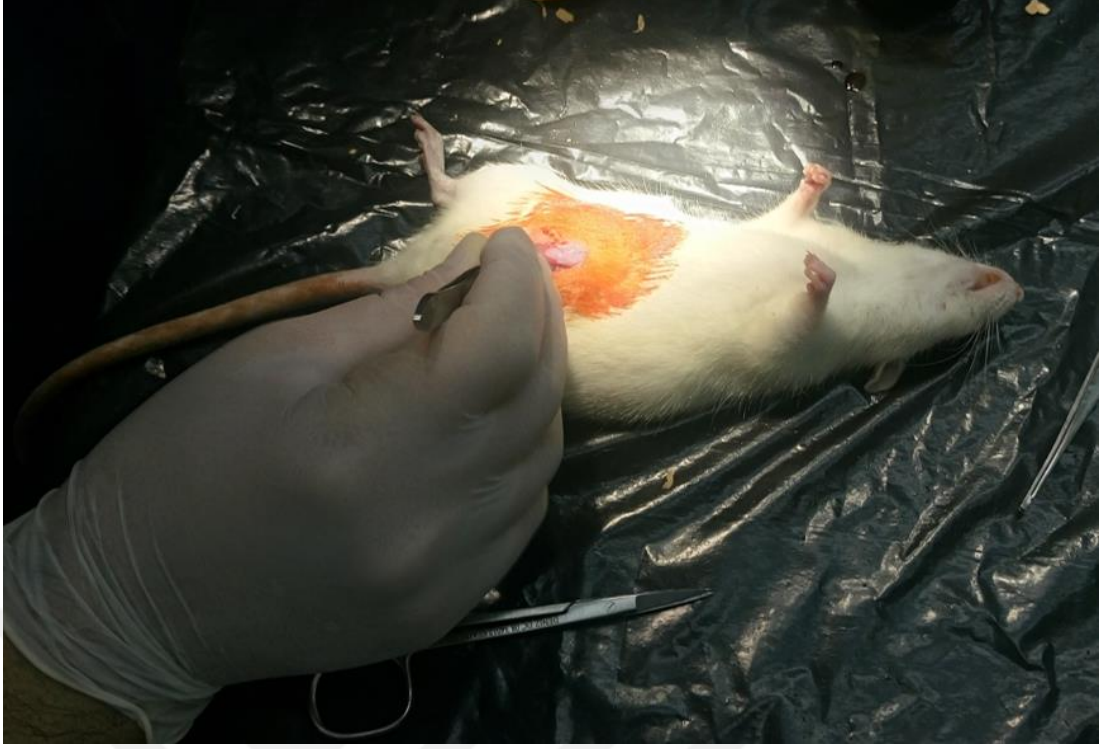
Grup 6 - ASH+HDJ+MEL+OST: Hidrojel + Östrojen + Melatonin grubu: Grup 2’de ki işlemlere ek olarak hayvanların rahmine melatonin+östrojen yüklü hidrojel enjeksiyonu gerçekleştirilmiştir.

Östrojen ve melatonin içeren hidrojeller günlük 0,1 mg/kg östrojen ve günlük 10 mg/kg melatonin olacak şekilde ayarlanmıştır. Sıçanlar ketamin anestezisi (50 mg/kg) altında, karın ön duvarı tıraşlandıktan sonra iyodofor solüsyonu ile boyanarak operasyona hazırlanmıştır. Sonrasında karın ön duvarına, orta hatta yaklaşık 40 mm uzunluğunda vertikal bir insizyon yapılarak rahmi görülmüştür. Asherman modelinin oluşturulması için sağ ve sol uterin hornlar ayrı ayrı serviksten fallop tüpüne kadar 18 gauge iğne ucu ile giriş yapıldıktan sonra yukarı aşağı çizilerek yara oluşturulması sağlanmıştır. Bu model sistemde rahim hornlarında yara oluşumu pilot çalışma ve histolojik bulgularla test edilmiştir. Çalışmada Grup 2’ye tedavi uygulanmamış, Grup 3, 4, 5 ve 6’ ya ise her bir horna yaklaşık 0,5 mL hidrojel (melatonin, östrojen ve melatonin+östrojen) uygulanarak tedavi edilmiştir (Şekil 3.3).



Şekil 3.3. Deneysel Asherman rat modelinin oluşturulması ve hidrojel tedavisinin şematik gösterimi

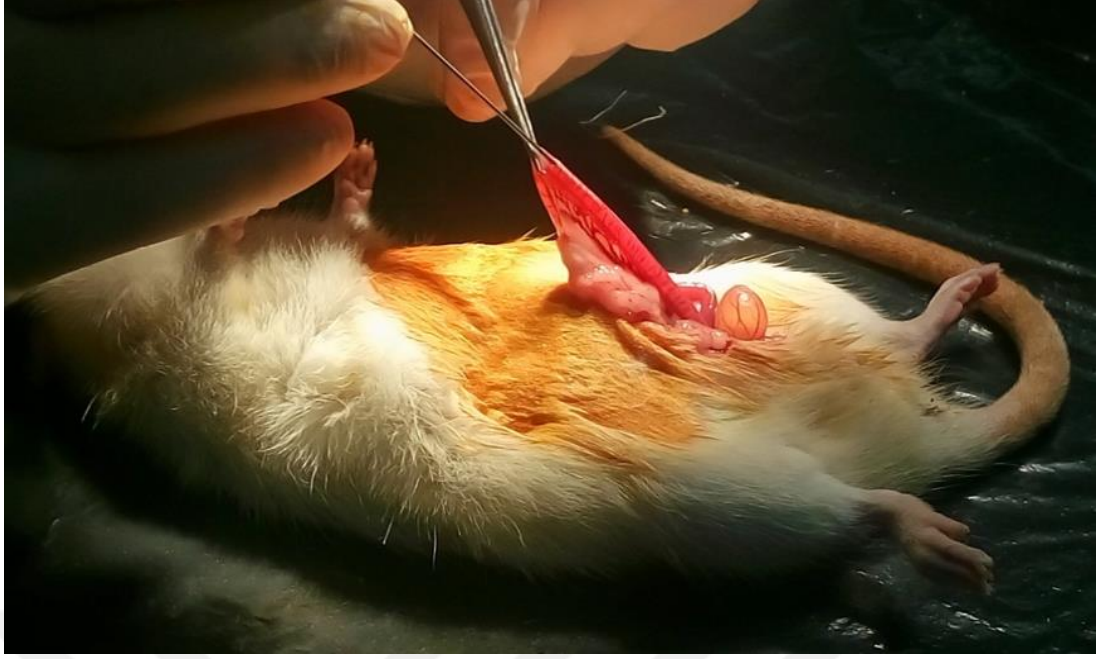
Hayvanlar deneysel modellemeden 14 gün sonra tekrardan sodyum pentobarbital (50 mg/kg, i.p.) ile anesteziye alınmış ve hayvanların dekapitasyonunun ardından uterin hornlar toplanmıştır. Toplanan dokulardan biyokimyasal ve histolojik incelemeler gerçekleştirilmiştir. Deney hayvanı çalışmalarına ait görseller Şekil 3.4-12’de gösterilmiştir.



Şekil 3.4. Ratların alt karın bölgesinin açılması



Şekil 3.5. Ratın rahim hornlarının tespiti



Şekil 3.6. Asherman oluşması için rahim hornlarının 18 gauge iğne ucu ile çizilmesi



Şekil 3.7. Asherman oluşması için uterus hornlarının 18 gauge iğne ucu ile çizilmesi



Şekil 3.8. Asherman oluşması için zedelenmiş uterus hornlarına hidrojel enjeksiyonu-1



Şekil 3.9. Asherman oluşması için zedelenmiş iki uterus hornuna hidrojel enjeksiyonu-2



Şekil 3.10. Operasyon sonrası uterus hornları yerleştirilmiş ratın karın alt batımının kapatılması



Şekil 3.11. 14 günlük uygulama sonrası Ratların karın alt batımlarının tekrardan açılması



Şekil 3.12. Uygulama sonrası Ratların uterus hornlarına ait görüntü

3.12. Histolojik Değerlendirme

Hayvanlardan alınan uterus horn doku örnekleri % 10'luk formaldehit ile fikse edildikten sonra rutin histolojik işlemlerden geçirilerek parafine gömülmüştür. Parafin bloklardan 5 mikron kalınlığında kesitler alınarak Hematoksilen-Eozin (H&E), Masson's Trikom, Periyodik Asit Schiff (PAS) boyama yöntemleri kullanılarak doku kesitleri boyanmış ve preparatlar mikroskopla incelenerek görüntü analiz sistemi ile fotoğraflanmıştır.

Uterus horna ait histopatolojik hasar parametreleri (epitel hasarı, epitel dökülmesi, konjesyon ve endometriyum kalınlığı) 0: yok, 1: hafif, 2: orta, 3: şiddetli olarak skorlanmış ve her preparatta rastgele seçilmiş 10 alan (x40 büyütmede) değerlendirilmiştir.

3.13. Dokudaki Oksidatif Stres Düzeyinin Değerlendirilmesi

Dokudaki oksidatif stres düzeyinin değerlendirilmesi için öncelikle dokular belli oranlarda PBS tamponu eklenerek homojenize ve sonifiye edilmiştir. Sonifiye işlemlerinin ardından santrifüj işlemleri uygulanmıştır. Böylece enzim aktiviteleri ve

protein tayinin yapılacağı süpernatant elde edilmiştir. Süpernatant örnekleri ölçüm işlemleri yapılınca kadar -40 °C de derin dondurucuda saklanmıştır. MPO (Miyeloperoksidaz) enzim aktiviteleri ve NO (nitrik oksit) düzeylerinin belirleneceği süpernatant elde edilmiştir. Ölçümler spektrofotometrik olarak yapılmıştır (Eşrefoğlu vd., 2014). MPO Hillegas et al. (Hillegas vd.,1990) kullandıkları yöntemle göre belirlenmiştir. (Theodoruz vd.,1981). NO düzeyleri Griess reaksiyonu kullanılarak, nitrat redüktaz ile NO 'in indirgenmesi ile oluşan nitrit ve nitrat düzeylerinin Cayman florometrik kitleri kullanılarak belirlenmiştir.

3.13.1. Lipit peroksidasyonunun (MDA) belirlenmesi

Serbest radikal saldırıları sonucu hücre membranında bulunan lipidlerin peroksidasyonu, son ürün olan malondialdehit (MDA) miktarı Beuge J.A yöntemine göre belirlenmiştir (Buege ve Aust, 1978).

3.13.2. Miyeloperoksidaz (MPO) aktivitesi ölçümü

Miyeloperoksidaz aktivitesine doku parçalanıncaya kadar homojenize yapılmıştır ve işlemin ardından 15.000 G'de +4 °C' de 15 dakika mikrosantrifüj aletiyle santrifüjlenmiştir. Peletler süpernatandan ayrılarak 500 µL HETAB çözeltisine eklenmiş ve daha sonra solüsyonlar sonifikatörde 15 saniye sonifiye edilerek derin dondurucuya donması için bırakılmıştır. Çözülen örneklerle aynı prosedürde tekrar sonifikasyon-dondurma-çözdürme işlemi uygulanarak son kez sonifiye edilmiştir. Sonrasında örnekler 15 dakika 15.000 g'de santrifüj edilerek süpernatantları alınmış ve 96'lık well plakelere 25 µL bu süpernatant ve 200 µL reaksiyon karışımı eklenerek 460 nm dalga boyunda Eliza Mikroplate Okuyucu ile okuma yapılmıştır. MPO aktivite sonuçları U/g yaş doku olarak verilmiştir.

3.13.3. NO ölçümü

NO canlı organizmada katıldığı reaksiyonlar ile nitrit (NO^{2-}) ve nitrat (NO^{3-}) son ürünlerini oluşturmaktadır. Bu iki son ürünün oranları değişkendir. Bu nedenle total NO (tNO) üretiminin en iyi göstergesi NO^{2-} ve NO^{3-} 'ün birlikte ölçülmesidir. Çalışmamızda uterus dokusundaki tNO düzeyleri, Griess reaksiyonu kullanılarak,

nitrat redüktaz ile NO'in indirgenmesi ile oluşan nitrit (NO²⁻) ve nitrat (NO³⁻) düzeylerinin Cayman kolorimetrik kitleri kullanılarak belirlenmiştir.

3.14. İstatistiksel Analiz

Histolojik skorelama verileri medyan, minimum ve maksimum değerler ile gösterilmiştir. Karşılaştırmada Kruskal-Wallis testi ve sonrasında Conover ikili karşılaştırma yöntemi kullanılmıştır. Sayısal veriler ortalama ve standart sapma ile özetlenmiş ve karşılaştırmada tek yönlü varyans analizi kullanılmıştır. Tüm testlerde anlamlılık düzeyi $p < 0.05$ olarak kabul edilmiştir.

Biyokimyasal veriler ortalama $\pm$ standart hata olarak verilmiştir. Verilerin gösterimi ve istatistiksel hesaplamada GraphPad 7 programı kullanılmıştır. Gruplar arası farklılığın belirlenmesinde One Way Anova testi kullanılmıştır. İstatistiksel olarak $p < 0.05$ değeri anlamlı kabul edilmiştir.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

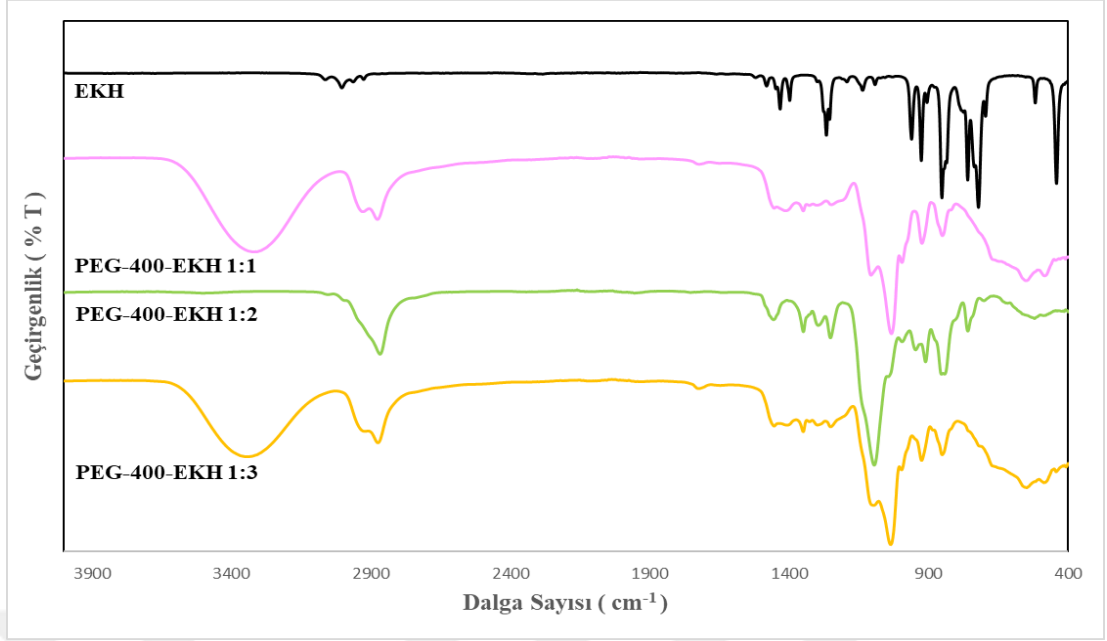
Gerçekleştirilen bu çalışmada biyouyumlu, enjekte edilebilir, ilaç salımı yapabilen siklodekstrin temelli hidrojel rahim içi yapışıklıkların giderilmesi amacı ile sentezlenmiştir. Literatürde siklodekstrin temelli hidrojel ile ilgili sadece bir adet çalışma olup, bu çalışmadaki amaç, rahim ağzı enfeksiyonunun gideriminde hidroksipropil- γ -siklodekstrin hidrojellerin kullanımıdır (Zhou vd., 2013). Siklodekstrin temelli hidrojellerin kullanılarak Asherman sendromunun önlenmesi veya tedavi edilmesini amaçlayan herhangi bir çalışmaya rastlanmamıştır. Mevcut literatürde Asherman sendromunu gidermek için hidrojel ile yapılan sadece iki adet çalışma bulunmaktadır (Lin vd., 2013; Fuchs vd., 2014). Bunlardan bir tanesinde hiyaluronik asit temelli hidrojel yapıları kullanılmış (Lin vd., 2013), diğerinde ise hazır sprey jel kitler kullanılarak yapışıklık giderilmeye çalışılmıştır (Fuchs vd., 2014). Fakat uterus hasarını ve beraberinde Asherman sendromunu önlemek amacıyla ilaç yüklü siklodekstrin temelli hidrojel literatürde mevcut değildir. Bu hidrojellerin uterus hasarını gidermek, uterus içi yapışıklığı önlemek amacıyla östrojen, hasar sonucu uterusda oluşan oksidatif stresi gidermek amacı ile melatonin içermesi önemli bir avantaj sunabilir. Çalışma sonuçlarına göre, sentezi gerçekleştirilen hidrojel hem yapısal ve mekanik olarak uterus içerisinde yapışmayı önlemiş hem de taşıdığı östrojen ve melatonin ile iyileştirici bir etki göstermiştir. Hazırlanmış olan hidrojellerin yapı taşları içerisinde doğal antioksidanların kullanılması da literatür açısından bir ilk niteliği taşımaktadır.

Bu çalışmada hidrojellerin yapısı tasarlanırken hidrofilikliğe katkı sağlamak amacı ile polar, lineer ve suda çözünürlüğü bulunan yapılar monomer olarak tercih edildi. Sentezlerde konuk-ev sahibi etkileşimi ile melatonin taşıyıcı özelliği güçlendirmek ve çoklu bağlanma ile ağ yapısı oluşturmak için siklodekstrinler kullanılmıştır. Bozunma sonrasında biyouyumlu ve doku uyumunun olması nedeniyle ve hidrojel mekanik bariyer özelliğini artırmak için polifenoller yapıya dahil edilmiştir. Biyouyumlu, vücut içinde güvenle kullanılabilme olanağı sağlamak için farklı molekül kütlelerinde PEG yapıları kullanılmıştır. Hidrojel yapısının vücut içi esnekliğe katkı sağlaması için çapraz bağlanma oranı ve polifenol miktarı düşük tutulmuştur. Rahim içi uygulamalarda rahatlıkla kullanılabilmesi amacıyla uygulandığı yapıda yabancı cisim ve tıkanıklık hissi oluşturmaması için yüksek oranda şişen jellere nispeten daha düşük oranda şişebilen yapılar tercih edilmiştir.

Çalışmada deneysel olarak öncelikle hidrojellerin sentezine yönelik çalışmalar gerçekleştirilmiştir. İstenilen özelliklerde hidrojellerin hazırlanabilmesi için ön denemeler yapılmıştır. Bu ön denemelerde monomer oranı, hidrojel yapısı, şişebilirlik oranı ve kararlılık gibi parametreler göz önüne alınmıştır. Hidrojel sentez yöntemi netleştirilmiştir. Belirlenen bu yöntemle α , β ve γ siklodekstrin gruplarının bağlayıcı olarak bulunduğu 75 farklı hidrojel sentezlendi ve sentezlenen hidrojellerin detaylı karakterizasyonları gerçekleştirilmiştir. İkinci olarak sentezlenen hidrojellerin şişme, enjekte edilebilirlik ve *in vitro* biyouyumluluk deneyleri gerçekleştirilmiştir. Son olarak ise hidrojellerin uygun yapı ve özellikte olan 9 tanesi seçilerek melatonin ve östrojen salım özellikleri incelenmiş ve elde edilen sonuçlara göre en iyi özellikteki hidrojel yapısı seçilmiştir. Seçilen bu hidrojel hayvan çalışmalarında kullanılmış ve bu hidrojinin Asherman sendromunu önleme potansiyeli, biyokimyasal ve histolojik analizler ile belirlenmiştir.

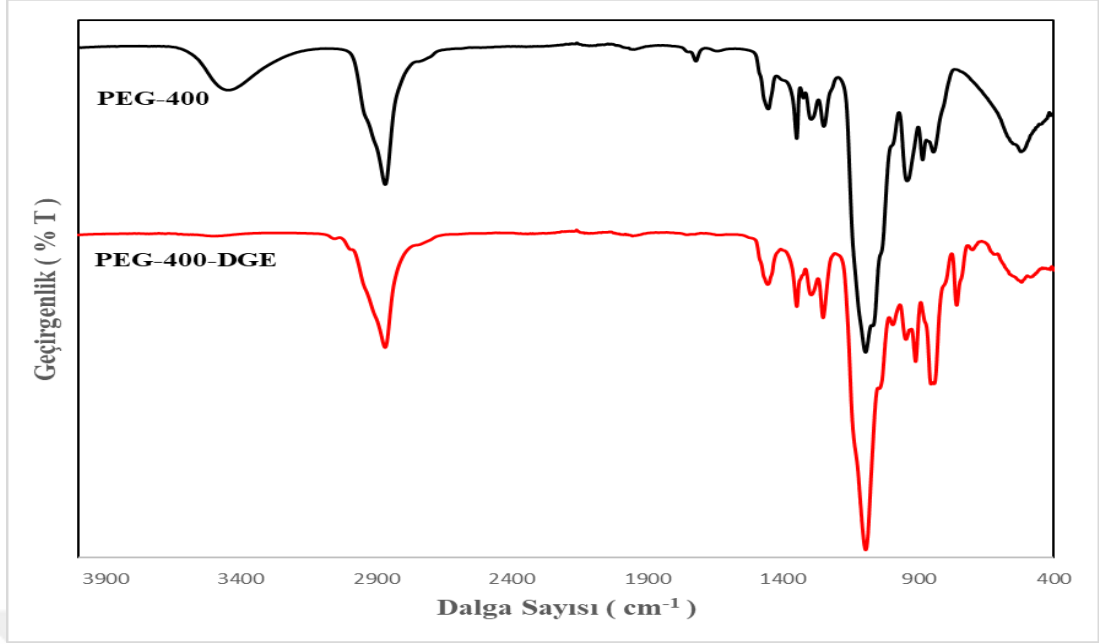
4.1. Poli(etilen glikol) diglisidil eter Yapısının Elde Edilmesi

Çalışmanın temel amacının gerçekleştirilmesi için sentez yöntemi olarak öncelikle PEG grupları epiklorhidrin ile polietilen glikol diglisidil eter yapısına dönüştürülmüştür. Bu reaksiyon sırasında PEG 400 ve epiklorhidrin (EKH) 1:1, 1:2 ve 1:3 oranlarında üç farklı oranda çalışılmıştır. Bu reaksiyonlara ilişkin FTIR spektrumları Şekil 4.1’de verilmiştir.



Şekil 4.1. PEG ve epiklorhidrin 1:1, 1:2 ve 1:3 oranlarında üç farklı olacak şekilde elde edilen epoksi fonksiyonel PEG yapılarına ait FTIR spektrumları

Bu spektrum incelendiğinde 1:1 oranında sentezlenen üründe PEG gruplarının hidroksil pikleri görülmektedir. Bu yeterli bir bağlanma olmadığını göstermektedir. 3:1 oranında yine hidroksil grupları bulunmaktadır. Bu durum hidroksiller ile epoksit halkasının açılmasından kaynaklanır. Bu durum çalışmanın ileri reaksiyonları açısından istenmemektedir. 2:1 oranında gerçekleştirilen çalışmada ise sonuç üründe PEG 400 yapısına ait hidroksil grupları azalmıştır. Bu durum bu gruplara epiklorhidrinin bağlandığını açıklamaktadır. Ayrıca Elemental analizi yapılan poli(etilen glikol) diglisidil eter yapılarında temel bileşenlerin C, H ve O bulundurması nedeni ile farklı bir element ve safsızlık içermediğinin kontrolü gerçekleştirilmiştir. Bu analizlerde S ve N gibi elemental safsızlıklar görülmemiştir. Elde edilen epoksi fonksiyonel PEG-400 (PEG-400-DGE) yapısının FTIR spektrumu PEG 400 ile birlikte karşılaştırılması amacıyla Şekil 4.2’de verilmiştir.

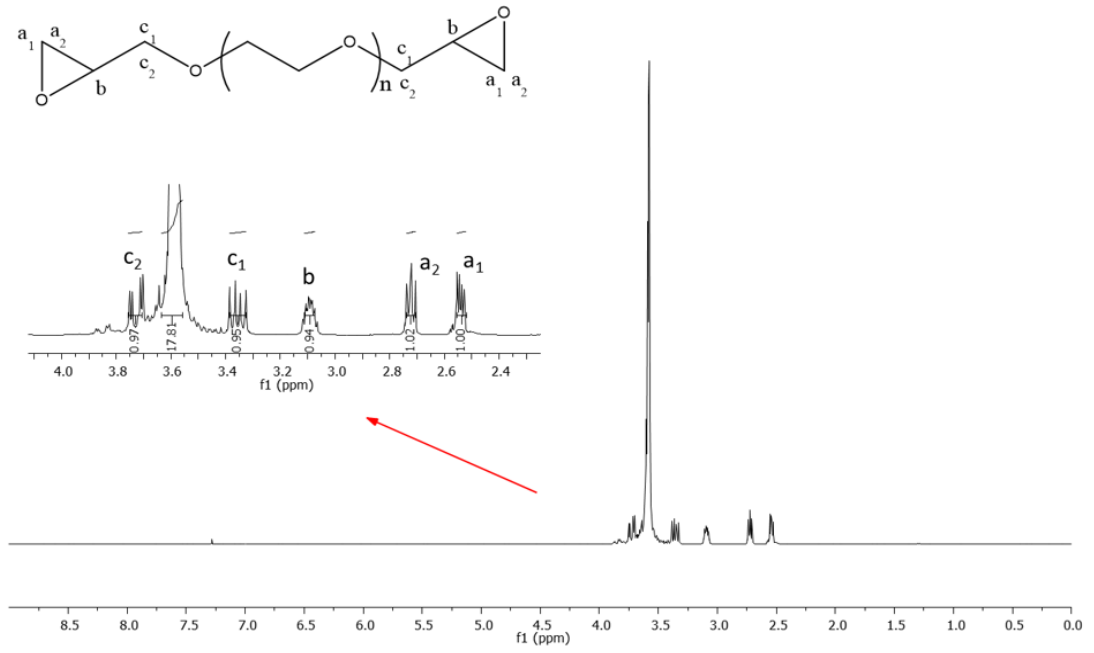


Şekil 4.2. PEG 400 ve PEG 400 diglisidil eter yapılarına ait FTIR spektrumları

Spektrumlara göre PEG 400 yapısında bulunmayan karakteristik epoksit pikleri 910 cm^{-1} 'de asimetrik halka eğilmesi ve 759 cm^{-1} 'de C-H eğilmesi PEG-400-DGE yapısında görülmektedir. Ayrıca 1252 cm^{-1} simetrik halka gerilmesi, 2997 cm^{-1} C-H gerilmesi, 3052 cm^{-1} CH_2 gerilmesi de bu yapıya ait olan epoksit pikleridir (Erdik, 2008). Bu pikler epiklorhidrinin bağlandığını açıklamaktadır ve epoksi halkasının kapalı olduğunu ispatlamaktadır. Ayrıca PEG-400 yapısında bulunan 3436 cm^{-1} 'deki geniş hidroksil piki epoksi fonksiyonel PEG yapısına dönüştükten sonra kaybolmuştur. Bu da halkanın kapalı olduğunun diğer ispatıdır.

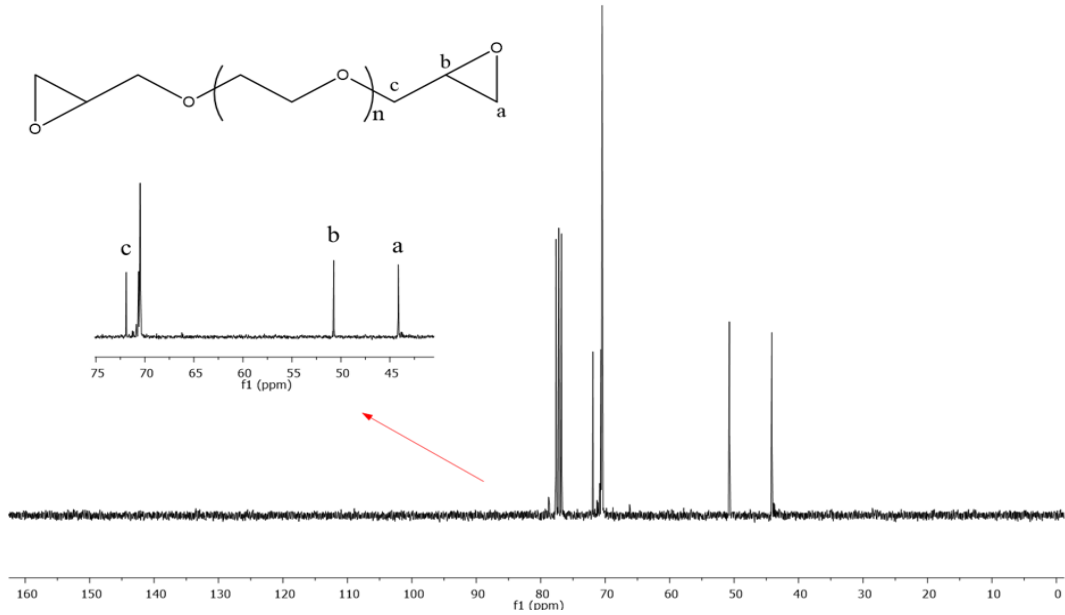
Çalışmada tüm PEG türleri için NMR spektrumları alınmasına rağmen en düşük ve en yüksek molekül kütleli epoksi fonksiyonel PEG yapılarının ^1H NMR ve ^{13}C NMR spektrumları verilmiştir (Şekil 4.3-Şekil 4.4, Şekil 4.6-Şekil 4.7).

^1H NMR spektrumlarına göre poli(etilen glikol) diglisidil eter yapısındaki metilen ve metin gibi gruplar benzer kimyasal kaymalar göstermektedir. $3,70\text{--}3,75$ (m, 2H) ve $3,33\text{--}3,39$ (m, 2H) ppm'deki karakteristik piklerin metilen hidrojenine ait olduğu (C_1 ve C_2) düşünülmektedir. $3,06\text{--}3,12$ (m, 2H) ppm'deki pikler metin hidrojenine ait sinyali (b) göstermektedir. $2,71\text{--}2,75$ (t, 2H) ve $2,53\text{--}2,57$ (m, 2H) ppm'deki pikler ise metilen hidrojeninden (a_1 ve a_2) kaynaklanmaktadır (Şekil 4.3) (Liu vd., 2011). Bu sonuçlar epiklorhidrinin PEG zincirinin her iki ucuna kimyasal olarak bağlandığını doğrulamaktadır.



Şekil 4.3. PEG 400 diglisidil eter yapısına ait ^1H NMR spektrumları

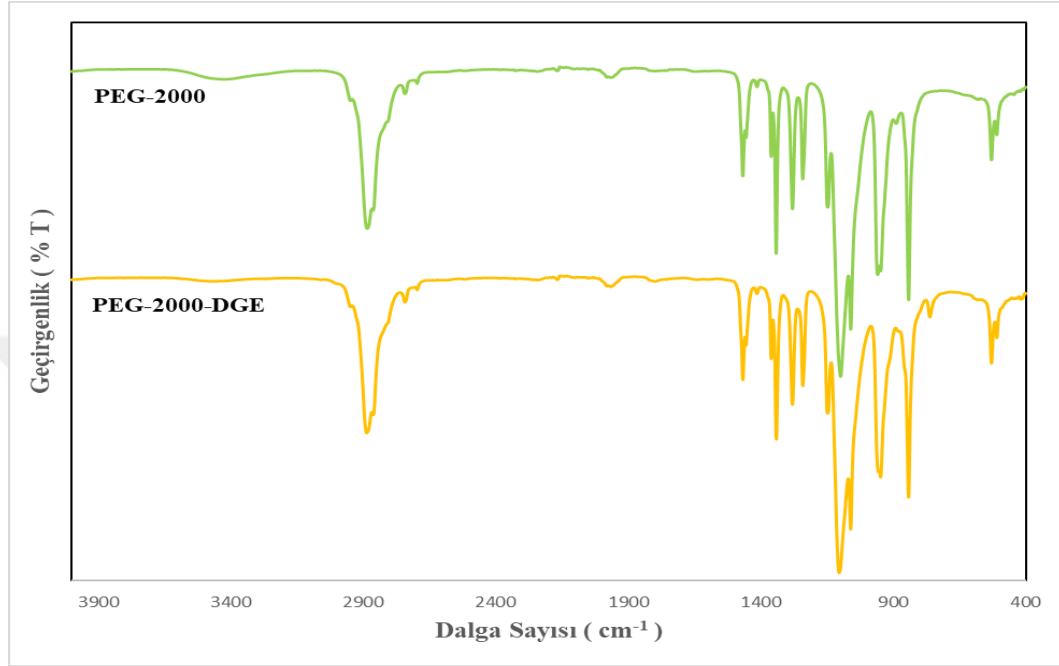
^{13}C NMR spektrumlarında, poli(etilen glikol) diglisidil eter yapısında bulunan karakteristik pikler gözlenmektedir. Örneğin, PEG'in epiklorhidrin bağlandıktan sonra ^{13}C NMR spektrumunda 44.15 ppm'de (a) ve 50.73 ppm'de (b) epoksi halkasında bulunan C'lara ait olan yeni karakteristik piklerin varlığı görülmektedir (Şekil 4.4) (Zhang vd., 2014; Teng vd., 2017).



Şekil 4.4. PEG 400 diglisidil eter yapısına ait ^{13}C NMR spektrumları

NMR spektrumlarında elde edilen sonuçlar literatür ile uyum içerisinde olup bu sonuçlar EA ile desteklenmiştir.

Elde edilen epoksi fonksiyonel PEG-2000 (PEG-2000-DGE) yapısının FTIR spektrumu PEG 2000 ile karşılaştırılması amacıyla Şekil 4.5’de verilmiştir.

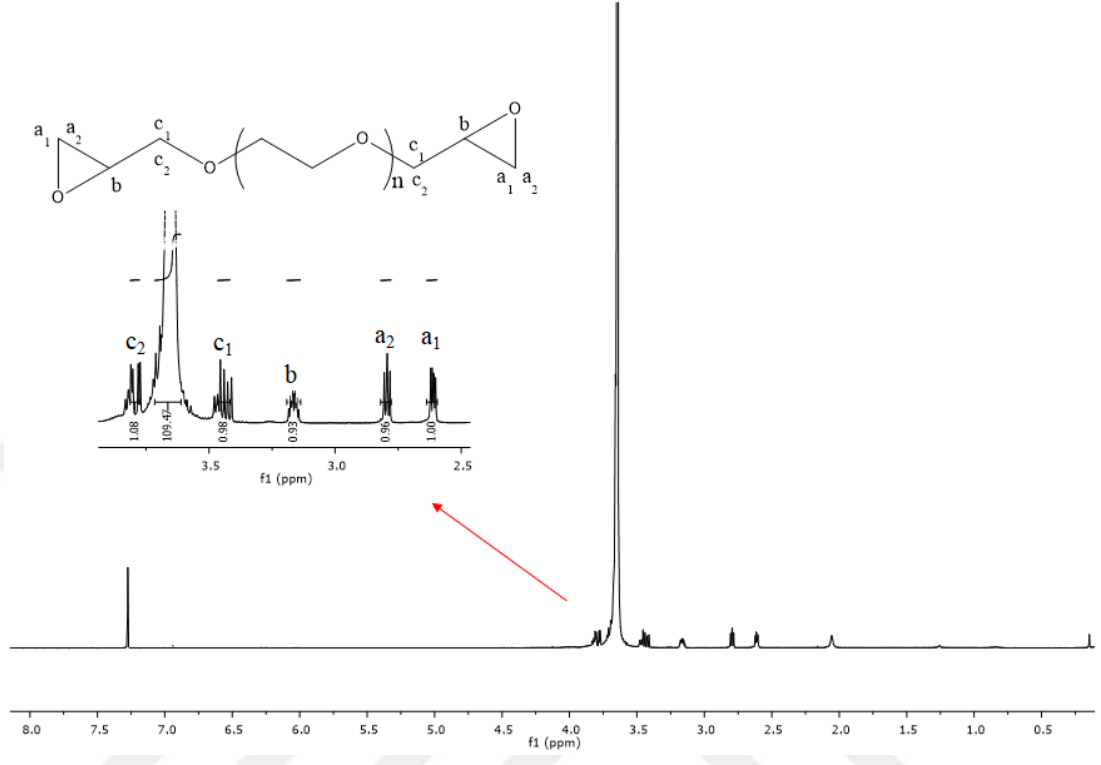


Şekil 4.5. PEG 2000 ve PEG 2000 diglisidil eter yapılarına ait FTIR spektrumları

Şekilde görülen FTIR spektrumlarında karakteristik epoksit pikleri 947 cm^{-1} ’de asimetrik halka eğilmesi ve 762 cm^{-1} ’de C-H eğilmesi PEG-2000-DGE yapısında görülmektedir. Ayrıca 1241 cm^{-1} simetrik halka gerilmesi, 2932 cm^{-1} C-H gerilmesi, 3000 cm^{-1} CH_2 gerilmesi de bu yapıya ait olan epoksit pikleridir (Erdik, 2008). Bu pikler epiklorhidrinin bağlandığını açıklamaktadır ve epoksi halkasının kapalı olduğunu ispatlamaktadır. Ayrıca PEG-2000 yapısında bulunan 3419 cm^{-1} ’deki geniş hidroksil piki epoksi fonksiyonel PEG yapısına dönüştükten sonra kaybolmuştur. Bu da halkanın kapalı olduğunun diğer ispatıdır.

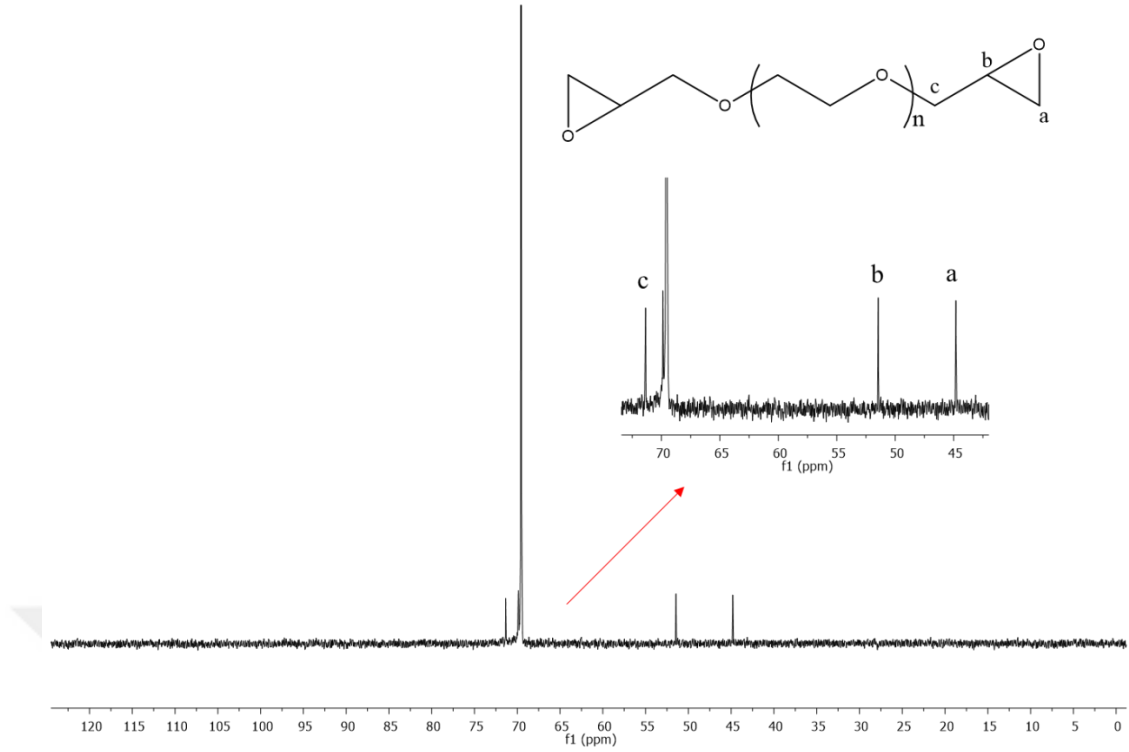
^1H NMR spektrumlarına göre poli(etilen glikol) diglisidil eter yapısındaki metilen ve metin gibi gruplar benzer kimyasal kaymalar göstermektedir. $3,76\text{--}3,82\text{ (m, 2H)}$ ve $3,39\text{--}3,46\text{ (m, 2H)}$ ppm’deki karakteristik piklerin metilen hidrojenine ait olduğu (c_1 ve c_2) düşünülmektedir. $3,13\text{--}3,18\text{ (m, 2H)}$ ppm’deki pikler metin hidrojenine ait sinyali (b) göstermektedir. $2,78\text{--}2,81\text{ (t, 2H)}$ ve $2,60\text{--}2,62\text{ (m, 2H)}$ ppm’deki pikler ise metilen hidrojeninden (a_1 ve a_2) kaynaklanmaktadır (Şekil 4.6).

Bu sonuçlar epiklorhidrinin PEG zincirinin her iki ucuna kimyasal olarak bağlandığını doğrulamaktadır.



Şekil 4.6. PEG 2000 diglisidil eter yapısına ait ¹H NMR spektrumları

¹³C NMR spektrumlarında, poli(etilen glikol) diglisidil eter yapısında bulunan karakteristik pikler gözlenmektedir. Örneğin, PEG'in epiklorhidrin bağlandıktan sonra ¹³C NMR spektrumunda 44.81 ppm'de (a) ve 51.45 ppm'de (b) epoksi halkasında bulunan C'lara ait olan yeni karakteristik piklerin varlığı görülmektedir (Şekil 4.7).



Şekil 4.7. PEG 2000 diglisidil eter yapısına ait ^{13}C NMR spektrumları

NMR spektrumlarında elde edilen sonuçlar literatür ile uyum içerisinde olup bu sonuçlar EA ile desteklenmiştir.

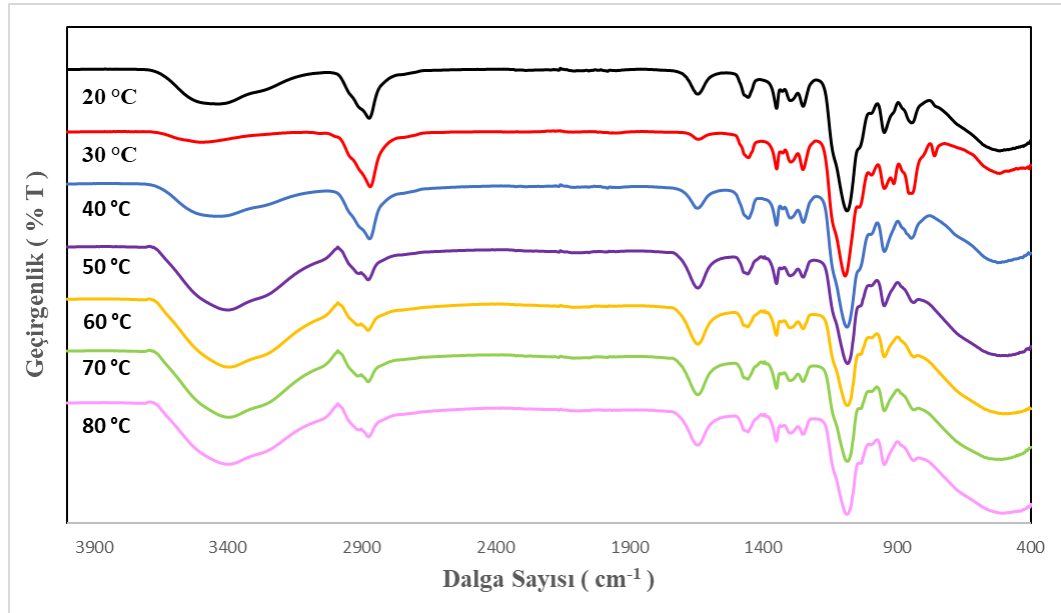
Epiklorhidrin:PEG oranı 2:1 olacak şekilde epoksi fonksiyonel PEG grupları elde edilmiş ve beş farklı PEG yapısı için de tekrarlanarak poli(etilen glikol) diglisidil eter yapıları elde edilmiştir. Bu şekilde epoksi bulunduran PEG yapıları sayesinde daha düşük sıcaklıklarda hidrojel yapısı oluşturulmuş ve hidrojel yapısına girmesi istenen polifenoller bozunmadan kovalent bağlar ile bağlanmıştır. Siklodekstrin temelli hidrojellerin sentezinde doğal polifenol bileşiklerinden olan KA, GA, Ek, Kuar ve Kur gibi gruplar taşıdıkları hidroksit grupları sayesinde monomer olarak kullanılmış ve hidrojel yapıları çeşitlendirilmiştir.

4.2. Hidrojel Sentezi için Monomer Oranlarının Tespiti ve Hidrojel Sentez Sıcaklığının Optimizasyonu

Çalışmada öncelikle monomer oranları ve sentez sıcaklığının optimizasyonu gerçekleştirilmiştir. Bu şekilde siklodekstrin yapısında bulunan hidroksil grupları ile yeterli epoksi ünitesinin reaksiyona girmesi sağlanmıştır. Eğer fazlaca epoksi grubu

bulunursa hidrojelın çapraz bağlanma oranı aşıırı miktarda artar ve sert yapıılı ağ örgülü ürünler elde edilir. Bu yapılar biyomedikal uygulamalarda vct esnekliğinden daha fazla sert olduğu için rahatsız edici olabilmektedir. Bu nedenle yarı sert ve yarı esnek olan yapılar elde edilmeye çalışılmıştır. Böylece vct esnekliğine yakın esneklikte ürün elde edilebilmesi için monomer oranları değiştirilmiştir. Siklodekstrin, polifenol ve poli(etilen glikol) oranları molar olarak 98/1/1, 96/3/1, 94/5/1, 96/1/3, 94/1/5, 96/2/2 ve 90/4/6 gibi oranlarda çalışılmıştır. Sonc olarak elde edilen yapıların esnekliklerine göre PEG/SD/PF: 90/4/6 oranları optimum olarak tercih edilmiştir.

İkinci bir ön deneme olarak sıcaklığın hidrojel sentezi üzerine etkisi çalışılmıştır ve seri sentezlere geçilmeden önce reaksiyon sıcaklığı optimize edilmiştir. 20, 30, 40, 50, 60, 70 ve 80  C sıcaklıklarda tekrarlanan sentezlere ait FTIR spektrumları Şekil 4.8’de gösterilmiştir. Yapılan çalışmada olabildiğince düşük sıcaklıklarda hidrojel sentezi sağlanmaya çalışılmıştır. Bu denemeler sırasında optimum sentez sıcaklığı olarak 60  C tercih edilmiştir. Olumsuz deneylerde katı ya da katıya yakın ürünler elde edilmiş ya da hiç bağlanma olmamıştır. Optimizasyondaki temel hedef yarı esnek hidrojel yapıılı ürünlerin oluşmasıdır. Reaksiyon sonrasında bu tür jel yapıılı ürünün elde edildiği en düşük sıcaklık ve monomer oranı optimum olarak tercih edilmiş ve karakterize edilmiştir.



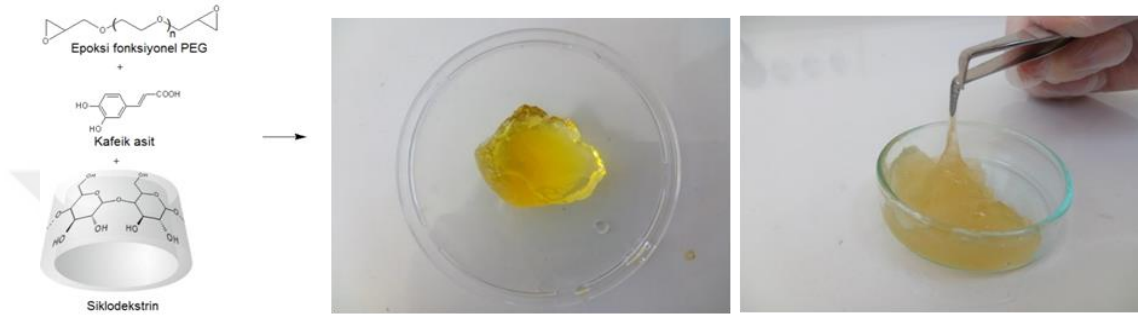
Şekil 4.8. Farklı sıcaklıklarda elde edilen hidrojel yapılarına ait FTIR spektrumları

4.3. α , β ve γ -Siklodekstrin Temelli Hidrojel Yapılarının Sentezi

Çalışmanın en önemli aşamalarından bir tanesi planlanan hidrojel yapılarının istenildiği yapıda sentezlendiğinin kontrol edilmesidir. Öncelikle genel yapı ve görünümünün jel yapısında olduğu görülmüştür (Şekil 4.9). Sentezlenen hidrojeller esnek, homojen görünümlü, renkli ve hızlıca şişebilen yapıda elde edilmiştir. Temel monomerik üniteler olan PEG ve siklodekstrin renksiz ve beyaz yapılardır ve hidrojellerin renkli yapıları taşıdıkları polifenollerden kaynaklanmaktadır. Şişme ve salım çalışmaları sırasında renklerini kaybetmezler. Bu sonuç, polifenollerin yapıya kovalent bağlar ile bağlandığını göstermektedir. Sadece PEG ve siklodekstrin kullanılarak hazırlanan hidrojel yapıları Kuramsal Temeller’de yer alan Şekil 2.1’de gösterilen açık sarı renkli ya da beyazımsı jellerdir.

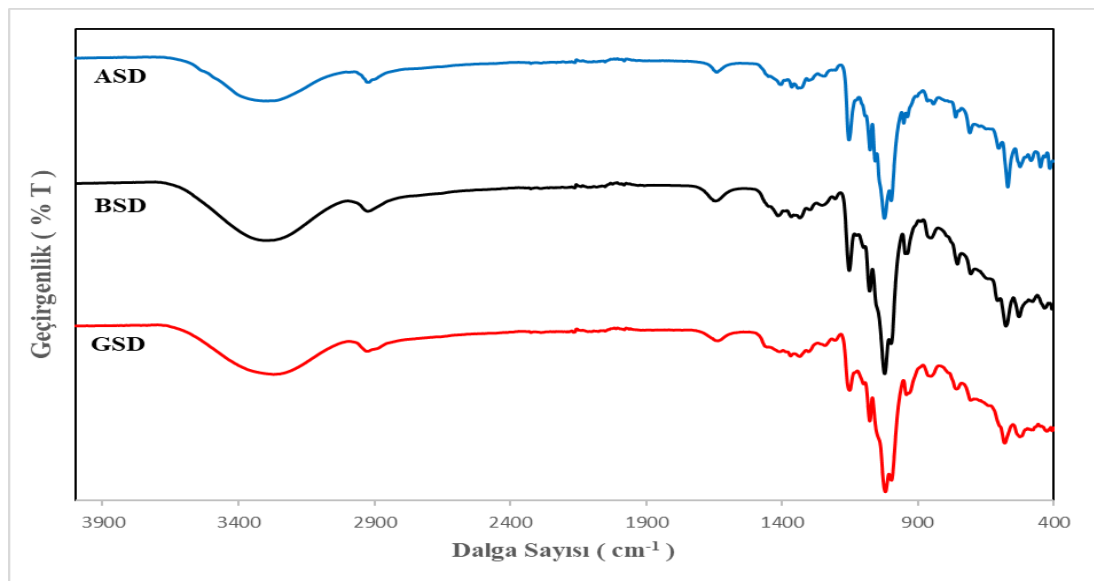
Bu aşamada hidrojel yapılarının PEG, siklodekstrin ve polifenollerini içerdiği belirlenmiştir. Siklodekstrin temelli hidrojellerin sentezinde doğal polifenol bileşiklerinden olan KA, GA, Ek, Kuar ve Kur gibi yapılar taşıdıkları hidroksil grupları sayesinde monomer olarak kullanılmış ve hidrojel yapıları çeşitlendirilmiştir. Hidrojel yapılarının diğer önemli bileşeni PEG yapısıdır. PEG grupları günümüzde pek çok biyomedikal uygulamada ve ilaç tasarımı yaygın olarak kullanılmaktadır. Biyolojik olarak güvenilirliği ve biyoyumluluğu yüksektir. Bu nedenle hem hidrojellerin yapısal esnekliğinin sağlanmasında hem de biyoyumluluğunun artırılması için sentezlerde PEG oranı yüksek tutulmuştur. Genel olarak öncelikle hidrojel yapıları FTIR spektrumları ile kontrol edilmiştir. Bu analizlerde, öncelikle polimerizasyon takibi sırasında epoksi halkasının reaksiyona girmesi sorgulanmıştır. Tüm İnfrared spektrumları incelendiğinde $950-810\text{ cm}^{-1}$ ’deki epoksi halkası eğilme titreşimi ve $840-750\text{ cm}^{-1}$ ’deki epoksi halkası C-H gerilme titreşimlerinin kaybolduğu görülmektedir (Erdik, 2007). Bu bulgu epoksi halkasının açılarak istenilen hidrojel yapısının elde edildiğini bize ispatlamaktadır. Elde edilen yapıların FTIR karakterizasyonuna ait diğer bir önemli bulgu ise yapıda siklodekstrin gruplarından kaynaklı piklerin bulunmasıdır. Siklodekstrin yapısından kaynaklanan glikoz ünitelerine ait pikler alifatik C-H omuz piki $\sim 2950\text{ cm}^{-1}$ ’de, serbest -OH piki $\sim 1650\text{ cm}^{-1}$ ’de, alifatik C-H gerilme piki $\sim 1465\text{ cm}^{-1}$ ’de ve C-O-C piki ise yaklaşık olarak 1415 cm^{-1} ’de görülmektedir. Çalışmada sentezlenen hidrojellerde, hidrojel yapısının büyük bir kısmı PEG ünitelerinden oluşmaktadır. Sentez sırasında kullanılan PEG oranı % 90 civarındadır ve bu nedenle FTIR spektrumlarındaki değişim çok net olarak

görünmemektedir. Ancak sentez sonrasında ortaya çıkan ürünün şişebilen ve elastiki yapısı hidrojel oluştuğunu ispatlamaktadır. Yapısal olarak hidrojel yapılarının büyük bir kısmını PEG yapısı oluşturduğu için hidrojellerin spektrumlarında genel olarak -CH₂-CH₂-O-CH₂- dizisine ait pikler görülmektedir. Özellikle 2850-2950 cm⁻¹'deki pik alifatik -CH₂- gruplarındaki C-H gerilme titreşimidir. 1270 cm⁻¹ civarındaki pik C-O-C eterik gerilme titreşimini vermektedir. C-C piki alifatik karakterli olarak görülmektedir.



Şekil 4.9. Yapılan çalışmada kullanılan temel reaksiyon ve jellerin genel görünümü

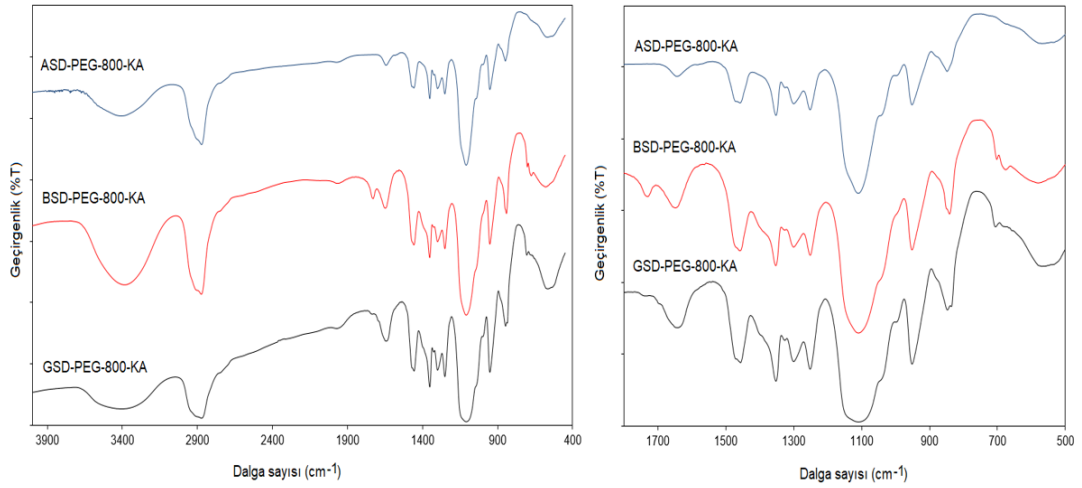
Şekil 4.10'da saf siklodekstrin yapılarının kıyaslamalı olarak FTIR-ATR spektrumları verilmiştir. Genel olarak hidrojel yapıları esnek ve yapışkan karakterli olduğu için FTIR analizleri ATR ekipman ile yapılmıştır ve yapısal karakterizasyon bölümlerinde bu sonuçlar verilmiştir.



Şekil 4.10. Saf α , β ve γ -siklodekstrin yapılarının FTIR spektrumları

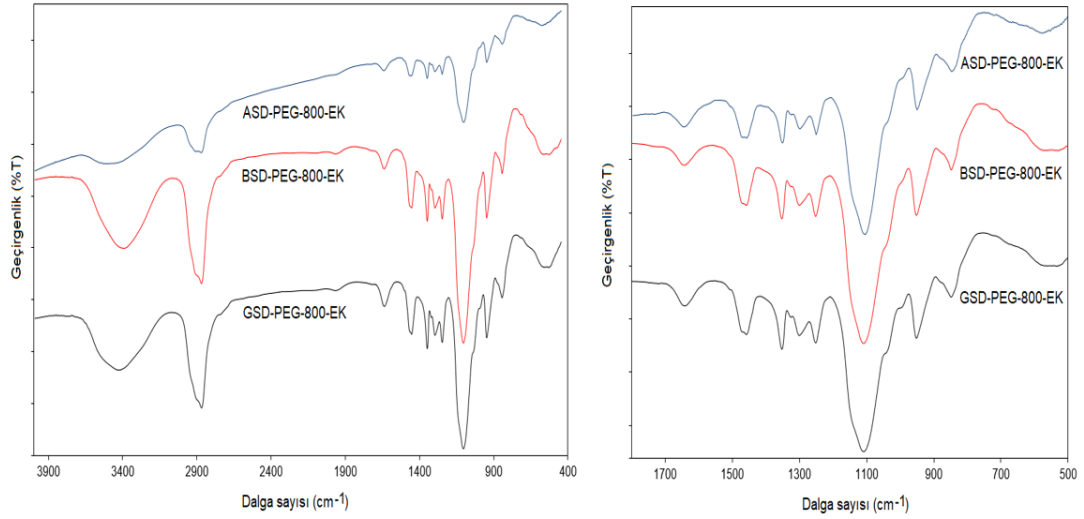
Ancak daha detaylı yorumlama yapmak için α , β ve γ -siklodekstrin temelli KA, Ek ve Kur içeren hidrojel yapılarının KBr ile peletleri hazırlandı ve FTIR spektrumları alındı. KBr ile yapılan analizler kıyaslamalı olarak Şekil 4.11, Şekil 4.12 ve Şekil 4.13’de verilmiştir.

Hidrojellerin PEG, polifenol ve siklodekstrin içerdiğini göstermek amacı ile model olarak verilen FTIR-KBr spektrumları incelendiğinde; spektrumlarındaki farklılıklar yapıya bağlanan polifenol türüne göre $800\text{-}1000\text{ cm}^{-1}$ ’de görülmektedir. Farklı olarak 1681 cm^{-1} , 1505 cm^{-1} ve 825 cm^{-1} ’de sırası ile C=O, C=C ve C–H aromatik gerilme titreşimleri görülmektedir. Bu pikler yapıdaki KA gruplarını ispatlamaktadır (Şekil 4.11). KA yapısındaki aromatik fenil grubundan kaynaklı aromatik düzlem dışı C-H gerilme titreşimi zayıf bir titreşim olarak 825 cm^{-1} ’de görülmektedir.



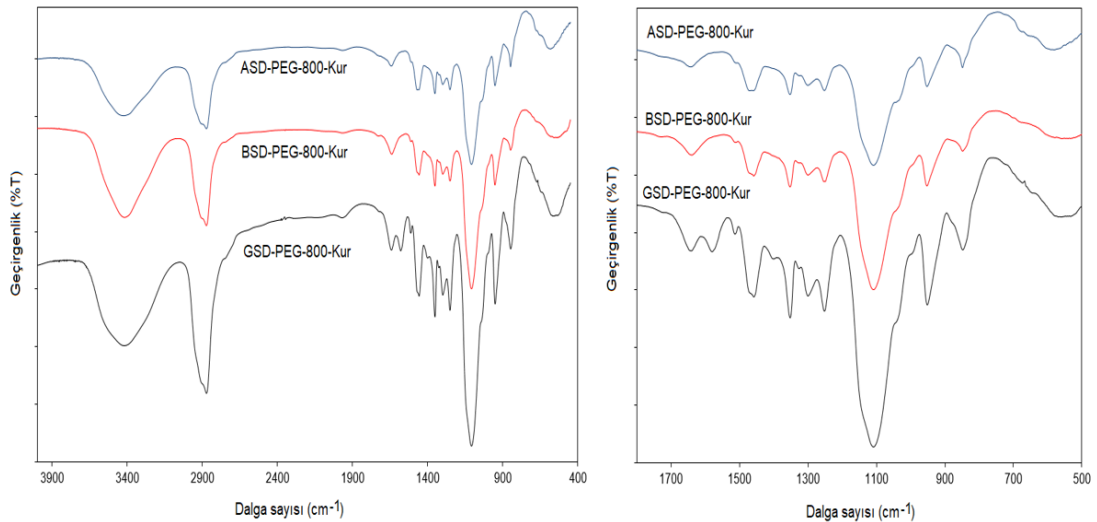
Şekil 4.11. KA içeren α , β ve γ -siklodekstrin yapılarının FTIR spektrumları

Şekil 4.12’de Kuar yapısı moleküler olarak Ek’e benzemektedir. Bu nedenle Ek ve Kuar içeren polimerik yapılar benzer FTIR spektrumu sergilemiştir. Ancak her ikisi de saf β -siklodekstrin ve PEG 400 yapısından farklı spektrum verir.



Şekil 4.12. Ek içeren α , β ve γ -siklodekstrin yapılarının FTIR spektrumları

Şekil 4.13'deki Kur yapısında hem alifatik hem de aromatik C-H gerilme titreşimleri bulunmaktadır. Ayrıca çok küçük de olsa Kur yapısından kaynaklanan karbonil gerilme titreşimi 1620 cm^{-1} 'de yapıyı doğrulamaktadır. Hidrojel yapılarındaki aromatik gruplardan kaynaklı olarak görülen bu pikler yapıya polifenollerin bağlandığını bize ispatlamaktadır. Bu model spektrumlardan farklı olarak sentezi gerçekleştirilen tüm hidrojel yapılarına ait FTIR spektrumları Bölüm 4.4'de detaylı olarak verilmiş ve yorumlanmıştır.



Şekil 4.13. Kur içeren α , β ve γ -siklodekstrin yapılarının FTIR spektrumları

Hidrojel sentezleri için diğ er bir önemli konu ise hidrojel yapısının oluşması için poli(etilen glikol) diglisidil eter yapılarındaki epoksi halkasının açılmasının gerekmesidir. Hidrojellere ait tüm infrared spektrumları incelendiğinde $950\text{-}810\text{ cm}^{-1}$ 'deki epoksi halkası eğilme titreşimi ve $840\text{-}750\text{ cm}^{-1}$ 'deki epoksi halkası C-H gerilme titreşimlerinin kaybolduğu görülmektedir (Erdik, 2007). Bu bulgu epoksi halkasının açılarak istenilen hidrojel yapısının elde edildiğini bize ispatlamaktadır.

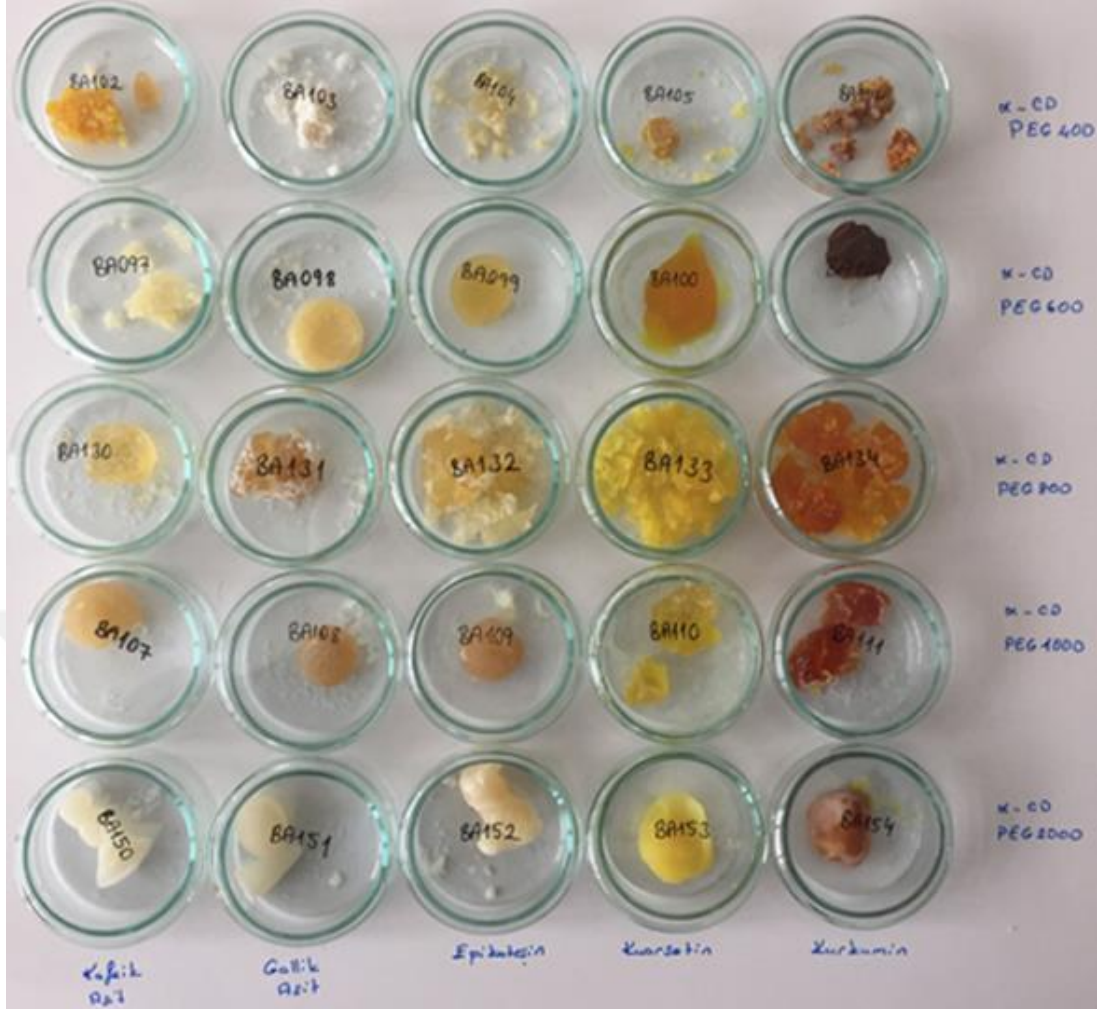
4.4. Hidrojel Yapılarının Yapısal Karakterizasyonu

Çalışmada PEG yapılarının modifikasyonu ile elde edilen epoksi fonksiyonel yapıların hidroksil fonksiyonel siklodekstrin ve polifenoller ile halka açılma reaksiyonu sonucu istenilen hidrojel yapısına ulaşılmıştır. Bu tür bir reaksiyonun seçilmesinin nedeni bu halka açılma reaksiyonu düşük sıcaklıklarda rahatlıkla gerçekleşebilir ve bu sayede yapıya dahil edilmek istenilen polifenoller bozunmadan hidrojel yapısına dahil olabilir. Çünkü doğal polifenol yapıları düşük ısı kararlılığa sahiptir ve çok yüksek sıcaklıklardaki reaksiyonlar bu nedenle tercih edilmemiştir.

4.4.1. α -Siklodekstrin temelli hidrojel yapılarının karakterizasyonu

α -Siklodekstrin altı glukoz ünitesinin birbirine bağlanması ile oluşmuş olan molekül kütlesi 972 g/mol olan bir moleküldür. 25 °C'deki sudaki çözünürlüğü ağırlıkça % 14,5 olan bir yapıya sahiptir. Yapılarına bakıldığında sekonder hidroksil grupları halkanın geniş kenarında, primer hidroksil grupları halkanın dar kenarında, apolar hidrojenler ve eter benzeri oksijenler konik şekle benzer molekülün içerisinde yer alır. Siklodekstrin molekülünün dış kısmı hidrofilik, iç kısmı hidrofobik özelliktedir. Bu nedenle siklodekstrinler birçok hidrofobik misafir molekülüyle inklüzyon kompleksleri oluşturabilir. Siklodekstrinler genel olarak bu özelliklerinden dolayı pek çok ilaç yapısında bulunmaktadır.

α -Siklodekstrin 18 adet hidroksil grubu bulundurduğu için çapraz bağlama ve jel oluşturma yeteneği oldukça yüksektir. Küçük moleküllerin absorpsiyonu ve kontrollü salımı için ideal bir yapıya sahiptir. Çalışmada 25 farklı yapıda α -siklodekstrin temelli hidrojel elde edilmiştir. Bu hidrojellerin genel görünümü Şekil 4.14'de verilmiştir. Bunların yapıları FTIR ile doğrulanmıştır. Elde edilen jellerin termal özellikleri DSC ve TGA teknikleri ile tespit edilmiştir. Termal analizlerde liyofilizasyon ile iyice kurutulan hidrojel yapıları numune olarak kullanılmıştır. Yine hidrojellerin yüzey yapıları SEM tekniği ile belirlenmiştir.

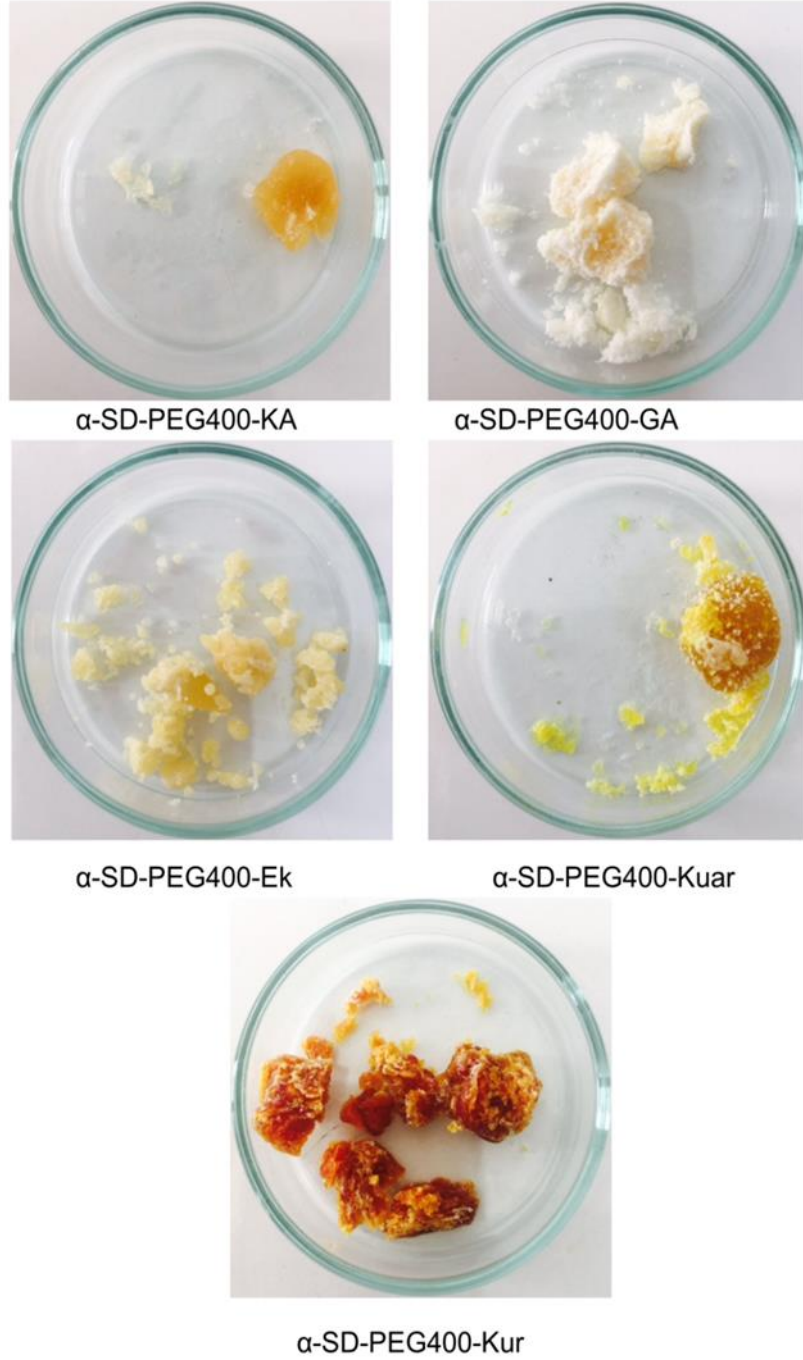


Şekil 4.14. Sentezlenen α -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait genel görünüm

Elde edilen hidrojeller FTIR, SEM, Termal Analiz yöntemleriyle karakterize edilmiştir. Bu karakterizasyon sonuçları detaylı olarak verilmiştir.

4.4.1.1. PEG 400 ve α -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarının karakterizasyonu

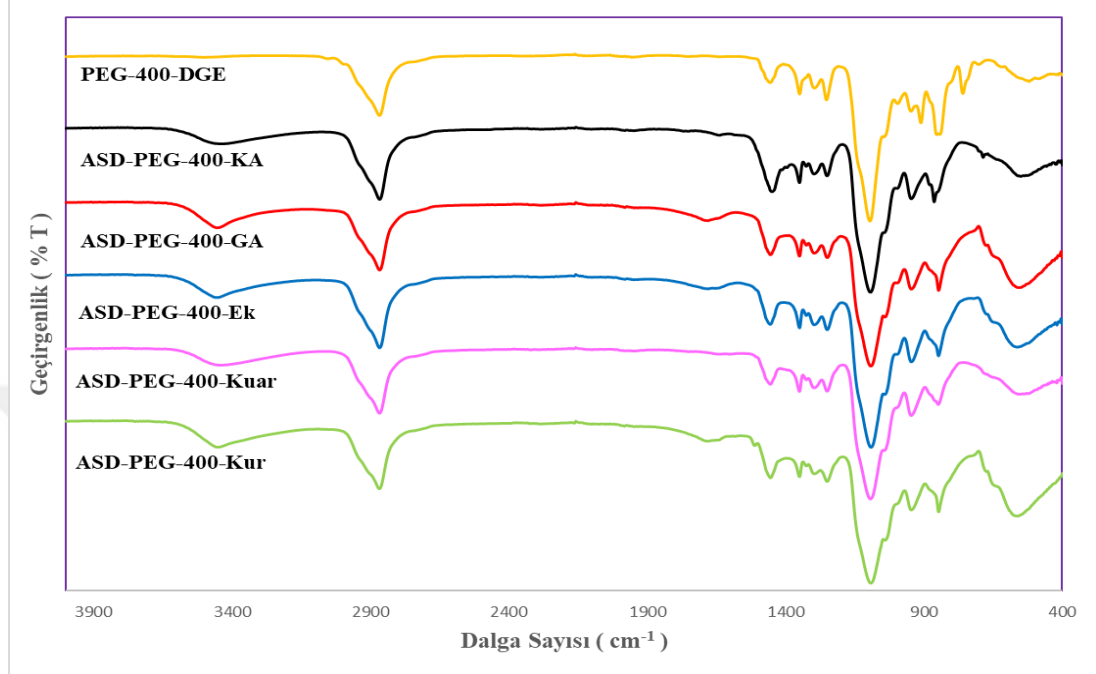
α -Siklodekstrinin bağlayıcı ünite olarak kullanıldığı hidrojel yapılarında önemli polifenollerin yanında farklı PEG üniteleri elde edilen hidrojin esnekliğini ve gözenek yapısını kontrol etmek için kullanılmıştır. PEG 400 kullanılarak elde edilen hidrojeller KA hariç yarı sert özellikli olarak elde edilmiştir. KA içeren yapılar oldukça adhesif ve yumuşak özellikli olarak dikkat çekmektedir. Sentezi gerçekleştirilen bu hidrojellerin genel fotoğrafları Şekil 4.15’de verilmiştir. Bu sentezlerde reaksiyon verimi diğer PEG türlerine göre düşük olarak gözlenmiştir. Ürünler düşük hızlı bir şişme göstermektedir.



Şekil 4.15. PEG 400 ve α -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait fotoğraflar

PEG-400-DGE ve bu yapıdan elde edilen α -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait FTIR spektrumları Şekil 4.16'da verilmiştir. Bu spektrumlarda 3394 cm^{-1} 'de serbest olarak bulunan O-H gerilme titreşimi görülmektedir. Reaksiyon sonrasında bu pikin bulunması hidrojel yapısının hidrofilikliğini ve yüzey özelliklerini doğrular. Tüm PEG 400 temelli α -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarında 2927 cm^{-1} 'de C-H gerilme, 1082 ve 1008 cm^{-1} 'de C-H ve C-O gerilme titreşimleri

görülmektedir. Bu pikler büyük oranda yapıda bulunan siklodekstrin gruplarından kaynaklanmaktadır. Ayrıca 1172 cm^{-1} 'de şiddetli bir C-O-C piki bulunmaktadır. Bu pik yapıdaki PEG ünitelerinden kaynaklanmaktadır.



Şekil 4.16. PEG-400-DGE ve bu yapıdan elde edilen α -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait FTIR spektrumları

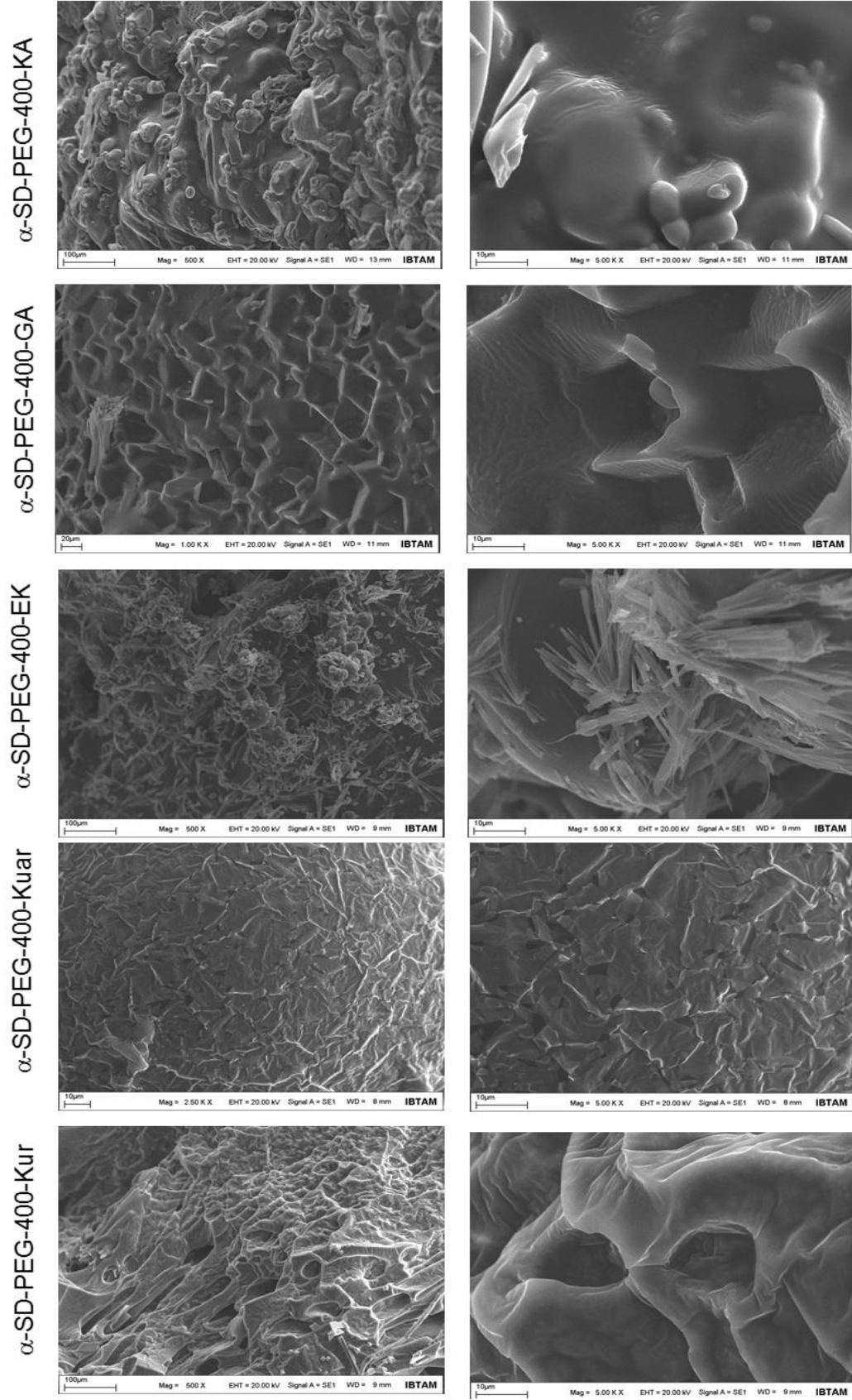
FTIR spektrumlarında 1681 cm^{-1} , 1505 cm^{-1} ve 825 cm^{-1} sırası ile C=O, C=C ve C-H aromatik gerilme titreşimleri görülmektedir. Bu pikler yapıdaki KA gruplarını ispatlamaktadır. GA yapısında farklı olarak GA'nın aromatik fenil grubundan kaynaklı aromatik C-H gerilme titreşimi zayıf bir titreşim olarak görülmektedir. Ek içeren hidrojel yapısında benzer olarak yine aromatik C-H gerilme titreşimi görülmektedir.

Kuarsetin yapısı moleküler olarak epikateşine benzemektedir. Bu nedenle epikateşin ve kuarsetin içeren hidrojel yapıları benzer FTIR spektrumu sergilemiştir. Ancak her ikisi de saf siklodekstrin ve PEG 400 yapısından farklı spektrum verir. Kurkumin yapısında hem alifatik hem de aromatik C-H gerilme titreşimleri bulunmaktadır. Ayrıca çok küçük de olsa kurkumin yapısından kaynaklanan karbonil gerilme titreşimi 1620 cm^{-1} 'de yapıyı doğrulamaktadır. Tüm infrared spektrumları incelendiğinde PEG-400-DGE yapısında bulunan $950\text{--}810\text{ cm}^{-1}$ 'deki epoksit halkası eğilme titreşimi ve $840\text{--}750\text{ cm}^{-1}$ 'deki epoksit halkası C-H eğilme titreşimlerinin

kaybolduğu görölmektedir (Erdik, 2007). Bu bulgu epoksit halkasının açılarak istenilen hidrojel yapısının elde edildiğini ispatlamaktadır.

PEG 400 temelli α -siklodekstrin hidrojellerinin yüksek ve düşük büyötmelerde SEM görüntüleri Şekil 4.17’de verilmiştir. Hidrojel yapılarının düşük büyötmadaki görüntülerinde yüzeylerin fraktal, kaviteli ve homojen bir doku verdiği görölmektedir. Analizlenen yüzeylerde başlangıç malzemesi kalıntısı görölmemektedir. Detaylı yapılan büyötmeye ise özellikle α -SD-PEG-400-KA, α -SD-PEG-400-GA ve α -SD-PEG-400-Kur yapılarının doğal hidrojellerin yüzey görüntülerine benzer olduğu tespit edilmiştir.

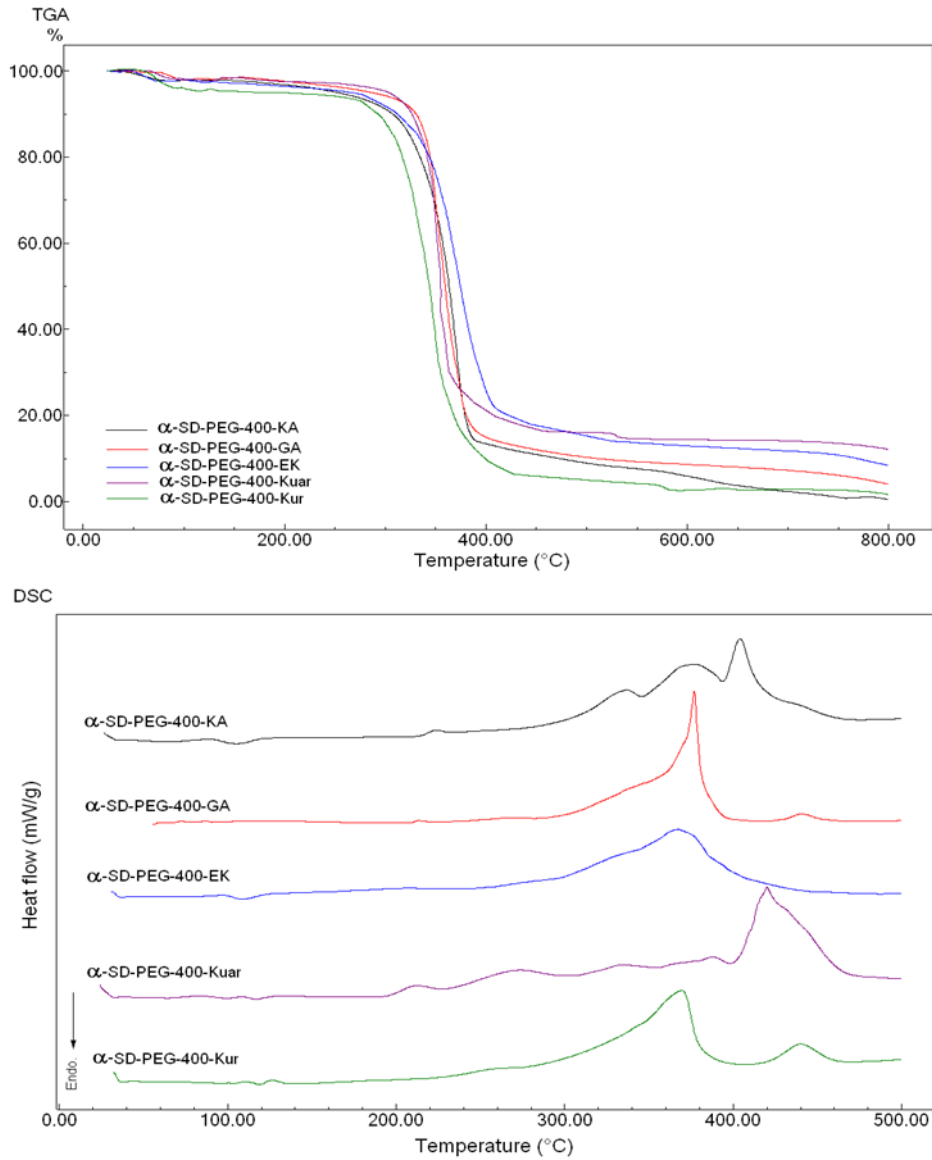




Şekil 4.17. PEG 400 ve α -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait SEM görüntüleri

Hidrojel yapılarının termal analizleri elde edilen yapının ısı kararlılığının belirlenmesinde ve yapısal kararlılığı hakkında bilgi vermesi açısından önemlidir. Bu nedenle hidrojel yapıları öncelikle liyofilize edilerek yapılarındaki tüm nem uzaklaştırılmıştır. İyice kuruduğundan emin olunduktan sonra termal analizler gerçekleştirilmiştir. İstenilen hidrojel yapısının oluştuğunun diğer bir ispatı ise hidrojel yapısındaki ısı kararlılık artışıdır. PEG yapısı ısı kararlılığı olmayan bir yapıdır. Siklodekstrin ve polifenollerin yapıya girmesi ile ağ yapılı bir bileşik oluşması sonucunda yapının ısı kararlılığı artmaktadır. Hidrojel yapıların termal karakterizasyonu termogravimetrik analiz (TGA) ve diferansiyel taramalı kalorimetri (DSC) teknikleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. DSC analizleri ile ayrıca sentezlenen hidrojel yapılarında reaksiyona girmemiş monomer kalıntısı bulunup bulunmadığı kontrol edilmiştir. Özellikle hidrojel sentezi sırasında siklodekstrin yapılarının tamamının reaksiyona girip girmediği bu yolla kontrol edilmiştir. Siklodekstrin gruplarının belirgin ve net bir erime noktaları bulunmaktadır. Sentez sonrasında hidrojel yapısında bu erime piklerinin bulunması yapıda reaksiyona girmeyen siklodekstrin gruplarının kaldığının bir ispatıdır. Siklodekstrin grupları hacimsel olarak büyük gruplar olduğu için reaksiyon sonrasında eğer reaksiyona girmeden kalırlarsa yıkama ile uzaklaştırılmazlar. Bu nedenle bunların tespiti zordur. DSC tekniği bu yönü ile oldukça önemli bulgular sunmaktadır.

Bu analizlere ilişkin sonuçlardan bazıları Şekil 4.18’de verilmiştir. Bunların bazılarına göre elde edilen hidrojellerin ısı kararlılıkları polifenol, PEG ve siklodekstrin monomer ünitelerine göre daha yüksektir.

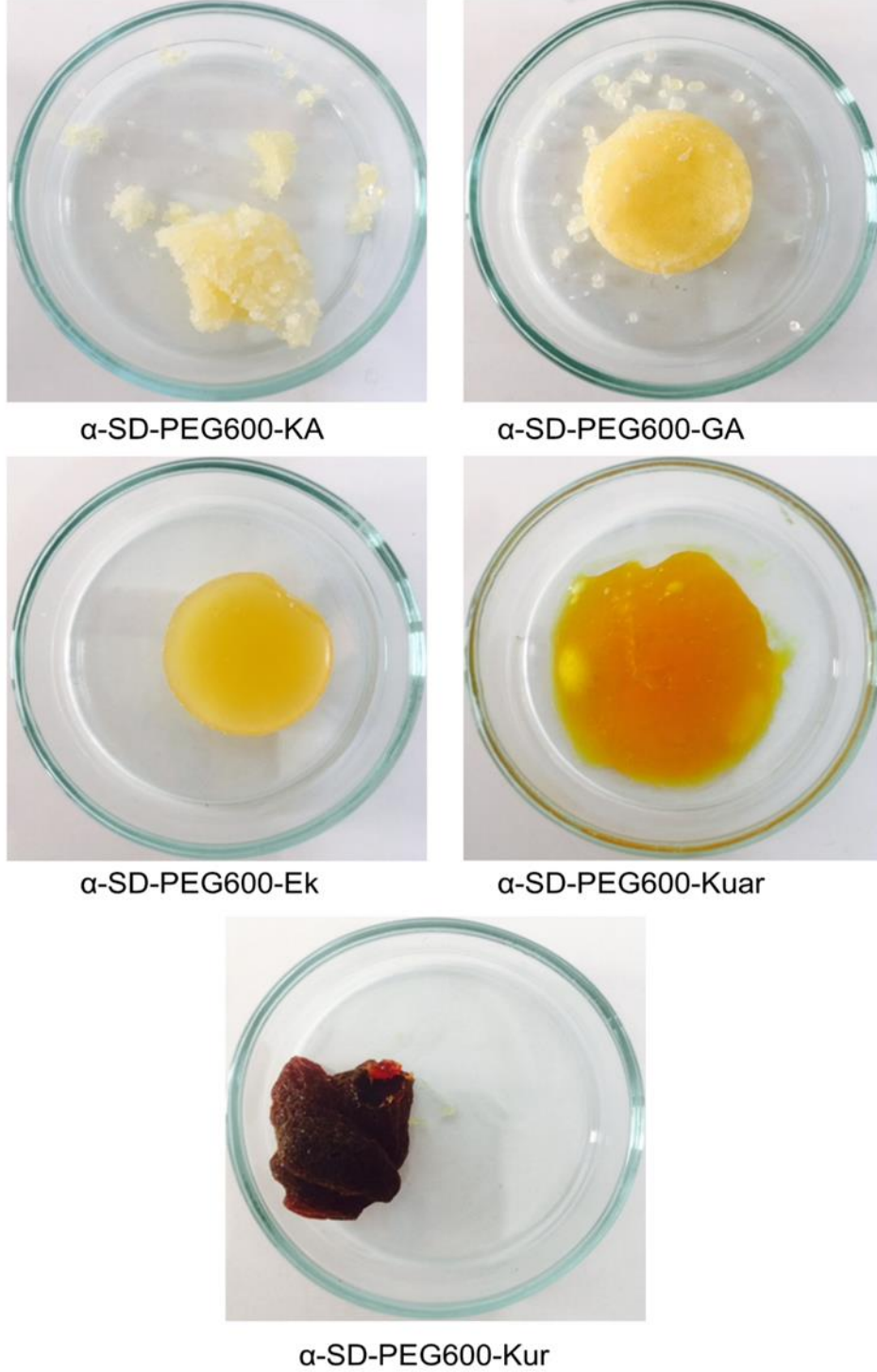


Şekil 4.18. PEG 400 ve α -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait TGA ve DSC termogramları

4.4.1.2. PEG 600 ve α -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarının karakterizasyonu

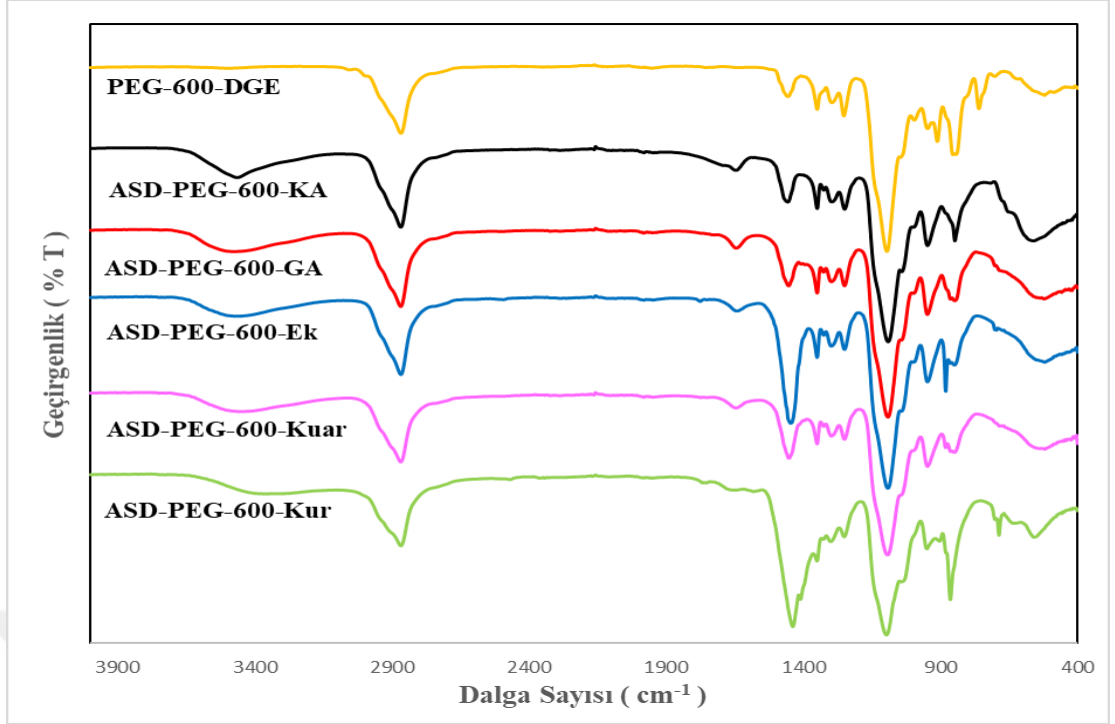
Çalışmada elde edilen PEG 600, α -siklodekstrin ve polifenol üniteleri içeren hidrojellerin genel yapısal fotoğrafları Şekil 4.19’da verilmiştir. Bu fotoğraflardan da görüldüğü gibi elde edilen hidrojeller homojen ve tekstür olarak jel görünümlüdür. Reaksiyon verimleri PEG 400 yapıli jellere göre nispeten daha yüksektir. PEG 600 ile hazırlanan hidrojellerin yapıları genellikle esnek ve bütünseldir. Tüm jeller şişme deneyleri sırasında maksimum şişme noktasına kadar tek parça olarak kalmakta ve dağılmamaktadır. (ASD-PEG-600-Kuar hariç) ASD-PEG-600-KA hariç

kuruduklarında bile esnek bir yapı göstermektedirler. Bu nedenle çalışmanın amacı olan vücut içi uygulamalarda kullanılabilir yapıdadırlar. Ancak α -SD-PEG-600-Kuar yapısı çok yapışkan bir yapıda olup tartılması, uygulanması ve transferi çok zordur. Bu nedenle bu hidrojel yapısı çalışmanın diğer uygulamaları açısından uygun değildir.



Şekil 4.19. PEG 600 ve α -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait fotoğraflar

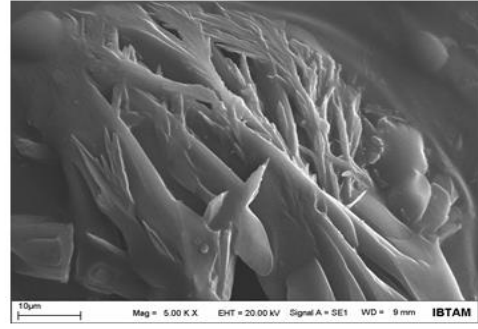
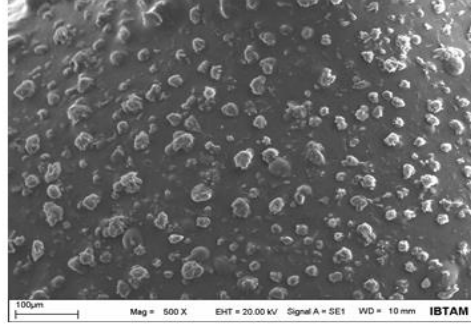
PEG-600-DGE ve bu yapıdan elde edilen α -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait FTIR spektrumları Şekil 4.20’de verilmiştir. Bu spektrumlarda yapıda bulunan üç temel ünitenin de net bir şekilde bulunduğu görülmektedir. Öncelikle siklodekstrin yapılarından kaynaklı olarak C-O-C piki $1150-1070\text{ cm}^{-1}$ ’de görülmektedir. Yine siklodekstrin yapılarına ait alifatik karakterli altı üyeli halkadan kaynaklı C-H ve C-C gerilme titreşimleri 2940 cm^{-1} ve 1140 cm^{-1} ’de görülmektedir. Diğer ünite olan PEG 600 yapısı iki temel gerilme titreşimine sahiptir. C-O-C ve alifatik C-H pikleri sırası ile 1150 ve 2865 cm^{-1} ’de görülür. Bu pikler siklodekstrin pikleri ile çakışmış olsa da bitişik pikler olarak ayırt edilebilir. Sentezlenen hidrojel yapılarındaki son temel ünite olan polifenoller ise genellikle yapılarındaki aromatik karakterden dolayı tespit edilebilir. Sentez sırasında kullanılan oran olarak en az alındıkları için bu piklerin şiddeti biraz düşüktür. Ancak saf PEG 600 yapısı ile kıyaslanırsa aromatik ünitelerden kaynaklı pikler görülmektedir. Örneğin 908 cm^{-1} ’de aromatik C-H düzlem dışı eğilme piki bağlanan polifenol yapılarından kaynaklanmaktadır. Ayrıca 1250 cm^{-1} ’de aromatik C-H düzlem içi eğilme piki ve 1435 cm^{-1} ’deki C=C gerilme piki yapıdaki polifenolleri doğrulamaktadır. Ayrıca tüm infrared spektrumları incelendiğinde PEG-600-DGE yapısında bulunan $950-810\text{ cm}^{-1}$ ’deki epoksit halkası eğilme titreşimi ve $840-750\text{ cm}^{-1}$ ’deki epoksit halkası C-H eğilme titreşimlerinin kaybolduğu görülmektedir (Erdik, 2007). Bu bulgu epoksit halkasının açılarak istenilen hidrojel yapısının elde edildiğini ispatlamaktadır.



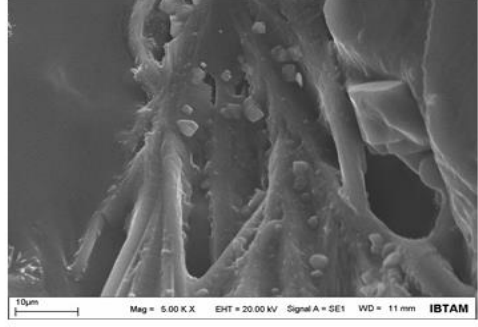
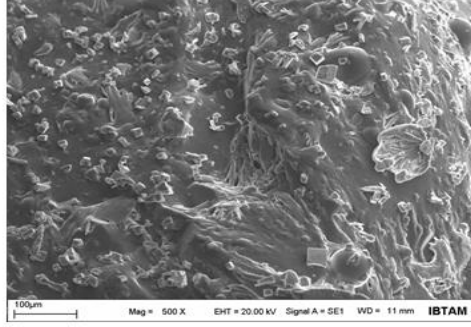
Şekil 4.20. PEG-600-DGE ve bu yapıdan elde edilen α -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait FTIR spektrumları

Şekil 4.21’de sentezlenen hidrojel yapılarına ait hidrojellerin SEM görüntüleri verilmiştir. Bu görüntülerde α -SD-PEG 600-KA yapısında hızlı kurumaya bağlı olarak kabarık noktalanmalar tespit edilmiştir. Yüksek büyütme uygulandığında bu bölgelerde olan oluşum şeklindeki detayda görülmektedir. Diğer PEG 600 temelli hidrojel yapıları ise homojen ve benzer yapıdır. Yüksek büyütmelerde bu hidrojel yapılarının kaviteleri rahatlıkla görülebilir.

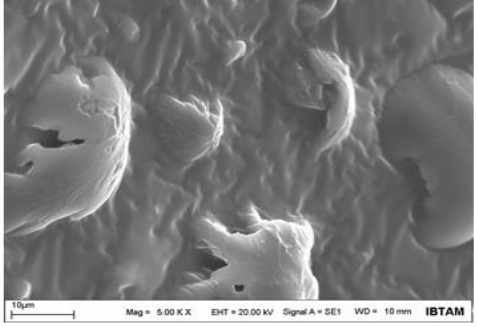
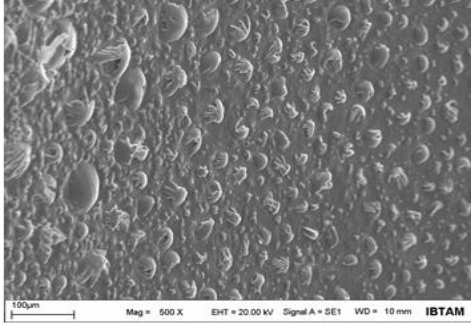
α -SD-PEG-600-KA



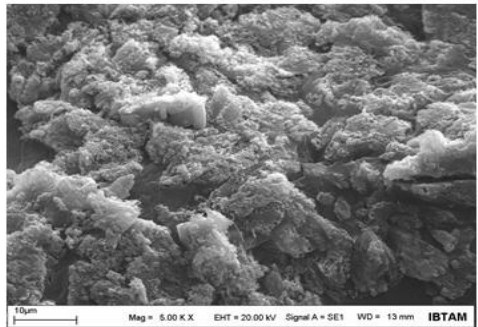
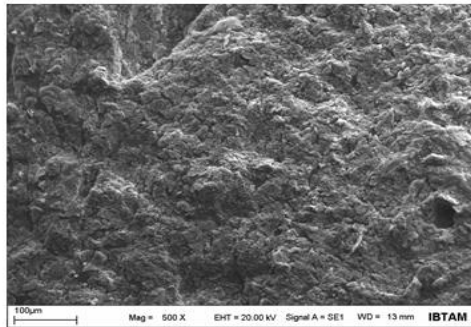
α -SD-PEG-600-GA



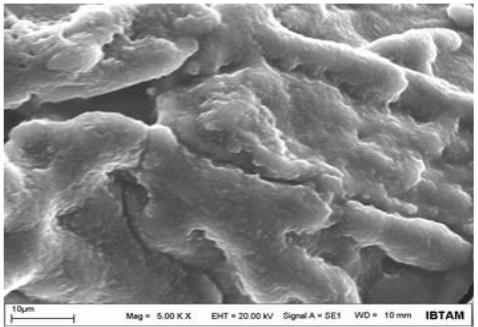
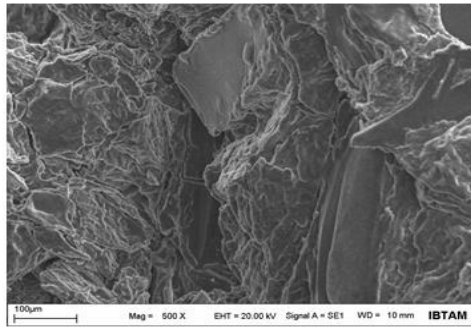
α -SD-PEG-600-EK



α -SD-PEG-600-Kuar



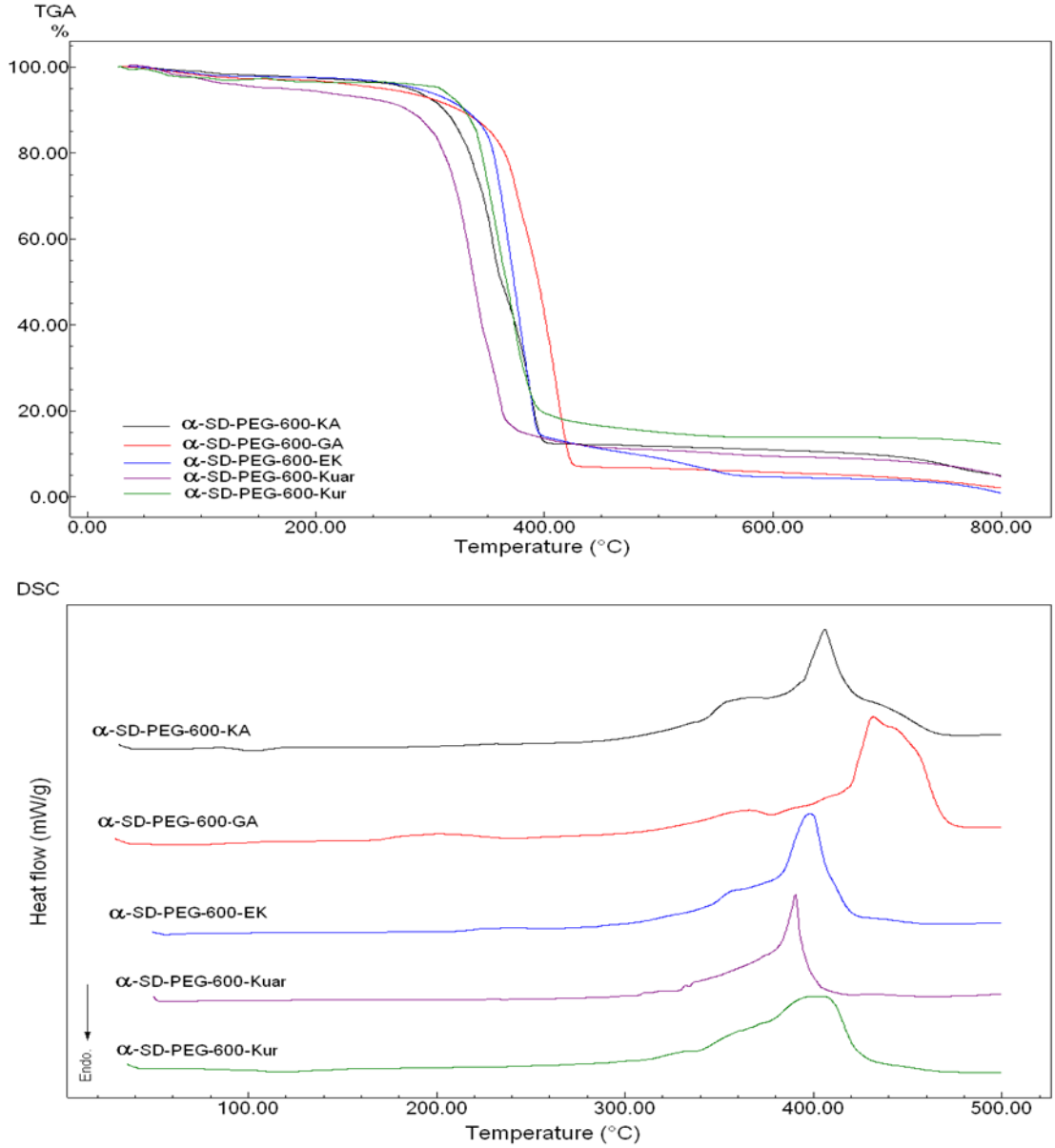
α -SD-PEG-600-Kur



Şekil 4.21. PEG 600 ve α -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait SEM görüntüleri

PEG 600 temelli hidrojellerin TGA ve DSC termogramları Şekil 4.22’de verilmiştir. Bu termogramlarda hidrojel yapılarının oldukça kararlı olduğu ve bozunma başlangıç sıcaklıklarının yaklaşık olarak 290 °C’den başladığı görülmektedir. Termal analizler gerçekleştirilirken polimerik yapı liyofilizatörde tamamen kurutulmuştur. Bu kurutma işlemi öncesi hidrojel 2 gün -24 °C’de dondurulmuştur. Daha sonra liyofilizatörde bir gün süre ile kurutma sağlanmıştır. Elde edilen numuneler termal analizde izlenmiştir. Bu süreç dahilinde liyofilizasyon işleminin numuneye zarar vermediği liyofilizasyon öncesi ve sonrası alınan FTIR spektrumları ile takip edilmiştir. Sonuç olarak elde edilen hidrojel yapıları dondurulup çözündürme sonrasında da esnek ve şişme özelliklerine sahiptir ve ısıl olarak da oldukça kararlıdır.





Şekil 4.22. PEG 600 ve α -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait TGA ve DSC termogramları

4.4.1.3. PEG 800 ve α -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarının karakterizasyonu

Sentezi gerçekleştirilen hidrojel yapılarında istenilen en temel özellikler sırası ile biyoyumluluk, esneklik, iyi şişme derecesi, enjekte edilebilirlik, yeterli mekanik dayanım ve kontrollü olarak ilaç salımı özellikleridir. Özellikle hidrojel yapısının biyoyumluluğu ve esnekliğini PEG üniteleri sağlamaktadır. Bu nedenle çalışmada PEG ünitelerinin molekül ağırlığı ve zincir uzunluğu kontrollü olarak artırılmıştır. PEG molekül kütlesi arttıkça hidrojel verimi artmaktadır. Hidrojin jelasyon ve

oluşum süreci kısalmaktadır. Bunun nedeni PEG molekül kütlesindeki artış ile birlikte artan viskozitedir. Sentezlenen PEG 800 ve α -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait fotoğraflar Şekil 4.23’de verilmiştir. Bu fotoğraflarda görüldüğü gibi hidrojel yapıları esnek, homojen ve parlaktır. α -SD-PEG-800-GA hidrojel hariç diğerleri geç kurumakta ve oldukça yüksek oranda şişmektedir. Tüm hidrojel yapıları çok hızlı şişmektedir ve şişme bütünlüğü yüksektir. Tek parça olarak şişmekte ve şişme esnasında dağılmamaktadır.

PEG-800-DGE ve bu yapıdan elde edilen α -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait FTIR spektrumları sırası ile Şekil 4.24’de verilmiştir. Bu spektrumlarda saf PEG-800-DGE yapısı ile kıyaslandığında yapının değiştiği görülmektedir. Özellikle yapıya polifenollerden kaynaklanan aromatik grupların pikleri dahil olmuştur. Örneğin 1600 cm^{-1} ’de aromatik C=C gerilmesi ve trisüstitüye benzen gruplarının C-H bantları 885 cm^{-1} ’de görülmektedir. Bu bantlara ek olarak sentezde kullanılan PEG-800-DGE yapısına ait epoksit gruplarının karakteristik pikleri $950\text{--}810\text{ cm}^{-1}$ ’deki epoksit halkası eğilme titreşimi ve $840\text{--}750\text{ cm}^{-1}$ ’deki epoksit halkası C-H eğilme titreşimlerinin kaybolduğu görülmektedir (Erdik, 2007). Bu durum epoksit halkasının açıldığını ve istenilen ağ yapının elde edildiğini göstermektedir. Zaten oluşan ürünün jel yapıda olması ve şişebilir nitelik taşıması istenilen yapının oluştuğunun diğer bir ispatıdır.



α -SD-PEG800-KA



α -SD-PEG800-GA



α -SD-PEG800-Ek

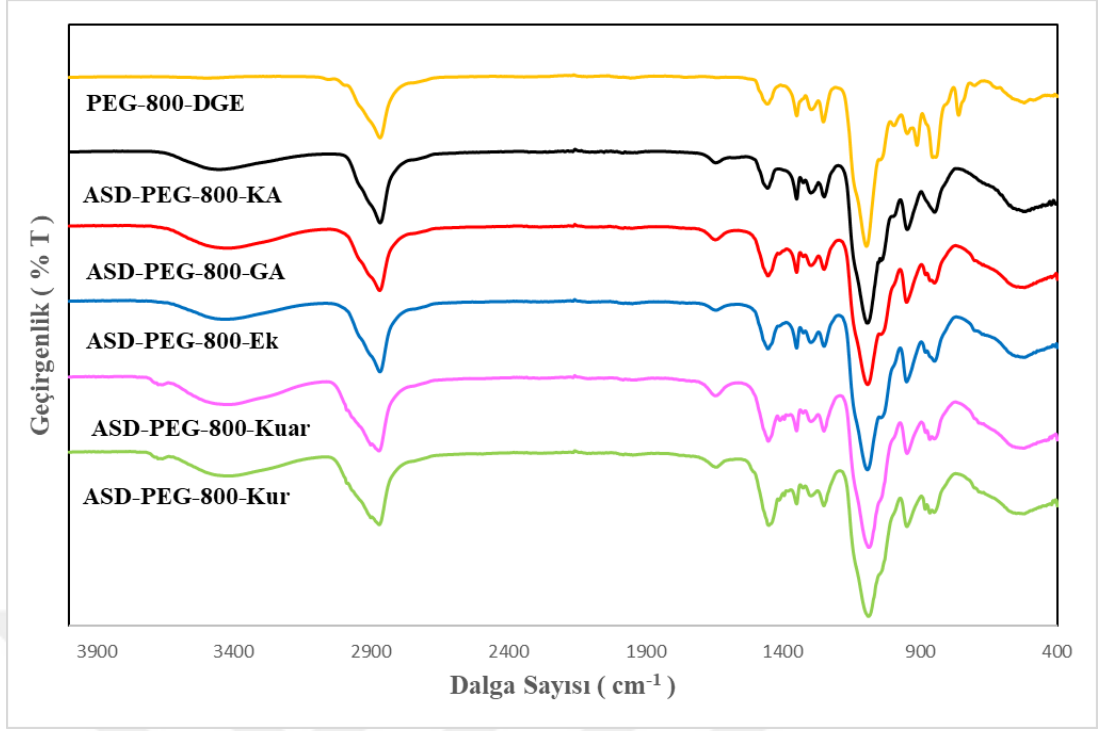


α -SD-PEG800-Kuar



α -SD-PEG800-Kur

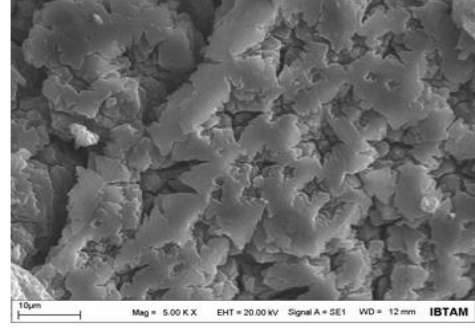
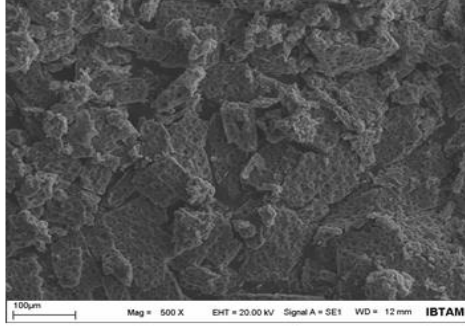
Şekil 4.23. PEG 800 ve α -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait fotoğraflar



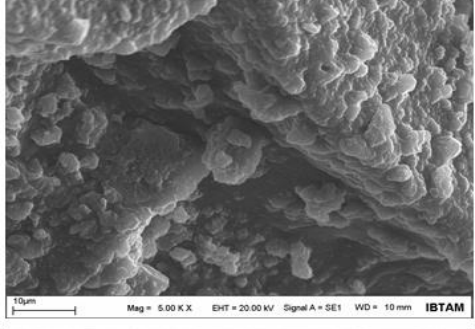
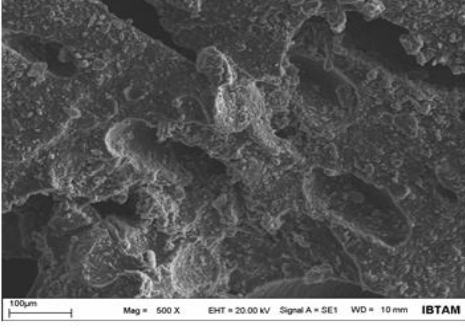
Şekil 4.24. PEG-800-DGE ve bu yapıdan elde edilen α -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait FTIR spektrumları

PEG 800 ve α -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait SEM görüntüleri yüksek ve düşük büyütme olarak Şekil 4.25’de verilmiştir. Farklı polifenol içeriklerine göre çeşitlendirilmiş olan PEG 800 ve α -siklodekstrin temelli tüm hidrojellerde genel olarak gözenekli bir yapı hakimdir. Ayrıca yüzey homojen ve pürüzlüdür. Daha detaylı büyütme yapıldığı zaman yüzey kaviteleri oldukça netleşmektedir. Yüksek büyütmelerde Ek, Kuar ve Kur içeren hidrojel yapılarının doğal hidrojel yapılarına benzediği görülmektedir. Ayrıca α -SD-PEG-800-Kuar yapısında periyodik olarak görünen gözeneklilik hidrojin şişme özelliğini olumlu yönde etkilemektedir. Çalışmanın ilerideki bölümünde topluca verilecek olan şişme testlerinde de ilgili hidrojel yapısı yüksek bir şişme özelliği göstermiştir.

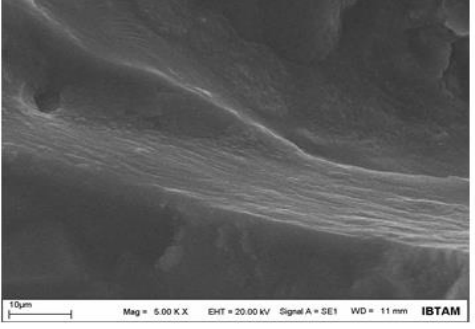
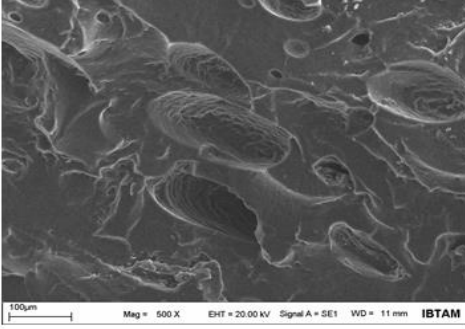
α -SD-PEG-800-KA



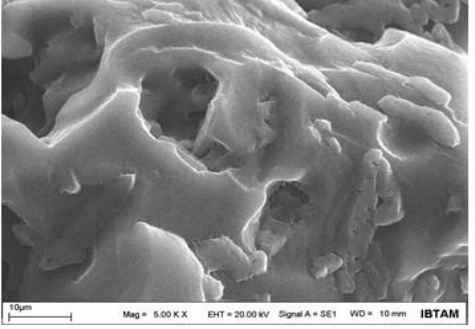
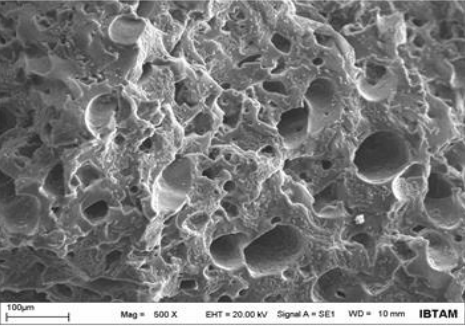
α -SD-PEG-800-GA



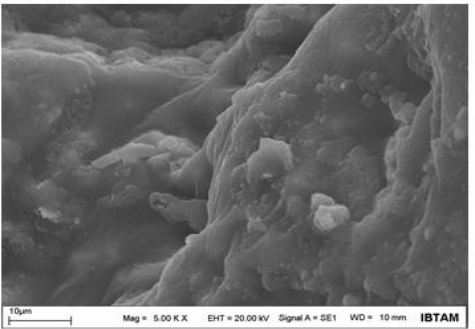
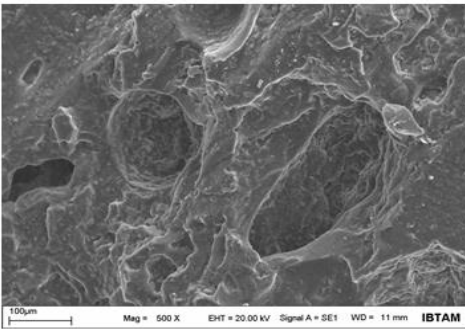
α -SD-PEG-800-EK



α -SD-PEG-800-Kuar



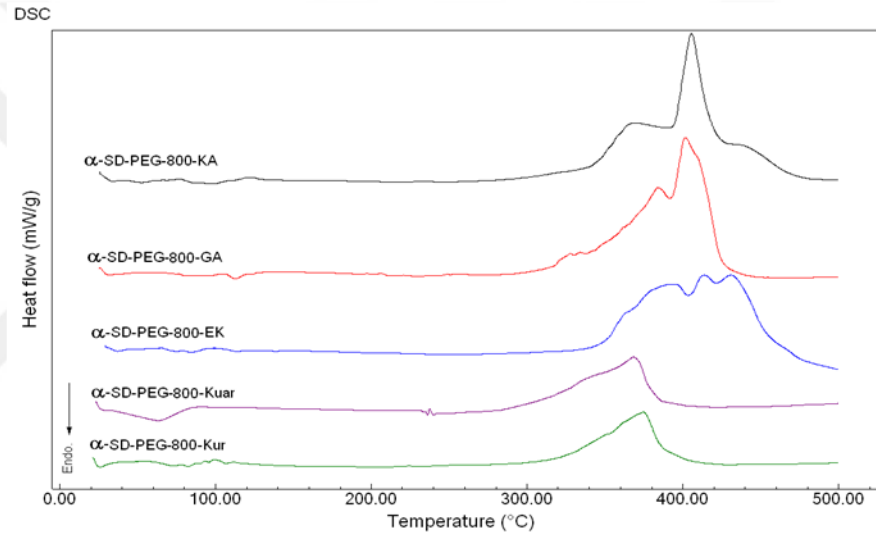
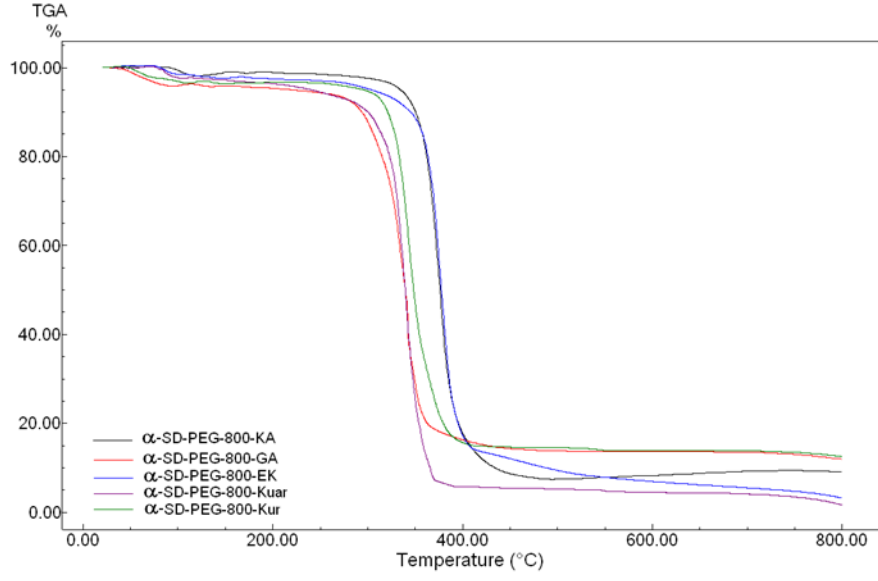
α -SD-PEG-800-Kur



Şekil 4.25. PEG 800 ve α -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait SEM görüntüleri

Hidrojel sentezi sırasında gerçekleşen yapısal değişikliği doğrulamak ve elde edilen ürünün ısı kararlılıklarının tespiti için TGA ve DSC analizleri gerçekleştirilmiştir. Elde edilen hidrojellerin TGA ve DSC termogramları Şekil 4.26'da verilmiştir. Bu analizlerde tüm polifenol yapıları hidrojellerde genellikle tek tip bozunma kütle kaybı görülmektedir. Bu kütle kaybı 300-420 °C sıcaklık aralığında olup hidrojel yapısındaki organik grupların termooksidatif degradasyonuna aittir (Şekil 4.26).

Ayrıca PEG 800 ve α -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait DSC termogramları incelendiğinde elde edilen hidrojel yapılarının monomerik yapılara kıyasla ısı kararlılığının arttığı görülmektedir (Şekil 4.26). Bu kararlılık artışı yüksek bir ağ yapısı oluşumunu ispatlamaktadır.



Şekil 4.26. PEG 800 ve α -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait TGA ve DSC termogramları

4.4.1.4. PEG 1000 ve α -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarının karakterizasyonu

Elde edilen hidrojel yapıları yarı sert nitelikte olup hızlıca şişmektedirler. Şiştikleri zaman oldukça yumuşak ve elastik bir yapı almaktadırlar. Hidrojel görünümü homojen olup hidrojel rengi yapısına giren polifenole göre değişmektedir. Elde edilen hidrojellerin görüntüleri Şekil 4.27’de verilmiştir. Örneğin KA ve Kuar içeren hidrojeller parlak sarı iken Kur içeren hidrojeller parlak turuncu renklidir.





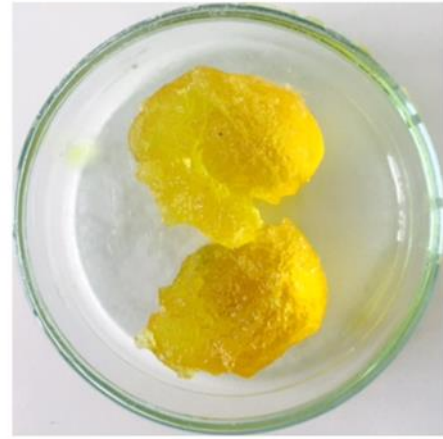
α -SD-PEG1000-KA



α -SD-PEG1000-GA



α -SD-PEG1000-Ek



α -SD-PEG1000-Kuar

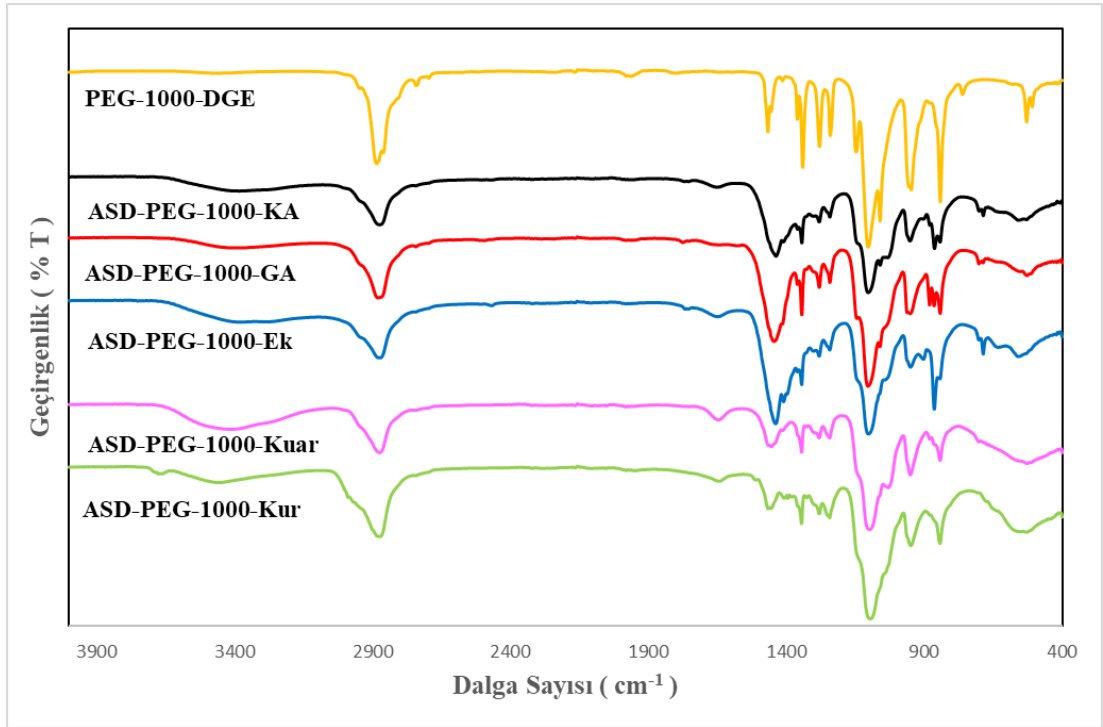


α -SD-PEG1000-Kur

Şekil 4.27. PEG 1000 ve α -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait fotoğraflar

Şekil 4.28’de PEG-1000-DGE ve bu yapıdan elde edilen α -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait FTIR spektrumları verilmiştir. İlgili spektrumlar incelendiğinde 5 farklı polifenol yapıli hidrojelde 3100-3600 cm^{-1} aralığında hidrojel yapısının yüzey hidroksillerine ait olan OH gerilme titreşimleri görölmektedir. Yine

tüm hidrojel yapılarında hem PEG 1000 yapısından hem de siklodekstrin yapısından kaynaklanan alifatik C-H gerilme titreşimleri $2850-3100\text{ cm}^{-1}$ aralığında görülmektedir. Bu pik bir band görünümünde olup 2850 cm^{-1} 'deki keskin pik PEG yapısından hemen yanındaki omuz piki ise miktarı az olan siklodekstrin yapısından kaynaklanmaktadır. KA, GA, Kuar ve Kur içeren polimerlerde 1600 cm^{-1} 'de karbonil gerilme titreşimleri görülmektedir. 1490 cm^{-1} 'de C=C aromatik gerilme titreşimi yapıdaki aromatik grupların varlığını ispatlamaktadır. İlgili hidrojel yapılarının hepsinde PEG 1000 yapılarından kaynaklı olarak alifatik CH_2 gruplarına ait baskın bir C-H gerilme titreşimi 1465 cm^{-1} 'de görülür. Bu titreşim saf PEG 1000 yapısında rahatlıkla görülmektedir. Tüm hidrojellerde ve saf PEG yapısında oldukça şiddetli eterik pikler gözlemlenir. Bunlar 1170 cm^{-1} 'de karakteristik olarak görülmektedir. Şekil 4.28'deki hidrojel yapılarında α -siklodekstrin gruplarının varlığını ispatlayan iki temel unsur ise 1082 ve 1008 cm^{-1} 'deki C-H ve C-O gerilme titreşimleridir. Ayrıca PEG-1000-DGE yapısında bulunan 855 cm^{-1} 'deki epoksit halkası eğilme titreşimi ve 750 cm^{-1} 'deki epoksit halkasına ait C-H eğilme pikinin sonuç ürünlerde olmaması halkanın açılarak hidrojel yapısının oluştuğunu ve yapıda monomer kalıntısı kalmadığını göstermektedir.

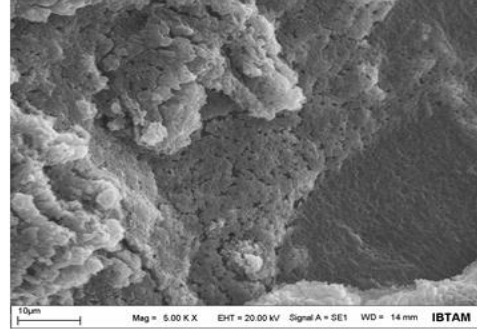
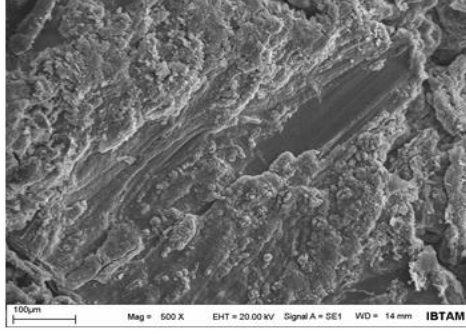


Şekil 4.28. PEG-1000-DGE ve bu yapıdan elde edilen α -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait FTIR spektrumları

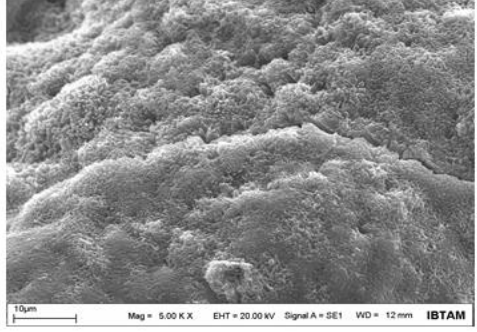
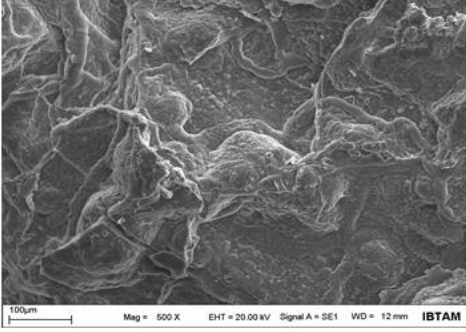
PEG 1000 yapısı ile elde edilen hidrojel­ler gerek şişme özellikleri gerekse de uygulanabilirlikleri açısından uygun olarak tespit edilmişlerdir. Bu yapıların yüzey özellikleri SEM analizleri ile tespit edilmiştir ve sonuçları Şekil 4.29’da yüksek ve düşük büyütme­li olarak verilmiştir. Genel olarak 500x ve 5000x büyütme­lerde incelemeler yapılmıştır. Bu analizlerde α -SD-PEG 1000-KA ve α -SD-PEG 1000-GA yapılarında detay büyütme­lerde homojen ve yaygın bir gözenekliliğe sahip olduğu görülmüştür.



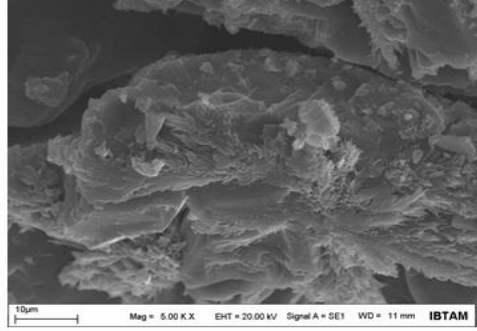
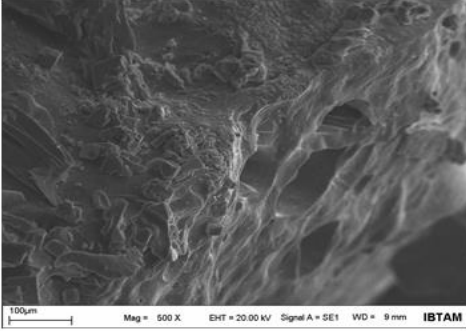
α -SD-PEG-1000-KA



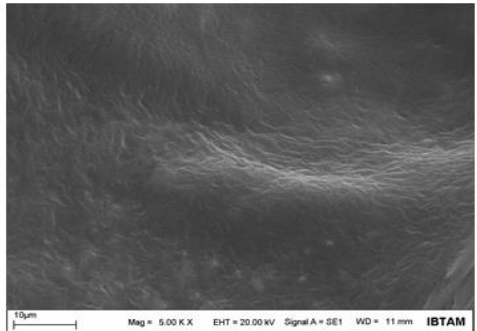
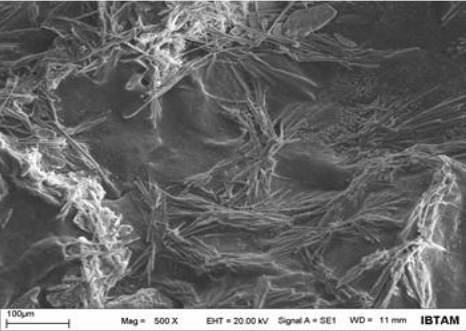
α -SD-PEG-1000-GA



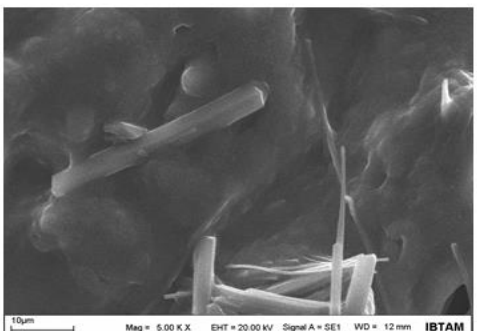
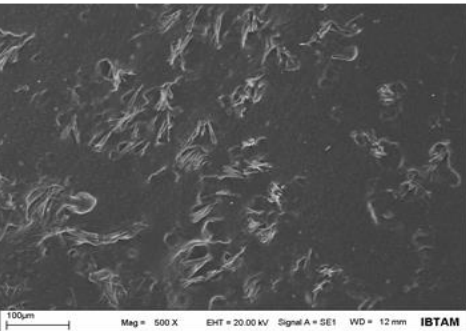
α -SD-PEG-1000-EK



α -SD-PEG-1000-Kuar

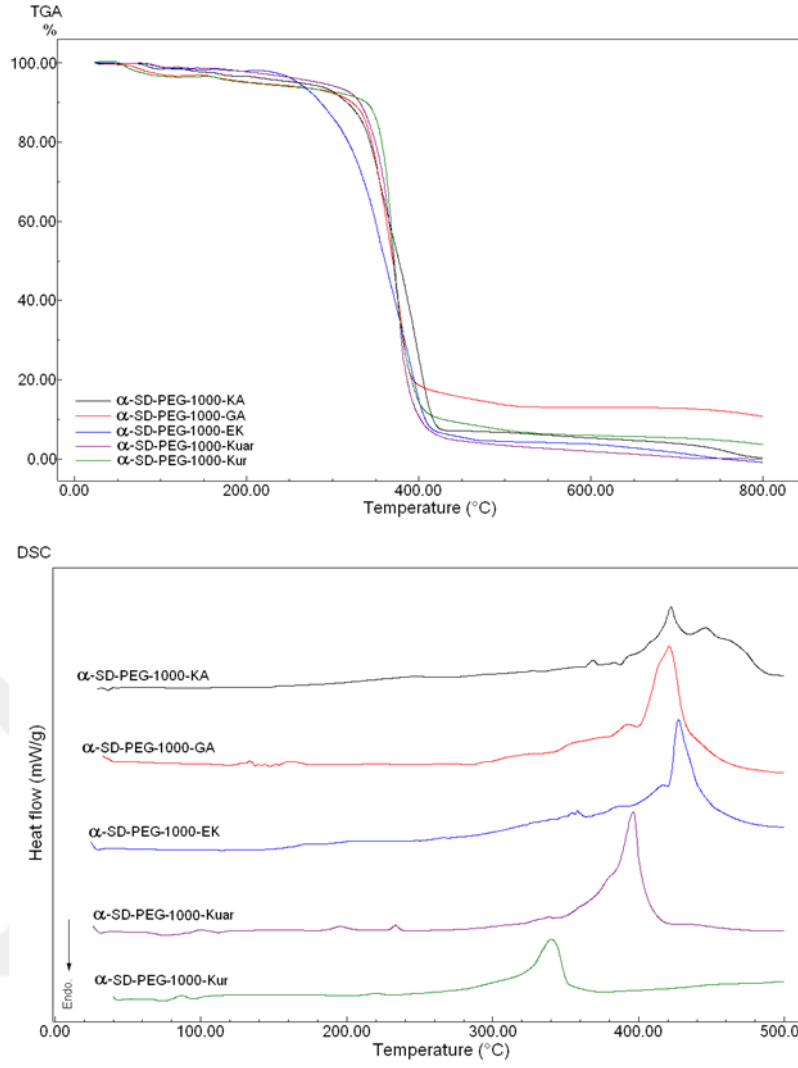


α -SD-PEG-1000-Kur



Şekil 4.29. PEG 1000 ve α -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait SEM görüntüleri

Lineer ve aromatik olmayan PEG 1000 yapısının kullanımı yapının termal özelliklerinde bariz bir düşüş oluşturmalarına rağmen yapının esnekliğini artırır. Bu temel değişimlerin ölçülmesi için TGA ve DSC termogramları incelenmiş ve Şekil 4.30'da verilmiştir. PEG 1000 ve α -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait TGA termogramında diğer hidrojellere göre daha düşük sıcaklıklarda bir bozunma gözlenmiştir. Ancak bu tip yapılarda KA, GA ve Kur gibi fonksiyonalitesi düşük polifenollerin bağlanması yerine Ek ve Kuar gibi yüksek sayıda fonksiyonel grup bulunduran monomerler yapıya dahil oldukça hidrojinin ısı kararlılığı da artmaktadır. Ek ve Kuar 5 adet hidroksil ünitesi içermektedir ve bir çapraz bağlayıcı olarak davranır. Siklodekstrin ve bu polifenoller ile hidrojel yapısı daha sağlam ve kararlı olsa da esnekliği ve şişme özelliği azalmaktadır. PEG 1000 ve α -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarında genel olarak bozunma (termal degradasyon) 200 °C civarında başlar. Belirgin iki kademeli bir düşüşle polimerin degradasyonu söz konusudur.



Şekil 4.30. PEG 1000 ve α -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait TGA ve DSC termogramları

4.4.1.5. PEG 2000 ve α -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarının karakterizasyonu

PEG 2000, siklodekstrin ve farklı polifenol yapıları kullanılarak sentezlenen hidrojel yapılarına ait fotoğraflar Şekil 4.31’de verilmiştir. Bu fotoğraflardan da görüldüğü gibi polifenol yapısına bağlı olarak iki farklı hidrojel elde edilmiştir. Bunlar KA ve GA temelli yapılar sert ve mat iken diğer polifenol içeren yapılar parlak, esnek, homojen ve renklidir. Ayrıca KA ve GA temelli yapılarda diğer tüm hidrojeller gibi hem suda hem de PBS tampon içerisinde iyi şişme özelliği göstermiştir. PEG 2000 ve α -siklodekstrin temelli hidrojeller diğer PEG’lerden elde edilen α -siklodekstrin içeren hidrojellere göre daha yüksek verimle elde edilmiştir.





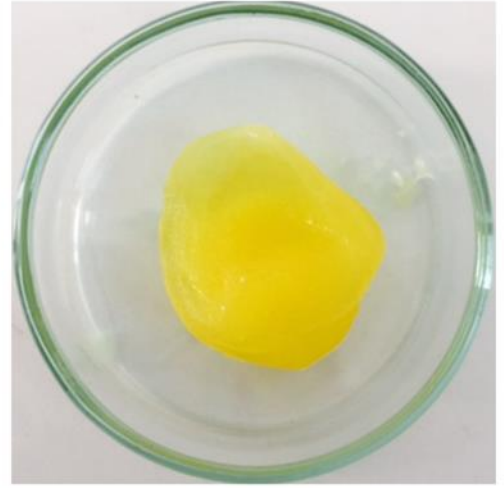
α -SD-PEG2000-KA



α -SD-PEG2000-GA



α -SD-PEG2000-Ek



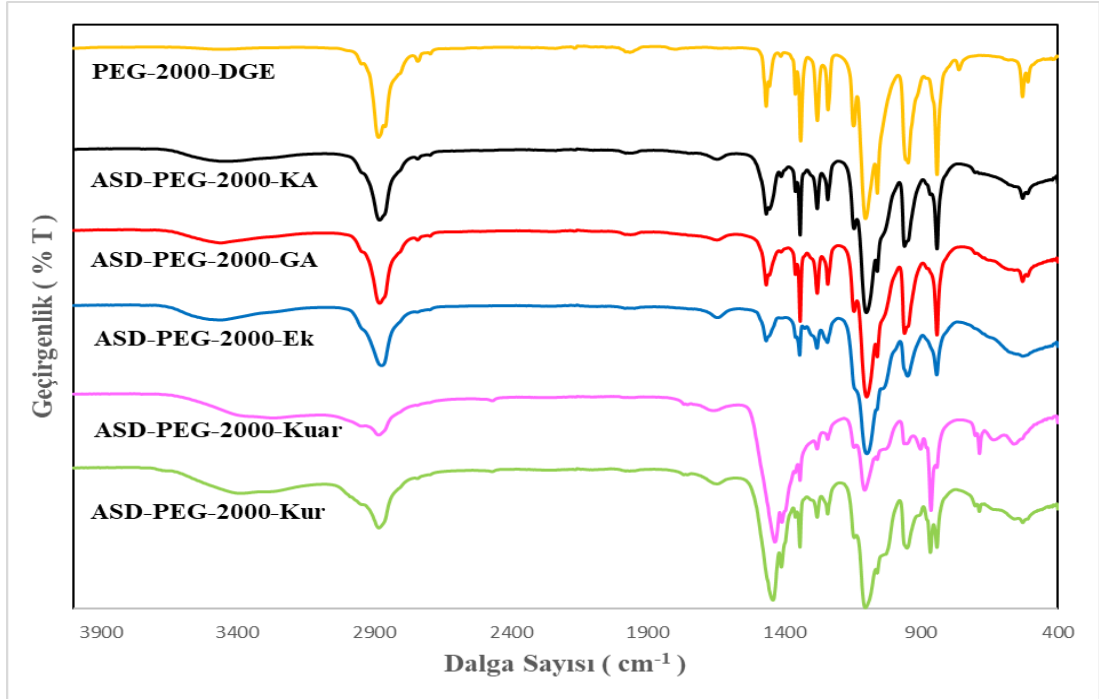
α -SD-PEG2000-Kuar



α -SD-PEG2000-Kur

Şekil 4.31. PEG 2000 ve α -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait fotoğraflar

PEG-2000-DGE ve bu yapıdan elde edilen α -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait FTIR spektrumları Şekil 4.32’de verilmiştir. Bu spektrumlarda alifatik CH₂ üniteleri için C-H gerilme titreşimi 2800-3050 cm⁻¹’de görülmektedir. Bu pik siklodekstrin ve PEG gruplarından kaynaklanmaktadır. 3100-3650 cm⁻¹’de yüzey – OH gruplarından kaynaklı geniş bir bant bulunmaktadır. 1650 cm⁻¹’de siklodekstrin yapısındaki bağlanmaya girmemiş olan OH gruplarının gerilme bandı oldukça zayıf olarak görülmektedir (Netto-Ferreira vd., 2000). 1465 cm⁻¹’de C-H gerilmesi, 1080 cm⁻¹’de siklodekstrin yapısındaki C-H gruplarına ait gerilme titreşimleri, 1012 cm⁻¹’de yine siklodekstrin yapısından kaynaklı C-O gerilme titreşimleri görülmektedir. FTIR spektrumlarındaki en belirgin pik 1178 cm⁻¹’deki PEG yapısından kaynaklanan C-O-C eterik gerilme titreşimidir. Tüm bu pikler hidrojel yapısında hem PEG hem de siklodekstrin varlığını ispatlamaktadır. Polifenol yapılarının varlığı ise aromatik ünitelerden kaynaklı piklerin yapıya dahil olması ile ispatlanabilir. 1383 cm⁻¹’de polifenol yapısından gelen keskin pik yapıdaki polifenolün bulunduğunu ispatlamaktadır. Tüm spektrumlarda PEG-2000-DGE yapısındaki epoksit grubuna ait referans pikler olan 850 cm⁻¹’deki epoksit halkası eğilme piki ve 755 cm⁻¹’deki epoksit halkası C-H eğilme piki bulunmamaktadır. Buradan tüm epoksit gruplarının halka açılması ile ağ yapısı oluşturduğu anlaşılmaktadır.

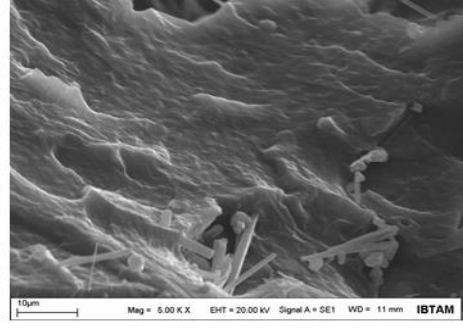
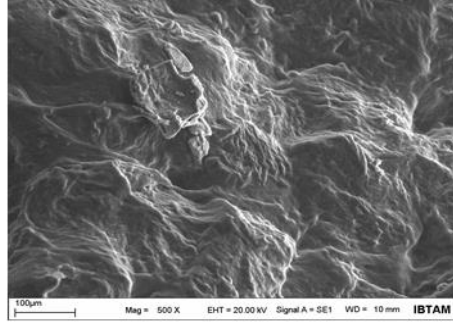


Şekil 4.32. PEG-2000-DGE ve bu yapıdan elde edilen α -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait FTIR spektrumları

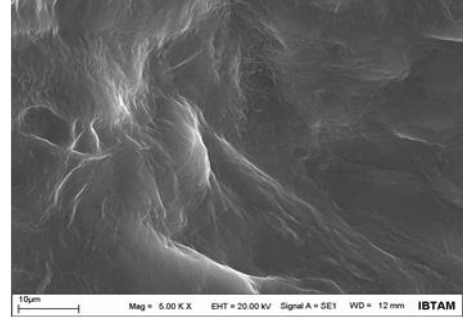
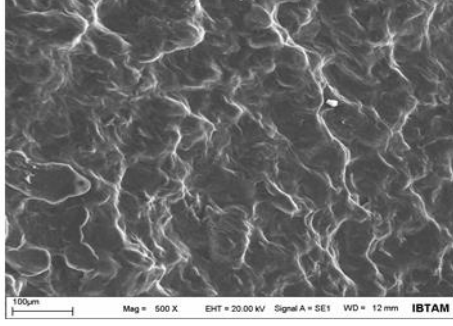
Elde edilen tüm hidrojeller sentez sonrası yapılarında saflaştırma işlemlerinden gelen bir miktar su bulundurlar. Yapıdaki bu nem pek çok yapısal karakterizasyonda özellikle SEM analizlerinde istenmeyen bir durumdur. Bu nedenle SEM analizleri öncesi numuneler liyofilize edilerek kurutulmuştur. Bu tür bir liyofilizasyon işleminin hidrojel yapısına zarar vermeyeceği liyofilizasyon öncesi ve sonrası FTIR spektrumları ve şişme testleri ile kontrol edilmiştir. Liyofilizasyon öncesi ve sonrası FTIR spektrumlarında sadece nem piki azalma tespit edilmiştir. Bu sonuç kimyasal yapının korunduğunu göstermektedir.

Çalışmada gerçekleştirilen SEM analizlerinde PEG 2000 ve α -siklodekstrin temelli hidrojellerin yüzey yapıları yüksek ve düşük büyütme olarak incelenmiştir. Elde edilen sonuçlar Şekil 4.33’de gösterilmiştir. Bu sonuçlara göre hidrojellerin yüzey yapılarının oldukça kaviteli olduğu açıkça görülmektedir. Yüzey yapıları oldukça homojen ve bütünsel görünmektedir.

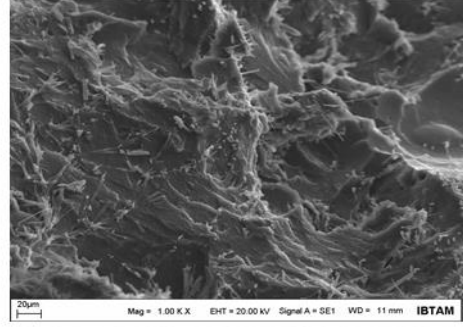
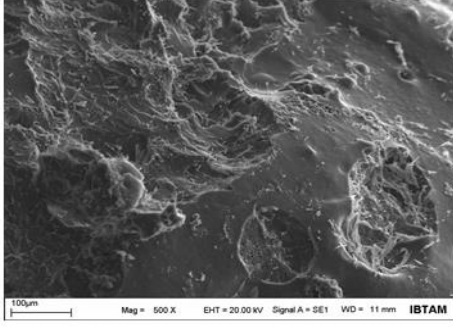
α -SD-PEG-2000-KA



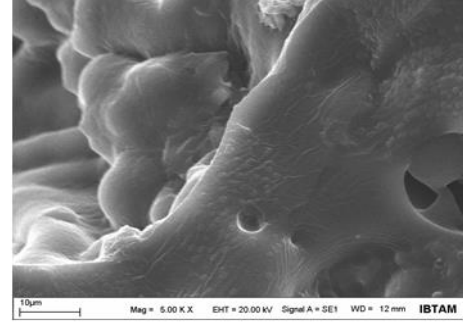
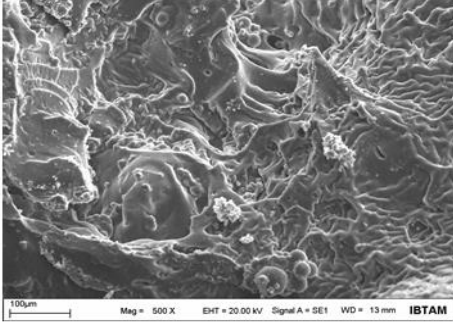
α -SD-PEG-2000-GA



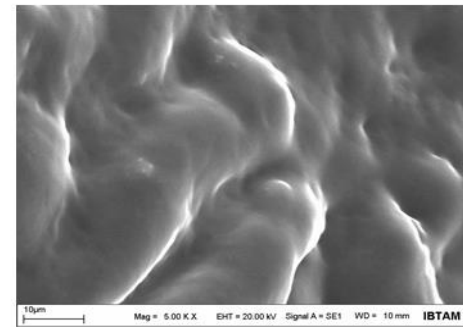
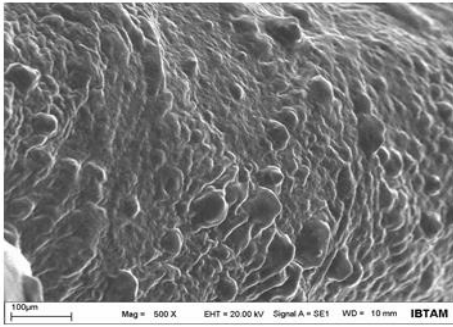
α -SD-PEG-2000-EK



α -SD-PEG-2000-Kuar

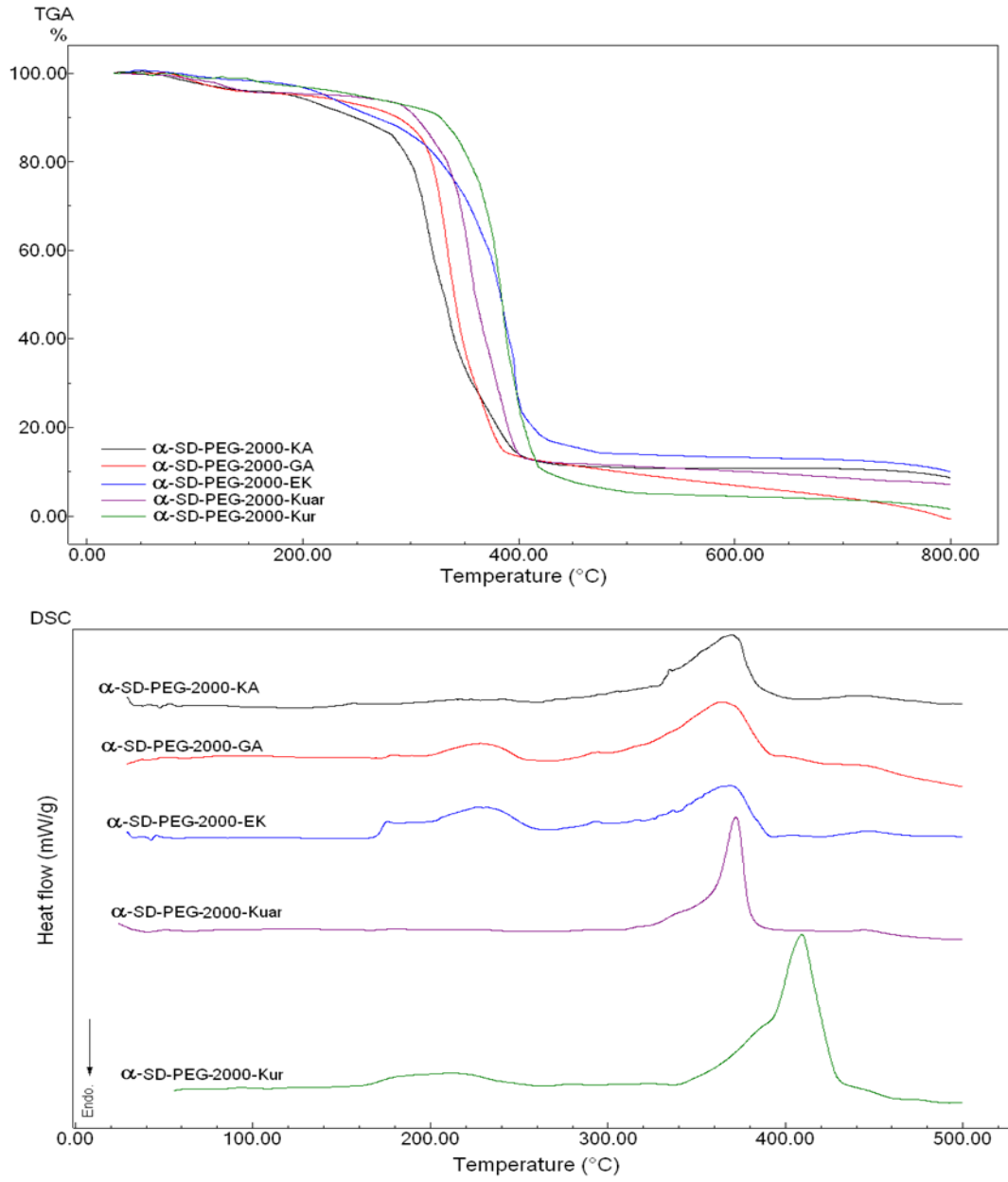


α -SD-PEG-2000-Kur



Şekil 4.33. PEG 2000 ve α -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait SEM görüntüleri

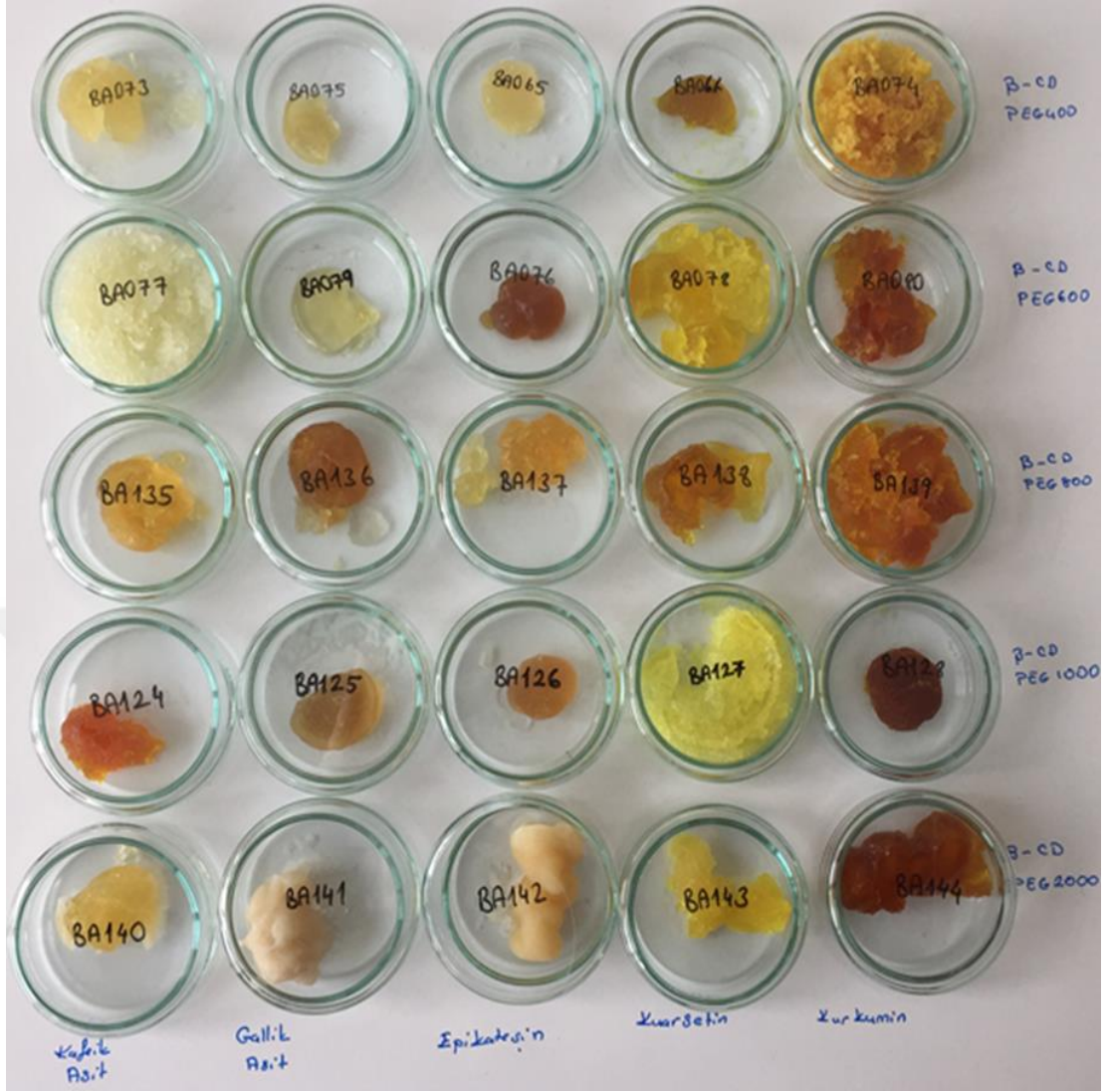
PEG 2000 ve α -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait TGA termogramları Şekil 4.34'de verilmiştir. Bu termogramlarda iki temel kütle kaybı görülmektedir. Bunlardan birincisi 80-120 °C diğeri ise 200-450 °C olarak tespit edilmiştir. İlk kütle kaybı yapıda bulunan ve liyofilizasyon işlemi ile uzaklaştırılamamış olan nemden kaynaklanmaktadır ve yaklaşık olarak % 4-5 civarındadır. İkinci kütle kaybı ise yapının termooksidatif degradasyonundan kaynaklanmaktadır. Bu kütle kaybı DSC termogramlarında paralel olarak ekzotermik pikler olarak görülmektedir.



Şekil 4.34. PEG 2000 ve α -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait TGA ve DSC termogramları

4.4.2. β -Siklodekstrin temelli hidrojel yapılarının karakterizasyonu

β -Siklodekstrin yedi glikoz ünitesinin birbirine bağlanması ile oluşmuş olan halkalı ve konik şekilli bir bileşiktir. 1135 g/mol molekül kütlesine ve 21 adet serbest -OH grubuna sahiptir. Diğer siklodekstrinler arasında endüstriyel olarak en çok kullanılan ve en ucuz olan siklodekstrin yapısıdır. Bunun nedeni β -siklodekstrin yapısının suda çözünürlüğünün az olması ve üretimi sırasında kolayca çöktürülerek ortamdan ayrılabilmesidir. Çözünürlüğünün az olmasının nedeni su molekülleri ile H-bağı yapma yeteneğinin az olmasından kaynaklanır. Molekülün geometrik yapısında siklodekstrinin glukopiranoz ünitesinin kendi 2 numaralı karbonu ile 3 numaralı karbonu hidrojen bağı köprüsü yapar bu nedenle su ile hidrojen bağı yapamaz. α -siklodekstrin yapısında ise molekülde 6 glukoz ünitesi olduğu için kendi içinde 6 yerine ancak 4 hidrojen bağı yapar ve diğer OH grupları su ile hidrojen bağı yaparak çözünürlüğü artırır. γ -siklodekstrin yapısı ise esnek bir yapıya sahip olduğu için çözünürlüğü en yüksek olan yapıdır. Maliyet olarak oldukça uygun olan β -siklodekstrin yapısı pek çok ilaç yapısında kullanılmaktadır. Biyouyumlu ve toksik özelliği olmayan bir bileşiktir. Yapılan çalışmada β -siklodekstrin ve farklı molekül kütlelerinde PEG yapıları kullanılarak 25 çeşit hidrojel yapısı hazırlanmıştır. Bu yapılar KA, GA, Ek, Kuar ve Kur içerecek şekilde çeşitlendirilerek yapısal farklılık sağlanmıştır. β -Siklodekstrin kullanılarak elde edilen hidrojel yapıları Şekil 4.35’de verilmiştir. Bu hidrojeller oldukça esnek, dayanıklı ve yüksek şişme özelliğine sahiptir. İki tanesi hariç şeffaf görünümlüdür. Şişme durumunda şeffaf görünüm artmaktadır. Tek parça olarak şişip büzölmektedirler. Yapılarındaki polifenollere bağlı olarak renkleri değişkenlik göstermektedir. Reaksiyon verimleri genellikle yüksektir. Kararlılıkları artan çapraz bağlanma oranına göre yükselir.



Şekil 4.35. Sentezlenen β -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait genel görünüm

Elde edilen hidrojeller FTIR, SEM ve Termal Analiz yöntemleriyle karakterize edilmiştir. Bu karakterizasyon sonuçları detaylı olarak verilmiştir.

4.4.2.1. PEG 400 ve β -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarının karakterizasyonu

Elde edilen hidrojel yapısında esnek PEG 400 üniteleri ve çapraz bağlayıcı β -siklodekstrin yapıları kullanılarak elde edilen hidrojellerde yapısal çeşitlilik kullanılan polifenol türünün değiştirilmesi ile sağlanmıştır. Beş farklı polifenol ile elde edilen hidrojellerin yakınlştırılmış görüntüleri Şekil 4.36'da verilmiştir. Bu şekillerden görüldüğü gibi hidrojellerin jel yapıları açıktır. Oldukça esnek ve homojendir. Reaksiyon verimleri diğer PEG'lerden elde edilen hidrojellere göre daha düşüktür.

Elde edilen jel yapıları sentez sonrasında reaksiyon kabında tek parça ve bütün olarak elde edilmektedir. Bu hidrojeller gerekli analizlerin yapılabilmesi için parçalanarak reaksiyon kabından çıkarılmaktadır. Şekil 4.36’da gösterilen fotoğraflar analizler için numune alınıp yapı doğrulandıktan sonra çekilmiştir. Bu nedenle bazı numuneler oldukça azalmış durumdadır.

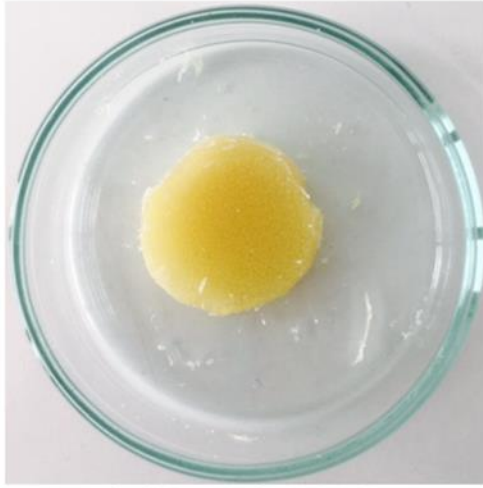




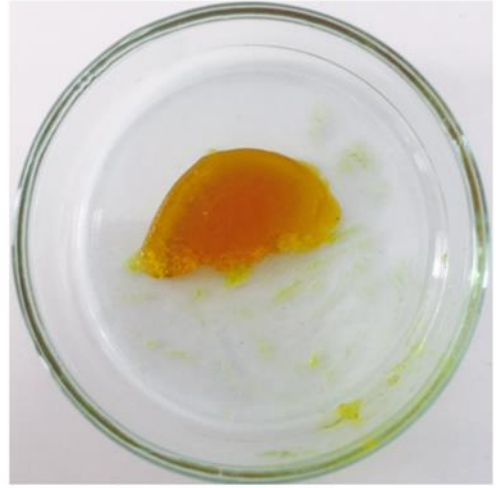
β -SD-PEG400-KA



β -SD-PEG400-GA



β -SD-PEG400-Ek



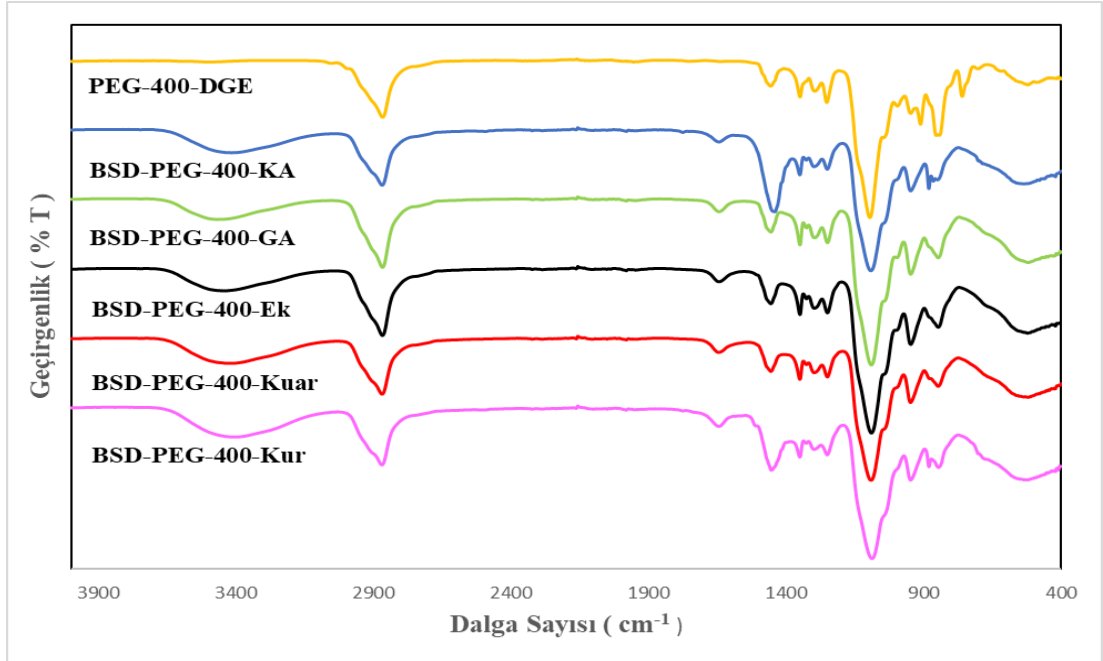
β -SD-PEG400-Kuar



β -SD-PEG400-Kur

Şekil 4.36. PEG 400 ve β -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait fotoğraflar

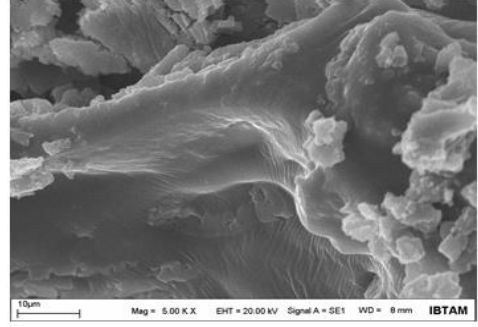
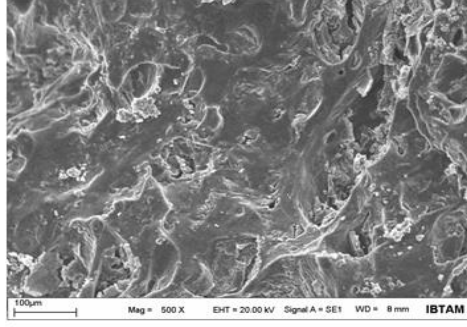
PEG-400-DGE ve bu yapıdan elde edilen β -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait FTIR spektrumları Şekil 4.37’de verilmiştir. Bu analizlerde ATR tekniği kullanılmış olup tüm spektrumlarda PEG, siklodekstrin ve polifenol ünitelerinden gelen pikler açıkça görülmektedir. Bu FTIR spektrumlarında hidrojel yapısındaki PEG gruplarına bağlı olarak alifatik C-H gerilme, C-O-C eterik gerilme ve C-O gerilme titreşimleri $2840-3050\text{ cm}^{-1}$ ’de, 1170 cm^{-1} ’de ve 1050 cm^{-1} ’de görülmektedir. Siklodekstrin yapısından kaynaklanan glikoz ünitelerine ait pikler 2950 cm^{-1} alifatik C-H omuz piki, 1650 cm^{-1} serbest OH piki, 1465 cm^{-1} C-H gerilme piki ve 1413 cm^{-1} ’de C-O-C pikleri görülmektedir. Polifenol grupları ise diğer ana üniteler yanında miktar olarak az olduklarından dolayı pikleri daha zayıf olarak görülmektedir. Yinede detaylı inceleme yapıldığında özellikle aromatik ünitelerden kaynaklı C-H ve C=C pikleri 1225 ve 1450 cm^{-1} ’de görülmektedir. Hidrojel sentezinde epoksi fonksiyonel PEG yapısı kullanılması sonucunda bu epoksit halkaları bazik ortamda polifenol ve siklodekstrinin –OH grupları ile etkileşerek açılmış ve bir ağ yapısı elde edilmiştir. Bu ağ yapının analizinde PEG-400-DGE yapısında bulunan epoksit ünitelerine ait pikler olan 845 cm^{-1} ’deki epoksit halkası eğilme piki ve 755 cm^{-1} ’deki epoksit halkası C-H eğilme piki kaybolmuştur. Bu durum halkanın açılarak istenilen hidrojel yapısının oluştuğunu ispatlamaktadır.



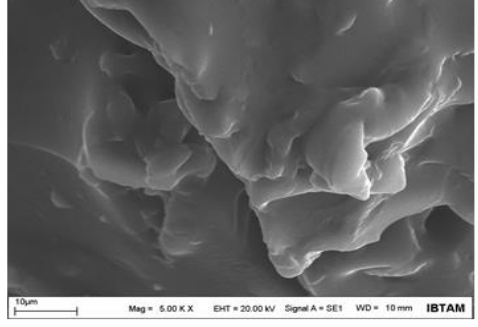
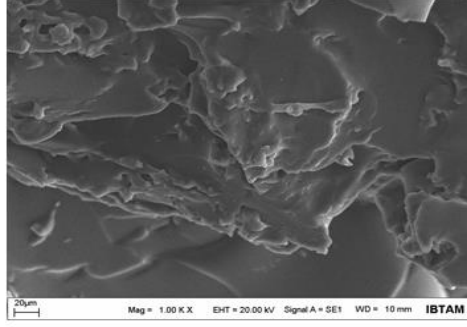
Şekil 4.37. PEG-400-DGE ve bu yapıdan elde edilen β -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait FTIR spektrumları

PEG 400 ve β -siklodekstrin kullanılarak elde edilen hidrojellerin SEM görüntüleri Şekil 4.38’de verilmiştir. Bu görüntüler incelendiğinde yapıların düşük büyütmede oldukça kaviteli ve pürüzlü olduğu yüksek büyütmelerde doğal hidrojel yapılarına benzer bir yüzey görüntüsü bulunduğu görülmektedir. Farklı kurutma yöntemlerinin kullanılması hidrojellerin yüzey görüntülerini etkilemektedir. Özellikle kritik noktada kurutma kullanımı, liyofilizasyon kullanımı ve geleneksel kurutma ile farklı yüzey yapıları elde edilmektedir. Bunun nedeni hidrojel yapıların esnek oluşu ve kuruma sırasındaki istiflenme yoğunluğunun kolayca değişebilmesidir. Geleneksel etüvde kurutma yönteminde yapı çok sık istiflenmektedir. Yüzey kavileri ve porozitelerinin SEM’de görüntülenebilmesi için en uygun yöntem kritik noktada kurutma yöntemi olmasına rağmen çalışmada pek çok numune olması çalışmaya oldukça yüklü bir maliyet oluşturacağı için ücretsiz olarak kullanılan liyofilizasyon cihazı ile kurutmalar sağlanarak SEM analizleri gerçekleştirilmiştir. Bu yöntemde literatür açısından uygun ve sık kullanılan bir yöntemdir (Malik vd., 2017).

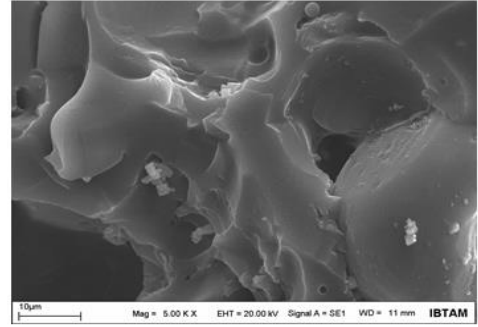
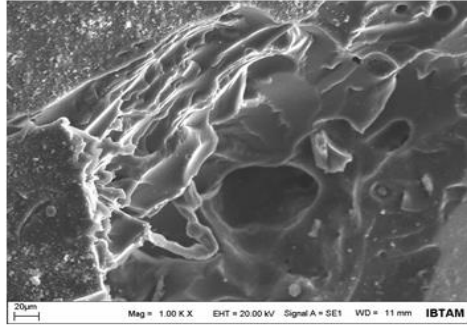
β -SD-PEG-400-KA



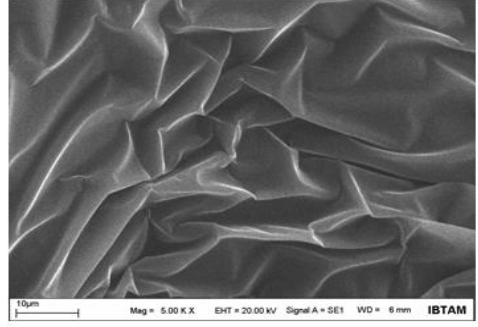
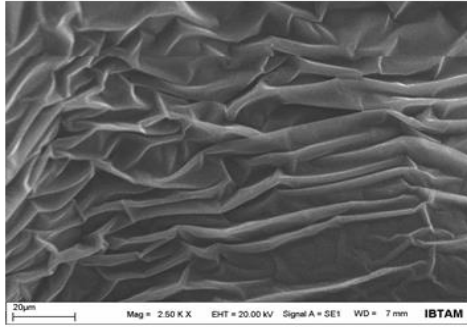
β -SD-PEG-400-GA



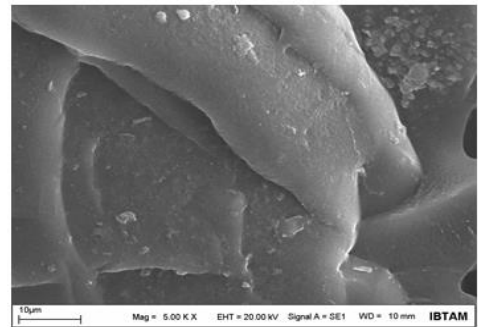
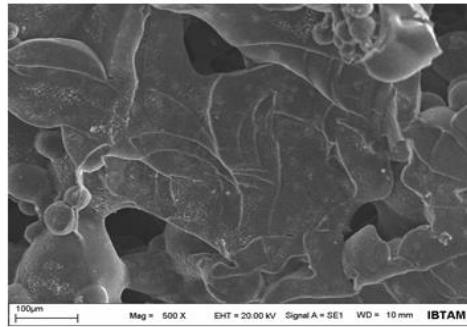
β -SD-PEG-400-EK



β -SD-PEG-400-Kuar

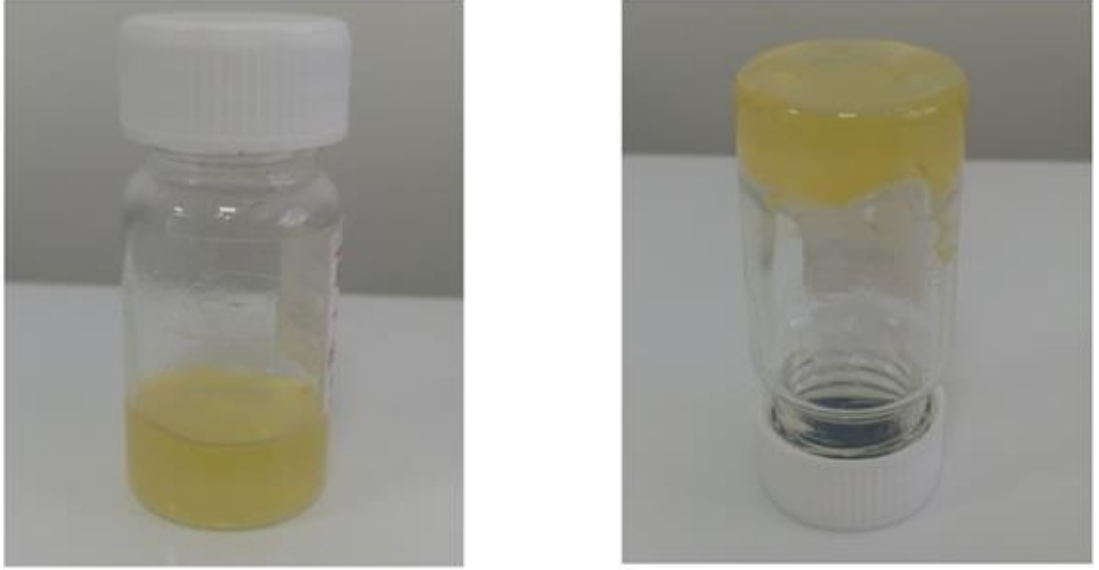


β -SD-PEG-400-Kur



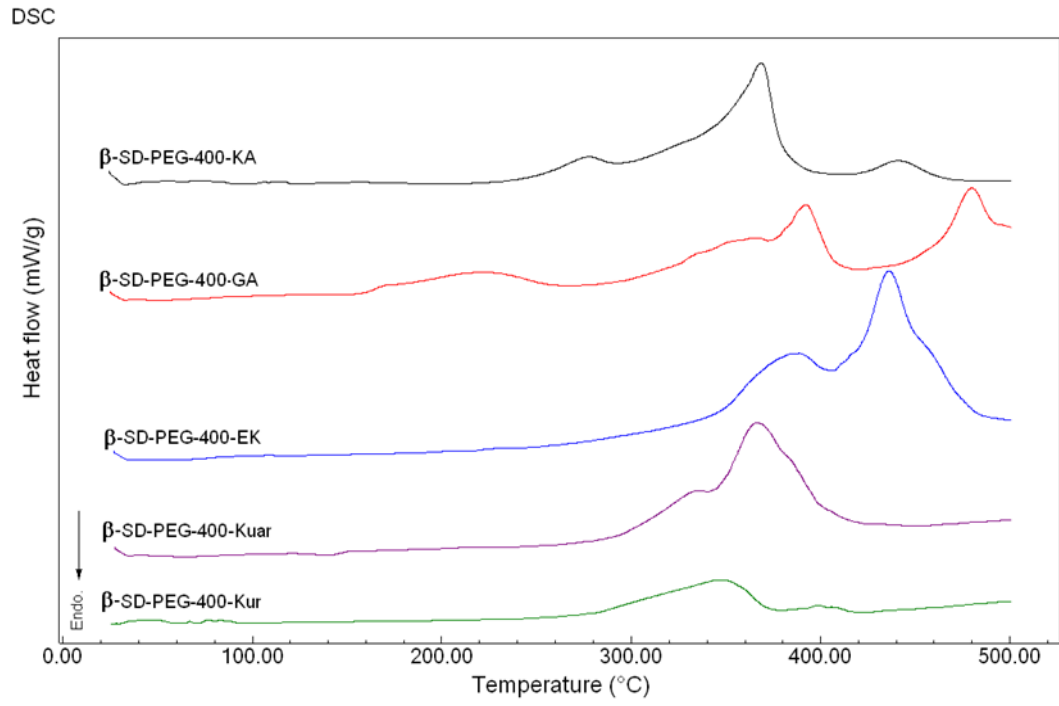
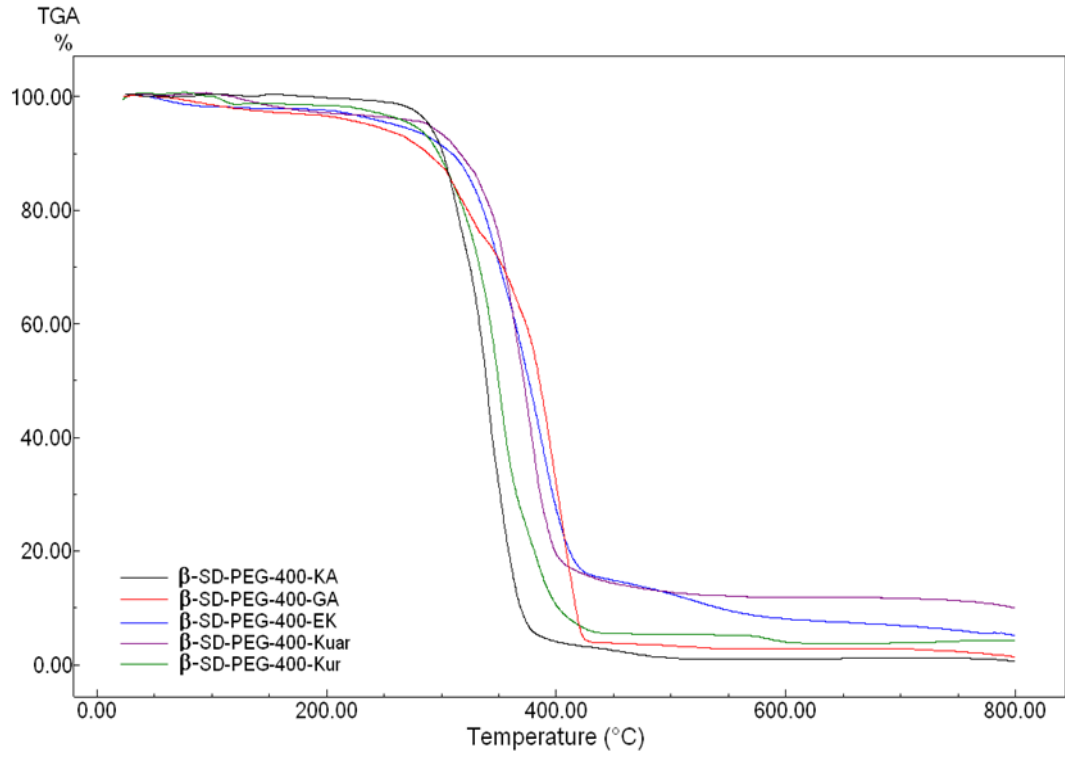
Şekil 4.38. PEG 400 ve β -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait SEM görüntüleri

Sentez sonrasında ele geçen ürün bütün ve şişmiş vaziyette bir jel görünümündedir (Şekil 4.39).



Şekil 4.39. Sentez sonrası elde edilen hidrojin görüntüsü

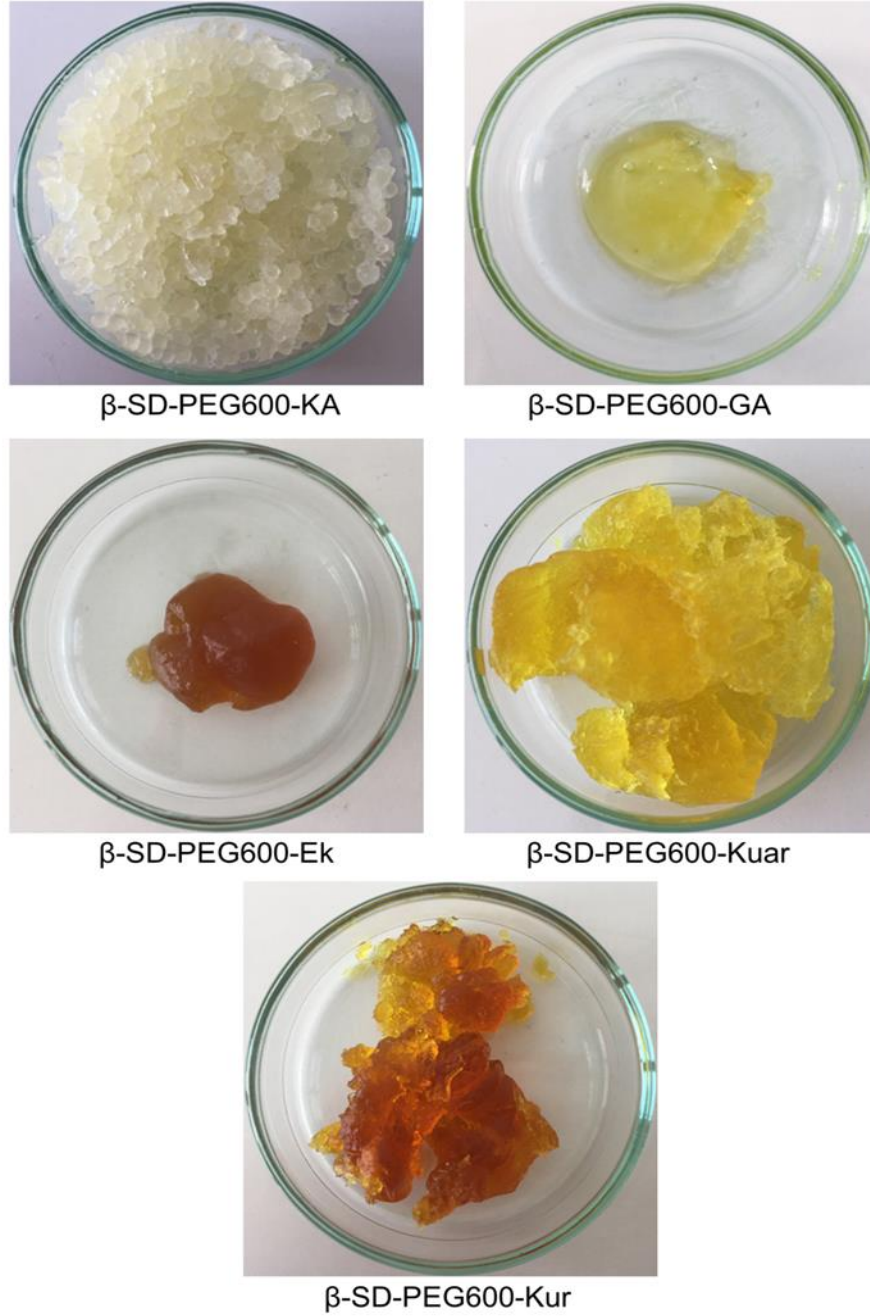
PEG 400 ve β -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait termal analiz sonuçları Şekil 4.40’da DSC ve TGA termogramları ile verilmiştir. Bu termogramlara göre hidrojeller yaklaşık 250 °C’ye kadar ısıl kararlı görünmektedir. Ayrıca DSC termogramlarında termal bozunma piki yaklaşık 260 °C civarında başlamaktadır.



Şekil 4.40. PEG 400 ve β -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait TGA ve DSC termogramları

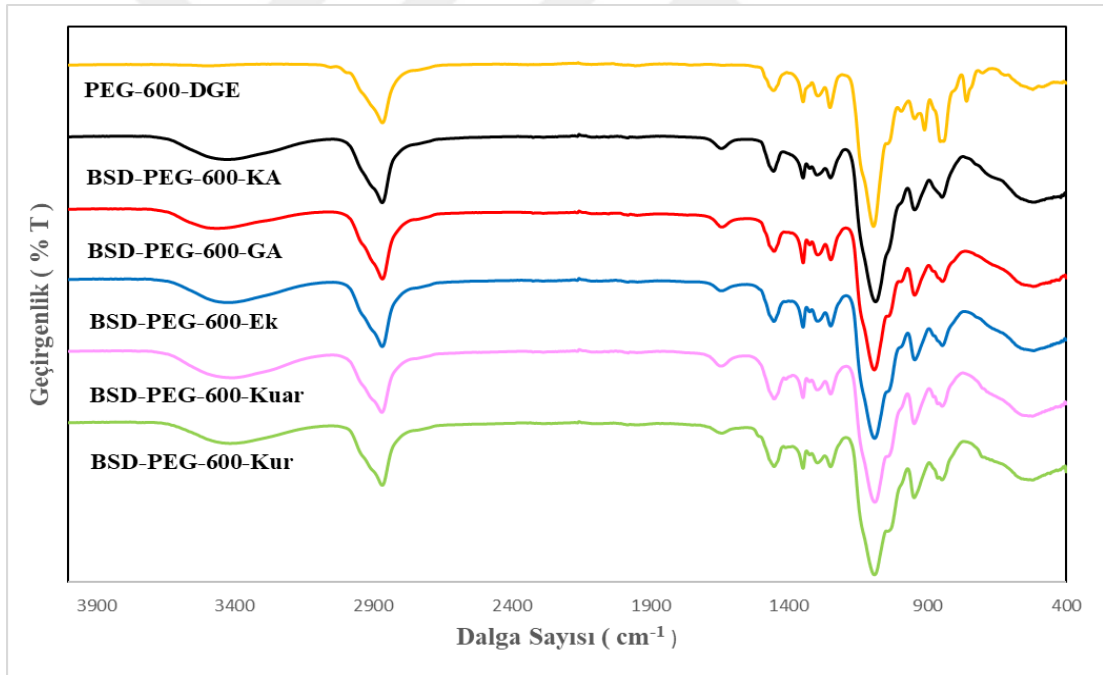
4.4.2.2. PEG 600 ve β -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarının karakterizasyonu

PEG 600, β -siklodekstrin ve farklı polifenoller kullanılarak elde edilen hidrojeller parlak homojen ve jel görünümlüdür, oldukça esnektir ve kolayca şişmektedir. Reaksiyon verimleri PEG-400 kullanılarak elde edilen hidrojellere göre daha yüksektir. Bu hidrojellerin genel görüntüleri Şekil 4.41’de verilmiştir.



Şekil 4.41. PEG 600 ve β -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait fotoğraflar

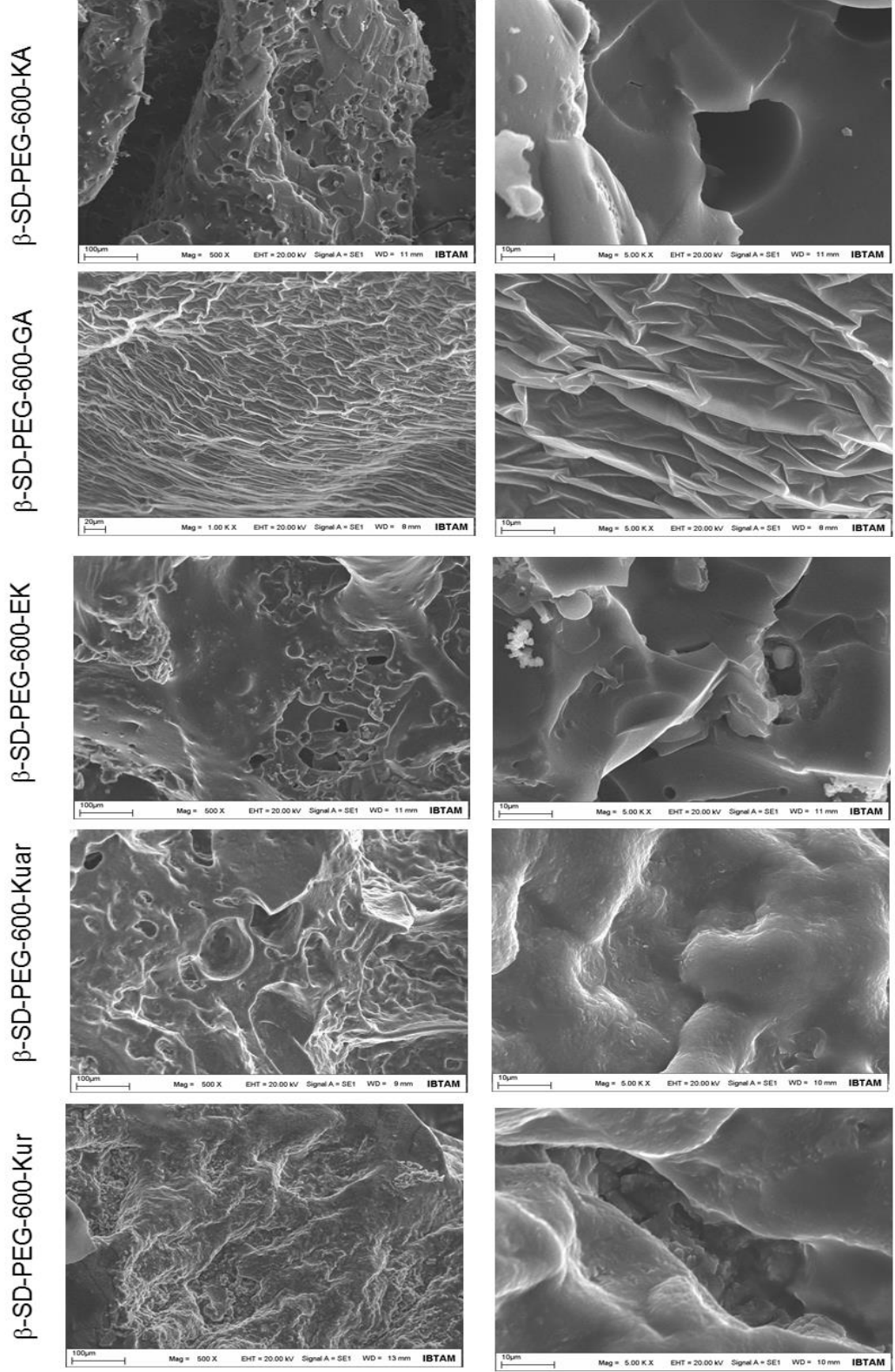
PEG-600-DGE ve bu yapıdan elde edilen β -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait FTIR spektrumları Şekil 4.42’de verilmiştir. Bu spektrumlara göre hidrojel yapısındaki PEG gruplarına bağlı olarak 2840-3050 cm^{-1} ’de alifatik C-H gerilme, 1170 cm^{-1} ’de C-O-C eterik gerilme ve 1050 cm^{-1} ’de C-O gerilme titreşimleri görülmektedir. Siklodekstrin yapısından kaynaklanan 2950 cm^{-1} alifatik C-H omuz piki, 1650 cm^{-1} serbest OH piki, 1465 cm^{-1} C-H gerilme piki ve 1413 cm^{-1} ’de C-O-C pikleri görülmektedir. Polifenollere ait pikler PEG yapılarına göre miktar olarak az kullanılmasından dolayı daha zayıf olarak görülmektedir. Yinede detaylı inceleme yapıldığında özellikle aromatik ünitelerden kaynaklı C-H ve C=C pikleri 825 ve 1505 cm^{-1} ’de görülmektedir. Ayrıca hidrojel oluşumunda PEG-600-DGE yapısındaki epoksit halkasının temel pikleri olan 845 cm^{-1} ’deki epoksit halkası eğilme piki ve 759 cm^{-1} ’deki epoksit halkası C-H eğilme piki kaybolmuştur. Bu durum halkanın açılarak istenilen hidrojel yapısının oluştuğunu göstermektedir.



Şekil 4.42. PEG-600-DGE ve bu yapıdan elde edilen β -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait FTIR spektrumları

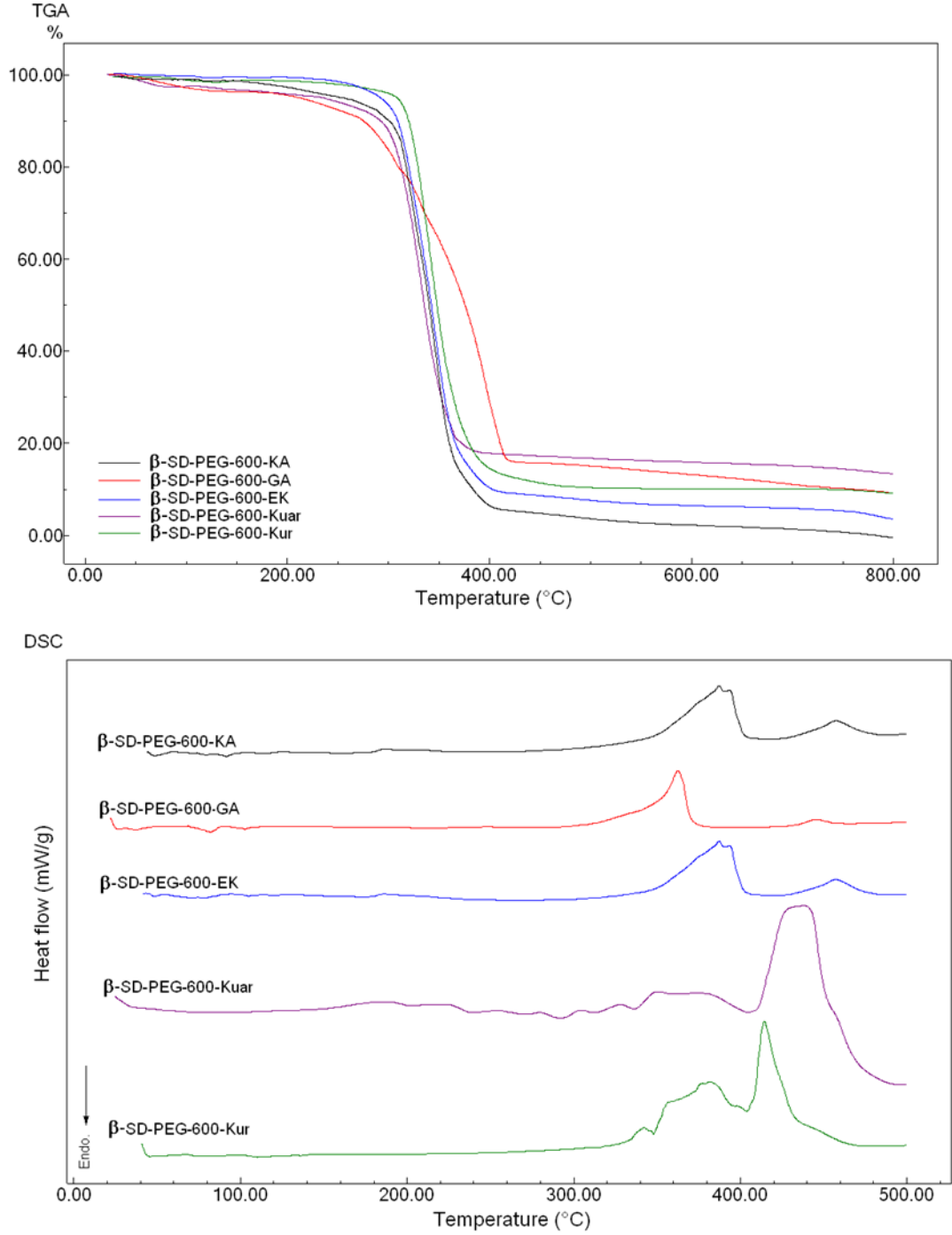
PEG 600 ve β -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait SEM görüntüleri düşük ve yüksek büyütme olarak Şekil 4.43’de verilmiştir. Bu şekillerde hidrojel yapılarının yüzey kavileri ve gözenek yapıları açıkça görülmektedir. β -SD-PEG-

600-KA, β -SD-PEG-600-Ek ve β -SD-PEG-600-Kuar yapıları oldukça gözenekli yapılardır. Çok hızlı bir şekilde şişer ve pek çok medikal uygulama için elverişlidir.



Şekil 4.43. PEG 600 ve β -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait SEM görüntüleri

Sentezlenen PEG 600 temelli hidrojellerin termal özellikleri TGA ve DSC termogramları ile detaylı olarak incelenmiştir. Hidrojel yapılarının ısıl kararlılıkları ve ısıl bozunma süreçleri takip edilmiştir. Termal analiz sonuçları Şekil 4.44’de verilmiştir.



Şekil 4.44. PEG 600 ve β-siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait TGA ve DSC termogramları

Bu analiz sonuçlarına göre PEG-600 ve β -siklodekstrin temelli hidrojenlerin termal kararlılıklarının yaklaşık olarak 300 °C civarında olduğu görülmektedir. Ayrıca bu değerden başlayarak 400 °C'ye kadar keskin bir kütle kaybı vererek bozunduğu görülmüştür. DSC termogramları TGA termogramlarını doğrular şekilde belirgin ve net tek bir ekzotermik bozunma piki vermektedir.

4.4.2.3. PEG 800 ve β -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarının karakterizasyonu

Çapraz bağlayıcı üniteler olarak β -siklodekstrin kullanılarak PEG 800 temelli hidrojenler yapısal olarak yumuşak, esnek, homojen ve dayanıklıdır. Bu hidrojel yapıları Şekil 4.45'de verilmiştir. Elde edilen PEG 800 temelli hidrojenler bütün olarak şişmekte ve dağılmamaktadır. Farklı polifenol içeren tüm yapıları benzer özellikler göstermektedir. Sadece Kur içeren hidrojenlerin rengi daha koyu olarak elde edilmiştir. Reaksiyon verimi yüksektir. Tüm bu olumlu özelliklerinden dolayı pek çok biyomedikal uygulama için uygun ve elverişlidir.

PEG-800-DGE ve bu yapıdan elde edilen β -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait FTIR spektrumları Şekil 4.46'da verilmiştir. Bu spektrumlarda 3394-3600 cm^{-1} aralığında serbest olarak bulunan O-H gerilme titreşimi bir band olarak görülmektedir. Reaksiyon sonrasında bu pikin bulunması hidrojel yapısının yüzey hidrofilikliğini koruduğunu ve yüzey özelliklerini doğrulamaktadır. Bu hidrojel yapılarında 2950 cm^{-1} 'de C-H gerilme, 1085 ve 1018 cm^{-1} 'de C-H ve C-O gerilme titreşimleri görülmektedir. Bu pikler yapıda bulunan siklodekstrin gruplarından kaynaklanmaktadır. 2950 cm^{-1} 'deki pik oldukça geniş ve şiddetlidir. Bunun nedeni yapıdaki PEG ünitelerindeki C-H gerilme titreşimleri siklodekstrin yapısındaki alifatik C-H bağları ile birlikte soğurum yaparak bu pikin şiddetlenmesini sağlamaktadır. 1172 cm^{-1} 'de şiddetli bir eterik C-O-C gerilme piki bulunmaktadır. Bu pik yapıdaki PEG ünitelerinden kaynaklanmaktadır. Ayrıca, Şekil 4.46'daki FTIR spektrumlarındaki farklılıklar 800-1000 cm^{-1} aralığında belirgin olarak görülmektedir. Farklı olarak 1681 cm^{-1} , 1600 cm^{-1} ve 825 cm^{-1} sırası ile C=O, C=C ve C-H aromatik gerilme titreşimleri görülmektedir. Bu pikler yapıdaki KA gruplarının varlığını göstermektedir. Ayrıca PEG-800-DGE yapısında bulunan 950-810 cm^{-1} 'deki epoksit halkası eğilme titreşimi ve 840-750 cm^{-1} 'deki epoksit halkası C-H eğilme titreşimlerinin kaybolması (Erdik, 2007) epoksit halkasının açılarak istenilen hidrojel yapısının elde edildiğini ispatlamaktadır.



β -SD-PEG800-KA



β -SD-PEG800-GA



β -SD-PEG800-Ek



β -SD-PEG800-Kuar

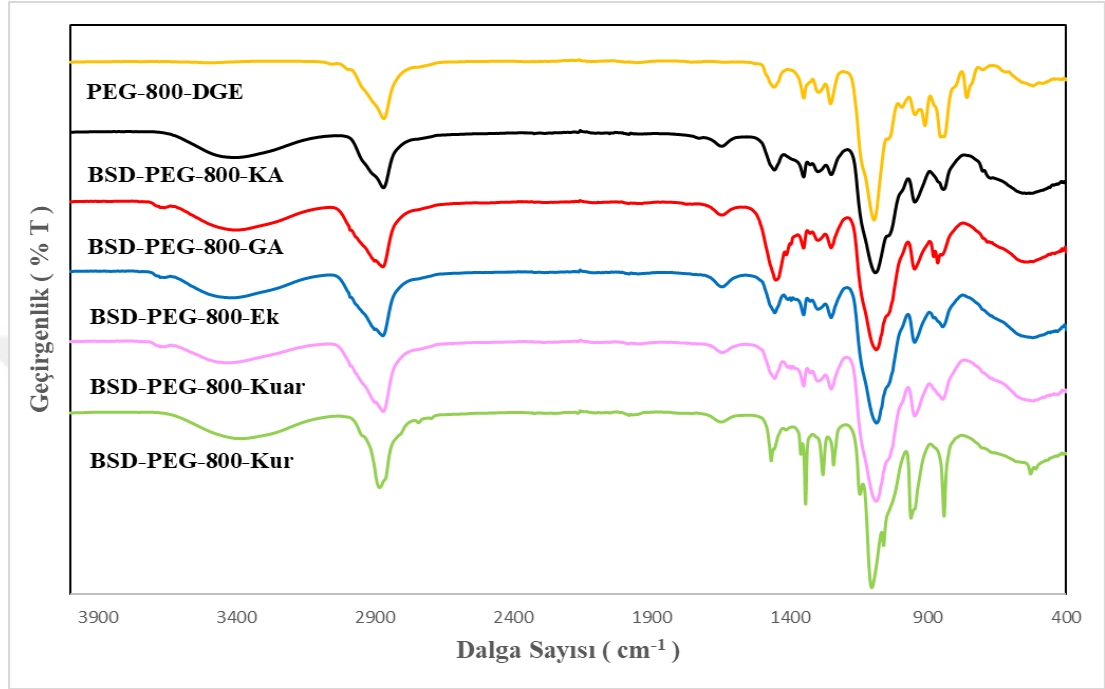


β -SD-PEG800-Kur

Şekil 4.45. PEG 800 ve β -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait fotoğraflar

GA yapısında farklı olarak gallik asidin aromatik fenil grubundan kaynaklı aromatik C-H gerilme titreşimi zayıf bir titreşim olarak görülmektedir. Ek içeren

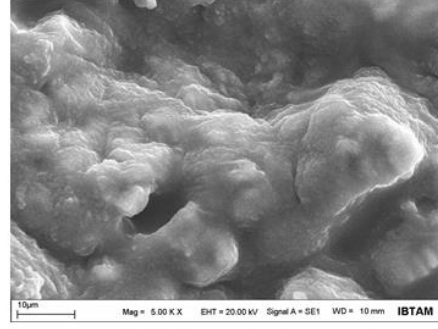
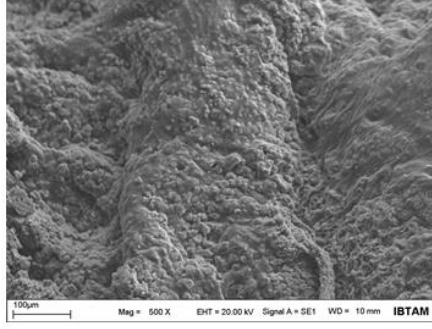
hidrojel yapısında benzer olarak yine aromatik C-H gerilme titreşimi görülmektedir. Kuar yapısı moleküler olarak Ek'e benzemektedir. Bu nedenle FTIR spektrumlarında benzemektedir. Yapısal olarak farklı olan kurkumin kullanılarak sentezlenen β -SD-PEG-800-Kuar yapısının FTIR spektrumunda ise daha şiddetli pikler görülmüştür.



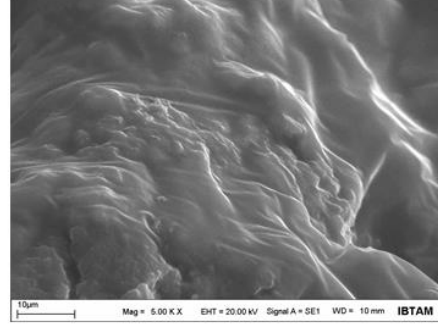
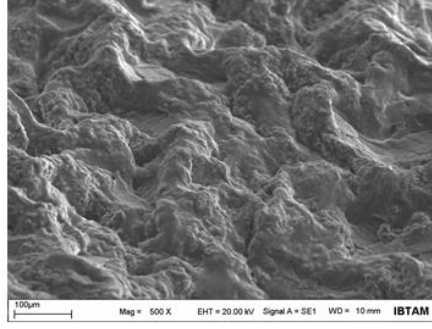
Şekil 4.46. PEG-800-DGE ve bu yapıdan elde edilen β -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait FTIR spektrumları

PEG 800 ve siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait SEM görüntüleri Şekil 4.47' de, aynı hidrojellere ait termal analiz sonuçları Şekil 4.48'de verilmiştir. İlgili SEM görüntüleri literatürle uyum içerisinde olup hidrojel morfolojilerine uygundur.

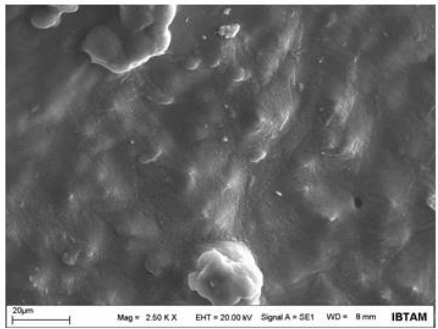
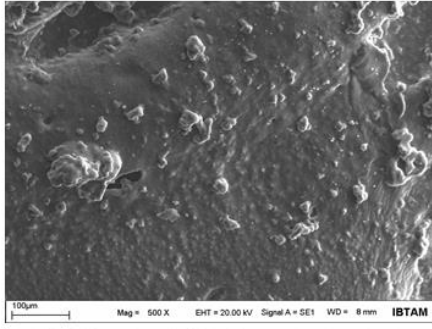
β -SD-PEG-800-KA



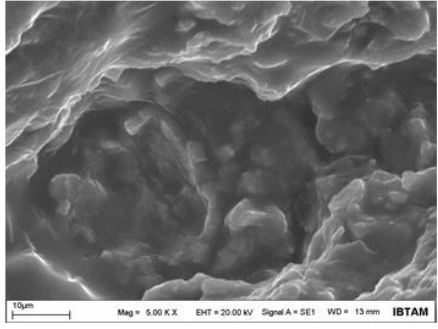
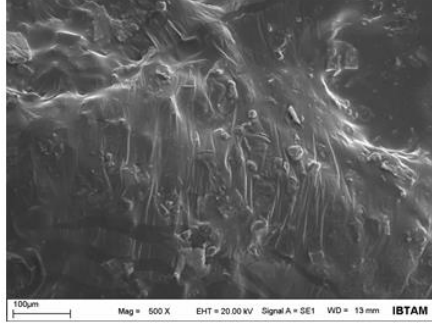
β -SD-PEG-800-GA



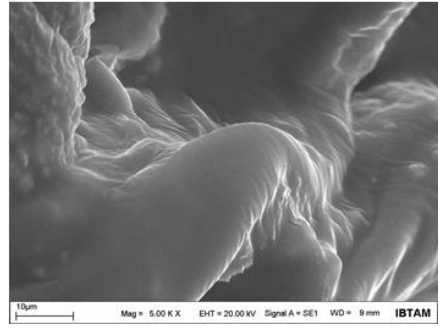
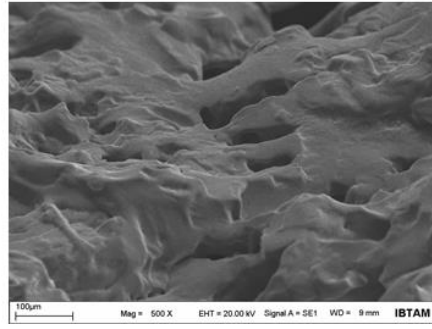
β -SD-PEG-800-EK



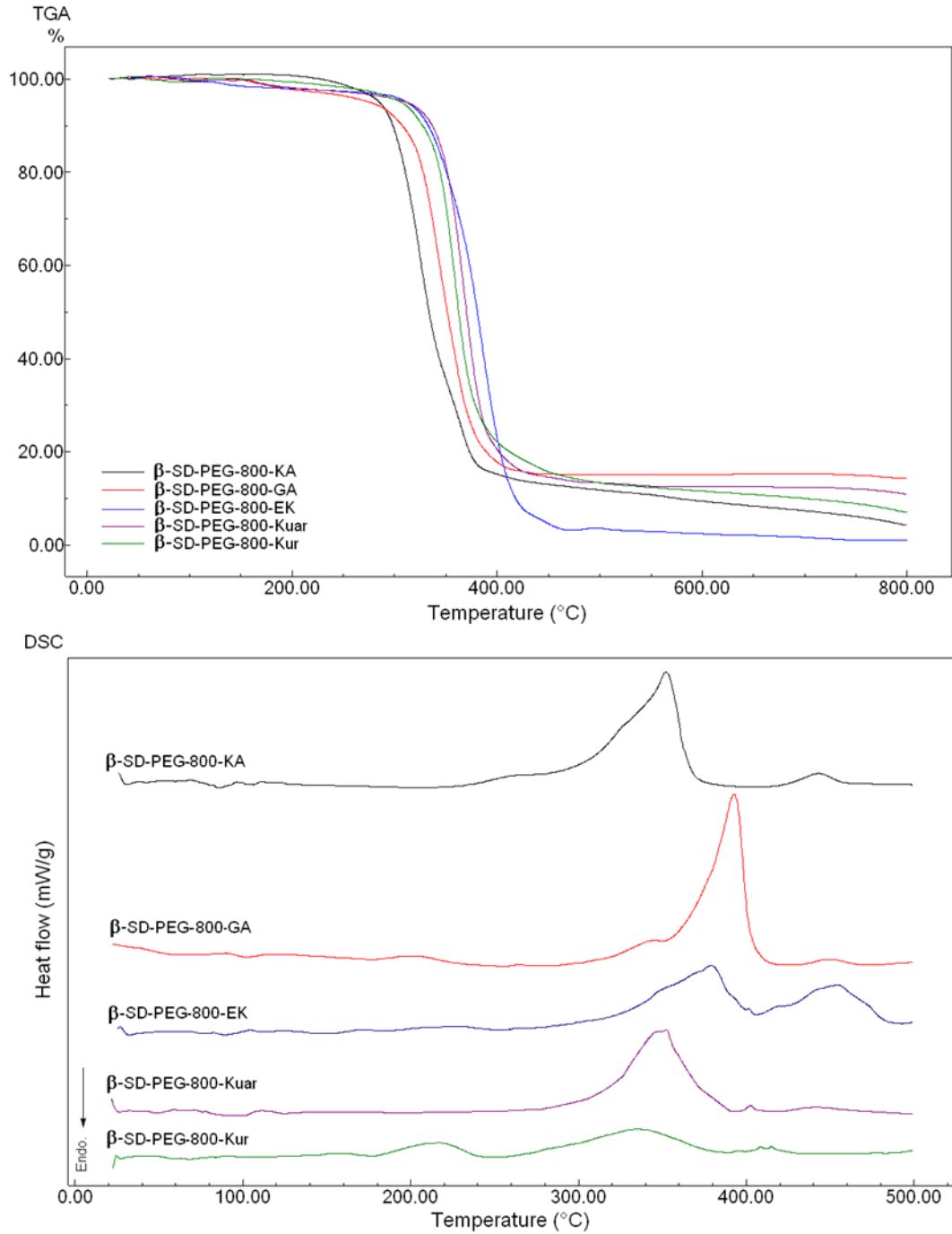
β -SD-PEG-600-Kuar



β -SD-PEG-800-Kur



Şekil 4.47. PEG 800 ve β -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait SEM görüntüleri



Şekil 4.48. PEG 800 ve β -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait TGA ve DSC termogramları

Bu analiz sonuçlarına göre PEG-800 ve β -siklodekstrin temelli hidrojellerin termal kararlılıklarının yaklaşık olarak 290 °C civarında olduğu görülmektedir. Ayrıca bu değerden başlayarak 400 °C'ye kadar keskin bir kütle kaybı vererek bozunduğu görülmüştür. DSC termogramları TGA termogramlarını doğrular şekilde belirgin ve net tek bir ekzotermik bozunma piki vermektedir.

4.4.2.4. PEG 1000 ve β -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarının karakterizasyonu

Elde edilen hidrojel yapısının büyük çoğunluğu PEG gruplarından oluşmasına rağmen yapıda siklodekstrin çapraz bağlayıcı olarak görev yapmaktadır. Bu yapıların genel görünümü Şekil 4.49’da verilmiştir. Bu hidrojel yapılarından β -SD-PEG-1000-KA yapısının dağınık ve bütünsel olmadığı diğer yapıların ise istenildiği gibi bütünsel homojen ve esnek olduğu görülmektedir. β -SD-PEG-1000-Kuar yapısı da aşırı esnek ve yapışkan özellikte elde edilmiştir. Bu nedenle PEG 1000 yapısı ile hazırlanan hidrojellerin Asherman sendromu uygulamalarında sadece üç tanesi kullanılabilir. Çünkü rahim kanalına yapılacak tek bir enjeksiyon ile bırakılan hidrojelin kanalda bütünsel olarak durması gerekmektedir. Eğer parçalanırsa rahim kanalından hızlıca atılır. Diğer sorun ise aşırı adhesiv olması durumunda ise rahim duvarına yapışarak orada bulunan hücrelere zarar verebilir. Hatta oradaki hücrelerin nekroza girmesine neden olabilir. Bu da istenmeyen diğer bir durumdur.



β -SD-PEG1000-KA



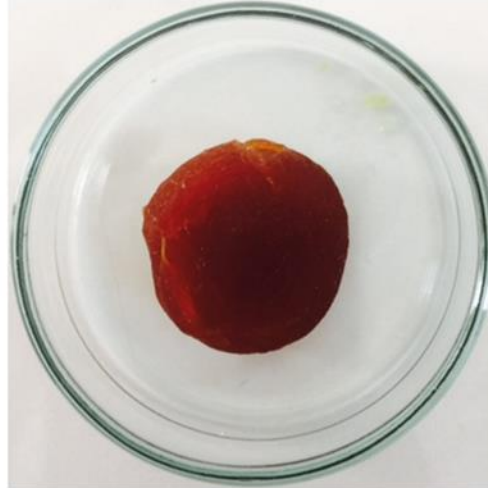
β -SD-PEG1000-GA



β -SD-PEG1000-Ek



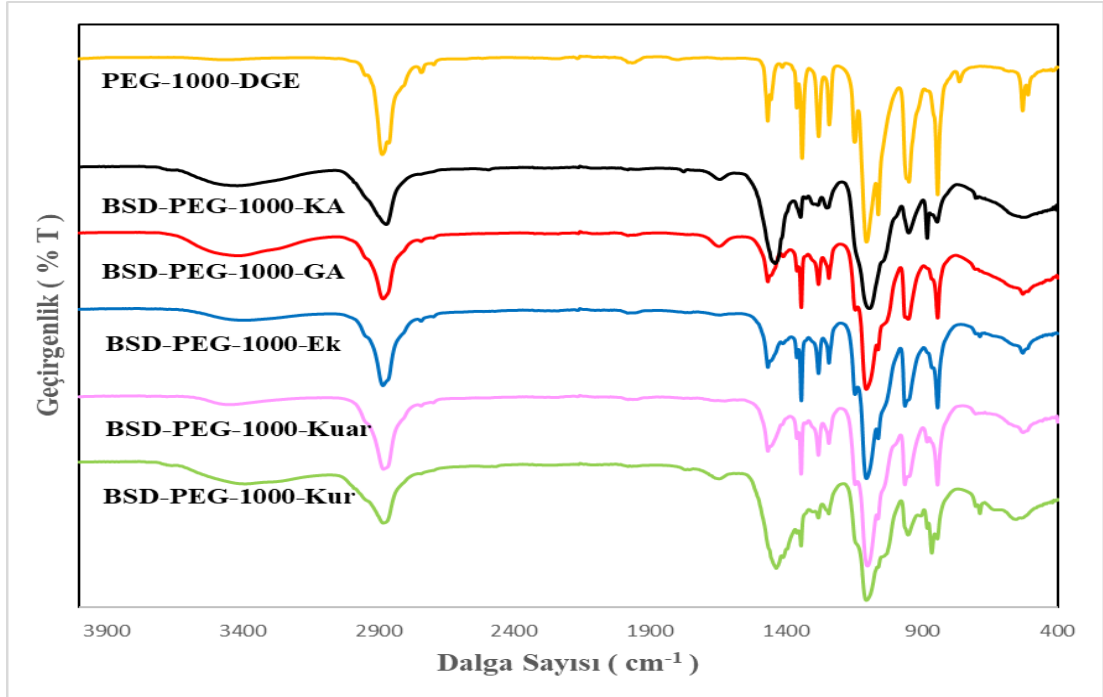
β -SD-PEG1000-Kuar



β -SD-PEG1000-Kur

Şekil 4.49. PEG 1000 ve β -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait fotoğraflar

Sentezlenen PEG-1000-DGE ve bu yapıdan elde edilen β -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait FTIR spektrumları Şekil 4.50’de verilmiştir. Bu spektrumlarda öncelikle epoksit halkasının açılıp açılmadığı incelenmiştir. PEG-1000-DGE yapısında bulunan 837 cm^{-1} epoksit halkası asimetrik eğilme titreşimi ve 755 cm^{-1} ’de epoksit halkasındaki CH_2 gruplarına ait C-H eğilme titreşimleri ve 1238 cm^{-1} ’de epoksit halkası C-O-C pikleri görülmektedir (Şekil 4.50) (Motavie vd. 2010). Elde edilen hidrojel yapılarına ait FTIR spektrumlarında bu piklerin hiç birinin bulunmadığı görülmektedir. Bu durum epoksit halkasının açılarak siklodekstrin ve polifenollerin OH grupları ile bağlandığını göstermektedir. Bu bağlanma sonrasında oluşan hidrojel yapısında siklodekstrin gruplarına ait pikler görülmektedir. 1020 cm^{-1} ’de siklodekstrin yapısındaki C-O gerilme titreşimi 1100 cm^{-1} ’deki C-O-C eterik pikinin yanında bir omuz piki olarak görülmektedir. Ancak siklodekstrin yapısının klasik pikleri olan 2980 cm^{-1} ’deki alifatik C-H gerilme titreşimi ile 1085 cm^{-1} ’deki C-H titreşimleri genişlemiş olan PEG yapısının benzer pikleri ile kaynaşmıştır. Bu nedenle bu pikler görünmemektedir. Polifenol yapılarından kaynaklanan 1681 cm^{-1} , 1600 cm^{-1} ve 825 cm^{-1} sırası ile C=O, C=C ve C-H aromatik gerilme titreşimleri görülmektedir. Tüm bu pikler istenilen PEG-1000- β -siklodekstrin-polifenol yapıli hidrojellerin elde edildiğini ispatlamaktadır.

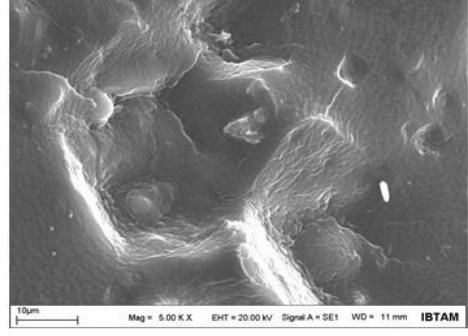
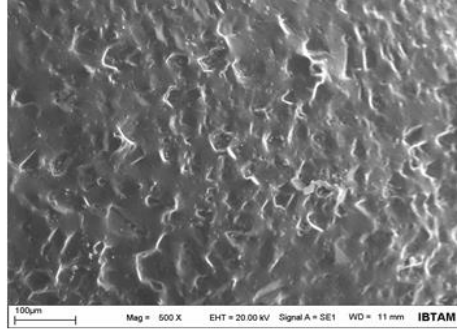


Şekil 4.50. PEG-1000-DGE ve bu yapıdan elde edilen β -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait FTIR spektrumları

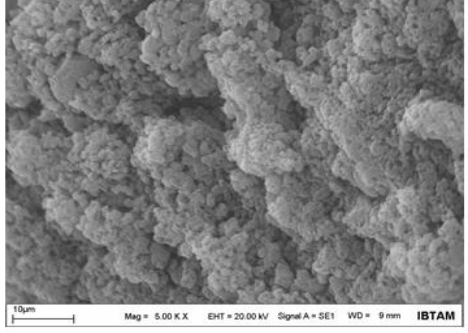
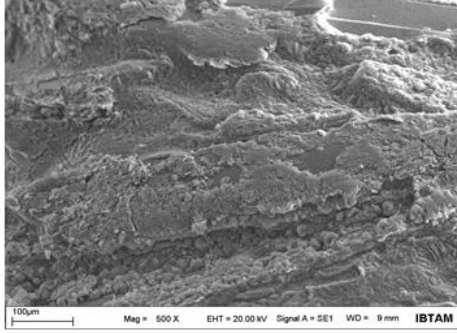
PEG 1000 temelli yapıların SEM görüntüleri Şekil 4.51’de verilmiştir. Bu SEM görüntülerinde düşük büyütmede geniş bir yüzey görüntüsü görülmektedir ve bu görüntü oldukça kavitelidir. Yüzey pürüzlülüğü fazla ancak temel doku homojendir. Yüzeyde yabancı cisim ya da yapı görülmemektedir. Yüksek büyütmelerde hidrojin temel yüzey yapısındaki pürüzlülük daha belirginleşmektedir. İlgili SEM görüntüleri yapısal olarak hidrojel yüzeyini doğrulamaktadır.



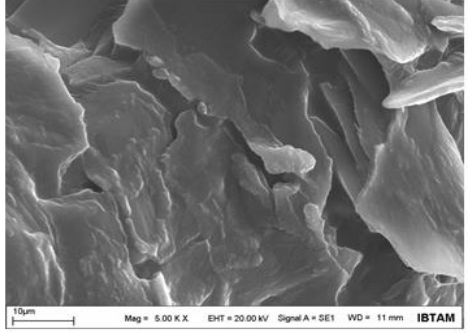
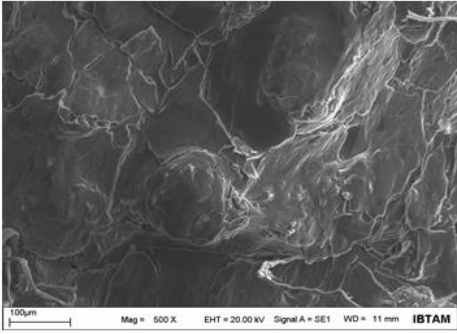
β -SD-PEG-1000-KA



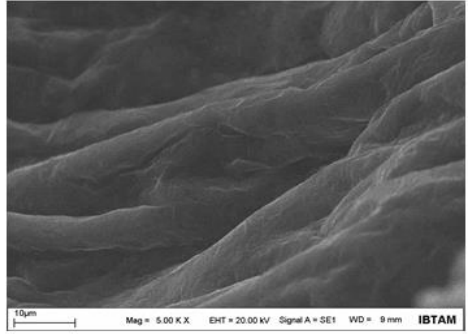
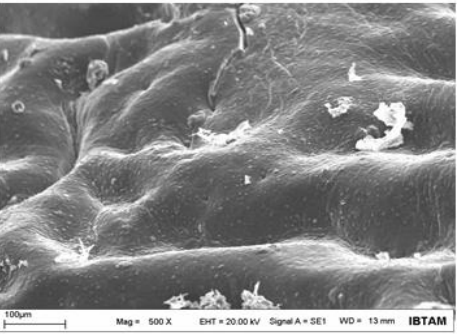
β -SD-PEG-1000-GA



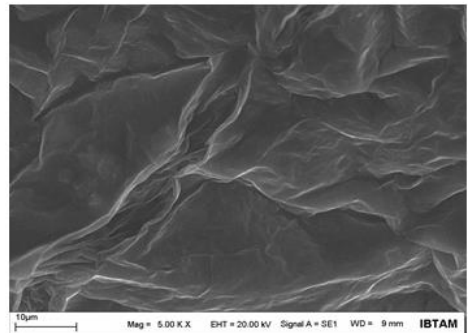
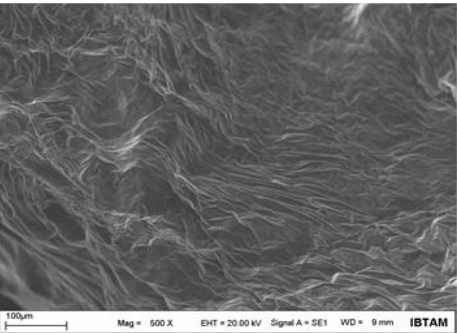
β -SD-PEG-1000-EK



β -SD-PEG-1000-Kuar

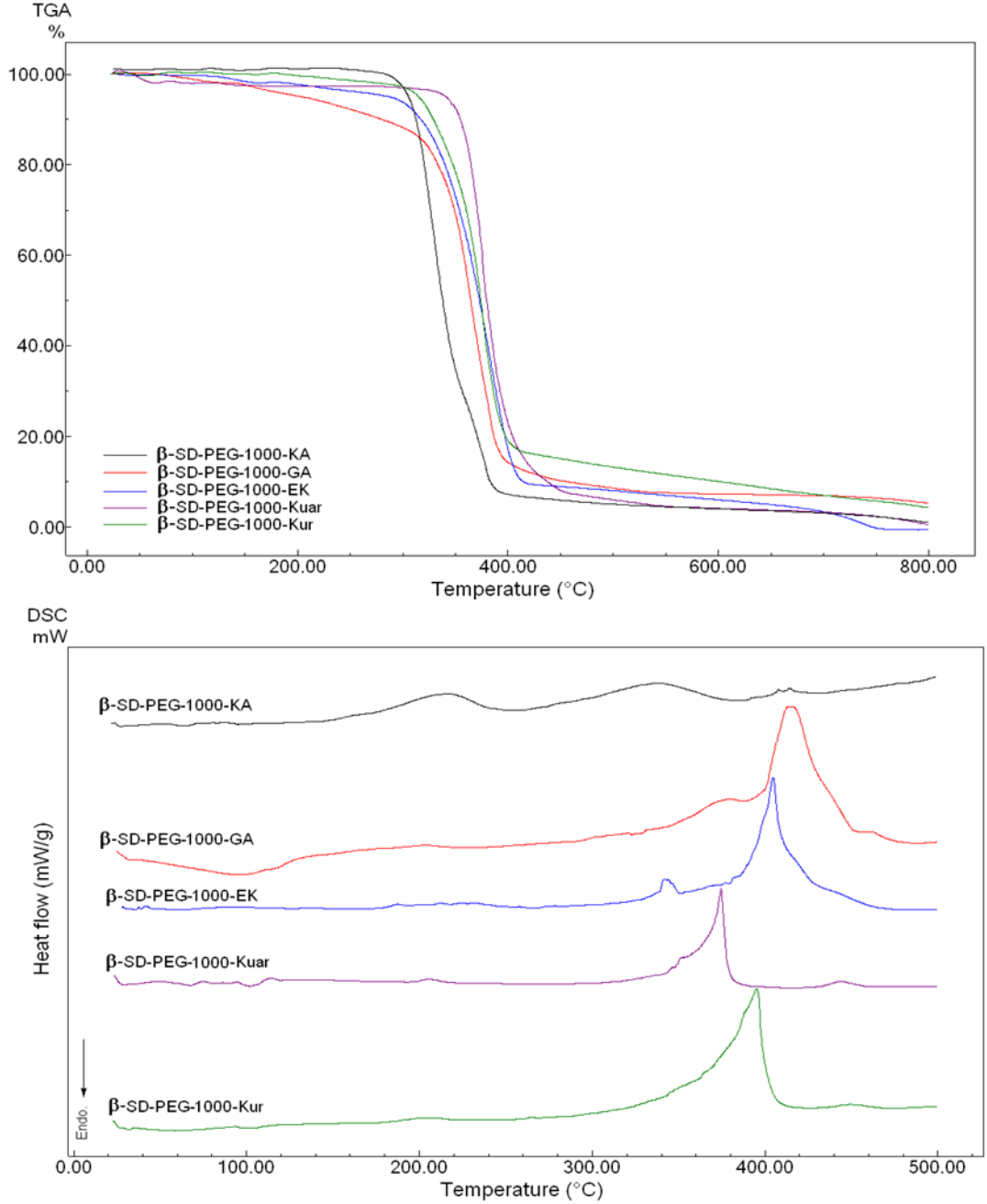


β -SD-PEG-1000-Kur



Şekil 4.51. PEG 1000 ve β -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait SEM görüntüleri

PEG 1000 ve β -siklodekstrin temelli hidrojellerin ısıl kararlılıkları detaylı olarak incelenmiştir ve Şekil 4.52'deki TGA ve DSC termogramları ile gösterilmiştir. Bu termogramlarda hidrojel yapılarının tek bir kütle kaybı görülmektedir. Keskin ve dar bir aralıkta görülen bu kütle kaybı hidrojel yapısındaki $\text{CH}_2\text{-O-CH}_2$ bağının kırılması ile hidrojelin termal olarak degradasyonundan kaynaklanmaktadır.



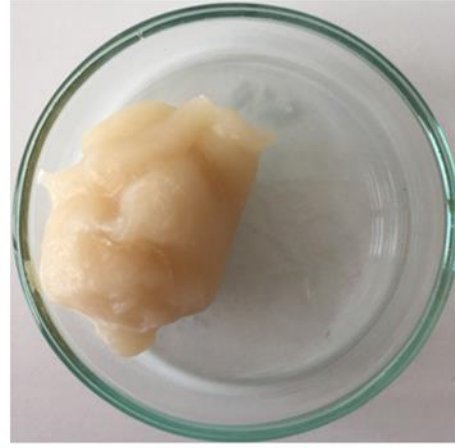
Şekil 4.52. PEG 1000 ve β -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait TGA ve DSC termogramları

4.4.2.5. PEG 2000 ve β -Siklodekstrin temelli hidrojel yapılarının karakterizasyonu

PEG 2000 ve β -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarından β -SD-PEG-2000-GA ve β -SD-PEG-2000-Ek yapıları sert ve rijit bir yapı göstermektedir. Bu yapıların Asherman sendromu tedavisinde kullanılabilirlikleri bulunmamaktadır. Çünkü rahim kanalına bırakıldıklarında sert yapıları nedeni ile bir doluluk hissi oluşturacaklardır. Hatta bu durum yabancı cisim algısı bile oluşturabilir. Ancak diğer üç hidrojel yapısı bu amaç için oldukça uygundur. Yapıları esnek ve yumuşaktır. Ancak kendi biçim ve şekillerini kısmen korurlar. Bütünsel olarak şişer ve şişme oranı rahim kanalını sıkıştırarak daraltacak kadar yüksek değildir. Bu hidrojel yapılarına ait genel fotoğraflar Şekil 4.53’de verilmiştir.



β -SD-PEG2000-KA



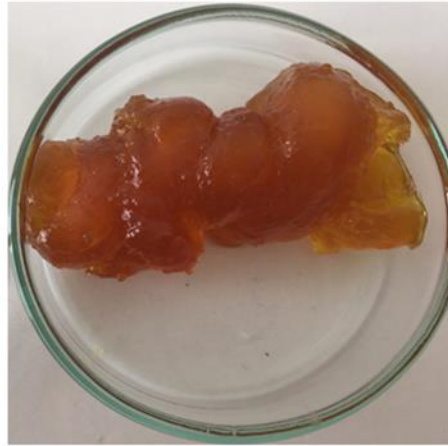
β -SD-PEG2000-GA



β -SD-PEG2000-Ek



β -SD-PEG2000-Kuar

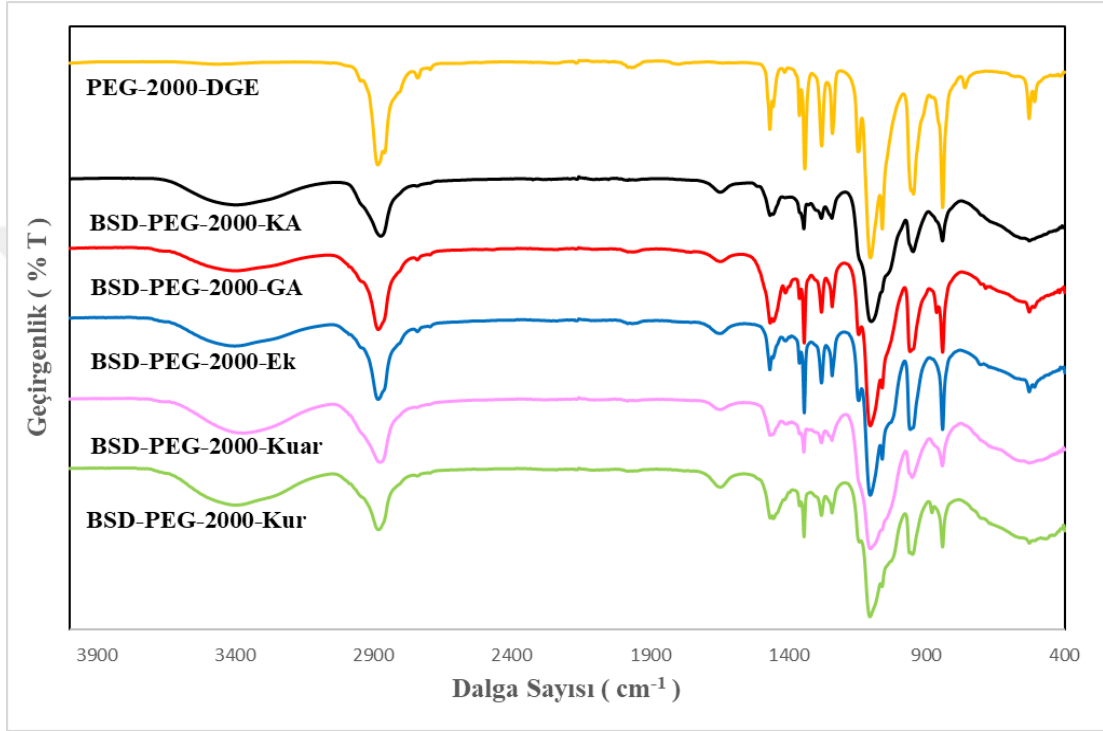


β -SD-PEG2000-Kur

Şekil 4.53. PEG 2000 ve β -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait fotoğraflar

PEG-2000-DGE ve bu yapıdan elde edilen β -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait FTIR spektrumları Şekil 4.54'te verilmiştir. Bu spektrumlarda PEG-2000-DGE yapısında bulunan epoksit halkasına ait temel pikler olan $950-810\text{ cm}^{-1}$

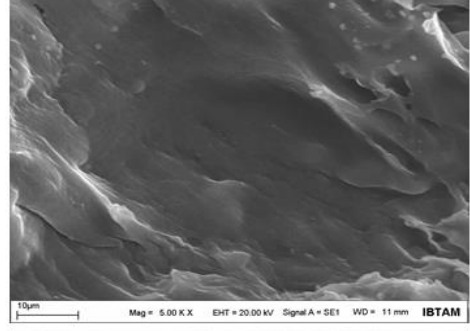
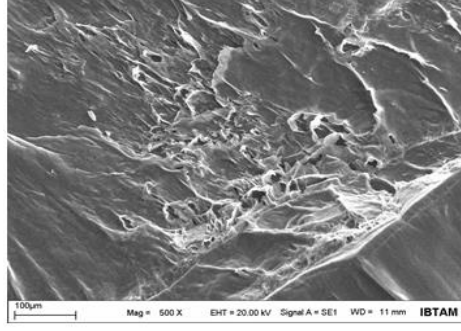
¹'deki epoksit halkası eğilme titreşimi ve 840-750 cm⁻¹'deki epoksit halkası C-H eğilme titreşimlerinin kaybolduğu (Erdik, 2007) ve yerine siklodekstrin ve polifenol piklerinin ortaya çıktığı görülmektedir. Bu bulgu epoksit halkasının açılarak istenilen hidrojel yapısının elde edildiğini ispatlamaktadır. Tüm yapılar oldukça düşük oranda polifenol içermesine rağmen genel PEG-2000-DGE spektrumundan farklı bir görünümündedir.



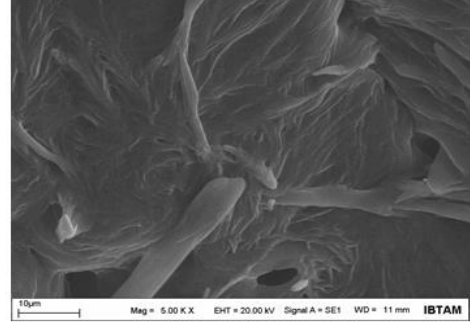
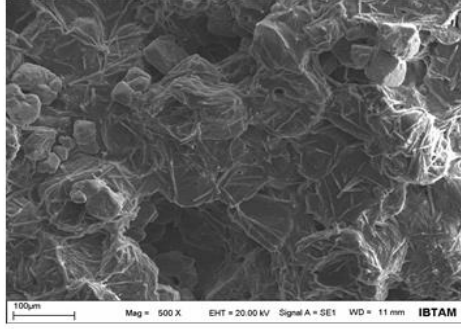
Şekil 4.54. PEG-2000-DGE ve bu yapıdan elde edilen β-siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait FTIR spektrumları

Sentezi gerçekleştirilen PEG 2000 ve β-siklodekstrin temelli hidrojel yapılarının SEM analizlerinde hidrojellerin yüzey yapıları yüksek ve düşük büyütme olarak incelenmiştir. Elde edilen sonuçlar Şekil 4.55’de gösterilmiştir. Bu sonuçlara göre hidrojellerin yüzey yapılarının oldukça pürüzlü ve kaviteli olduğu açıkça görülmektedir. Yüzey yapıları oldukça homojen ve bütünsel görünmektedir.

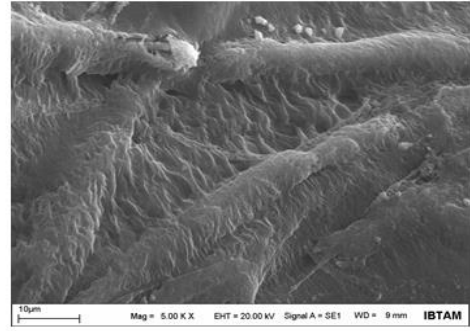
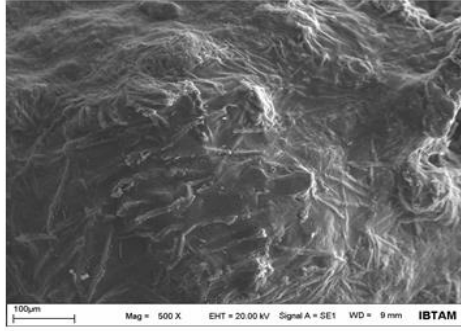
β -SD-PEG-2000-KA



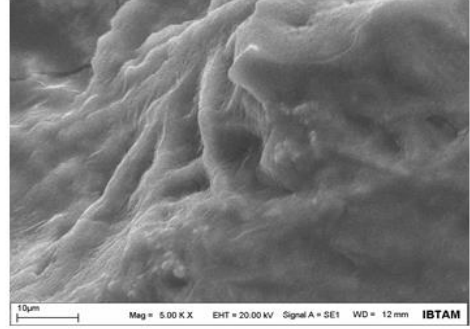
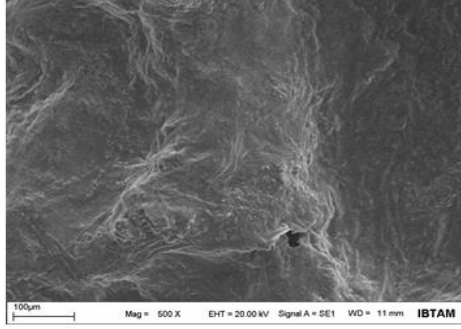
β -SD-PEG-2000-GA



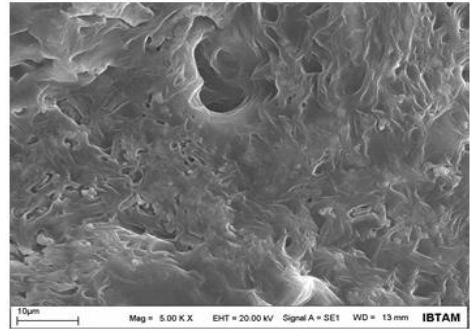
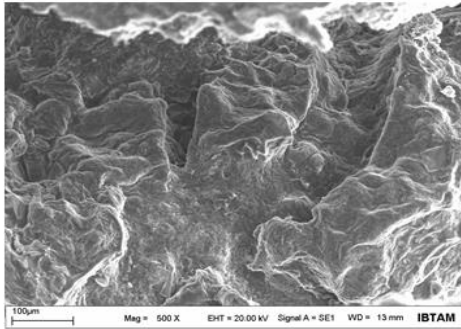
β -SD-PEG-2000-EK



β -SD-PEG-2000-Kuar

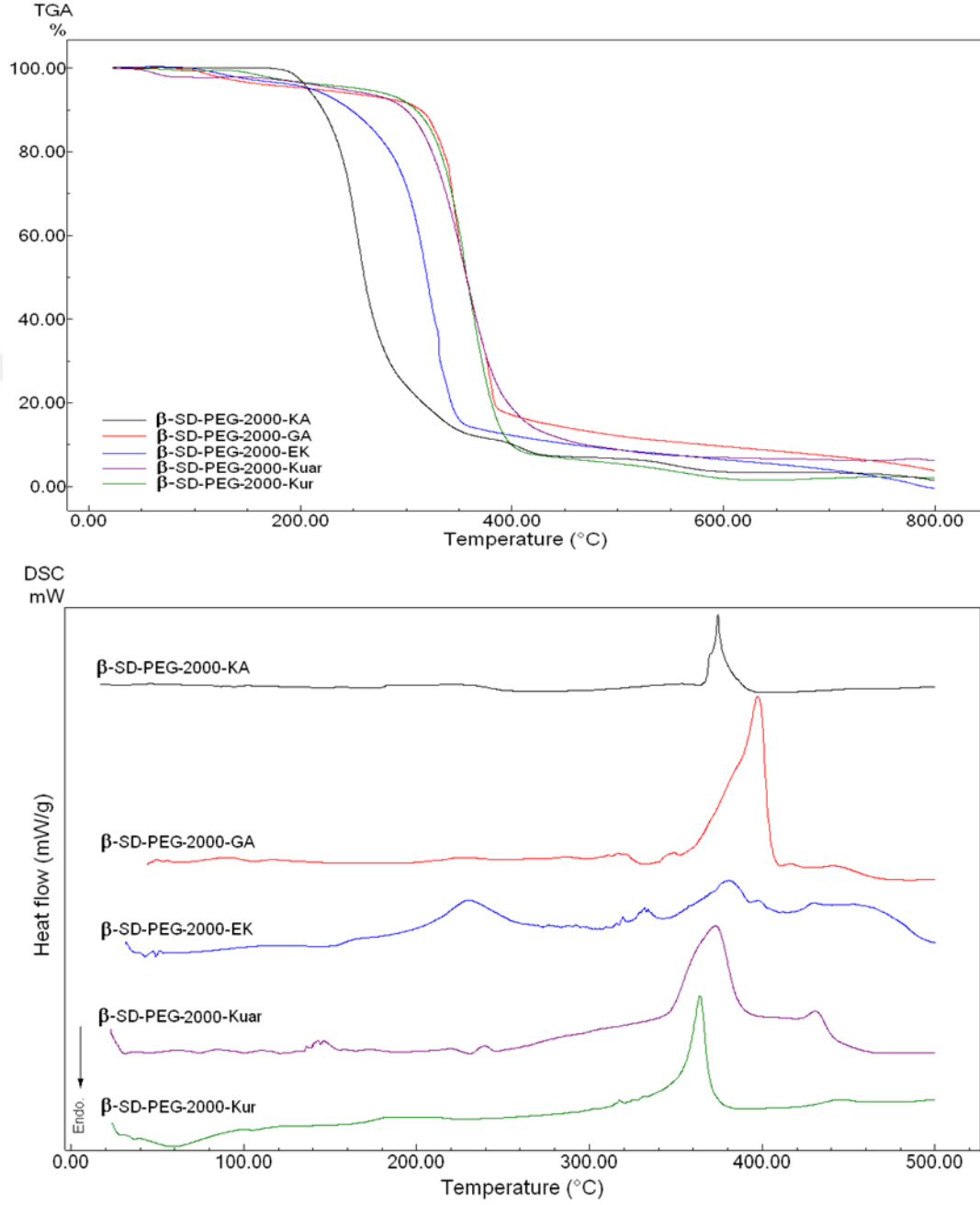


β -SD-PEG-2000-Kur



Şekil 4.55. PEG 2000 ve β -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait SEM görüntüleri

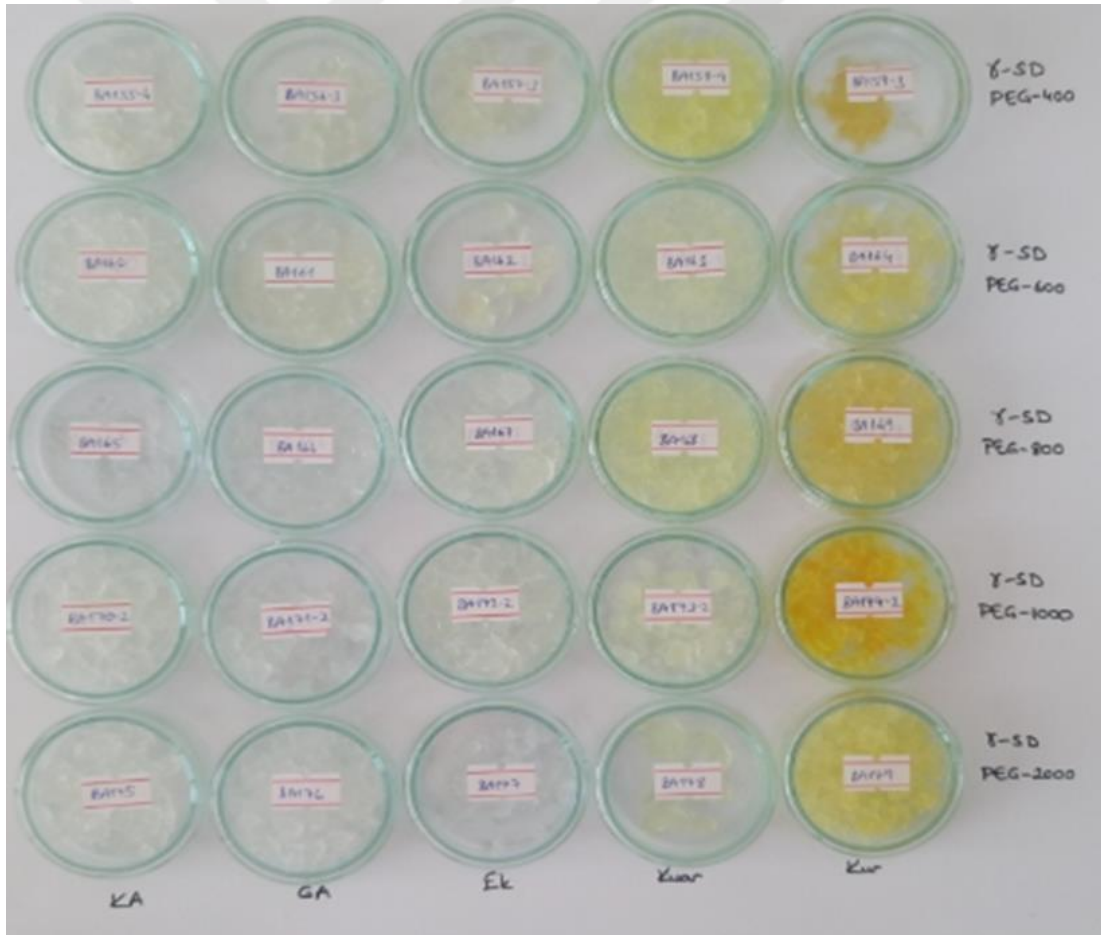
Şekil 4.56’da PEG 2000 ve β -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait termal analiz sonuçları verilmiştir. Bu sonuçlarda hidrojeller yaklaşık 200 °C’ye kadar ısıl kararlı görülmektedir.



Şekil 4.56. PEG 2000 ve β -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait TGA ve DSC termogramları

4.4.3. γ -Siklodekstrin temelli hidrojel yapılarının karakterizasyonu

Epoksi son gruplu PEG yapıları farklı polifenoller ve γ -siklodekstrin yapılarına bağlanarak γ -siklodekstrin yapıları bulunduran hidrojeller sentezlenmiştir. Her bir sentezde hidrojin yapısının temelini teşkil edecek olan 5 farklı PEG grubu ayrı ayrı kullanılmış ve bu gruplar farklı polifenoller kullanılarak çeşitlendirilmiştir. İlgili sentezler sonrasında elde edilen hidrojel yapıları hızlı bozunan ve diğer siklodekstrin yapılarına göre düşük şişme yeteneği olan hidrojellerdir. γ -Siklodekstrin yapısı diğer siklodekstrinlere göre daha geniş bir yüzeye sahip olduğu için sterik engeli düşüktür ve bu nedenle sentez reaksiyonları daha hızlı ve yüksek verimle gerçekleşmektedir. Farklı yapısal özelliklerde 25 γ -siklodekstrin temelli sentezi gerçekleştirilen hidrojellerin fotoğrafı Şekil 4.57’de verilmiştir.



Şekil 4.57. Sentezlenen γ -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait genel görünüm

Elde edilen hidrojeller FTIR, SEM, Termal Analiz yöntemleriyle karakterize edilmiştir. Bu karakterizasyon sonuçları detaylı olarak verilmiştir.

4.4.3.1. PEG 400 ve γ -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarının karakterizasyonu

γ -Siklodekstrin yapısının bağlayıcı ünite olarak kullanıldığı hidrojellerden PEG 400 içeren hidrojellerin fotoğrafları Şekil 4.58’de verilmiştir. Bu fotoğraflardan da anlaşıldığı üzere hidrojeller esnek ve şeffaf yapıda elde edilmiştir. Bu hidrojel yapıları kuvvetli adhesiv özellikte olup iyi bir yüzey tutunurluğuna sahiptir. Bu nedenle rahim içi uygulamalarda uygulandığı bölgeye tutunabilmesi açısından avantajlıdır.

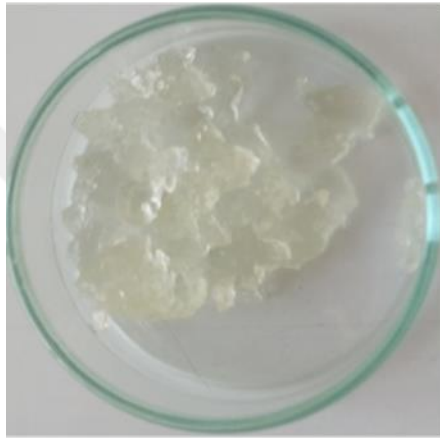




γ SD-PEG-400-KA



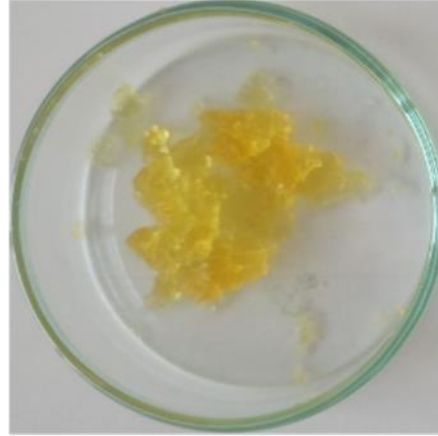
γ SD-PEG-400-GA



γ SD-PEG-400-Ek



γ SD-PEG-400-Kuar

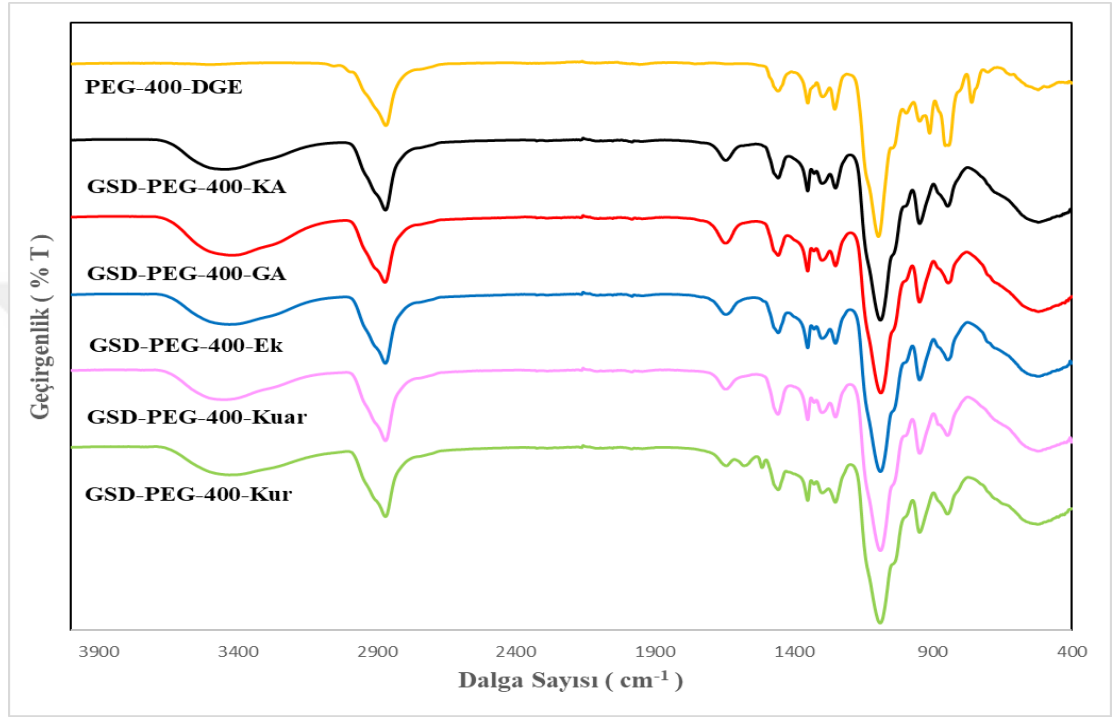


γ SD-PEG-400-Kur

Şekil 4.58. PEG 400 ve γ -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait fotoğraflar

PEG-400-DGE ve bu yapıdan elde edilen γ -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait FTIR spektrumları Şekil 4.59’da verilmiştir. Bu spektrumlarda iki önemli nokta bulunmaktadır. Bunlardan birincisi genel olarak polieter yapısındaki

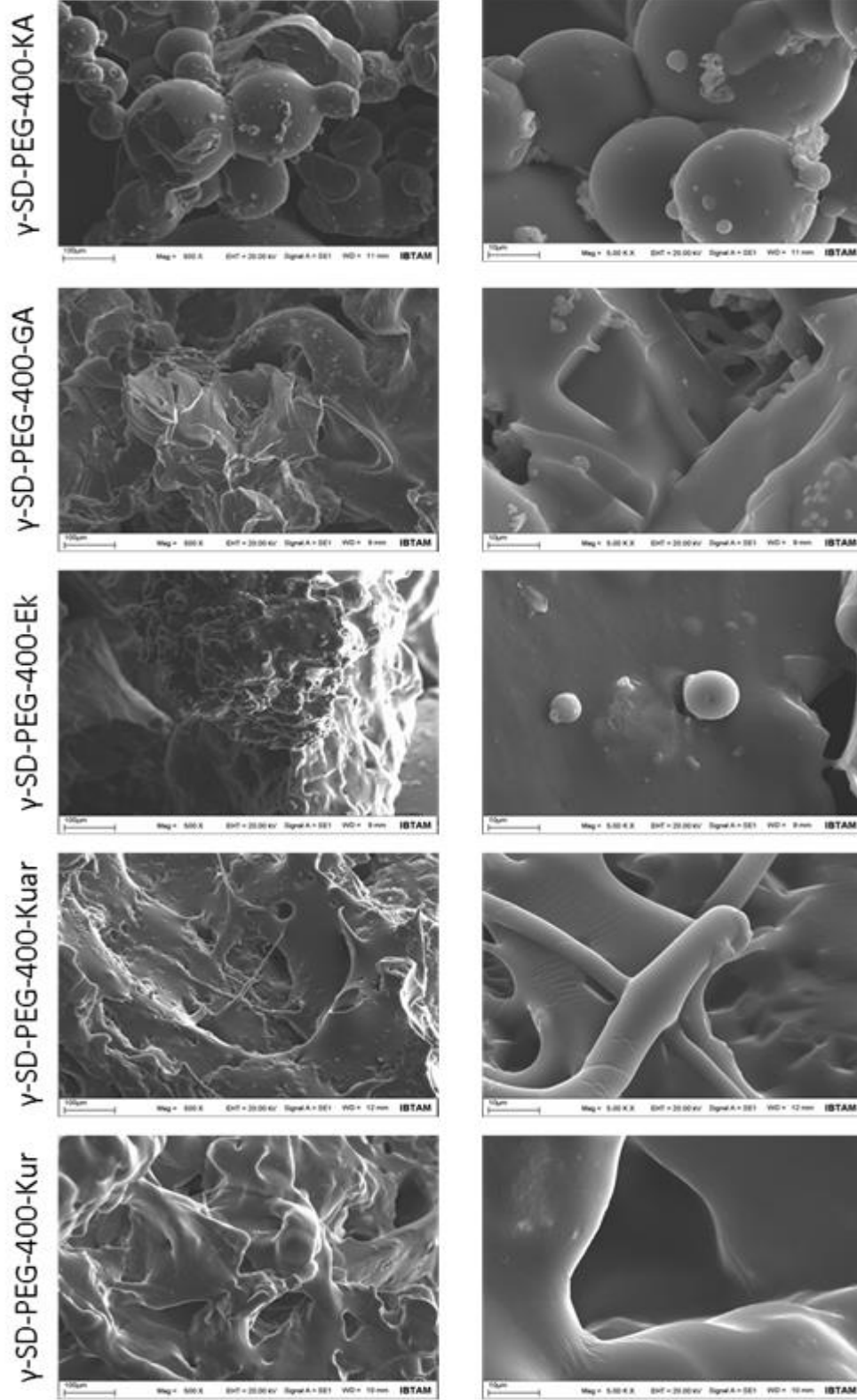
hidrojellerin ana iskeletini gösteren temel pikler ve ikinci olarak yapıdaki polifenolün getirdiği piklerdir. 3394 cm^{-1} 'de serbest olarak bulunan O-H gerilme titreşimi görülmektedir. Bu pikin bulunması hidrojel yapısının hidrofilikliğini ve yüzey özelliklerini doğrulamaktadır. Tüm hidrojel yapılarında çok geniş bir pik olarak bu pik bulunmaktadır. Bu da hidrojellerin hidrolitik ortamlarda şişebileceğinin bir kanıtıdır.



Şekil 4.59. PEG-400-DGE ve bu yapıdan elde edilen γ -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait FTIR spektrumları

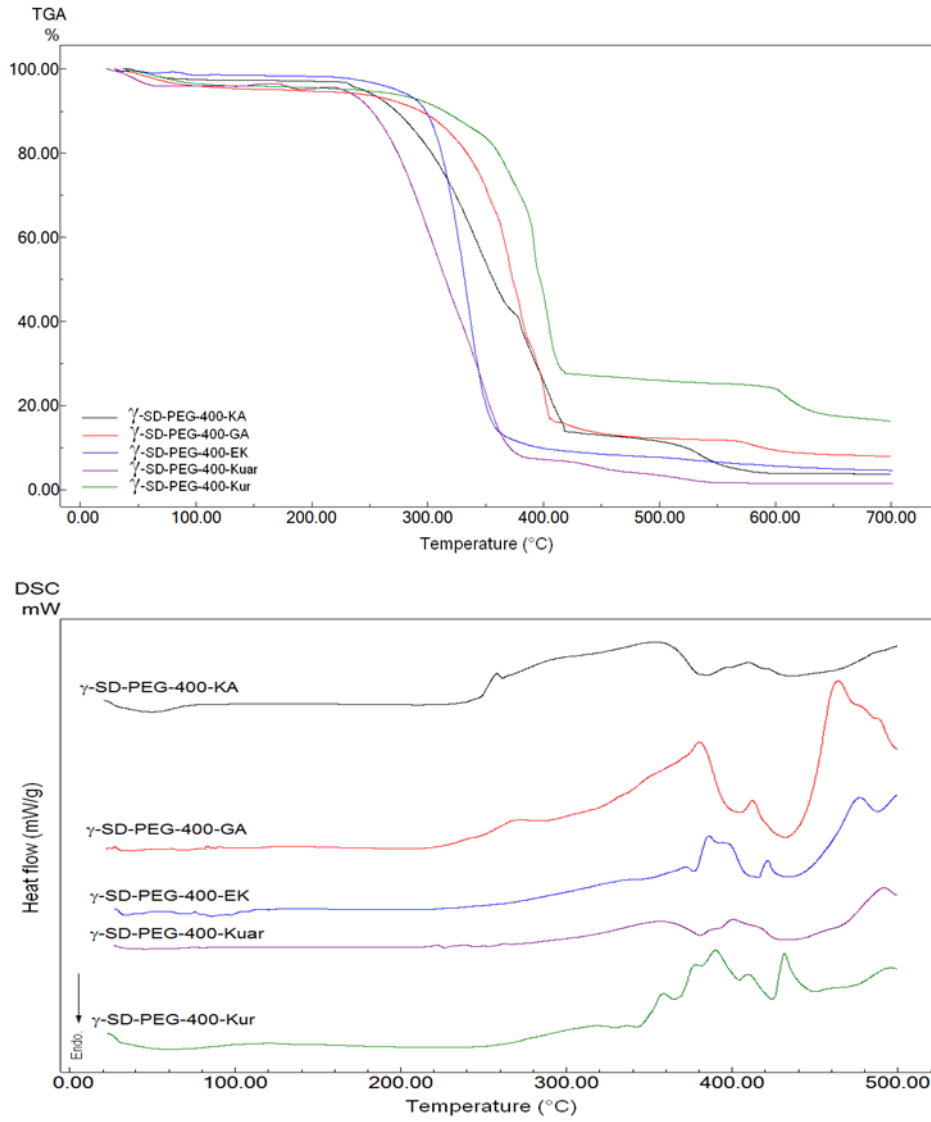
PEG 400 ve γ -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarında $2850\text{-}2920\text{ cm}^{-1}$ 'de alifatik C-H gerilme, 1112 ve 1008 cm^{-1} 'de C-H ve C-O gerilme titreşimleri görülmektedir. Bu pikler büyük oranda yapıda bulunan siklodekstrin gruplarından kaynaklanmaktadır. Ayrıca 1172 cm^{-1} 'de şiddetli bir C-O-C piki bulunmaktadır. Bu pik yapıdaki PEG ünitelerinden kaynaklanmaktadır. Polifenol yapılarından kaynaklanan 1681 cm^{-1} , 1505 cm^{-1} ve 825 cm^{-1} sırası ile C=O, C=C ve C-H aromatik gerilme titreşimleri görülmektedir. Bu pikler yapıdaki KA gibi aromatik üniteler taşıyan polifenollerin yapıya dahil olduğunu ispatlamaktadır. Ayrıca PEG-400-DGE yapısında bulunan $950\text{-}810\text{ cm}^{-1}$ 'deki epoksit halkası eğilme titreşimi ve $840\text{-}750\text{ cm}^{-1}$ 'deki epoksit halkası C-H eğilme titreşimlerinin kaybolduğu görülmektedir (Erdik, 2007). Bu bulgu epoksit halkasının açılarak istenilen hidrojel yapısının elde edildiğini ispatlamaktadır.

Şekil 4.60'da PEG 400 ve γ -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait SEM görüntüleri verilmiştir. Bu görüntülerde hidrojel bütünlüğü ve gözenekliliği net olarak görülmektedir.



Şekil 4.60. PEG 400 ve γ -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait SEM görüntüleri

Sentezi gerçekleştirilen hidrojel yapılarının termal analizleri oldukça önemli bilgiler vermektedir. Özellikle biyomedikal uygulamalar için sentezlenen hidrojellerin belirli bir ısı kararlılığının bulunması gerekmektedir. Sentezi gerçekleştirilen hidrojel yapıları oldukça yüksek sıcaklıklarda termal olarak bozunmaktadır. Bu nedenle biyomedikal uygulamalar için uygundur. İkinci önemli termal parametre ise termal olarak steril edilebilmesidir. Bunun için hidrojel yapısının 120  C sıcaklığa dayanıklı olması gerekmektedir. TGA termogramlarından görüldüğü gibi hidrojeller bu sıcaklığın üstündeki değerlere dayanabilmektedir (şekil 4.61). Bu nedenle gerektiği zamanlarda ya da ihtiyaç duyulduğuunda steril edilebilir (UV ya da  -radyasyonu ile yapılan sterilizasyonlarda da belirli bir sıcaklık artışı söz konusudur. Bu nedenle ısı kararlılık biyomedikal malzemelerin uygulanabilirliği açısından önemlidir). DSC termogramlarında ise önemli parametreler serbest monomer ya da farklı kalıntıların yapıda bulunup bulunmadığının tespitidir (şekil 4.61). Bunun için düşük sıcaklıklarda monomerden ya da küçük moleküllerden kaynaklı erime piki olup olmadığına bakılmaktadır. PEG 400 ve  -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait termogramlarda böyle bir durum söz konusu değildir. Bu da hidrojellerin yapısında monomer kalıntısının bulunmadığını göstermektedir.



Şekil 4.61. PEG 400 ve γ -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait TGA ve DSC termogramları

4.4.3.2. PEG 600 ve γ -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarının karakterizasyonu

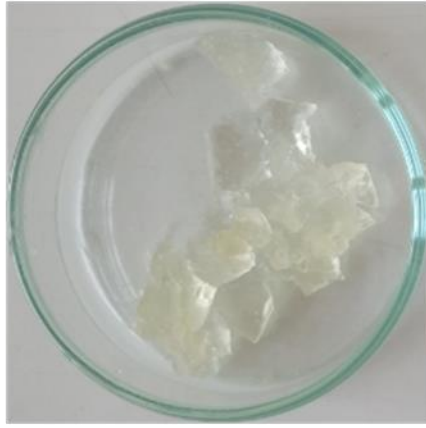
PEG 600 ve γ -siklodekstrin temelli hidrojel yapıları fiziksel özellik olarak esnek, oldukça parlak, fiziksel kararlılıkları iyi, homojen görünümlüdür, safsızlık ve yabancı madde içermezler. Bu hidrojellerin fiziksel görünüşleri Şekil 4.62’de verilmiştir. Oldukça yapışkan karakterlidir, hızlıca şişerler, reaksiyon verimleri PEG-400 içeren hidrojellere göre daha yüksektir.



γ SD-PEG-600-KA



γ SD-PEG-600-GA



γ SD-PEG-600-Ek



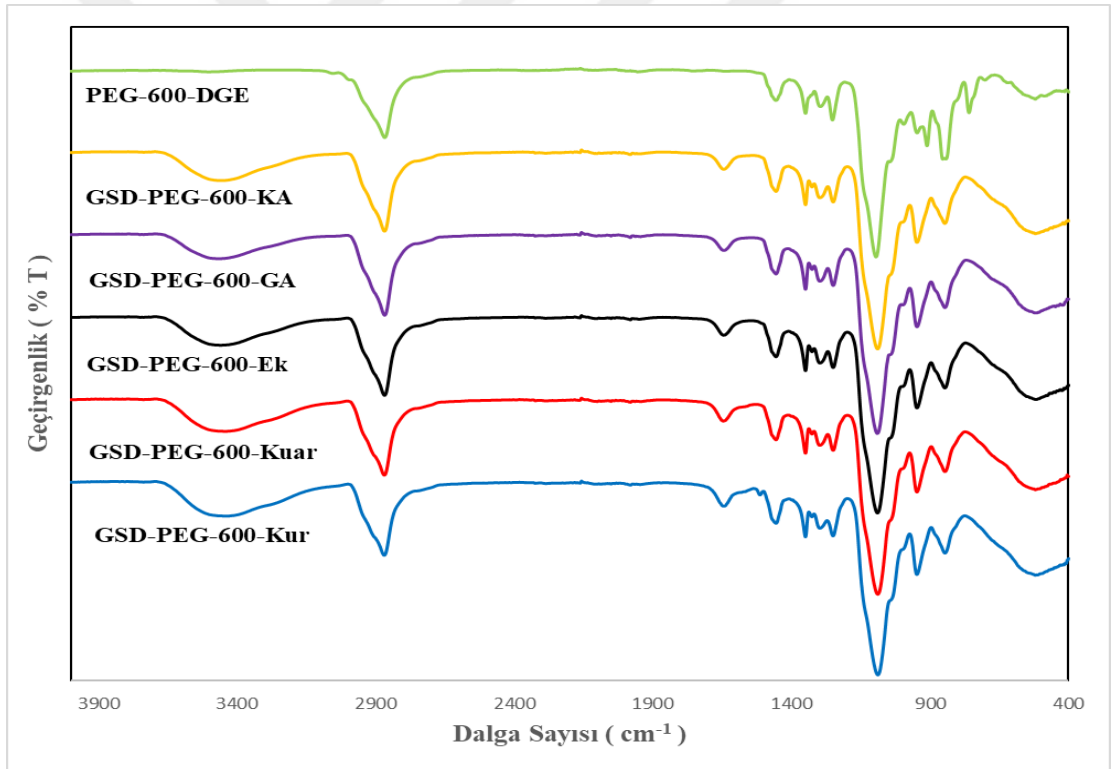
γ SD-PEG-600-Kuar



γ SD-PEG-600-Kur

Şekil 4.62. PEG 600 ve γ -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait fotoğraflar

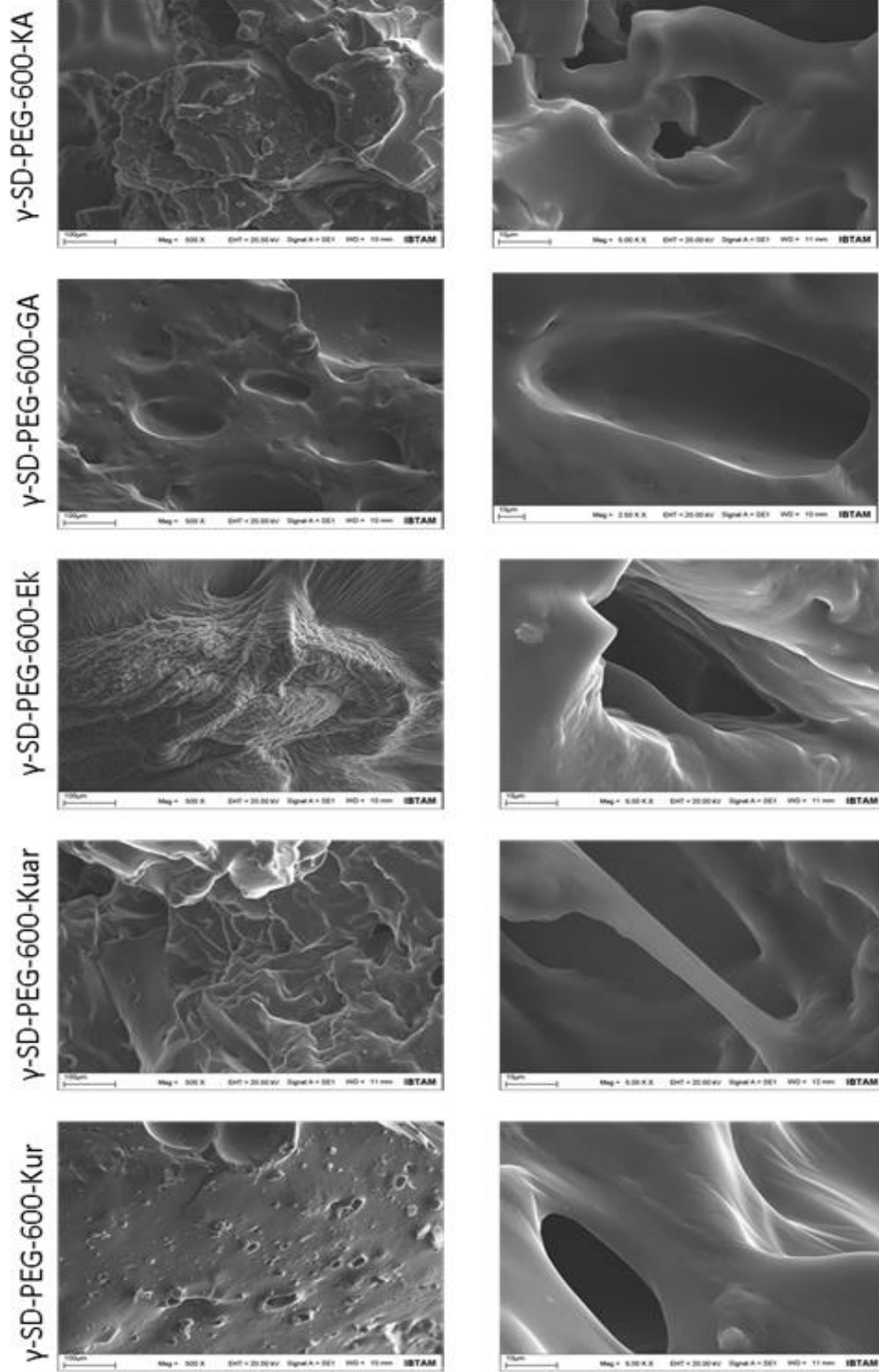
PEG-600-DGE ve bu yapıdan elde edilen γ -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait FTIR spektrumları Şekil 4.63’de verilmiştir. Bu spektrumlarda genel olarak tüm hidrojel yapılarında alifatik C–H gerilme titreşimleri 2950–2800 cm^{-1} ’de, hidroksil gerilme titreşimi yaklaşık 3480 cm^{-1} ’de geniş bir bant olarak, –CH₂ eğilme titreşimi 1470 ve 1372 cm^{-1} ’de açıkça görülmektedir. Ayrıca diğer bir önemli pik ise C–O gerilme titreşimidir ve 1126 cm^{-1} ’de görülmektedir. 908 cm^{-1} ’de aromatik düzlem dışı eğilme piki bağlanan polifenol yapılarından kaynaklanmaktadır. Ayrıca 1250 cm^{-1} ’de aromatik C–H düzlem içi eğilme piki ve ~1455 cm^{-1} ’deki C=C gerilme piki yapıdaki polifenolleri doğrulamaktadır. Ayrıca PEG-600-DGE yapısında bulunan 950-810 cm^{-1} ’deki epoksit halkası eğilme titreşimi ve 840-750 cm^{-1} ’deki epoksit halkası C–H eğilme titreşimlerinin kaybolduğu görülmektedir (Erdik, 2007). Bu bulgu epoksit halkasının açılarak istenilen hidrojel yapısının oluştuğunu ispatlamaktadır.



Şekil 4.63. PEG-600-DGE ve bu yapıdan elde edilen γ -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait FTIR spektrumları

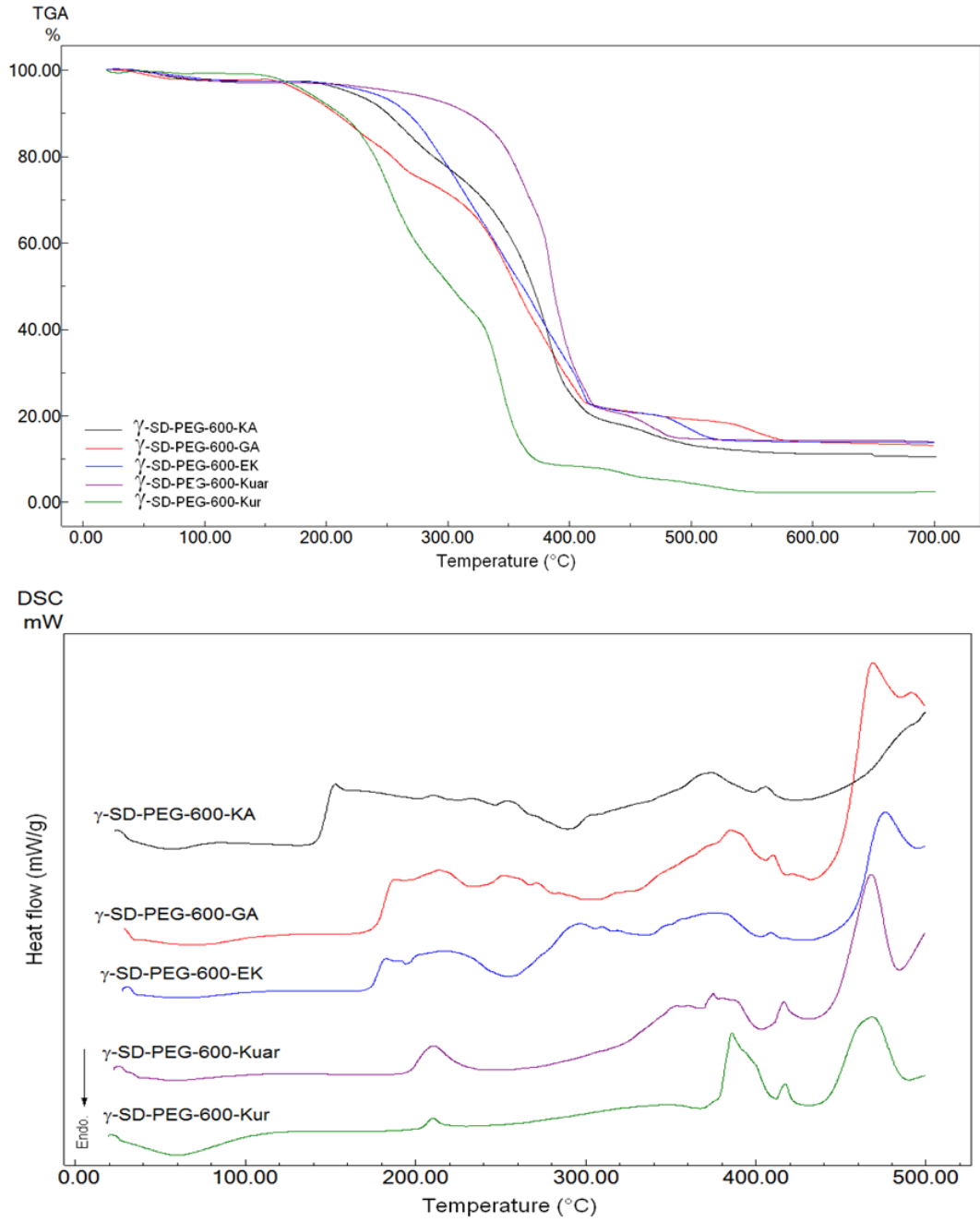
Sentezlenen PEG 600 ve γ -siklodekstrin temelli hidrojellerin SEM görüntüleri Şekil 4.64’de verilmiştir. Bu görüntülerde hidrojel yapılarının oldukça homojen, saf ve temiz olduğu görülmektedir. Yapılar gözenekli ve hidrojel pürüzlülüğündedir. Yüksek büyütme uygulandığında bu bölgelerdeki oluşum şeklindeki detayda

görülmektedir. Diğer PEG 600 temelli hidrojel yapıları ise homojen ve benzer yapılıdır. Yüksek büyütmelerde bu hidrojel yapılarının gözenekleri rahatlıkla görülebilir.



Şekil 4.64. PEG 600 ve γ -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait SEM görüntüleri

PEG 600 temelli hidrojellerin TGA ve DSC termogramları Şekil 4.65’de verilmiştir. Termal analizler gerçekleştirilirken hidrojeller liyofilizatörde kurutulmuştur. Bu kurutma işlemi öncesi hidrojel 2 gün -24 °C’de dondurulmuştur. Daha sonra liyofilizatörde bir gün kurutma sağlanmıştır. Elde edilen numuneler termal analizde izlenmiştir. Bu süreç dahilinde liyofilizasyon işleminin numuneye zarar vermediği liyofilizasyon öncesi ve sonrası alınan FTIR spektrumları ile takip edilmiştir. Sonuç olarak elde edilen hidrojel yapıları dondurup çözündürme sonrasında da esnek ve şişme özelliklerine sahiptir ve ısıl olarak da oldukça kararlıdır. TGA termogramlarında hidrojel yapılarının oldukça kararlı olduğu ve bozunma başlangıç sıcaklıklarının yaklaşık olarak 290 °C’den başladığı görülmektedir. Bu değer hidrojellere uygulama ve vücut içi sıcaklıklarda kullanılma imkanı sağlar. Hatta hidrojellerin ihtiyaç duyulduğunda uygulanma öncesi kısmi bir sterilizasyona rahatlıkla tabi tutulabileceğini ispatlamaktadır. DSC termogramlarında ise yapıda monomer kalıntısı kalmadığı açıktır.



Şekil 4.65. PEG 600 ve γ -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait TGA ve DSC termogramları

4.4.3.3. PEG 800 ve γ -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarının karakterizasyonu

Sentezi gerçekleştirilen PEG 800 ve γ -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait fotoğraflar Şekil 4.66’da görülmektedir. Bu fotoğraflardan yapının esnek, şeffaf ve homojen olduğu görülmektedir.

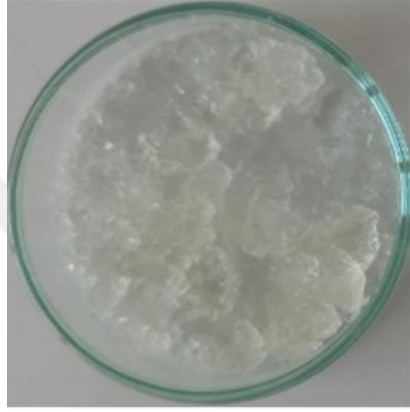
KA, GA ve Ek yapılarından elde edilen hidrojel yapıları kısmen şeffaf olmalarına rağmen Kuar ve Kur yapılarından elde edilen hidrojeller açık parlak sarı renkte elde edilmiştir. Sentezlenen hidrojel yapılarında istenilen temel özellikler, vücut içinde kullanılacak birer hidrojel olmaları nedeni ile biyouyumluluk, esneklik, enjekte edilebilirlik, yeterli mekanik dayanım ve kontrollü olarak ilaç absorplayıp salabilme özellikleridir. Bu özelliklerden en önemli olanları biyouyumluluk ve kullanım amacı olan uterus duvarlarını ayırabilecek mekanik kararlılığa sahip olmasıdır. Hidrojel yapısının biyouyumluluğu ve esnekliğini PEG üniteleri sağlamaktadır. Ağ yapının oluşumunu siklodekstrin grupları sağlarken mekanik kararlılığı ise kullanılan polifenoller güçlendirmektedir. Bu nedenle çalışmada kullanılan her bir monomer türü kritik önem taşımaktadır. Örneğin polifenol ya da siklodekstrin oranı artırılınca hidrojel yapısı sertleşmekte ve esnekliği azalmaktadır. PEG miktarı artırılınca ise yapı aşırı esnekleşmekte, uterus duvarlarını ayrı tutacak mekanik kararlılığı kalmamaktadır. Bu nedenle PEG miktarını artırmak yerine PEG molekül kütlesi değiştirilerek hidrojel yapısı ve esnekliği değerlendirilmiştir. Elde edilen PEG 800 temelli hidrojeller verimsel olarak PEG 400 ve PEG 600 kullanılarak elde edilen hidrojellere göre daha yüksektir. PEG molekül kütlesi arttıkça hidrojel verimi artmaktadır. Hidrojinin jelasyon ve oluşum süreci kısalmaktadır. Bunun nedeni PEG molekül kütlesindeki artış ile birlikte artan viskozitedir.



γ SD-PEG-800-KA



γ SD-PEG-800-GA



γ SD-PEG-800-Ek



γ SD-PEG-800-Kuar

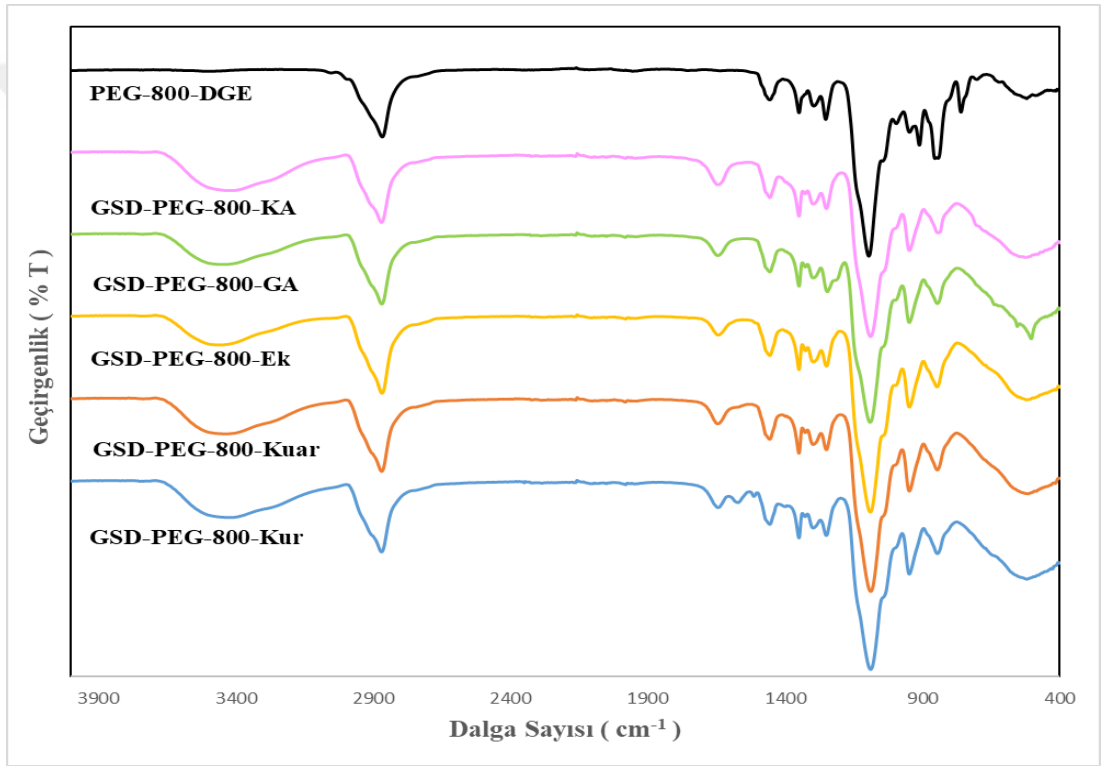


γ SD-PEG-800-Kur

Şekil 4.66. PEG 800 ve γ -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait fotoğraflar

PEG-800-DGE ve bu yapıdan elde edilen γ -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait FTIR spektrumları sırası ile Şekil 4.67’de verilmiştir. Bu spektrumlarda saf monomer yapıları ile kıyaslandığında yapının oldukça değiştiği görülmektedir ve

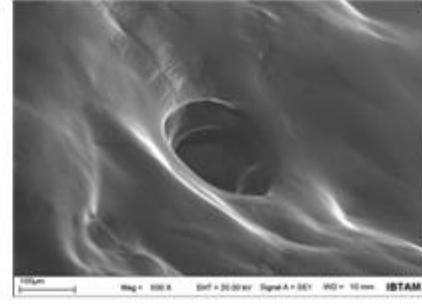
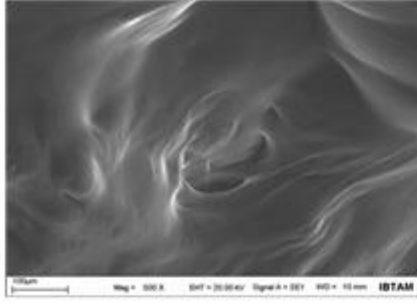
yapıya polifenollerden kaynaklanan aromatik grupların pikleri dahil olmuştur. Örneğin 1600 cm^{-1} 'de aromatik C=C gerilmesi ve trisüstitüye benzen gruplarının C-H bantları 885 cm^{-1} 'de görülmektedir. Bu bantlara ek olarak sentezde kullanılan epoksi fonksiyonel PEG yani PEG-800-DGE yapısına ait epoksi gruplarının karakteristik pikleri olan 950 cm^{-1} 'de asimetrik epoksit halka eğilmesi ve 759 cm^{-1} 'de epoksit halkası C-H eğilmesine ait pikler kaybolmuştur. Bu durum epoksit halkasının açıldığını ve istenilen ağ yapının elde edildiğini göstermektedir. Zaten oluşan ürünün jel formasyonunda olması ve şişebilir nitelik taşıması istenilen yapının oluştuğunun diğer bir ispatıdır.



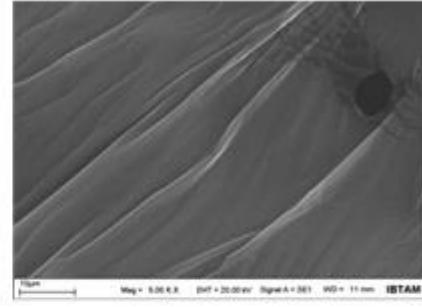
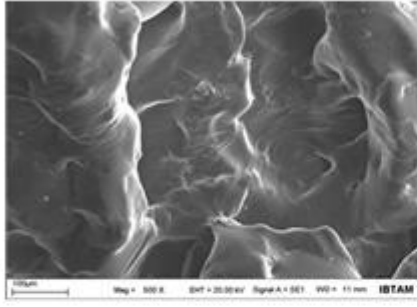
Şekil 4.67. PEG-800-DGE ve bu yapıdan elde edilen γ -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait FTIR spektrumları

Şekil 4.68'de PEG 800 ve γ -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait SEM görüntüleri verilmiştir. Bu görüntülerde yapıların homojen, gözenekli ve hidrojel formasyonunda olduğu görülmektedir ve bu yapılar literatürde bulunan hidrojel görüntüleri ile uyumludur.

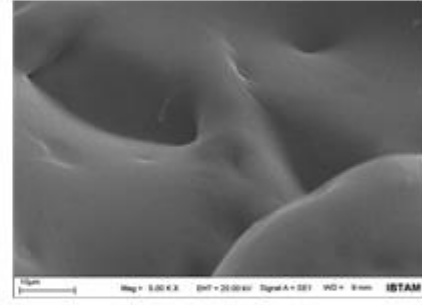
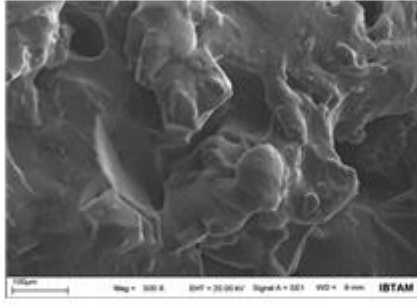
γ -SD-PEG-800-KA



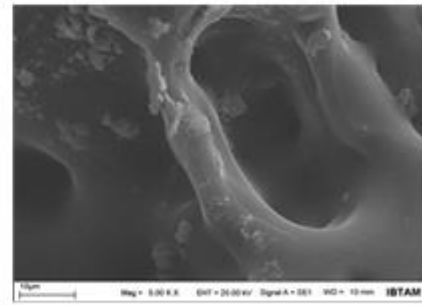
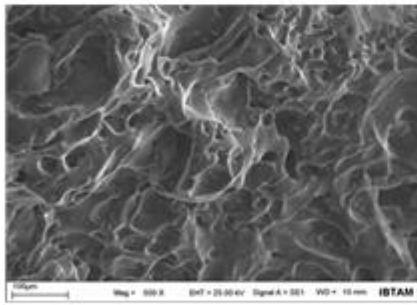
γ -SD-PEG-800-GA



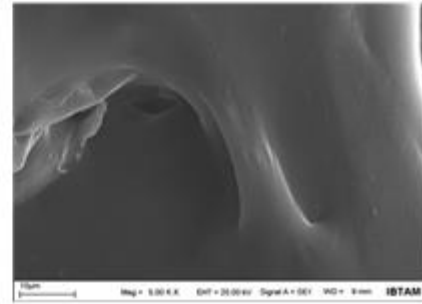
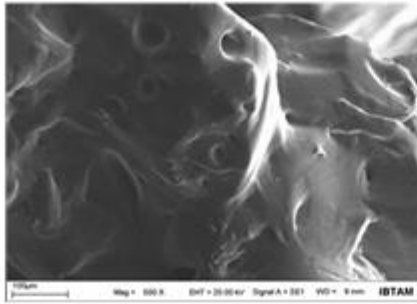
γ -SD-PEG-800-Ek



γ -SD-PEG-800-Kuar

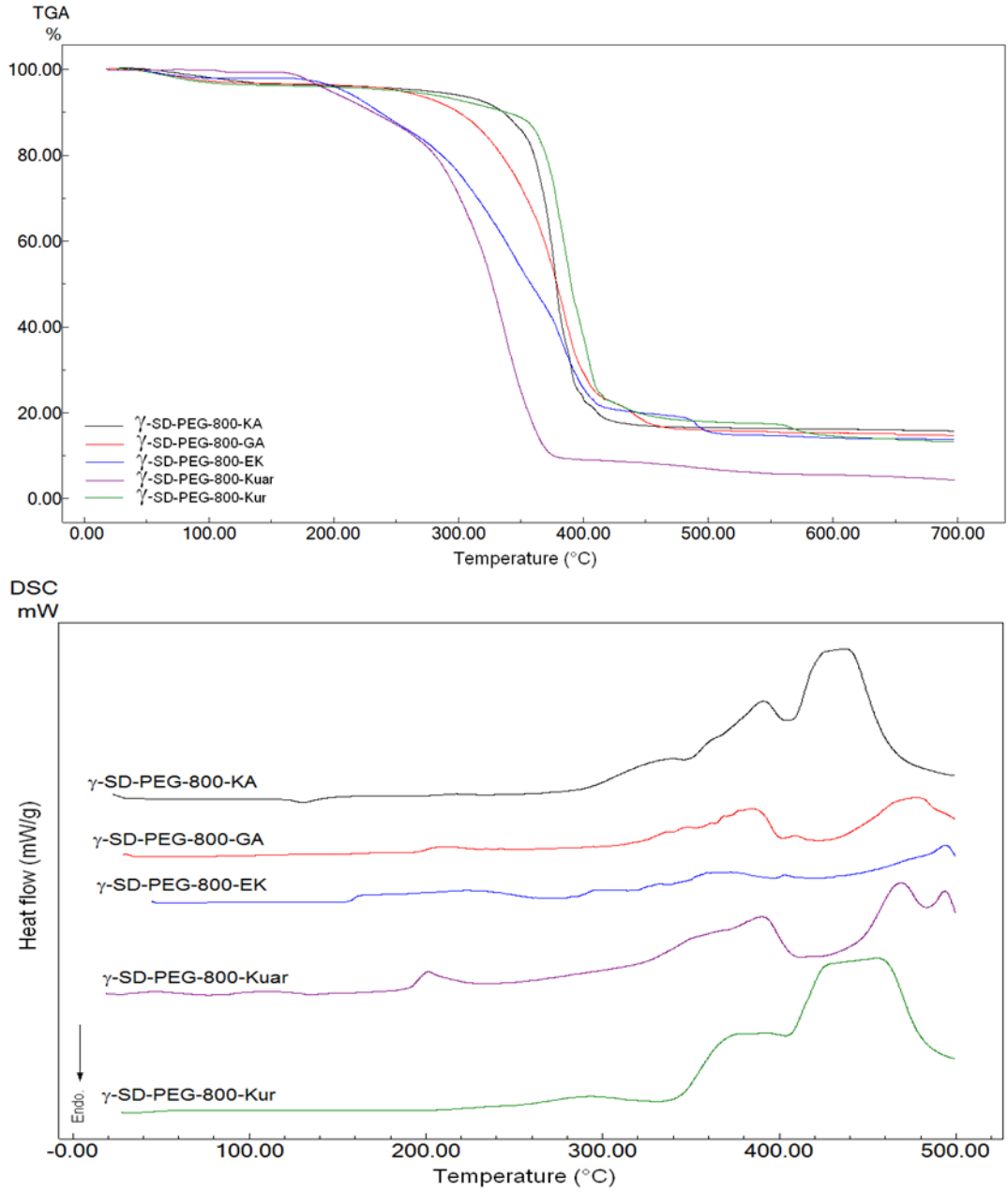


γ -SD-PEG-800-Kur



Şekil 4.68. PEG 800 ve γ -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait SEM görüntüleri

Hidrojel sentezi sırasında gerçekleşen yapısal değişikliği doğrulamak ve elde edilen ürünün ısıl kararlılıklarının tespiti için TGA ve DSC analizleri gerçekleştirilmiş ve bu analizler Şekil 4.69'da verilmiştir. Bu analizlerde tüm polifenol yapıları hidrojellerde genellikle tek tip bozunma kütle kaybı görülmektedir. Bu kütle kaybı 300-420 °C sıcaklık aralığında olup hidrojel yapısındaki organik grupların termooksidatif degradasyonuna aittir. Bu değer biyomedikal uygulamalar için yeterlidir.



Şekil 4.69. PEG 800 ve γ -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait TGA ve DSC termogramları

4.4.3.4. PEG 1000 ve γ -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarının karakterizasyonu

Bu çalışmada sentezlenen ağ yapılı hidrojeller için farklı molekül ağırlığına sahip PEG yapıları kullanılmıştır. Sentezlenen PEG 1000 ve γ -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait fotoğraflar Şekil 4.70’de verilmiştir. Bu fotoğraflardan sentezlenen hidrojellerin oldukça esnek, şeffaf ve adhesiv olduğu görülmektedir. Bu yapılar aynı zamanda saf, temiz ve tek fazlı olarak görülmektedir. Reaksiyon verimleri PEG-2000 kullanılarak elde edilen hidrojeller hariç diğerlerinden daha yüksektir.





γ SD-PEG-1000-KA



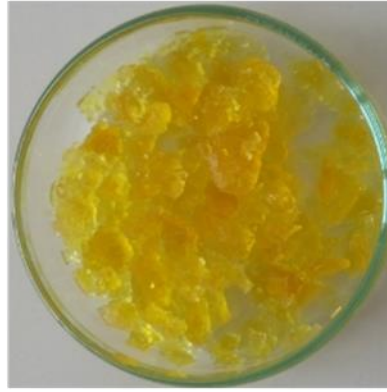
γ SD-PEG-1000-GA



γ SD-PEG-1000-Ek



γ SD-PEG-1000-Kuar

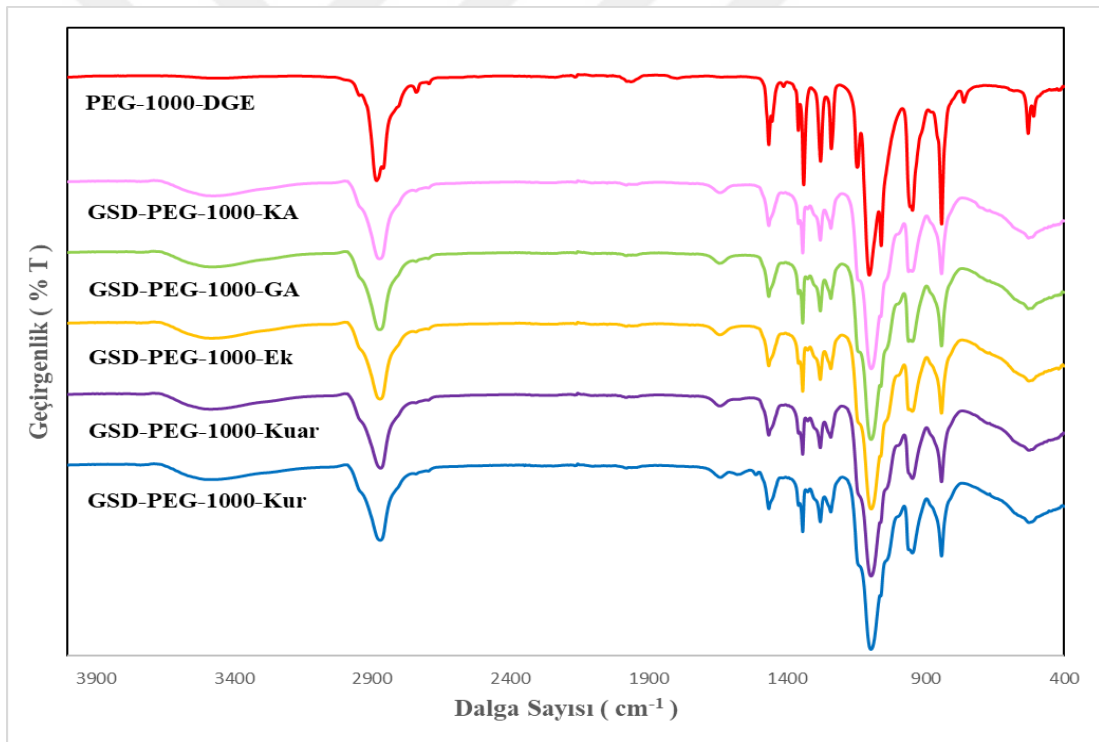


γ SD-PEG-1000-Kur

Şekil 4.70. PEG 1000 ve γ -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait fotoğraflar

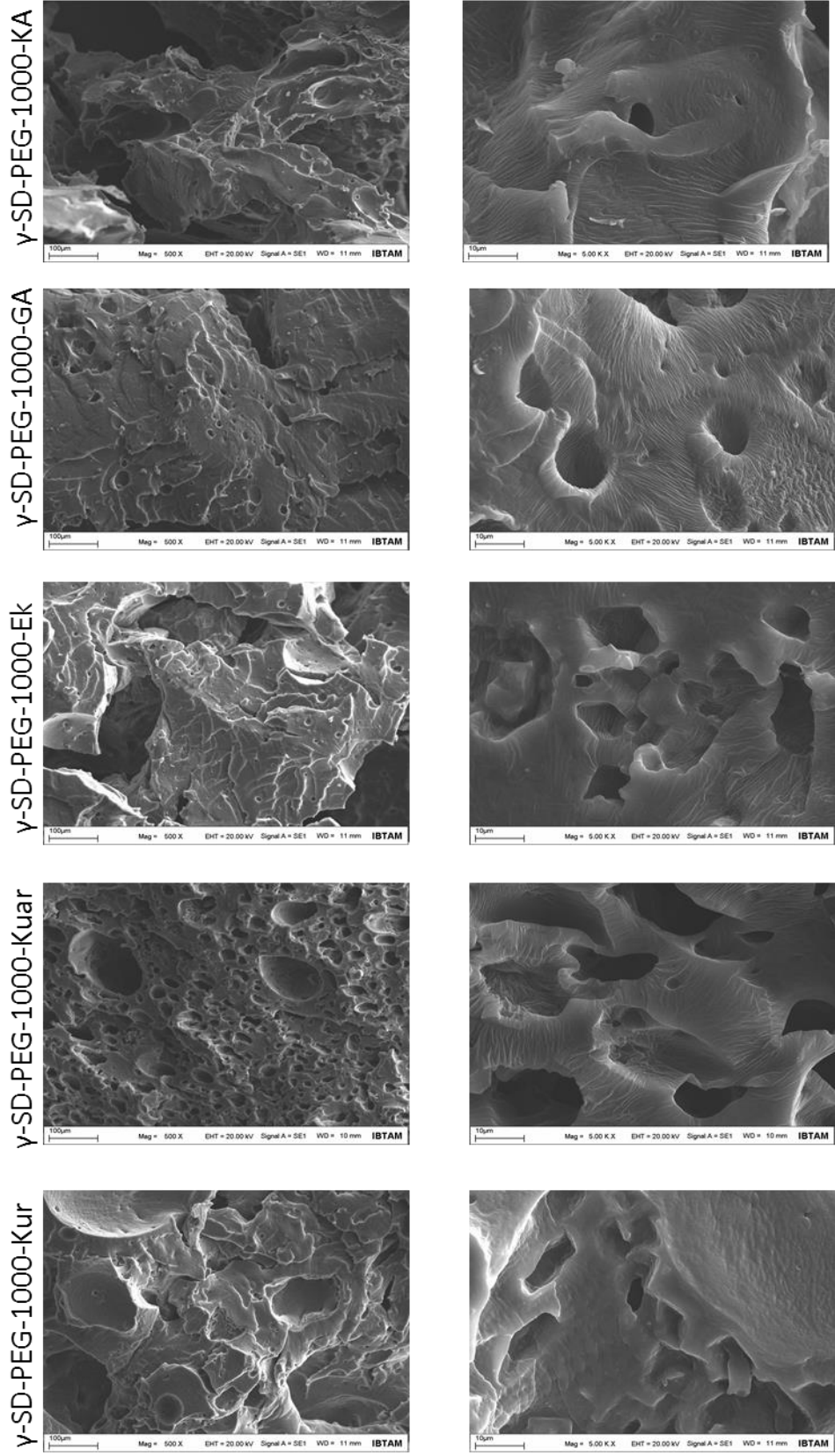
Elde edilen hidrojel yapıları ve reaksiyonun tamamlanıp tamamlanmadığı FTIR spektrumları ile sağlanmıştır. PEG-1000-DGE ve bu yapıdan elde edilen γ -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait FTIR spektrumları Şekil 4.71’de verilmiştir. Bu spektrumlarda öncelikle epoksit halkasının açılıp açılmadığı incelenmiştir. PEG-1000-DGE yapısının infrared spektrumunda 1647 cm^{-1} ’de CH-

gerilme titreşimi, 837 cm^{-1} epoksit halkası asimetrik eğilme titreşimi, 755 cm^{-1} 'de epoksit halkasındaki CH_2 gruplarına ait C-H eğilme titreşimleri ve 1238 cm^{-1} 'de epoksit halkası C-O-C pikleri görülmektedir. Elde edilen hidrojellere ait FTIR spektrumlarından diglisidil eter yapısına ait piklerin hiç birinin bulunmadığı görülmektedir. Bu durum epoksit halkasının açılarak siklodekstrin ve polifenollerin OH grupları ile bağlandığını göstermektedir. Bu bağlanma sonrasında oluşan hidrojel yapısında siklodekstrin gruplarına ait pikler görülmektedir. 1020 cm^{-1} 'de siklodekstrin yapısındaki C-O gerilme titreşimi 1100 cm^{-1} 'deki C-O-C eterik pikinin yanında bir omuz piki olarak görülmektedir. Polifenol yapılarından kaynaklı 1681 cm^{-1} , 1600 cm^{-1} ve 825 cm^{-1} sırası ile C=O, C=C ve C-H aromatik gerilme titreşimleri görülmektedir. Tüm bu pikler istenilen PEG 1000- γ -siklodekstrin- polifenol yapıları hidrojellerin elde edildiğini ispatlamaktadır.



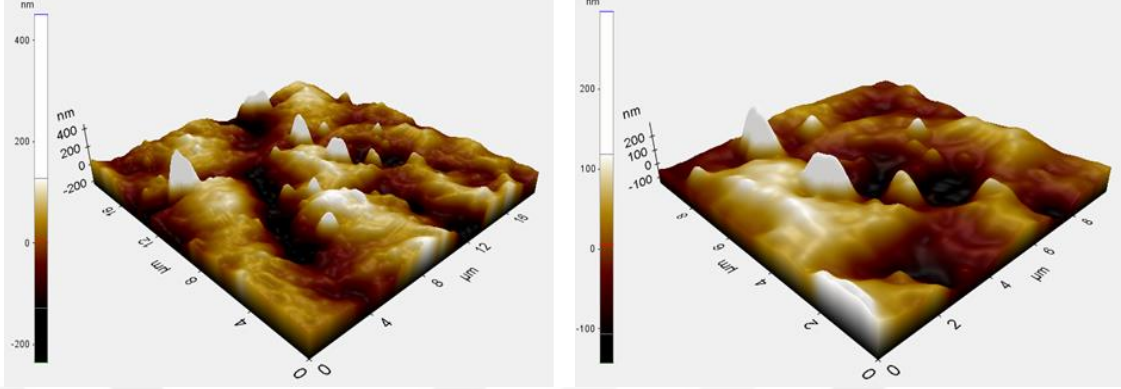
Şekil 4.71. PEG-1000-DGE ve bu yapıdan elde edilen γ -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait FTIR spektrumları

PEG 1000 ve γ -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait SEM görüntüleri Şekil 4.72'de verilmiştir. Bu görüntülerde elde edilen hidrojellere ait gözenekler net olarak görülmektedir ve literatürdeki hidrojel yapıları ile uyumludur.



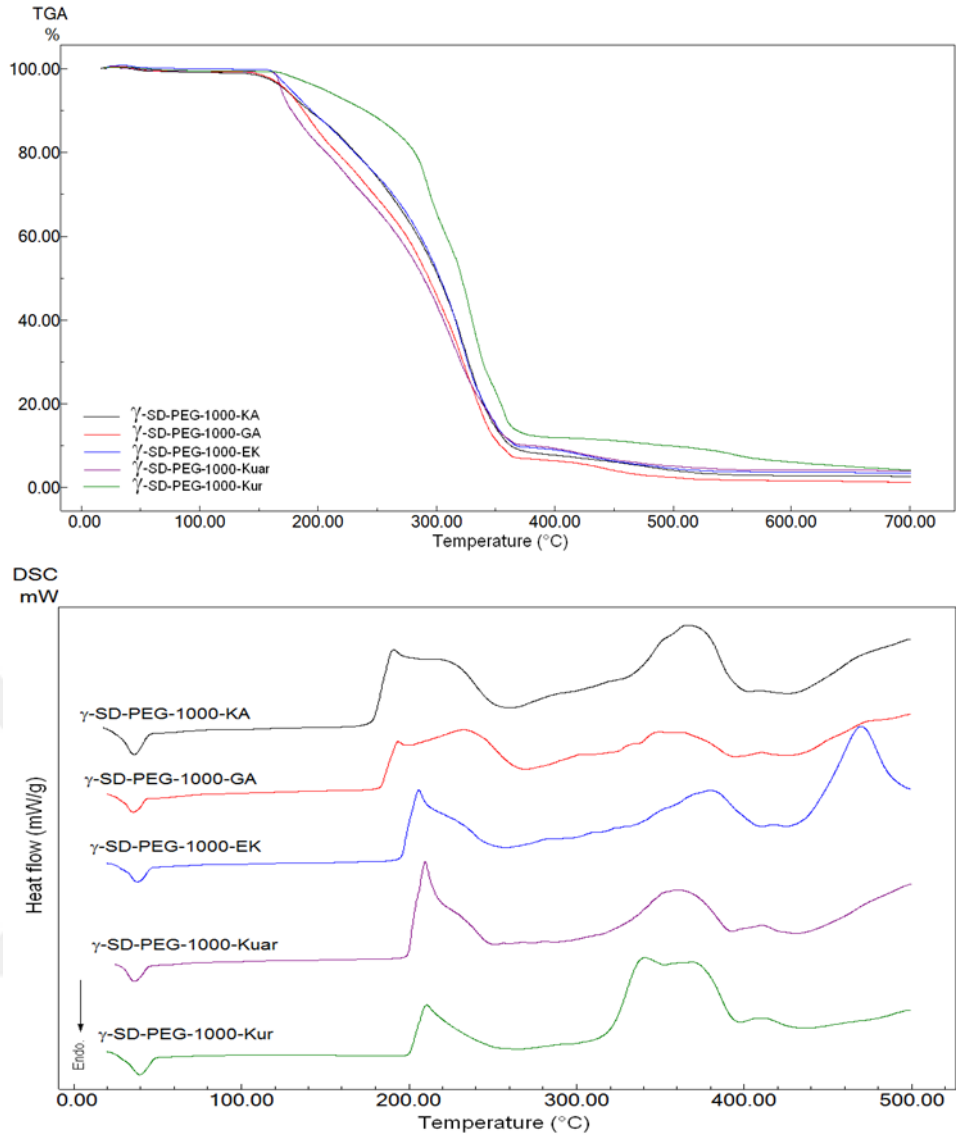
Şekil 4.72. PEG 1000 ve γ -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait SEM görüntüleri

Şekil 4.73’de hidrojellerin AFM görüntüleri verilmiştir. Bu görüntülerde, hem düşük büyütme hem de yüksek büyütme klasik hidrojel yapısı net olarak görülmektedir.



Şekil 4.73. PEG 1000 ve γ -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait AFM görüntüleri

PEG 1000 ve γ -siklodekstrin temelli hidrojellerin ısı kararlılıkları detaylı olarak incelenmiştir ve Şekil 4.74’de TGA termogramları gösterilmiştir. Bu termogramlarda hidrojel yapılarına ait tek bir kütle kaybı görülmektedir. Keskin ve dar bir aralıkta görülen bu kütle kaybı hidrojel yapısındaki $\text{CH}_2\text{-O-CH}_2$ bağının kırılması ile hidrojinin termal olarak degradasyonundan kaynaklanır. Tüm hidrojel yapıları 200 °C’nin üstünde ısı kararlılığına sahiptir.



Şekil 4.74. PEG 1000 ve γ -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait TGA ve DSC termogramları

4.4.3.5. PEG 2000 ve γ -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarının karakterizasyonu

PEG 2000 ve γ -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarının genel görünümü Şekil 4.75’de verilmiştir. Bu fotoğrafta ilk üç hidrojel yapısının şeffaf, diğer yapıların ise açık parlak, sarı renkte olduğu görülmektedir. PEG 2000 ile hazırlanan hidrojeller diğer hidrojel yapıları gibi esnek, hızlı şişebilen ve adhesiv özellikli jellerdir. Reaksiyon verimleri diğer PEG’lerden elde edilen hidrojellere göre en yüksektir. Sentez sonrasında reaksiyon kabında bir bütün olarak elde edilen hidrojeller sentez kabından parçalanarak çıkartılmaktadır. Fotoğraflarda bu parçalanmış hali

görülmektedir. Hidrojellerin bu hale getirilmesinin bir diğer nedeni de biyouyumluluk testleri öncesinde yıkanabilirliğinin artırılmasıdır.



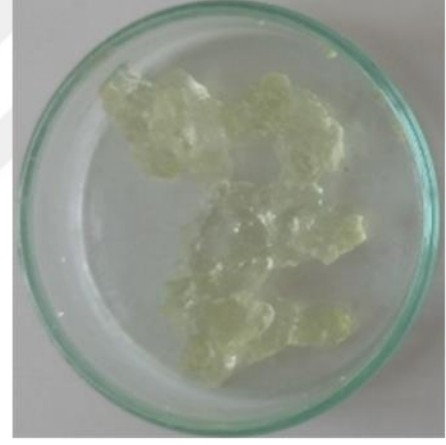
γ SD-PEG-2000-KA



γ SD-PEG-2000-GA



γ SD-PEG-2000-Ek



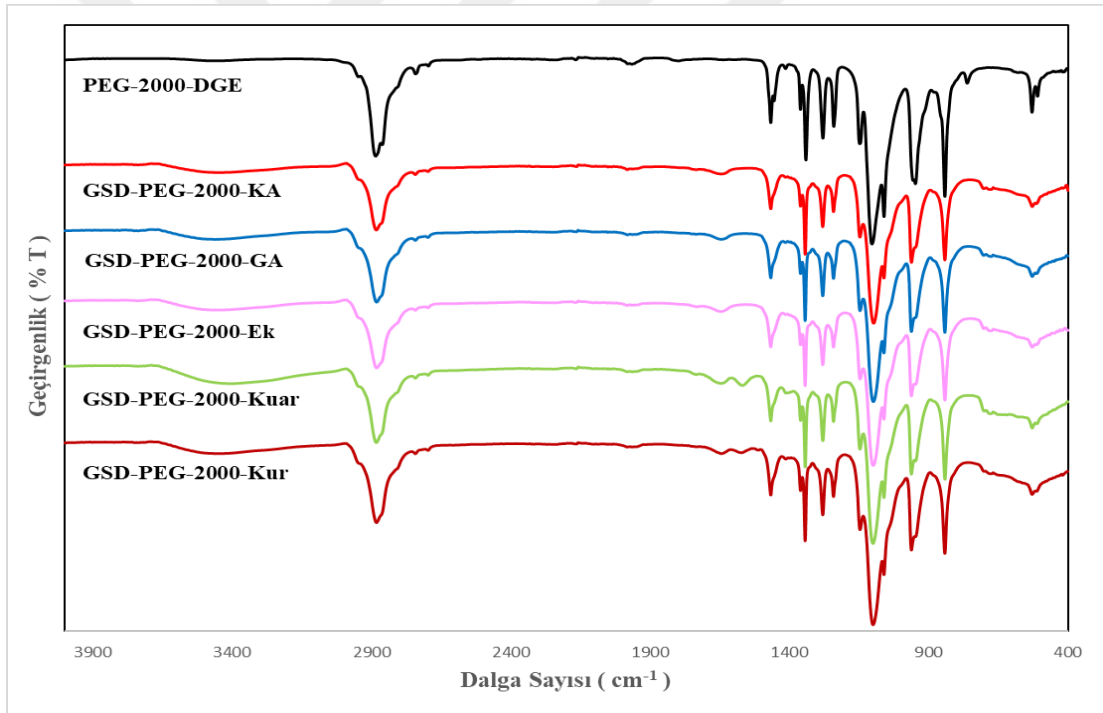
γ SD-PEG-2000-Kuar



γ SD-PEG-2000-Kur

Şekil 4.75. PEG 2000 ve γ -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait fotoğraflar

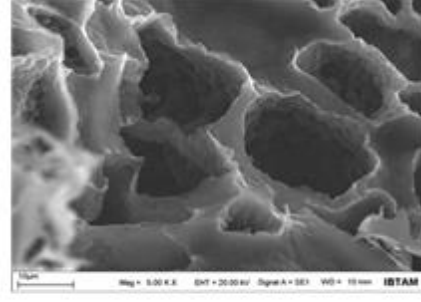
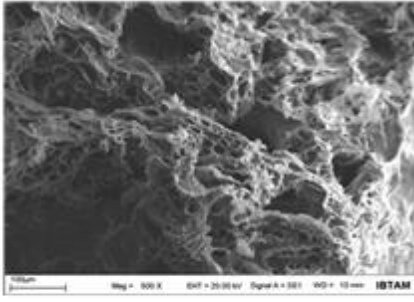
Sentezlenen PEG-2000-DGE ve bu yapıdan elde edilen γ -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait FTIR spektrumları Şekil 4.76’da verilmiştir. Bu spektrumlar PEG 2000 ve siklodekstrinin FTIR spektrumları ile kıyaslandığında yapının oldukça değiştiği ve yapıya polifenollerden kaynaklanan aromatik grupların piklerinin dahil olduğu görülmektedir. Örneğin 1600 cm^{-1} ’de aromatik C=C gerilmesi ve trisüstitüye benzen gruplarının C-H bantları 885 cm^{-1} ’de görülmektedir. Bu bantlara ek olarak sentezde kullanılan PEG-2000-DGE yapısına ait epoksi gruplarının karakteristik pikleri olan 950 cm^{-1} ’de asimetrik epoksit halka eğilmesi ve 759 cm^{-1} ’de epoksit halkası C-H eğilmesine ait pikler kaybolmuştur. Bu durum epoksit halkasının açıldığını ve istenilen ağ yapının elde edildiğini göstermektedir. Elde edilen ürünün jel yapısında olması ve şişebilir nitelik taşıması istenilen yapının oluştuğunun diğer bir ispatıdır.



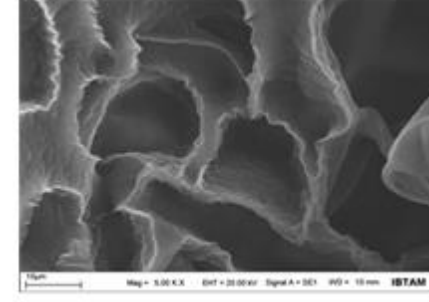
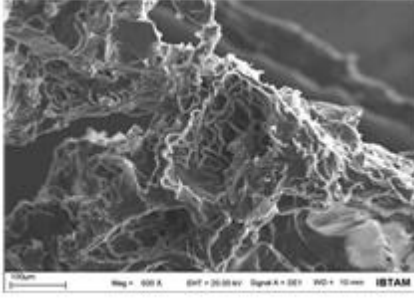
Şekil 4.76. PEG-2000-DGE ve bu yapıdan elde edilen γ -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait FTIR spektrumları

PEG 2000 ve γ -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait SEM görüntüleri Şekil 4.77’de verilmiştir. Bu SEM görüntülerinde düzenli büyüklüklerde olmayan geniş porlar ve gözenekler görülmektedir. PEG 2000 ve γ -siklodekstrin temelli hidrojellerde gözenekliliğin tüm yapıya hakim olduğu net bir şekilde anlaşılmaktadır. Görüntüler literatürdeki hidrojel yapılarının SEM görüntüleri ile uyumludur.

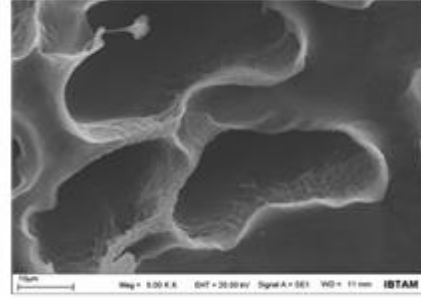
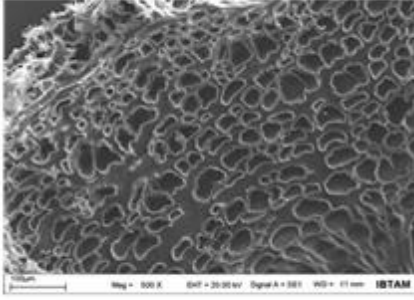
γ -SD-PEG-2000-KA



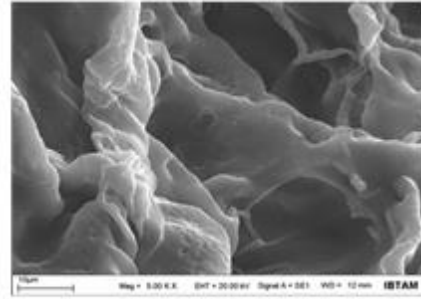
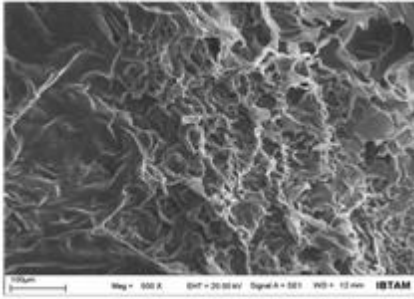
γ -SD-PEG-2000-GA



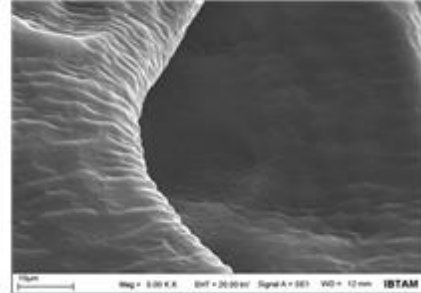
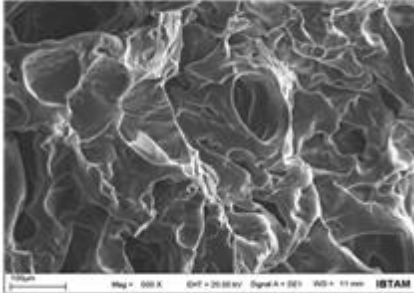
γ -SD-PEG-2000-Ek



γ -SD-PEG-2000-Kuar

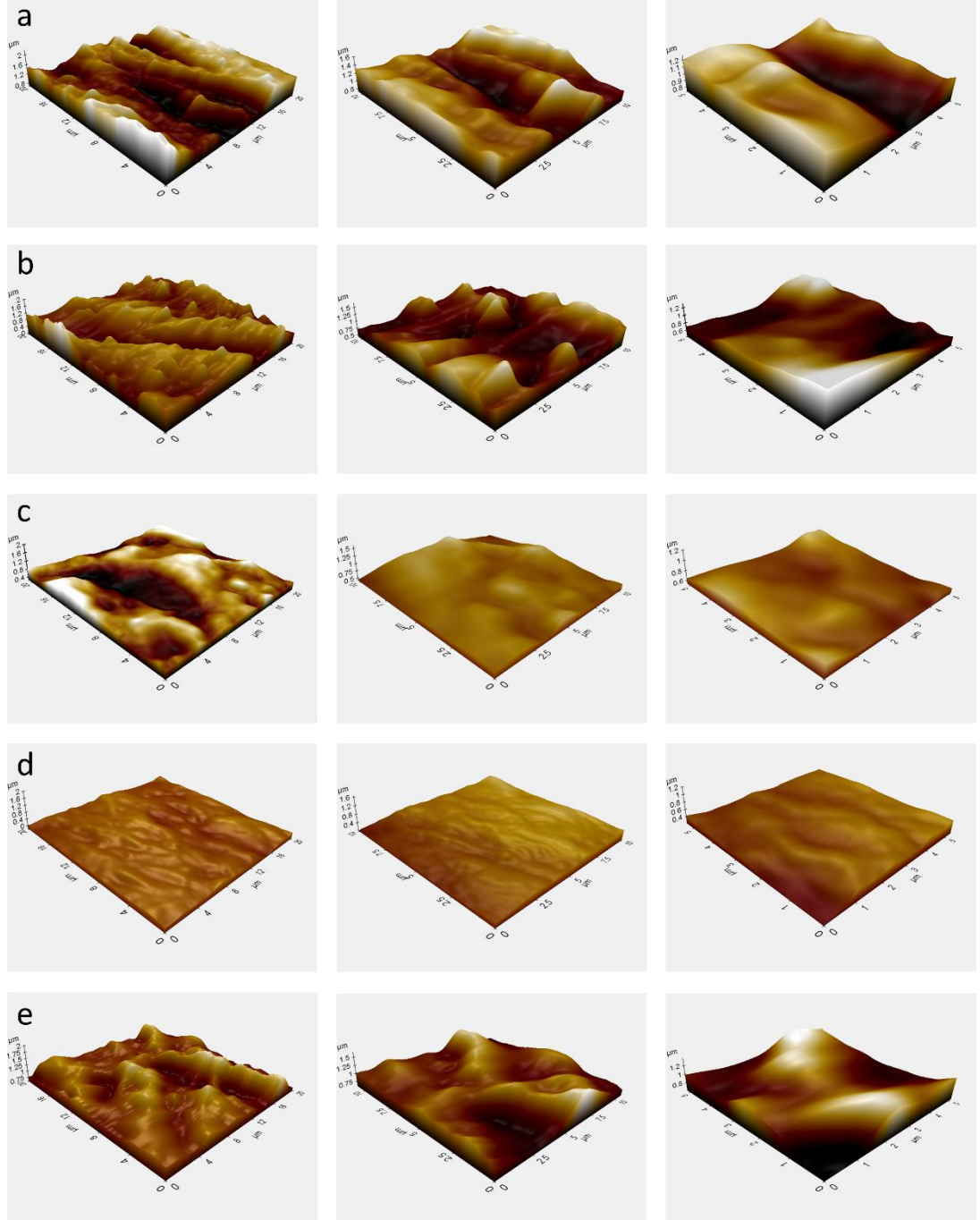


γ -SD-PEG-2000-Kur



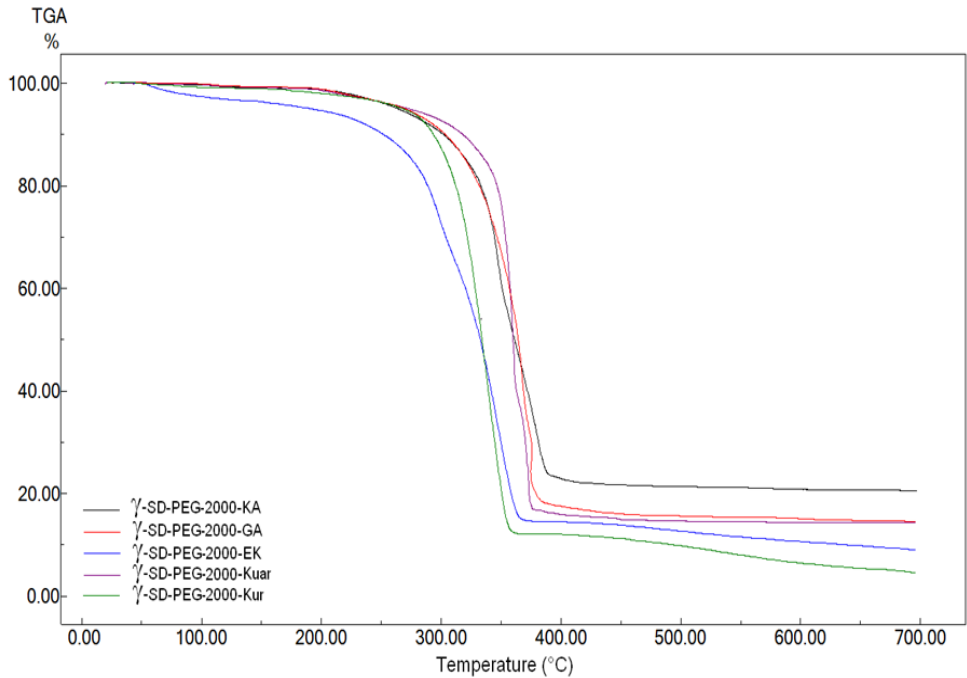
Şekil 4.77. PEG 2000 ve γ -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait SEM görüntüleri

Şekil 4.78’de verilen PEG 2000 ve γ -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait AFM görüntülerinde ise hidrojel yapılarındaki kaviteler ve yüzeydeki pürüzlülük net bir şekilde görülmektedir. Bu yapılar literatürdeki hidrojel yapılarının AFM görüntüleri ile uyum içerisinde.



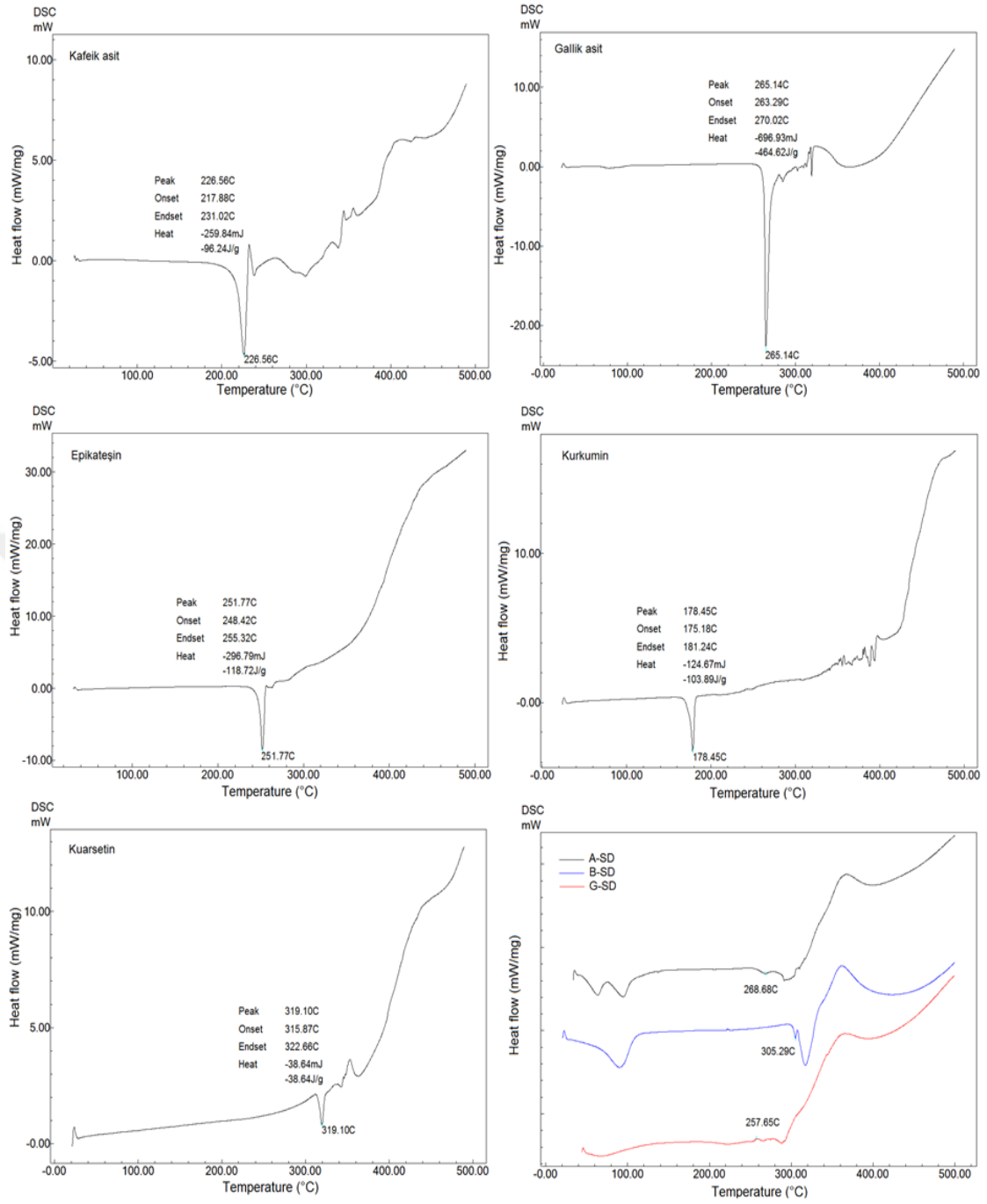
Şekil 4.78. PEG 2000 ve γ -siklodekstrin temelli yapılardan a) KA, b) GA, c) Ek, d) Kuar ve e) Kur içeren hidrojellerin AFM görüntüleri

PEG 2000 ve γ -siklodekstrin temelli hidrojenlerin termal analizleri TGA termogramları ile incelenmiştir. TGA termogramları Şekil 4.79’da verilmiştir. PEG 2000 ve γ -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait TGA termogramında diğer hidrojenlere göre daha düşük sıcaklıklarda bir bozunma gözlenmektedir. Bunun nedeni PEG zincir uzunluğu ve daha büyük γ -siklodekstrin halkası hidrojel yapısındaki yapısal kararlılığı düşürmektedir. Bu durum hidrojenin rijitliğini ve mekanik kararlılığını da düşürmektedir ve yapıyı esnek kılmaktadır. Ancak bu tip yapılarda KA, GA ve Kur gibi fonksiyonelliği düşük polifenollerin bağlanması yerine Ek ve Kuar gibi yüksek sayıda fonksiyonel grup bulunduran monomerler yapıya dahil oldukça hidrojenin esnekliği azalmakta ve ısı kararlılığı da artmaktadır. Ek ve Kuar 5 adet hidroksil ünitesi içermektedir ve siklodekstrin üniteleri gibi çapraz bağlayıcı olarak davranır. Siklodekstrin ve bu polifenoller ile hidrojel yapısı daha sağlam ve kararlı olsa da esnekliği ve şişme özelliği azalmaktadır. Diğer sentezlenen tüm hidrojel yapılarına göre ısı kararlılıkları düşük olsa da PEG 2000 ve γ -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarının TGA termogramlarında genel olarak bozunma (termal degradasyon) 200 °C civarında başlar. Bu termal bozunma pikleri Şekil 4.81’deki DSC termogramları ile uyumlu olarak görülmektedir.



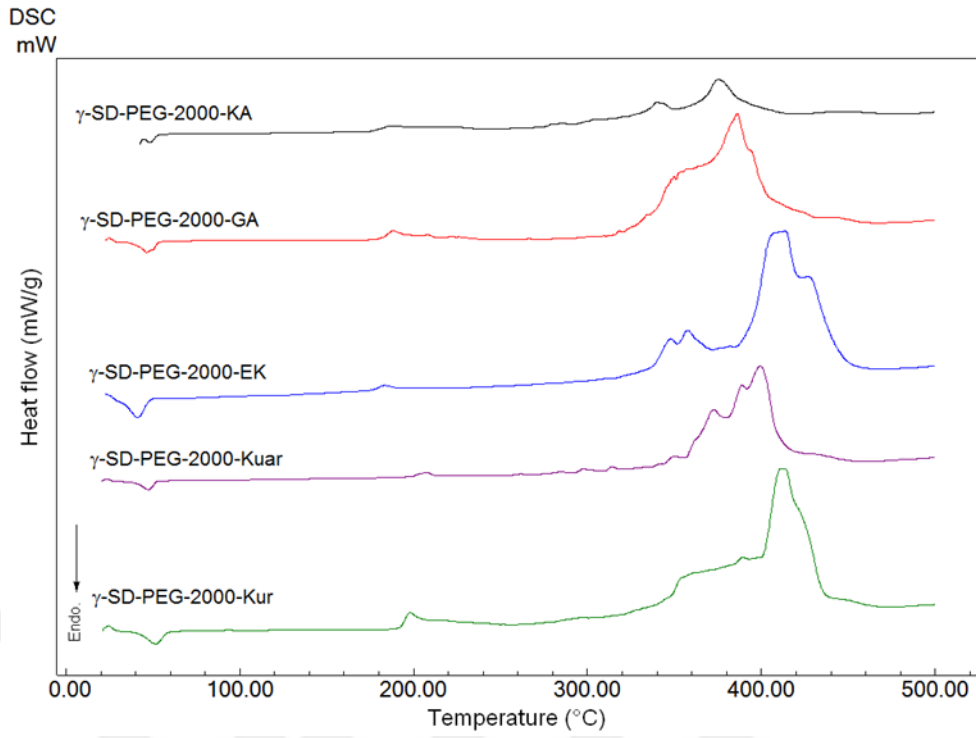
Şekil 4.79. PEG 2000 ve γ -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait TGA termogramları

Genel olarak elde edilen hidrojel yapılarının DSC termogramları, monomerlerinin termal analiz sonuçları ile kıyaslandığında yapısal değişim belirgin olarak görülmektedir. Özellikle polifenollerin yapılarında bulunan belirgin ve keskin erime piki hidrojel yapılarında görülmemektedir. Bu pikin hidrojel yapısında bulunmaması yapıda serbest ve reaksiyona girmemiş polifenol bulunmadığını ispatlamaktadır. Şekil 4.80’de hidrojel sentezinde kullanılan polifenollerin ve siklodekstrinlerin DSC termogramları görülmektedir. Bu termogramlarda KA için 226 °C, GA için 265 °C, Ek için 251 °C, Kuar için 319 °C ve Kur için 178 °C’de net bir erime piki görülmektedir. Bu piklerin hiç biri hidrojellerin DSC termogramlarında görülmemektedir. Bu sonuç polifenollerin yapıya bağlandığının bir göstergesidir. Elde edilen hidrojel yapıları çoğunlukla renklidir ve bu renklenme yapıya bağlanmış olan aromatik gruplara sahip polifenol gruplarından kaynaklanmaktadır. Siklodekstrin yapılarının DSC termogramlarında ise öncelikle 0 – 110 °C arasında yapıdaki nemin uzaklaşmasına ait pik görülmektedir (Kaminski vd., 2012). Daha sonra α -siklodekstrin yapısında 268 °C’de erime görülmektedir. β -Siklodekstrin yapısında 300 °C’den sonra erime piki görülmektedir (Olaru vd., 2009). γ -Siklodekstrin yapısı için ise yaklaşık 258 °C sıcaklıkta bozunma (termal dekompozisyon) başlamaktadır.



Şekil 4.80. Hidrojel sentezinde kullanılan polifenol ve siklodekstrin yapılarına ait DSC termogramları

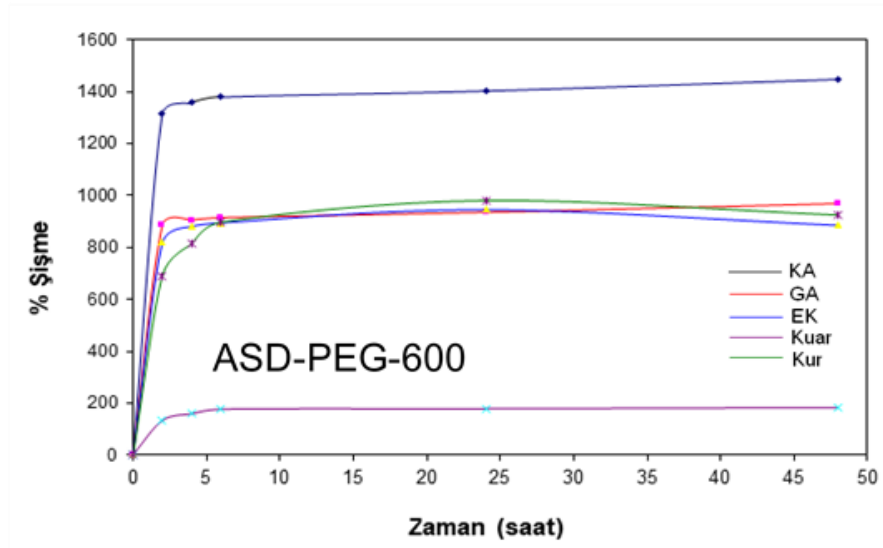
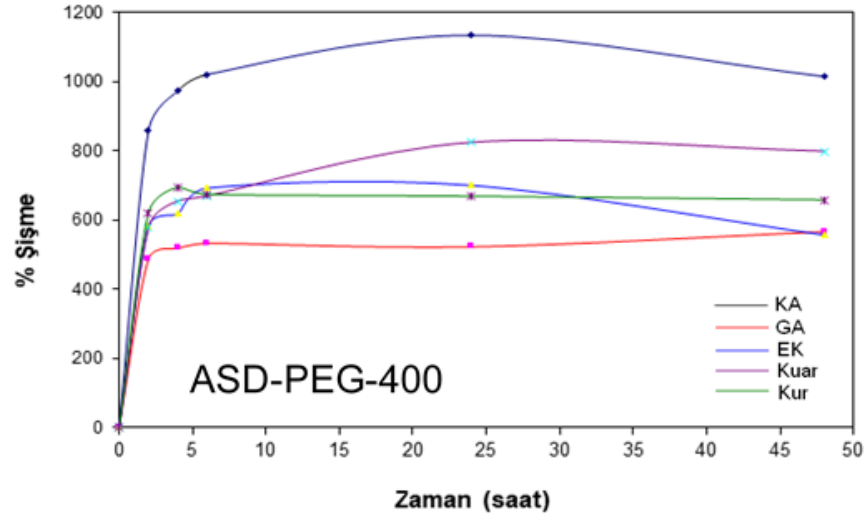
Bu erime pikleri hidrojel yapılarında ağ yapısına bağlanmadan kaynaklı oluşan yeni yapı nedeni ile görülmemektedir. Şekil 4.81’de PEG 2000 ve γ -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait DSC termogramları verilmiştir.



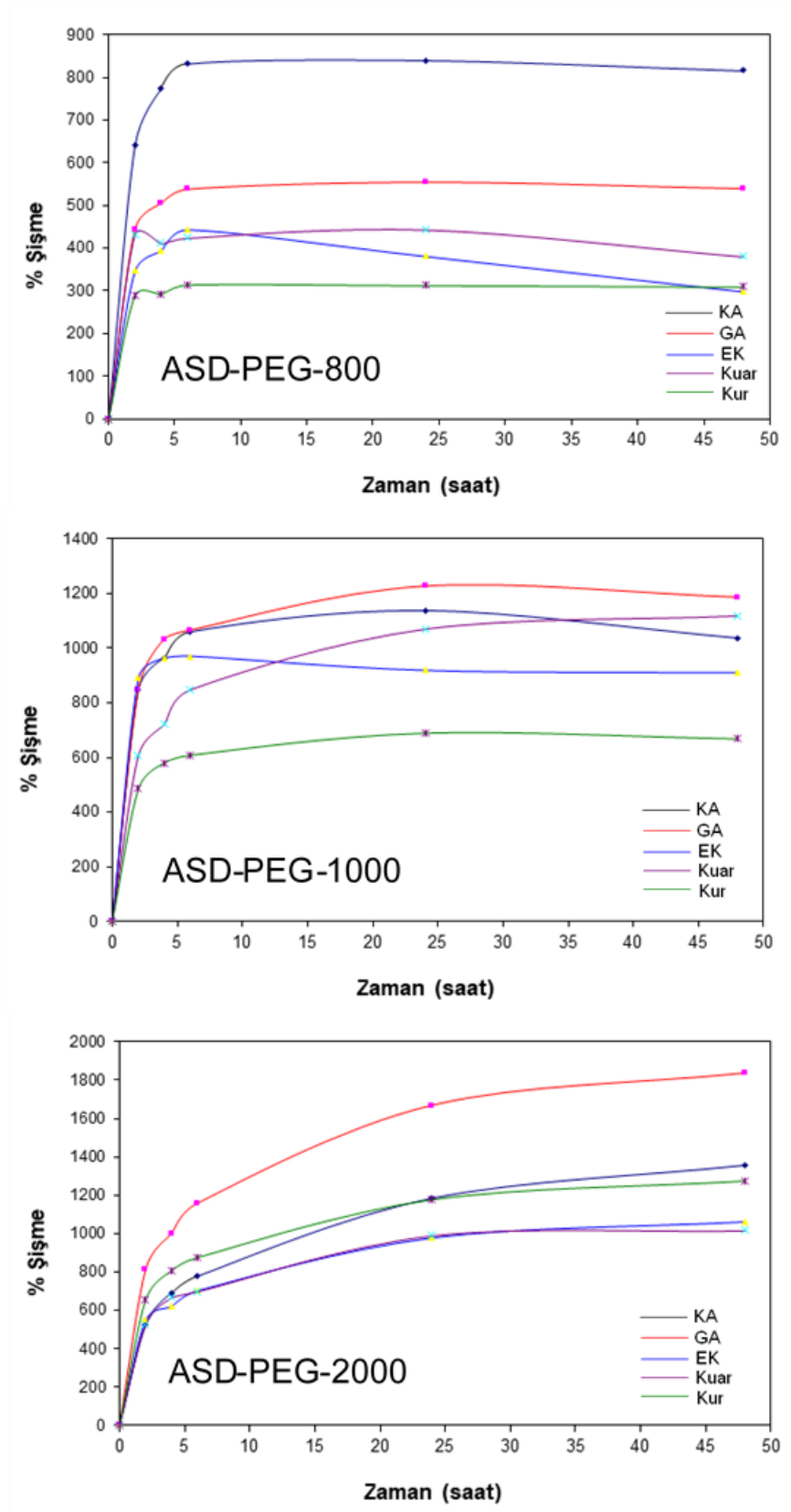
Şekil 4.81. PEG 2000 ve γ -siklodekstrin temelli hidrojel yapılarına ait DSC termogramları

4.5. Hidrojellerin Şişme Özelliklerinin Belirlenmesi

α -, β - ve γ -siklodekstrin içeren hidrojellerden α -siklodekstrin yapılı hidrojeller için elde edilen şişme grafikleri Şekil 4.82 ve Şekil 4.83’de gösterilmiştir.

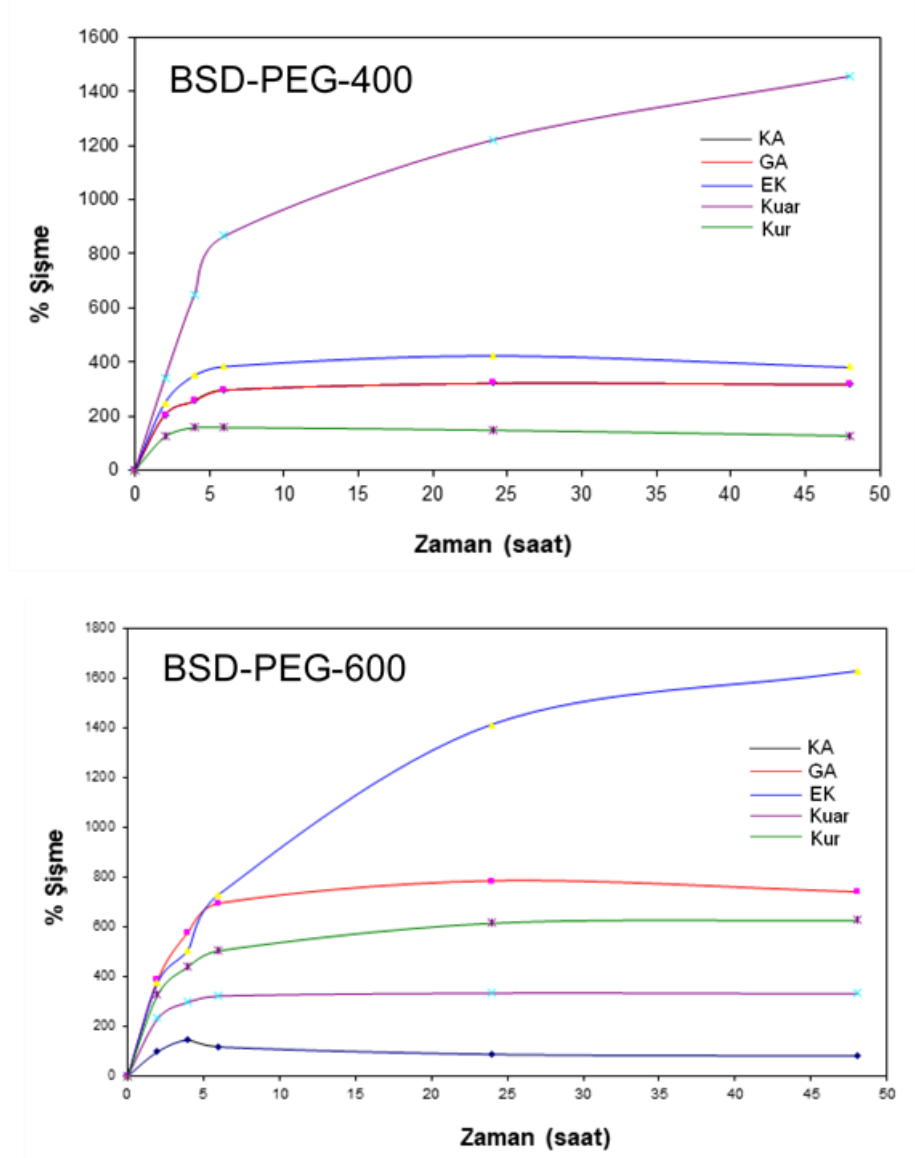


Şekil 4.82. ASD-PEG-400 ve ASD-PEG-600 hidrojenlerinin şişme test sonuçları

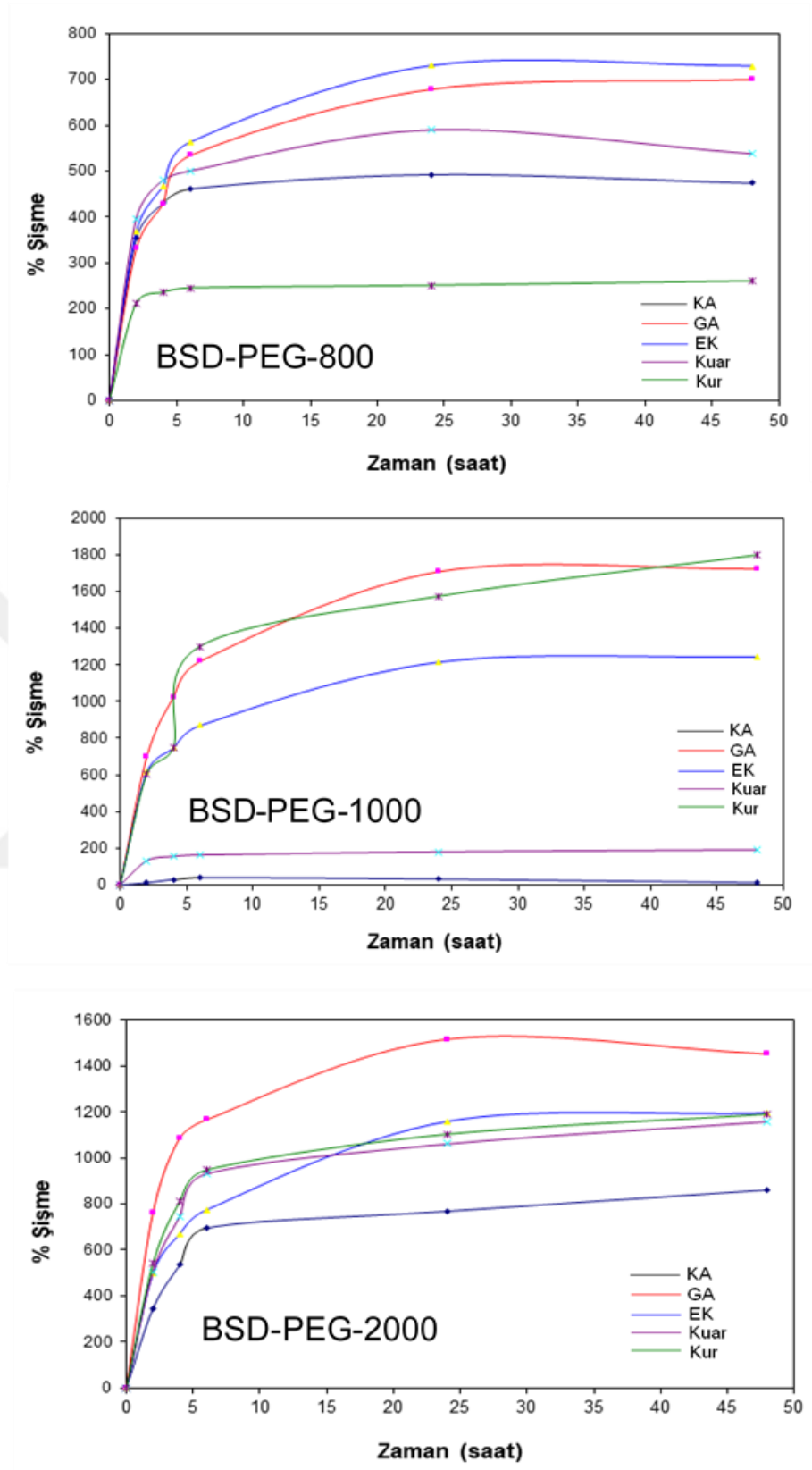


Şekil 4.83. ASD-PEG-800, ASD-PEG-1000 ve ASD-PEG-2000 hidrojenlerinin şişme test sonuçları

β -Siklodekstrin yapıllı hidrojelley için Şişme grafikleyi Şekil 4.84 ve 4.85’de verilmiştir.

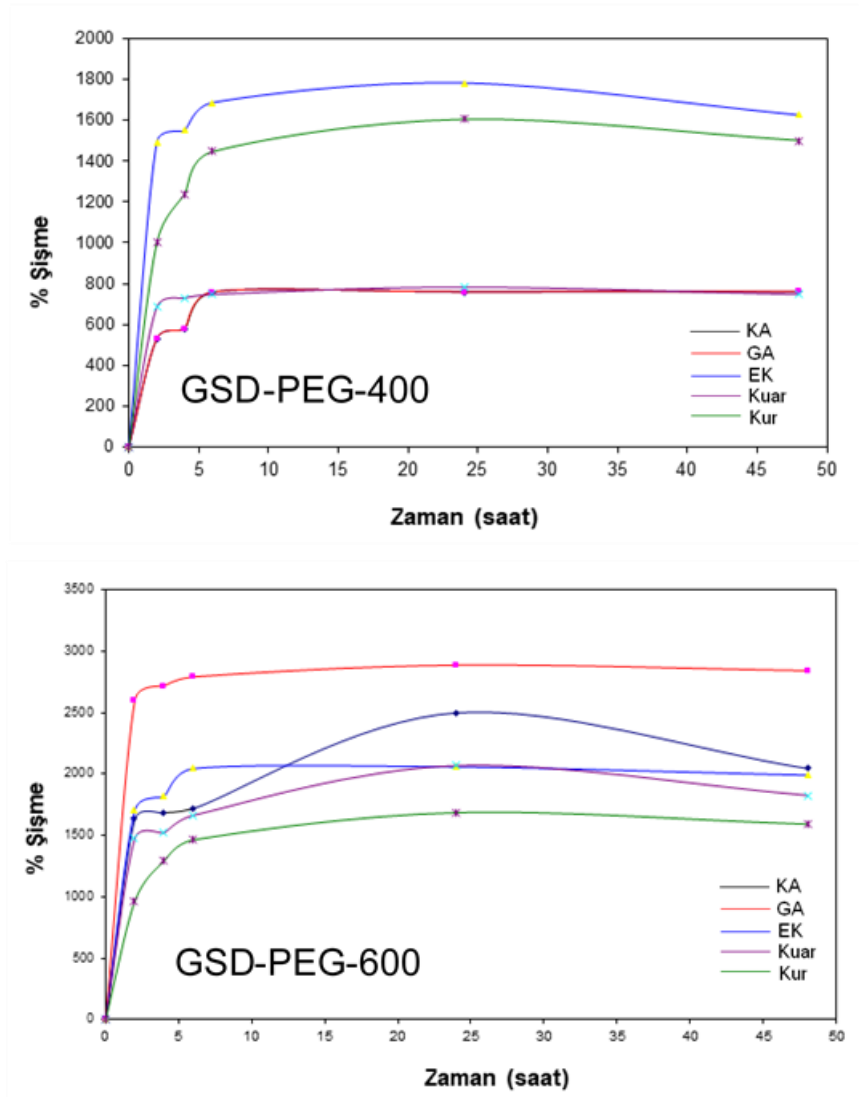


Şekil 4.84. BSD-PEG-400 ve BSD-PEG-600 hidrojelleyinin Şişme test sonuçları



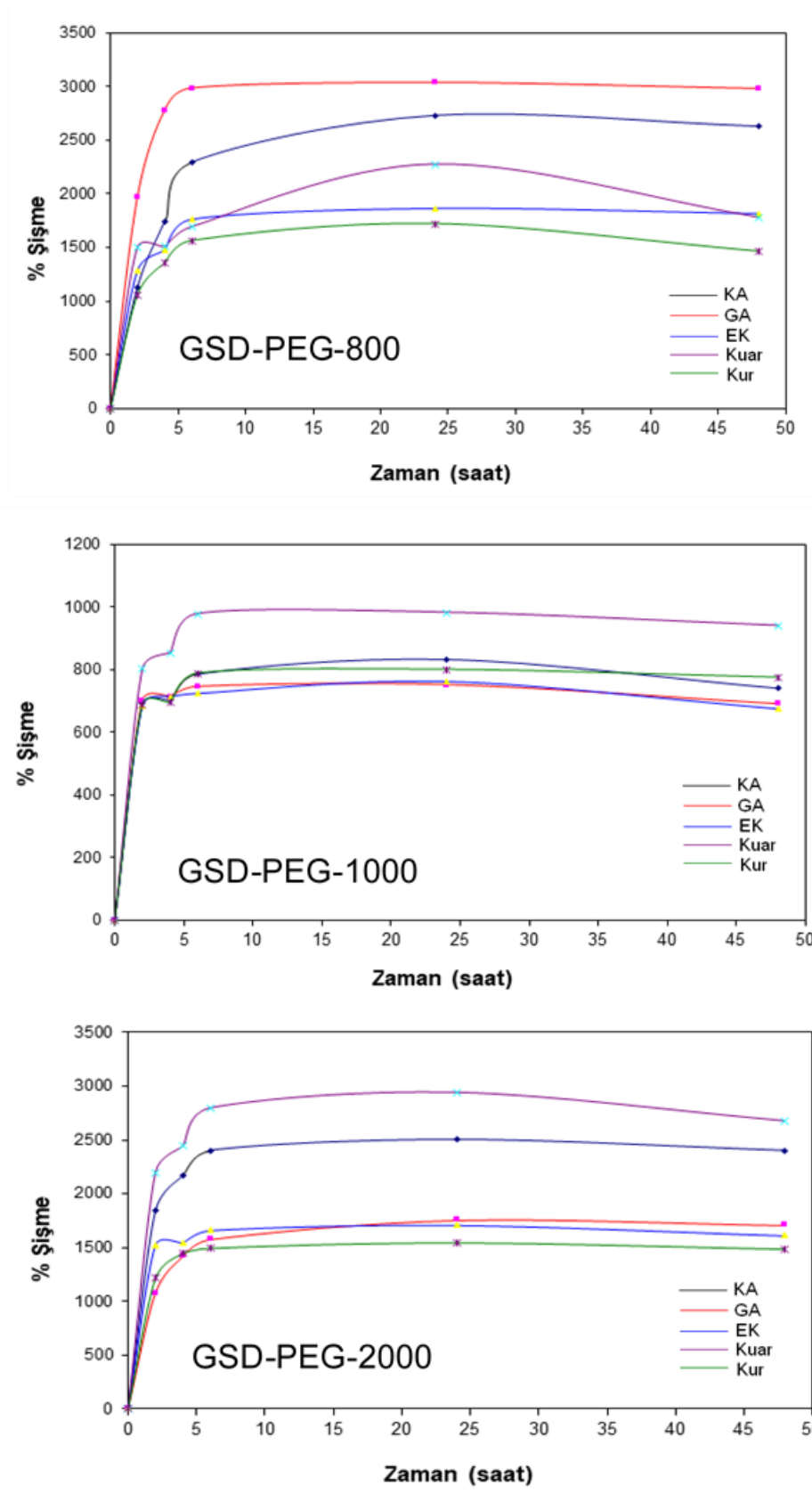
Şekil 4.85. BSD-PEG-800, BSD-PEG-1000 ve BSD-PEG-2000 hidrojellerinin şişme test sonuçları

γ -Siklodekstrin içeren hidrojel için elde edilen şişme grafikleri Şekil 4.86 ve Şekil 4.87’de gösterilmiştir.



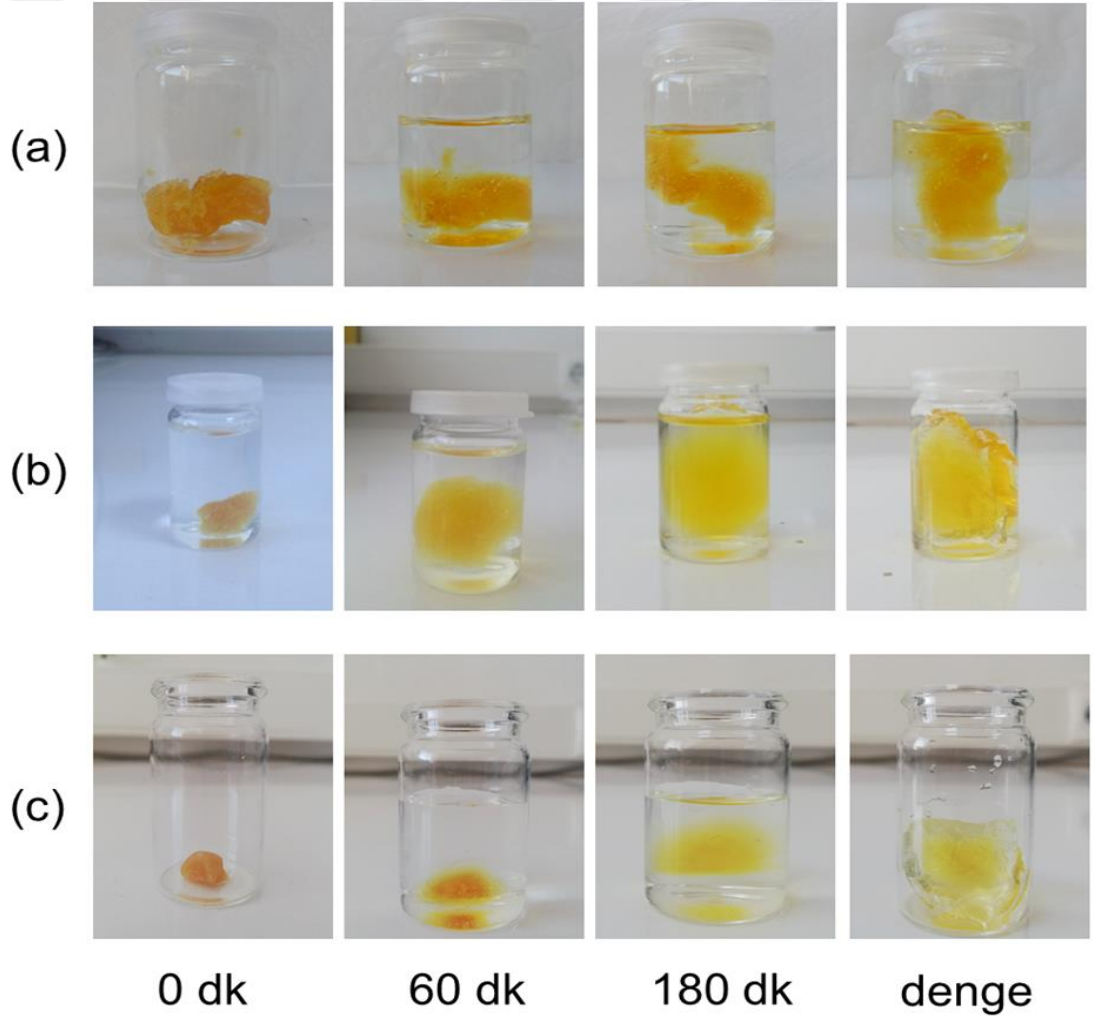
Şekil 4.86. GSD-PEG-400 ve GSD-PEG-600 hidrojellerinin şişme test sonuçları

Şişme test sonuçlarına göre α -siklodekstrin, β -siklodekstrin ve γ -siklodekstrin temelli hidrojellerin büyük bir kısmının şişme kapasitelerinin genellikle yüksek olduğu ve hızlı bir şekilde şişerek yapılarına bağlı olarak yaklaşık 3-5 saat içerisinde denge şişme değerlerine ulaştığı görülmektedir.



Şekil 4.87. GSD-PEG-800, GSD-PEG-1000 ve GSD-PEG-2000 hidrojellerinin şişme test sonuçları

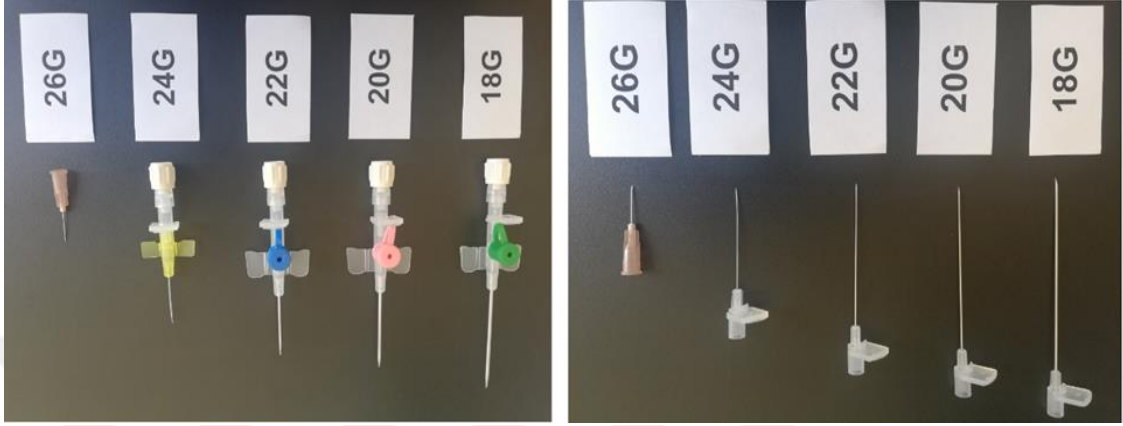
Şekil 4.88’de α -, β - ve γ -siklodekstrin içeren hidrojenlerin zamana bağı şişme görüntüleri verilmiştir. Bu görüntülerde hidrojenlerin homojen olarak şiştiği görülmekte ve bu şişme davranışı malzemenin hidrojel yapısını ispatlamaktadır. Ayrıca hidrojel yapısındaki renk yapıya bağlanan polifenol gruplarındaki kromofor ünitelerinden kaynaklanmaktadır ve hidrojel yapısındaki polifenol varlığının ispatı niteliğindedir. Sentezi gerçekleştirilen hidrojenlerin büyük bir kısmı ilk beş saatlik zaman diliminde şişme doygunluğuna (şişme dengesine) ulaşmıştır. Şişme sırasında ve sonrasında bulunduğu çözeltiye renk vermemiştir. Bu da polifenollerin yapıya bağlandığını göstermektedir. Eğer polifenol molekülleri yapıya bağlanmayarak absorplanmış olsalardı zamanla hidrojel yapısından sızma yaparak çözeltinin rengini değiştirirlerdi.



Şekil 4.88. a) α -Siklodekstrin, b) β -siklodekstrin ve c) γ -siklodekstrin içeren hidrojenlerin zamana bağı şişme görüntüleri

4.6. Hidrojellerin Enjekte Edilebilirliklerinin Test Edilmesi

Çalışmada elde edilen hidrojellerin enjekte edilebilirliklerini belirlemek için kullanılan enjektör uçlarının resimleri Şekil 4.89’da verilmiştir.



Şekil 4.89. Hidrojellerin enjekte edilebilirlik testlerinde kullanılan 18, 20, 22, 24 ve 26 gauge iğne uçları

Hidrojel yapılarının enjekte edilebilirlik deney görüntüleri Şekil 4.90’da verilmiştir.



Şekil 4.90. Hidrojel yapılarının enjekte edilebilirlik deney görüntüleri

Sentezi gerçekleştirilen jellerin vücut içersine uygulanabilmesi için enjekte edilebilir nitelikte olması önemlidir. Bu uygulama sırasında enjektör ucunun inceliği hastanın daha az acı hissetmesi açısından önemlidir. Bu nedenle en uygun iğnenin seçimi için farklı gauge iğneler kullanılmıştır ve sonuçlar Çizelge 4.1, Çizelge 4.2 ve

Çizelge 4.3’de gösterilmiştir. (En geniş iğne 18 gauge iken en küçük çaplı iğne 26 gaugedir.) Bu sonuçlara göre elde edilen hidrojenlerin enjekte edilebilirliklerinin yüksek olduğu görülmüştür. 18 gauge enjektörde hidrojenlerin % 85’ inin enjekte edilebilir olduğu, 26 gauge enjektörde ise hidrojenlerin % 38’ inin enjekte edilebilir olduğu tespit edilmiştir.



Çizelge 4.1. α -siklodekstrin yapılı hidrojellerin enjekte edilebilirlik test sonuçları

Hidrojinin adı	18 gauge	20 gauge	22 gauge	24 gauge	26 gauge
α -SD-PEG-400-KA	+	+	+	+	+
α -SD-PEG-400-GA	-	-	-	-	-
α -SD-PEG-400-Ek	+	-	-	-	-
α -SD-PEG-400-Kuar	+	+	+	+	+
α -SD-PEG-400-Kur	+	+	+	+	+
α -SD-PEG-600-KA	+	+	-	-	-
α -SD-PEG-600-GA	-	-	-	-	-
α -SD-PEG-600-Ek	+	+	-	-	-
α -SD-PEG-600-Kuar	+	+	+	+	-
α -SD-PEG-600-Kur	+	+	+	-	-
α -SD-PEG-800-KA	+	+	+	+	+
α -SD-PEG-800-GA	+	+	+	+	+
α -SD-PEG-800-Ek	+	-	-	-	-
α -SD-PEG-800-Kuar	+	-	-	-	-
α -SD-PEG-800-Kur	+	+	-	-	-
α -SD-PEG-1000-KA	-	-	-	-	-
α -SD-PEG-1000-GA	+	+	+	+	+
α -SD-PEG-1000-Ek	+	-	-	-	-
α -SD-PEG-1000-Kuar	+	+	+	+	+
α -SD-PEG-1000-Kur	+	+	+	-	-
α -SD-PEG-2000-KA	+	+	+	+	-
α -SD-PEG-2000-GA	+	+	+	+	-
α -SD-PEG-2000-Ek	+	+	+	-	-
α -SD-PEG-2000-Kuar	+	-	-	-	-
α -SD-PEG-2000-Kur	+	+	+	+	-

Çizelge 4.2. β -siklodekstrin yapılı hidrojelilerin enjekte edilebilirlik test sonuçları

Hidrojelin adı	18 G	20	22	24	26 G
β -SD-PEG-400-KA	-	-	-	-	-
β -SD-PEG-400-GA	+	+	+	+	+
β -SD-PEG-400-Ek	-	-	-	-	-
β -SD-PEG-400-Kuar	+	+	+	+	+
β -SD-PEG-400-Kur	-	-	-	-	-
β -SD-PEG-600-KA	-	-	-	-	-
β -SD-PEG-600-GA	+	+	+	+	-
β -SD-PEG-600-Ek	+	+	+	+	+
β -SD-PEG-600-Kuar	+	+	+	+	+
β -SD-PEG-600-Kur	+	+	+	+	+
β -SD-PEG-800-KA	+	+	+	-	-
β -SD-PEG-800-GA	+	+	-	-	-
β -SD-PEG-800-Ek	+	+	+	+	+
β -SD-PEG-800-Kuar	+	+	+	+	+
β -SD-PEG-800-Kur	+	+	+	+	+
β -SD-PEG-1000-KA	-	-	-	-	-
β -SD-PEG-1000-GA	+	+	+	+	+
β -SD-PEG-1000-Ek	+	+	+	+	+
β -SD-PEG-1000-Kuar	+	-	-	-	-
β -SD-PEG-1000-Kur	+	+	+	+	+
β -SD-PEG-2000-KA	+	+	+	+	-
β -SD-PEG-2000-GA	+	+	+	+	-
β -SD-PEG-2000-Ek	+	+	+	+	-
β -SD-PEG-2000-Kuar	+	+	+	-	-
β -SD-PEG-2000-Kur	+	+	+	+	+

Çizelge 4.3. γ -siklodekstrin yapıli hidrojelilerin enjekte edilebilirlik test sonuçları

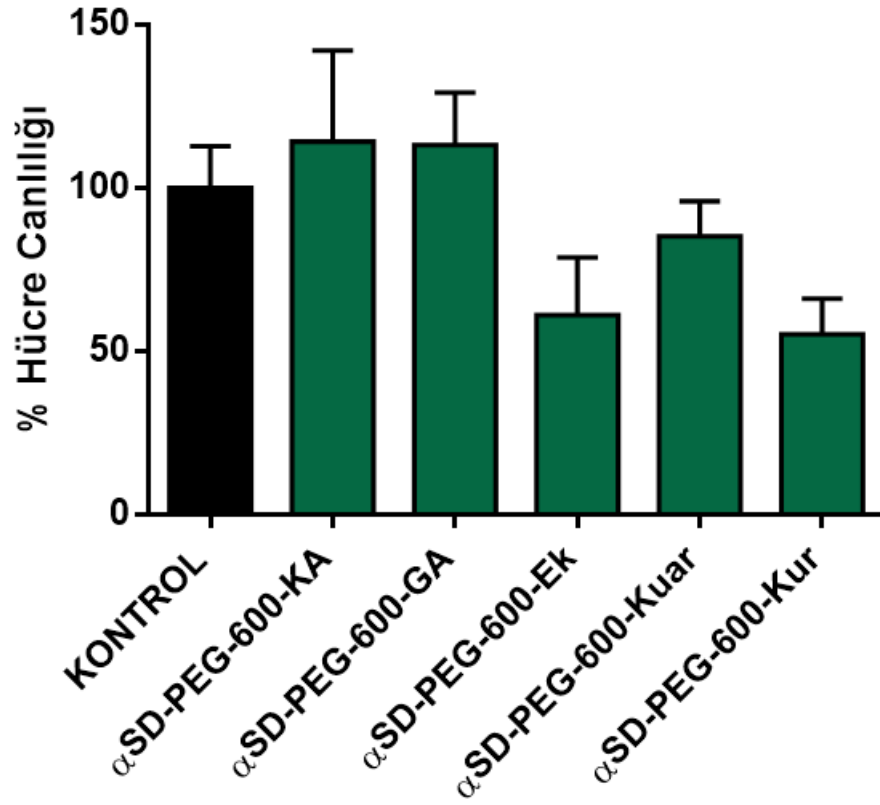
Hidrojelin adı	18 G	20 G	22 G	24 G	26 G
γ -SD-PEG-400-KA	-	-	-	-	-
γ -SD-PEG-400-GA	+	-	-	-	-
γ -SD-PEG-400-Ek	+	-	-	-	-
γ -SD-PEG-400-Kuar	+	-	-	-	-
γ -SD-PEG-400-Kur	+	+	-	-	-
γ -SD-PEG-600-KA	+	-	-	-	-
γ -SD-PEG-600-GA	+	+	-	-	-
γ -SD-PEG-600-Ek	+	+	+	+	+
γ -SD-PEG-600-Kuar	+	+	+	+	+
γ -SD-PEG-600-Kur	+	+	+	+	+
γ -SD-PEG-800-KA	+	+	+	+	+
γ -SD-PEG-800-GA	+	+	+	+	+
γ -SD-PEG-800-Ek	+	+	+	+	+
γ -SD-PEG-800-Kuar	+	+	+	+	+
γ -SD-PEG-800-Kur	+	+	+	+	+
γ -SD-PEG-1000-KA	+	-	-	-	-
γ -SD-PEG-1000-GA	+	+	-	-	-
γ -SD-PEG-1000-Ek	+	-	-	-	-
γ -SD-PEG-1000-Kuar	-	-	-	-	-
γ -SD-PEG-1000-Kur	-	-	-	-	-
γ -SD-PEG-2000-KA	+	+	+	+	+
γ -SD-PEG-2000-GA	+	+	-	-	-
γ -SD-PEG-2000-Ek	+	+	-	-	-
γ -SD-PEG-2000-Kuar	+	+	+	-	-
γ -SD-PEG-2000-Kur	+	+	+	+	+

4.7. Sentezlenen Hidrojellerin *In vitro* Hücre Kültür Sisteminde Biyouyumluluk Özelliklerinin Ölçülmesi

Çalışmada Asherman sendromunun oluşumunu engellemek amacı ile 75 farklı yapıda hidrojel sentezlenmiştir. Ancak tüm bu yapıların hücre kültür sisteminde incelenmesinin yüksek maliyetli olması ve hedef bir hidrojel seçimi yapılabilmesi için *in vitro* hücre kültür sisteminde biyouyumluluk çalışmaları öncesi bir ön eleme yapılmıştır. Bu optimizasyon çalışması sırasında en iyi hidrojinin seçiminde şişme özelliği ve enjekte edilebilirliklerin uygun olması göz önüne alınmıştır. Bu parametrelere göre α -SD, β -SD ve γ -SD temelli PEG 600 ve PEG 800 içeren hidrojeller seçilerek *in vitro* hücre kültür sisteminde biyouyumluluk çalışmaları bu hidrojellere uygulanmıştır.

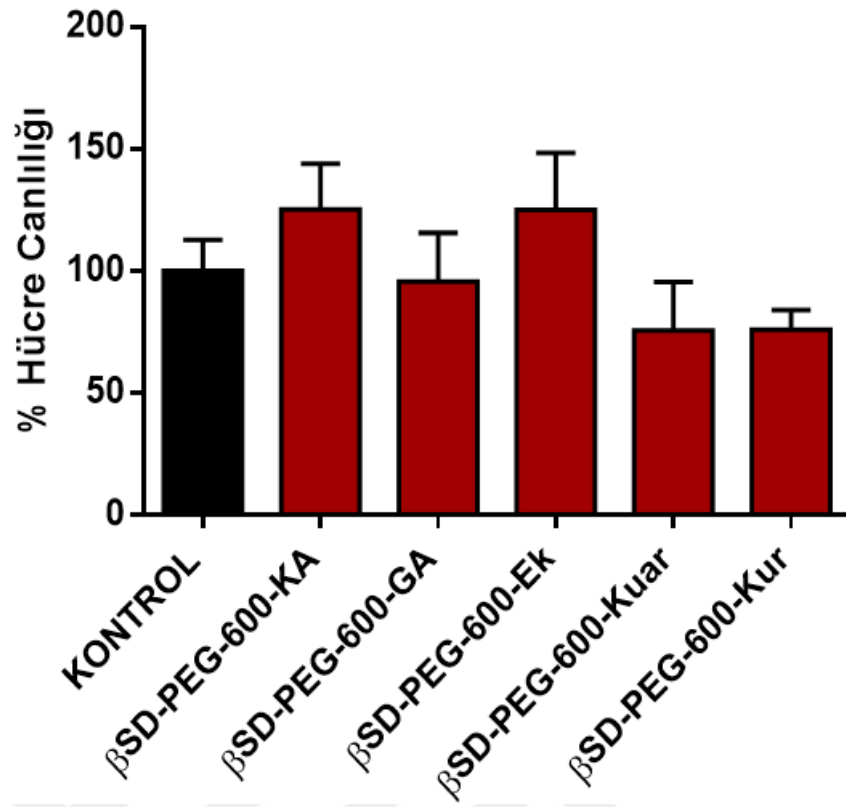
Hazırlanan hidrojellerin morfolojik görünüşleri, şişme kapasiteleri ve enjekte edilebilirlik ölçümlerinden yola çıkılarak PEG-600 ve PEG-800 içeren hidrojeller için hücre kültür sisteminde L929 hücre hattı üzerinde biyouyumluluk testleri gerçekleştirilmiştir. L929 hücre hattı biyouyumluluk deneylerinde ASTM ve ISO standartlarına göre kabul gören fibroblast kökenli hücre hattı kullanılmıştır. Çalışma sonuçlarına göre Şekil 4.91-93 arasında PEG-600 ve Şekil 4.94-96 arasında ise PEG-800 içeren hidrojellerin L929 hücre hattına ait hücre canlılıkları verilmiştir.

Sentezlenen PEG-600 ve α -siklodekstrin temelli hidrojellerdeki biyouyumluluk oranları PEG-600 ve β -siklodekstrin temelli hidrojellere kıyasla nispeten düşük çıkmıştır. Bunun altındaki temel sebep β -siklodekstrinin yüksek hidroksil içeriğinden dolayı etkili çapraz bağlanma düzeyi sağlanarak daha kararlı polimerler elde edilmesi olabilir. PEG-600 ve α -siklodekstrin temelli hidrojellerden KA içeren hidrojel için hücre canlılığı % 114,2, GA içeren hidrojel için % 113,2 olarak belirlenmiş olup hücre proliferasyonunu indüklemişlerdir. Kuar temelli hidrojel için hücre canlılığı ise % 85 olarak belirlenmiştir. Diğer yandan Ek içeren hidrojel için hücre canlılığı % 61,0 ve Kur içeren hidrojel için % 55,1 olarak belirlenmiştir (Şekil 4.91).



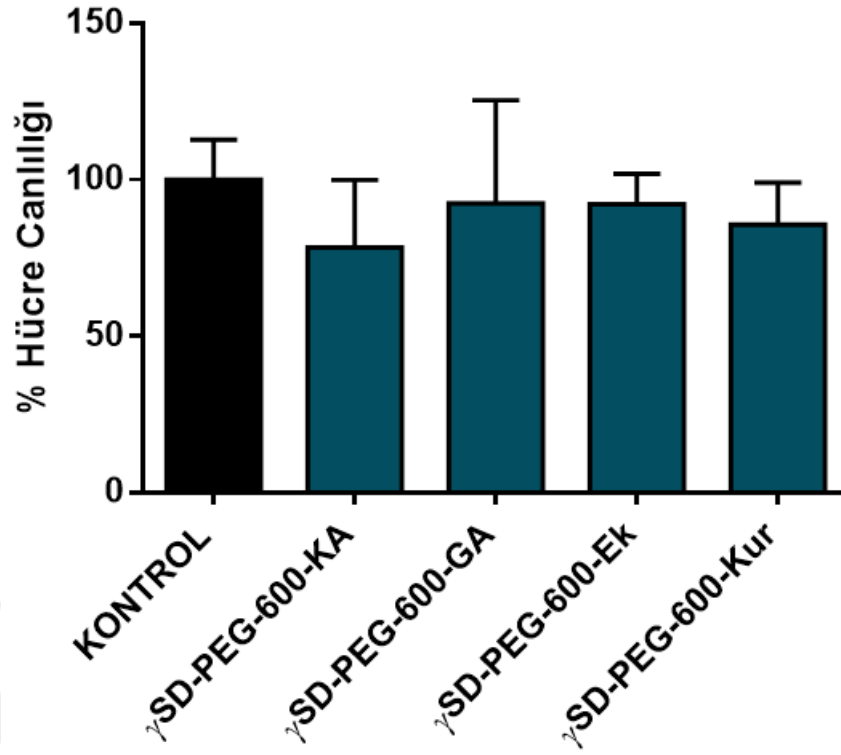
Şekil 4.91. Sentezlenen α -SD-PEG-600 yapılarına ait L929 hücre hattına ait hücre canlılığı

L929 hücreleri üzerinde yapılan indirekt biyouyumluluk testinde; PEG-600 ve β -siklodekstrin temelli hidrojeller içerisinde KA içeren hidrojel için hücre canlılığı % 125,2, GA içeren hidrojel için % 95,6 ve Ek içeren hidrojel için % 125,9 olarak belirlenmiştir. Özellikle KA ve Ek içeren hidrojellerin hücre proliferasyonunu aktive ettiği gözlenmiştir. GA içeren hidrojel için hücre canlılığı % 95,6, Kuar içeren hidrojel için % 75,6 ve Kur içeren hidrojel için % 75,9 olarak belirlenmiştir (Şekil 4.92).



Şekil 4.92. Sentezlenen β -SD-PEG-600 yapılarına ait L929 hücre hattına ait hücre canlılığı

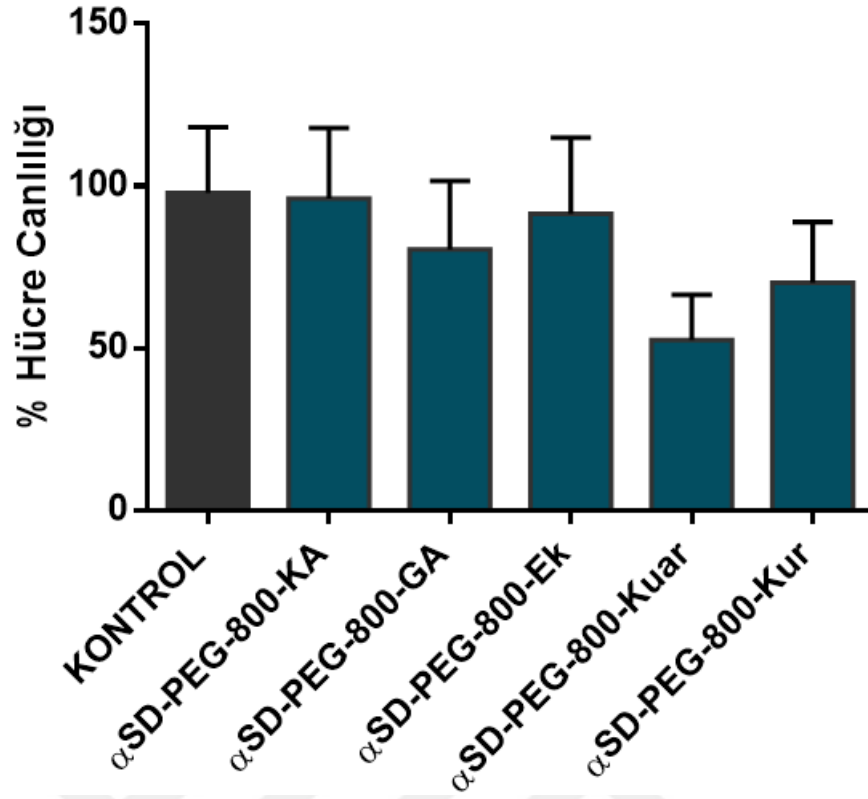
PEG-600 ve γ -siklodekstrin içeren hidrojellerin genel olarak biyoyumluluklarının yüksek olduğu belirlenmiştir. KA içeren hidrojel için hücre canlılığı % 78,3, GA içeren hidrojel için % 92,4, Ek içeren hidrojel için % 92,2 ve Kur içeren hidrojel için % 85,6 olarak belirlenmiştir (Şekil 4.93).



Şekil 4.93. Sentezlenen γ -SD-PEG-600 yapılarına ait L929 hücre hattına ait hücre canlılığı

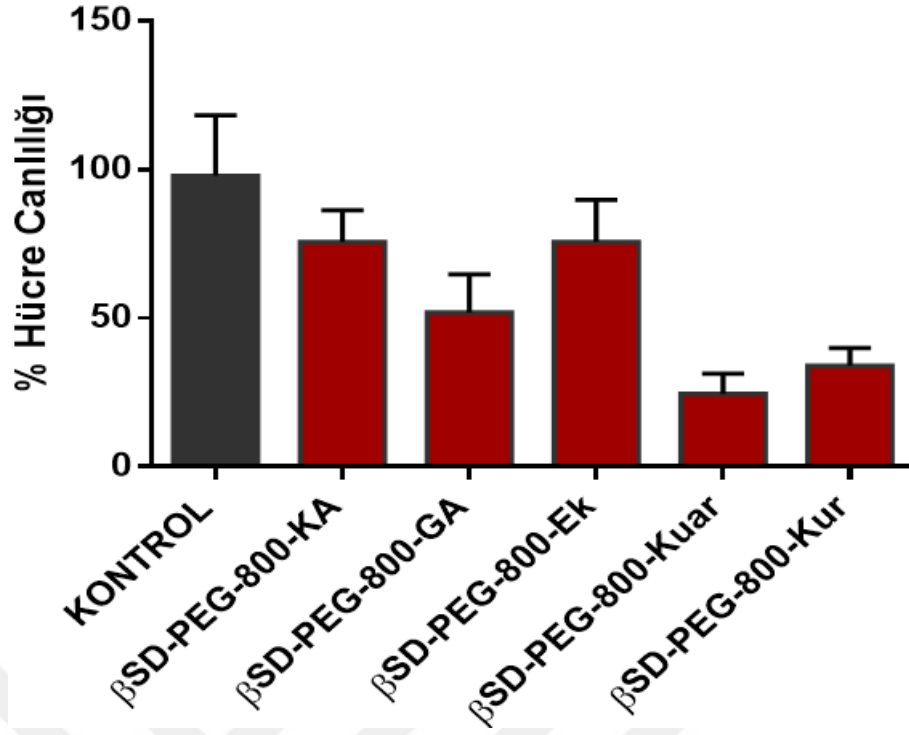
Tüm PEG 600 ve siklodekstrin temelli hidrojeller arasında polifenoller esas alındığında genel olarak hücre canlılıklarında farklılıklar olsa da KA, GA ve Ek içeren hidrojellerin biyoyumluluğunun yüksek olduğu belirlenmiştir.

Sentezlenen PEG-800 ve α -siklodekstrin temelli hidrojeller içerisinde KA içeren hidrojel için hücre canlılığı % 96,2, GA içeren hidrojel için % 80,5 ve Ek içeren hidrojel için % 91,4, Kuar içeren hidrojel için % 52,5 ve Kur içeren hidrojel için % 70,2 olarak belirlenmiştir (Şekil 4.94).



Şekil 4.94. Sentezlenen α -SD-PEG-800 yapılarına ait L929 hücre hattına ait hücre canlılığı

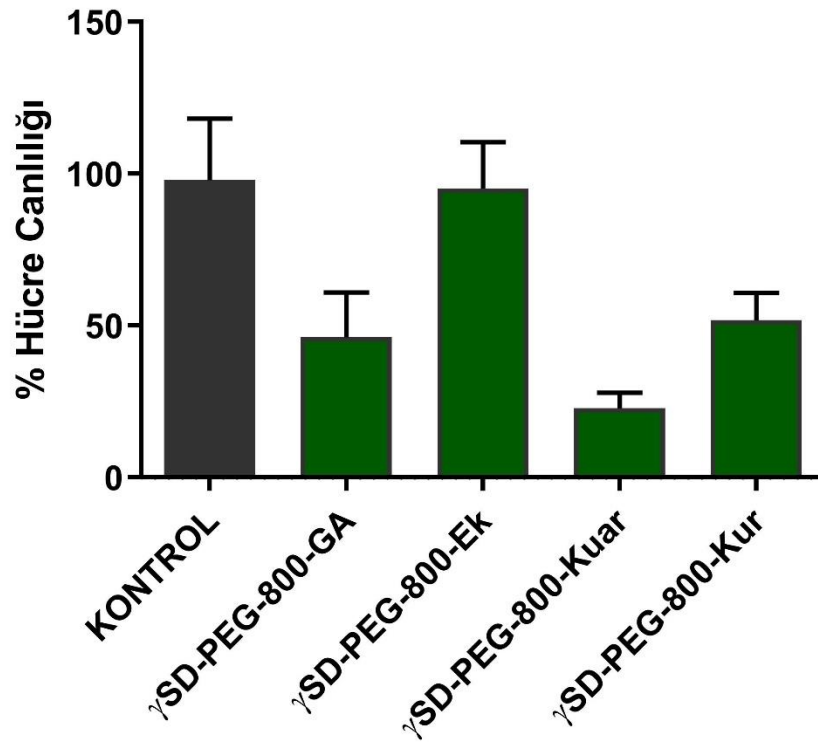
PEG-800 ve β -siklodekstrin temelli hidrojeller içerisinde KA içeren hidrojel için hücre canlılığı % 75,7, GA içeren hidrojel için % 51,9, Ek içeren hidrojel için % 75,7 olarak belirlenmiştir. Kuar ve Kur içeren hidrojeller için hücre canlılığı diğerlerine nispeten daha düşük olarak belirlenmiştir (Şekil 4.95).



Şekil 4.95. Sentezlenen β -SD-PEG-800 yapılarına ait L929 hücre hattına ait hücre canlılığı

PEG-800 ve γ -siklodekstrin içeren hidrojellerden Ek içeren hidrojel için hücre canlılığı % 95,1, Kur içeren hidrojel için % 51,8 olarak belirlenmiştir. GA ve Kur içeren hidrojeller için hücre canlılığının daha düşük olduğu görülmüştür (Şekil 4.96).

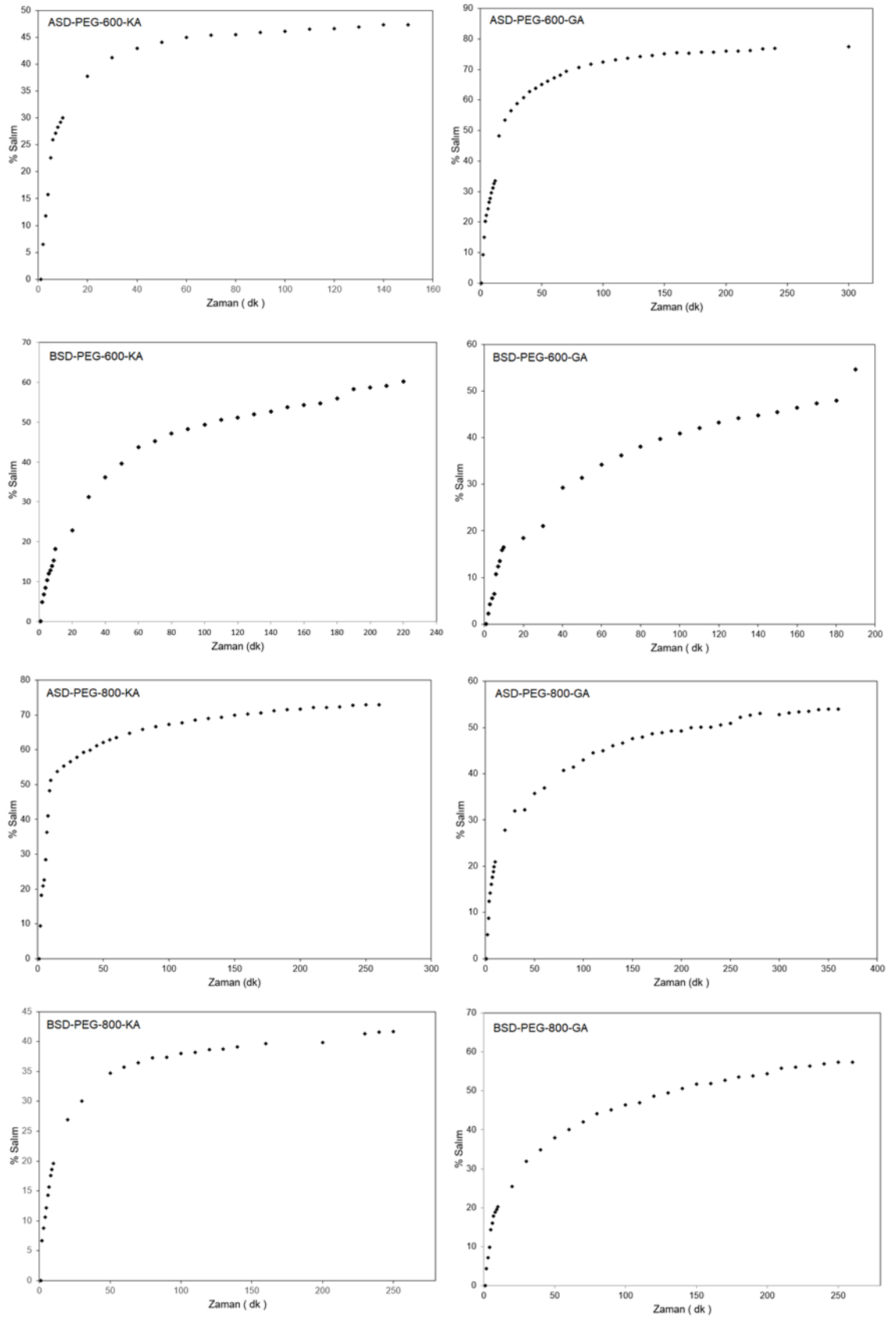
Hidrojel uygulamalarının çoğunda görülen hücre canlılığının diğerlerine kıyasla düşük görülmesinin muhtemel sebebi, hidrojel yapılarından besi ortamına salımı gerçekleşen polifenollerin sitotoksik etkisi olabilir.



Şekil 4.96. Sentezlenen γ -SD-PEG-800 yapılarına ait L929 hücre hattına ait hücre canlılığı

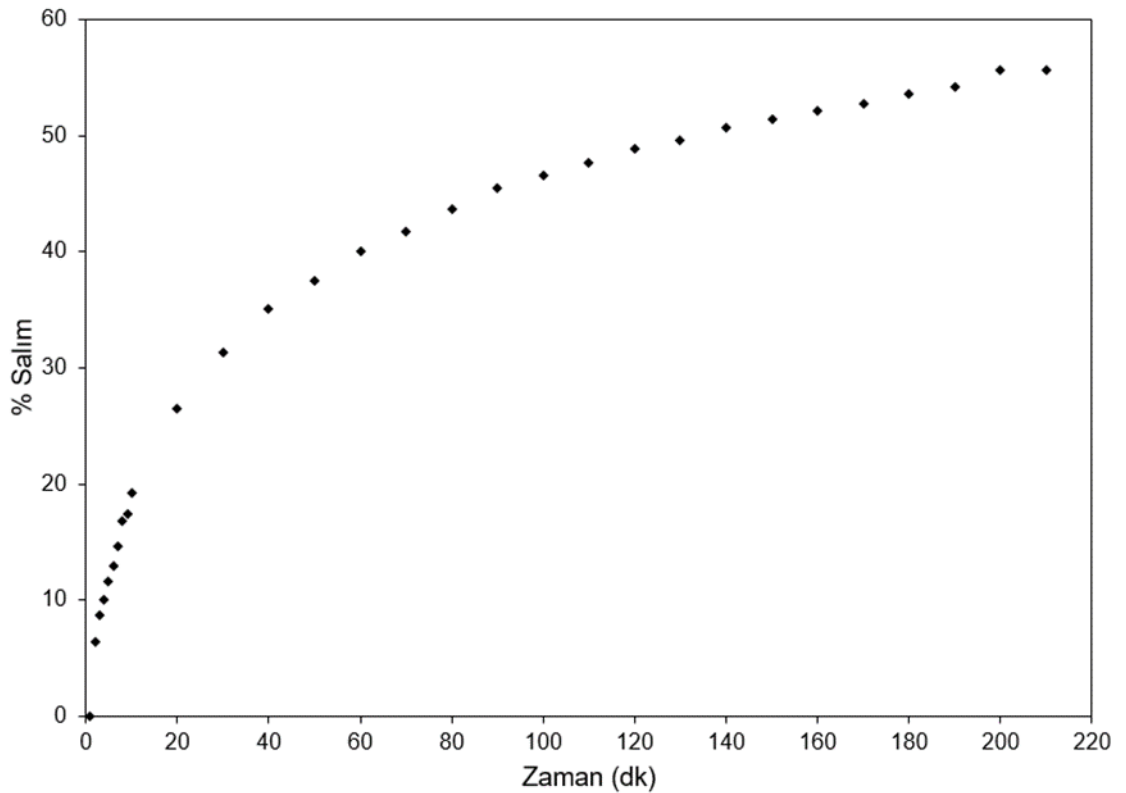
4.8. İlaç Salım Çalışmaları

Çalışmada sentezi gerçekleştirilen hidrojellerin biyoyumluluk değeri en yüksek çıkan 9 tanesinin melatonin salım çalışmaları gerçekleştirilmiş ve sonuçlar Şekil 4.97 ve Şekil 4.98’de verilmiştir. Bu ölçümlerde salım süresince ilk on dakika boyunca her dakikada bir ölçüm alınırken daha sonra 10 dakikada bir ölçüm alınacak şekilde ölçümler gerçekleştirilmiştir.

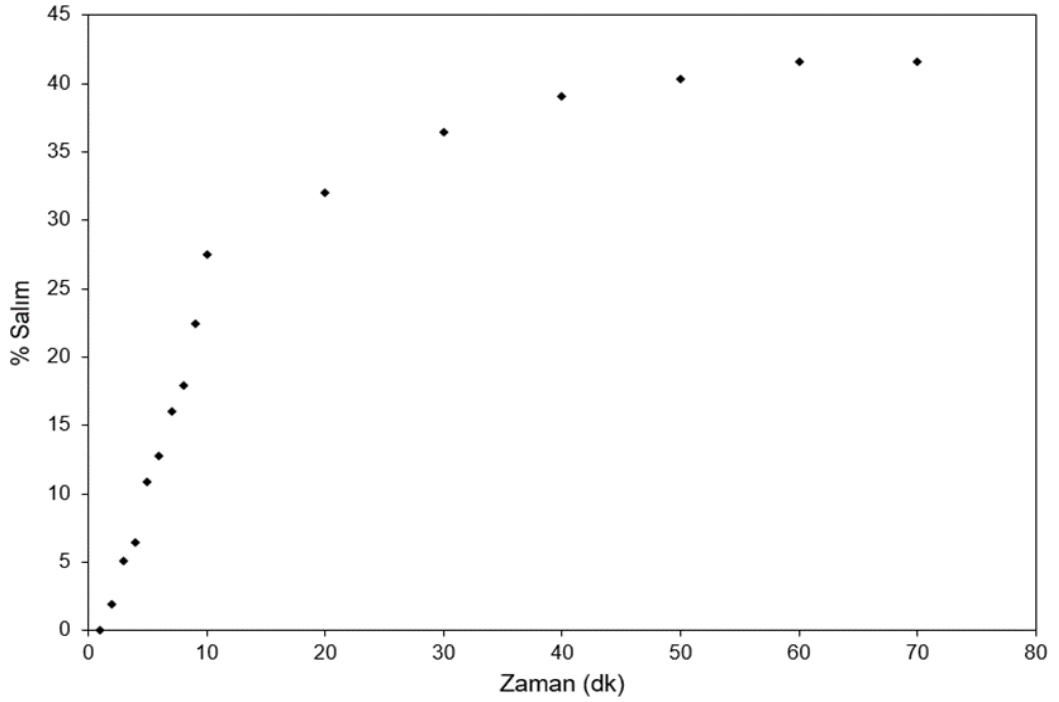


Şekil 4.97. Melatonin salım sonuçları

Bu çalışmalarda incelenen dokuz hidrojel yapısında da düzenli salım sonuçları elde edilmiştir. Genellikle hidrojeller ilk 60 dakika içerisinde hızlı ancak daha sonra yavaş bir salım göstermektedir. Bu salım sonuçlarına göre biyoyumluluğu yüksek olan bu dokuz hidrojelde tez amacına uygundur. Ancak hayvan çalışmalarında dokuz hidrojelinde Asherman engelleme potansiyelinin belirlenmesi mümkün olmadığı için biyoyumluluk değeri en yüksek çıkan ve enjekte edilebilirliği diğer hidrojellere göre daha iyi olan β -SD-PEG-600-Ek hidrojelini hayvan çalışmaları yapılmak üzere belirlenmiştir. Bu hidrojel için hayvan çalışmaları öncesi melatonin ve östrojen salım özellikleri araştırılmıştır. Şekil 4.98’de β -SD-PEG-600-Ek jelinin melatonin salım sonuçları, Şekil 4.99’da ise β -SD-PEG-600-Ek jelinin östrojen salım sonuçları verilmiştir. Jel yaklaşık 100 dk içinde toplam yüklenen melatoninin yaklaşık % 50’sini salmaktadır. Ayrıca 220 dakika sonra salıma devam etmektedir. Bu sonuçlar uygulama sırasında istenen yüksek melatonin düzeyini ve devamında düzenli melatonin ihtiyacı için uygundur. Östrojen salımında ise ilk 40 dakikada yüklenen hormonun yaklaşık % 40’ının salımı gerçekleşmiştir.



Şekil 4.98. β -SD-PEG-600-Ek jelinin melatonin salım sonuçları



Şekil 4.99. β -SD-PEG-600-Ek jelinin östrojen salım sonuçları

4.9. *In vivo* Asherman Hayvan Model Sisteminde Hidrojellerin Uygulanması

Çalışmanın bu aşamasında *in vitro* deneylerden yola çıkılarak hidrojellerden optimum özelliğe sahip β -SD-PEG-600-Ek hidrojel için Asherman rat model sisteminde uygulama gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla β -SD-PEG-600-Ek hidrojeline günlük 0,1 mg/kg östrojen ve günlük 10 mg/kg melatonin absorbe edilmiş ve deney prosedüründe öngörüldüğü şekilde Asherman oluşturulan ratlara uygulanmıştır. Asherman model sisteminin oluşturulması, hidrojinin uygulaması ve dokuların alınmasına ilişkin deneysel prosedür aşağıda resimlerle verilmiştir. 14 günlük uygulama süresinde hayvanların canlılık oranı % 100 olarak gerçekleşmiştir. Bu sürenin sonunda ketamin/ksilazin anestezisi altında hayvanların alt karın batımları tekrar açılarak uterin hornlar alınmıştır. Uygulama sonrası uterus hornlarının büyüklüğüne bağlı olarak belli oranda hidrojel içerdiği tespit edilmiştir. Alınan uterus hornlarında histolojik analizler gerçekleştirilmiştir.

4.10. Histolojik Değerlendirme

Deneklerin uterus hornlarından alınan doku örneklerinde yapılan Hemotoksilen-Eozin (H-E), Masson Trikrom ve Periyodik Asit Schiff (PAS)

boyamalarıyla epitel hasarı, epitel dökülmesi, konjesyon, endometriyum kalınlığı, inflamasyon ve fibrozis değerlendirilerek 0-3 arası skorlama yapılmıştır. Buna göre skor 0: yok/normal, skor 1:hafif (% 0-25 hasar), skor 2: orta (% 25-75 hasar), skor 3:şiddetli (> % 75 hasar) olarak gruplandırılmıştır. Preparatlar ışık mikroskobu ve görüntü analiz sistemi ile incelenerek skorlanmış ve fotoğrafları çekilmiştir.

4.10.1. Epitel hasarı, dökülmesi, konjesyon

Deney modelinde oluşturulan Asherman sendromunu ve devamında verilen maddelerin etkinliğini gözlemlemek adına bakılan kriterlerden olan epitel hasarı, dökülmesi ve konjesyonu belirlemek için H-E, epitelle lamina propriya arasında bulunan bazal laminayı değerlendirmek için PAS boyama metodu uygulanmıştır. Işık mikroskobu inceleme sonuçları Şekil 4.100-4.105 (H-E) ve Şekil 4.106 (PAS)'de verilmiştir.

SHAM grubu uterus horn kesitleri genel bakısında normal histolojik yapıda olup, perimetrium, miyometriyum ve endometriyum tabakaları sıralı ve düzenli, lümen kesintisiz bezler normal yapıda görülürken kriterlerden olan konjesyona herhangi bir alanda rastlanmamıştır. Endometriyumun yüzeyini örten epitelin konturları düzgün, hücrelerinin boyu ve şekli, nukleus şekilleri ve konumları normal yapıda (Şekil 4.100 A-B) ve PAS boyamasıyla incelenen hem endometriyum yüzey epitelinin hem de bez epitelinin üzerine oturduğu bazal membran yapısının kesintisiz olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.106). Bu grubun skorlamalarında medyan (min-max) şeklinde değerlendirilmeleri sonucunda epitel hasarı = 0 (0-1), epitel dökülmesi = 0 (0-2), konjesyon = 0 (0-2) olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.4).

ASH grubuna ait uterus horn kesitlerine genel bakıda perimetrium, miyometriyum ve endometriyum tabakaları yer yer inceliyor yer yer kalınlaşarak anormal görünüm sergilerken, lümen ise gerek epitel hasarı ve dökülmesi, gerekse tabakaların dejenerasyonu nedeniyle düzensizleşmiş kesintili olarak tespit edilmiştir.

Epitel incelemesinde hasarın olduğu alanlar oldukça yaygın görülmüştür. Ayrıca birçok alanda hasara bağlı dökülme meydana geldiği, bu dökülmelere bağlı lümende boyanmaların olduğu, epitel sınırlarının düzensizleştiği, yüzey epitel hücrelerinde dejenerasyon, şişmeye bağlı kontur bozukluğu, boylarında azalma, nukleuslarda yassılaşma benzeri şekil değişiklikleri, belirgin konjesyon gözlenmiştir (Şekil 4.101 A-B). Bölgesel olarak bezlerin yoğunluğunda gözle görülür azalma tespit

edilmiştir (Şekil 4.101 C-D). PAS boyamasıyla incelenen bazal membran yapısının yer yer incelendiği, yer yer endometriyum epitelinde ayrıldığı yer yer de döküldüğü ve kesintiye uğradığı izlenmiştir (Şekil 4.106). Bu gruba ait kesitlerde bez epitellerinin bazal membranında da aynı bulgular tespit edilmiştir. Bu bulgular, Asherman sendromuna bağlı hasarın deney grubunda oluşturulabildiğini göstermiştir. Bu grubun skorlamalarında medyan (min-max) şeklinde değerlendirilmeleri sonucunda epitel hasarı = 3 (2-3), epitel dökülmesi = 1 (0-3), konjesyon = 2 (1-3) olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.4).

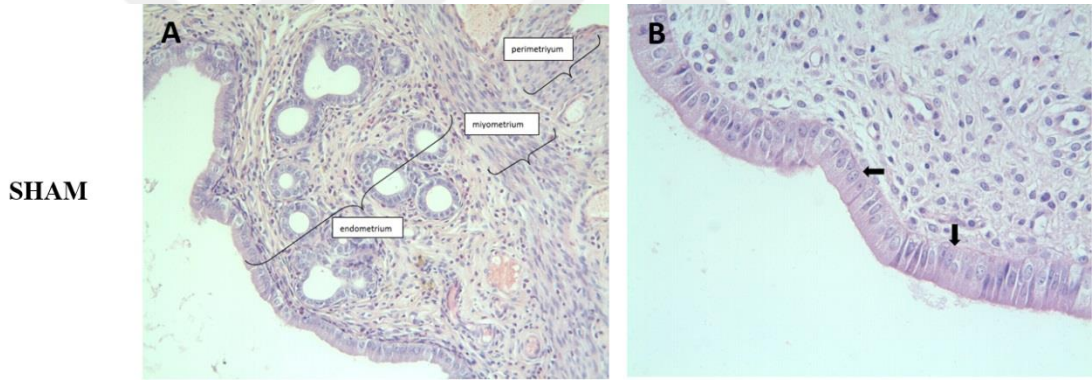
ASH+HDJ grubuna ait uterus horn kesitlerinde yer yer Asherman grubunda tespit edilen hasar ve dökülmenin devam ettiğini, bazı yüzey epitel hücrelerinin nukleuslarında küçülme yassılaşma, bazı hücrelerde ise şişmeye bağlı şekillerinde kontur bozukluğu ve boylarında azalma gözlemlense de (Şekil 4.102 A-C), genel olarak epitel hasarının, dökülmenin ve konjesyonun şiddetinin azaldığı tespit edilmiştir. PAS boyamasıyla incelenen bazal membranda ASH grubunda görülen incelmeye ve düzensizliklerin azaldığı tespit edilmiş olup bez epitelinin bazal membranlarında da düzensizliklerin azaldığı görülmüştür (Şekil 4.106). ASH+HDJ grubunun skorlamalarında medyan (min-max) şeklinde değerlendirilmeleri sonucunda epitel hasarı = 2 (1-3), epitel dökülmesi = 0 (0-2), konjesyon = 1 (0-2) olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.4).

ASH+HDJ+MEL grubunun uterus horn kesitlerinde genel bakıda perimetriyum, miyometriyum ve endometriyum tabakalarının normale yakın görüldüğü tespit edilmiştir. Epitel hasar, dökülme ve konjesyon parametreleri oldukça azalmış ancak bazı alanlarda şiddeti azalmakla beraber devam etmiştir (Şekil 4.103). Epitel hücrelerinde ASH grubunda tespit edilen dejenerasyona bağlı şekil değişikliklerinin değerlendirmesinde düzelmelerin olduğu gözlenmiştir. PAS boyama kesitleri incelendiğinde ASH+HDJ grubundaki gibi kimi alanlarda endometriyuma ait kimi alanlarda da bezlere ait bazal membranın incelendiği ancak bu incelmenin ASH grubundaki kadar belirgin olmadığı gözlenmiştir (Şekil 4.106). Bu grubun skorlamalarında medyan (min-max) şeklinde değerlendirilmeleri sonucunda epitel hasarı = 1(0-2), epitel dökülmesi = 0 (0-2), konjesyon = 1 (0-2) olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.4).

ASH+HDJ+OST grubuna ait uterus horn kesitlerinde endometriyum epitelindeki hasar ASH grubuna göre azalmış olmakla birlikte yer yer incelmeye yüzey alanları ve konjesyonun devam ettiği görülmüştür. Endometriyum mukozasında

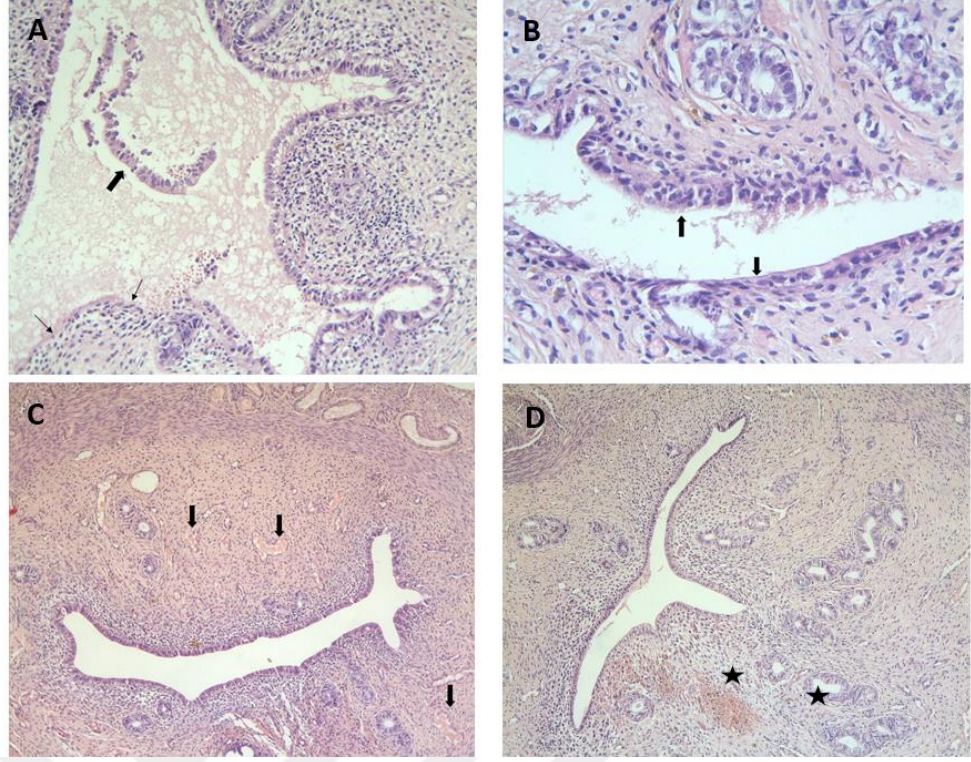
bezlerin yoğunluğunun arttığı tespit edilmiştir (Şekil 4.104 A-B). Bu grubun PAS boyamasında da ASH+HDJ+MEL grubuna benzer bazal membran bulgularına rastlanmıştır (Şekil 4.106). Bu grubun skorlamalarında medyan (min-max) şeklinde değerlendirilmeleri sonucunda epitel hasarı = 2 (0-2), epitel dökülmesi = 0 (0-2), konjesyon = 1 (0-2) olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.4).

ASH+HDJ+MEL+OST grubuna ait uterus horn kesitleri incelendiğinde uterus horna ait tüm histolojik parametrelerin H-E boyamasında (Şekil 4.105 A-B) SHAM grubuna benzer olduğu tespit edilmiştir. ASH+HDJ+MEL+OST grubunun PAS boyaması değerlendirmelerinde endometriyum epiteline ve bezlere ait bazal membran yapısında H-E boyamasındaki normal histolojik bulgular gözlenmiştir (Şekil 4.106). Bu grubun skorlamalarında medyan (min-max) şeklinde değerlendirilmeleri sonucunda epitel hasarı = 0 (0-1), epitel dökülmesi = 0 (0-2), konjesyon = 0 (0-1) olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.4).



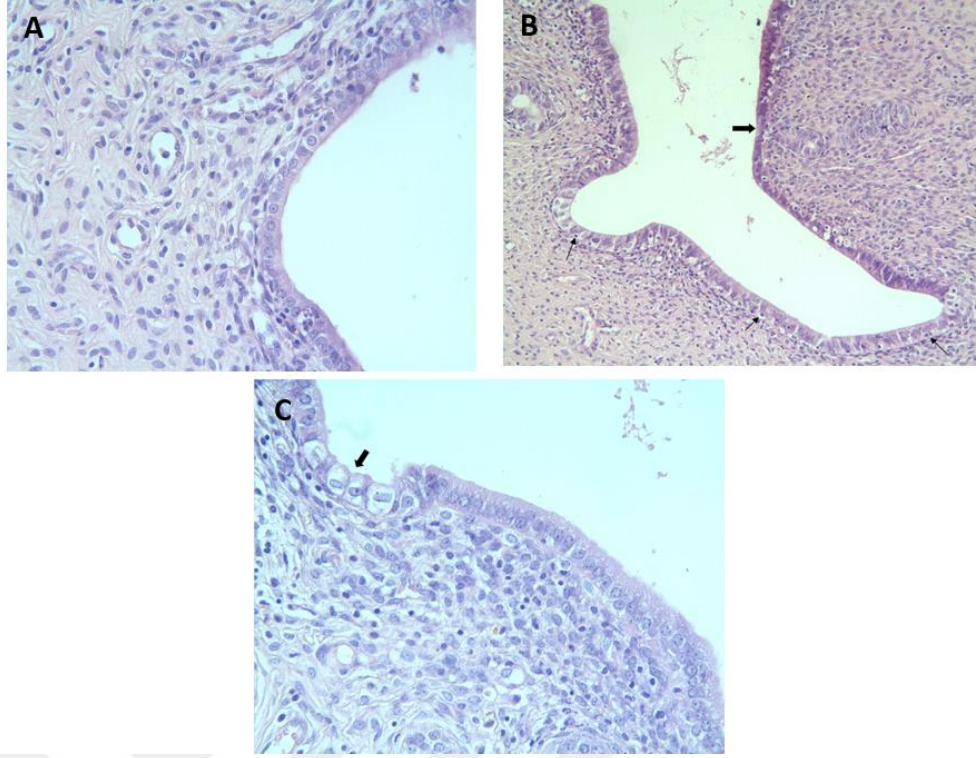
Şekil 4.100. SHAM grubuna ait dokuların H&E boyaması (B; H&Ex40, ok., aynı düzlemde konumlanmış epitel nükleusu)

ASH



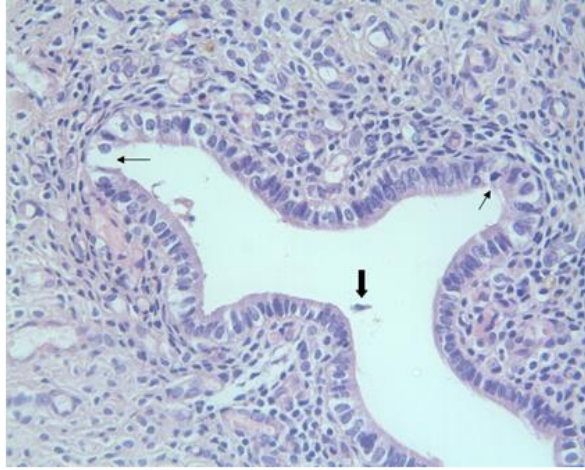
Şekil 4.101. ASH grubuna ait dokuların H&E boyaması (A; kalın ok: epitelde şiddetli dökülme, ince ok: epitelde ayrılma ve incelme, B; kalın ok: epitelde hasar ve incelme, C; endometriyum mukozasında azalan bez yoğunluğu ve konjesyon. ok: konjesyon, D; yıldız: hemorajik alanlar)

**ASH+
HDJ**



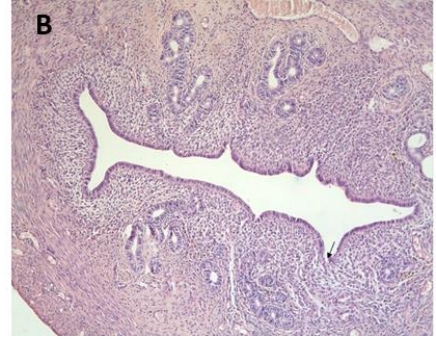
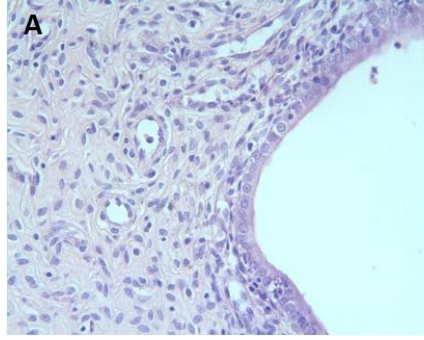
Şekil 4.102. ASH+HDJ grubuna ait dokuların H&E boyaması (B; kalın ok: epitelde hasar ve incelmei, ince ok: bazı epitel küçülmüş nukleuslar, C; kalın ok: epitelde hasar)

ASH+HDJ+MEL



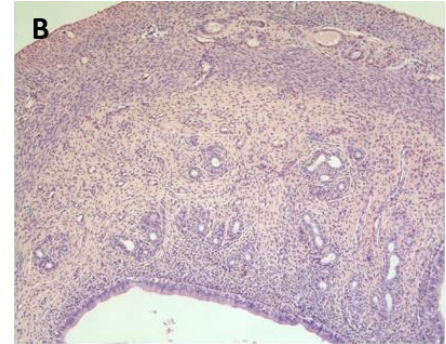
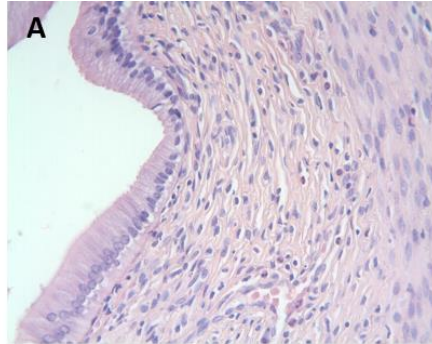
Şekil 4.103. ASH+HDJ+MEL grubuna ait dokuların H&E boyaması (kalın ok: lümende dökülmüş epitel hücresi, ince ok: hasarlı epitel)

ASH+HDJ+OST

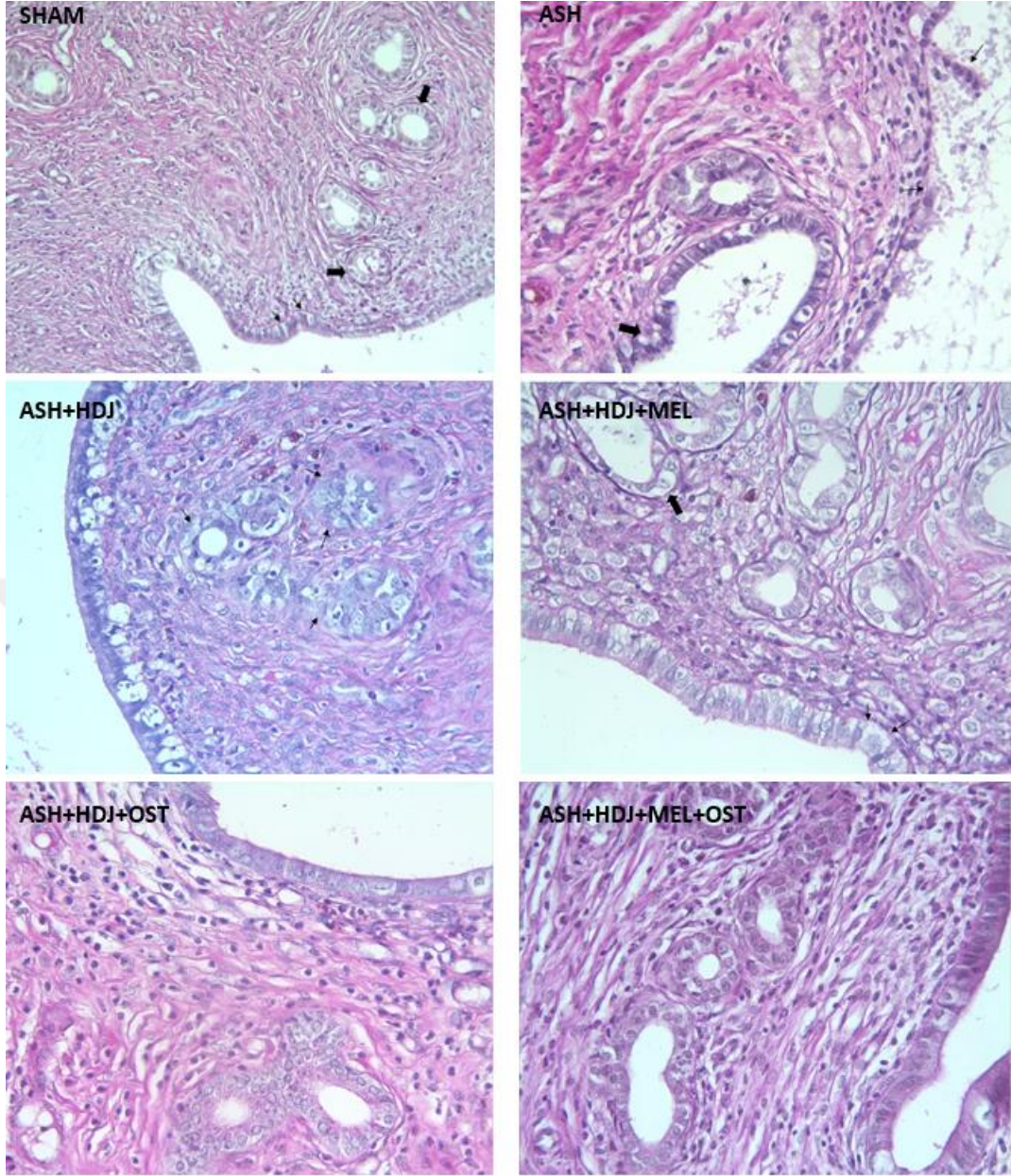


Şekil 4.104. ASH+HDJ+OST grubuna ait dokuların H&E boyaması (B; ince ok: epitelde incelme)

**ASH+HDJ+
MEL+OST**



Şekil 4.105. ASH+HDJ+MEL+OST grubuna ait dokuların H&E boyaması



Şekil 4.106. Dokuların PASx40 boyaması (SHAM: ince ok: epitel bazal membranı, kalın ok: bez epiteli bazal membranı, ASH: ince ok: bazal membran üzerinde dökülmüş epitel, kalın ok: kaybolmuş bez epiteli bazal membranı, ASH+HDJ: ok: bezlerde kaybolmuş bazal lamina, ASH+HDJ+MEL: ince ok: bazal membrandan ayrılmış bez epitelleri, kalın ok: endometriyum bazal membranında yer yer silinme)

Çizelge 4.4. Uterus horn dokusuna ait hasar parametrelerinin karşılaştırılması

Grup	Epitel hasarı Medyan (min.-maks.)	Epitel dökülmesi Medyan (min.-maks.)	Konjesyon Medyan (min.-maks.)
SHAM	0 (0-1) ^a	0 (0-2)	0 (0-2) ^a
ASH	3 (2-3) ^b	1 (0-2)	2 (1-3) ^b
ASH+HDJ	2 (1-3) ^{c,e}	0 (0-2)	1 (0-2) ^{c,d}
ASH+HDJ+MEL	1 (0-2) ^{d,e}	0 (0-2)	1 (0-2) ^{c,d}
ASH+HDJ+OST	2 (1-3) ^{b,c}	0 (0-2)	1 (0-2) ^{b,c}
ASH+HDJ+MEL+OST	0 (0-2) ^{a,d}	0 (0-1)	0 (0-2) ^{a,d}
p-değeri	<0.001	0.531	0.003

4.10.2. Endometriyum kalınlığı

Deney modelinde oluşturulan Asherman sendromunu ve devamında verilen maddelerin etkinliğini gözlemlemek adına bakılan kriterlerden olan endometriyum kalınlığını belirlemek için kesitlere H-E boyama metodu uygulanmıştır.

SHAM grubu ışık mikroskobu inceleme sonucu bu gruba ait uterus horn kesitleri normal histolojik yapıda olup, perimetriyum, miyometriyum ve endometriyum tabakaları normal görünümde ve endometriyum kalınlığı olağan gözlemlenmiştir (Şekil 4.100). SHAM grubunun endometriyum kalınlığı $570,56 \pm 144,7$ olarak ölçülmüştür (Çizelge 4.5).

ASH grubunun endometriyum kalınlığı açısından ışık mikroskobik değerlendirmelerinde tüm kesitlerde kalınlığın azaldığı gözlemlenmiştir. Asherman grubunun endometriyum kalınlığı $425,28 \pm 86,39$ olarak ölçülmüştür (Çizelge 4.5). Kalınlık azalmış olarak tespit edilse de istatistiksel olarak anlamlı olmadığı saptanmıştır (Çizelge 4.5).

ASH+HDJ grubunun endometrium kalınlığı anlamında değerlendirmesinde ASH grubu kadar kalınlık azalması saptanmamıştır. Bu grubun endometriyum kalınlığı $503,21 \pm 50,51$ olarak ölçülmüştür (Çizelge 4.5).

ASH+HDJ+MEL grubunda endometriyum kalınlığı ASH grubuna göre artmış ancak istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. ASH+HDJ+MEL grubunun endometriyum kalınlığı $510,65 \pm 71,25$ olarak ölçülmüştür (Çizelge 4.5).

ASH+HDJ+OST grubu endometriyum kalınlığı açısından değerlendirildiğinde kalınlıkta artış olduğu saptanmış ancak istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Bu grubun endometriyum kalınlığı $454,47 \pm 123,40$ olarak ölçülmüştür (Çizelge 4.5).

ASH+HDJ+MEL+OST grubu Endometriyum kalınlığı açısından değerlendirildiğinde tüm histolojik parametreler gibi endometriyum kalınlığının SHAM grubuna benzer olduğu tespit edilmiş ancak bu parametrenin istatistiksel olarak diğer gruplarla anlamlı farkı saptanamamıştır. Grubun endometriyum kalınlığı $517,26 \pm 82,79$ olarak ölçülmüştür (Çizelge 4.5).

Çizelge 4.5. Endometriyum kalınlığı gruplar arası karşılaştırma

Gruplar	N	Anlam	Standart sapma	P
SHAM	7	570,56	144,47	0,122
ASH	7	425,28	86,39	
ASH+HDJ	7	503,21	50,51	
ASH+HDJ+MEL	7	510,65	71,25	
ASH+HDJ+OST	7	454,47	123,40	
ASH+HDJ+MEL+OST	7	517,26	82,79	

4.10.3. Hücre infiltrasyonu

Deney modelinde oluşturulan Asherman sendromunu ve devamında verilen maddelerin etkinliğini gözlemlemek adına bakılan kriterlerden olan hücre infiltrasyonunu belirlemek için H-E boyama metodu uygulanmıştır.

SHAM grubunda hücre infiltrasyonunu düşündüren herhangi bir bulguya rastlanmamıştır. Diğer tüm gruplarda da ASH grubunda daha bol alanda olmak kaydıyla skorlamaya göre hafif derecede hücre infiltrasyonu gözlenmiş ancak tüm grupların skorlamaları karşılaştırıldığında aralarında istatistiksel olarak anlamlı fark görülmemiştir (Şekil 4.100-Şekil 4.105).

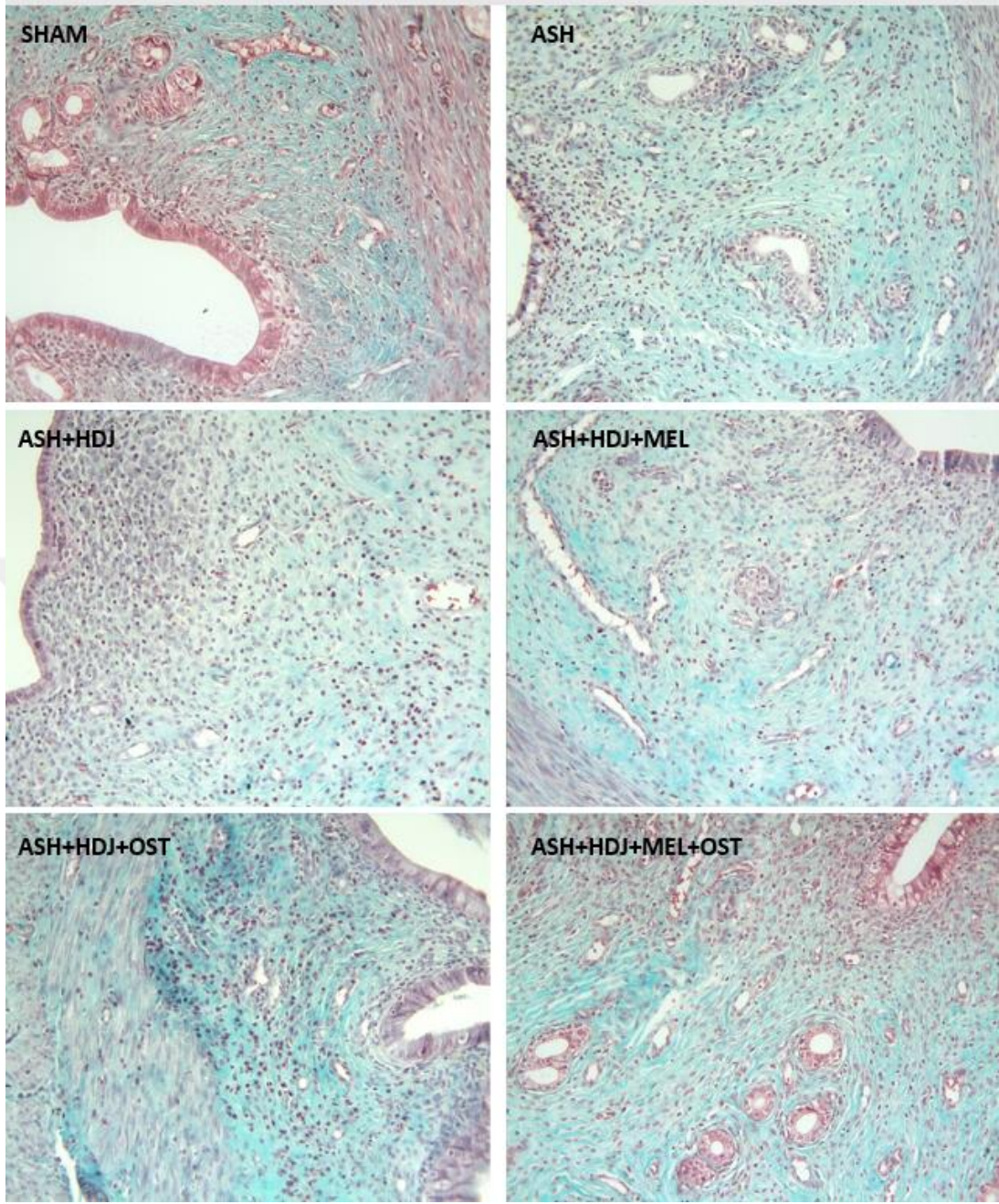
4.10.4. Fibrozis düzeyi

Deney modelinde oluşturulan Asherman sendromunu ve devamında verilen maddelerin etkinliğini gözlemek adına bakılan kriterlerden olan fibrozisi belirlemek için Masson Trikrom boyama metodu uygulanmıştır.

SHAM grubuna ait uterus horn kesitlerinde, endometriyum tabakasına ait yüzey epitelinin hemen altında bulunan gevşek bağ dokusu yapısındaki lamina propriya normal histolojik yapıda izlenmiştir. Miyometriyumun içte sirküler, dışta longitudinal uzanan kas tabakalarını, perimetriyumun ise yine gevşek bağ dokusuna ait yapı ve özellikler olan damarlar ve sinirleri barındırdığı gözlenmiştir (Şekil 4.107, Çizelge 4.6).

ASH grubuna ait uterus horn kesitlerinde nadiren fibrozis bulgusuna rastlanılmış ancak yapılan skorlamalar sonucunda istatistiksel olarak anlamlı farklar bulunamamıştır (Şekil 4.107, Çizelge 4.6).

ASH+HDJ, **ASH+HDJ+MEL**, **ASH+HDJ+OST** ve **ASH+HDJ+MEL+OST** gruplarının uterus horn kesitlerinde endometriyum fibroblast, makrofaj, lenfosit, lökosit ve bağ dokusu lifleri içerdiği gözlenmiştir. Grupların tamamında herhangi bir fibrozis bulgusuna rastlanmamış olup SHAM grubu endometriyum bağ dokusu histolojik yapısı ile uyum göstermiştir (Şekil 4.107, Çizelge 4.6).



Şekil 4.107. Dokuların Masson Trikrom boyaması (TRK x20)

Çizelge 4.6. Fibrozis ve inflamasyon

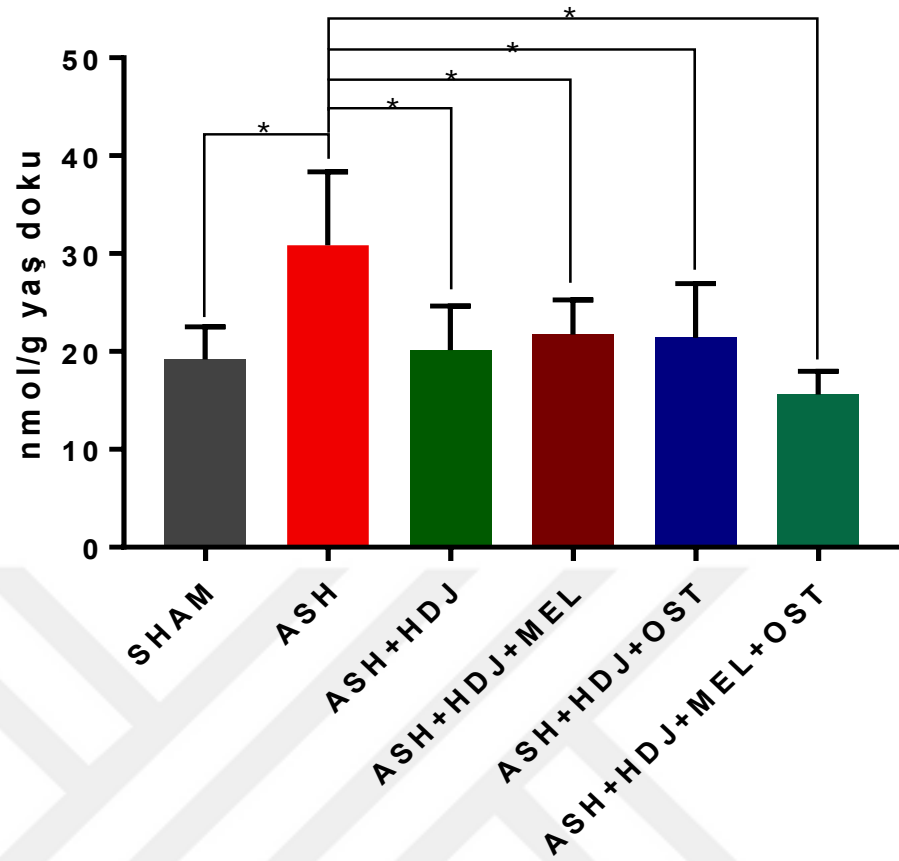
Gruplar	Fibrozis	İnflamasyon
SHAM	0 (0-1)	0 (0-0)
ASH	0 (0-1)	0 (0-2)
ASH+HDJ	0 (0-1)	0 (0-1)
ASH+HDJ+MEL	0 (0-1)	0 (0-1)
ASH+HDJ+OST	0 (0-0)	0 (0-0)
ASH+HDJ+MEL+OST	0 (0-0)	0 (0-0)

4.11. Biyokimyasal Değerlendirme

Çalışmada 8’li gruplar olmak üzere 48 Wistar Albino cinsi dişi sıçana *in vivo* Asherman model sistemi uygulanmış ve 14 günün sonunda hayvanların anestezi altında uterus dokuları alınmıştır. Alınan dokular kullanılabildiği kadar -40 °C’de muhafaza edilmiştir. Daha sonra uygun koşullarda homojenizasyon ve sonifikasyon yapıldıktan sonra süpernatantları alınmış ve biyokimyasal deneyler gerçekleştirilmiştir. Biyokimyasal deneylerde MDA, MPO, NO olmak üzere toplam üç parametre çalışılmış olup MDA, MPO ve NO inflamasyon düzeyini temsil etmektedir.

4.11.1. MDA düzeyi

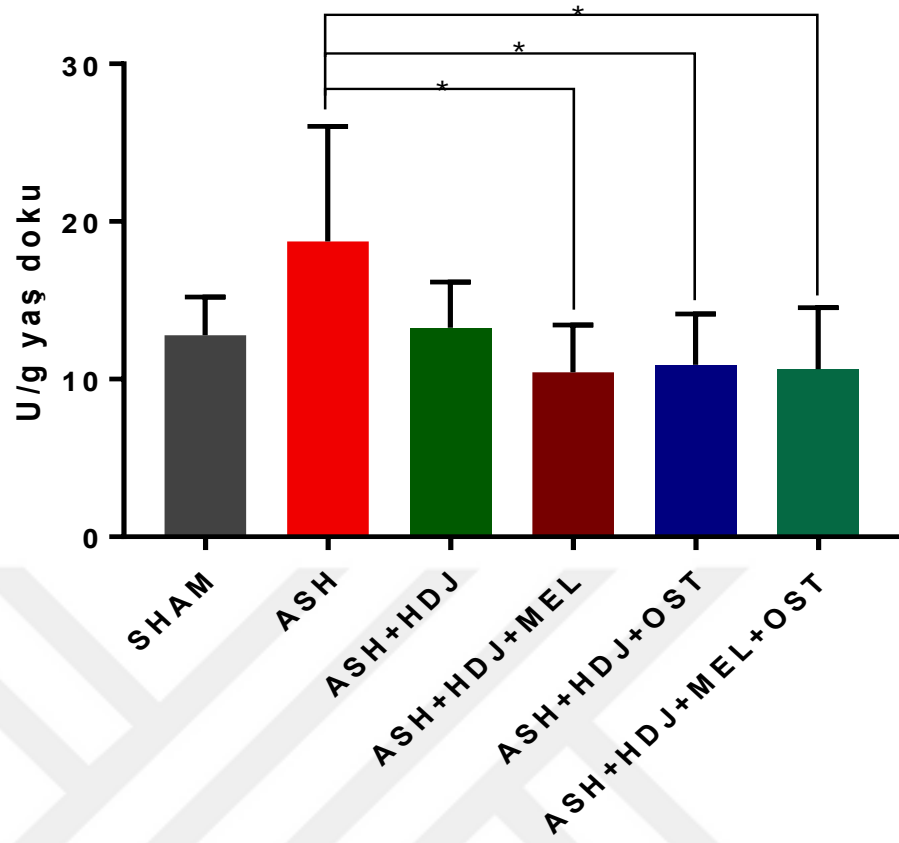
Şekil 4.108’de görüldüğü üzere deney sonuçlarına göre Asherman grubunun MDA düzeyi kontrole (Sham) göre anlamlı bir şekilde yükselmiştir ($p<0.05$). Bu da dokudaki hasar oluşumunun gerçekleştiğinin açık göstergesidir. Öte yandan ASH+HDJ, ASH+HDJ+MEL, ASH+HDJ+OST VE ASH+HDJ+MEL+OST gruplarının tamamında MDA düzeyi ASH grubuna göre anlamlı bir şekilde düşmüştür ($p<0.05$). Burada hormonsuz jel, melatonin ve östrojen grupları arasında MDA düzeyinde fark görülmemiştir. Bu sonuç, buradaki iyileşmenin hormonal etkisinin MDA düzeyine yansımadağı ve jelin uterus kanalını mekanik olarak açık tutmasından kaynaklandığı düşüncesini doğurmaktadır. Ayrıca melatonin ve östrojenin beraber uygulandığı grupta melatonin ve östrojen grubuna göre bir düşüş görülmüş ancak anlamlı çıkmamıştır ($p>0.05$).



Şekil 4.108. Hidrojel formülasyonlarının Asherman hasarına karşı uterus horn dokularındaki MDA düzeyine etkisi (* $p < 0.05$)

4.11.2. MPO aktivitesi

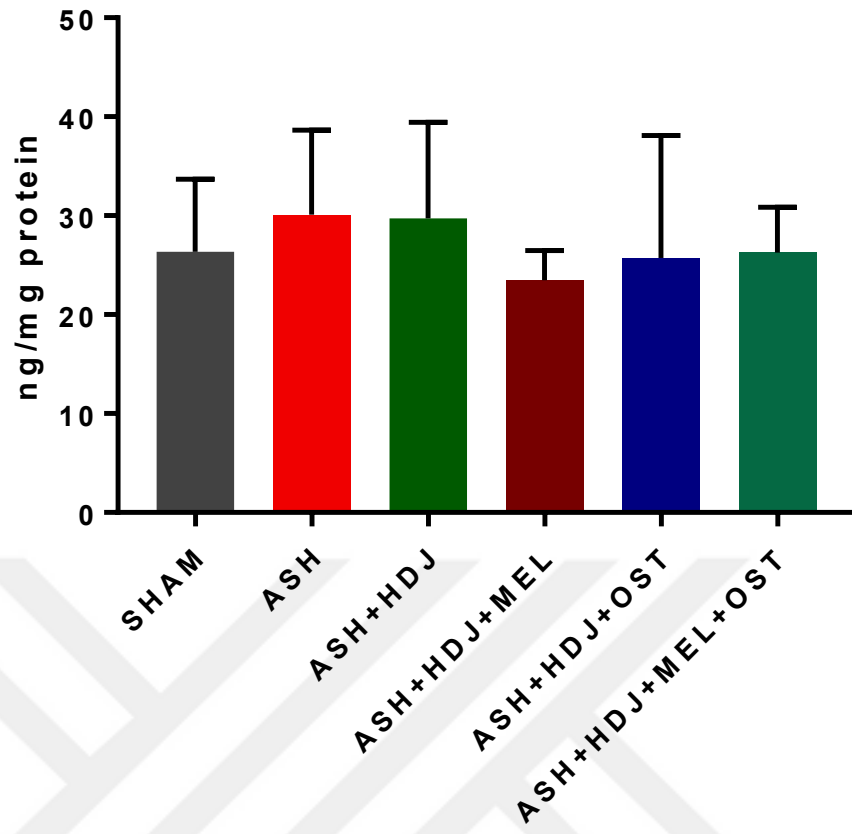
MPO dokudaki inflamasyonun değerlendirilmesinde diğer önemli bir parametredir. Şekil 4.109'da görüldüğü üzere MPO sonuçlarında boş hidrojel grubu haricindeki hormon içeren diğer tüm gruplar Asherman modeline göre anlamlı bir düşüş göstermiştir ($p < 0.05$). Burada iyileşmedeki hormonal etki göze çarpmaktadır. Ancak hormonlar arasında bir değişim görülmemiştir. Asherman grubu, kontrol grubuna göre MPO düzeyinde bir yükseliş göstermiş ancak bu değişim anlamlı görülmemiştir ($p > 0.05$).



Şekil 4.109. Hidrojel formülasyonlarının Asherman hasarına karşı uterus horn dokularındaki MPO aktivitesine etkisi (* $p < 0.05$)

4.11.3. NO düzeyi

İnflamasyon düzeyinin ölçülmesinde diğer bir önemli parametre NO tayinidir. Sonuçlarda Asherman grubu Sham grubuna göre yükselmiş ancak bu yükseliş anlamlı bulunmamıştır. Hormon içermeyen jel ve Asherman grubu arasında bir fark görülmezken hormon içeren jeller Asherman'a göre bir düşüş göstermiş ancak bu düşüşler de anlamlı bulunmamıştır ($p > 0.05$) (Şekil 4.110).



Şekil 4.110. Hidrojel formülasyonlarının Asherman hasarına karşı uterus horn dokularındaki NO düzeyine etkisi

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Hidrojeller günümüzde özellikle medikal alanda oldukça artan bir potansiyele sahiptir. Özellikle yüksek biyouyumlulukları, vücut yapılarına benzer esneklikleri, suyu seven doğası ve düşük toksik özellikleri nedeniyle pek çok biyomedikal uygulamada kullanılmaktadır (Lian vd., 2012). Bu uygulamalar arasında yumuşak lensler, yara örtü malzemeleri, yumuşak doku implantları, ilaç salım sistemleri, yanık örtü malzemeleri ve vücut sıvıları için farklı absorbans malzemeler hazırlanmaktadır (Satarkar vd., 2010; Tan ve Marra, 2010; Sun vd., 2011; Gupta vd., 2013). Hidrojel uygulamalarını temel olarak düşündüğümüzde iki ana gruba ayırabiliriz (Tan ve Marra, 2010). Bunlar; biyokalıcı hidrojeller ve biyobozunur hidrojellerdir. Vücut içi implant uygulamalarında genellikle biyokalıcı hidrojeller tercih edilirken, ilaç salım sistemi ve vücut içi geçici membran uygulamalarında biyobozunur hidrojeller tercih edilmektedir. Biyokalıcı hidrojellerin üretiminde genellikle katılma tarzı polimerizasyon ile akrilat monomerleri kullanılırken (Yoshii vd., 1995), biyobozunur hidrojel yapılarında daha özel moleküler tasarımlar gerekmektedir. Özellikle biyouyumlu monomerler, doğal ürünler ve suda çözünür polimerik yapılar biyobozunur polimerlerin üretiminde sıkça kullanılmaktadır (Varshney, 2007; Yu ve Ding, 2008). Bu çalışmada da Asherman sendromunun engellenmesindeki potansiyelinin araştırılması amacıyla biyouyumlu, ilaç salımı yapabilen enjekte edilebilir hidrojeller sentezlenmiştir. Sentezlenen hidrojel yapılarında gerek biyouyumluluğu artırmak gerekse de biyobozunur özelliği sağlamak için; PEG, doğal polifenoller ve siklodekstrinler monomer ünitesi olarak tercih edilmiştir. Özellikle kullanım amacına göre sentezlenen hidrojellerin cerrahi hasar sonrasında uygulanarak mekanik bir bariyer özelliği göstermesi ve hasarın giderilmesinden sonra uygulama yerini bozularak terketmesi istenmektedir. Aksi taktirde uygulama bölgesinde yabancı cisim etkisi ya da iritasyon oluşturabilir. Uterus içi cerrahi hasarlar genel olarak 7-12 gün arasında iyileşme göstermektedir (Kilic vd., 2014; Kuramoto vd., 2015). Bu nedenle planlanan hidrojin bu süre dahilinde bozularak uygulama yerini terketmesi ve uygulama sırasında herhangi bir kalıntı bırakmaması istenmektedir.

Bu amaç dahilinde ilgili tezde farklı yapı ve özelliklerde 75 hidrojel sentezlenmiştir. Bu hidrojellerden 25 tanesi α -siklodekstrin, 25 tanesi β -siklodekstrin ve 25 tanesi de γ -siklodekstrin içermektedir. Ayrıca polifenol türü olarak; KA, GA, Ek, Kuar ve Kur kullanılmıştır. Hidrojel yapılarının gözenek yapısını ayarlamak için

ise farklı molekül ağırlığında PEG üniteleri kullanılmıştır. PEG yapısı olarak; PEG 400, PEG 600, PEG 800, PEG 1000 ve PEG 2000 yapıları tercih edilmiştir. PEG oranı düştükçe hidrojel yapısındaki gözenek yapısı da daralmaktadır. Hidrojelin şişme, enjekte edilebilirlik, salım ve mekanik özellikleride değişmektedir. Gerçekleştirilen çalışmada cerrahi hasar sonrası oluşabilecek olası yapışmaları engelleyebilmek için 6-12 gün mekanik özelliklerini devam ettirebilen, enjekte edilebilir, bozunma ürünleri toksik olmayan ve uygulama noktasında toksik yan etkiler oluşturmeyan hidrojellere ihtiyaç vardır. Bu amaç dahilinde doğal ve biyouyumluluğu yüksek monomerlerden sentezlenen farklı gözenek yapısına sahip hidrojeller hazırlanmıştır. Elde edilen hidrojellerin diğer bir özelliğide cerrahi hasar sonrasında oluşabilecek oksidatif (stressel) etkilerin azaltılabilmesi için melatonin ve hasarlı dokunun iyileştirilmesini hızlandırmak için östrojen salabilen hidrojel yapıları olmasıdır. Östrojen, melatonine göre nispeten daha büyük yapıda olduğu için daha büyük boşluklara gereksinim duyar. Melatonin ise daha küçük yapısal boşluklar gerektirir. Ayrıca hedeflenen hidrojel yapısının taşıdığı melatonin ve östrojeni hızlıca salması istenmemektedir. Düzenli olarak en azından uygulama sonrası minimum 6 saatlik salım yapması istenmektedir. Bu nedenle hidrojel yapısı tasarlanırken melatonin gruplarının tutunabileceği dekstrin üniteleri ve östrojen yapısının tutunabileceği PEG yapıları arasındaki çapraz bağlanmalardan oluşan 2 farklı gözenek yapısı planlanmıştır.

Sentezler sonrasında istenilen yapının oluşup oluşmadığı öncelikle FTIR ve SEM teknikleri ile doğrulanmıştır. FTIR analizlerinde öncelikle temel monomerik ünitelerle kıyaslanarak monomer yapısında bulunan epoksit halkasının açılıp açılmadığı kontrol edilmiştir. Epoksit halkasından kaynaklı 837 cm^{-1} de epoksit halkası asimetrik eğilme titreşimi, 755 cm^{-1} de epoksit halkası CH_2 gruplarının C-H eğilme titreşimi ve 1238 cm^{-1} de epoksit halkası C-O-C pikleri kontrol edilmiştir. Bu piklerin olmayışı halkanın açıldığı anlamına gelmektedir. Hidrojel yapısına ait FTIR spektrumları incelendiğinde açılan epoksit halkası üzerinden β -siklodekstrin ve polifenol yapılarının bağlandığı ve şişebilen bir yapının oluştuğu görülmektedir. Bağlanma sonrasında oluşan hidrojel yapısında siklodekstrin gruplarının yapısına ait pikler görülmektedir. 1020 cm^{-1} de siklodekstrin yapısındaki C-O gerilme titreşimi, 1100 cm^{-1} de C-O-C eterik gerilme piki bir omuz olarak görülmektedir. Polifenol gruplarının varlığı ise düşük konsantasyonda polifenol kullanılması nedeni ile zayıf olmasına rağmen yaklaşık 1680 cm^{-1} , 1600 cm^{-1} , 825 cm^{-1} de sırasıyla C=O, C=C ve aromatik C-H gerilme titreşimleri görülmektedir. Bunun yanında elde edilen hidrojel

yapılarındaki renklenme genellikle polifenol yapısından kaynaklanmaktadır. Sentez sonrasında yapılan yıkamalarda bu rengin kaybolmaması polifenolün yapıya absorplanmadığını, direk bağlandığını göstermektedir. Özellikle Kuar ve Kur yapılarında bu renk daha belirgindir. Çünkü monomerik olarak Kuar ve Kur renklidir. Sonuç olarak, yapısal olarak karakterize edilmiş hidrojellerin hızlı şişebilen ve yavaş salım yapabilen bir özelliğe sahip olduğu görülmüştür.

Sentezlenen hidrojellerin termal özellikleri TGA ve DSC termogramları ile belirlenmiştir. TGA termogramları, hidrojellerin bozunma başlangıç sıcaklıklarını ve ısıl kararlılıklarını göstermektedir. Elde edilen tüm hidrojel yapıları yaklaşık 200 °C civarında ısıl kararlı yapılardır. Bu sıcaklık vücut içi uygulamalar ve biyomedikal uygulamalar için oldukça iyi bir değerdir.

DSC termogramları ise elde edilen hidrojel yapısının ısıl ve yapısal kararlılığının yanında ağ yapısının kurulması sırasında oluşan kararlılık artışını ve yapının oluşumunu ispatlamaktadır.

Hidrojel üretiminde kullanılan PEG yapıları (PEG 400 ve PEG 600 hariç) düşük erime pikine sahiptirler. Ayrıca siklodekstrinler ve polifenoller birer erime piki gösterirler. Ancak elde edilen hidrojel yapılarının DSC termogramlarında erime piki bulunmaması yapıda monomer kalıntısı kalmadığını ve bir ağ yapısının oluştuğunu göstermektedir.

Sentezi gerçekleştirilen hidrojellerin SEM ve AFM yapıları incelendiğinde genellikle homojen ve gözenekli bir yapının hakim olduğu görülmektedir. Bu SEM görünümü literatürde mevcut bulunan hidrojel yapılarında karakteristiktir. Özellikle kaviteli ve esnek yapıların SEM de net bir şekilde görülmesi hidrojellerin karakterizasyonunu doğrulamaktadır. Yapısal olarak karakterize edilmiş olan hidrojellerin şişme, enjekte edilebilirlik ve biyouyumluluk gibi özellikleri belirlenmiştir. Bu özelliklere göre sentezlenen hidrojel yapılarından en iyi şişen hidrojelin, yapısına bağlı gruplara göre ortalama 30 kat civarında şiştiği belirlenmiştir. En düşük şişme oranı β -SD-PEG1000-KA yapısında görülürken, en yüksek şişme oranı ise γ -SD-PEG800-GA yapısında gözlenmiştir. Elde edilen hidrojellerin 18-26 gauge uçlarından enjekte edilebilirlikleri belirlenmiştir. Genel olarak 18-22 gauge enjektörlerin, hidrojellerin enjekte edilebilirliği için uygun olduğu görülmüştür. 18 gauge enjektörde hidrojellerin % 85' inin enjekte edilebilir olduğu, 26 gauge enjektörde ise hidrojellerin % 38' inin enjekte edilebilir olduğu tespit edilmiştir.

Sentezlenen hidrojel yapılarının *in vitro* hücre kültür sisteminde biyouyumluluk özellikleri de incelenmiştir. *İn vitro* biyouyumluluk sonuçlarına göre, α -SD-PEG 600, β -SD-PEG 600, γ -SD-PEG 600, α -SD-PEG 800 serilerinin çoğunluğunda biyouyumluluk düzeyleri grade 0 ve grade 1 düzeyde görülmüştür. Bu çalışmalar neticesinde biyouyumluluğu en yüksek olan yapıların melatonin ve östrojen salım değerleri belirlenmiş ve tüm yapıların melatonin ve östrojen salımı için uygun olduğu görülmüştür.

Karakterizasyonu gerçekleştirilen, en yüksek biyouyumluluğa sahip, ilaç salım eğrileri tatmin edici nitelikte olan ve enjekte edilebilirliği iyi olan β -SD-PEG 600-Ek hidrojel, hayvan testleri ve Asherman modeli üzerinde denenmek için seçilmiştir. İlgili hidrojel enjekte edilebilir formda, saf, melatonin içeren, östrojen içeren ve melatonin+östrojen içeren şekilde uterus hasarına uğratılmış hayvanlara etik kurul raporuna uygun olarak uygulanmıştır. Alınan uterus hornları biyokimyasal ve histolojik olarak incelenmiştir. Biyokimyasal deneylerde MDA, MPO, NO olmak üzere üç parametre çalışılmış olup bunlar inflamasyon düzeyini yansıtmaktadır. Biyokimyasal parametrelerde Asherman grubunda kontrole göre Asherman sendromun deneysel olarak oluştuğunu gösterecek değişimler mevcuttur. Asherman oluşturulmuş ratlara sentezlenen hidrojel ve hormonları içeren hidrojel uygulamasının Ashermanın oluşturduğu hasarı azaltıcı yönde etkisinin olduğu biyokimyasal verilerle tespit edilmiştir. Yine dokularda alınan örneklerden elde edilen histolojik verilerde hidrojellerin Asherman sendromunu azaltıcı yöndeki etkisini doğrulamaktadır. Ayrıca hidrojele absorbe edilen hormonlar ise bu etkiyi güçlendirmiştir. Sonuçta kontrol grubunda uterus hasarı sonrasında Asherman sendromu oluşurken, östrojen ve melatonin birlikte içeren hidrojellerin uygulandığı hayvanlarda Asherman ve doku hasarının kalmadığı saptanmıştır. Hayvan hareketliliği ve canlılığının yüksek olduğu gözlenmiştir. Ayrıca hidrojele absorbe edilen hormonların ise bu etkiyi güçlendirdiği belirlenmiştir.

Tüm bu bulgulardan yola çıkılarak elde edilen siklodekstrin temelli hidrojellerin cerrahi müdahaleler ve rahim içi hasarlar sonrasında Asherman sendromunun önlenmesinde kullanılabilecek bir potansiyele sahip yapı ve özellikte olduğu görülmüştür. Ayrıca sentezlenen hidrojellerin ilaç salım özellikleri bulunması nedeniyle sadece melatonin ve östrojen değil β -SD grupları ile konuk-konakçı (host-guest) etkileşimine sahip testosteron, kolesterol, askorbik asit, dopamin gibi pek çok ilaç etkeninin salımı içinde kullanılabileceği öngörülmektedir.

6. KAYNAKLAR

- Abbott, J., Thomson, A., Vancaillie, T. (2004). SprayGel following surgery for Asherman's syndrome may improve pregnancy outcome. *J Obstet Gynaecol.* **24** (6), 710-711.
- Ahmed, E. M. (2015). Hydrogel: Preparation, characterization, and applications: A review. *J Adv Res.* **6** (2), 105-121.
- Allison, D. D., Grande-Allen, K. J. (2006). Review. Hyaluronan: a powerful tissue engineering tool. *Tissue Eng.* **12** (8), 2131-2140.
- Andac, M., Plieva, F. M., Denizli, A., Galaev, I. Y., Mattiasson, B. (2008). Poly(hydroxyethyl methacrylate)-based macroporous hydrogels with disulfide Cross-Linker. *Macromol Chem Phys.* **209** (6), 577-584.
- Asherman, J. G. (1950). Traumatic intra-uterine adhesions. *J Obstet Gynaecol Br Emp.* **57** (6), 892-896.
- Barbucci, R. (2009). *Hydrogels: Biological properties and applications*. Springer-Verlag Mailand, Italia.
- Basan, H., İmren, D., Gümüşderelioğlu, M. (2001). pH'ya duyarlı hidrojeller ve kontrollü ilaç salım sistemlerindeki uygulamaları. *FABAD J. Pharm. Sci.* **26**, 81-92.
- Beals, J. M., Shanafelt, A. B. (2006). Enhancing exposure of protein therapeutics. *Drug Discov Today Technol.* **3** (1), 87-94.
- Bennett, E. S., Weissman, B. A. (2005). *Clinical Contact Lens Practice*. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia.
- Berger, J., Reist, M., Mayer, J. M., Felt, O., Peppas, N. A., Gurny, R. (2004). Structure and interactions in covalently and ionically crosslinked chitosan hydrogels for biomedical applications. *Eur J Pharm Biopharm.* **57** (1), 19-34.
- Berman, J. M. (2008). Intrauterine adhesions. *Semin Reprod Med.* **26** (4), 349-355.

- Brandl, F., Sommer, F., Goepferich, A. (2007). Rational design of hydrogels for tissue engineering: impact of physical factors on cell behavior. *Biomaterials*. **28** (2), 134-146.
- Brewster, M. E., Loftsson, T. (2007). Cyclodextrins as pharmaceutical solubilizers. *Adv Drug Deliv Rev*. **59** (7), 645-666.
- Bryant, S. J., Nuttelman, C. R., Anseth, K. S. (2000). Cytocompatibility of UV and visible light photoinitiating systems on cultured NIH/3T3 fibroblasts *in vitro*. *J Biomater Sci Polym Ed*. **11** (5), 439-457.
- Buege, J. A., Aust, S. D. (1978). Microsomal lipid peroxidation. Methods in Enzymology. S. Fleischer and L. Packer, Academic Press. **52**: 302-310.
- Buschmann, H. J., Schollmeyer, E. (2002). Applications of cyclodextrins in cosmetic products: A review. *J Cosmet Sci*. **53** (3), 185-191.
- Caló, E., Khutoryanskiy, V. V. (2015). Biomedical applications of hydrogels: A review of patents and commercial products. *Eur Polym J*. **65**, 252-267.
- Cao, Y., Kuske, R., Li, H. (2008). Direct observation of markovian behavior of the mechanical unfolding of individual proteins. *Biophys J*. **95** (2), 782-788.
- Chung, H. J., Lee, Y., Park, T. G. (2008). Thermo-sensitive and biodegradable hydrogels based on stereocomplexed Pluronic multi-block copolymers for controlled protein delivery. *J Control Release*. **127** (1), 22-30.
- Conforti, A., Alviggi, C., Mollo, A., De Placido, G., Magos, A. (2013). The management of Asherman syndrome: a review of literature. *Reprod Biol Endocrinol*. **11**, 118.
- Crescenzi, V., Cornelio, L., Di Meo, C., Nardecchia, S., Lamanna, R. (2007). Novel hydrogels via click chemistry: synthesis and potential biomedical applications. *Biomacromolecules*. **8** (6), 1844-1850.
- Crini, G., Morcellet, M. (2002). Synthesis and applications of adsorbents containing cyclodextrins. *J Sep Sci*. **25** (13), 789-813.

- Davis, M. E., Brewster, M. E. (2004). Cyclodextrin-based pharmaceuticals: past, present and future. *Nat Rev Drug Discov.* **3** (12), 1023-1035.
- De Jong, S., De Smedt, S., Wahls, M., Demeester, J., Kettenes-van Den Bosch, J., Hennink, W. (2000). Novel self-assembled hydrogels by stereocomplex formation in aqueous solution of enantiomeric lactic acid oligomers grafted to dextran. *Macromolecules.* **33** (10), 3680-3686.
- de Jong, S. J., van Eerdenbrugh, B., van Nostrum, C. F., Kettenes-van den Bosch, J. J., Hennink, W. E. (2001). Physically crosslinked dextran hydrogels by stereocomplex formation of lactic acid oligomers: degradation and protein release behavior. *J Control Release.* **71** (3), 261-275.
- Del Valle, E. M. M. (2004). Cyclodextrins and their uses: a review. *Process Biochem.* **39** (9), 1033-1046.
- Elbert, D. L., Pratt, A. B., Lutolf, M. P., Halstenberg, S., Hubbell, J. A. (2001). Protein delivery from materials formed by self-selective conjugate addition reactions. *J Control Release.* **76** (1-2), 11-25.
- Erdik, E. (2007). *Organik Kimyada Spektroskopik Yöntemler*. Gazi Kitabevi, Ankara.
- Fedorovich, N. E., Alblas, J., de Wijn, J. R., Hennink, W. E., Verbout, A. J., Dhert, W. J. (2007). Hydrogels as extracellular matrices for skeletal tissue engineering: state-of-the-art and novel application in organ printing. *Tissue Eng.* **13** (8), 1905-1925.
- Ferreira, L., Gil, M. H., Cabrita, A. M., Dordick, J. S. (2005). Biocatalytic synthesis of highly ordered degradable dextran-based hydrogels. *Biomaterials.* **26** (23), 4707-4716.
- Finelli, I., Chiessi, E., Galesso, D., Renier, D., Paradossi, G. (2009). Gel-like structure of a hexadecyl derivative of hyaluronic acid for the treatment of osteoarthritis. *Macromol Biosci.* **9** (7), 646-653.

- Frank, L. A., Sandri, G., D'Autilia, F., Contri, R. V., Bonferoni, M. C., Caramella, C., Frank, A. G., Pohlmann, A. R., Guterres, S. S. (2014). Chitosan gel containing polymeric nanocapsules: a new formulation for vaginal drug delivery. *Int J Nanomedicine*. **9**, 3151-3161.
- Fuchs, N., Smorgick, N., Ben Ami, I., Vaknin, Z., Tovbin, Y., Halperin, R., Pansky, M. (2014). Intercoat (Oxiplex/AP gel) for preventing intrauterine adhesions after operative hysteroscopy for suspected retained products of conception: double-blind, prospective, randomized pilot study. *J Minim Invasive Gynecol*. **21** (1), 126-130.
- Gao, X., Deng, X., Wei, X., Shi, H., Wang, F., Ye, T., Shao, B., Nie, W., Li, Y., Luo, M., Gong, C., Huang, N. (2013). Novel thermosensitive hydrogel for preventing formation of abdominal adhesions. *Int J Nanomedicine*. **8**, 2453-2463.
- Griffith, L. G. (2000). Polymeric biomaterials. *Acta Materialia*. **48** (1), 263-277.
- Gupta, A., Upadhyay, N. K., Parthasarathy, S., Rajagopal, C., Roy, P. K. (2013). Nitrofurazone-loaded PVA-PEG semi-IPN for application as hydrogel dressing for normal and burn wounds. *J Appl Polym Sci*. **128** (6), 4031-4039.
- Haglund, B. O., Joshi, R., Himmelstein, K. J. (1996). An in situ gelling system for parenteral delivery. *J Control Release*. **41** (3), 229-235.
- Hassan, C. M., Peppas, N. A. (2000). Structure and morphology of freeze/thawed PVA hydrogels. *Macromolecules*. **33** (7), 2472-2479.
- Hedges, A. R. (1998). Industrial applications of cyclodextrins. *Chem Rev*. **98** (5), 2035-2044.
- Hennink, W. E., Franssen, O., van Dijk-Wolthuis, W. N. E., Talsma, H. (1997). Dextran hydrogels for the controlled release of proteins. *J Control Release*. **48** (2), 107-114.
- Hennink, W. E., van Nostrum, C. F. (2002). Novel crosslinking methods to design hydrogels. *Adv Drug Deliv Rev*. **54** (1), 13-36.

- Hiemstra, C., Aa, L. J., Zhong, Z., Dijkstra, P. J., Feijen, J. (2007). Rapidly in situ-forming degradable hydrogels from dextran thiols through Michael addition. *Biomacromolecules*. **8** (5), 1548-1556.
- Hiemstra, C., Zhong, Z., Dijkstra, P. J., Feijen, J. (2005). Stereocomplex mediated gelation of PEG-(PLA)₂ and PEG-(PLA)₈ block copolymers. *Macromol Symp*. **224** (1), 119-132.
- Hoare, T. R., Kohane, D. S. (2008). Hydrogels in drug delivery: Progress and challenges. *Polymer*. **49** (8), 1993-2007.
- Hoffman, A. S. (2002). Hydrogels for biomedical applications. *Adv Drug Deliv Rev*. **54** (1), 3-12.
- Hoffman, A. S. (2012). Hydrogels for biomedical applications. *Adv Drug Deliv Rev*. **64**, 18-23.
- Hu, B. H., Su, J., Messersmith, P. B. (2009). Hydrogels cross-linked by native chemical ligation. *Biomacromolecules*. **10** (8), 2194-2200.
- Ianas, O., Olinescu, R., Badescu, I. (1991). Melatonin involvement in oxidative processes. *Endocrinologie*. **29** (3-4), 147-153.
- ISO. (2009). *Biological evaluation of medical devices – Part 5: Tests for in vitro cytotoxicity*.
- Jeong, B., Bae, Y. H., Lee, D. S., Kim, S. W. (1997). Biodegradable block copolymers as injectable drug-delivery systems. *Nature*. **388** (6645), 860-862.
- Jeong, B., Kim, S. W., Bae, Y. H. (2012). Thermosensitive sol–gel reversible hydrogels. *Adv Drug Deliv Rev*. **64**, 154-162.

- Kaminski, K., Adrjanowicz, K., Kaminska, E., Grzybowska, K., Hawelek, L., Paluch, M., Tarnacka, M., Gruszka, I., Kasprzycka, A. (2012). Impact of water on molecular dynamics of amorphous alpha-, beta-, and gamma-cyclodextrins studied by dielectric spectroscopy. *Phys Rev E Stat Nonlin Soft Matter Phys.* **86** (3 Pt 1), 031506.
- Khade, S. M., Behera, B., Sagiri, S. S., Singh, V. K., Thirugnanam, A., Pal, K., Ray, S. S., Pradhan, D. K., Bhattacharya, M. K. (2014). Gelatin-PEG based metronidazole-loaded vaginal delivery systems: preparation, characterization and *in vitro* antimicrobial efficiency. *Iran Polym J.* **23** (3), 171-184.
- Khan, Z., Goldberg, J. M. (2018). Hysteroscopic management of Asherman's syndrome. *J Minim Invasive Gynecol.* **25** (2), 218-228.
- Khodaverdi, E., Heidari, Z., Tabassi, S. A., Tafaghodi, M., Alibolandi, M., Tekie, F. S., Khameneh, B., Hadizadeh, F. (2015). Injectable supramolecular hydrogel from insulin-loaded triblock PCL-PEG-PCL copolymer and gamma-cyclodextrin with sustained-release property. *AAPS PharmSciTech.* **16** (1), 140-149.
- Kilic, S., Yuksel, B., Pinarli, F., Albayrak, A., Boztok, B., Delibasi, T. (2014). Effect of stem cell application on Asherman syndrome, an experimental rat model. *J Assist Reprod Genet.* **31** (8), 975-982.
- Kono, H., Teshirogi, T. (2015). Cyclodextrin-grafted chitosan hydrogels for controlled drug delivery. *Int J Biol Macromol.* **72**, 299-308.
- Kretlow, J. D., Klouda, L., Mikos, A. G. (2007). Injectable matrices and scaffolds for drug delivery in tissue engineering. *Adv Drug Deliv Rev.* **59** (4-5), 263-273.
- Kuramoto, G., Takagi, S., Ishitani, K., Shimizu, T., Okano, T., Matsui, H. (2015). Preventive effect of oral mucosal epithelial cell sheets on intrauterine adhesions. *Hum Reprod.* **30** (2), 406-416.

- Kwok, A. Y., Qiao, G. G., Solomon, D. H. (2004). Synthetic hydrogels 3. Solvent effects on poly(2-hydroxyethyl methacrylate) networks. *Polymer*. **45** (12), 4017-4027.
- Laftah, W. A., Hashim, S., Ibrahim, A. N. (2011). Polymer hydrogels: A review. *Polym Plast Technol Eng*. **50** (14), 1475-1486.
- Leach, J. B., Schmidt, C. E. (2005). Characterization of protein release from photocrosslinkable hyaluronic acid-polyethylene glycol hydrogel tissue engineering scaffolds. *Biomaterials*. **26** (2), 125-135.
- Lee, C. H., Singla, A., Lee, Y. (2001). Biomedical applications of collagen. *Int J Pharm*. **221** (1-2), 1-22.
- Lee, K. Y., Rowley, J. A., Eiselt, P., Moy, E. M., Bouhadir, K. H., Mooney, D. J. (2000). Controlling mechanical and swelling properties of alginate hydrogels independently by cross-linker type and cross-linking density. *Macromolecules*. **33** (11), 4291-4294.
- Li, N., Yu, M., Deng, L., Yang, J., Dong, A. (2012a). Thermosensitive hydrogel of hydrophobically-modified methylcellulose for intravaginal drug delivery. *J Mater Sci Mater Med*. **23** (8), 1913-1919.
- Li, W. Z., Zhao, N., Zhou, Y. Q., Yang, L. B., Xiao-Ning, W., Bao-Hua, H., Peng, K., Chun-Feng, Z. (2012b). Post-expansile hydrogel foam aerosol of PG-liposomes: a novel delivery system for vaginal drug delivery applications. *Eur J Pharm Sci*. **47** (1), 162-169.
- Lian, S., Xiao, Y., Bian, Q., Xia, Y., Guo, C., Wang, S., Lang, M. (2012). Injectable hydrogel as stem cell scaffolds from the thermosensitive terpolymer of NIPAAm/AAc/HEMA-PCL. *Int J Nanomedicine*. **7**, 4893-4905.
- Lim, F., Sun, A. M. (1980). Microencapsulated islets as bioartificial endocrine pancreas. *Science*. **210** (4472), 908-910.

- Lin, C. C., Metters, A. T. (2006). Hydrogels in controlled release formulations: network design and mathematical modeling. *Adv Drug Deliv Rev.* **58** (12-13), 1379-1408.
- Lin, C. C., Metters, A. T. (2008). Bifunctional monolithic affinity hydrogels for dual-protein delivery. *Biomacromolecules.* **9** (3), 789-795.
- Lin, X., Wei, M., Li, T. C., Huang, Q., Huang, D., Zhou, F., Zhang, S. (2013). A comparison of intrauterine balloon, intrauterine contraceptive device and hyaluronic acid gel in the prevention of adhesion reformation following hysteroscopic surgery for Asherman syndrome: a cohort study. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* **170** (2), 512-516.
- Liu, G., Yuan, Q., Hollett, G., Zhao, W., Kang, Y., Wu, J. (2018). Cyclodextrin-based host-guest supramolecular hydrogel and its application in biomedical fields. *Polym Chem.* **9** (25), 3436-3449.
- Liu, M., Kono, K., Fréchet, J. M. J. (2000). Water-soluble dendritic unimolecular micelles:: Their potential as drug delivery agents. *J Control Release.* **65** (1), 121-131.
- Liu, R., Huang, S. S., Wan, Y. H., Ma, G. H., Su, Z. G. (2006). Preparation of insulin-loaded PLA/PLGA microcapsules by a novel membrane emulsification method and its release *in vitro*. *Colloids Surf B Biointerfaces.* **51** (1), 30-38.
- Liu, Z., Wang, L., Bao, C., Li, X., Cao, L., Dai, K., Zhu, L. (2011). Cross-linked peg via degradable phosphate ester bond: Synthesis, water-swelling, and application as drug carrier. *Biomacromolecules.* **12** (6), 2389-2395.
- Loftsson, T., Brewster, M. E. (1996). Pharmaceutical applications of cyclodextrins. 1. Drug solubilization and stabilization. *J Pharm Sci.* **85** (10), 1017-1025.
- Loftsson, T., Duchene, D. (2007). Cyclodextrins and their pharmaceutical applications. *Int J Pharm.* **329** (1-2), 1-11.

- Luginbuehl, V., Wenk, E., Koch, A., Gander, B., Merkle, H. P., Meinel, L. (2005). Insulin-like growth factor I-releasing alginate-tricalciumphosphate composites for bone regeneration. *Pharm Res.* **22** (6), 940-950.
- Mahoney, M. J., Anseth, K. S. (2006). Three-dimensional growth and function of neural tissue in degradable polyethylene glycol hydrogels. *Biomaterials.* **27** (10), 2265-2274.
- Malik, N. S., Ahmad, M., Minhas, M. U. (2017). Cross-linked beta-cyclodextrin and carboxymethyl cellulose hydrogels for controlled drug delivery of acyclovir. *PLoS One.* **12** (2), e0172727.
- Masters, K. S., Shah, D. N., Leinwand, L. A., Anseth, K. S. (2005). Crosslinked hyaluronan scaffolds as a biologically active carrier for valvular interstitial cells. *Biomaterials.* **26** (15), 2517-2525.
- Meyvis, T. K. L., De Smedt, S. C., Demeester, J., Hennink, W. E. (2000). Influence of the degradation mechanism of hydrogels on their elastic and swelling properties during degradation. *Macromolecules.* **33** (13), 4717-4725.
- Miyata, T., Asami, N., Uragami, T. (1999). A reversibly antigen-responsive hydrogel. *Nature.* **399** (6738), 766-769.
- Mondal, M. (2007). The silk proteins, sericin and fibroin in silkworm, *Bombyx mori* Linn.,-a review. *Casp J Environ Sci.* **5** (2), 63-76.
- Mosinger, J., Tománková, V., Němcová, I., Zýka, J. (2001). Cyclodextrins in analytical chemistry. *Anal Lett.* **34** (12), 1979-2004.
- Moura, M. J., Figueiredo, M. M., Gil, M. H. (2007). Rheological study of genipin cross-linked chitosan hydrogels. *Biomacromolecules.* **8** (12), 3823-3829.
- Muller, S. A., Weis, C., Odermatt, E. K., Knaebel, H. P., Wente, M. N. (2011). A hydrogel for adhesion prevention: characterization and efficacy study in a rabbit uterus model. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* **158** (1), 67-71.

- Nagahara, S., Matsuda, T. (1996). Hydrogel formation via hybridization of oligonucleotides derivatized in water-soluble vinyl polymers. *Polymer Gels and Networks*. **4** (2), 111-127.
- Navath, R. S., Menjoge, A. R., Dai, H., Romero, R., Kannan, S., Kannan, R. M. (2011). Injectable PAMAM dendrimer-PEG hydrogels for the treatment of genital infections: formulation and *in vitro* and *in vivo* evaluation. *Mol Pharm*. **8** (4), 1209-1223.
- Netter, A., Musset, R., Lambert, A., Salomon, Y., Montbazet, G. (1955). Tuberculous endo-uterine symphysis; an anatomo-clinical and radiologically characteristic syndrome. *Gynecol Obstet (Paris)*. **54** (1), 19-36.
- Netto-Ferreira, J. C., Ilharco, L. M., Garcia, A. R., Vieira Ferreira, L. F. (2000). Characterization of solid complexes between aromatic ketones and β -cyclodextrin using diffuse reflectance infrared fourier transform spectroscopy. *Langmuir*. **16** (26), 10392-10397.
- Nijenhuis, R. J., Smeets, A. J., Morpurgo, M., Boekkooi, P. F., Reuwer, P. J., Smink, M., van Rooij, W. J., Lohle, P. N. (2015). Uterine artery embolisation for symptomatic adenomyosis with polyzene F-coated hydrogel microspheres: three-year clinical follow-up using UFS-QoL questionnaire. *Cardiovasc Intervent Radiol*. **38** (1), 65-71.
- Olaru, A., Borodi, G., Kacsó, I., Vasilescu, M., Bratu, I., Cozar, O. (2009). Spectroscopic studies of the inclusion compound of lisinopril with β -cyclodextrin. *Spectroscopy*. **23** (3-4), 191-199.
- Oral, E., Peppas, N. A. (2004). Responsive and recognitive hydrogels using star polymers. *J Biomed Mater Res A*. **68A** (3), 439-447.
- Otto, W., Drahoslav, L. (1960). Hydrophilic gels in biologic use. *Nature*. **185**, 117-118.

- Oudshoorn, M. H., Rissmann, R., Bouwstra, J. A., Hennink, W. E. (2006). Synthesis and characterization of hyperbranched polyglycerol hydrogels. *Biomaterials*. **27** (32), 5471-5479.
- Oudshoorn, M. H. M., Penterman, R., Rissmann, R., Bouwstra, J. A., Broer, D. J., Hennink, W. E. (2007). Preparation and characterization of structured hydrogel microparticles based on cross-linked hyperbranched polyglycerol. *Langmuir*. **23** (23), 11819-11825.
- Park, H., Park, K. (1996). Biocompatibility issues of implantable drug delivery systems. *Pharm Res*. **13** (12), 1770-1776.
- Pasinli, A. (2004). Biyomedikal uygulamalarda kullanılan biyomalzemeler. *Makine Teknolojileri Elektronik Dergisi*. **4**, 25-34.
- Peppas, N. A. (1987). *Hydrogels in medicine and pharmacy: properties and applications*. CRC Press, Florida.
- Peppas, N. A., Bures, P., Leobandung, W., Ichikawa, H. (2000). Hydrogels in pharmaceutical formulations. *Eur J Pharm Biopharm*. **50** (1), 27-46.
- Peppas, N. A., Hilt, J. Z., Khademhosseini, A., Langer, R. (2006). Hydrogels in biology and medicine: from molecular principles to bionanotechnology. *Adv Mater*. **18** (11), 1345-1360.
- Peretti, G. M., Xu, J. W., Bonassar, L. J., Kirchhoff, C. H., Yaremchuk, M. J., Randolph, M. A. (2006). Review of injectable cartilage engineering using fibrin gel in mice and swine models. *Tissue Eng*. **12** (5), 1151-1168.
- Pescosolido, L., Miatto, S., Di Meo, C., Cencetti, C., Coviello, T., Alhaique, F., Matricardi, P. (2010). Injectable and in situ gelling hydrogels for modified protein release. *Eur Biophys J*. **39** (6), 903-909.
- Portero, A., Teijeiro-Osorio, D., Alonso, M. J., Remuñán-López, C. (2007). Development of chitosan sponges for buccal administration of insulin. *Carbohydr Polym*. **68** (4), 617-625.

- Raghavendra, G. M., Varaprasad, K., Jayaramudu, T. (2015). Chapter 2 - Biomaterials: Design, development and biomedical applications. nanotechnology applications for tissue engineering. S. Thomas, Y. Grohens and N. Ninan. Oxford, William Andrew Publishing: 21-44.
- Rao, K. P. (1995). Recent developments of collagen-based materials for medical applications and drug delivery systems. *J Biomater Sci Polym Ed.* **7** (7), 623-645.
- Risbud, M. V., Hardikar, A. A., Bhat, S. V., Bhonde, R. R. (2000). pH-sensitive freeze-dried chitosan-polyvinyl pyrrolidone hydrogels as controlled release system for antibiotic delivery. *J Control Release.* **68** (1), 23-30.
- Roge, P., D'Ercole, C., Cravello, L., Boubli, L., Blanc, B. (1996). Hysteroscopic management of uterine synechiae: a series of 102 observations. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* **65** (2), 189-193.
- Ron, E., Turek, T., Mathiowitz, E., Chasin, M., Hageman, M., Langer, R. (1993). Controlled release of polypeptides from polyanhydrides. *Proc Natl Acad Sci U S A.* **90** (9), 4176-4180.
- Rosso, F., Marino, G., Giordano, A., Barbarisi, M., Parmeggiani, D., Barbarisi, A. (2005). Smart materials as scaffolds for tissue engineering. *J Cell Physiol.* **203** (3), 465-470.
- Salmaso, S., Semenzato, A., Bersani, S., Matricardi, P., Rossi, F., Caliceti, P. (2007). Cyclodextrin/PEG based hydrogels for multi-drug delivery. *Int J Pharm.* **345** (1), 42-50.
- Satarkar, N. S., Biswal, D., Hilt, J. Z. (2010). Hydrogel nanocomposites: a review of applications as remote controlled biomaterials. *Soft Matter.* **6** (11), 2364-2371.
- Schenker, J. G. (1996). Etiology of and therapeutic approach to synechia uteri. *Eur J Obstet Gynecol Reprod Biol.* **65** (1), 109-113.

- Sharma, K., Kaith, B. S., Kumar, V., Kalia, S., Kumar, V., Swart, H. C. (2014). Water retention and dye adsorption behavior of Gg-cl-poly(acrylic acid-aniline) based conductive hydrogels. *Geoderma*. **232-234**, 45-55.
- Singh, M., Sharma, R., Banerjee, U. C. (2002). Biotechnological applications of cyclodextrins. *Biotechnol Adv.* **20** (5), 341-359.
- Slaughter, B. V., Khurshid, S. S., Fisher, O. Z., Khademhosseini, A., Peppas, N. A. (2009). Hydrogels in regenerative medicine. *Adv Mater.* **21** (32-33), 3307-3329.
- Stenekes, R. J., Talsma, H., Hennink, W. E. (2001). Formation of dextran hydrogels by crystallization. *Biomaterials*. **22** (13), 1891-1898.
- Sun, G., Zhang, X., Shen, Y.-I., Sebastian, R., Dickinson, L. E., Fox-Talbot, K., Reinblatt, M., Steenbergen, C., Harmon, J. W., Gerecht, S. (2011). Dextran hydrogel scaffolds enhance angiogenic responses and promote complete skin regeneration during burn wound healing. *Proc Natl Acad Sci U S A*. **108** (52), 20976-20981.
- Sutter, M., Siepmann, J., Hennink, W. E., Jiskoot, W. (2007). Recombinant gelatin hydrogels for the sustained release of proteins. *J Control Release*. **119** (3), 301-312.
- Szejtli, J. (1998). Introduction and general overview of cyclodextrin chemistry. *Chem Rev.* **98** (5), 1743-1754.
- Szejtli, J. (2004). Past, present and future of cyclodextrin research. *Pure Appl Chem.* **76** (10), 1825-1845.
- Szente, L., Szejtli, J. (2004). Cyclodextrins as food ingredients. *Trends Food Sci Technol.* **15** (3), 137-142.
- Şendağ, F., Dikmen, A., Akman, L., Öztekin, K. (2013). Hysteroscopic management of intrauterine adhesion. *J Turk Soc Obstet Gynecol.* **10** (1), 21-25.

- Tan, H., Marra, K. G. (2010). Injectable, biodegradable hydrogels for tissue engineering applications. *Materials*. **3** (3), 1746-1767.
- Taşdelen, B., Kayaman-Apohan, N., Güven, O., Baysal, B. M. (2004). Investigation of drug release from thermo- and pH-sensitive poly(N-isopropylacrylamide/itaconic acid) copolymeric hydrogels. *Polym Advan Technol*. **15** (9), 528-532.
- Teng, X., Xu, H., Song, W., Shi, J., Xin, J., Hiscox, W. C., Zhang, J. (2017). Preparation and Properties of hydrogels based on PEGylated lignosulfonate amine. *ACS Omega*. **2** (1), 251-259.
- Thacharodi, D., Rao, K. P. (1995). Development and *in vitro* evaluation of chitosan-based transdermal drug delivery systems for the controlled delivery of propranolol hydrochloride. *Biomaterials*. **16** (2), 145-148.
- Valle, R. F., Sciarra, J. J. (1988). Intrauterine adhesions: hysteroscopic diagnosis, classification, treatment, and reproductive outcome. *Am J Obstet Gynecol*. **158** (6 Pt 1), 1459-1470.
- van de Manakker, F., Vermonden, T., van Nostrum, C. F., Hennink, W. E. (2009). Cyclodextrin-based polymeric materials: Synthesis, properties, and pharmaceutical/biomedical applications. *Biomacromolecules*. **10** (12), 3157-3175.
- van der Veen, B. A., Uitdehaag, J. C., Dijkstra, B. W., Dijkhuizen, L. (2000). Engineering of cyclodextrin glycosyltransferase reaction and product specificity. *Biochim Biophys Acta*. **1543** (2), 336-360.
- van Dijk-Wolthuis, W. N. E., Hoogeboom, J. A. M., van Steenberghe, M. J., Tsang, S. K. Y., Hennink, W. E. (1997a). Degradation and release behavior of dextran-based hydrogels. *Macromolecules*. **30** (16), 4639-4645.
- van Dijk-Wolthuis, W. N. E., Kettenes-van den Bosch, J. J., van der Kerk-van Hoof, A., Hennink, W. E. (1997b). Reaction of dextran with glycidyl methacrylate: An unexpected transesterification. *Macromolecules*. **30** (11), 3411-3413.

- van Nostrum, C. F., Veldhuis, T. F., Bos, G. W., Hennink, W. E. (2004). Tuning the degradation rate of Poly (2-hydroxypropyl methacrylamide)-g raft-oligo (lactic acid) stereocomplex hydrogels. *Macromolecules*. **37** (6), 2113-2118.
- Van Tomme, S. R., van Steenberghe, M. J., De Smedt, S. C., van Nostrum, C. F., Hennink, W. E. (2005). Self-gelling hydrogels based on oppositely charged dextran microspheres. *Biomaterials*. **26** (14), 2129-2135.
- Varshney, L. (2007). Role of natural polysaccharides in radiation formation of PVA–hydrogel wound dressing. *Nucl Instrum Methods Phys Res Sect B*. **255** (2), 343-349.
- Weber, L. M., Lopez, C. G., Anseth, K. S. (2009). Effects of PEG hydrogel crosslinking density on protein diffusion and encapsulated islet survival and function. *J Biomed Mater Res A*. **90** (3), 720-729.
- Williams, C. G., Malik, A. N., Kim, T. K., Manson, P. N., Elisseeff, J. H. (2005). Variable cytocompatibility of six cell lines with photoinitiators used for polymerizing hydrogels and cell encapsulation. *Biomaterials*. **26** (11), 1211-1218.
- Xu, J., Li, X., Sun, F. (2010). Cyclodextrin-containing hydrogels for contact lenses as a platform for drug incorporation and release. *Acta Biomater*. **6** (2), 486-493.
- Yalçın, E., Çavuşolu, K., Maraş, M. (2008). Transdermal uygulamalar için glumikron yüklü agaroz hidrojellerinin hazırlanması ve kontrollü salım sistemlerinde kullanılması. *Fırat Üniversitesi Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*. **20** (2), 217-222.
- Yang, J., Xu, C., Wang, C., Kopecek, J. (2006). Refolding hydrogels self-assembled from N-(2-hydroxypropyl)methacrylamide graft copolymers by antiparallel coiled-coil formation. *Biomacromolecules*. **7** (4), 1187-1195.

- Yannas, I. V., Lee, E., Orgill, D. P., Skrabut, E. M., Murphy, G. F. (1989). Synthesis and characterization of a model extracellular matrix that induces partial regeneration of adult mammalian skin. *Proc Natl Acad Sci U S A*. **86** (3), 933-937.
- Yavaşer, R., Girgin, B., Korkmaz, O., Karagözler, A. A. (2016). Production and drug release assesment of melatonin-loaded alginate/gum arabic beads. *J Turkish Chem Soc Sect Chem*. **3** (3), 205-216.
- Yoshii, F., Makuuchi, K., Darwis, D., Iriawan, T., Razzak, M. T., Rosiak, J. M. (1995). Heat resistance poly(vinyl alcohol) hydrogel. *Radiat Phys Chem*. **46** (2), 169-174.
- Young, S., Wong, M., Tabata, Y., Mikos, A. G. (2005). Gelatin as a delivery vehicle for the controlled release of bioactive molecules. *J Control Release*. **109** (1-3), 256-274.
- Yu, L., Ding, J. (2008). Injectable hydrogels as unique biomedical materials. *Chem Soc Rev*. **37** (8), 1473-1481.
- Zhang, L., Jeong, Y. I., Zheng, S., Kang, D. H., Suh, H., Kim, I. (2014). Crosslinked poly(ethylene glycol) hydrogels with degradable phosphamide linkers used as a drug carrier in cancer therapy. *Macromol Biosci*. **14** (3), 401-410.
- Zhou, Q., Zhong, L., Wei, X., Dou, W., Chou, G., Wang, Z. (2013). Baicalein and hydroxypropyl-gamma-cyclodextrin complex in poloxamer thermal sensitive hydrogel for vaginal administration. *Int J Pharm*. **454** (1), 125-134.
- Zvetkov, V. L. (2002). A modified kinetic model of the epoxy-amine reaction. *Macromol Chem Phys*. **203** (3), 467-476.

ÖZGEÇMİŞ

Ad Soyad	: Büşra AKSOY ERDEN
Doğum Yeri ve Tarihi	: Malatya, 28.01.1987
Adres	: İnönü Üniversitesi, Kimya Bölümü 44280, Malatya
E-Posta	: mbusraaksoy@gmail.com
Lisans	: İnönü Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü (2006-2010)
Yüksek Lisans	: İnönü Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Bölümü Fizikokimya Ana Bilim Dalı (2010-2013)
Mesleki Deneyim	: Milli Eğitim Bakanlığı Ücretli Öğretmenlik (2013)

Yayın Listesi:

1. Aksoy B, Güngör Ö, Köytepe S, Seçkin T (2015) Preparation of Novel Sensors Based on Polyimide Membrane for Sensitive and Selective Determination of Dopamine, Polymer-Plastics Technology and Engineering, 55(2):119.
2. Kuyumcu Savan E, Paşahan A, Aksoy B, Güngör Ö, Köytepe S, Seçkin T (2015) Preparation and Properties of Selective Polyurethane Films and Their Use for the Development of Biomedical Dopamine Sensor, International Journal of Polymeric Materials, 65(8):402.
3. Aksoy B, Paşahan A, Güngör Ö, Köytepe S, Seçkin T (2016) A novel electrochemical biosensor based on polyimide-boron nitride composite membranes, International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials, 66(4):203.
4. Aksoy B, Köytepe S, Ateş B, Seçkin T (2016) Biyosensörlerin Hazırlanmasında Poliüretan Membranlar, Putech & Composites, 30: 12-18.

Tezden Türetilen Yayınlar/Sunumlar

1. B. Aksoy, B. Ates, S. Köytepe, Investigation of the degradation kinetics of PEG-polyphenol-cyclodextrin based hydrogels, The International Joint Science Congress of Materials & Polymers, page-30, Ohrid, Macedonia, 22-25 August 2017.
2. S. Köytepe, B. Aksoy, B. Ates, M. Kuruş, I. Türkçüoğlu, Melatonin - Östrojen İkili Sisteminin Salimi için Polifenol Temelli Hidrojellerin Sentezi ve Karakterizasyonu, 29. Ulusal Kimya Kongresi, sayfa-207, Ankara, Türkiye, 10 - 14 Eylül 2017.

3. B. Aksoy, S. Köytepe, B. Ateş, I. Türkçüoğlu, M. Kuruş P.55. Synthesis of Characterization of Curcumin Based Injectable Hydrogels, page-121, SANKO University Innovation in Medicine Summit-3, 11-13 May 2017, Gaziantep, Turkey.
4. S. Köytepe, B. Aksoy, Ü.M. Türker, B. Ates, T., Gallic acid-cyclodextrin based hydrogels with tuned swelling and estrogen release properties, EUPOC 2017 on polymers and additive manufacturing: from fundamentals to applications, page-62, Gargnano, Italy, 20-25 May 2017.
5. B. Aksoy, S. Köytepe, B. Ates, Determination of injectability of cyclodextrin based hydrogels for biomedical applications, The International Joint Science Congress of Materials & Polymers, page-83, Ohrid, Macedonia, 22-25 August 2017.
6. B. Aksoy, Ü.M. Türker, S. Köytepe, B. Ates, T. Seçkin, Synthesis of epicatechin-cyclodextrin based hydrogels for biomedical applications, EUPOC 2017 on polymers and additive manufacturing: from fundamentals to applications, page-61, Gargnano, Italy, 20-25 May 2017.
7. B. Aksoy, B. Ateş, M. Kuruş, I. Türkçüoğlu, S. Köytepe, P.22. Design and Preparation of Caffeic Acid Based Hydrogels for Biomedical Application, page 88, SANKO University Innovation in Medicine Summit-3, 11-13 May 2017, Gaziantep, Turkey.
8. S. Köytepe, B. Aksoy, B. Ates, β -Siklodekstrin, PEG ve Kuarsetin Temelli Hidrojellerin Özellikleri Üzerine PEG Molekül Kütlelerinin Etkisi, 29. Ulusal Kimya Kongresi, sayfa-207, Ankara, Türkiye, 10 - 14 Eylül 2017.
9. α -Siklodekstrin temelli hidrojellerin *in vitro* hücre kültür sisteminde biyoyumluluklarının incelenmesi, Uluslararası Katılımlı 6. İlaç Kimyası: İlaç Etken Maddesi Tasarımı, Sentezi, Üretimi ve Standardizasyonu Kongresi, sayfa-345, Antalya, Türkiye, 22-25 Mart 2018.