

**T.C.  
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**



**BAZI BİYONANOKOMPOZİTLERİN SENTEZİ VE  
BİYOYUMLULUKLARI**

**DOKTORA TEZİ**

**MEHMET EMİN DİKEN**

**BALIKESİR, NİSAN-2015**

**T.C.  
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**



**BAZI BİYONANOKOMPOZİTLERİN SENTEZİ VE  
BİYOUYUMLULUKLARI**

**DOKTORA TEZİ**

**MEHMET EMİN DİKEN**

**BALIKESİR, NİSAN-2015**

## KABUL VE ONAY SAYFASI

**Mehmet Emin DİKEN** tarafından hazırlanan “**BAZI BİYO NANOKOMPOZİTLERİN SENTEZİ VE BİYOUYUMLULUKLARI**” adlı tez çalışmasının savunma sınavı 24.04.2015 tarihinde yapılmış olup aşağıda verilen jüri tarafından oy birliği / oy çokluğu ile Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Ana Bilim Dalı Biyoloji Bilim Dalı Biyokimya olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

İmza

Danışman  
Prof. Dr. Serap DOĞAN

Üye  
Prof. Dr. İslam GÜNDÜZ

Üye  
Prof. Dr. Selma SİNAN

Üye  
Yrd. Doç. Dr. Fatih COŞKUN

Üye  
Yrd. Doç. Dr. Dudu DEMİR

Jüri üyeleri tarafından kabul edilmiş olan bu tez BAÜ Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunca onanmıştır.

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Doç. Dr. Necati ÖZDEMİR

.....

## ÖZET

**BAZI BİYONANOKOMPOZİTLERİN SENTEZİ VE  
BİYUYUMLULUKLARI  
DOKTORA TEZİ  
MEHMET EMİN DİKEN  
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
BİYOLOJİ**

**(TEZ DANIŞMANI: PROF. DR. SERAP DOĞAN)  
(EŞ DANIŞMANI: DOÇ. DR. YASEMİN TURHAN)  
BALIKESİR, NİSAN - 2015**

Bu çalışmada, biyobozunur poli (akrilik asit) (PAA), poli (kaprolakton) (PCL) ve poli (metil metakrilat) (PMMA) polimerlerinin matriks ve nanohidroksiapatit (nHAP)/modifiye nanohidroksiapatit örneklerinin dolgu maddesi olarak kullanıldığı biyonanokompozitler hazırlanmıştır. Polimerlerin özelliklerine göre sentez yöntemleri; PAA ve PCL biyonanokompozitlerinde çözücü uzaklaştırma metodu, PMMA biyonanokompozitlerinde ise eritme metodu tercih edilmiştir. Hazırlanan biyonanokompozitler yapısında bulunan dolgu maddesi oranı %1, 2.5 ve 5 olarak belirlenmiştir. Sentezlenen biyonanokompozitlerin karakterizasyonu XRD, ATR-FTIR, TG/DTA, DSC, SEM, UV-Visible spektrofotometre ve optik temas açısı ölçümleri ile yapılmıştır. XRD, ATR-FTIR ve SEM sonuçlarından elde edilen tüm biyonanokompozit filmlerinde dolgu maddesi ile polimer matriksinin etkileşime girdiği ve matriks içeriğindeki nanohidroksiapatit dolgu maddesinin homojen bir şekilde dağıldığı belirlenmiştir. TG/DTA ve DSC verilerinden, biyonanokompozitlerin saf polimer filmlerinden daha yüksek termal kararlılığa ve camsı geçiş sıcaklığına sahip oldukları belirlenmiştir. Polimer ve biyonanokompozitlerin biyoyumluluk ve homoyumluluk testleri UV-Visible spektrofotometre kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Saf PAA dışında polimerler ve sentezlenen nanokompozitlerin biyoyumlu ve homoyumlu olduğu tespit edilmiştir. Sentezlenen nanokompozitler antioksidan enzim aktivitelerini inhibe etmemiştir. Saf PAA dışında, diğer tüm polimer ve sentezlenen nanokompozitler antibakteriyel aktivite göstermişlerdir.

**ANAHTAR KELİMELELER:** Nanohidroksiapatit, PAA, PCL, PMMA Biyonanokompozit, Biyoyumluluk.

## **ABSTRACT**

**SYNTHESIS AND BIOCOMPATIBILITY OF SOME  
BIONANOCOMPOSITES  
PHD PROGRAM  
MEHMET EMIN DİKEN  
BALIKESİR UNIVERSITY INSTITUTE OF SCIENCE  
BIOLOGY**

**(SUPERVISOR: PROF. DR. SERAP DOĞAN )  
(CO-SUPERVISOR: ASSOC. PROF. DR. YASEMİN TURHAN )  
BALIKESİR, APRIL 2015**

In this study, bionanocomposites were synthesized using biodegradable polymers of poly (acrylic acid) (PAA), poly (caprolactone) (PCL) and poly (methyl methacrylate) (PMMA) as a matrix, and nanohydroxyapatite (nHAp)/modified(nHAp) nanohydroxyapatite as a filling material. According to the properties of polymers, the synthesis method for PAA/PCL nanocomposites were selected as solvent intercalated method and it was selected for PMMA nanocomposites as melting method. The filling material ratio in the structure of prepared bionanocomposites was determined as 1, 2.5 and 5%. The characterization of synthesized bionanocomposites were performed with XRD, ATR-FTIR, TG/DTA, DSC, SEM, UV-Visible spectrophotometer and contact angle measurements. The results of XRD, ATR-FTIR and SEM measurements of the prepared bionanocomposites show that filling material interacted with polymer matrix and nanohydroxyapatite as a filling material was distributed homogeneously throughout the matrix structure. It was determined with TG/DTA and DSC measurements that bionanocomposites achieved higher thermal stability and higher glass transition temperature than their pure polymer films. Biocompatibility and hemocompatibility tests of the polymers and bionanocomposites were performed by UV-Visible spectrophotometer. It was determined that the synthesized bionanocomposites and all polymers except pure PAA were biocompatible and hemocompatible. Synthesized nanocomposites inhibited the antioxidant enzyme activities. Apart from pure PAA, all of the polymers and their nanocomposites showed an antibacterial activity.

**KEYWORDS:** Nanohydroxyapatite, PAA, PCL, PMMA Bionanocomposites, Biocompatibility.

# İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
<b>ÖZET</b> .....	i
<b>ABSTRACT</b> .....	ii
<b>İÇİNDEKİLER</b> .....	iii
<b>ŞEKİL LİSTESİ</b> .....	vii
<b>TABLO LİSTESİ</b> .....	xii
<b>SEMBOL LİSTESİ</b> .....	xiii
<b>ÖNSÖZ</b> .....	xiv
<b>1. GİRİŞ</b> .....	1
1.1 Biyomateryaller.....	1
1.2 Biyoyumluluk.....	5
1.2.1 Metaller.....	5
1.2.2 Polimerler.....	7
1.2.2.1 Poli (Akrilik Asit).....	8
1.2.2.2 Poli (Kapro Lakton).....	9
1.2.2.3 Poli (Metil Metakrilat).....	10
1.2.3 Biyoseramikler.....	11
1.2.3.1 Biyoaktif Seramikler.....	11
1.2.3.1.1 Oksit Seramikler.....	12
1.2.3.1.2 Kalsiyum–fosfat Seramikler.....	12
1.2.3.1.2.1 Hidroksiapatit.....	12
1.2.3.1.3 Cam ve Cam Seramikler.....	14
1.2.4 Kompozitler.....	15
1.2.4.1 Nanokompozitler.....	15
1.2.4.1.1 Polimer/Seramik Nanokompozitler.....	16
1.4 Nanokompozitlerin Sentez Yöntemleri.....	17
1.4.1 Polimerizasyon Yöntemi.....	18
1.4.2 Eritme Yöntemi.....	18
1.4.3 Çözelti Ortamında Etkileştirme.....	19
1.5 Modifikasyon.....	20
1.6 Homoyumluluk.....	20
1.7 Enzimler.....	21
1.7.1 Antioksidan enzimler.....	22
1.7.1.1 Glutatyon Peroksidaz.....	23
1.7.1.2 Glutatyon Redüktaz.....	24
1.7.1.3 Glutatyon-S-Transferaz.....	25

1.7.1.4 Glukoz 6-fosfat Dehidrogenaz.....	26
1.7.1.5 Katalaz.....	26
1.7.1.6 Süper Oksit Dismutaz.....	27
1.8 Antibakteriyel Aktivite.....	28
1.9 Literatür Özeti.....	29
1.10 Çalışmanın Amacı.....	31
<b>2. MATERYAL VE METOT.....</b>	<b>34</b>
2.1 Materyal.....	34
2.2 Metot.....	35
2.2.1 Nanohidroksiapatit/Organo Bileşik Modifikasyon İşlemleri.....	35
2.2.2 Biyonanokompozitlerin Sentezi.....	35
2.2.2.1 Çözücü Ortamında Etkileştirme İle Biyonanokompozit Sentezi...	35
2.2.2.2 Eritme Yöntemi İle Biyonanokompozit Sentezi.....	36
2.2.3 nHAp ve Modifiye nHAp'ların BET Analizi.....	36
2.2.4 Nanokompozitlerin Karakterizasyonu.....	36
2.2.4.1 XRD Analizleri.....	37
2.2.4.2 FTIR-ATR Analizleri.....	37
2.2.4.3 TG/DTA Analizleri.....	37
2.2.4.4 DSC Analizleri.....	37
2.2.4.5 Optik Temas Açısı Analizleri.....	38
2.2.4.6 SEM Analizleri.....	38
2.2.4.7 UV-Visible Analizleri.....	38
2.2.5 Homouyumluluk Testi.....	39
2.2.6 Antioksidan Enzim Aktivite Ölçümleri İçin Hemolizat Hazırlanması..	40
2.2.7 Antioksidan Enzim Aktivitelerinin Ölçümleri.....	40
2.2.7.1 Glutasyon Peroksidaz (GSH-Px).....	40
2.2.7.2 Glutasyon Redüktaz (GR).....	41
2.2.7.3 Glutasyon-S-Transferaz (GST).....	41
2.2.7.4 Glukoz 6-Fosfat Dehidrogenaz (G6PD).....	42
2.2.7.5 Katalaz (CAT).....	42
2.2.7.6 Superoksit Dismutaz (SOD).....	42
2.2.8 Antibakteriyel Aktivite.....	43
2.2.9 İstatiksel Analiz.....	43
<b>3. BULGULAR.....</b>	<b>44</b>
3.1 nHAp'ın Modifikasyonu.....	44
3.1.1 Dolgu Malzemelerinin BET Analiz Sonuçları.....	44
3.1.2 Dolgu Malzemelerinin XRD Analiz Sonuçları.....	45
3.1.3 Dolgu Malzemelerine Ait FTIR-ATR Analiz Sonuçları.....	48

3.1.4 Dolgu Malzemelerine Ait TG/DTA Analiz Sonuçları.....	51
3.1.5 Dolgu Malzemelerine Ait SEM Analiz Sonuçları.....	53
3.1.5 Dolgu Malzemelerine Ait Optik Temas Açısı Analiz Sonuçları.....	54
3.2 PAA Nanokompozitlerinin Karakterizasyonu.....	55
3.2.1 PAA Nanokompozitlerine Ait XRD Analiz Sonuçları.....	55
3.2.2 PAA Nanokompozitlerine Ait FTIR-ATR Analiz Sonuçları.....	57
3.2.3 PAA Nanokompozitlerine Ait TG/d[TG] ve DSC Analiz Sonuçları....	60
3.2.4 PAA Nanokompozitlerine Ait Optik Temas Açısı Ölçüm Sonuçları....	65
3.2.5 PAA Nanokompozitlerine Ait SEM Analiz Sonuçları.....	67
3.2.6 PAA Nanokompozitlerine Ait UV-Visible Analiz Sonuçları.....	67
3.2.7 PAA ve Nanokompozitlerinin Homouyumluluk Sonuçları.....	70
3.2.8 PAA ve Nanokompozitlerinin Antibakteriyel Sonuçları.....	70
3.3 PCL ve PCL Nanokompozitlerinin Karakterizasyonu.....	72
3.3.1 PCL Nanokompozitlerine Ait XRD Analiz Sonuçları.....	72
3.3.2 PCL Nanokompozitlerine Ait FTIR-ATR Analiz Sonuçları.....	74
3.3.3 PCL Nanokompozitlerine Ait TG/d[TG] Analiz Sonuçları.....	77
3.3.4 PCL Nanokompozitlerine Ait Optik Temas Açısı Analiz Sonuçları....	81
3.3.5 PCL Nanokompozitlerine Ait SEM Analiz Sonuçları.....	83
3.3.6 PCL Nanokompozitlerine Ait UV-Visible Analiz Sonuçları.....	84
3.3.7 PCL ve PCL Nanokompozitlerine Ait Homouyumluluk Analiz Sonuçları.....	87
3.3.8 PCL Nanokompozitlerinin Antioksidan Enzim Aktivitesi Üzerine Etkisi.....	87
3.3.9 PCL ve Nanokompozitlerinin Antibakteriyel Aktivite Sonuçları.....	90
3.4 PMMA ve PMMA Nanokompozitlerinin Karakterizasyonu.....	92
3.4.1 PMMA Nanokompozitlerinin XRD Analiz Sonuçları.....	92
3.4.2 PMMA Nanokompozitlerinin FTIR-ATR Analiz Sonuçları.....	94
3.4.3 PMMA Nanokompozitlerine Ait TG/d[TG] ve DSC Analiz Sonuçları	97
3.4.4 PMMA Nanokompozitlerinin Ait Optik Temas Açısı Analiz Sonuçları.....	101
3.4.5 PMMA Nanokompozitlerine Ait SEM Analiz Sonuçları.....	103
3.4.6 PMMA Nanokompozitlerine Ait UV-Visible Analiz Sonuçları.....	105
3.4.7 PMMA Nanokompozitlerine Ait Homouyumluluk Analiz Sonuçları...	107
3.4.8 PMMA Nanokompozitlerinin Antioksidan Enzim Aktivitesi Üzerine Etkisi.....	108
3.4.9 PMMA ve Nanokompozitlerinin Antibakteriyel Aktivite Sonuçları	112
<b>4. TARTIŞMA.....</b>	<b>113</b>
4.1 Dolgu Malzemeleri.....	113
4.1.1 Dolgu Malzemelerinin BET Analizleri.....	113



4.1.2 Dolgu Malzemelerinin XRD Analizleri.....	113
4.1.3 Dolgu Malzemelerinin FTIR-ATR Analizleri.....	114
4.1.4 Dolgu Malzemelerinin TG/DTA Analizleri.....	115
4.1.5 Dolgu Malzemelerinin Optik Temas Açısı Ölçümleri.....	116
4.2 Nanokompozitlerin Karakterizasyonu.....	116
4.2.1 Polimer/nHAp/modifiye nHAp Nanokompozitlerine ait XRD Analizleri.....	116
4.2.2 Polimer/nHAp/modifiye nHAp Nanokompozitlerine ait FTIR-ATR Analizleri.....	118
4.2.3 Polimer/nHAp/modifiye nHAp Nanokompozitlerine ait TG/DTA ve DSC Analizleri.....	120
4.3.4 Polimer/nHAp/modifiye nHAp Nanokompozitlerine ait Optik Temas Açısı Analizleri.....	126
4.2.5 Polimer/nHAp/modifiye nHAp Nanokompozitlerine ait Optik Transmitans Analizleri.....	127
4.2.6 Polimer/nHAp/modifiye nHAp Nanokompozitlerine ait SEM Analizleri.....	130
4.3 Nanokompozitlerin Biyoyumlulukları.....	130
4.3.7 Polimer/nHAp/modifiye nHAp Nanokompozitlerine ait Homoyumluluk Analizleri.....	130
4.3.8 Polimer/nHAp/modifiye nHAp Nanokompozitlerinin Antioksidan Enzim Aktivitesi Üzerine Etkileri.....	133
4.3.9 Nanokompozitlerin Antibakteriyel Aktiviteleri.....	137
<b>5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....</b>	<b>140</b>
<b>6. KAYNAKLAR.....</b>	<b>143</b>

## ŞEKİL LİSTESİ

	<u>Sayfa</u>
Şekil 1.1:	Biyomalz melerin sınıflandırılması..... 4
Şekil 1.2:	Akrilik asit ve poli akrilik asitin moleküler yapısı..... 8
Şekil 1.3:	Kaprolakton ve poli kaprolaktonun moleküler yapısı..... 9
Şekil 1.4:	(a) metil metakrilat, (b) poli(metil metakrilat) moleküler yapısı 10
Şekil 1.5:	Hidroksiapatitin moleküler yapısı..... 13
Şekil 1.6:	Gözenekli hidroksiapatitin doku iskelesi..... 14
Şekil 1.7:	Nano tanecikleri ile takviye edilmiş polimerik kompozit yapılar, (a) ayrılmış tabakalı kompozit, (b) tabakalı kompozit, (c) geleneksel yapı kompozit..... 18
Şekil 1.8:	Eritme yöntemine göre nanokompozit sentezi..... 19
Şekil 1.9:	Çözelti ortamında etkileştirme yöntemi ile göre nanokompozit sentezi..... 19
Şekil 1.10:	Glutasyon redüktazın katalizlediği reaksiyonun şematik gösterimi..... 24
Şekil 3.1:	nHAp'ın XRD deseni..... 45
Şekil 3.2:	nHAp-3apt'nin XRD deseni..... 46
Şekil 3.3:	nHAp-3cptms'nin XRD deseni..... 47
Şekil 3.4:	nHAp-n3tmpeda'nın XRD deseni..... 48
Şekil 3.5:	nHAp'ın FTIR-ATR spektrumu..... 49
Şekil 3.6:	nHAp-3apt ve 3apt'nin FTIR-ATR spektrumu..... 50
Şekil 3.7:	nHAp-3cptms ve 3cptms'nin FTIR-ATR spektrumu..... 50
Şekil 3.8:	nHAp-n3tmpeda ve n3tmpeda'nın FTIR-ATR spektrumu..... 51
Şekil 3.9:	nHAp'ın TG eğrisi..... 52
Şekil 3.10:	nHAp-3apt'nin TG eğrisi..... 52
Şekil 3.11:	nHAp-3cptms'nin TG eğrisi..... 53
Şekil 3.12:	nHAp-n3tmpeda'nın TG eğrisi..... 53
Şekil 3.13:	nHAp örneğine ait SEM fotoğrafı..... 54
Şekil 3.14:	(a) nHAp, (b) nHAp/-3apt, (c) nHAp-3cptms, (d) nHAp-n3tmpeda örneklerine ait optik temas açısı ölçümlerinin fotoğrafları..... 55
Şekil 3.15:	PAA ve PAA/nHAp nanokompozitlerinin XRD desenleri..... 56
Şekil 3.16:	PAA ve PAA/nHAp-3apt nanokompozitlerinin XRD desenleri 56
Şekil 3.17:	PAA ve PAA/nHAp-3cptms nanokompozitlerinin XRD desenleri..... 57
Şekil 3.18:	PAA ve PAA/nHAp-n3tmpeda nanokompozitlerinin XRD

desenleri.....	57
<b>Şekil 3.19:</b> PAA'nın FTIR-ATR spektrumu.....	58
<b>Şekil 3.20:</b> PAA ve PAA/nHAp nanokompozitlerinin FTIR-ATR spektrumları.....	59
<b>Şekil 3.21:</b> PAA ve PAA/nHAp-3apt nanokompozitlerine Ait FTIR-ATR spektrumu.....	59
<b>Şekil 3.22:</b> PAA ve PAA/nHAp-3cptms nanokompozitlerine Ait FTIR-ATR spektrumu.....	60
<b>Şekil 3.23:</b> PAA ve PAA/nHAp-n3tmpeda nanokompozitlerine Ait FTIR-ATR spektrumu.....	60
<b>Şekil 3.24:</b> PAA polimerinin TG/d[TG] eğrisi.....	61
<b>Şekil 3.25:</b> PAA ve PAA/nHAp nanokompozitlerinin TG eğrileri.....	62
<b>Şekil 3.26:</b> PAA ve PAA/nHAp-3apt nanokompozitlerinin TG eğrileri.....	62
<b>Şekil 3.27:</b> PAA ve PAA/nHAp-3cptms nanokompozitlerinin TG eğrileri..	63
<b>Şekil 3.28:</b> PAA ve PAA/nHAp-n3tmpeda nanokompozitlerinin TG eğrileri.....	63
<b>Şekil 3.29:</b> PAA, PAA/nHAp(%1) (a), PAA/nHAp-3apt(%5) (b) ve PAA/nHAp-3cptms(%5)'nın (b) temas açısı fotoğrafları.....	65
<b>Şekil 3.30:</b> PAA/nHAp (%2.5) (a), PAA/nHAp-3apt (%2.5) (b), PAA/nHAp-3cptms (%2.5) (c) ve PAA/nHAp-n3tmpeda (%2.5) (d) nanokompozitlerinin SEM fotoğrafları.....	67
<b>Şekil 3.31:</b> PAA ve PAA/nHAp nanokompozitlerinin UV-Visible spektrumları.....	68
<b>Şekil 3.32:</b> PAA ve PAA/nHAp-3apt nanokompozitlerinin UV-Visible spektrumları.....	68
<b>Şekil 3.33:</b> PAA ve PAA/nHAp-3cptms nanokompozitlerinin UV-Visible spektrumları.....	69
<b>Şekil 3.34:</b> PAA ve PAA/nHAp-n3tmpeda nanokompozitlerinin UV-Visible spektrumları.....	69
<b>Şekil 3.35:</b> PAA ve nanokompozitlerinin ait homouyumluluk sonuçları....	70
<b>Şekil 3.36:</b> PAA, PAA/nHAp(%1), PAA/nHAp(%2.5) ve PAA/nHAp(%5) nanokompozitlerinin <i>Escherichia coli</i> (A) ve <i>Staphilacoccus aureus</i> (B) bakterilerine karşı Antibakteriyel aktiviteleri.....	71
<b>Şekil 3.37:</b> PCL ve PCL/nHAp nanokompozitlerine ait XRD desenleri.....	72
<b>Şekil 3.38:</b> PCL ve PCL/nHAp-3apt nanokompozitlerine ait XRD desenleri.....	73
<b>Şekil 3.39:</b> PCL ve PCL/nHAp-3cptms nanokompozitlerine ait XRD desenleri.....	73
<b>Şekil 3.40:</b> PCL ve PCL/nHAp-n3tmpeda nanokompozitlerine ait XRD desenleri.....	74
<b>Şekil 3.41:</b> PCL ve PCL/nHAp nanokompozitlerine ait FTIR-ATR spektrumları.....	75

<b>Şekil 3.42:</b> PCL ve PCL/nHAp-3apt nanokompozitlerine ait FTIR-ATR spektrumları.....	75
<b>Şekil 3.43:</b> PCL ve PCL/nHAp-3cptms nanokompozitlerine ait FTIR-ATR spektrumları.....	76
<b>Şekil 3.44:</b> PCL ve PCL/nHAp-n3tmpeda nanokompozitlerine ait FTIR-ATR spektrumları.....	76
<b>Şekil 3.45:</b> PCL'ye ait TG ve d[TG] eğrileri.....	79
<b>Şekil 3.46:</b> PCL ve PCL/nHAp nanokompozitlerine ait TG eğrileri.....	79
<b>Şekil 3.47:</b> PCL ve PCL/nHAp-3apt nanokompozitlerine ait TG eğrileri....	80
<b>Şekil 3.48:</b> PCL ve PCL/nHAp-3cptms nanokompozitlerine ait TG eğrileri	80
<b>Şekil 3.49:</b> PCL ve PCL/nHAp-n3tmpeda nanokompozitlerine ait TG eğrileri.....	81
<b>Şekil 3.50:</b> PCL (a), PCL/nHAp (%1) (b), PCL/nHAp (%2.5) (c), PCL/nHAp (%5) (d) nanokompozitlerine ait temas açısı fotoğrafları.....	83
<b>Şekil 3.51:</b> PCL/nHAp (%2.5), PCL/nHAp-3apt (%2.5), PCL/nHAp-3cptms (%2.5) ve PCL/nHAp-n3tmpeda (%2.5) nanokompozitlerinin SEM fotoğrafları.....	84
<b>Şekil 3.52:</b> PCL ve PCL/nHAp nanokompozitlerinin UV-Visible spektrumları.....	85
<b>Şekil 3.53:</b> PCL ve PCL/nHAp-3apt nanokompozitlerinin UV-Visible spektrumları.....	85
<b>Şekil 3.54:</b> PCL ve PCL/nHAp-3cptms nanokompozitlerinin UV-Visible spektrumları.....	86
<b>Şekil 3.55:</b> PCL ve PCL/nHAp.n3tmpeda nanokompozitlerinin UV-Visible spektrumları.....	86
<b>Şekil 3.56:</b> PCL ve PCL nanokompozitlerinin homouyumluluk sonuçları...	87
<b>Şekil 3.57:</b> PCL ve nanokompozitlerinin CAT aktivitesine etkileri.....	88
<b>Şekil 3.58:</b> PCL ve nanokompozitlerinin GST aktivitesine etkileri.....	88
<b>Şekil 3.59:</b> PCL ve nanokompozitlerinin GSH-Px aktivitesine etkileri.....	89
<b>Şekil 3.60:</b> PCL ve nanokompozitlerinin G6PD aktivitesine etkileri.....	89
<b>Şekil 3.61:</b> PCL ve nanokompozitlerinin GR aktivitesine etkileri.....	90
<b>Şekil 3.62:</b> PCL ve nanokompozitlerinin SOD aktivitesine etkileri.....	90
<b>Şekil 3.63:</b> PCL, PCL/nHAp(%1), PCL/nHAp(%2.5) ve PCL/nHAp(%5) nanokompozitlerinin <i>Escherichia coli</i> (A) ve <i>Staphilacoccus aureus</i> (B) bakterilerine karşı antibakteriyel aktiviteleri.....	91
<b>Şekil 3.64:</b> PMMA ve PMMA/nHAp nanokompozitlerinin XRD desenleri	92
<b>Şekil 3.65:</b> PMMA ve PMMA/nHAp-3apt nanokompozitlerinin XRD desenleri.....	93
<b>Şekil 3.66:</b> PMMA ve PMMA/nHAp-3cptms nanokompozitlerinin XRD desenleri.....	93
<b>Şekil 3.67:</b> PMMA ve PMMA/nHAp-n3tmpeda nanokompozitlerinin XRD desenleri.....	94
<b>Şekil 3.68:</b> PMMA polimerine ait FTIR-ATR spektrumu.....	95

<b>Şekil 3.69:</b> PMMA ve PMMA/nHAp nanokompozitlerinin FTIR-ATR spektrumları.....	95
<b>Şekil 3.70:</b> PMMA ve PMMA/nHAp-3apt nanokompozitlerinin FTIR-ATR spektrumları.....	96
<b>Şekil 3.71:</b> PMMA ve PMMA/nHAp-3cptms nanokompozitlerinin FTIR-ATR spektrumları.....	96
<b>Şekil 3.72:</b> PMMA ve PMMA/nHAp-n3tmpeda nanokompozitlerinin FTIR-ATR spektrumları.....	97
<b>Şekil 3.73:</b> PMAA polimerinin TG ve d[TG] eğrileri.....	99
<b>Şekil 3.74:</b> PMMA ve PMMA/nHAp nanokompozitlerinin TG eğrileri.....	99
<b>Şekil 3.75:</b> PMMA ve PMMA/nHAp-3apt nanokompozitlerinin TG eğrileri.....	100
<b>Şekil 3.76:</b> PMMA ve PMMA/nHAp-3cptms nanokompozitlerinin TG eğrileri.....	100
<b>Şekil 3.77:</b> PMMA ve PMMA/nHAp-n3tmpeda nanokompozitlerinin TG eğrileri.....	101
<b>Şekil 3.78:</b> PMMA ve bazı PMMA nanokompozitlerinin temas açısı fotoğrafları; (a) PMMA, (b) PMMA/nHAp (%5) , (c) PMMA/nHAp-3apt (%5), (d) PMMA/nHAp-3cptms (%5) ve (e) PMMA/n3tmpeda (%5).....	103
<b>Şekil 3.79:</b> PMMA/nHAp (%2.5), PMMA/nHAp-3apt (%2.5), PMMA/nHAp-3cptms (%2.5) ve PMMA/nHAp-n3tmpeda (%2.5) nanokompozitlerinin SEM fotoğrafları.....	104
<b>Şekil 3.80:</b> PMMA ve PMMA/nHAp nanokompozitlerinin UV-Visible spektrumları.....	105
<b>Şekil 3.81:</b> PMMA ve PMMA/nHAp-3apt nanokompozitlerinin UV-Visible spektrumları.....	106
<b>Şekil 3.82:</b> PMMA ve PMMA/nHAp-3cptms nanokompozitlerinin UV-Visible spektrumları.....	106
<b>Şekil 3.83:</b> PMMA ve PMMA/nHAp-n3tmpeda nanokompozitlerinin UV-Visible spektrumları.....	107
<b>Şekil 3.84:</b> PMMA ve nanokompozitlerinin homouyumluluk sonuçları.....	108
<b>Şekil 3.85:</b> PMMA ve nanokompozitlerinin CAT aktivitesine etkileri.....	109
<b>Şekil 3.86:</b> PMMA ve nanokompozitlerinin GST aktivitesine etkileri.....	109
<b>Şekil 3.87:</b> PMMA ve nanokompozitlerinin GSH-Px aktivitesine etkileri...	110
<b>Şekil 3.88:</b> PMMA ve nanokompozitlerinin G6PD aktivitesine etkileri.....	110
<b>Şekil 3.89:</b> PMMA ve nanokompozitlerinin GR aktivitesine etkileri.....	111
<b>Şekil 3.90:</b> PMMA ve nanokompozitlerinin SOD aktivitesine etkileri.....	111
<b>Şekil 3.91:</b> PMMA, PMMA/nHAp(%1), PMMA/nHAp(%2.5.) ve PMMA/nHAp(%5) nanokompozitlerinin <i>Escherichia coli</i> (A) ve <i>Staphilacoccus aureus</i> (B) bakterilerine karşı antibakteriyel aktiviteleri.....	112
<b>Şekil 4.1:</b> Homojen katı bir yüzeye damlatılan sıvının katı ile temas açısının ölçülmesi.....	116

<b>Şekil 4.2:</b>	PAA'nın dekompozisyon mekanizması.....	122
<b>Şekil 4.3:</b>	PMMA'nın termal degradasyon mekanizması.....	125

## TABLO LİSTESİ

	<u>Sayfa</u>
<b>Tablo 1.1:</b> Doku-İmplant ara yüzeyini etkileyen etmenler.....	3
<b>Tablo 1.2:</b> İmplant olarak kullanılan materyallerden bazıları ve kullanıldığı dokular.....	4
<b>Tablo 3.1:</b> nHAp ve modifiye nHAp örneklerinin Bet analiz verileri.....	45
<b>Tablo 3.2:</b> nHAp'ın XRD deseninden elde edilen veriler.....	46
<b>Tablo 3.3:</b> nHAp-3apt'nin XRD deseninden elde edilen veriler.....	47
<b>Tablo 3.4:</b> nHAp-3cptms'nin XRD deseninden elde edilen veriler.....	48
<b>Tablo 3.5:</b> nHAp-n3tmpeda'nın XRD deseninden elde edilen veriler.....	48
<b>Tablo 3.6:</b> nHAp ve modifiye nHAp örneklerinin optik temas açısı verileri.....	54
<b>Tablo 3.7:</b> PAA ve nanokompozitlerinin TG ve DSC eğrilerinden elde edilen verileri.....	64
<b>Tablo 3.8:</b> PAA ve nanokompozitlerinin optik temas açısı ölçümlerine ait verileri.....	66
<b>Tablo 3.9:</b> PCL ve nanokompozitlerinin TG eğrilerinden elde edilen verileri.....	78
<b>Tablo 3.10:</b> PCL ve nanokompozitlerinin optik temas açısı ölçümlerine ait verileri.....	82
<b>Tablo 3.11:</b> PMMA ve nanokompozitlerinin TG ve DSC eğrilerinden elde edilen verileri.....	98
<b>Tablo 3.12:</b> PMMA ve nanokompozitlerinin optik temas açısı ölçümlerine ait verileri.....	102
<b>Tablo 4.1:</b> PAA'nın bazı karakteristik IR bantları.....	119
<b>Tablo 4.2:</b> PMMA'nın bazı karakteristik IR bantları.....	120

## SEMBOL LİSTESİ

<b>nHAp</b>	: Nanohidroksiapatit
<b>3apt</b>	: [3-(2-aminoethylamino)propyl]-trimethoxysilane
<b>3cptms</b>	: 3-(chloropropyl)trimethoxysilane
<b>n3tmpeda</b>	: N <sup>1</sup> -[3-(trimethoxisililpropyl)]-diethyltriamin
<b>FDA</b>	: Gıda ve İlaç İdaresi (Food and Drug Administration)
<b>PAA</b>	: Poli(akrilik asit)
<b>PCL</b>	: Poli(kaprolakton)
<b>PMMA</b>	: Poli(metil metakrilat)
<b>XRD</b>	: X Işını Kırınım Difraksiyonu
<b>FTIR-ATR</b>	: Fourier Transform Infrared Attenuated Total Reflectance
<b>TG/DTA</b>	: Termogravimetrik ve Diferansiyel Termal Analiz
<b>DSC</b>	: Diferansiyel ölçüm kalorimetri
<b>SEM</b>	: Taramalı Elektron Mikroskopyu



## ÖNSÖZ

Doktora tezi olarak hazırladığım “Bazı Biyonanimplanların Sentezi Biyouyumlulukları” adlı çalışmam Fen-Edebiyat Fakültesi Biyokimya ve Fiziksel Kimya Laboratuvarlarında yapılmıştır. Bu çalışmada hem biyoloji hem de kimya bilgisiyle desteğini esirgemeyen danışman hocam Prof. Dr. Serap DOĞAN ve eşdanışman hocam Doç. Dr. Yasemin TURHAN’a sonsuz teşekkürler sunarım.

Deneysel ve yorumlama aşamalarında engin tecrübesine başvurduğumuz ve fikirleriyle bizi yönlendiren kıymetli hocam sayın Prof. Dr. Mehmet DOĞAN’a teşekkürler sunarım.

Tez izleme komitesinde olan sayın Prof. Dr. İslam GÜNDÜZ ve Prof. Dr. Selma SİNAN hocalarımla tez içinde beni yönlendirmeleri ve tez dışında verdikleri desteklerden dolayı sonsuz teşekkürler sunarım.

İş ve laboratuvar arkadaşlarım olan uzman Berna KOÇER, Zeliha Gamze ALP ve Zeynep BİCİL’e her ihtiyacım olduğunda desteklerini esirgemedikleri için teker teker teşekkür ederim.

Annem, babam ve tüm kardeşlerimin başarısızlığımı dahi hiç hesaplamadan verdikleri tüm desteklerden dolayı sevgilerimi, saygılarımı gönülden iletiyorum.

**Mehmet Emin DİKEN**

# 1. GİRİŞ

## 1.1 Biyomateryaller

Tıp ve teknoloji alanında büyük ilerlemelerin kaydedildiği çağımızda biyomalzeme, biyomühendislik, biyoloji, fizik, metalurji ve kimya alanlarında, biyolojik sistemlerle etkileştiğinde uyum sağlayabilecek yeni malzemelerin geliştirilmesi için yoğun çabalar harcanmaktadır[1].

Biyomateryaller, insan vücudundaki canlı dokuların işlevlerini yerine getirmek, savunmak ya da bulunduğu dokuya destek vermek amacıyla kullanılan doğal ya da sentetik malzemelerdir. Biyomateryaller sürekli olarak ya da belli aralıklarla vücut akışkanlarıyla (örneğin kan) temas ederler[2]. Literatürde biyomateryallerin biyoyumlulukları;

- \* sitotoksosite (hücre veya doku ölümünü sağlamak),
- \* karsinojeniklik (kanser oluşumunu tetiklemek),
- \* genotoksosite (genlere zarar verebilmek),
- \* pirojeniklik ya da alerjiklik (bağışıklık yanıtlarını indüklemek), ya da
- \* trombojeniklik (kan pıhtılaşmasına sebep olmak),

gibi yeteneklerine göre sınıflandırılır. Biyoyumluluğun tüm bu problemlerini içeren evrensel tanımında, “biyoyuyumluluk, doku ya da hücreye ölçülebilir bir zarara sebep olmayan ve FDA (Food and Drug Administration, (A.B.D.)) tarafından desteklenen materyallerdir” şeklinde tanımlanır[1].

Bazı biyoyumlu materyaller, yenilenebilir ve biyobozunur özelliklerinin dışında O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>, nem ve çözünenin hareketine karşı bir bariyer özelliğine sahip yarı geçirgen zar benzeri özelliklerinden dolayı paketleme endüstrisinde[3], optik, elektronik, biyoteknoloji ve medikal alanlar gibi farklı alanlarda da kullanılmaktadır[4].

Biyomateryaller biyo-çevreye uygun olarak tasarlanmış sentetik veya doğal materyallerdir. Sentetik biyomateryallerin insan vücudu içinde kullanılmak için ilk jenerasyonunun icadı 1960-1970'den sonra olmuştur. Bir vücut dokusunun onarımında bir biyomedikal implantın yapımı hedeflenmiş ve bu implantın mekanik özelliklerinin dizaynı ve biyouyumluluğu ile ilgilenilmiştir. Materyalin ya da materyal sisteminin seçiminde esnekliği, stres verimi, yumuşaklığı, sertliği, aşınma direnci ve benzeri birkaç mekanik özelliği göz önünde bulundurulmalıdır. Ayrıca implant ucuz, kolay elde edilebilir ve farklı şekillerde işlenmiş ya da şekil almaya elverişli olmalıdır. Bir implant materyalin uygun dizaynı için dayanıklılığı, fonksiyonelliği ve biyolojik yanıtının sağlanması hedeflenmiştir[5].

Biyomateryalin yapısal ve yüzey uyumluluğu farklı iki başlık altında tanımlanmıştır. Yüzey uyumluluğu, bir biyomalzemenin vücut dokularına fiziksel, kimyasal ve biyolojik olarak uygun olmasıdır. Yapısal uyumluluk ise malzemenin vücut dokularının mekanik davranışına sağladığı optimum uyumdur[6].

Canlı dokuya yerleştirilen tüm biyomateryaller, ilişki içerisinde bulunduğu dokulardan tepki alırlar. Bu tepkiler doku-implant ara yüzeyinde oluşurlar ve Tablo 1.1'de sıralanan çeşitli faktörlere bağlıdırlar. İmplant malzemeye karşı olan doku cevabı aşağıdaki gibi dört türlüdür:

1. Malzeme toksik ise çevresindeki doku ölür.
2. Malzeme toksik değil ve biyoinert ise değişik kalınlıklarda fibröz doku oluşumu gerçekleşir.
3. Malzeme toksik değil ve biyoaktif ise doku-implant ara yüzeyinde bağlanma gerçekleşir.
4. Malzeme toksik değil, fakat çözünür yapıdaysa, çevresindeki doku, implantın yerini alır.

**Tablo 1.1:** Doku-İmplant ara yüzeyini etkileyen etmenler[7].

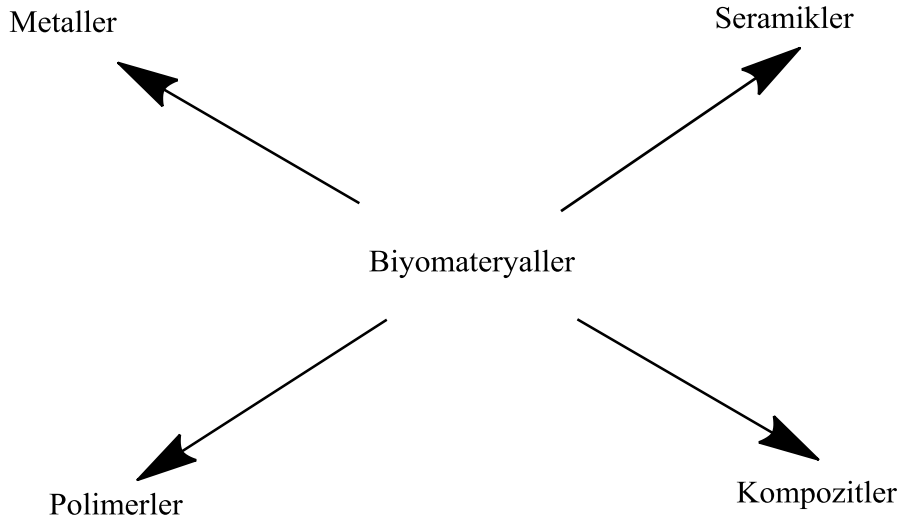
<b>Doku Tarafı</b>		<b>İmplant Tarafı</b>
Doku tipi	→	İmplant bileşimi
Doku yaşı	→	İmplantlardaki faz sayısı
Doku sağlığı	→	Faz sınırları
Doku içi kan sürkülasyonu	→	Yüzey morfolojisi
Ara yüzey hareketliliği	→	Yüzey gözenekliliği
Ara yüzey kan sirkülasyonu	→	Kimyasal reaksiyon
Boyutlar arası uygunluk	→	Boyutlar arası uygunluk
Mekanik yükleme	→	Mekanik yükleme

Biyomateryaller temel olarak tıbbi amaçlı kullanılmalarına karşın, biyoteknolojik alanda kullanımı göz ardı edilmemelidir. Biyomateryallerin kullanım alanları hücre teknolojisinde hücre ve hücresel ürün üretiminde destek materyali, atık su arıtımında adsorbent, biyosensör, biyoayırma işlemleri, enzim, hücre, doku gibi biyoaktif maddelerin immobilizasyonunda veya biyoçipler olarak sayılabilir. Biyomalzemelerin türleri ve uygulama alanlarından bazıları Tablo 1.2’de gösterilmiştir[7].

**Tablo 1.2:** İmplant olarak kullanılan materyallerden bazıları ve kullanıldığı dokular[7].

UYGULAMA ALANI	MALZEME TÜRÜ
<b>İskelet Sistem</b>	
• Eklemler	→ Titanyum, Titanyum-Alimünyum-
• Kırık kemik uçlarını tespit için kullanılan ince metal levhalar	→ Vanadyum Alaşımları
• Kemik dolgu maddesi	→ Paslanmaz çelik, kobalt-krom alaşımları
• Kemikte oluşan şekil bozukluklarının tedavisinde	→ Poli (metil metakrilat) (PMMA) Hidroksiapatit
• Yapay tendon ve bağlar	→ Poli (etilen teraftalat), teflon
• Diş İmplantları	→ Titanyum, alümina, kalsiyum fosfat
<b>Kalp-damar Sistemi</b>	
• Kan damarı protezleri	→ Poli (etilen teraftalat), teflon, poliüretan
• Kalp kapakçıkları	→ Paslanmaz çelik, karbon
• Kataterler	→ Silikon kauçuk, teflon, poliüretan
<b>Organlar</b>	
• Yapay kalp	→ Poliüretan
<b>Duyu Organları</b>	
• İç kulak kanalında	→ Platin elektrotlar
• Göz içi lensler	→ PMMA, silikon kauçuk, hidrojeller
• Kontak lensler	→ Silikon-akrilat, hidrojeller
• Kornea bandajı	→ Kolajen, hidrojeller

Biyouyumluluğu yüksek olan materyaller Şekil 1.1’de gösterildiği üzere polimerler, seramikler, metaller ve kompozitler olarak sınıflandırılmaktadır.



**Şekil 1.1:** Biyomalzemelerin sınıflandırılması.

## 1.2 Biyouyumluluk

“Biyomateryal” ve “biyouyumluluk” kelimeleri materyallerin biyolojik performanslarını ölçmek için kullanılır. Biyolojik sistemlere uyum sağlayan materyallere biyomateryaller denilmektedir. Biyouyumluluk ise; uygulama aşamasında materyalin vücut sistemine uygun cevap verebilme özelliği olarak tanımlanır. Biyouyumluluk, bir biyomateryalin en önemli özelliğidir. Vücut ile uyuşabilir olma bir biyomateryalin kendisini çevreleyen dokuların normal değişimlerine engel olmayan ve dokuda istenmeyen tepkiler (ödem, pıhtı oluşumu, v.b.) meydana getirmeyen materyallerdir. Bu terim biraz daha genişletilerek, biyomateryalin yapısal ve yüzey uyumluluğu olarak ayrı şekilde tanımlanır. Yüzey uyumluluğu; bir biyomateryalin vücut dokularına fiziksel, kimyasal ve biyolojik olarak uygunluğu, yapısal uyumluluk ise materyalin vücut dokularının mekanik davranışına sağladığı optimum uyumu olarak tanımlanır[6].

Biyoyumluluk, medikal veya eczacılık alanlarında kullanılan materyallerin istenilen karakteristik özelliklerinden bir tanesidir. Biyomateryaller için Avrupa Birliği tarafından biyouyumluluk ile ilgili yapılan tanımlama ise özel bir uygulamada biyomateryalin kullanılma amacına ve yerine göre uygun bir yanıt içermesi durumudur. Örneğin, bir implant için biyouyumluluk, hücrelerin implantın çevresini kabul etmesi ve implant üzerinde çoğalması anlamına gelir. Diğer bir taraftan, bir kateter durumu için bu ters bir durum olabilir. Bir kateter, materyalin uyumluluk sağlaması için hücre gelişimine engel olmasına ihtiyaç duyar. Bir diğer örnek ise, kan ile ilişki içerisinde olan materyaller için uyumluluk; kırmızı kan hücrelerinin koagülasyonunun olmaması demektir. Kan ya da proteinlerle temas halinde olan biyomateryallerin biyouyumluluklarını geliştirmek için özel yüzey özelliklerine sahip olmalıdırlar[7].

### 1.2.1 Metaller

Bazı metaller, biyomedikal uygulamalarda uzun yıllardan beri kemik hasarlarının tedavisi için üretilen implantların yapımında kullanılan bir biyomalzeme grubudur. Doku mühendisliği çalışmalarında altın, tantal, titanyum, gümüş ve

paslanmaz çelik gibi metaller iyi biyouyumluluk özelliği nedeniyle çok fazla kullanılmaktadır. Kemik doku mühendisliği çalışmalarında ise titanyum ve Ti6Al4V, CoCrMo gibi alaşımlar, yüksek mekanik dayanımları, inert yapıları ve toksik olmamaları nedeniyle tercih edilmektedir. Bununla birlikte, metallerin korozyona uğrama riski, metal iyonlarının vücut içerisinde salınma potansiyelleri, manyetik rezonans görüntüleme (MRI) gibi modern görüntüleme yöntemleriyle olan uyumsuzlukları ve üretim yöntemlerindeki sınırlamaları bu malzeme grubunun kullanımını zorlaştırmaktadır[8]. Metallerin kemik dokuda osteointegrasyonu desteklemesinin, malzemelerin pürüzlülüğü ve yüzey enerjisi gibi özelliklerine bağlı olduğu düşünülmektedir. Ayrıca implantın vücutta kullanılacağı bölgedeki kemik dokunun yük taşıyıp, taşınamaması da metal implantların etkinliklerini değiştirebilmektedir. Metal implantların biyoaktivitelerini ve kemik doku ile osteointegrasyonunu desteklemek için, implant yüzeyleri birçok biyo-aktif malzeme ile kaplanmaktadır. Hidroksiapatit plazma sprey kaplaması, ortopedik implantlarda en çok kullanılan yöntemlerdendir. Bir başka yaklaşım ise metal implantlara alkali ve ısı işlem uygulamasıdır. Bu işlemlerden sonra, özellikle titanyum bazlı malzemelerin yapay vücut sıvısı içinde kemik benzeri apatit ile kaplandığı görülmüş ve bundan yola çıkılarak implantlar, vücuda yerleştirilmeden önce alkali muamelesine ve ısı işleme tabi tutulmuştur. Bu şekilde kemik bağlama kapasiteleri artırılan implantlar, dezavantajlarına rağmen, klinikte sıkça kullanılmaktadır[9].

### **1.2.2 Polimerler**

Polimerler, tekrarlanabilir birimlerin oluşturduğu uzun zincirli ve bu zincirleri oluşturan birimlerden büyük farklılık gösteren moleküllerdir. Sentetik ve doğal olmak üzere polimerler iki ana başlık altında toplanabilir. Kaynakları ve elde edilme biçimleri birbirinden oldukça farklı olan bu iki malzeme grubunu birbirinden ayıran en önemli özelliklerden biri biyodegradasyon davranışlarıdır. Doğal polimerler fizyolojik ortamda kısa sürede bozunma gösterirken, sentetik polimerlerin bozunma süreleri çok daha uzundur[9]. Nişasta, selüloz, proteinler, RNA ve DNA (genetik materyal), doğal polimerler grubuna örnek olarak verilebilir. Sentetik polimerlere ise polietilen, polivinilklorür, polidimetilsiloksan, polimetilmetakrilat, polikaprolakton, poliakrilik asit gibi günümüzde yaygın olarak kullanılan polimerler örnek olarak

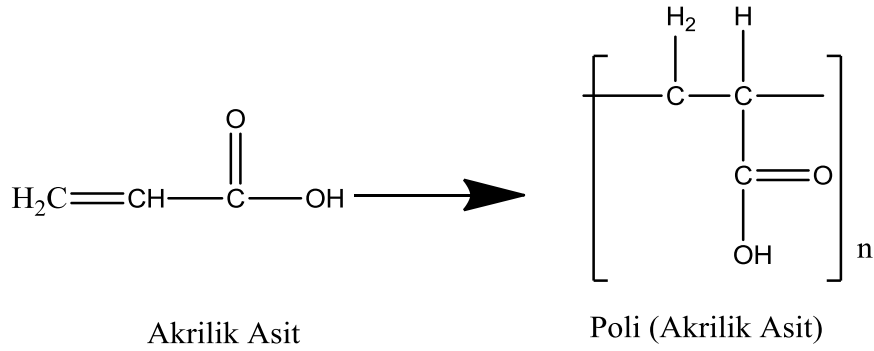
verilebilir. Sentetik biyopolimer temelli nanokompozitlerin doku mühendisliğindeki kullanımı biyouyumlulukları ve ayarlanabilir biyodegradasyon kinetiğinden dolayı son yıllarda artmıştır[7].

Polimerler, birbirinden farklı ortamlarda ve şekillerde (lif, film, jel, boncuk, nanopartikül) hazırlanmaları nedeniyle biyomalzeme olarak geniş bir kullanım alanına sahiptir. Ancak ortopedik alanda mekanik dayanımlarının zayıflığından dolayı bazı uygulamalar için önerilmez. Ayrıca, sıvıları yapısına aldıklarında şişebilir (kozmetik sektöründe) ya da istenmeyen zehirli ürünleri (antioksidanlar gibi) salgılayabilirler. Daha da önemlisi, sterilizasyon işlemleri (otoklavlama, etilen oksit, 60°C radyasyonu) polimer özelliklerini etkileyebilir[3].

#### **1.2.2.1 Poli(Akrilik Asit)**

Poli(akrilik asit) (PAA), akrilik asit moleküllerinin yan yana gelerek oluşturduğu sentetik biyobozunur ve suda çözünen bir polimerdir. PAA, su solüsyonlarındaki pH ve CO<sub>2</sub> fotokimyasal analizi için sensör başlarında, ilaç salınım uygulamalarında, çocuk bezlerinde ve temizleme ajanları olarak farklı uygulamalarda kullanılmaktadır[10]. PAA, suda şişme yeteneği gösterebilen ve çözünmeksizin yapısındaki suyun önemli bir bölümünü tutabilen bir tür hidrojeldir. Hidrojeller, suda şişebilen, çapraz-bağlı polimerik yapılara denir. Bir ya da daha çok sayıda monomerin polimerizasyon reaksiyonu ile hazırlanırlar. Ana zincirler arasında hidrojen bağları veya Van der Waals etkileşimleri gibi bağlanmalar mevcuttur. Bu nedenle çözünmezdirler. Hidrojeller, tıbbi uygulamalar açısından sahip oldukları üstün özellikler nedeniyle son yıllarda ilgi odağı haline gelmiştir. Hidrojeller insan dokularına benzer fiziksel özellikler gösterirler ve mükemmel bir doku uyumluluğuna sahiptirler[11].





**Şekil 1.2:** Akrilik asit ve poli akrilik asitin moleküler yapısı.

Hidrojellerin ilk uygulaması kontakt lensler olarak ortaya çıkmaktadır. Mekanik kararlılıklarının iyi oluşu, yüksek oksijen geçirgenliği ve uygun kırınım indisine sahip oluşları, kontakt lenslerde kullanılmalarının temel nedenidir. Hidrojeller yapay tendon materyalleri, yara-iyileşmesinde biyoyapışkan madde, yapay böbrek zarı, yapay deri, estetik cerrahide de kullanılmaktadır[7].

PAA biyoyumlu bir polimer olduğu için farklı biyomedikal cihazlarda da polielektrolit olarak yaygın bir kullanımına sahiptir. Dahası, PAA'nın yapısında bulunan karboksilik grupların varlığından dolayı proteinler, gelişim faktörleri ve peptidler gibi biyoaktif moleküllerle etkileşerek ve PAA'nın fonksiyonelleşmesi sağlanabilir[12]. Literatür incelendiğinde PAA'nın metallerle etkileşime girmesi ve metali kaplama görevi görerek antikorozyon ve biyoaktif gibi biyoyumlu özellikler göstermesi nedeniyle hem vücut içerisinde hem de biyomedikal cihazlarda kullanıldığı görülmüştür[13].

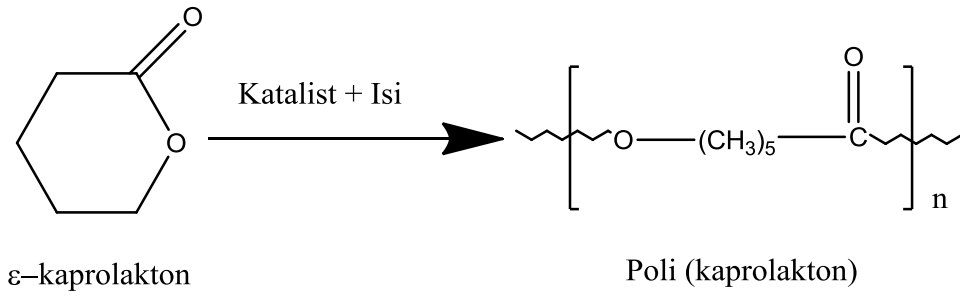
### 1.2.2.2 Poli (Kaprolakton)

Poli(kaprolakton) (PCL), yarı kristal alifatik bir poliesterdir ve basit bir monomerik birim olan “ε - kaprolakton”ların halka açılması polimerizasyonu ile oluşan büyük bir moleküldür. Ayrıca PCL düşük bir camsı geçiş sıcaklığına (Tg: -60 °C) ve uzun süreli bozunma özelliğine sahip bir polimerdir. PCL 1970'lerden beri FDA (Food and Drug Administration) tarafından biyomedikal uygulamalarda kullanılmaya başlanan PCL polimerinden ameliyatlarda kullanılan dikiş ipliği gibi bir çok alanda faydalanılır. Son yıllarda, PCL polimerinin başta doku mühendisliği

olmak üzere medikal alanda kullanımı artmaktadır. PCL'nin ilgi çekici özelliklerinden bazıları;

1. Organik solventlerdeki çözünürlüğünün iyi olması,
2. Düşük sıcaklıklarda işlenme yeteneğine sahip olması ve
3. Toksik olmayan yan ürünlere sahip olmasıdır.

Bunlara ek olarak degradasyon sürecinin oldukça yavaş olması biyomedikal uygulamalar için kullanılmasında en etkileyici özelliktir[14].

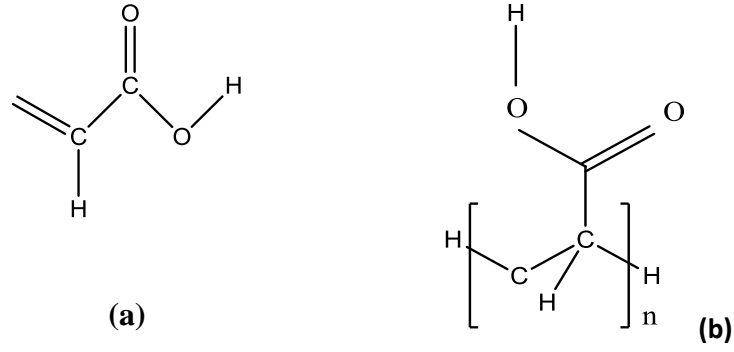


Şekil 1.3: Kaprolakton ve poli kaprolaktonun moleküler yapısı.

Dermal dolgular için ideal uyumluluk gösteren PCL tamamen yumuşak ve küre şeklini almış mikrokürelerden oluşmaktadır. Dermal dolgu alanında kullanılacak PCL, derinin dip bölgelerinde ve subdermal implant olarak kullanılmaktadır[15]. Ayrıca, PCL kemik doku mühendisliğinde yapı iskelesi için aday bir polimerdir[16].

### 1.2.2.3 Poli (Metil Metakrilat)

Poli(metil metakrilat) (PMMA), transparan termoplastik bir sentetik polimer olup, hafif ve kırılmaya karşı dirençli olduğundan sıklıkla cam yerine kullanılan bir polimerdir. PMMA aşırı bir güç gerekmediği sürece polikarbonat için ekonomik bir alternatiftir. Buna ek olarak, PMMA polikarbonatta bulunan potansiyel olarak zararlı bisfenol-A alt birimlerini içermez. PMMA, ucuz, işlenmesi kolay ve kolay kullanımından dolayı sıklıkla tercih edilir.



Şekil 1.4: Metil metakrilat (a) ve poli(metil metakrilat)'ın (b) moleküler yapısı.

PMMA, başlıca metil ester gruplarından oluşmaktadır. Metakrilik polimerler, vasküler greftler, ilaç salınım sistemleri ve intraoküler veya kontakt lensler gibi sayısız medikal uygulamalar için biyomateryal olarak kullanılmaktadır. Ayrıca, canlı dokular ile in vivo etkileşimleri sayesinde güçlü bir kontrol edici özelliği vardır. PMMA kaplama, yapıştırıcı, sensör, biyomateryal ve medikal uygulama alanlarında sayısız bir şekilde çalışılmış yaygın bir polimer türüdür[17].

İlk defa 1950'de biyomedikal alanda polimer implantı olarak kullanılan PMMA bu alanda ilk olma ayrıcalığına sahiptir. PMMA'nın yüzey özelliklerinin biyouyumluluk açısından önemi biyomedikal uygulamalar için çok önemlidir. PMMA, ortopedi, diş ve göz ile ilgili alanlarda farklı formlarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Diş hekimliğinde, kendi kendine kürenen PMMA dolgu maddesi implant olarak kullanılmaktadır. Toz ve sıvı formlarda kullanılan PMMA oda sıcaklığında karıştırılarak hazırlanır. PMMA, Ortopedi uygulama alanlarında, diğer kemik dolgu maddeleri arasında ve cerrahide başarılı olarak kullanılmıştır. PMMA'nın kemik dolgu maddesi olarak kullanılmaya başlaması 1960'lara kadar uzanmaktadır. PMMA'nın kemik doku maddesi olarak kullanılması avantajlı olmasına karşın, PMMA'nın kemik yüzeyine az bağlanma ve monomerlerinin toksik özelliğe sahip olması gibi birkaç engeller nedeni ile yaygın kullanımı kısıtlanmıştır. Son on yılda PMMA eklem yerleştirmelerinde, protez yerleştirmelerinde yaklaşık olarak %90 oranında başarıya ulaşmasına rağmen aseptik gevşeme ve doku nekrozundan dolayı tercih edilmemektedir[17].

### **1.2.3 Biyoseramikler**

Biyoseramikler mikroorganizmalara, sıcaklığa, pH değişimlerine ve yüksek basınçlara olan dirençlilikleri nedeniyle biyomateryallere büyük avantaj sağlamaktadır. Aynı zamanda biyoseramikler, biyouyumlulukları son derece yüksek olan ve korozyona dayanıklı malzemelerdir. Fakat bu avantajlarının yanı sıra, kırılğan, işlenmesi zor, düşük mekanik dayanıma sahip, esnek olmayan ve yüksek yoğunluğa sahip malzemelerdir. Homojen özellik gösteren ve kullanım açısından dezavantajlara sahip olan tüm bu malzeme gruplarına alternatif olarak kompozit malzemeler geliştirilmiştir[6, 9].

Seramikler, dişçilikte dolgu malzemesi, altın-porselen kaplama ve protez parçaları olarak yaygın bir biçimde kullanılır ve “diş seramikleri” olarak isimlendirilirler. Biyoseramikler, diş tedavisi dışında da sert doku implantı olarak kullanılırlar. Seramiklerin doku için kullanılmalarındaki en büyük avantaj herhangi bir zehir etkisine sahip olmamalarıdır[7].

Biyoseramikler, “biyoaktif” ve “biyo inert” olmak üzere iki grupta incelenir.

#### **1.2.3.1 Biyoaktif seramikler**

Biyoaktif seramikler, doku ve implant arasında kimyasal bağ oluşumuna izin veren seramiklerdir. Yapısal işlevlerine göre biyoaktif seramiklerin üç türünden söz edilebilir[7].

##### **1.2.3.1.1 Oksit seramikler**

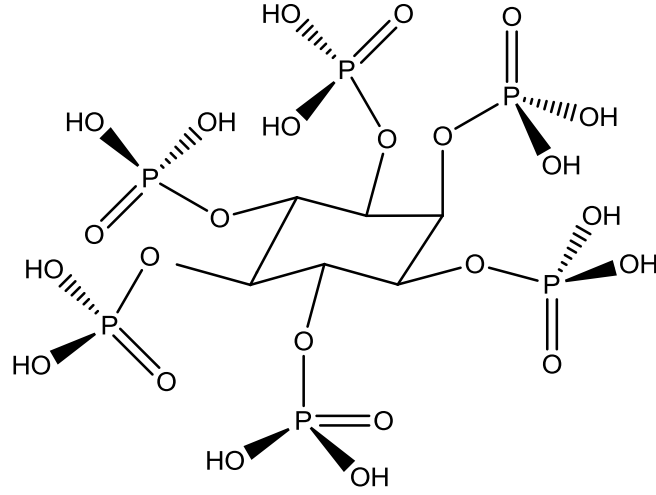
Oksit seramikler, inert yapıda olan ve oksijen iyonlarının oluşturduğu düzlemde metal iyonlarının yayılmasıyla oluşan polikristalin seramiklerdir. Örnek olarak alumina ve zirkonyum verilebilir[7].

### **1.2.3.1.2 Kalsiyum-fosfat seramikler**

Kalsiyum fosfat seramikler, kalsiyum ve fosfat atomlarının çoklu oksitleri şeklindedir. Kalsiyum fosfatlı bileşikler tıpta ve dişçilikte yaklaşık olarak 30 yıldan beri kullanılmaktadır. Hidroksiapatit ( $\text{Ca}_5(\text{PO}_4)_3\text{OH}$ ), Trikalsiyum fosfat ( $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$ ) ve oktakalsiyum fosfat ( $\text{Ca}_8(\text{PO}_4)_6$ ) bu yapılara örnek verilebilir. Kalsiyum fosfat seramikleri, gözenekli yapıda sentezlenebilirler. Gözenekli seramik implantların avantajlarından biri; kemik, seramik malzemenin gözenekleri içerisinde büyüdüğünde, oluşan ara yüzeyin mekanik açıdan yüksek kararlılığa sahip olmasıdır. Bu avantajlarından dolayı, implantlar kemik oluşumu için yapı iskelesi olarak kullanılırlar[7].

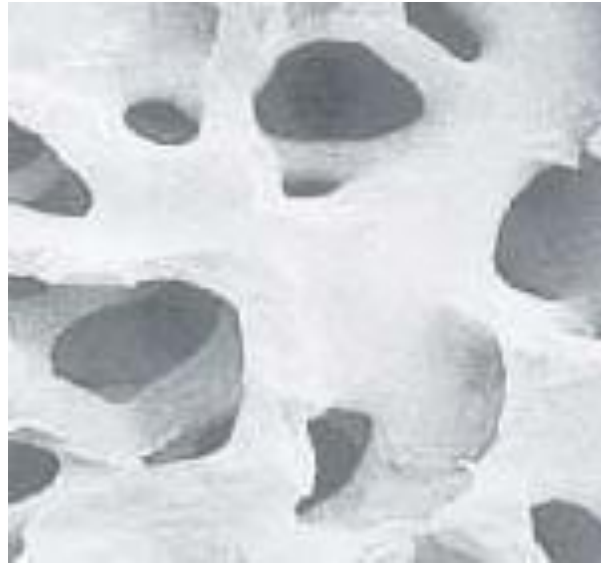
#### **1.2.3.1.2.1 Hidroksiapatit**

Bir seramik olan hidroksiapatit ( $\text{HAP:Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$ ) inorganik bileşiktir ve klinikte çok kullanılmaktadır. Örneğin, kemik, diş ve diş minesinin dokusunun inorganik yapısını oluşturan kalsiyum fosfat esaslı bu biyoseramik, biyouyumluluğu nedeniyle yapay kemik olarakta çeşitli protezlerin yapımında, çatlak ve kırık kemiklerin onarımında ve metalik biyomalzemelerin kaplanmasında kullanılmaktadır. %100 saf olan kristalin hidroksiapatitin diğer kalsiyum fosfatlı bileşiklere oranla en az çözünürlüğe, en fazla kararlı yapıya ve en yüksek dayanıma sahip olduğu belirlenmiştir. Vücut içindeki kalsiyum fosfatlar içerisinde en kararlı olanıdır[18].



Şekil 1.5: Hidroksiapatitin moleküler yapısı.

Kemik yapısının yaklaşık olarak %60'ini oluşturan hidroksiapatit implant uygulamalarda sıkça kullanılmaktadır. Kemik oluşturan hücreler (osteoblast) hidroksiapatit yüzeyi üzerine yapışmakta ve bunu takiben kollojen ve kemik mineralleri direkt olarak yüzeyde büyümektedir. Bu malzemenin dayanımı düşük olduğundan dolayı yük taşıyan implant/protez uygulamalarında metal implantların üzerine kaplama malzemesi olarak kullanılmaktadırlar. Ayrıca fazla dayanım gerektirmeyen kemik dolgu malzemesi uygulamalarında da oldukça yaygın şekilde kullanılmaktadırlar. Hidroksiapatit biyoseramiklerin bir diğer kullanım alanı ise oküler implant uygulamasıdır. Biyouygunluk ve toksik olmama gibi özellikler, hidroksiapatiti oküler implant uygulaması için ideal bir biyomalzeme yapmaktadır [6, 18].



Şekil 1.6: Gözenekli hidroksiapatitin doku iskelesi[7].

En önemli özellikleri arasında mükemmel biyolojik uyumluluğu ile önde gelen HAP'ın, sert dokularla direkt kimyasal bağ kurması ve HAP partiküllerinin ya da gözenekli blokların kemiğe yerleştirilmesi ile yeni doku, 4–8 hafta gibi kısa bir sürede şekillenir. HAP'ın gözenekli yapısı hücrelerin, gözeneklerin içine doğru büyümesinden dolayı dokuların implanta nüfuz etmesini sağlar. Ayrıca HAP'ın yapısındaki gözenekler, bir takım kanallar sistemi gibi davranıp, kemik yapıya kanın ve diğer önemli vücut sıvılarının ulaşmasını sağlar. Yapılan deneylerde HAP implantların, öncelikle fibrovasküler doku ile kaplandığı ve zamanla bu dokudaki olgun lamellerin, kemiğe dönüştüğü tespit edilmiştir[18, 19].

### **1.2.3.1.3 Cam ve Cam-Seramikler**

Cam ve cam-seramikler, silika ( $\text{SiO}_2$ ) temelli seramikler olup doku ile kimyasal bağlanma gösteren biyoaktif bir seramik türüdür. Cam seramikler lityum/alüminyum veya magnezyum/alüminyum kristalleri içeren camlardır. Biyocamda ise silika gruplarının bazıları kalsiyum, fosfor veya sodyum ile yer değiştirmiştir ( $\text{SiO}_2$ ,  $\text{Na}_2\text{O}$ ,  $\text{CaO}$ ,  $\text{P}_2\text{O}_5$ )[7].

## **1.3 Kompozitler**

“Kompozit”, farklı kimyasal yapıdaki iki ya da daha fazla sayıda malzemenin, sınırlarını ve özelliklerini koruyarak oluşturduğu çok fazlı malzeme grubu olarak tanımlanabilir. Dolayısıyla kompozit malzeme, kendisini oluşturan bileşenlerden birinin tek başına sahip olamadığı özelliklere sahip olur[2,6]. Kompozit malzeme, “matriks” olarak adlandırılan bir materyal içerisine farklı takviye edici (dolgu malzemesi) malzemelerin katılmasıyla hazırlanır. Matriks olarak çeşitli polimerler, dolgu malzemesi olarak ise çoğunlukla cam, karbon ya da polimer lifler, bazen de mika ve çeşitli toz seramikler kullanılır. Kompozitler, yüksek dayanıma ve düşük elastik modülüne sahip olduklarından, özellikle ortopedik uygulamalar için önemli materyallerdir. Ayrıca, kompozit malzemenin bileşimi değiştirilerek, implantın vücuttaki kullanım alanlarına göre mekanik ve fizyolojik şartlara uyum sağlaması kolaylaştırılabilir. Açıkça görülüyor ki, kompozit malzemeler, homojen

malzemelere oranla, yapısal uyumluluğun sağlanması açısından daha avantajlıdır[7].

Genel olarak kompozitler;

1. Matriks (reçine) veya bağlayıcı kısım,
2. Takviye edici (inorganik) dolgu yapı,
3. Katkılar gibi bileşenleri ihtiva eder.

Matriks yapısı kompozit bileşenleri bir arada tutan bir yapıştırıcı görevi görür. Ayrıca son ürünün fiziksel özelliklerini de etkiler. Takviye edici (dolgu) malzeme ise kompozit yapıya mekanik dayanıklılık vermek amacıyla kullanılır. Katkı maddeleri ise son ürüne istenilen özellikleri verebilmek ya da performans özelliklerini arttırabilmek amacıyla kullanılırlar[2].

### **1.3.1 Nanokompozitler**

Nanoteknolojinin amacı, moleküler boyutta çalışarak, moleküler yapısı yenilenmiş büyük yapılar ve yeni özellikler kazanmış biyomalzemeler elde etmektir. Biyomalzemelerin nanometrik boyuttaki özellikleri, aynı malzemenin makro boyuttaki özelliklerine göre değişiklik göstermektedir. Nanokompozitler, bir matriks içerisinde nanometre büyüklüğünde parçacıkların dağılması ile oluşan malzemelerdir[20, 21].

Boyutları 100 nm'den daha küçük dediğimiz nanomalzemeler doğal dokunun özelliklerini (örneğin topografi, enerji) taklit edebilmektedirler. Bu sebepten dolayı geleneksel doku mühendisliği materyallerinin iyileştirilmesi açısından nanomalzemeler büyük umut vaatmektedirler. Nanomalzemeler konvansiyonel materyallere kıyasla (mikron boyutlu yapılar) mekanik, elektriksel, optik, manyetik, katalitik açıdan daha üstün özelliklere sahip olmakla birlikte hücresel biyouyumlulukları da daha yüksektir[22]. Bu özellikler, yüksek elastiklik modülü, yüksek mukavemet, ısı kararlılık, düşük gaz geçirgenliği ve biyobozunur polimerlerin kullanılması ile artan biyobozunurluk özellikleridir. Bunların yanında, yukarıda bahsedildiği gibi bu malzemelerin çok iyi elektriksel özellikleri de iletken



takviye elemanlarının kullanılmasıyla sağlanabilmektedir. Günümüzde, polimer nanokompozitler üzerine yapılan çalışmalar daha üstün özelliklere sahip yeni malzemeler hazırlamak ve daha kısa sürede, yüksek verimle nanokompozitler elde etmek üzere iki temele ayrılabilir. Yapılan araştırmalar neticesinde, polimerik nanokompozitlerin, istenen ve elde edilebilen üstün mekanik, ısı ve elektrik özellikleri nedeni birçok alanda uygulama imkânı bulunduğu gözlenmiştir. Benzer şekilde, polimerik nanokompozitler konusu ülkemizde özellikle iki binli yıllardan sonra TÜBİTAK ve bazı üniversitelerimiz tarafından da desteklenen birçok proje ile oldukça önemli bir akademik çalışma alanı haline gelmiştir[23].

### **1.3.1.1 Polimer/Seramik Nanokompozitleri**

Polimer nanokompozitler, saf polimerlerle karşılaştırıldığında önemli derecede geliştirilmiş mekanik, termal, optik ve fizikokimyasal özellikler sergilemektedirler. İlk olarak Toyota Araştırma Geliştirme Grubunun, poliamid-6 ve montmorillonit kullanarak oluşturduğu polimer nanokompozit malzemenin mekanik ve bariyer özelliklerinde çok önemli gelişmeler sağlanmıştır[23]. Bu gelişmeleri takiben, gıda ambalaj malzemesi ve biyomedikal gibi alanlarda biyouyumlu nanokompozitlerin hazırlanması yoğun bir ilgi görmüştür. Biyo nanokompozitler mekaniksel, termal ve gaz bariyeri özelliklerini geliştiren nano yapıli materyallerdir. Biyo nanokompozitlerin gıda ambalajlamada kullanılması sadece gıdayı koruyup raf ömrünü uzatmaz; aynı zamanda plastiklerin ambalaj materyali olarak kullanımını azalttığı için daha çevre dostu bir solüsyon oluşturur[24].

Nano parçacıkların biyobozunur polimerler ile bütünleştirilip güçlendirilmesiyle, tamamen farklı özelliklerde yeni malzemeler geliştirilip ve bu materyallerin olumsuz özellikleri iyileştirilmektedir. Son zamanlarda, ambalajlama uygulamaları için uygun olan, üzerinde en çok çalışılan biyobozunur nanokompozitler nişasta ve türevleri, polilaktik asit(PLA), poli(bütilen süksinat)(PBS), polihidroksibütirat(PHB) ve polikaprolakton(PCL) gibi alifatik polyesterlerdir. Özellikle nişasta, soya yağı ve polilaktik asitten(PLA) geliştirilen biyonanokompozitlerin bariyer ve mekanik özelliklerinin iyileştiği tespit

edilmiştir[24]. Biyomedikal alanlarda kullanılmak üzere, kemik ve diş minesinin inorganik yapısını oluşturan HAP/PAA, sert ve yumuşak dokulara destek amaçlı kullanılmıştır. HAP, dental alanlarda kullanılan bir başka polimer/dolgu kompozitlerine olan ilgi gün geçtikçe artmaktadır[25].

## **1.4 Nanokompozit Sentez Yöntemleri**

Polimer matriksli nanokompozit malzeme üretmek için farklı sentez yöntemleri üzerinde önemli çalışmalar sürdürülmektedir. Bunlar;

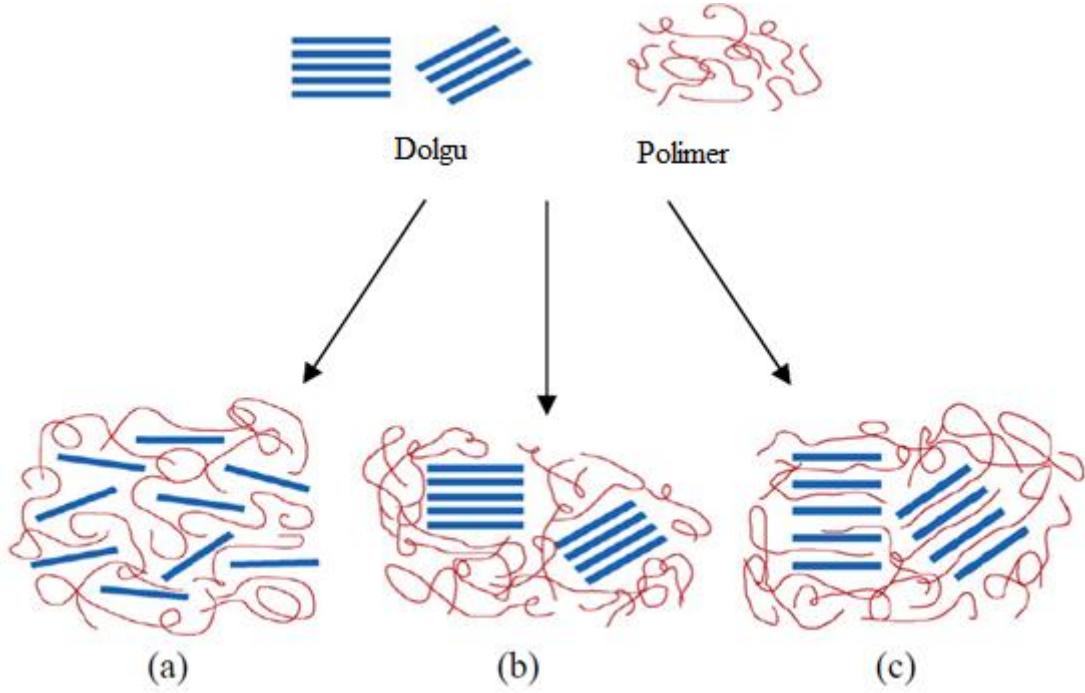
1. Polimerizasyon (In situ polymerisation),
2. Eritme yöntemi (melt intercalation),
3. Çözelti ortamında etkileştirme (solution intercalation) yöntemleridir.

Bu yöntemlerden her biri, amaçlanan nanokompozit özelliklerine ve üretim verimliliğine uygun olarak tercih edilir. Birçok araştırmacı tarafından genellikle eriyik harmanlama, ekstrüzyon ve basınçlı kalıplama yöntemlerinin birleşimi genel olarak tercih edilmektedir. İstenen özellikte polimer matriksli nanokompozit numune elde edebilmenin ön koşulu taneciklerin matriks içerisinde düzenli dağılmış olmalarıdır[23].

### **1.4.1 Polimerizasyon Yöntemi**

Polimerizasyon yönteminde monomer yüzey etken madde molekülleriyle çözünmediği fazda emülsifiye olmakta ve monomerlerin şişirilmesiyle misel yapılar oluşmaktadır. Polimerizasyon reaksiyonu fiziksel ya da kimyasal tetikleyici bir başlangıç maddesi varlığında gerçekleşir. Bu maddenin yarattığı enerji devamlı fazdaki serbest reaktif monomerlerin oluşmasını ve daha sonra bu monomerlerin reaktif olmamış çevredeki monomerlerle birleşmesini ve polimerizasyon zincir reaksiyonunu başlatmasını sağlar. Polimerizasyon, kil minerallerinin tabakaları arasında gerçekleşir ve bunun sonucunda tabakalar arası uzaklık artar ve

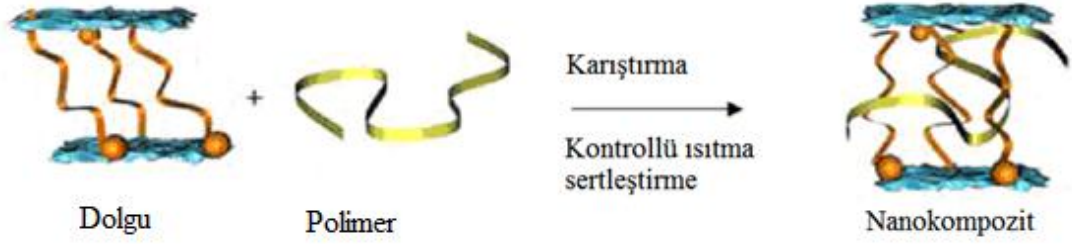
nanokompozit oluşur. Reaksiyon genellikle monomerin tam olarak tüketilmesiyle son bulur[22].



**Şekil 1.7:** Nano tanecikleri ile takviye edilmiş polimerik kompozit yapılar, (a) ayrılmış tabakalı kompozit (exfoliated), (b) tabakalı kompozit (intercalated), (c) geleneksel yapı kompozit[25].

#### 1.4.2 Eritme Yöntemi

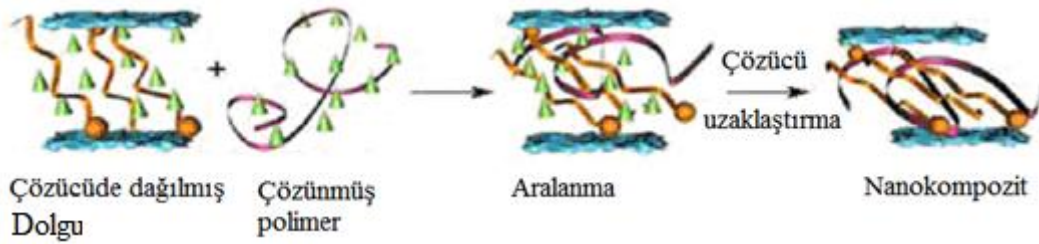
Eritme yönteminde, dolgu maddesi olarak kullanılan materyal doğrudan erimiş polimerle karıştırılır. Bu proses çözücü kullanımını elimine eder ve endüstriyel polimer ekstrüzyon prosesi ile uyumludur. Tabaka yüzeyi seçilen polimer ile yeterli derecede uygun olduğunda, polimer kil tabakalarını aralanmış tabaka yapılı veya dağılmış tabaka yapılı nanokompozit şeklinde ayırır. Karışım, polimerin camsı geçiş sıcaklığı üzerindeki bir sıcaklıkta ısıtılıp soğutulmuş olarak sertleştirilir ve nanokompozit oluşturulur[26].



şekil 1.8: Eritme yöntemine göre nanokompozit sentezi[25].

### 1.4.3 Çözelti Ortamında Etkileştirme

Çözelti ortamında etkileştirme yönteminin temeli çözücü kullanılarak matriksi çözmek ve kullanılan dolgu maddesinin çözelti içerisinde dağılımını sağlamaktır. Kullanılan çözücü ya da çözücü karışımı dolguyu disperse etmek ve polimer matriksini çözmek ile başlar. Dolgu maddesi çözücüde şişirilir. Çözücü ve dolgunun (nanopartiküller) etkileşimlerine bağlı olarak dolgu zayıf Van der Waals kuvvetlerinden dolayı iyi bir çözücüde dağılabilir. Daha sonra uygun bir çözücüde çözünmüş polimer bu süspansiyona ilave edilerek polimer zincirlerinin tabakaları arasında dolgunun dağılması sağlanır. Son olarak ise çözücünün uzaklaştırılması ile nanokompozit oluşturulur[26].



şekil 1.9: Çözelti ortamında etkileştirme yöntemi ile nanokompozit sentezi[25].

## 1.5 Modifikasyon

Araştırmacıların özellikle son yıllarda keşfettikleri, vücudun kendisi gibi nano boyutta bir yapılanmaya sahip olan yüzeylere verdiği cevabın konvansiyonel malzemelere göre çok daha farklı olmasıdır. İmplantın doğal dokuyla bütünleşmesi teknik olarak osseoentegrasyonu sahip olduğu nanoboyutta modifikasyonlar ile

artmaktadır[22]. Modifikasyon işlemleri, farklı yöntemler ile örnek yüzeyinin özelliklerini değişime uğratılması demektir. Örneğin yüzeyinde meydana gelen kimyasal değişiklikler, kimyasal modifikasyon olarak adlandırılır. Örneğin kimyasal modifikasyonunda örneğin yapısına benzerliğinden dolayı organik silan bileşikleri tercih edilir. Silan köprülerinin kurulmasıyla oluşan yapının kendi içlerindeki bağlanmalara benzemesi modifikasyonu kolaylaştırmaktadır[26].

## 1.6 Homouyumluluk

Son yıllarda, doku mühendisliği ve rejeneratif tıpın organ fonksiyonlarının onarımı, korunması ve iyileştirilmesi için biyolojik değişimin geliştirilmesindeki hedefi sağlık bilimleri alanında popüler bir yer kazanmak olmuştur. Doku mühendisliğinin hızlı gelişimi, rejeneratif tıptaki biyomateryal ve hücre biyolojisi alanlarındaki ilerlemeyi ve gelişimine destek olmuştur[27].

Vücut içerisinde kullanılmak üzere hazırlanan materyaller vücut sıvıları ile temas halinde olmaktadır. Bu nedenle, bu materyaller doku sıvıları ile etkileşime girdikleri zaman herhangi bir hasara yol açmamaları, bunun aksine avantaj sağlamaları gerekmektedir. Biyomateryaller, vücuda yardımcı olacak şekilde anti-ümminojenik ve biyo-emilebilir olabilirler ve işleminin sonunda yeni onardığı dokuyu terkedebilirler. Çeşitli materyaller doku iskelesi doku için test edilip geliştirilmiştir. Şu anda, doku iskelesi materyalleri iki grup altında toplanırlar; doğal ve biyobozunur sentetik materyaller olarak ayrılırlar. Bazı araştırmalar, doğal doku iskelelerinin varyasyonlara eğilimli oldukları, hayvan temelli bulaşıcı hastalıkları yaygınlaştırdıkları ve spesifik immune sistemi uyardığı sonuçları vermiştir. Bu durumda son yıllarda biyobozunur sentetik doku iskelesi polimerleri daha çok ilgi alanı haline gelerek geliştirildi. Materyallerin kaynağı, kimyasal bileşimi, mekanik özellikleri ve biyolojik fonksiyonları, özellikle kardiyovasküler doku mühendisliği olmak üzere tüm doku mühendisliği materyallerinin önemli nitelikleridir. Yapay kardiyovasküler doku vücut içeirisine implantı gerçekleştirildiği zaman, doku iskelesi iyi bir homouyumluluk, elastomerik ve dayanıklılığa sahip olan hemodinamik kompleks bir çevre içerisinde olur. Doku iskelesinin kaynağı ne olursa olsun, bu eksojen

materyaller implant edildiği zaman, özellikle kan ile doğrudan etkileşime girdiği zaman, klinik sonuçlar üzerinde potansiyel zararlı etkiler ile bir seri kompleks reaksiyonlar geçirirler. Böylece, doku mühendisliği doku iskelesi ve kan arasındaki uyumu değerlendirmesi gereklidir[27-29].

Biyomateryallerin homouyumluluğu, materyal ve kan arasındaki karşılıklı adaptasyonun derecesini belirtmektedir. Bu özellik, kanın her bileşeni ile biyomateryalin yüzeyi arasındaki etkileşiminden kaynaklanan sonuçlar doğurur. Kompleks reaksiyon mekanizmalarından dolayı, çeşitli etkileyici faktörler ve değişken in vivo çevre içerisinde hiçbir zaman materyallerin kan uyumluluğunu geliştirmek mümkün olmamıştır. İn vitro ve in vivo homouyumluluk deneylerinde biyomateryaller kan koagülasyonu, trombositler, trombozlar, immünoloji ve hematolojik değerişimlere sebep olabilecek etkileri içerebilmektedirler[27].

Biyomateryallerin yüzey kimyasına bakıldığında, yüzey degradasyonu ve fiziksel yapı kan ile yapay yüzeyin reaksiyonu çok önemlidir. Normal şartlar altında, trombositler kan sirkülasyonunda endotel hücelere yapışmaz. Kanın yabancı yüzeylere maruz kalması protein ve hücelerin birikimlerine yol açar ve sıklıkla bu duruma immün ve koagülasyon sistemlerinin aktivasyonu eşlik ederler[27, 28].

## **1.7 Enzimler**

Enzimler çok yüksek katalizleme gücüne sahip ve ribozimler dışında tümü protein yapısındaki biyolojik katalizörlerdir. Bir canlıdaki yıkım ve sentez reaksiyonlarının tümü enzimlerin katalizleme gücü ile kısa sürede gerçekleşmektedir. Bu tanıma göre, enzimler canlılığın oluşumu ve devamı için önemli moleküllerdir. İn vitro ortamda da aktivite göstermeleri enzimlerin önemini bir kat daha arttırmaktadır. Enzim üretimi genlerin kontrolü altında ve her enzimin kendine özgü sıcaklık, pH ve basınç koşulları bulunmaktadır.

Antioksidan enzimler, reaktif oksijen türlerinin zararlı etkilerine karşı geliştirilen antioksidan savunma sisteminin çok önemli bir parçasıdır. Antioksidan enzimler, hücrelere zarar veren reaktif türleri (serbest radikaller) etkin bir şekilde süpürerek düşük toksisiteli veya toksik olmayan ürünlere dönüştürürler. Böylece organizma serbest radikaller ve aktif oksijen türlerinden etkilenmez. Bu reaktif bileşiklerin (reaktif oksijen türleri vb.) varlığı, sağlıklı bir yaşam için antioksidan enzimleri önemli kılmaktadır. Biyolojik yapılarda mevcut olan enzimatik antioksidanlar çeşitli reaktif oksijen türlerinin ( $\cdot\text{OH}$ ,  $\text{O}_2\cdot^-$  ve  $\text{H}_2\text{O}_2$ ) süpürücüleri olarak bilinirler. Ayrıca süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GSH-Px), glutatyon redüktaz (GSSG-Red) ve katalaz (CAT) gibi antioksidan enzimler, çeşitli hastalıkların teşhisi ve tedavisinde de önemli rol oynamaktadırlar[30].

### 1.7.1 Antioksidan Enzimler

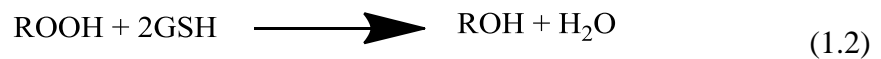
Antioksidan savunma sistemleri; serbest radikal süpürücüleri olarak görev yapan endojen mekanizmalar (kısaca enzimler) ve küçük endojen moleküler bileşikler olmak üzere iki ana grup altında toplanırlar[31]. Serbest oksijen radikalleri oksidatif fosforilasyon sonucu meydana gelirler ve oksidatif hasarlara neden olurlar. Serbest radikaller canlı yaşamı için gerekli ve elektron transferi, enerji üretimi gibi pek çok biyokimyasal olaylarda görev alırlar. Ama zincir reaksiyonu kontrolsüz bir davranış gösterir ise hücrede hasarlara neden olur. Normal koşullar altında serbest radikallerin yıkımı ve üretimi hücre içinde düzenlenmektedir. Serbest radikallerin oluşumunu sağlayan vücut içerisinde ve dışında birçok kaynak bulunmaktadır. Bu kaynaklardan bazıları sırasıyla, radyasyon, virüsler, güneş ışınlarının bir kısmı olan ultraviyole ışınları, hava kirliliğini yaratan fosil kökenli yakıtların yanma sonundaki ürünleri, sigara dumanı, enfeksiyon, stres, yağ metabolizması sonunda çıkan ürünler gibi hücre metabolizmasının toksik ürünleri, bazı tahrip edici kimyasallar, haşere kontrol ilaçları ve benzerleridir[32].

Serbest radikaller, atomik ya da moleküler yapılarda çiftleşmemiş bir veya daha fazla tek elektron taşıyan moleküllere denir. Bir başka deyişle; diğer moleküller ile kolay bir şekilde elektron alışverişini yapan bu moleküllere oksidan moleküller veya reaktif oksijen türleri (ROT) de denilmektedir[32].

Reaktif oksijen türleri olarak bilinen başlıca moleküller  $2O$  (superoksit) radikali,  $H_2O_2$  (hidrojen peroksit) ve  $HO\cdot$  (hidroksil) radikalidir[33]. Meydana gelen bu reaktif oksijen türlerini parçalayan enzimler vücudumuzda oldukça aktiftir. Antioksidanlar, enzimatik ve non-enzimatik olmak üzere iki gruba ayrılırlar. Enzimatik antioksidanlar; süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GSH-Px), glutatyon redüktaz (GR), glutatyon s-transferaz (GST) ve glukoz-6 fosfat dehidrogenaz (G6PD); non-enzimatik antioksidanlar ise vitamin E (tokoferoller), vitamin C (askorbik asit), vitamin A (s- karoten), selenyum, transferin, laktoferin, urik asit, askorbat, albumin, bilirubin ve seruloplazmindir. Antioksidanlar sıklıkla intrasellüler bazen de ekstrasellüler olabilirler[34, 35].

### 1.7.1.1 Glutatyon Peroksidaz (GSH-Px)

Glutatyon peroksidaz (GSH-Px) (EC 1.11.1.19), şeklinde bir enzim ailesi olarak sınıflandırılmıştır. GSH-Px, katalitik bölgesinde bir selenosistein bulunan selenoprotein olarak bilinen bir enzim ailesidir. Tüm canlılarda GSH-Px(1-8), memeli hücrelerinde GSH-Px(1-4) ve sadece insanlarda GSH-Px(6) enzimi bulunmaktadır. Filogeniye göre, GSH-Px enzim ailesi bir sistein içeren atadan köken alan üç evrimsel gruptan oluşur. Glutatyon mekanizması çok önemli antioksidan savunma sistemlerinden biridir. GSH-Px karaciğerde en yüksek; kalp, akciğer ve beyinde orta; kasta ise düşük düzeyde aktivite gösterir. Glutatyon peroksidaz aşırı düzeylerde  $H_2O_2$  varlığında, redükte glutatyonun (GSH) okside glutatyon (GSSG) dönüşümünü katalize eder[36].



GSH-Px'in iki substratı vardır. Substratlardan biri olan peroksit alkole indirgenirken, diğer substrat olan glutatyon (GSH) yükseltgenir. Oluşan yükseltgenmiş glutatyon

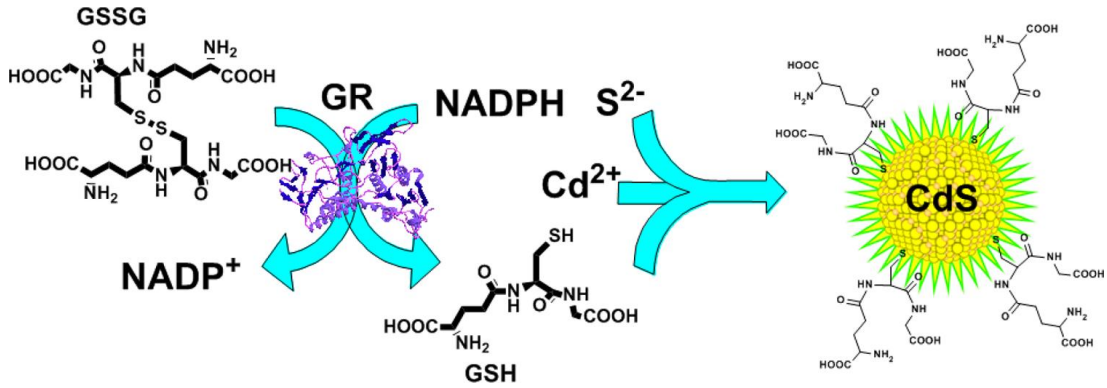


(GSSG), glutatyon redüktaz enziminin katalizlediği bir başka reaksiyon ile tekrar indirgenmiş glutatyon dönüşür[34, 35, 37].



### 1.7.1.2 Glutatyon Redüktaz (GR)

Normal şartlar altında, indirgenmiş formdaki (GSH) glutatyon varlığının çoğunluğu ile hücrelerin oksidatif strese yanıtları olarak hızlı bir şekilde glutatyon disülfide (GSSG) oksitlenebilir. NADPH aracılı GSSG'ın GSH'a indirgenmesi hücre içi GSH/GSSG değişimi %99 oranında glutatyon redüktaz (GR) (E.C. 1.8.1.7) tarafından sağlanır. Çoğu hücrel proselerde GSH'ın önemli rolünden dolayı, GSH seviyeleri ve GSH/GSSG oranı AIDS, Alzheimer hastalığı, alkolik karaciğer hastalığı, kardivasküler hastalık, diyabet ve kanser gibi birçok hastalıkla bağlantılıdır[38].



Şekil 1.10: Glutatyon redüktazın katalizlediği reaksiyonun şematik gösterimi[39].

GR enzimi,  $\text{H}_2\text{O}_2$ 'nin arttığı durumlarda, glutatyon havuzu indirgenme olayında çok önemli bir rol almaktadır.  $\text{H}_2\text{O}_2$ 'i suya indirgemek için de NADPH'ı kullanır. Birçok peroksite detoksifiye edilmesinde indirgeyici güç kaynağı sağlayan NADPH, pentoz fosfat yolundan ve diğer sitoplazmik kaynaklardan elde edilmektedir. Redükte glutatyon molekülü, antioksidan enzimler için elektron ve

hidrojen kaynağı olarak kofaktör görevini tamamladıktan sonra okside glutatyon (GSSG) formuna dönüşür [39].



Glutatyon redüktazın kalıtımı, otozomal dominanttır ve 8. kromozom üzerindedir. Glutatyon peroksidaz ile benzer doku dağılımı gösterir. Glutatyon redüktaz, flavin adenin dinukleotit (FAD) içerir; NADPH'tan bir elektronun GSSG'nin disülfid bağlarına aktarılmasını katalizler. Bu nedenle NADPH serbest radikal hasarına karşı gereklidir ve ana kaynağı pentoz fosfat yoludur[39].

### 1.7.1.3 Glutatyon S-Transferaz (GST)

GST (EC. 2.5.1.18) hücreyi ksenobiyotik maddelere ve oksidatif stresin ürünlerine karşı koruyan enzim ailesinin içerisinde ve substrat spesifikliğine ve primer yapısına bağlı olarak  $\alpha$ ,  $\mu$ ,  $\pi$ ,  $\delta$  ve  $\theta$  olmak üzere en az beş farklı şekilde sınıflandırılmıştır. Memeli sitosolik GSH-Px homo- ya da heterodimerler olarak bulunan ve her bir monomer bir aktif bölgeye sahip ve moleküler ağırlığı yaklaşık olarak 25 kDa'dır[40].



GST'ler genel olarak üç sitozolik ve bir de mikrozomal olmak üzere dört ana gruba ayrılırlar. Organizmaya giren ksenobiyotiklerin biyotransformasyonunda önemli rol oynamaktadırlar. Başta araşidonik asit ve linoleat hidroperoksitleri olmak üzere lipid hidroperoksitlere (ROOH) karşı GST'ler Selenyum bağımsız glutatyon peroksidaz aktivitesi gösterirler[21, 34].

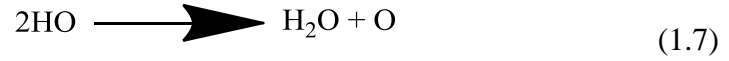
#### 1.7.1.4 Glukoz-6 Fosfat Dehidrogenaz (G6PD)

G6PD monomer olarak bulunan, yaklaşık 515 aminoasitten oluşan, molekül ağırlığı mikrobiyal türlerde 50-60 kDa, memeli türlerinde ise 58-67 kDa arasında değişiklik gösteren bir enzimdir. Enzim genellikle aktif olarak dimerik bir yapı gösterir. Enzimin dimerik ya da tetramerik formunu sıcaklık, enzim, NADP<sup>+</sup>, NADPH konsantrasyonu gibi birçok sebep etkilemektedir. Glukoz-6 fosfat dehidrogenaz (G6PD) (D-glukoz-6 fosfat; NADP<sup>+</sup> oksidoreduktaz, E.C. 1.1.1.49) pentoz fosfat metabolik yolunun ilk ve kontrol enzimidir. Pentoz fosfat yolu oksidatif ve non-oksidatif olmak üzere iki kısma ayrılır. Hücrede RNA, DNA ve nükleotid sentezi için gerekli beş karbonlu şeker olan riboz-5-fosfat ve redüktif biyosentezlerde indirgeyici güç olan NADPH'ları sentezlemek gibi başlıca iki fonksiyonu vardır. Ayrıca, aromatik aminoasit ve vitamin sentezinde gerekli eritroz-4-fosfat, bakteri hücre duvarının bir bileşeni sedoheptuloz-7-fosfat gibi fosforile karbonhidratlar glukoz-6 fosfat dehidrogenaz enzimi tarafından sentezlenmektedir. Eritrositlerde pentoz fosfat yolu, okside glutatyonun indirgenmesi için gerekli NADPH'yı sağlar. Redükte glutatyon (GSH) ve GSH bağımlı enzimler hücreyi iç ve dış kaynaklı toksik bileşiklerden ve reaktif oksijen türlerinden (ROT) korur. Fagositlerde oksijen tüketimi ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> oluşumu fazla olduğundan pentoz fosfat yolunun aktivitesi de yüksektir. Birçok mikroorganizma, bitki ve hayvan hücrelerinde bulunan G6PD aşağıdaki tepkimeyi katalizler[30, 31, 41].



#### 1.7.1.5 Katalaz (CAT)

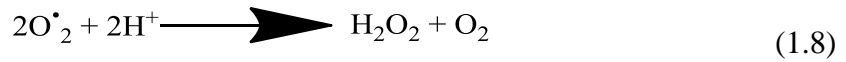
Katalaz (CAT, EC 1.11.1.6), hemen hemen oksijenli solunum yapan tüm canlı organizmalarda bulunan yaygın bir enzimdir. CAT, dört polipeptid zincirinden oluşmuş bir tetramer olup her bir zincirinin uzunluğu 500 amino asitten fazladır. CAT, denklem 1.7'de görüldüğü gibi hidrojen peroksiti, su ve moleküler oksijene parçalar.



Aerobik hücrelerin çoğunda katalaz enzimi bulunur. Hücre alt fraksiyonları düzeyinde katalaz, peroksizomlarda %80 oranında, sitozolde ise yaklaşık %20 oranında bulunur. Molekül ağırlığı 240 000 olup dört alt birimi vardır. Her bir alt birim, aktif merkezine bağlı bir hem grubu içerir. Molekülün alt birimlerine ayrılması enzim aktivitesinin kaybına neden olur. Kono ve Fridovich süperoksit radikallerinin katalazı inhibe ettiğini rapor etmişlerdir.  $\text{H}_2\text{O}_2$ 'nin katalazı inhibe ettiği uzun zamandan beri bilinmektedir. NADPH, katalazın  $\text{H}_2\text{O}_2$  tarafından inaktivasyonunu engeller. İndirgenmiş glutatyon (GSH), katalazı bulunma dozuna bağımlı olarak inhibe eder[30, 31, 42].

#### 1.7.1.6 Süperoksit Dismutaz (SOD)

SOD (EC 1.15.1.1) oksidatif enerji üretimi sırasında oluşan endojen veya eksojen kaynaklı süperoksit radikallerinin ( $\text{O}_2^\bullet$ ), hidrojen peroksit ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ) ve moleküler oksijene ( $\text{O}_2$ ) dismutasyonunu hızlandırmaktadır[31,43].



Çeşitli hastalıklardaki süperoksit dismutaz aktiviteleri, klinik açıdan oldukça ilgi çekmektedir. Memeli dokularda SOD enziminin iki izoenzimi bulunmaktadır. Bir tanesi mitokondriyal matrikste bulunan mangan (Mn-SOD) formulu SOD, bir diğeri sitoplazmada bulunup Cu ve Zn ihtiva etmektedir (Cu, Zn-SOD). Down sendromlu hastalarda veya üremi hastalığı olanlarda, Cu, Zn-SOD'un eritrositlerdeki spesifik aktivitesi artmıştır. Böbrek yetmezliği veya karaciğer hastalığı bulunanlarda ise serumdaki aktivitesi artmıştır[30, 39].

SOD'un fizyolojik fonksiyonu, oksijeni metabolize eden hücreleri süperoksit serbest radikalının ( $\text{O}_2^\bullet$ ) lipid peroksidasyonu gibi zararlı etkilerine karşı korumaktır. SOD, fagosite edilmiş bakterilerin intraselluler öldürülmesinde de rol oynar. SOD

aktivitesi, yüksek oksijen kullanımı olan dokularda fazladır ve doku pO<sub>2</sub> artışıyla artar. SOD'un ekstrasellüler aktivitesi çok düşüktür[35].

## 1.8 Antibakteriyel Aktivite

Mikroorganizmalar besin zinciri döngüsü, ayrıştırma başta olmak üzere insan sağlığı ve ekosistem için önemli canlılardır. Özellikle tarım, gıda, çevre ve biyoteknolojide mikroorganizmalardan yeterince faydalanılmaktadır. Bu gibi faydalarının dışında mikroorganizmalar canlı sistemlerini olumsuz yönde etkileyerek patojen olabilmektedirler. Patojen mikroorganizmaların her yıl milyonlarca insanı etkiledikleri bilinmektedir. Bu etkiler ciddi ölümcül hastalıklara sebep olmaktadır. Mikroorganizmaların insan hayatını etkileyen başka bir kısmı ise fırsatçı patojenlerdir. Bu mikroorganizmaların normal şartlar altında canlılar üzerinde patojenik etkisi bulunmasa da; bağışıklık sisteminin baskılanmış olduğu durumlarda ya da canlı mikrobiyal florasında sayıları arttığı durumlarda patojenik etki göstermektedirler[44].

Patojen mikroorganizmaların neden olduğu enfeksiyonlar, özellikle tıbbi cihazlar, ilaçlar, hastane malzemelerinin yüzeyleri, ameliyat ekipmanları, sağlık bakım ürünleri, hijyenik uygulamalar, su arıtma sistemleri, tekstil, gıdaların paketlenmesi ve saklanması gibi pek çok alanda endişe yaratmaktadır. Bulaşıcı hastalıklar diğer sebeplerle karşılaştırıldığında, dünya çapında çok daha fazla insanın ölümüne sebep olmaktadır. Spesifik antibakteriyel sistemlerin kullanımı, bu enfeksiyonların etkilerinin azaltılmasına, onlarla savaşılmasına ve ortadan kaldırılmasına yardım edecektir. Biyoimplant malzemelerinin bakteriler tarafından enfekte edilme riski bulunmaktadır. Bu enfeksiyonlar biyoimplantın dejenerasyonu veya vücut tarafından reddedilmesi gibi problemlere neden olabilir. Günümüzde bu tür enfeksiyonların tedavisi büyük ölçüde antibiyotik temellidir; ancak uzun zamandan bu yana kullanılan geleneksel antibiyotikler bakteri mutantlarının geliştirdiği dirençle yüzleşmek zorunda kalmıştır. Bu amaçla yeni antibiyotiklerin ve aynı zamanda etkin antibakteriyel implantların geliştirilmesine şiddetle ihtiyaç vardır[45].

## 1.9 Literatür Özeti

Enrico Bertoni ve arkadaşları, hidroksiapatit/poli(akrilik asit) nanokristalleri sentezlemişlerdir. Nanokristallerin, PAA'nın seviyesinden etkilendiğini ve aynı zamanda kristallerin morfolojisinin de değiştiğini gözlemlemişlerdir. Bunlara ek olarak hidroksiapatit kristallerinin boyutunu ve kararlı yapıda olmasını poliakrilik asitin polielektrolitik özelliği sayesinde olduğunu belirlediler[25]. A.S. Khan ve arkadaşları klinik uygulamalarda kullanılması için nanohidroksiapatit (nHAP)/poliüretan (PU) kompozitini hazırladılar. Yapılan analizler sonucunda nHAP ve PU arasında kimyasal bir bağlanma olduğunu tespit ettiler. Biyouyumluluk testlerinde ise uygulandığı dental yüzeydeki hücrelerin çoğaldığını gözlemlediler, hatta PU'nun hidrofilik özelliğinden dolayı normalden daha iyi gelişme gösterdiğini tespit ettiler. Ayrıca diş yüzeyinde koloniler oluşturan *Streptococcus sanguinis* nHAP/PU'nun yüzeyinde kolonize olmadığını belirlediler[46]. Ziyuan Cheng ve Swee-Hin Teoh, akrilik asit monomerlerini kullanarak PCL yüzeyini modifiye etmişlerdir. Modifiye PCL ile dolgu maddesi olarak kullanılan kollojenden ince filmler sentezlediler. Yapılan karakterizasyon analizlerinde PCL ile kollojen arasında bir etkileşim olduğunu ve filmlerin morfolojilerinin değiştiğini gözlemlediler. Yapılan biyouyumluluk testinde dermal fibroblast hücrelerinin çoğaldığını tespit ettiler[47]. Jen-Ming Yang ve arkadaşları poli(akrilik asit) ile modifiye edilmiş poliüretan membranlarını gazdan arındırmaksızın UV radyasyonu ile sentezlediler. Yapılan analizler sonucunda saf PU ile PAA/PU filmleri karşılaştırıldığında, bozunma ve camsı geçiş sıcaklıklarının farklılık gösterdiği sonucuna vardılar. IR spektrumlarını karşılaştırıldığında PAA/PU kompozitinde farklı bir pik tespit ettiler. Sentezlenen kompozitlerin biyouyumlu olup olmadıklarını test etmek için sitotoksik etki ve bir hücre adezyonu ve gelişimi testi yaptılar. Her iki test için lenfosit hücrelerinden faydalandılar. Sonuç olarak ise kompozitlerin çok az miktarda bir toksik etki gösterdiğini ve hücre gelişimine destek olduğunu gözlemlediler[11]. Beşkardeş I. G. yaptığı tez çalışmasında; %10 ve %20 w/v polimer bileşimine sahip PCL-bazlı doku iskeleleri sentezlemeyi hedefledi. PCL konsantrasyonunun doku iskelelerinin gözeneklilik, şişme, hidrofilitate, biyobozunurluk ve mekanik dayanım gibi özelliklerine olan etkisi uygun yöntemler kullanarak belirledi. Karakterizasyon çalışmalarının sonuçları değerlendirildiğinde, çalışmanın sonraki aşamalarında %20'lik doku iskelesinin kullanılmasına karar kılındı[9]. Huanan Wang ve

arkadaşları, nanohidroksiapatit/poliamid (nHAP/PA) kompozit iskeleleri hazırladılar. Bu iskelelerin makroyapısı ve morfolojilerinin yanı sıra mekaniksel güçleri de karakterize edildi. Yeni doğan tavşanların kemik iliği hücrelerinden alınan mezenşimal kök hücreleri (MSCs) kültüre edilip ve nHAP/PA iskeleleri üzerine yayılarak ekimini gerçekleştirdiler. MSCs/iskele gelişimi yedi güne kadar kültüre edilmiş ve osteoblastik fenotip içerisindeki MSCs'lerin adezyonu, çoğalma ve farklılaşmaları MTT analizi (hücre canlılığını belirleyen kalorimetrik analiz), alkalik fosfataz aktivitesi ve kollajen tip I immünohistokimyasal boyama ve SEM kullanılarak tayin edildi. Yapılan çalışmanın sonucunda nHAP/PA kompozitleri biyoyumlu olduğu belirlenmiş ve *in vitro* ortamda MSCs üzerinde herhangi bir negatif etki göstermediğini buldular. Hem MSC/iskele hem de saf nHAP/PA kompozitlerinin biyoyumluluk ve osteogenesis için *in vivo* çalışmasında tavşan alt çenesine implant yapılarak ve histolojik ve mikroradyografik olarak çalıştılar. Sonuç olarak ise nHAP/PA kompozit iskeleleri doğal kemik ile daha iyi bir biyoyumluluk gösterdiği tespit ettiler[48]. Lee ve arkadaşları, poli (kaprolakton) mebranının biyoaktivitesini iyileştirmek için nanoyapılı biyoaktif camları kullanarak nanokompozitler sentezlediler ve 1. nanokompozitlerin saf poli(kaprolakton)'dan daha iyi aktivite gösterdiğini, 2. biyoaktif camın, osteogenik role sahip olduğunu ve 3. sentezlenen nanokompozitin sert doku tedavisinde bir implant malzeme olarak kullanılabileceğini belirlediler[49]. Yunlu Dai ve arkadaşları, pH'a duyarlı  $\text{CaF}_2:\text{Ce}^{3+}/\text{Tb}^{3+}$ -poli(akrilik asit) temelli kompozit mikroküreler sentezlediler. Sentezlenen mikroküreler ile anti-kanserojen olarak kullanılan doxorubicin hydrochloride etken maddesinin hedef bölgeye taşınımını yaptığı fotoluminesans metodu ile belirlediler. Yapılan çalışma sonucunda kanserli hücrenin ölümü gözlenerek kompozit mikrokürelerinin tamamen biyoyumlu oldukları tespit edilmiştir[50]. Ji Sun Park ve arkadaşları, insan mezenşimal kök hücrelere genleri izleme ve taşıma için sıcaklığa karşı hassas olan poli(N-isopropilakrilamid-ko-akrilik asit) nanojeller sentezlediler. Demir oksit ve bir floresan boya taşıyan nanojeller spesifik genler ile kompleksler oluşturdular. Sentezlenen nanojeller hMSCs tarafından özümsemesi ve farelere bu hücrelerin nakli *in vivo* görüntüleme ile izlendi. Yeşil floresan proteini ile kompleks oluşturan nanojeller hMSCs hücrelerinde yüksek oranda ifade edildi ve gen teslimi için potansiyel bir material olduğu belirlendi[51]. Yu ve arkadaşları, kemik dokunun tedavisi için hidroksiapatitle güçlendirilmiş poli(kaprolakton) nanolifli ağlar sentezlediler ve bu malzemelerin zarar görmüş dokuların tedavisinde biyoyumlu

olarak kullanılabileceğini belirlediler[52]. Guarino ve arkadaşları, kemik doku nakli için poli(kaprolakton) yapı iskeletinin performansı üzerine katı bir dolgu maddesi olarak hidroksiapatitin rolünü araştırdılar ve 1. poli (kaprolakton) içerisine hidroksiapatitin ilavesinin mekaniksel özellikleri iyileştirdiğini ve 2. sentezlenen kompozitin, kemik nakli tedavileri için potansiyel bir aday olduğunu belirlediler [53]. Yang ve arkadaşları, lifsi ve gözenekli yapılu kemik benzeri bir kalsiyum fosfat ile PCL'nin üzerini kaplayarak kompozit bir malzeme sentezlediler ve bu malzemenin geçirgenliğinin arttığını, doğal kemiğe benzer bir yapı sergilediğini ve kemik doku mühendisliği için hücre taşıyıcı özelliklere sahip olduğunu buldular[54]. Gain ve arkadaşları, gözenekli zirkonyumoksit seramiğini, ticari ZrO<sub>2</sub> ve poli(metilmetakrilat)'ın farklı hacim yüzdelerini kullanarak ürettiler ve PMMA içeriğinin artması ile gözeneklerin sayısının, malzeme özelliklerinin ve gözenek morfolojisinin değiştiğini buldular. 1550 °C'de sinterleştirilmiş PMMA içeriği %60 olan örneğin relatif yoğunluğunun, elastik modülünün, bükülme geriliminin ve sertliğinin sırasıyla %43, 40 GPa, 170 MPa ve 248 Hv olduğunu ölçtüler[55].

### **1.10 Çalışmanın Amacı**

Görevi iç organları darbelere karşı korumak, ayakta kalmayı sağlayarak vücuda şeklini vermek olan iskelette, meydana gelen hasarlar vücudun işlevlerini kötü yönde etkilemektedir. Vücudun kendisini onarım gücü yetersiz kaldığında implant malzeme olarak isimlendirilen ve sert veya yumuşak dokuların yerine geçen malzemelerin kullanılması gündeme gelir. Bu amaçla vücudun hasarlı, hastalıklı ve kullanılamaz durumdaki kısımları için özellikle tasarlanmış biyomalzemelere ihtiyaç duyulmaktadır. Metaller ve seramiklerin “elastik modül” ile tanımlanan sertlik dereceleri, insan vücudundaki sert dokulara oranla 10-20 kat daha fazladır. Ortopedik cerrahide karşılaşılan en önemli problemlerden biri, kemikle metal ya da seramik implantın sertlik derecesinin birbirini tutmamasıdır. Kemik ve implanta binen yükün paylaşılması doğrudan bu malzemelerin sertliğiyle ilgilidir. İmplantın sertlik derecesinin, temasta olduğu dokularla aynı olacak şekilde ayarlanması, kemikte oluşacak deformasyonları engeller. Kemik, hidroksiapatit içerisinden kalojen fiberlerin geçtiği doğal bir kompozit malzemedir. Birbirlerinin zayıf yönünü



düzelterek üstün özellikler elde etmek amacıyla bir araya getirilmiş değişik tür malzemelerden veya fazlardan oluşan malzeme sistemine kompozit malzeme denir.

Son yıllarda toplumsal etkisi açısından nanoteknoloji, en büyük etki faktörüne sahip alanlardan biri olarak karşımıza çıkmaktadır. Özellikle nano cihazların ve nanomalzemelerin, biyolojik sistemlerle atomik ve moleküler seviyede çok özel denebilecek biçimde etkileşim hâlinde olması büyük avantajlar sunmaktadır. Nanoteknolojik parçacıklar, moleküler seviyede istenildiği gibi manipüle edilerek biyolojik sistemlerle arzu edilen biçim ve koşullarda uyumluluk oluşturabilme avantajına sahiptir. Bu avantajların kullanılabilmesi açısından, en cazip alanlardan biri de biyoyumlu nanokompozitlerin sentezidir. Kemik dokusunun ağırlıkça %60'ini oluşturan inorganik kalsiyum fosfat esaslı hidroksiapatit, tıp ve dişçilikte kullanılan bir biyoseramik malzeme olup, biyoyumluluğu nedeniyle yapay kemik olarak çeşitli protezlerin yapımında, çatlak ve kırık kemiklerin onarımında ve metalik biyomalzemelerin kaplanmasında kullanılmaktadır. İmplant olarak kullanılmaya elverişli malzemeler, fizyolojik ve mekanik yüklere karşı koyarken herhangi bir hasar veya toksik reaksiyon oluşturmamalıdır. Biyomalzemeler çok çeşitli yapılarda üretilerek, insan vücudunda birçok fonksiyonu üstün kalitede yerine getirme amacıyla geliştirilmektedir. Doğal veya metal, seramik, polimer veya kompozit esaslı olabilen bu malzemeler ortalama otuz yıllık bir geçmişe sahiptir. Seramik esaslı biyomalzemeler biyolojik olarak aktif olduklarından en yaygın olarak tercih edilen malzemelerdir. Hidroksiapatit, kemik ve dişlerin mineral fazını oluşturan biyoyumluluğu ispatlanmış ve osteoindüktif temel inorganik malzemedir. Hidroksiapatit, kemik dokusuyla kuvvetli bağ oluşturan osteokondüktif materyaller olduklarından dolayı, segmenter kemik kayıplarının iyileşmesinde kullanılabilme potansiyeline sahiptirler. Bununla birlikte, sertliği, kırılabilirliği ve zayıf mekaniksel özelliklerinden dolayı implant malzemelerinde tek başına kullanımı oldukça sınırlıdır. Biyolojik olarak vücutla uyumlu biyopolimerler kullanılarak hazırlanan nanokompozitler yardımıyla hidroksiapatitin mekanik özellikleri geliştirilebilir. Hidroksiapatit/polimer nanokompozitleri, nanokompozitteki hidroksiapatit içeriğinden dolayı oldukça iyi biyoaktivite gösterirler ve kemik değişimleri için gerekli gereksinimleri karşılayabilirler. Hidroksiapatit/polimer nanokompozitlerinin fiziksel ve mekaniksel özellikleri sadece polimerin yapısı ve hidroksiapatit

taneciklerinin tane boyutu ve hacim fraksiyonu ile değil aynı zamanda hidroksiapatit tanecikleri ve polimer matriksi arasındaki etkileşimlerle de etkilenir. Bu nedenle gerektiğinde dolgu maddeleri ve polimerler arasındaki etkileşimi arttırmak için dolgu maddesi yüzeyi organo silan bileşikleri ile modifiye edilebilir.

Çalışmanın amacı, kemiğe bağlanma kapasitesi yüksek olan biyoaktif ancak düşük mekanik özelliklere sahip olan hidroksiapatitin, biyouyumlu polimerlerle mekanik özelliklerini iyileştirerek kan ile uyumlu nanokompozit implantlarını sentezlemek, karakterize etmek ve elde edilen biyanokompozitlerin homouyumluluk ve antioksidan stres enzimleri ile etkileşimlerini ve Antibakteriyel aktivitelerini incelemektir. Çalışma sonucunda vücut içerisinde implant malzeme olarak kullanabilecek mekanik ve biyouyumluluk özellikleri iyileştirilmiş ucuz maliyetli biyanokompozit ürünlerin elde edileceği; potansiyel sert ve yumuşak doku implant malzemelerin hazırlanması ve karakterizasyonuna ait bilgi birikimine katkı sağlayacağı; ve sentezlenen biyanokompozitlerin kan ve antioksidan enzimler ile biyouyumluluğu konusunda önemli bilgilerin elde edileceği beklenmektedir. Ayrıca literatür özetinden de görüldüğü gibi genelde implant malzemelerin hazırlanmasında nanotaneciklerin oldukça sınırlı bir şekilde kullanıldığı görülmektedir. Bu çalışma ile hücreleri oluşturan proteinlerin boyutlarına inilerek kemik ve kan ile daha iyi uyum sergileyeceği ümit edilen mekaniksel özellikleri iyileştirilmiş biyanokompozitler sentezlenerek bilim ve sağlık endüstrisinin kullanımına sunulacaktır.

## 2. MATERYAL VE METOT

### 2.1 Materyal

Poli (akrilik asit) ((C<sub>3</sub>H<sub>4</sub>O<sub>2</sub>)<sub>n</sub> molekül ağırlığı: 3.000.000 g/mol), poli (metil metakrilat) ([CH<sub>2</sub>C(CH<sub>3</sub>)(CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)]<sub>n</sub>, molekül ağırlığı: 350.000 g/mol), poli (kaprolakton) triol [(C<sub>6</sub>H<sub>10</sub>O<sub>2</sub>)], molekül ağırlığı: 300.000 g/mol) polimerleri biyo nanokompozit sentezi için matriks olarak kullanıldı (Sigma-Aldrich). Biyo nanokompozit sentezinde dolgu maddesi olarak kullanılan nano boyuttaki hidroksiapatit kristalleri sentetik olup Sigma-Aldrich'den temin edilmiştir. Biyonanokompozitlerin sentezi için tercih edilen çözücü uzaklaştırma metodunda kullanılan kloroform ve nanohidroksiapatit modifikasyon deneylerinde kullanılan [3-(2-aminoetilamino)propil]-trimetoksisilan (3apt), N<sup>1</sup>-[3-(trimetoksisililpropil)]-dietiltriamin (n3tmpeda), 3-(kloropropil)trimetoksisilan (3cptms), toluen ve dietil eter Sigma-Aldrich'ten alınmıştır. Enzim aktiviteleri ve homouyumluluk deneyleri Perkin Elmer Lambda 25 UV-Visible spektrofotometre kullanılarak belirlenmiştir. Biyomalzeme sentezinde ise ultrasonik banyo, manyetik karıştırıcı ve çalkalamalı inkübator kullanılmıştır. Enzim aktivitelerini belirlemek için kullanılan hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>), ksantin, ksantin oksidaz, tris bazı, etilendiamin tetraasetikasit (EDTA), 2-[4-iyodofenil]-3-[4-nitrofenil]-5-feniltetrazolyum klorür (INT), Okside glutasyon (GSSG), redükte glutasyon (GSH), nikotinamidenindinukleotidfosfat (NADPH), nikotinamidenindinukleotidfosfat (NADP<sup>+</sup>), glukoz-6 fosfat, magnezyum klorür (MgCl<sub>2</sub>), glutasyon redüktaz Sigma-Aldrich ve Antibakteriyel aktivite analizi için kullanılacak *S. aureus* ATCC-6538 ve *E. coli* ATCC-8739 stok kültür bakterileri ise Microbiologics'ten satın alınmıştır.

## 2.2 Metot

### 2.2.1 Nanohidroksiapatit/Organo Bileşik Modifikasyon İşlemleri

Aleskes N. Vasiliev (2008)'in bulduğu yöntem baz alınarak yapılan modifikasyon işleminde; 1 gr nano boyuttaki hidroksiapatit tartılarak 100 mL toluen içerisinde homojen olarak dağılması için karıştırıldı. Kısa bir süre karıştırıldıktan sonra karışımın üzerine 10 mmol'lık 10 mL organik bileşik ilave edilerek reaksiyon karışımı 6 saat boyunca reflüks düzeneğinde tutuldu. Reflüks işleminden sonra karışım 1.25 µm boyutundaki filtre kağıdından süzülde. Süzme işlemi ile nHAp'a bağlanmayan modifiyerin tamamen uzaklaşması için, sırasıyla toluen ve dietil eter ile yıkandı. Yıkama işlemi sonunda modifiye nHAp kurutma işlemi için bir gece 24 °C vakumlu etüvde bekletildi [56].

### 2.2.2 Biyanokompozitlerin Sentezlenmesi

Bu çalışmada, iki farklı sentez yöntemi tercih edilmiştir. Erime sıcaklığı 200 °C'nin üzerinde olan polimerlerde (PMMA) eritme yöntemi daha düşük erime noktasına sahip olan polimerlerde (PAA ve PCL) ise çözücü ortamında etkileştirme yöntemi kullanılarak nanokompozit sentezi yapıldı.

#### 2.2.2.1 Çözücü Ortamında Etkileştirme ile Biyanokompozit Sentezi

Bu yöntem ile nanokompozit sentezlemenin temeli uygun bir çözücü seçimine dayanmaktadır. Seçilen çözücü ile polimer çözülür, aynı çözücü ile dolgu maddesi (nHAp) (%1, %2.5 ve %5) disperse edilir. Farklı erlenlerde meydana getirilen polimer solüsyonu ve nHAp solüsyonu çalkalayıcı inkübatörde belli bir süre karıştırılır. Sadece nHAp solüsyonu belli aralıklarda ultrasonik banyoda tutulur ve tekrar çalkalayıcı inkübatöre alınır. Polimerin çözülmesi ve nHAp'ın dispersiyonu tamamlandıktan sonra polimer solüsyonu nHAp solüsyonu içerisine dökülür ve en az 24 saat boyunca çalkalayıcı inkübatörde bekletilir. Daha sonra solüsyon uygun bir petri kabına boşaltılır ve çözücü uzaklaşana kadar vakumlu etüvde bekletilir. Çözücü

uzaklaştıktan sonra film şeklinde nanokompozitler elde edilir. PAA/nHAp biyo nanokompozitleri için çözücü olarak saf su, PCL/nHAp biyo nanokompozitleri için ise kloroform kullanıldı[57].

### **2.2.2.2 Eritme Yöntemi İle Biyo Nanokompozit Sentezi**

Extruder cihazı kullanılarak, film şeklinde kompozit ya da polimer sentezlenebilen bir sentez yöntemidir. Yapılan bu tez çalışmasında matriks olarak polimer kullanıldığı için extruder sıcaklığı polimerlere göre ayarlandı. Extruder sıcaklığı, kullanılan polimerin camsı geçiş sıcaklığı ( $T_g$ ) ile erime noktası arasında bir sıcaklığa ayarlanarak film şeklinde sentez işlemleri yapılır. Bu sentez yöntemi ile PMMA/nHAp biyo nanokompozitleri sentezlendi. Kullanılan dolgu maddesinin oranına göre extruder sıcaklığı 200-220 °C olarak belirlendi. Numune yüklemesi yapıldıktan sonra yaklaşık olarak 10 dakika boyunca 100 rpm'de dolgu maddesinin dağılımı için bekletildi. İşlem tamamlandıktan sonra istenilen incelikte filmler elde edildi[58].

### **2.2.3 nHAp ve Modifiye nHAp'ların BET Analizleri**

Örneklerin yüzey alanları, NOVA 2200e (Quantachrome Instruments) BET yüzey alanı tayin cihazı kullanılarak ölçülmüştür. Ölçüm öncesinde numuneler yaklaşık 200 °C'de 24 saat degaz edilmiştir. Absorblayıcı gaz olarak saf N<sub>2</sub> gazı kullanılmıştır.

### **2.2.4 Nanokompozitlerin Karakterizasyonu**

Farklı yöntemlerle film şeklinde sentezlenen biyouyumlu nanokompozitlerin karakterizasyonu XRD, FTIR-ATR, TG/DTA, DSC, SEM, UV-Visible spektrofotometre ve Temas Açısı Ölçüm cihazı ile yapıldı. Ayrıca BET cihazı ile modifiye edilen nHAp kristallerinin ölçümleri alınarak modifiyer etkisi ile yapısında herhangi bir değişiklik olup olmadığı araştırıldı.

#### **2.2.4.1 XRD Analizleri**

XRD, bir kristalin atomik ya da moleküler yapısının belirlenmesi için kullanılır. Kompozitlerin XRD analizleri, polimer kompozitlerin yapısının belirlenmesinde rol oynar. XRD deseninin bazal yansımasının yoğunluğu, şekli veya pozisyonundan yola çıkarak kompozit yapıları belirlenir[59]. Örneklerin analizi, oda sıcaklığında Analytical Philips X'Pert-Pro X-ray difraktometre cihazı ile yapılmıştır. Monokromatör olarak dalga boyu  $\lambda=1.54$  nm olan bakır katot kullanılmıştır.

#### **2.2.4.2 FTIR-ATR Analizleri**

FTIR-ATR, kimyasal yapıları karakterize etmek için tercih edilen bir yoldur. Özellikle kompozitlerin konformasyonunun ve kristalizasyonunun araştırılmasında kullanılır[59]. Örneklerin FTIR-ATR spektrumları Perkin Elmer Spektrum 100 model Fourier transform infrared spektroskopisi kullanılarak 650-4000 dalgaboyları arasında alınmıştır.

#### **2.2.4.3 TG/DTA Analizleri**

PAA, PMMA ve PCL polimerlerinin ve bu polimerler kullanılarak sentezlenmiş biyouyumlu nanokompozitlerin ısıl bozunmaları ve kütle kayıpları 25-600 °C aralığında, nHAp ve modifiye nHAp örneklerinin ısıl bozunmaları ve kütle kayıpları ise 25-1200°C aralığında Perkin Elmer Diamod TG/DTA termal analiz cihazı ile N<sub>2(g)</sub> atmosferinde incelenmiştir. Tarama hızı 10 °C/dk olarak belirlenmiştir.

#### **2.2.4.4 DSC Analizleri**

PAA ve PMMA polimerlerinin ve bu iki polimerden sentezlenmiş biyouyumlu nanokompozitlerin camısı geçiş sıcaklıklarının belirlenmesi için

PerkinElmer Diamond DSC 4000 cihazı kullanılarak yapılan analizler, 10 °C'lik sıcaklık artışları ile azot atmosferinde gerçekleştirilmiştir.

#### **2.2.4.5 Optik Temas Açısı Analizleri**

Sentezlenen PAA, PMMA, PCL saf polimer filmleri, nHAp ve bunların biyonanokompozit filmlerinin temas açısı ölçümleri Attension Theta Lite cihazı kullanılarak oda sıcaklığında gerçekleştirilmiştir. Ölçümlerde kullanılan sıvı saf su olarak tercih edilmiştir. Damla oluşturma işleminde mikro şırınga kullanılmış ve durağan damla hacmi yaklaşık 10 µL olarak belirlenmiştir. ile yapılmıştır. Temas açısı ölçümleri  $\pm 1^\circ$  hassasiyetle, saniyede 45-60 kayıt yapılarak tek bir damla için belirli zaman aralıklarında gerçekleştirilmiştir.

#### **2.2.4.6 SEM Analizleri**

SEM, bir elektron ışınının ultra ince bir örneğin içinden geçirildiği ve örnekle etkileşime girdiği bir mikroskop tekniğidir. Sentezlenmiş biyonanokompozit örneklerinin morfolojik özellikleri taramalı elektron mikroskobu (SEM) (JEOL JSM-7100F) ile belirlendi. Analiz öncesinde, biyonanokompozitlerden yaklaşık 0.02 g tartılıp, çift yönlü karbon bir band üzerinde, Quorum kaplama cihazında önce  $8 \times 10^{-1}$  mbar/Pa vakum uygulanıp, 10 mA voltaj uygulanarak altın kaplama işlemi gerçekleştirildi.

#### **2.2.4.7 UV-Visible Analizleri**

Optik transmittans analizleri PAA, PCL, PMMA ve bu üç polimer temelli biyonanokompozitler için 200 – 700 nm dalga boyu aralığında, Perkin Elmer Lamda 35 UV-Visible spektrofotometre kullanılarak yapılmıştır.

### 2.2.5 Homouyumluluk Testi

Polimer ve biyomalzemelerin biyoyuymuluk ve homouyumluluk testleri UV-Visible spektrofotometre (Perkin Elmer Lamda 35) kullanılarak belirlenmiştir. Kan ile yapılan bu araştırmada temel amaç; kandaki hücrelerin polimer ve biyonanokompozitler ile etkileşime girdiklerinde hemoliz olup olmadığını gözlemlemektir. İnsandan alınan kan (2 mL), koagulasyonu önlemek için sitratlı tüpler içerisine alınmıştır. Antikoagüle edilmiş kan 1/5 oranında tuz çözeltisi (9 mM NaCl) ile seyreltilmiştir. Pozitif kontrol için seyreltilmiş kanın 0.2 mL'si, 0.01 M HCl'nin 0.5 mL'sine ilave edilmiş ve 10 mL'ye seyreltilerek 37 °C'de 1 saat inkübasyona tabi tutulmuştur. Benzer olarak negatif kontrol için seyreltilmiş kanın 0.2 mL'si, normal tuz çözeltisinin eklenmesi ile 10 mL'ye seyreltilmiş ve 37 °C'de 1 saat inkübe edilmiştir. Santrifüj tüpündeki seyreltilmiş kanın 0.2 mL'sinden ve tuzlu çözeltinin 9.8 mL'sinden meydana gelen karışım, denge sıcaklığına ulaşmak için 30 dakika 37 °C'de inkübe edilmiştir. Uçları keskin olmayan ve 5x5 mm (0,0022g) boyutlarına sahip örnekler kan-tuz karışımını içeren santrifüj tüplerine alınmış ve 37 °C'de 1 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra tüm örnek çözeltiler 6000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiş ve süpernatant sıvısı dikkatli bir şekilde giderildikten sonra spektrofotometrik analiz için küvete konulmuştur. İnkübe edilmiş örnek çözeltilerin optik yoğunlukları 545 nm'de UV-Visible spektrofotometre (Perkin Elmer Lamda 35) kullanılarak ölçülmüştür[27, 34, 60, 61].

$$\% \text{Hemoliz} = \frac{[OD_{\text{test}} - OD_{\text{negatif}}]}{[OD_{\text{pozitif}} - OD_{\text{negatif}}]} \times 100$$

Burada  $OD_{\text{test}}$ , örnek çözeltinin optik yoğunluğu;  $OD_{\text{pozitif}}$ , pozitif kontrolün optik yoğunluğu;  $OD_{\text{negatif}}$ , negatif kontrolün optik yoğunluğudur. Hemoliz yüzdesi %10'dan daha az ise sentezlenen nanokompozit biyoyuymulu; % 5'den az ise oldukça homouyumlu olduğu kabul edilecektir [27, 34, 60, 61].



## **2.2.6 Antioksidan Enzim Aktivite Ölçümleri İçin Hemolizat Hazırlanması**

Gönüllü insanlardan temin edilen kan örnekleri steril sitratlü tüplere alınmıştır. Kan örnekleri santrifüj tüplerine transfer edildikten sonra, ilk olarak +4 °C’de 15 dakika boyunca 2500 rpm’de santrifüj edilmiştir. Üst kısımda kalan plazma kısmı dikkatli bir şekilde atıldıktan sonra, kalan kısım 0.16 M’lık KCl ile +4 °C’de 5 dakika 2500 rpm’de santrifüj edilmiştir. Bu işlem 3 kez tekrarlandıktan sonra saf su ile 1/5 oranında seyreltilerek +4 °C’de 10000 rpm’de 30 dakika boyunca santrifüj edilerek eritrositlerin parçalanması sağlanmıştır[41]. Elde edilen örnek iki kısma ayrılmıştır. İlk kısım enzim aktivitelerinde kontrol amaçlı kullanılmıştır. İkinci kısım içerisine yaklaşık 5x5 mm (yaklaşık 0.0022g) ebatlarında kesilmiş biyonomimplant ve polimer örnekleri ilave edilmiş ve 1 saat boyunca bekletilmiştir. Daha sonra 30 dakika 10000 rpm’de bu karışım nanokompoziti çöktürmek için santrifüj edildikten sonra enzim aktivitesi tayini yapılarak kontrol deneyleri ile karşılaştırılmıştır.

## **2.2.7 Antioksidan Enzim Aktivitelerinin Ölçümleri**

İnsandan elde edilen kan örnekleri ile uygun koşullarda hemoliz edilmiştir. Hemoliz olayı ile hücrelerde serbest olarak bulunan enzimlerin aktivite ölçümleri yapılmıştır. Aktivite ölçümü için Perkin Elmer Lamda-35 Uv-Visible spektrofotometresi kullanılmıştır.

### **2.2.7.1 Glutatyon Peroksidaz (GSH-Px)**

GSH-Px, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>’yi veya organik peroksitlerin redüksiyonunu sırasıyla su ya da ilgili alkollere katalizleyen bir enzimdir. Enzim redüktant olarak glutatyon (GSH) kullanılmaktadır. Katalitik kısımda selenosisteinin varlığı sayesinde GSH tarafından hızlı bir indirgenme reaksiyonu gerçekleşmekte ve H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>’nin parçalanması da hızlanmıştır [36]. Bu yöntemde oksidasyon reaksiyonu sonucunda oluşan GSSG glutatyon redüktaz (GR) enzimi ile tekrar GSH’ye indirgenmesi tepkimesinde NADP’ye oksitlenen NADPH’nin 37 °C’de 340 nm dalga boyundaki absorbans değeri farkının zamana karşı okunması prensibine dayanır. Bir küvet (3 mL)

içerisine sağlıklı bir reaksiyon için konsantrasyonları düzenlenmiş sırasıyla; distile su (1980 µm), tris-edta (300 µm), glutatyon redüktaz (300 µm), NADPH (300 µm), GSH (60 µm) konulduktan sonra 37 °C’de 10 dakika bekletilmiştir. Daha sonra, t-bütül hidroperoksit (30 µm) ve enzim GSH-Px kaynağı (30 µm) ilave edildikten sonra aktivite ölçümü yapılmıştır[34].

### **2.2.7.2 Glutatyon Redüktaz (GR)**

GR, peroksitler ve radikallerin detoksifikasyonu esnasında GSSG’den GSH üretiminin yenilenmesinden sorumludur. Böylece birçok hastalığa sebebiyet veren oksidatif strese karşı savunmaya dahil olurlar. Hücre içerisinde GSH/GSSG’nin büyük bir oranının değişiminde çok kritik bir rol oynar. Hücrelerde, yüksek oranda GSH bulunur. Çoklu glütoredoksinler, NADPH ve GR varlığında GSH’ın gücünü disülfid indirgenme katalizi ile azaltılarak katkı sağlar[62]. GR enziminin aktivite ölçümü için kullanılan kuvartz küvetin (3 mL) içine sırasıyla; distile su (2370 µm), tris-edta (150 µm), NADPH (150 µm), GSSG (300 µm) ve hemolizat (30 µm) eklenerek 37 °C’de 340 nm dalgaboyunda spektrofotometrede analiz edilmiştir.

### **2.2.7.3 Glutatyon-S Transferaz (GST)**

GST ailesi, ökaryotik ve prokaryotik türlerin çoğunlukla sitosolik, mitokondriyal ve mikrozomal proteinlerinde bulunur. GST, glutatyonun –SH grubu ile 1-kloro-2,4-dinitrobenzen (CDNB) arasındaki tepkimeyi katalizler. Enzim aktivitesi 37 °C’de 340 nm dalgaboyunda GSH ve CDNB kullanılarak dakikada oluşan S-2,4-dinitrofenilglutatyonun 1 mikromolünü katalizleyen enzim miktarının ölçülmesiyle belirlenir. Glutatyon s-transferaz aktivitesi, kuvartz küvet (3 mL) içerisine fosfat tamponu (0.05M pH 7.0) (2650 µm), CDNB (60 µm), GSH (150 µm) ve hemolizat (150 µm) eklenerek analizi yapıldı[63].

#### **2.2.7.4 Glukoz-6 Fosfat Dehidrogenaz (G6PD)**

G6PD kırmızı kan hücrelerinde (Eritrosit) NADPH. G6PD enziminin aktivite ölçümü, spektrofotometre ile 340 nm dalga boyunda reaksiyon sonunda oluşan NADPH'in absorpsiyon artışı sonucu ölçülmüştür. Aktivite ölçümü için bir kuvartz küvete sırasıyla; distile su (1650 µL), tris-edta (300 µL), mgCl<sub>2</sub> (300 µL) ve NADP<sup>+</sup> (300 µL) konulmuş ve sonra 10 dakika boyunca 37 °C'de inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyondan sonra G6P (300 µL) ilave edilmiş ve hemen ardından hemolizat (150 µL) eklenerek 340 nm'de 2 dakika süreyle absorbans ölçümleri kaydedilmiştir [64].

#### **2.2.7.5 Katalaz (CAT)**

Biyokimyasal reaksiyonlar sonucu bir ürün olarak oluşan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> katalaz enzimi tarafından su ve moleküler oksijene katalizlenir. H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin ışığı absorbe etmesinden yararlanılarak 240 nm'de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'nin azalışı ile enzimin yıkım hızı spektrofotometrik olarak analiz edilir. Kuvartz küvet (3 mL) içerisine fosfat tamponu (0.05M pH 7.0) (2400 µm), H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (500 µm) ve hemolizat (100 µm) eklenerek ölçümler yapılmıştır [30, 37].

#### **2.2.7.6 Süper Oksit Dismutaz (SOD)**

SOD, oksidatif enerji üretimi esnasında oluşan toksik süperoksit radikallerinin, hidrojen peroksit (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) ve moleküler oksijene (O<sub>2</sub>) dismutasyonunu katalizleyen antioksidan enzimdir. Analizde, ksantin ve ksantin oksidaz kullanılarak 2-[4-iyodofenil]-3-[4-nitrofenil]-5-feniltetrazolyum klorür (INT) ile tepkimeye giren ve kırmızı renkli formazon boyası oluşturan süperoksit radikalleri üretilmektedir. Süperoksit dismutaz enzimi, kuvartz küvet (3 mL) içerisine fosfat tamponu (0.05M pH 7.0) (1525 µm), ksantin oksidaz (250 µm), ksantin (500 µm), INT (600 µm) ve hemolizat (125 µm) ilave edildi. Aktiviteler 505 nm dalga boyunda spektrofotometre ile ölçülmüştür[34, 65].

### 2.2.8 Antibakteriyel Aktivite

Antibakteriyel aktivite yayma plate metodu kullanılarak yapılmıştır. Antibakteriyel aktivite analizleri bir gram negatif bakterisi olan *Escherichia coli* ve bir gram pozitif bakterisi olan *Staphylococcus aureus* uygulanarak yapılmıştır. *E. coli* ATTC-8739 ve *S. aureus* ATCC-6538 stok kültürleri triptik soy agar besiyerine ekimleri yapılarak üremeleri sağlanmıştır. Ekim için hazırlanan bakteriler  $10^{-4}$  CFU şeklinde hazırlanmıştır. Bakteri kolonileri aerobik ortamda 37 °C'de 24 saat inkubasyona tabi tutulduktan sonra hesaplanmıştır. Saf polimerlerin ve bazı nanokompozitlerin Antibakteriyel etkileri katı triptik soy agar besiyerinde her bakteri türüne ait kolonilerin bloklanması sonucu belirlenmiştir[66].

### 2.2.9 İstatiksel Analiz

Çalışmada elde edilen sonuçların istatiksel yönden değerlendirilmesi yapılmıştır. Microsoft Office Excell programının Anova eklentisi kullanılarak CAT, GST, GSH-Px, G6PD, GR ve SOD enzim aktivitelerinin kontrol ve deney grupları arasında değişiklik gösterip göstermediği varyans analiz gerçekleştirilmiştir. Elde edilen sonuçlar 0.05 anlam seviyesi göz önünde bulundurularak değerlendirilmiştir.

### **3. BULGULAR**

Bu bölümde nHAp ve bazı organik bileşikler ile modifiye edilen modifiye nHAp örneklerinin yapılarında meydana gelen değişimleri ve bu örnekleri ile hazırlanan poli(akrilik asit), poli(metilmetakrilat) ve poli(kaprolakton) biyoinplantlarının karakterizasyonları ve biyolojik uyumları ile ilgili deneysel veriler verilmektedir.

#### **3.1 nHAp'ın Modifikasyonu**

3apt, 3cptms ve n3tmpeda bileşikleri ile modifiye edilen nHAp örneklerinin karakterizasyonu; yüzey alanının belirlenmesinde BET, modifiyer ve nHAp arasındaki etkileşimin analizinde XRD, FTIR-ATR, termal kararlılığın incelenmesinde TG/DTA ve yüzey morfolojisinin tespitinde SEM cihazları kullanılmıştır. Gerçekleştirilen analizlerde aşağıdaki veriler elde edilmiştir.

##### **3.1.1 Dolgu Malzemelerinin BET Analiz Sonuçları**

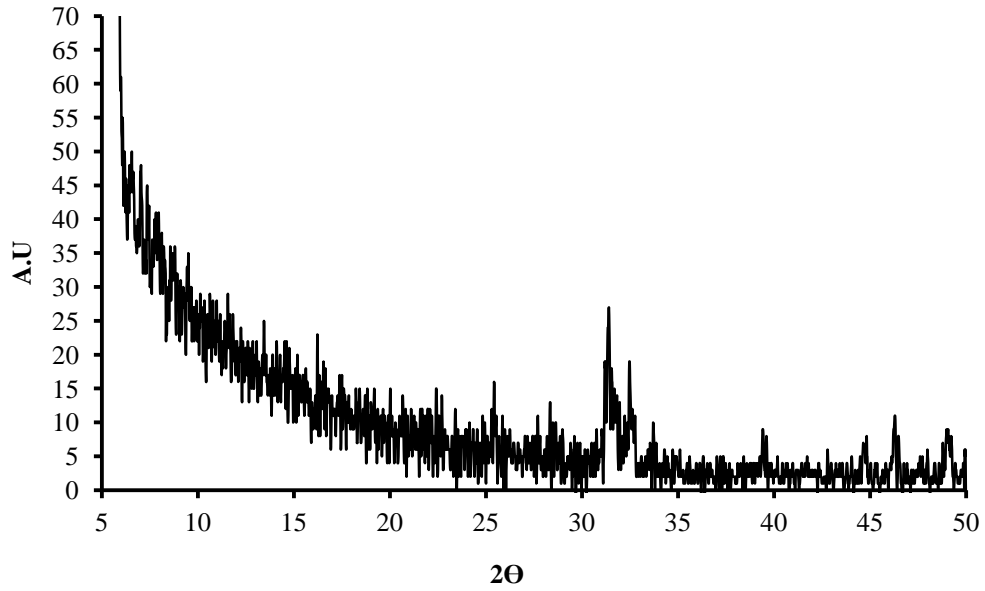
Biyouyumlu bir seramik olan nanohidroksiapatit ve polimer arasındaki etkileşimleri arttırmak için nanohidroksiapatit tanecikleri 3apt, n3tmpeda ve 3cptms organosilan bileşikleri ile modifiye edilmiştir. Organosilan bileşiklerinin yapısındaki silisyum, hidroksiapatitin yapısındaki oksijenler ile bağ yapıp yapıya bağlanmalarından dolayı hidroksiapatitin yüzey alanını genişletmektedir. Modifikasyon işlemleri sonrasında BET yüzey alan tayin cihazında ölçülen modifiye örneklerin yüzey alan analizleri Tablo 3.1'de verilmiştir.

**Tablo 3.1:** nHAp ve modifiye nHAp örneklerinin Bet analiz verileri.

<b>Örnek</b>	<b>Yüzey Alanı (m<sup>2</sup>/g)</b>
nHAP	19.597
nHAP-3apt	43.376
nHAP-3cptms	54.463
nHAP- n3tmpeda	44.330

### 3.1.2 Dolgu Malzemelerinin XRD Analiz Sonuçları

Satın alınan nanohidroksiapatite ait XRD deseni Şekil 3.1’de gösterilmiştir. Bu desene ait XRD verileri ise Tablo 3.2’de verilmektedir. nHAp ve modifiye nHAp’ların XRD analizleri,  $2\theta = 5 - 50^\circ$  aralığında yapılmıştır. Şekil 3.1 ve Tablo 3.2’de görüldüğü gibi nHAp’ın karakteristik pikleri  $2\theta = 25.5998^\circ$ ,  $31.5860^\circ$  ve  $32.5412^\circ$ ’dir.

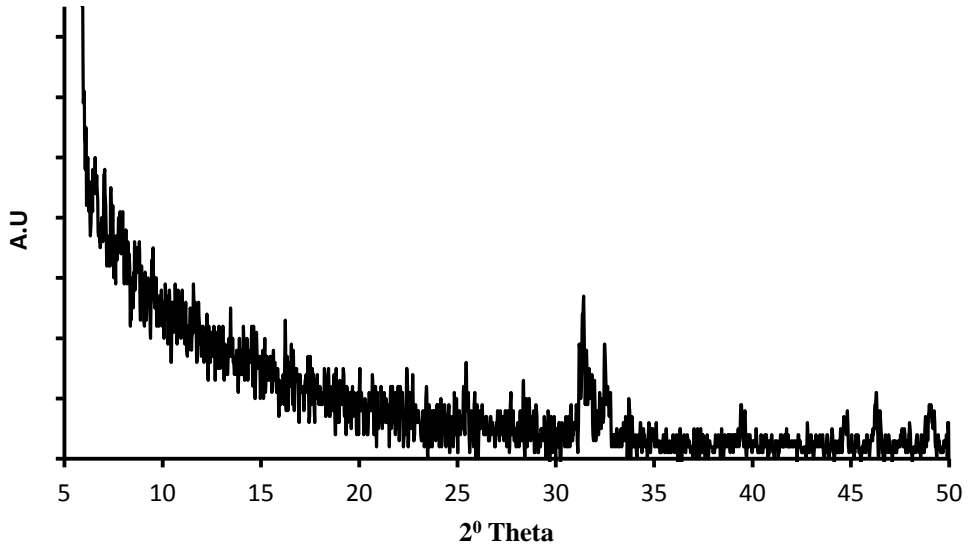


Şekil 3.1: nHAp’ın XRD deseni.

**Tablo 3.2:** nHAp'ın XRD deseninden elde edilen veriler.

Poz. [ $^{\circ}$ 2Th.]	d-uzaklığı[ $\text{\AA}$ ]	Rel. Int. [%]
5.4106	16.32022	100.00
25.5998	3.47691	2.60
30.9111	2.89053	2.81
31.5860	2.83029	4.68
32.5412	2.74936	7.78
39.4239	2.28378	1.40
46.3691	1.95659	3.46

3apt bileşiği ile modifiye edilen nHAp'a ait XRD deseni ve bu desenden elde edilen veriler sırasıyla şekil 3.2 ve Tablo 3.3'de verilmektedir. nHAp-3apt örneğinin desenine ait XRD pikleri  $2\theta = 25.8636^{\circ}$ ,  $31.6335^{\circ}$  ve  $34.1223^{\circ}$  şeklinde sıralanmıştır. nHAp-3apt saf nHAp ile karşılaştırıldığında nHAp'ın  $32.5412^{\circ}$ 'deki pikinin nHAp-3apt'de  $34.1223^{\circ}$  kaydığı gözlenmiştir.

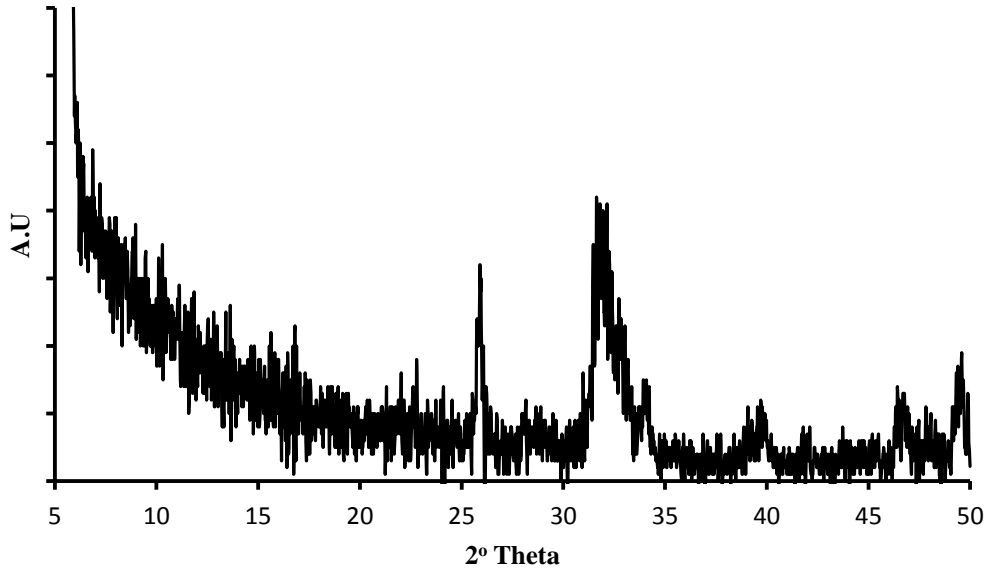


Şekil 3.2 nHAp-3apt'nin XRD deseni.

**Tablo 3.3** nHAp-3apt'nin XRD deseninden elde edilen veriler.

Poz. [ $^{\circ}$ Th.]	d-uzaklığı[ $\text{\AA}$ ]	Rel. Int. [%]
5.5604	15.88094	100.00
25.8636	3.44204	12.99
31.6335	2.82615	13.24
34.1223	2.62549	4.17
39.7515	2.26571	2.93
46.7223	1.94262	3.35

3cptms bileşiği ile modifiye edilen nHAp'a ait XRD deseni şekil 3.3'te verilmiştir. Şekil 3.3'teki XRD desenine ait veriler ise Tablo 3.4'te gösterilmiştir. nHAp-3cptms'ye ait bu veriler incelendiğinde;  $2\theta = 26.0041^{\circ}$ ,  $31.7575^{\circ}$  ve  $34.0663^{\circ}$ 'daki pikler elde edilmiştir.



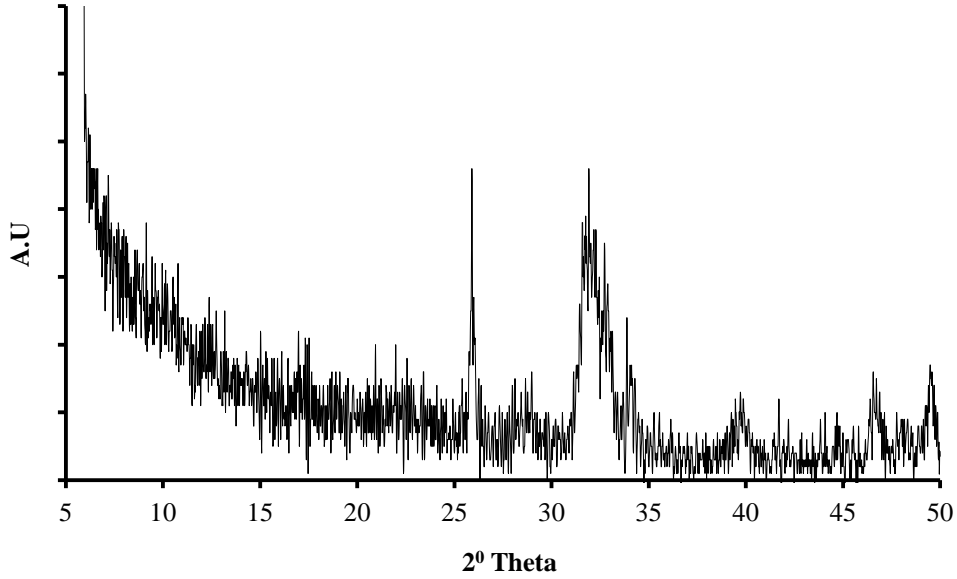
**Şekil 3.3** nHAp-3cptms'nin XRD deseni.



**Tablo 3.4** nHAp-3cptms'nin XRD deseninden elde edilen veriler.

Poz. [ $^{\circ}$ 2Th.]	d-uzaklığı[ $\text{\AA}$ ]	Rel. Int. [%]
5.5571	15.89042	100.00
26.0041	3.42377	5.07
31.7551	2.81560	14.07
34.0663	2.62968	4.07
46.6217	1.94658	2.97

n3tmpeda bileşiği ile modifiye edilen nHAp'ın XRD deseni Şekil 3.4'te ve bu desene ait veriler Tablo 3.5'te verilmiştir. Şekil 3.4 ve Tablo 3.5 incelendiğinde karakteristik pikler diğer örneklerle oranla daha belirgindir.



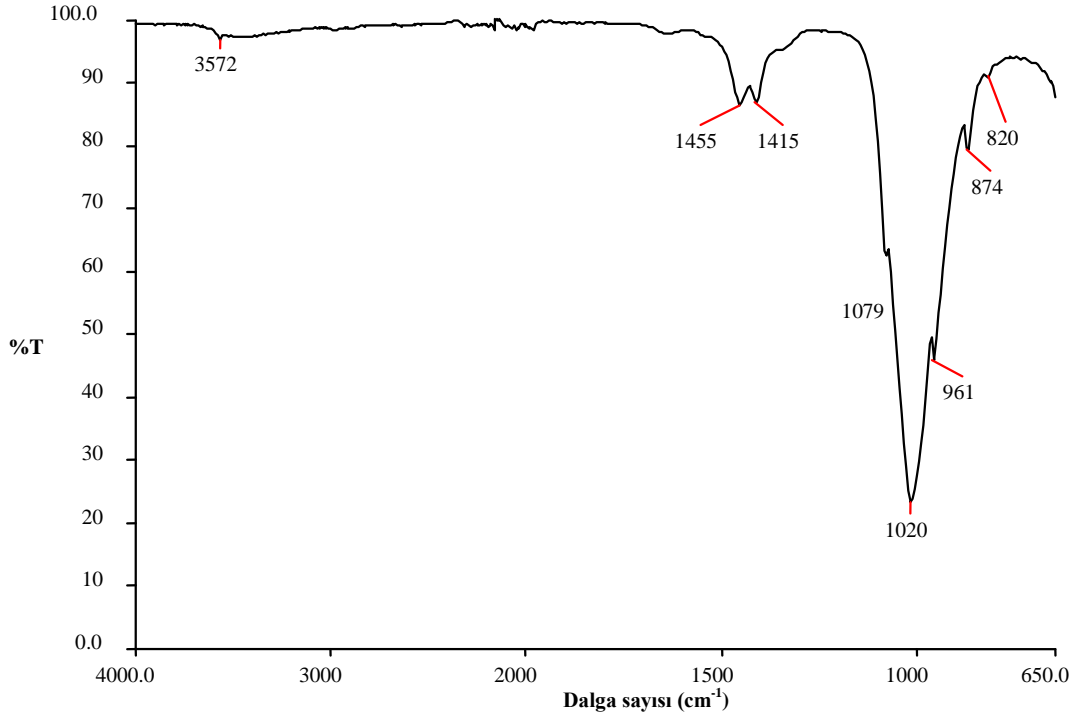
Şekil 3.4 nHAp-n3tmpeda'nın XRD deseni.

**Tablo 3.5:** nHAp-n3tmpeda'nın XRD deseninden elde edilen veriler.

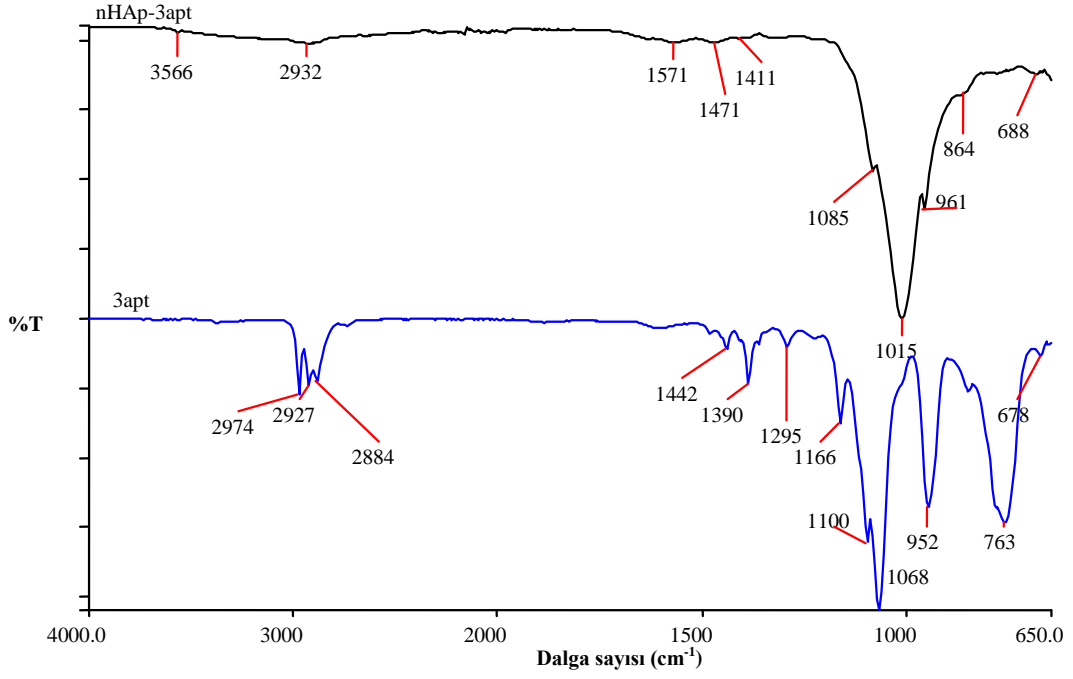
Poz. [ $^{\circ}$ 2Th.]	d-uzaklığı[ $\text{\AA}$ ]	Rel. Int. [%]
5.5604	15.88094	100.00
25.8636	3.44204	12.99
31.6335	2.82615	13.24
34.1223	2.62549	4.17
39.7515	2.26571	2.93
46.7223	1.94262	3.35

### 3.1.3 Dolgu Malzemelerine Ait FTIR-ATR Analiz Sonuçları

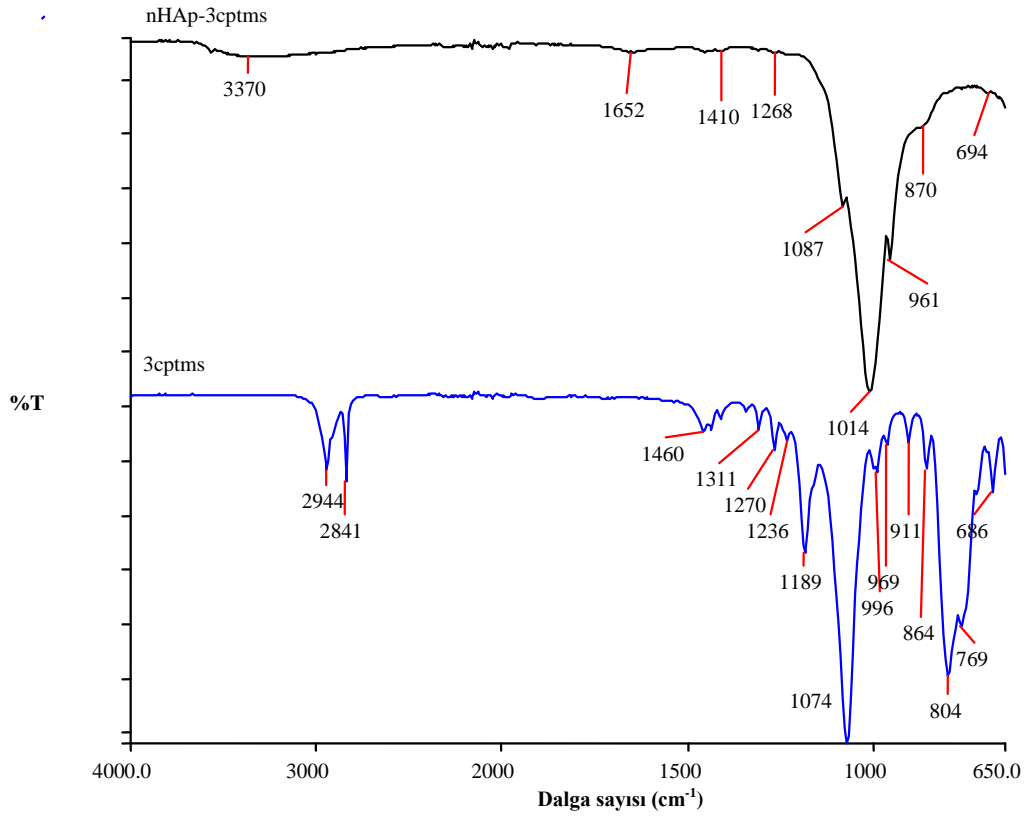
nHAp, modifiye edilmiş nHAp'lara ve modifiyer bileşiklere ait FTIR-ATR spektrumları Şekil 3.5–3.8'de verilmiştir. nHAp'a ait spektrumda karakteristik pikler gösterilmiştir. nHAp ve modifiye edilen nHAp örneklerinin spektrumları arasında farklılıklar gözlenmektedir.



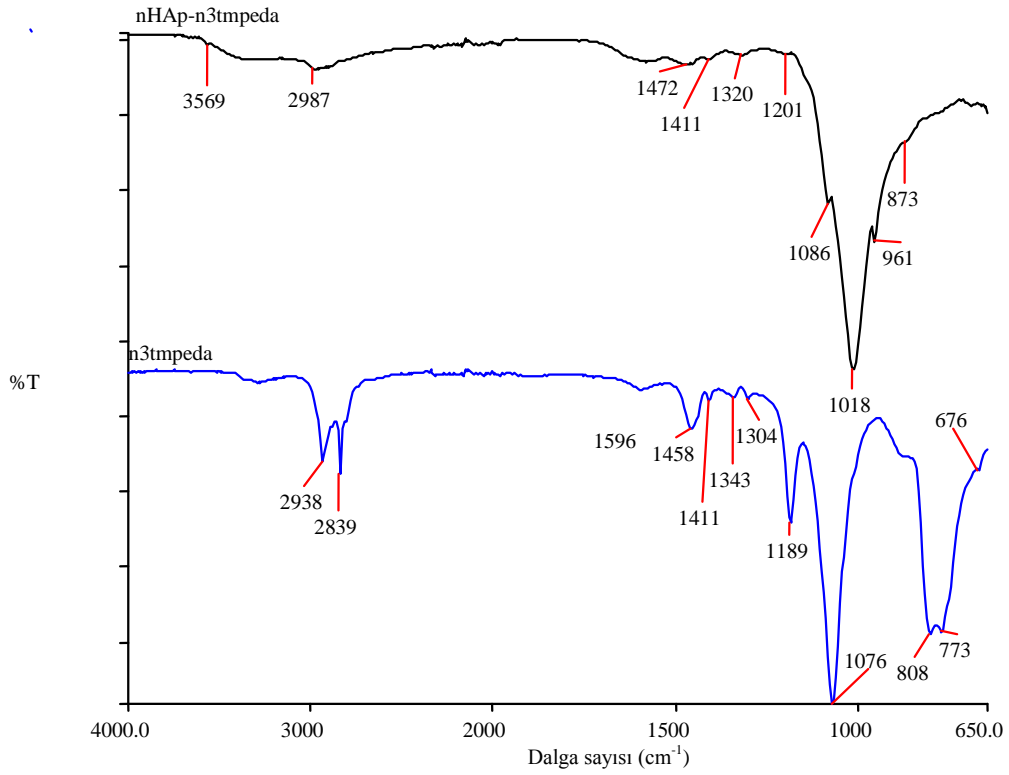
Şekil 3.5: nHAp'ın FTIR-ATR spektrumu.



Şekil 3.6: nHAp-3apt ve apt'nin FTIR-ATR spektrumları.



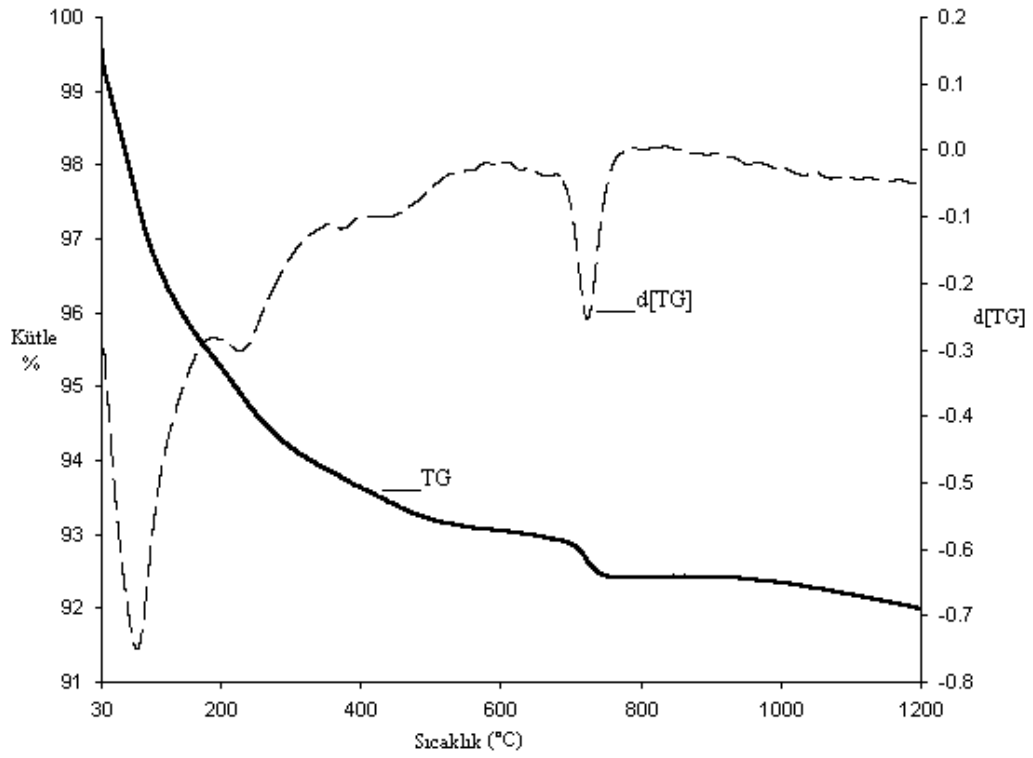
Şekil 3.7: nHAp-3cptms ve cptms'nin FTIR-ATR spektrumları.



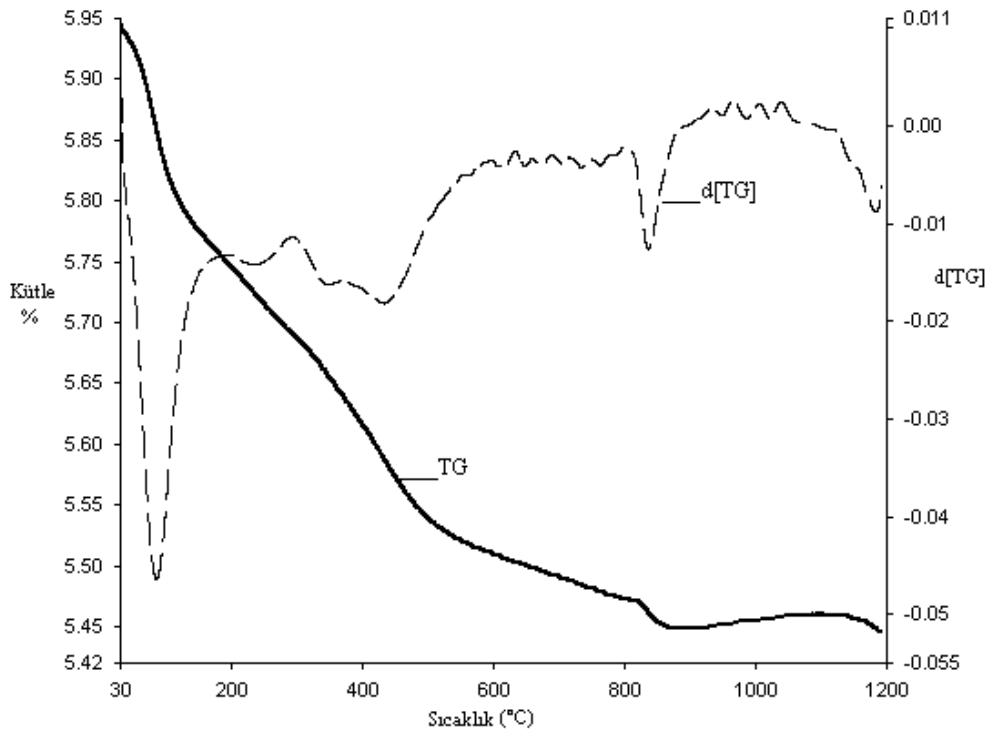
Şekil 3.8: nHAp-n3tmpeda ve n3tmpeda'nin FTIR-ATR spektrumları.

### 3.1.4 Dolgu Malzemelerine ait TG/DTA Analiz Sonuçları

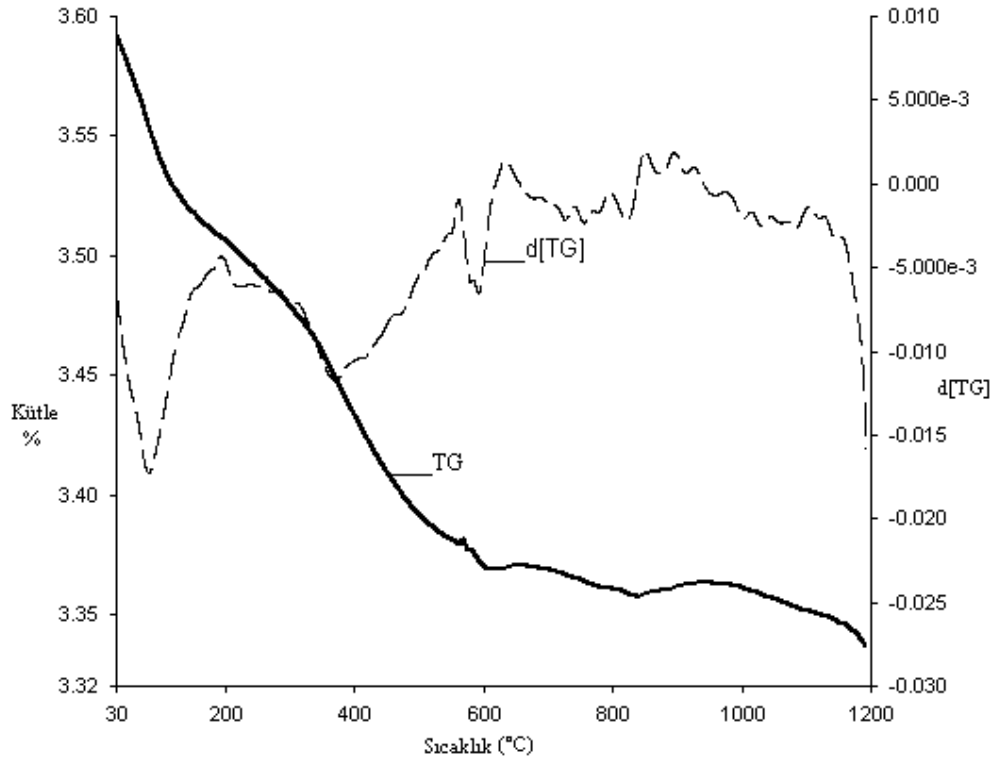
nHAp (nanohidroksiapatit) ve modifiye edilmiş nHAp örneklerinin termal özelliklerinin belirlenmesi için termogravimetrik analizleri yapılmıştır. Örneklerin termal analizleri 30–1200 °C arasında gerçekleştirilmiştir. nHAp ve modifiye nHAp'ların termogramları (TG ve d[TG]) Şekil 3.9–3.12'te verilmektedir.



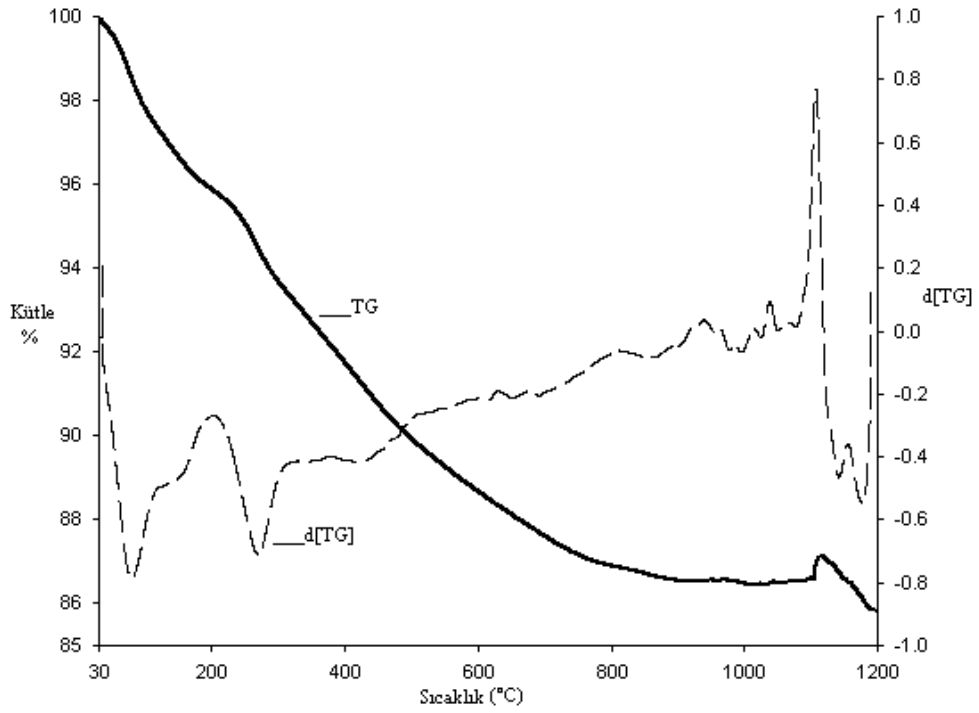
Şekil 3.9: nHAp'ın TG eğrisi.



Şekil 3.10: nHAp-3apt'nin TG eğrisi.



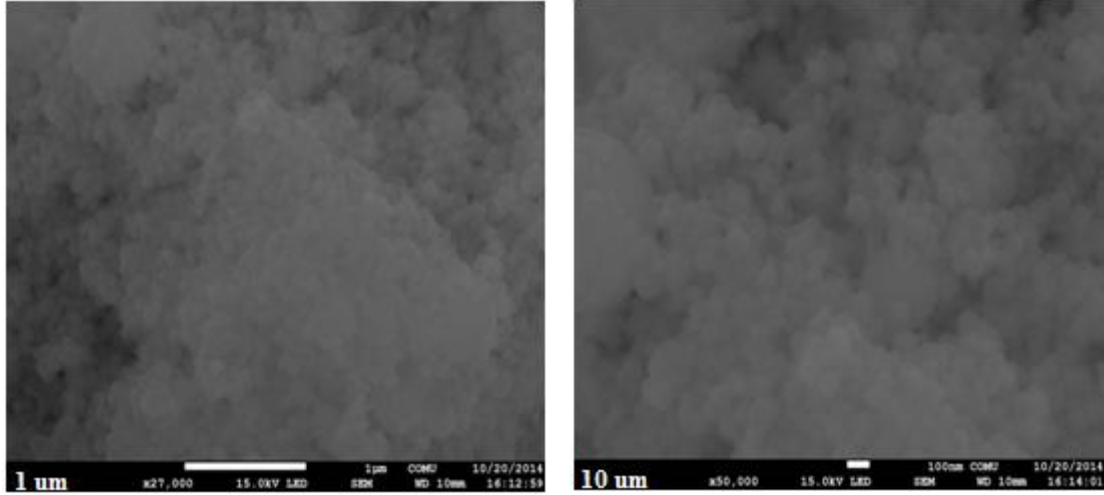
Şekil 3.11: nHAp-3cptms'nin TG eğrisi.



Şekil 3.12: nHAp-n3tmpeda'nın TG eğrisi.

### 3.1.5 Dolgu malzemelerine Ait SEM Analiz Sonuçları

Şekil 3.13'te nanokompozit sentezinde dolgu maddesi olarak kullanılan nHAp örneğine ait SEM görüntüsü verilmektedir. nHAp taneciklerine ait SEM görüntüleri 1000-100nm aralığında çekilmiştir.



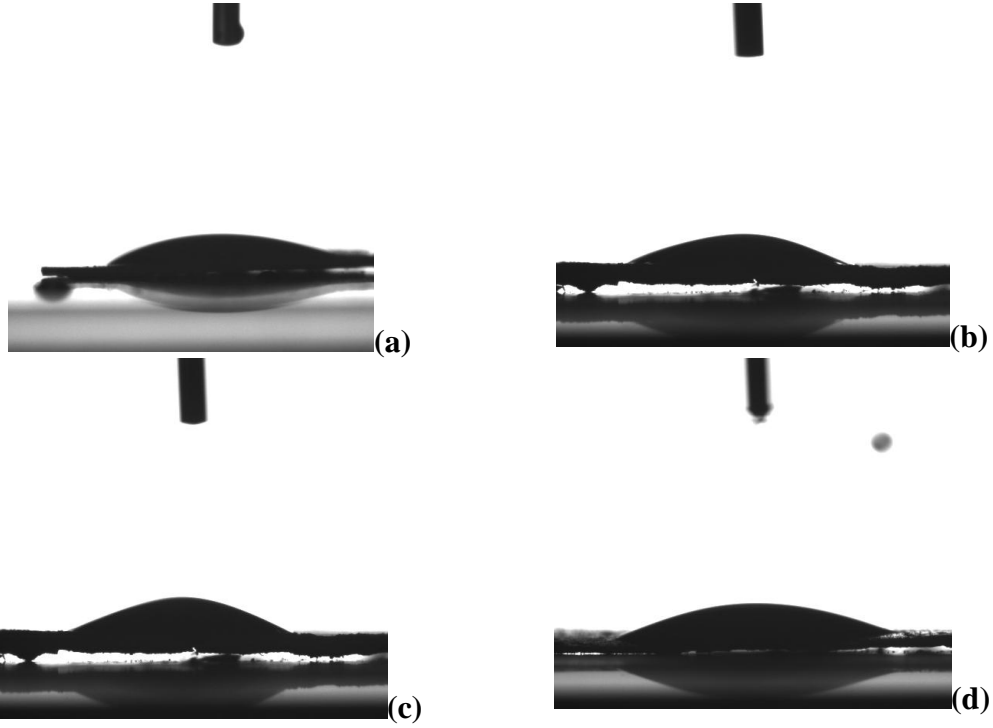
Şekil 3.13: nHAp örneğine ait SEM fotoğrafı.

### 3.1.6 Dolgu Malzemelerine Ait Optik Temas Açısı Analiz Sonuçları

Şekil 3.14'da nHAp ve organik bileşikler ile modifiye edilmiş nHAp'ların yüzey özelliklerinin belirlenmesi için çekilen optik temas açılarının fotoğrafları verilmiştir. Örneklerin temas açısı ölçümlerine ait veriler Tablo 3.6'de verilmiştir.

**Tablo 3.6:** nHAp ve modifiye nHAp örneklerinin optik temas açısı verileri.

Örnekler	Temas Açıları(°)
nHAp	26.14
nHAp-3apt	22.85
nHAp-3cptms	20.91
nHAp-n3tmpeda	20.72



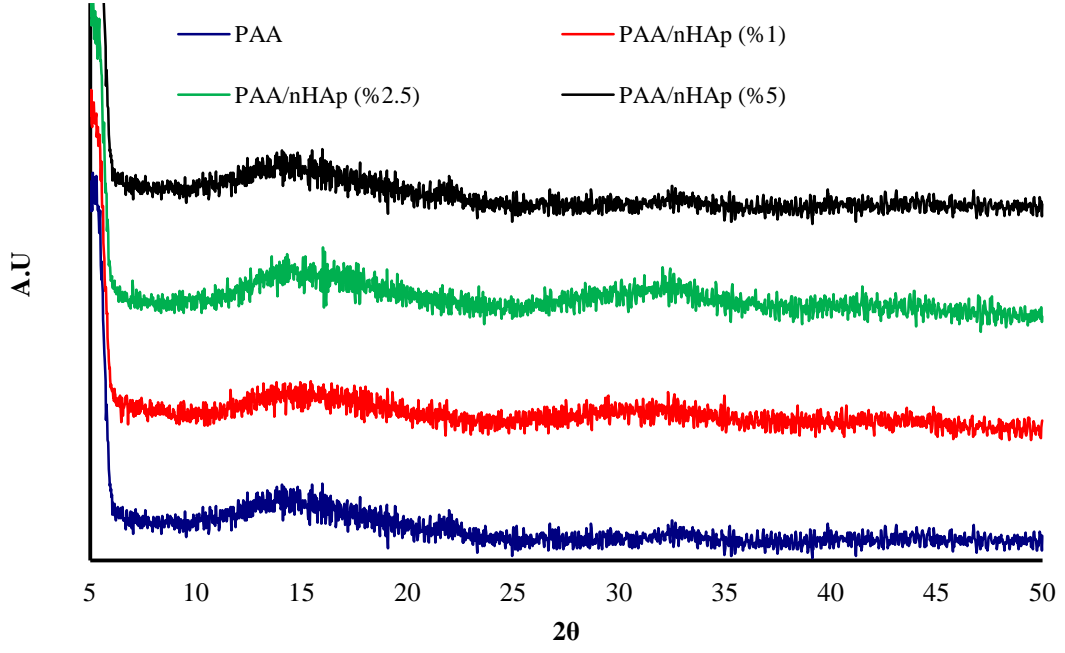
**Şekil 3.14:** (a) nHAp, (b) nHAp-3apt, (c) nHAp-3cptms, (d) nHAp-n3tmpeda örneklerine ait optik temas açısı ölçümlerinin fotoğrafları.

## 3.2 PAA Nanokompozitlerinin Karakterizasyonu

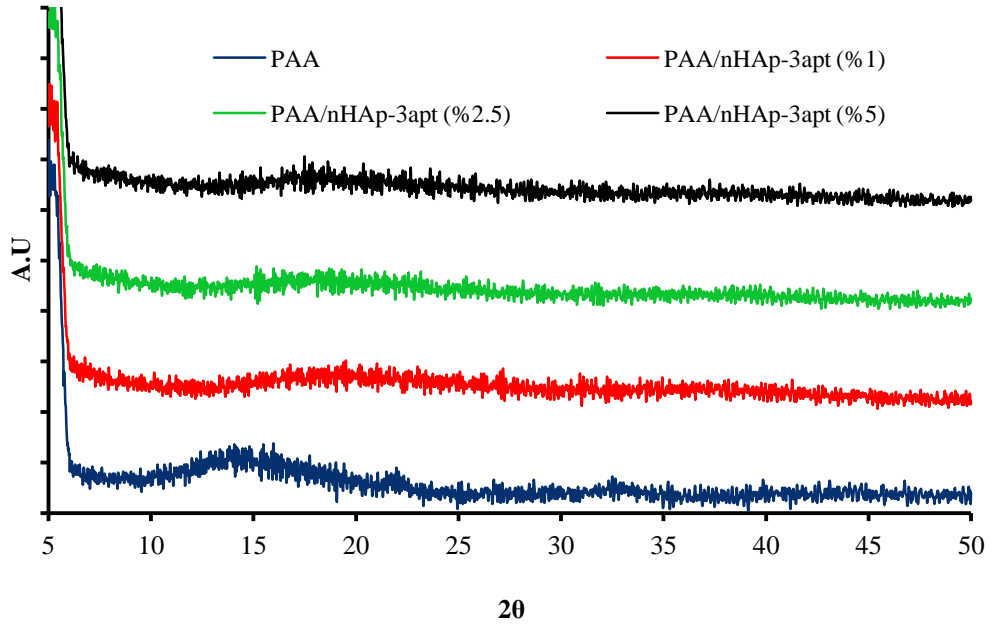
### 3.2.1 PAA Nanokompozitlerine ait XRD Analiz Sonuçları

Çözücü ortamında etkileştirme yöntemiyle hazırlanmış PAA/nHAp&modifiye nHAp nanokompozitlerine ait XRD desenleri Şekil 3.15–3.18’de verilmektedir. Dolgu malzemesi olarak kullanılan nanopartiküllerin PAA matriksi içerisindeki dağılımının olduğu, saf PAA matriksi ile nanokompozit desenlerindeki farklılıklardan anlaşılmaktadır.

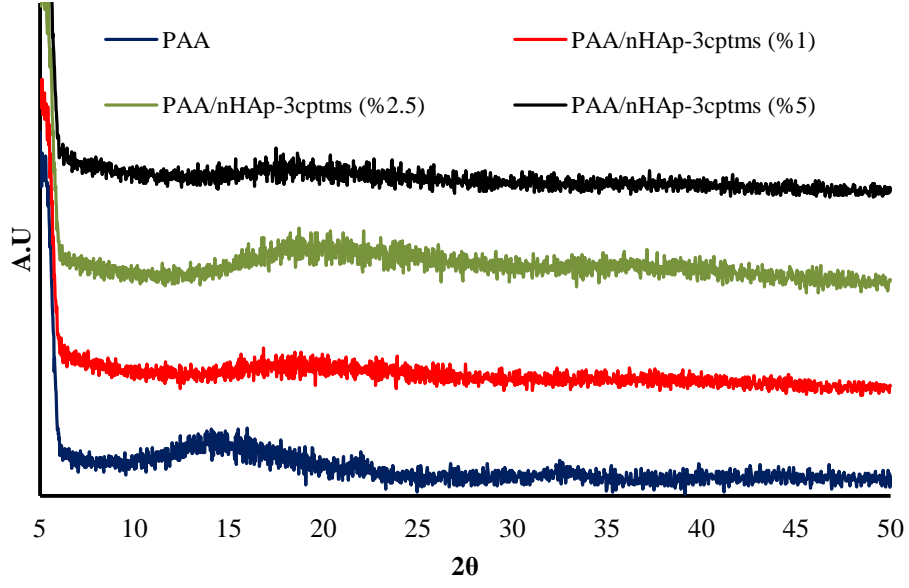




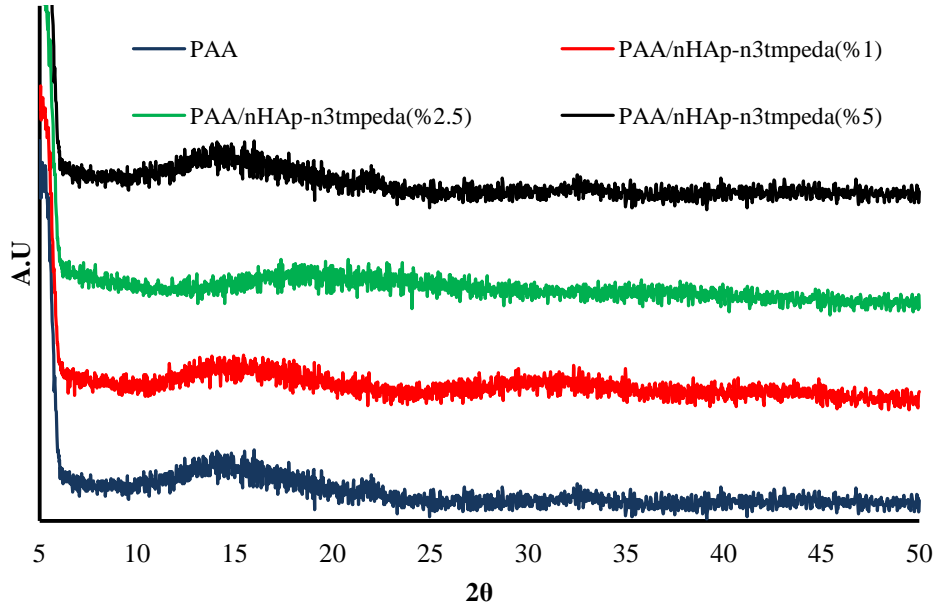
Şekil 3.15: PAA ve PAA/nHAp nanokompozitlerinin XRD desenleri.



Şekil 3.16: PAA ve PAA/nHAp-3apt nanokompozitlerinin XRD desenleri.



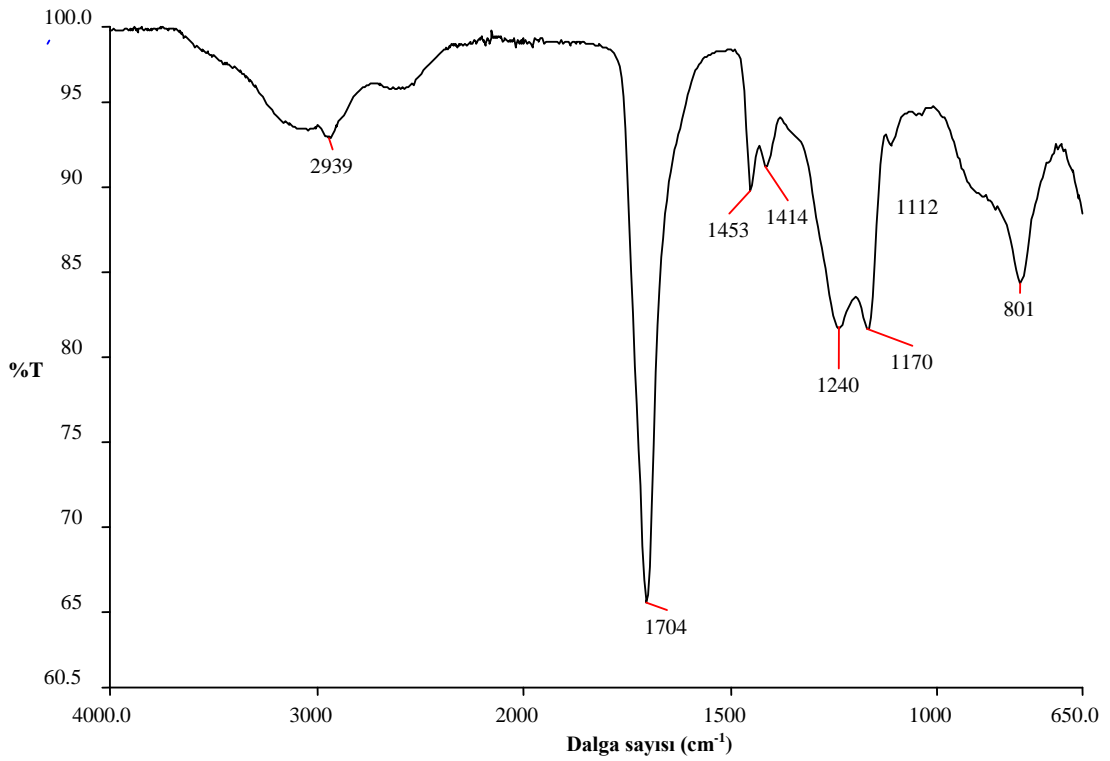
Şekil 3.17: PAA ve PAA/nHAp-3cptms nanokompozitlerinin XRD desenleri.



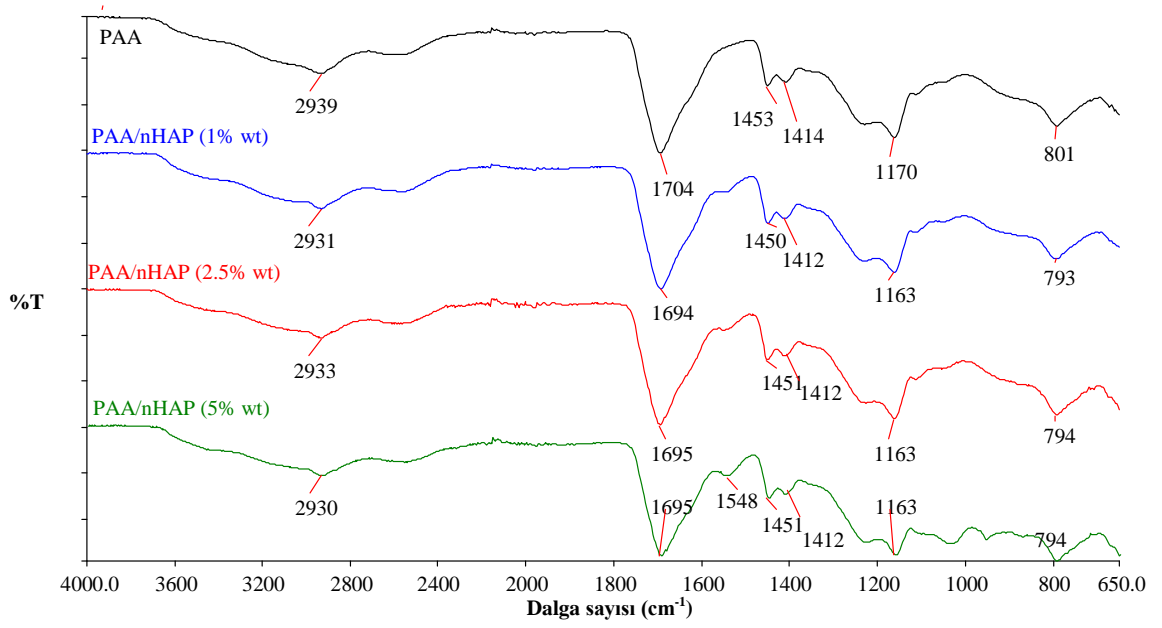
Şekil 3.18: PAA ve PAA/nHAp-n3tmpeda nanokompozitlerinin XRD desenleri.

### 3.2.2 PAA Nanokompozitlerine ait FTIR-ATR Analiz Sonuçları

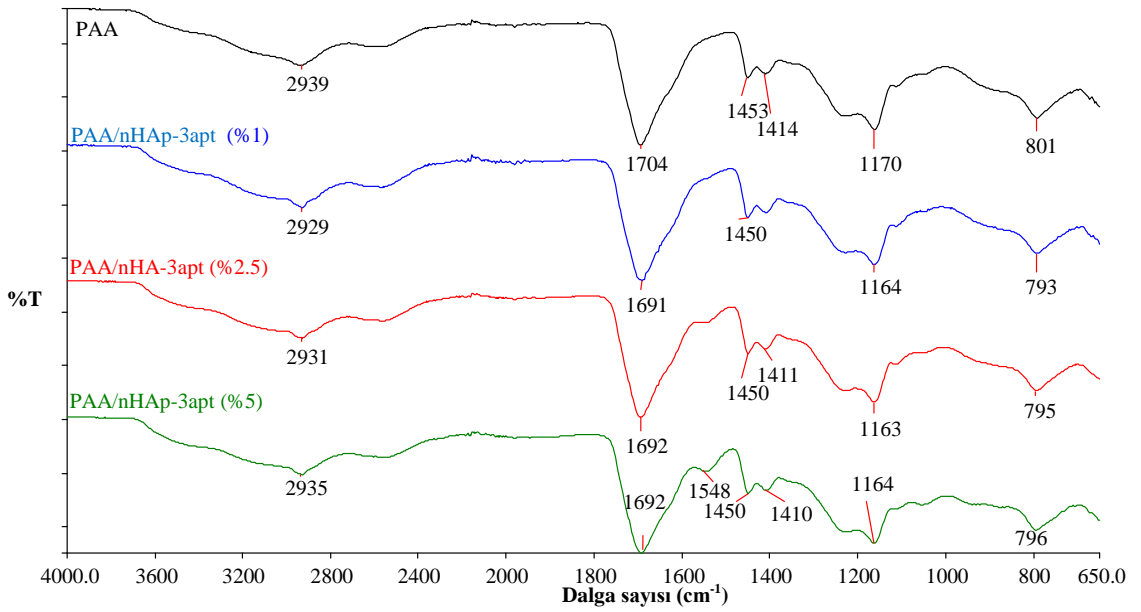
Matriks olarak PAA kullanılarak elde edilen nanokompozitlerin FTIR-ATR spektrumları Şekil 3.19–3.23'te verilmiştir. PAA ve nanokompozitlerin spektrumlarına ait karakteristik pikler bu şekillerde görülmektedir. Nanokompozitlerin FTIR-ATR spektrumlarında PAA polimerine göre farklılıklar gözlenmiştir. Bu farklılıklar, matriks ile dolgu maddesi arasında etkileşimden kaynaklanmaktadır.



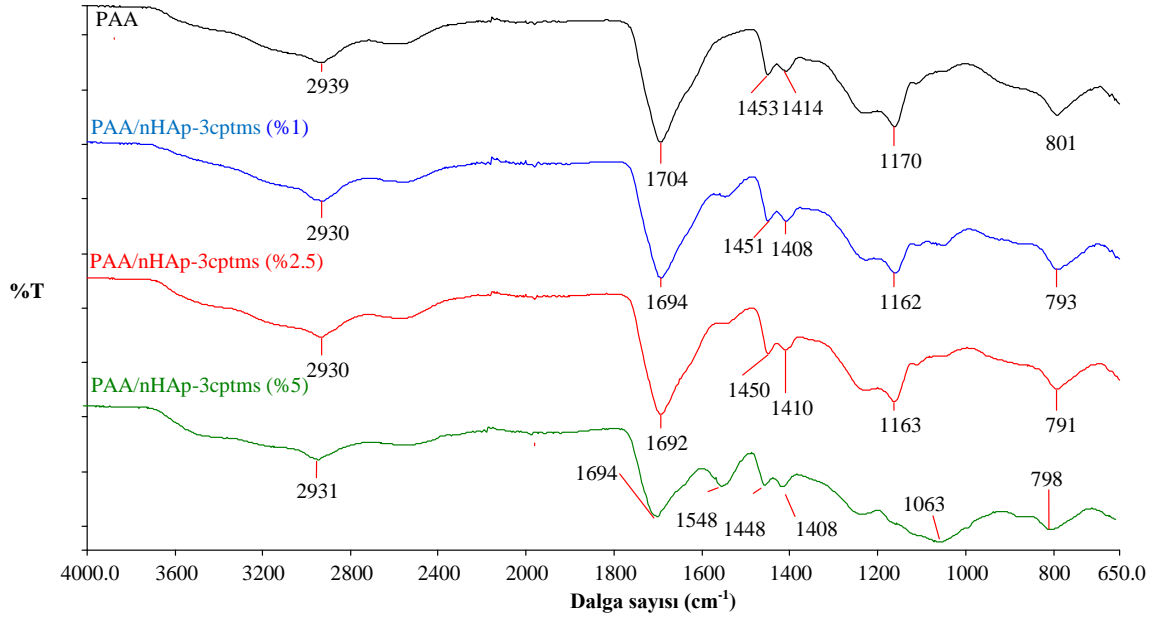
Şekil 3.19: PAA'nın FTIR-ATR spektrumu.



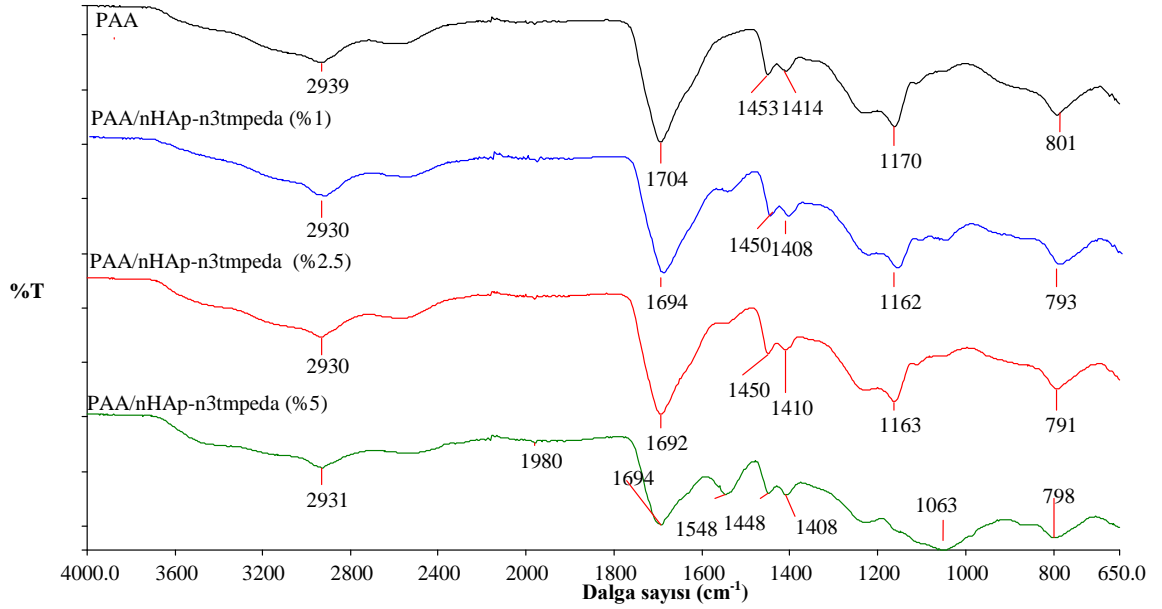
Şekil 3.20: PAA ve PAA/nHAp nanokompozitlerine ait FTIR-ATR spektrumları.



Şekil 3.21: PAA ve PAA/nHAp-3apt nanokompozitlerine ait FTIR-ATR spektrumları.



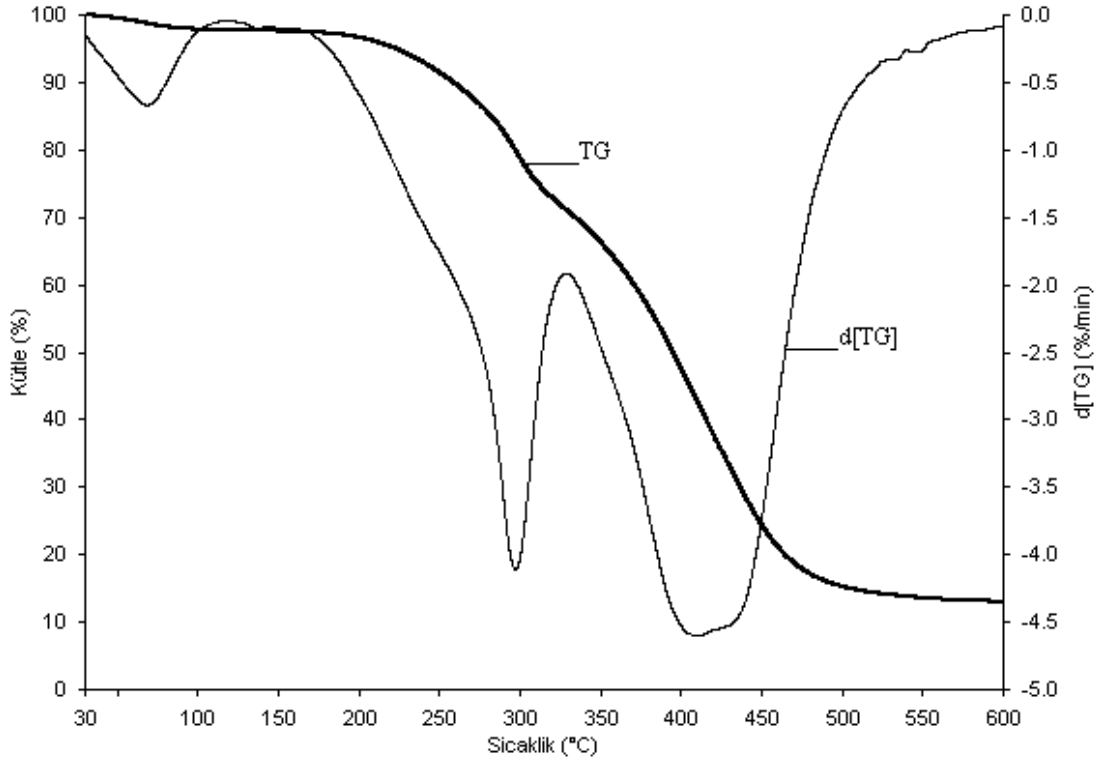
Şekil 3.22: PAA ve PAA/nHAp-3cptms nanokompozitlerine ait FTIR-ATR Spektrumları.



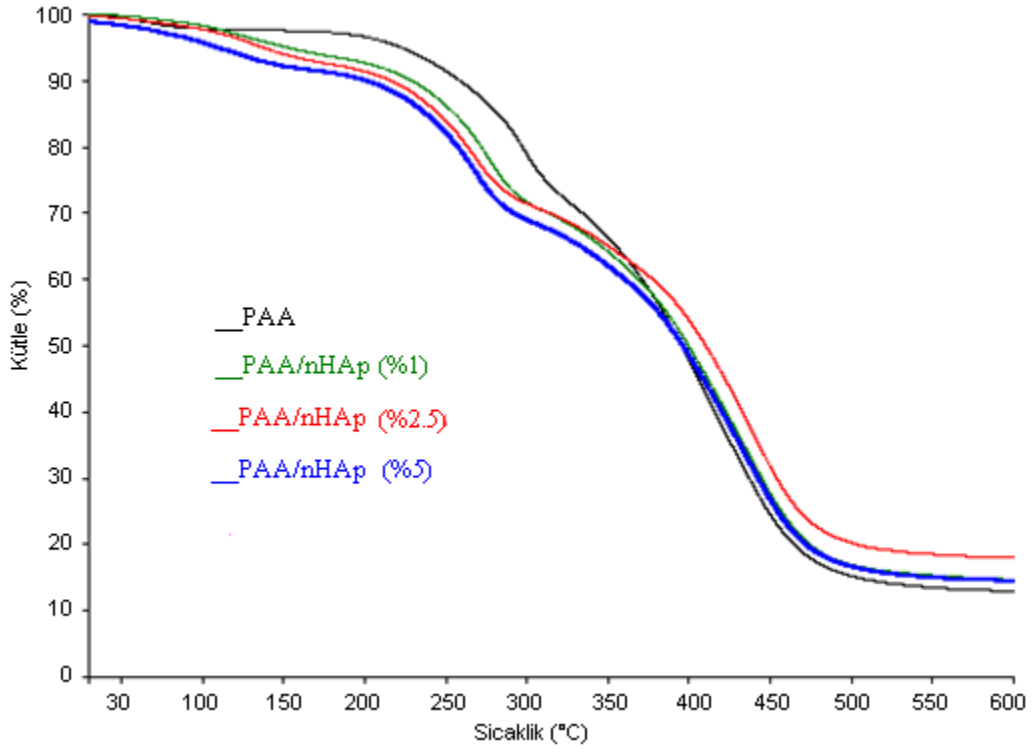
Şekil 3.23: PAA ve PAA/nHAp-n3tmpeda nanokompozitlerine ait FTIR-ATR Spektrumları.

### 3.2.3 PAA Nanokompozitlerine Ait TG/d[TG] ve DSC Analiz Sonuçları

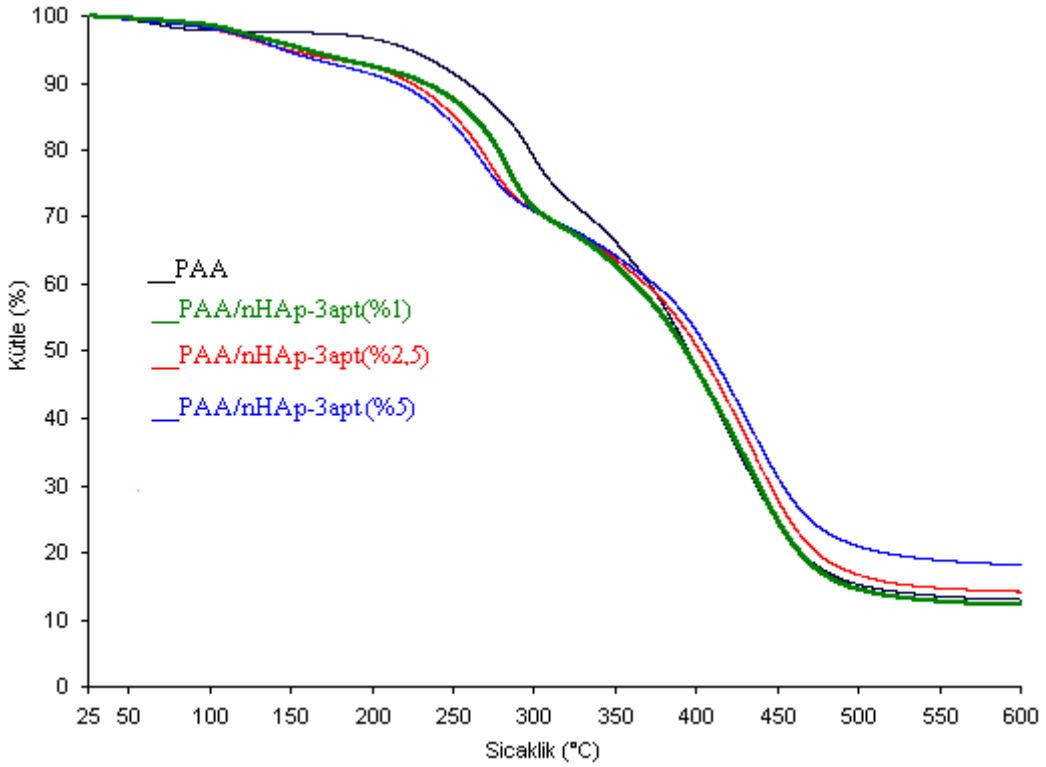
PAA ve nanokompozitlerinin 30–600 °C arasında ısıya karşı dayanım analizi gerçekleştirilen TG ve d[TG] grafikleri Şekil 3.24–3.28’de verilmektedir. Bu grafiklere ait veriler ve aynı nanokompozitlere ait DSC sonuçları Tablo 3.7’de verilmektedir. Nanokompozitlerin matriks olarak kullanılan saf PAA polimerine oranla ısıya karşı dayanımlarının daha yüksek olduğu görülmektedir.



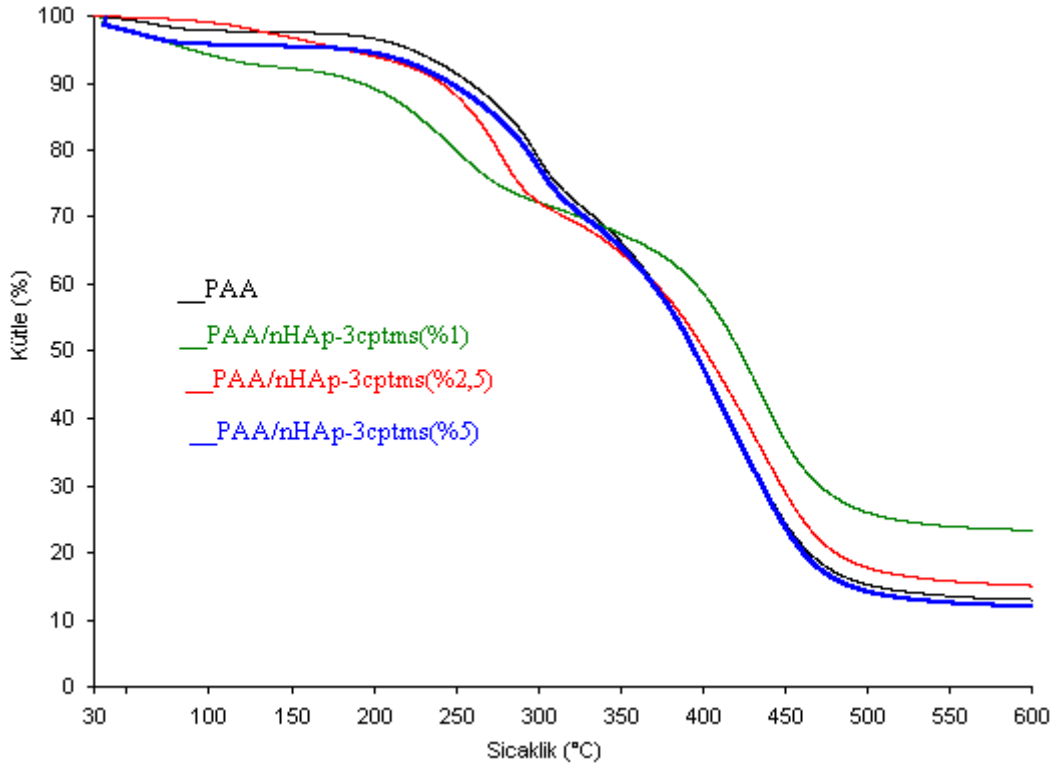
Şekil 3.24: PAA polimerinin TG/d[TG] eğrisi.



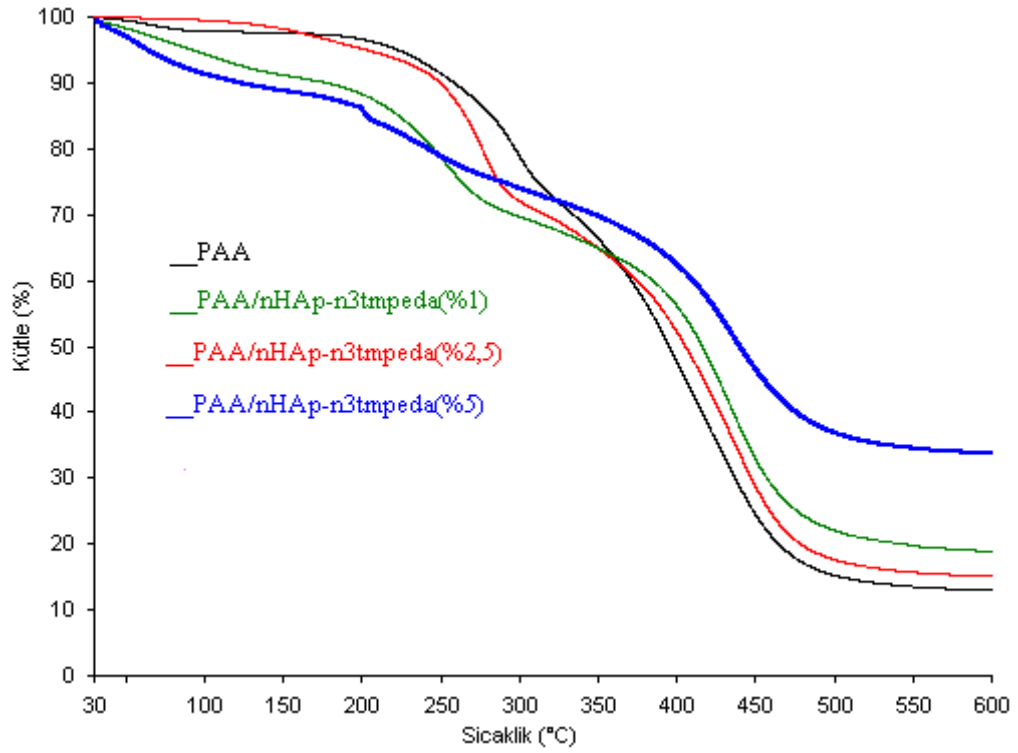
Şekil 3.25: PAA ve PAA/nHAp nanokompozitlerinin TG eğrileri.



Şekil 3.26: PAA ve PAA/nHAp-3apt nanokompozitlerinin TG eğrileri.



Şekil 3.27: PAA ve PAA/nHAp-3cptms nanokompozitlerinin TG eğrileri.



Şekil 3.28: PAA ve PAA/nHAp-n3tmpeda nanokompozitlerinin TG eğrileri.

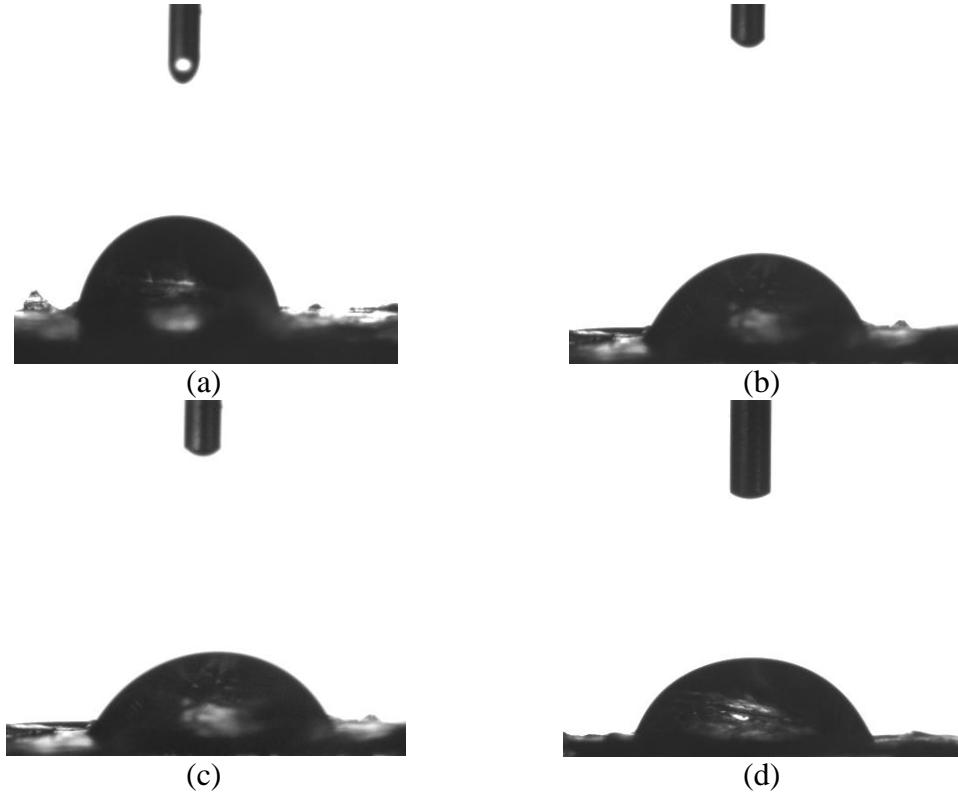


**Tablo 3.7:** PAA ve nanokompozitlerinin TG ve DSC eğrilerinden elde edilen verileri.

Örnekler	T <sub>5</sub> (°C)	T <sub>10</sub> (°C)	T <sub>30</sub> (°C)	T <sub>50</sub> (°C)	T <sub>80</sub> (°C)	Tmax <sub>1</sub>	Tmax <sub>2</sub>	Tmax <sub>3</sub>	T <sub>g</sub>
PAA	222	259	334	395	465	114	290	407	97
PAA/nHAp(%1)	152	229	313	399	474	127	276	434	114
PAA/nHAp(%2.5)	108	200	292	396	472	124	267	433	103
PAA/nHAp(%5)	137	216	314	410	503	161	260	430	110
PAA/nHAp-3apt(%1)	158	232	307	394	464	121	284	434	102
PAA/nHAp-3apt(%2.5)	147	224	308	402	474	131	272	433	107
PAA/nHAp-3apt(%5)	145	215	308	408	515	140	267	431	120
PAA/nHAp-n3tmpeda(%1)	92	177	296	416	543	136	265	436	103
PAA/nHAp-n3tmpeda(%2.5)	202	250	316	405	479	128	277	438	119
PAA/nHAp-n3tmpeda(%5)	63	122	347	440	-----	87	237	433	125
PAA/nHAp-3cptms(%1)	201	267	349	409	475	100	254	434	121
PAA/nHAp-3cptms(%2.5)	181	241	317	401	480	162	276	435	117
PAA/nHAp-3cptms(%5)	89	192	326	422	-----	76	238	436	105

### 3.2.4 PAA Nanokompozitlerine Ait Optik Temas Açısı Analiz Sonuçları

PAA ve PAA matrisli nanokompozitlerin temas açısı ölçümleri sonucunda elde PAA ve bazı nanokompozitlerinin fotoğrafları Şekil 3.29'da ve tüm analiz verileri Tablo 3.8'de sunulmaktadır. Farklı yüzey yapılarına sahip olan PAA ve nanokompozitlerinin genel olarak hidrofilik yüzeye sahip olduğu belirlenmiştir. PAA/nHAp-3cptms ve PAA/nHAp-n3tmpeda nanokompozitlerinde ise artan dolgu maddesine bağlı olarak yüzey yapılarının hidrofobik yapıya dönüştüğü tespit edilmiştir.



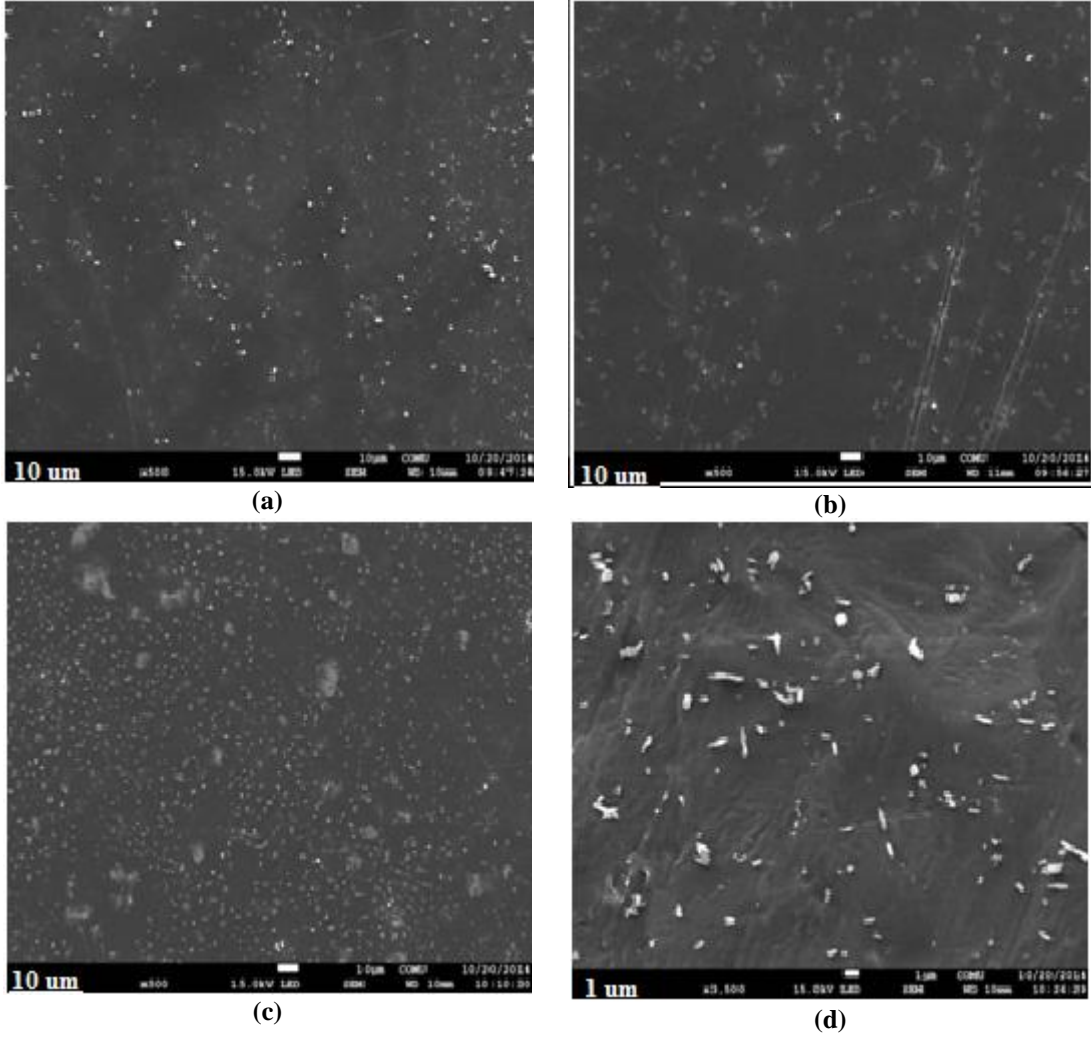
Şekil 3.29: (a) PAA, (b) PAA/nHAp(%1), (c) PAA/nHAp-3apt(%5) ve (d) PAA/nHAp-3cptms(%5)'nin temas açısı ölçümlerine ait fotoğraflar.

**Tablo 3.8:** PAA ve nanokompozitlerinin optik temas açısı ölçümlerine ait verileri.

<b>Örnekler</b>	<b>Temas Açısı (°)</b>
PAA	84.58
PAA/nHAp (%1)	80.26
PAA/nHAp (%2.5)	78.52
PAA/nHAp (%5)	74.82
PAA/nHAp-3apt (%1)	79.15
PAA/nHAp-3apt (%2.5)	74.89
PAA/nHAp-3apt (%5)	69.66
PAA/nHAp-n3tmpeda (%1)	85.12
PAA/nHAp-n3tmpeda (%2.5)	86.39
PAA/nHAp- n3tmpeda (%5)	98.43
PAA/nHAp-3cptms (%1)	84.65
PAA/nHAp-3cptms (%2.5)	92.95
PAA/nHAp-3cptms (%5)	100.86

### 3.2.5 PAA Nanokompozitlerine Ait SEM Analiz Sonuçları

Çözücü ortamında etkileştirme yöntemiyle elde edilen % 2.5 oranında dolgu içeren nanokompozitlerin SEM fotoğrafları Şekil 3.30'de verilmektedir. PAA ve nanokompozitlerine ait fotoğraflar fotoğraflar 1.0-10 µm aralığında çekilmiştir.

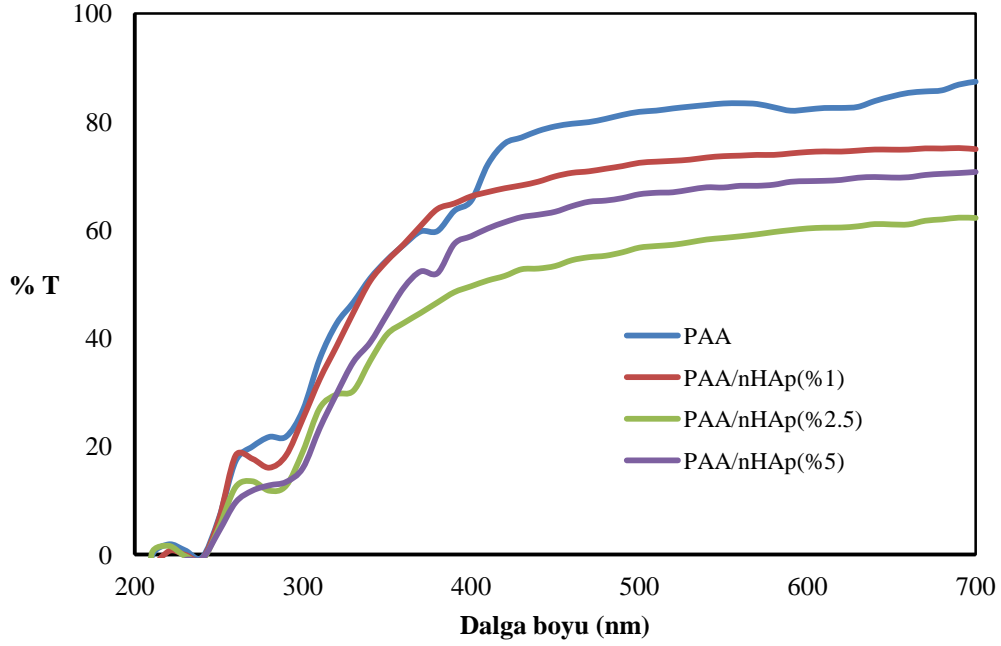


Şekil 3.30: PAA/nHAp (%2.5) (a), PAA/nHAp-3apt (%2.5) (b), PAA/nHAp-3cptms (%2.5) (c) ve PAA/nHAp-n3tmpeda (%2.5) (d) nanokompozitlerinin SEM fotoğrafları.

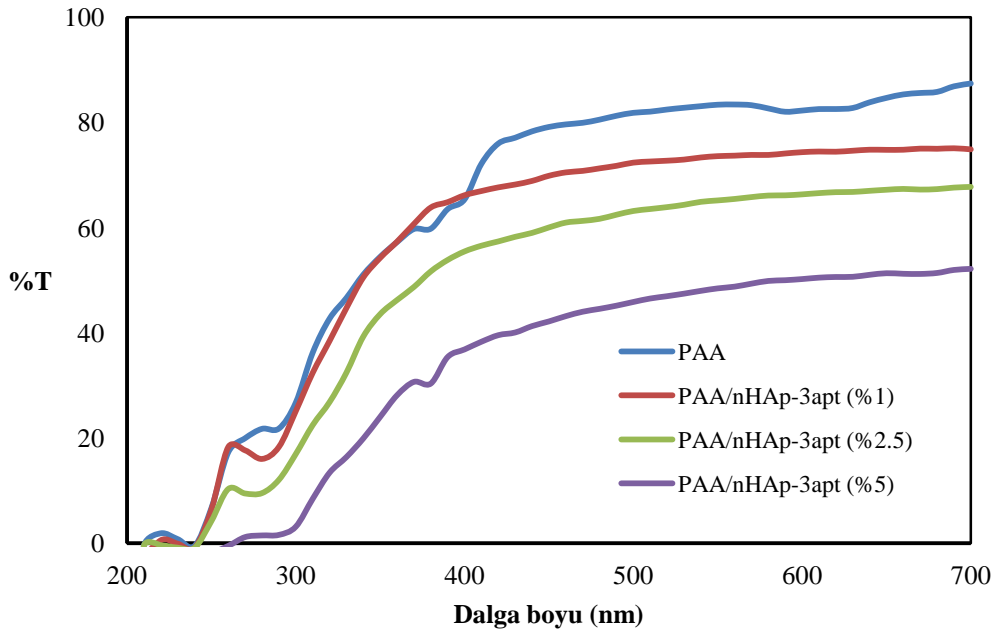
### 3.2.6 PAA Nanokompozitlerine Ait UV-Visible Analiz Sonuçları

PAA ve PAA matrisi temelli nanokompozitlerinin geçirgenliği UV-Visible spektrofotometresi 200–700 nm dalga boyu arasında yapılmıştır. Işık geçirgenlikleri

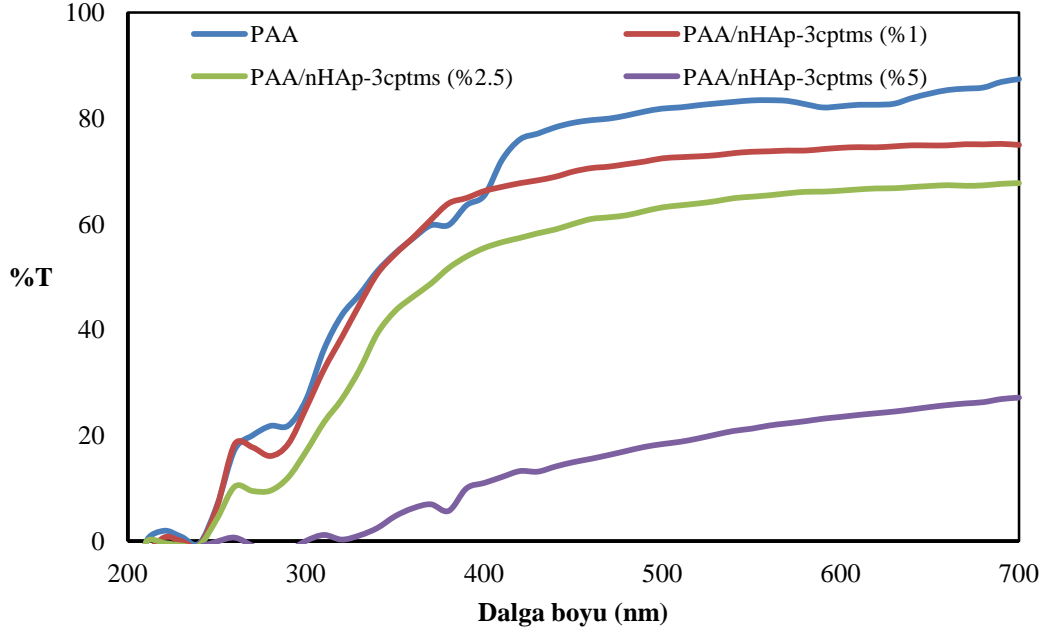
sonun elde edilen sonuçlar Şekil 3.31–3.34 'de % transmittans ve absorbansına karşı çizilen grafiklerde verilmektedir.



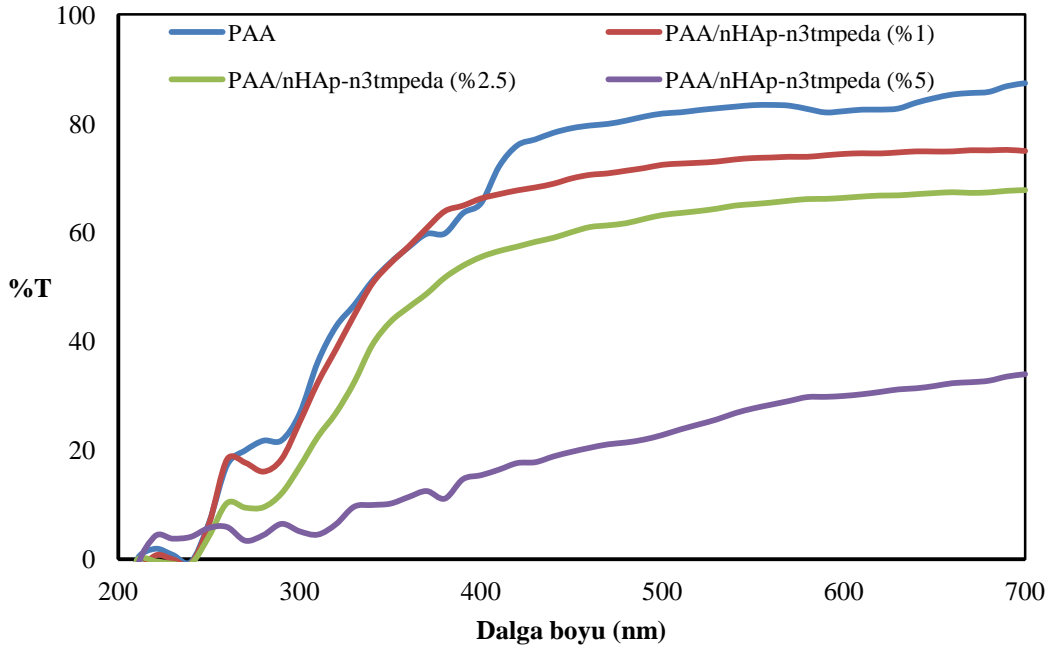
Şekil 3.31: PAA ve PAA/nHAp nanokompozitlerinin UV-Visible spektrumları.



Şekil 3.32: PAA ve PAA/nHAp-3apt nanokompozitlerinin UV-Visible spektrumları.



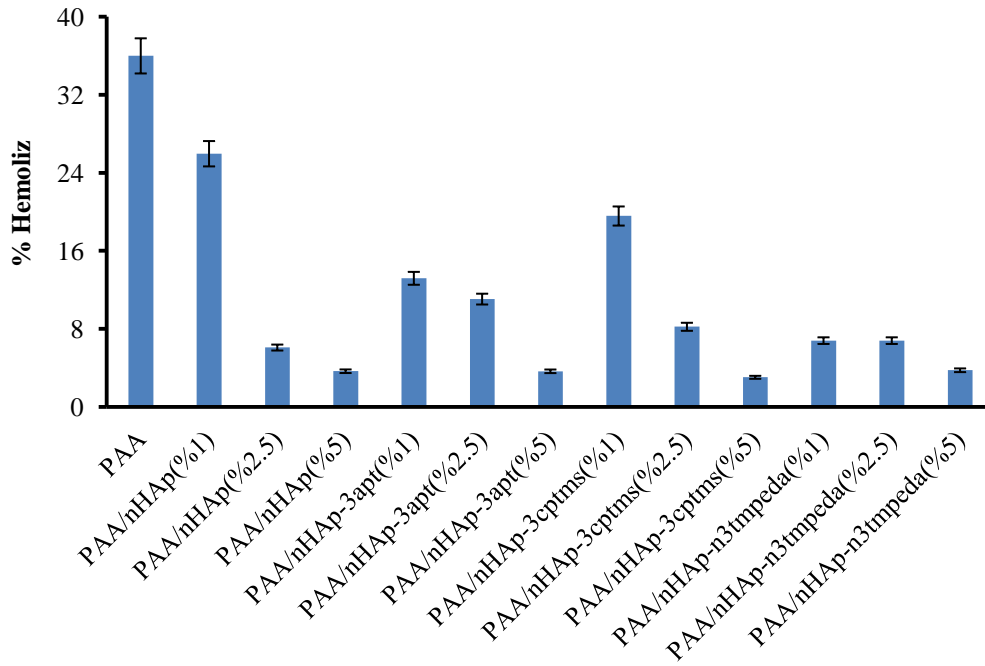
Şekil 3.33: PAA ve PAA/nHAp-3cptms nanokompozitlerinin UV-Visible spektrumları.



Şekil 3.34: PAA ve PAA/nHAp-n3tmpeda nanokompozitlerinin UV-Visible spektrumları.

### 3.2.7 PAA ve Nanokompozitlerinin Homouyumluluk Sonuçları

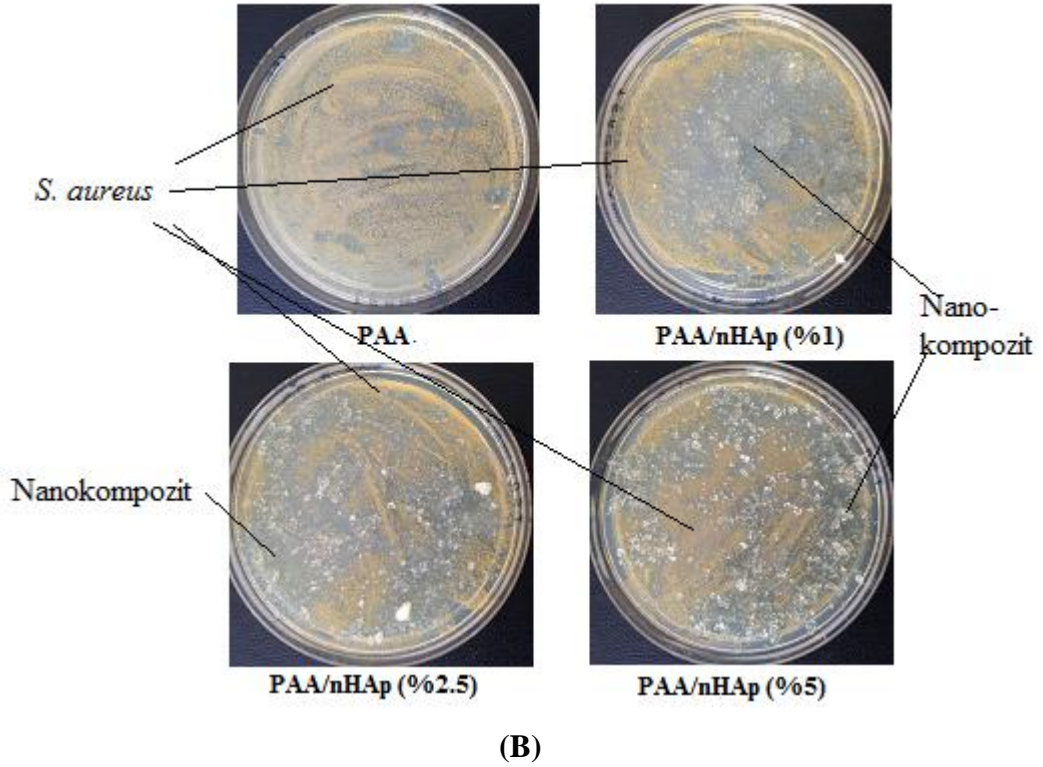
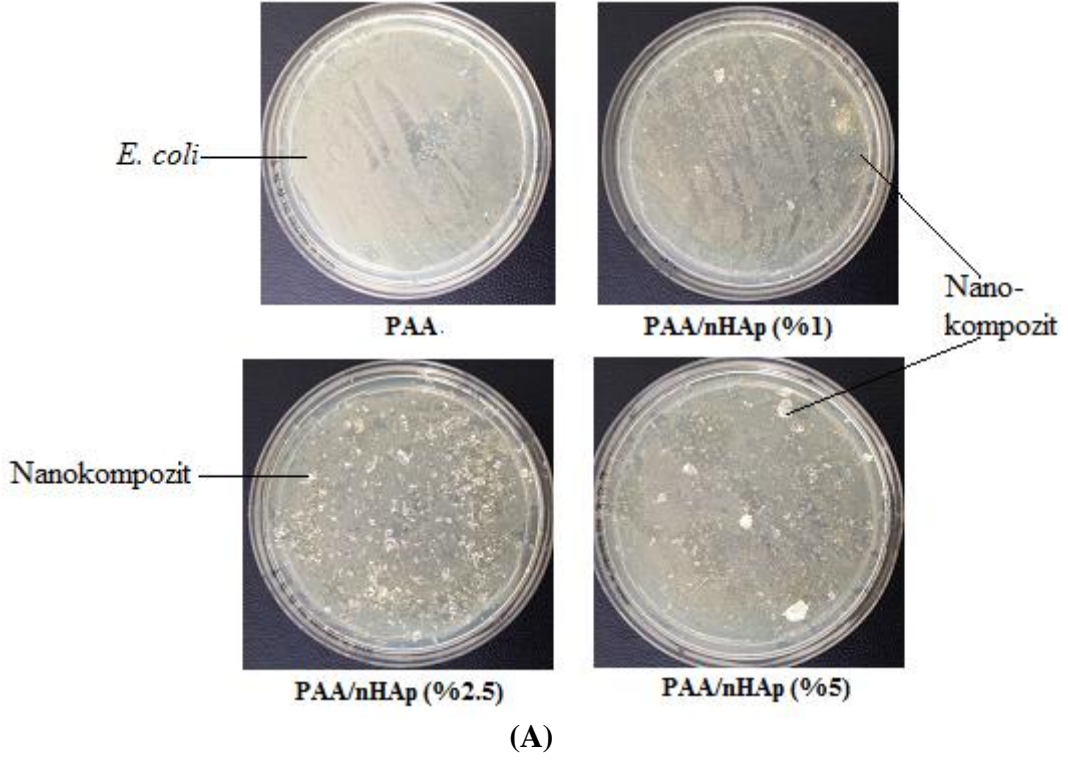
PAA ve nanokompozitlerine ait homouyumluluk sonuçları Şekil 3.35'te sunulmuştur. Kan hücreleri ile aynı ortamda bulunduktan sonra PAA ve nanokompozitlerinin hücreleri hemoliz etme değerleri karşılaştırmalı olarak verilmiştir. Yaklaşık olarak %35 oranında hemoliz yüzdesine sahip PAA toksik özellik göstermektedir. Nanokompozitlerdeki dolgu miktarı arttıkça hemoliz yüzdesinde düşük görülmektedir.



Şekil 3.35: PAA ve nanokompozitlerine ait homouyumluluk sonuçları.

### 3.2.8 PAA ve Nanokompozitlerinin Antibakteriyel Aktivite Sonuçları

Şekil 3.36'da PAA ve bazı nanokompozitlerinin gram-negatif *Escherichia coli* ve gram-pozitif *Staphylococcus aureus* bakterilerine karşı antibakteriyel aktivitelerine ait fotoğraflar verilmiştir. Nanokompozitlerin her iki bakteri türüne karşı antibakteriyel aktiviteye sahip olduğu kolonilerin yoğunluğundan gözlenmektedir.



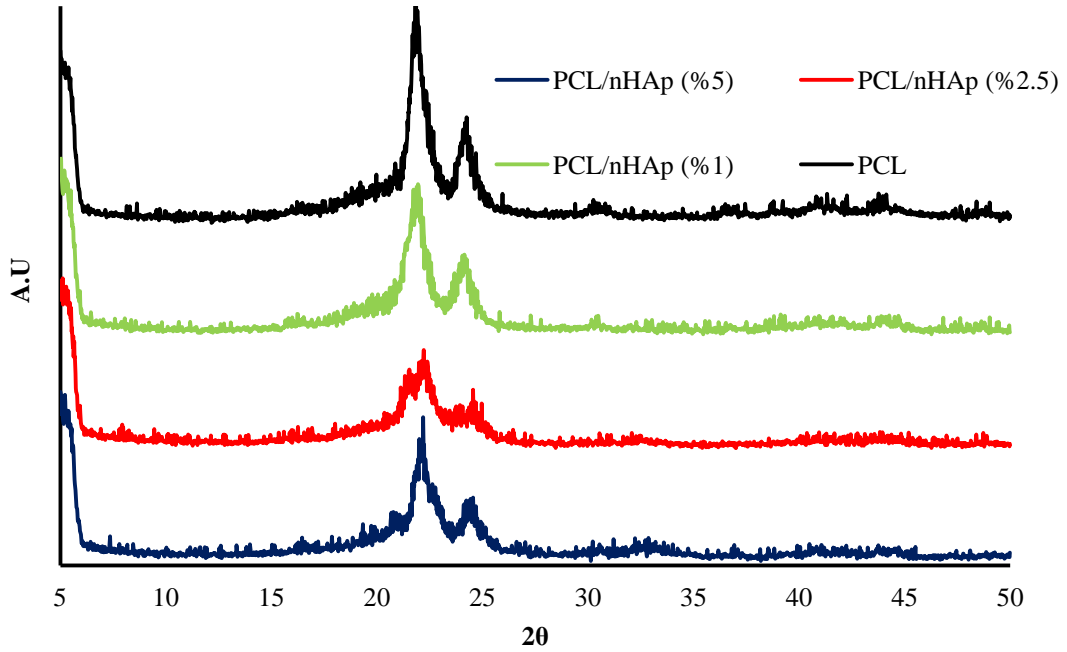
**Şekil 3.36:** PAA, PAA/nHAp(%1), PAA/nHAp(%2.5) ve PAA/nHAp(%5) nanokompozitlerinin *Escherichia coli* (A) ve *Staphilacoccus aureus* (B) bakterilerine karşı Antibakteriyel aktiviteleri.



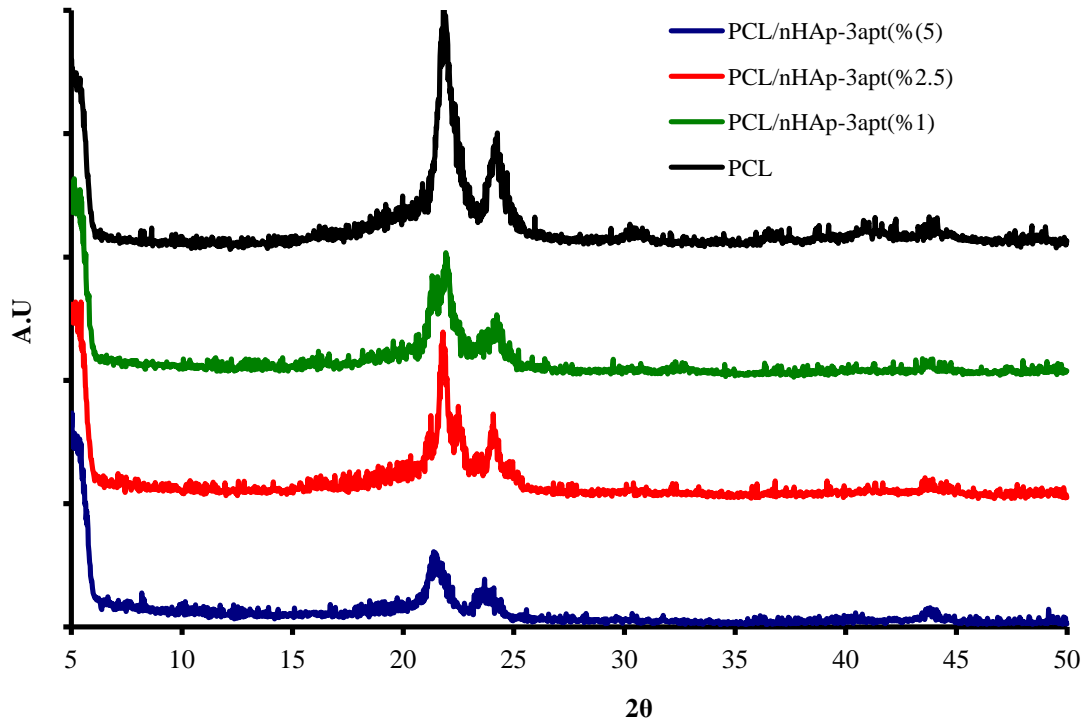
### 3.3 PCL ve PCL Nanokompozitlerinin Karakterizasyonu

#### 3.3.1 PCL Nanokompozitlerine Ait XRD Analiz Sonuçları

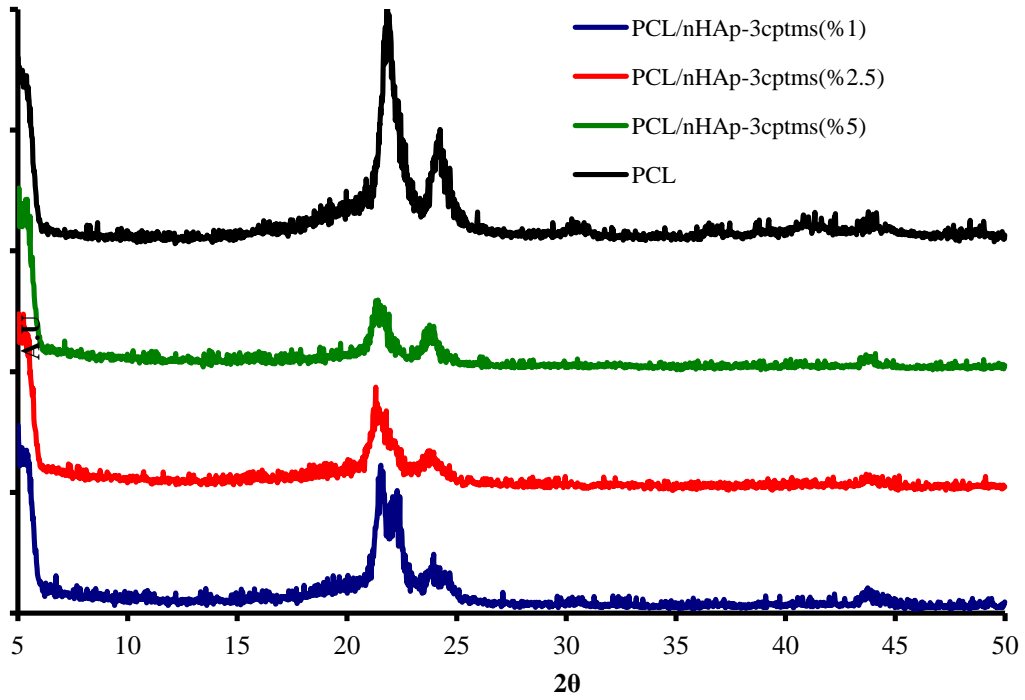
PCL ve PCL nanokompozitlerinin XRD desenleri Şekil 3.37–3.40'de verilmektedir. PCL  $2\theta = 21.88^\circ$  ve  $24.18^\circ$  iki önemli karakteristik piklere sahiptir. Biyonanokompozitlerdeki pik şiddetleri ve  $2\theta$  açıları saf PCL polimerine göre değişiklikler göstermektedir.



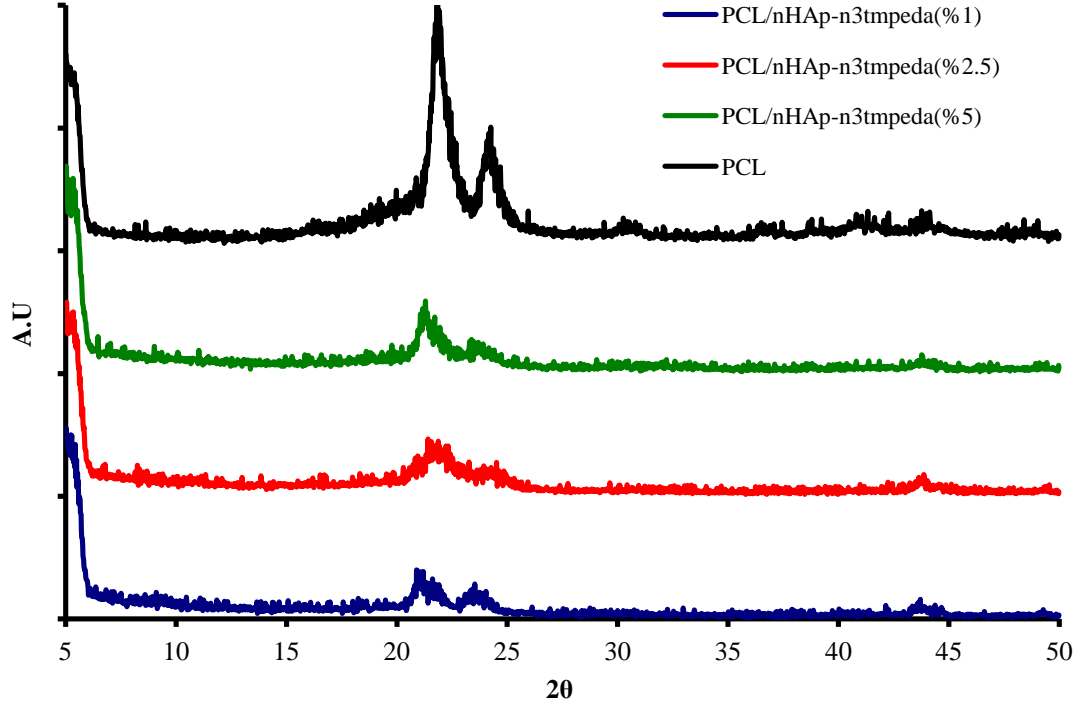
Şekil 3.37: PCL ve PCL/nHAp nanokompozitlerine ait XRD desenleri.



Şekil 3.38: PCL ve PCL/nHAp-3apt nanokompozitlerine ait XRD desenleri.



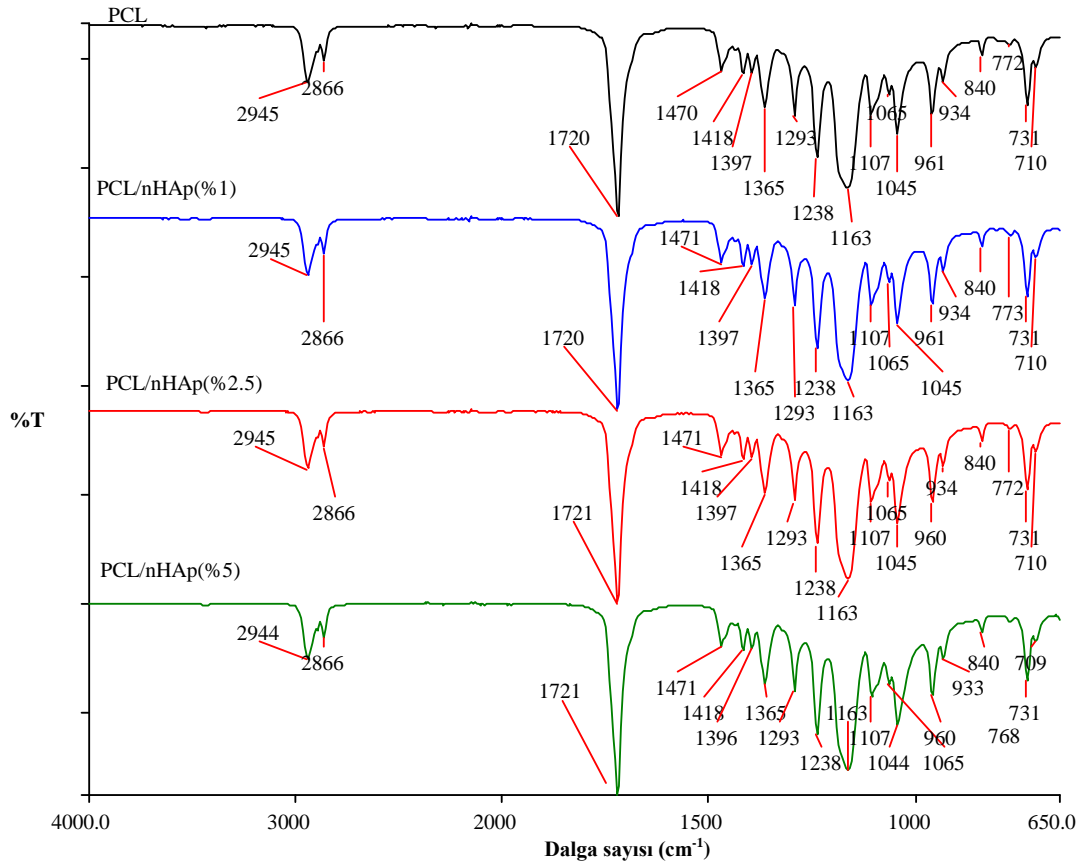
Şekil 3.39: PCL ve PCL/nHAp-3cptms nanokompozitlerine ait XRD desenleri.



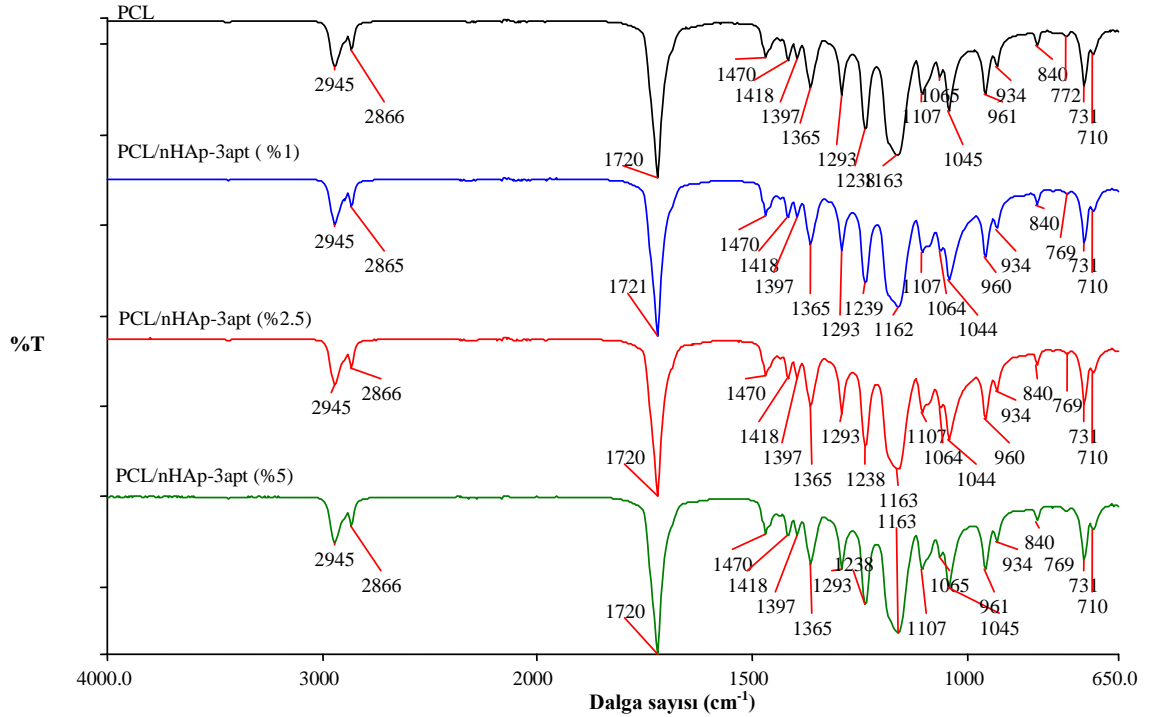
Şekil 3.40: PCL ve PCL/nHAp-n3tmpeda nanokompozitlerine ait XRD desenleri.

### 3.3.2 PCL Nanokompozitlerine Ait FTIR-ATR Analiz Sonuçları

PCL ve PCL temelli nanokompozitlerine ait FTIR-ATR spektrumları karşılaştırılmalı olarak Şekil 3.41–3.44’te verilmiştir. Saf PCL polimeri ile karşılaştırılmalı olarak gösterilmiş nanokompozitlerin sahip olduğu pikler farklılık göstermektedirler.



Şekil 3.41: PCL ve PCL/nHAp nanokompozitlerine ait FTIR-ATR spektrumları.



Şekil 3.42: PCL ve PCL/nHAp-3apt nanokompozitlerine ait FTIR-ATR spektrumları.

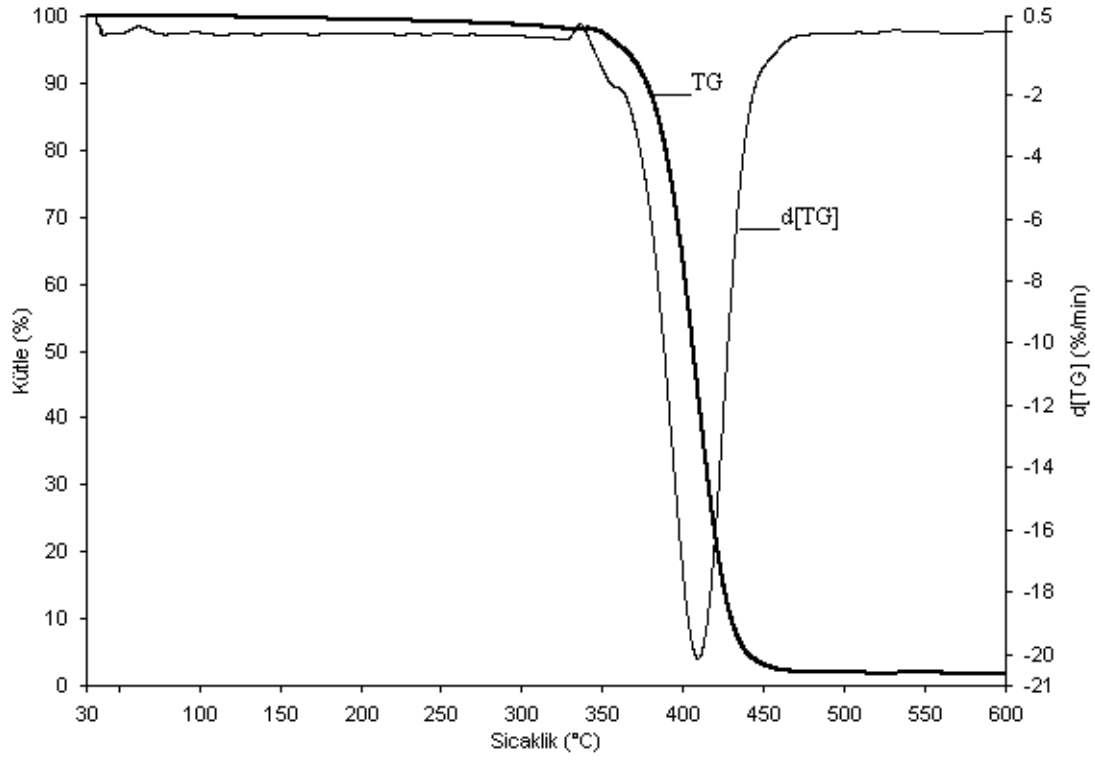


### 3.3.3 PCL Nanokompozitlerine Ait TG/d[TG] Analiz Sonuçları

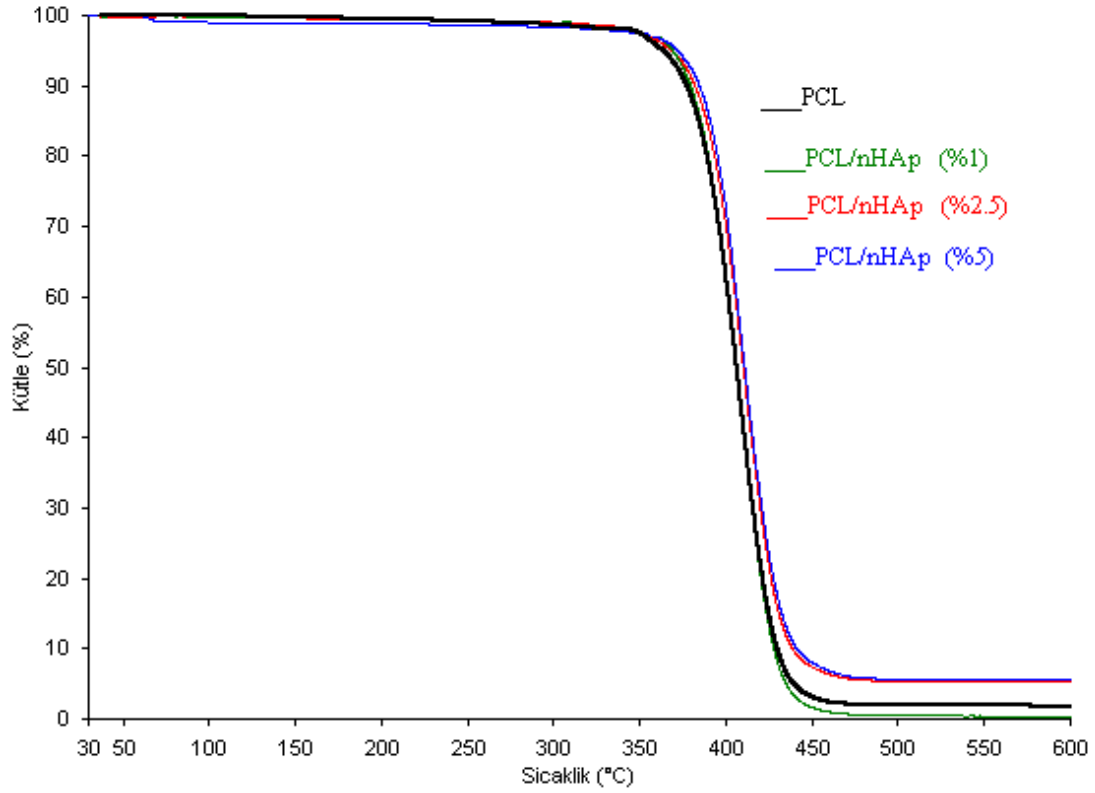
PCL-nHAp/modifiye nHAp biyonanokompozitlerinin termal analizleri 30–600 °C aralığında yapılmıştır. Film şeklinde sentezlenen PCL'nin degradasyon grafiğı Şekil 3.45'te gösterilmiştir. Hazırlanan biyonanokompozitlerin termal analizlerine ait eğriler Şekil 3.46–3.49'da sunulmuştur. Tablo 3.9'da saf PCL ve PCL biyonanokompozitlerine ait TG elde veriler yer almaktadır.

**Tablo 3.9:** PCL ve nanokompozitlerinin TG eğrilerinden elde edilen verileri.

<b>Örnekler</b>	<b>T<sub>5</sub>(<sup>0</sup>C)</b>	<b>T<sub>10</sub>(<sup>0</sup>C)</b>	<b>T<sub>30</sub>(<sup>0</sup>C)</b>	<b>T<sub>50</sub>(<sup>0</sup>C)</b>	<b>T<sub>80</sub>(<sup>0</sup>C)</b>	<b>Rezidü(%)</b>	<b>Tmax</b>
<b>PCL</b>	364	378	396	406	421	1.78	408
<b>PCL/nHAp (%1)</b>	369	379	396	406	420	0.28	409
<b>PCL/nHAp (%2.5)</b>	367	382	400	410	420	5.23	412
<b>PCL/nHAp (%5)</b>	372	385	401	411	427	5.63	413
<b>PCL/nHAp-3apt (%1)</b>	368	382	400	410	424	1.33	412
<b>PCL/nHAp-3apt (%2.5)</b>	367	383	399	410	424	1.66	413
<b>PCL/nHAp-3apt (%5)</b>	363	379	398	408	423	4.17	413
<b>PCL/nHAp-3cptms (%1)</b>	380	388	402	411	426	2.50	412
<b>PCL/nHAp-3cptms (%2.5)</b>	377	386	401	411	427	3.82	413
<b>PCL/nHAp-3cptms (%5)</b>	346	367	393	405	424	3.62	411
<b>PCL/nHAp-n3tmpeda (%1)</b>	377	384	398	398	421	1.81	409
<b>PCL/nHAp-n3tmpeda (%2.5)</b>	369	380	396	405	419	1.35	408
<b>PCL/nHAp-n3tmpeda (%5)</b>	363	375	393	403	419	6.37	404

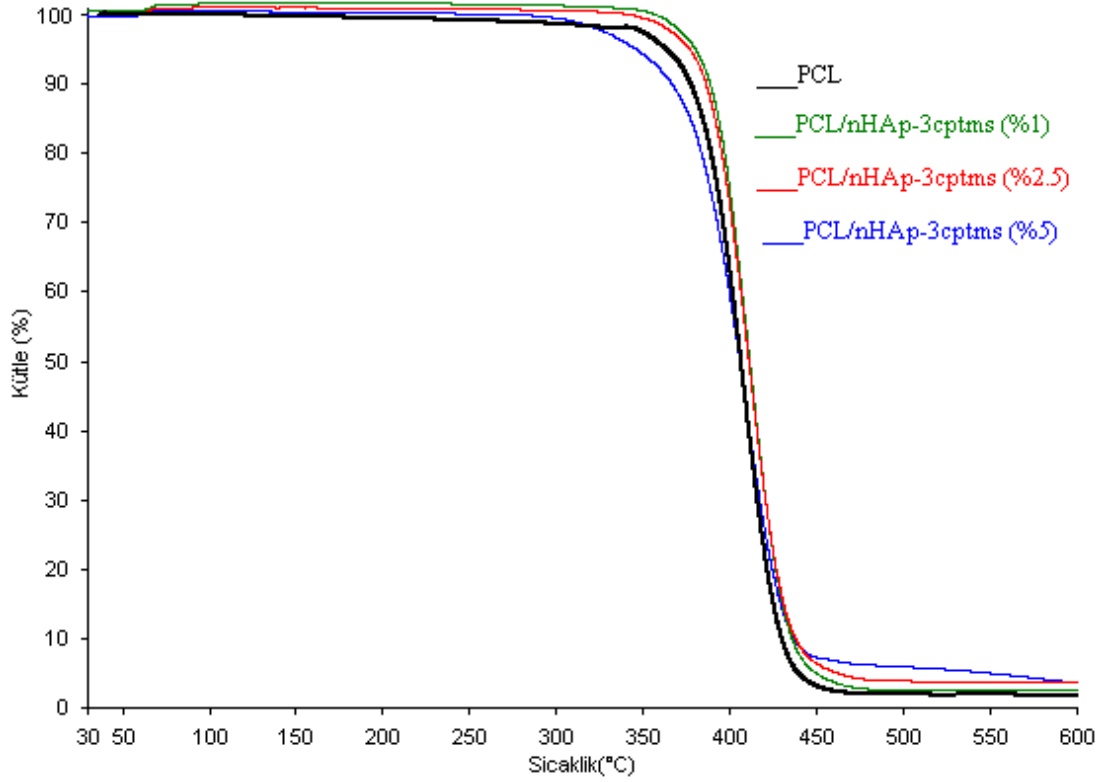
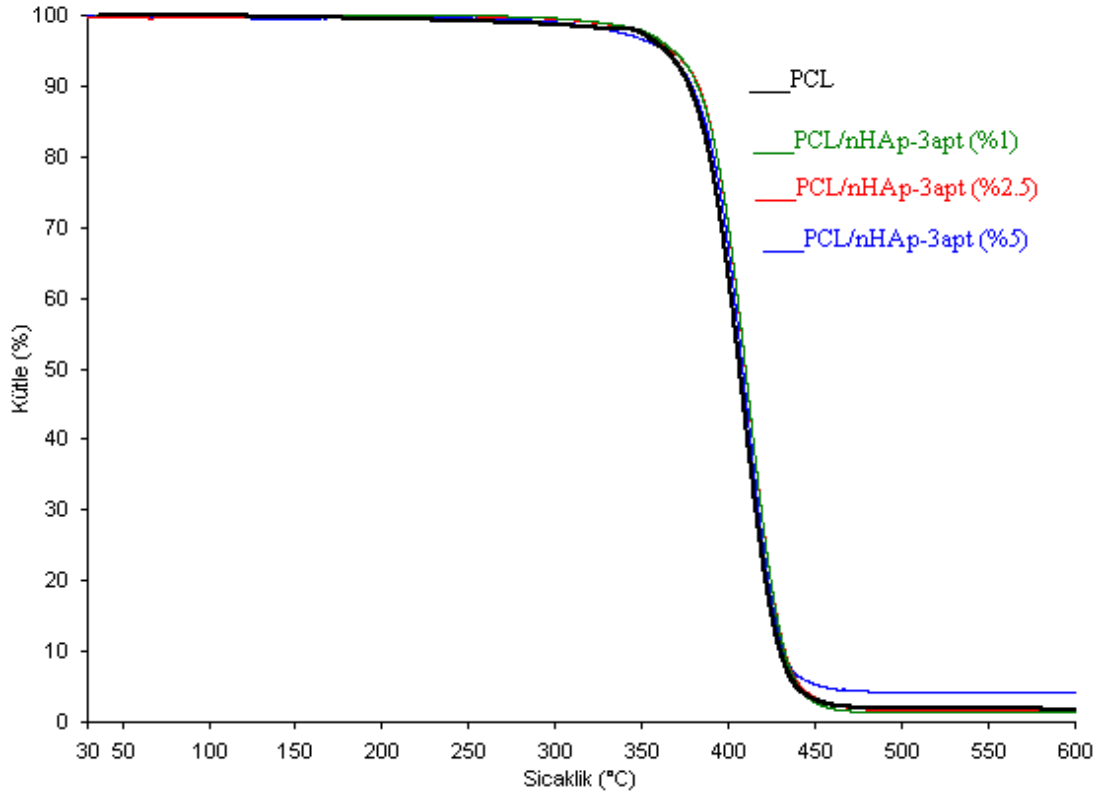


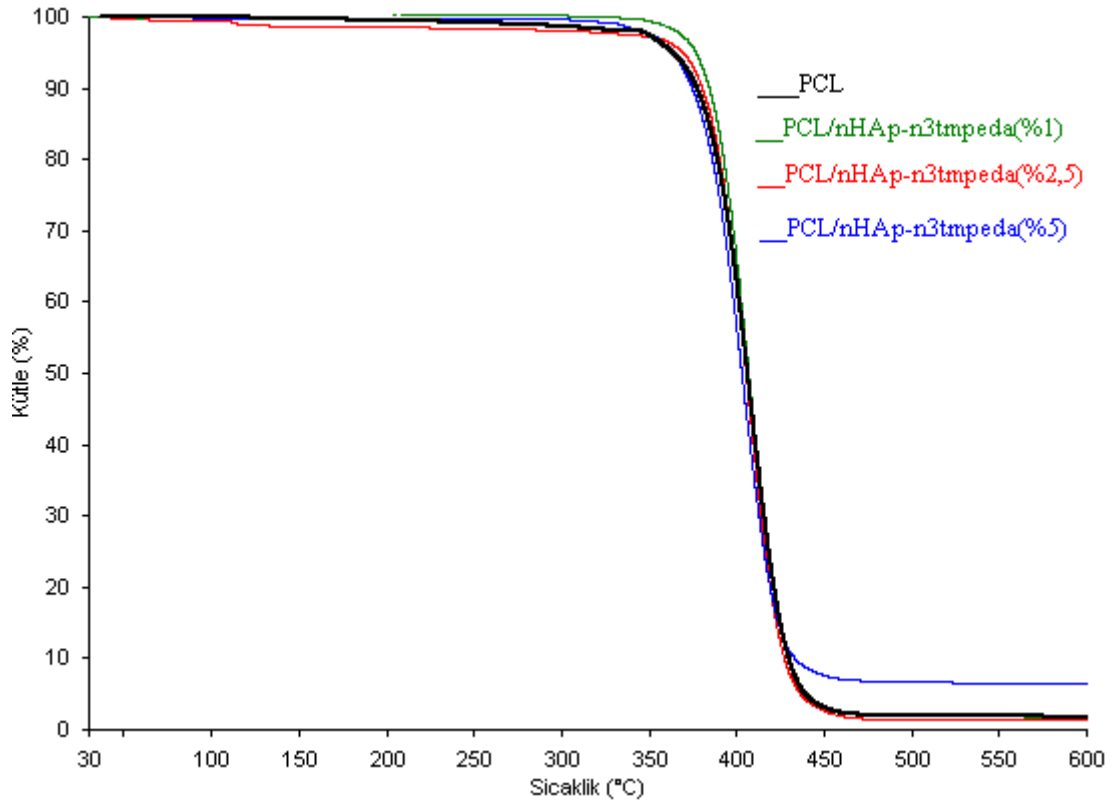
Şekil 3.45: PCL'ye ait TG ve d[TG] eğrileri.



Şekil 3.46: PCL ve PCL/nHAp nanokompozitlerine ait TG eğrileri.







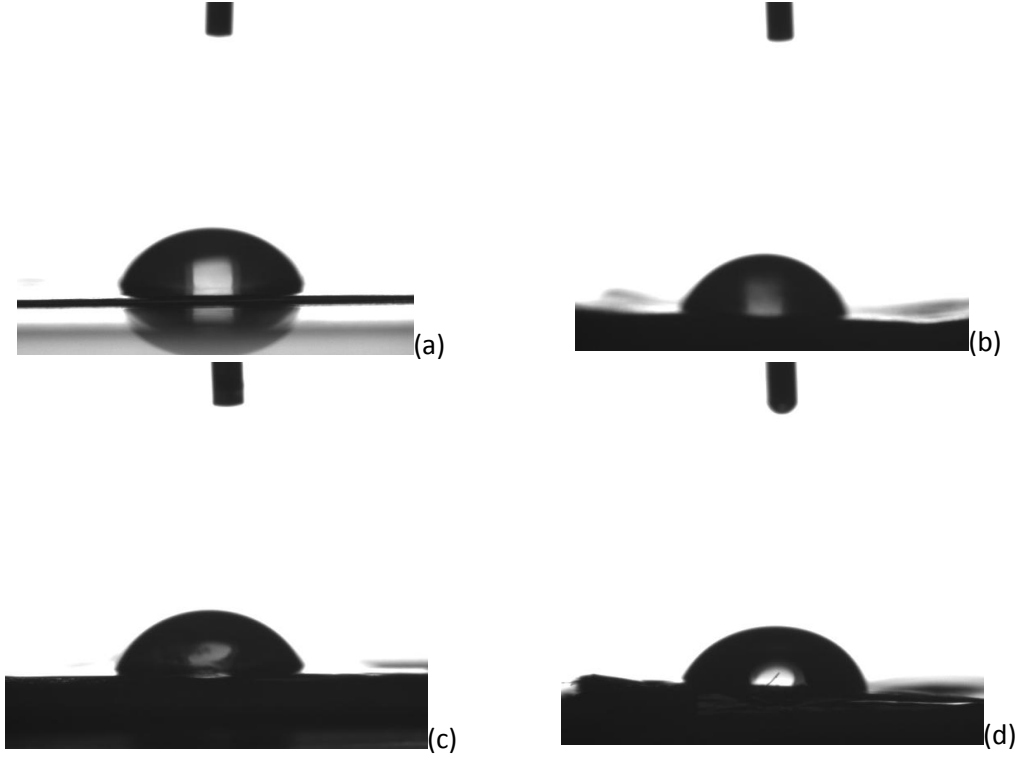
Şekil 3.49: PCL ve PCL/nHAp-n3tmpeda nanokompozitlerine ait TG eğrileri.

### 3.3.4 PCL Nanokompozitlerine Ait Optik Temas Açısı Analiz Sonuçları

PCL ve PCL nanokompozitlerinin temas açısı ölçüm sonuçları Tablo 3.10'da ve PCL, PCL/nHAp(%1), PCL/nHAp(%2.5) ve PCL/nHAp(%5) nanokompozitlerinin temas açısı ölçüm fotoğrafları Şekil 3.50'de verilmiştir. Saf PCL ve nanokompozitler sahip olduğu yüzey gruplarına göre farklı açılar göstermiştir.

**Tablo 3.10:** PCL ve nanokompozitlerinin optik temas açısı ölçümlerine ait verileri.

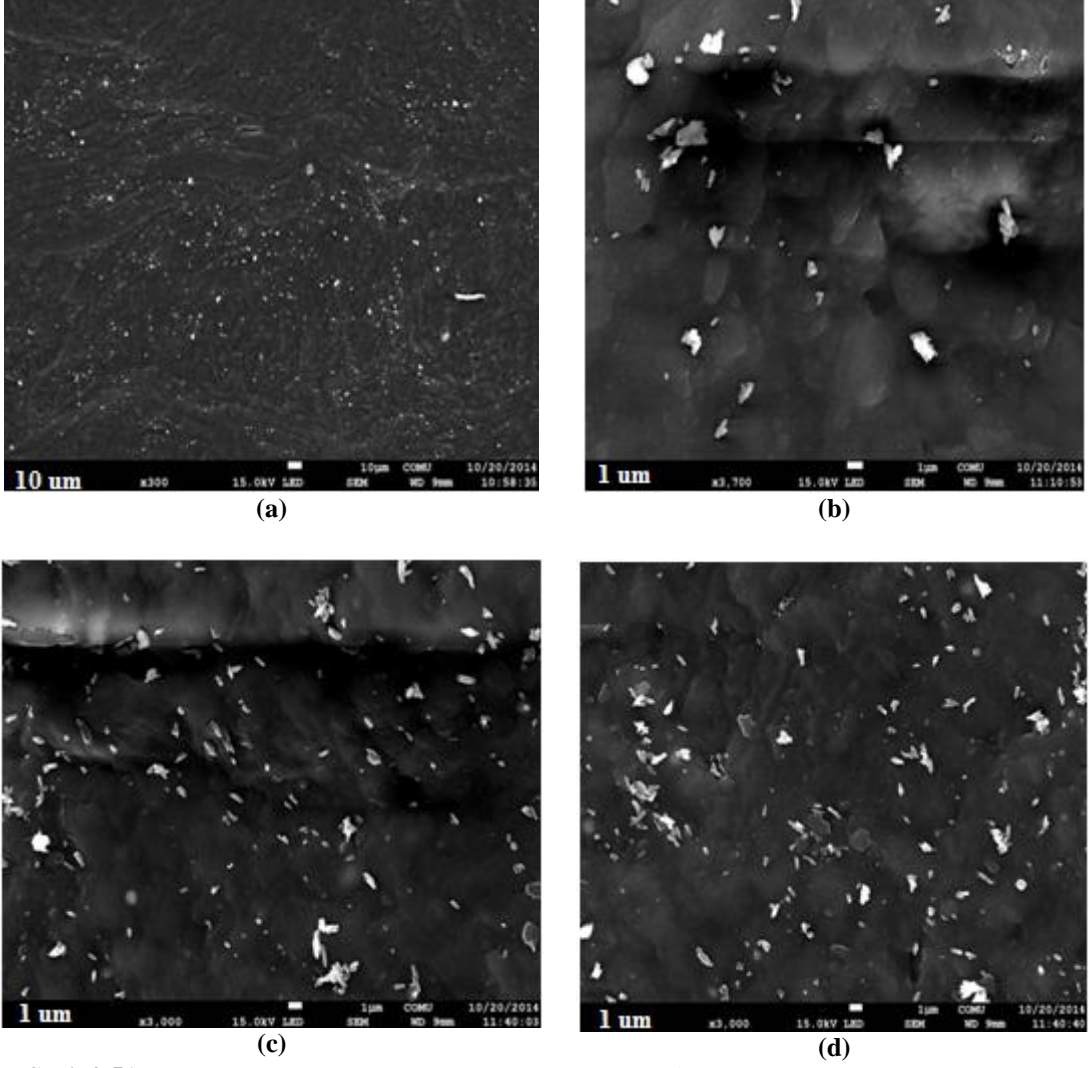
<b>Örnekler</b>	<b>Temas Açısı(°)</b>
PCL	66.20
PCL/nHAp (%1)	67.99
PCL/nHAp (%2.5)	70.54
PCL/nHAp (%5)	76.21
PCL/nHAp-3apt (%1)	68.62
PCL/nHAp-3apt (%2.5)	77.49
PCL/nHAp-3apt (%5)	80.08
PCL/nHAp-3cptms (%1)	75.10
PCL/nHAp-3cptms (%2.5)	75.31
PCL/nHAp-3cptms (%5)	80.17
PCL/nHAp-n3ctmseda (%1)	72.39
PCL/nHAp-n3ctmseda (%2.5)	79.54
PCL/nHAp-n3ctmseda (%5)	82.19



**Şekil 3.50:** PCL (a), PCL/nHAp(%1) (b), PCL/nHAp(%2.5) (c) ve PCL/nHAp(%5) (d) nanokompozitlerine ait temas açısı fotoğrafları.

### 3.3.5 PCL Nanokompozitlerine Ait SEM Analiz Sonuçları

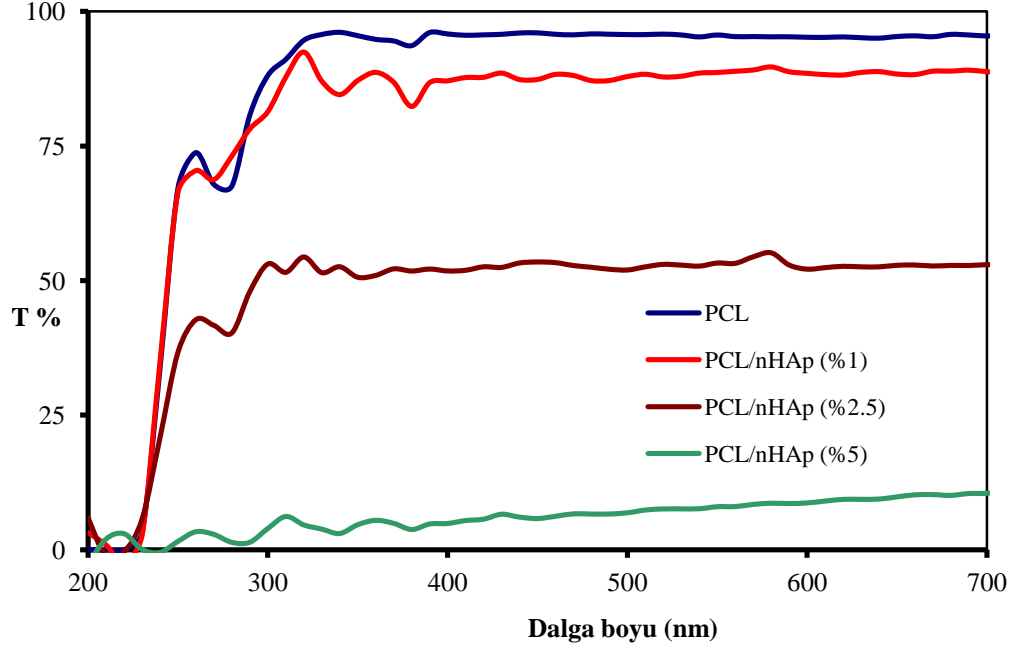
PCL nanokompozitlerine ait SEM fotoğrafları Şekil 3.51’de verilmiştir. SEM fotoğrafları %2.5 dolgu maddesi içeren nanokompozitlere aittir. Fotoğraflar 1.0-10  $\mu\text{m}$  aralığında çekilmiştir. İncelenen SEM fotoğraflarında nHAp nanopartiküllerinin PAA matriksi içerisinde dağılımının olduğu gözlenmektedir.



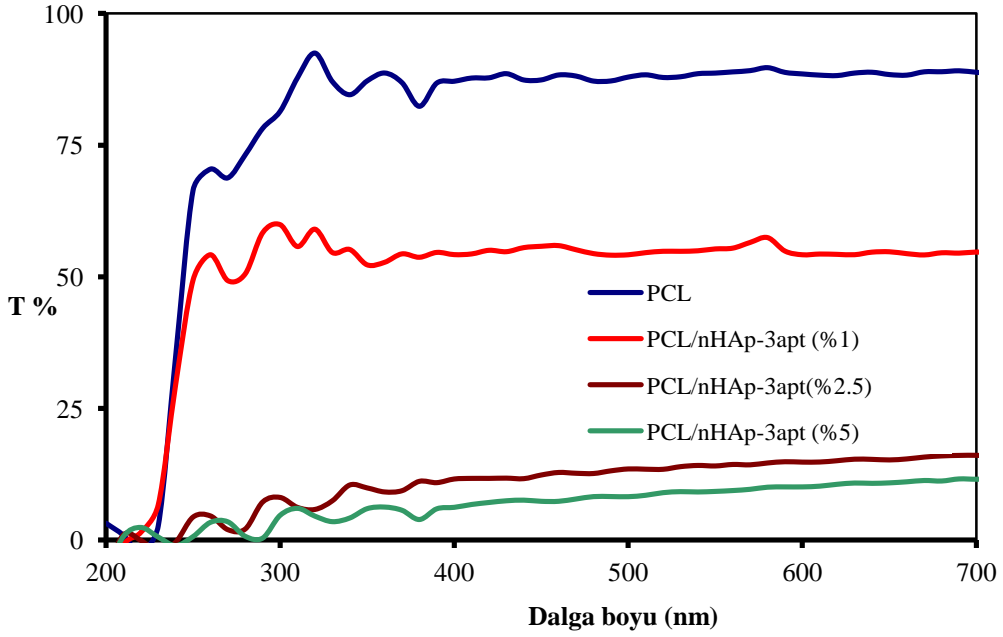
Şekil 3.51: PCL/nHAp (%2.5) (a), PCL/nHAp-3apt (%2.5) (b), PCL/nHAp-3cptms (%2.5) (c) ve PCL/nHAp-n3tmpeda (%2.5) (d) nanokompozitlerinin SEM fotoğrafları.

### 3.3.6 PCL Nanokompozitlerine Ait UV-Visible Analiz Sonuçları

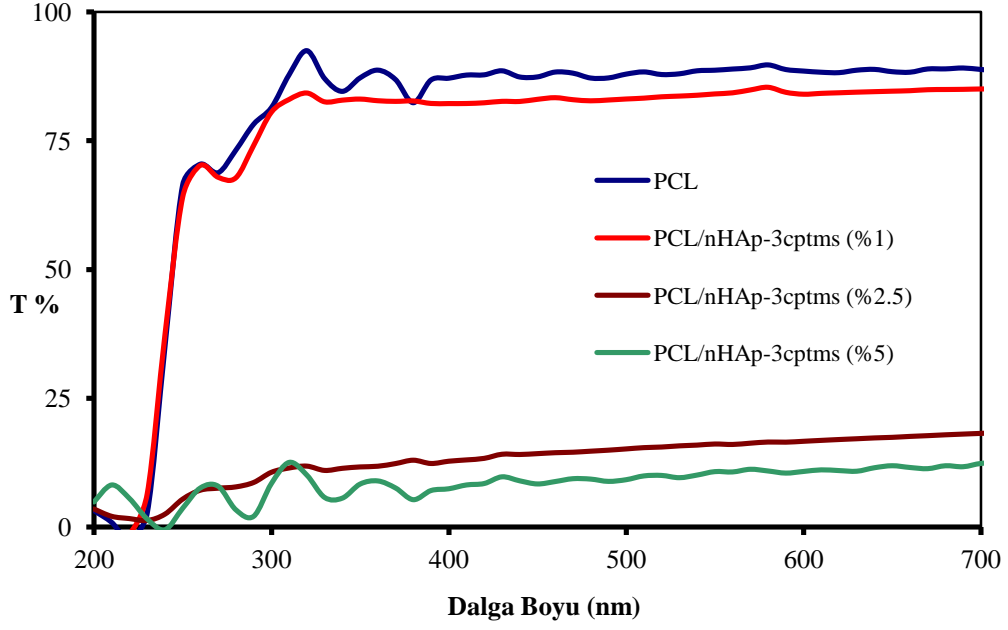
PCL ve nanokompozitlerinin optik transmittanslarına ait spektrumlar Şekil 3.52–3.55’de verilmiştir. 200–700 nm dalga boyları arasında yapılan analizler UV-Visible spektrofotometre kullanılarak yapılmıştır. Nanokompozitlerin ışık geçirgenlikleri artan dolgu maddelerine bağlı olarak hem UV hem de görünür bölgede azaldığı görülmektedir.



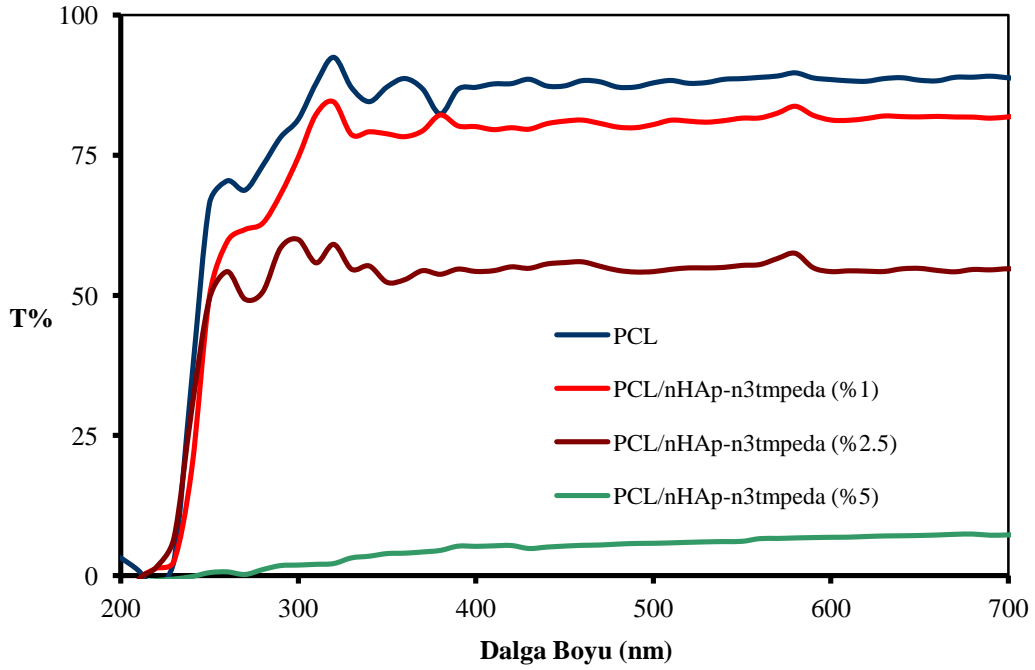
Şekil 3.52: PCL ve PCL/nHAp nanokompozitlerine ait Uv-Visible spektrumları.



Şekil 3.53: PCL ve PCL/nHAp-3apt nanokompozitlerine ait UV-Visible spektrumları.



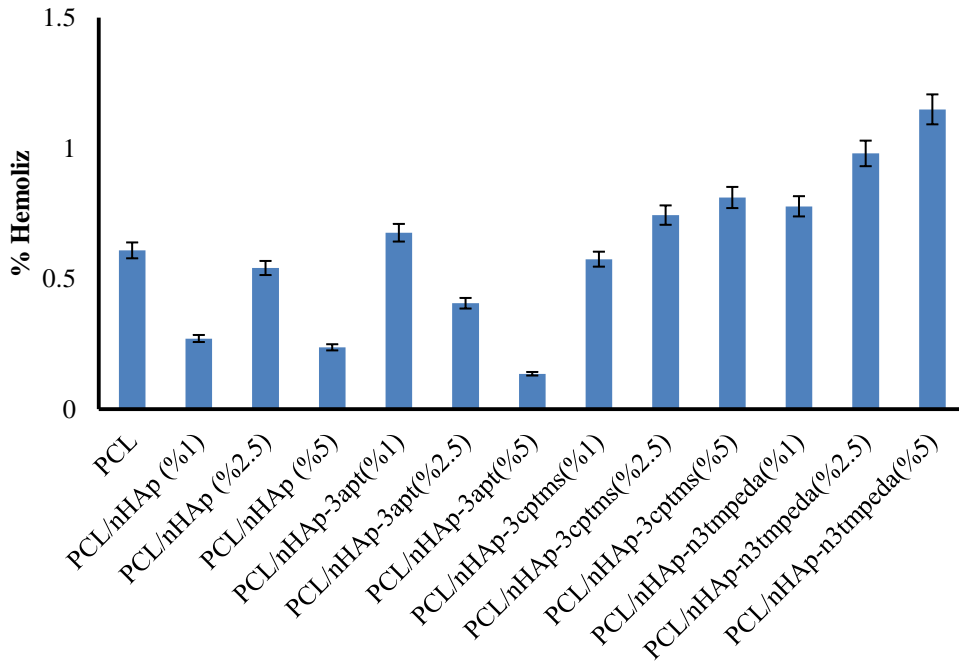
Şekil 3.54: PCL ve PCL/nHAp-3cptms nanokompozitlerine ait UV-Visible spektrumları.



Şekil 3.55: PCL ve PCL/nHAp-n3tmpeda nanokompozitlerine ait UV-Visible spektrumları.

### 3.3.7 PCL ve Nanokompozitlerine Ait Homouyumluluk Analiz Sonuçları

İnsan kan hücrelerinin film şeklinde sentezlenmiş saf PCL ve nanokompozitlerle muamele edilerek biyoyumlulukları ve homouyumlulukları araştırılmıştır. Analiz sonucu elde edilen veriler Şekil 3.56’te verilmiştir. PCL ve tüm nanokompozitlerin % 5’in altında hemoliz yüzdesine sahip oldukları görülmüştür.



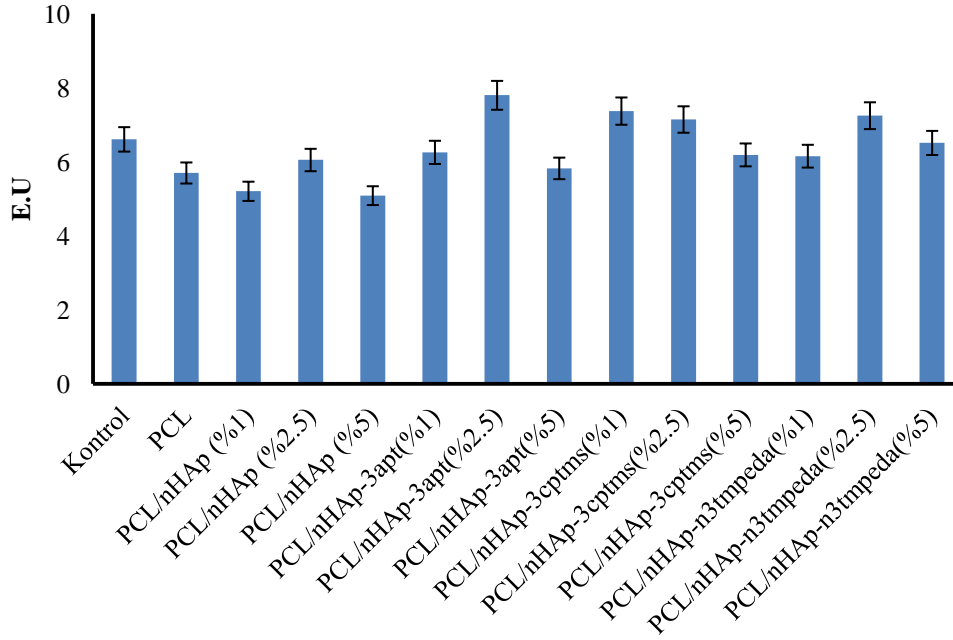
Şekil 3.56: PCL ve PCL nanokompozitlerinin homouyumluluk sonuçları.

### 3.3.8 PCL Nanokompozitlerinin Antioksidan Enzim Aktivitesi Üzerine Etkisi

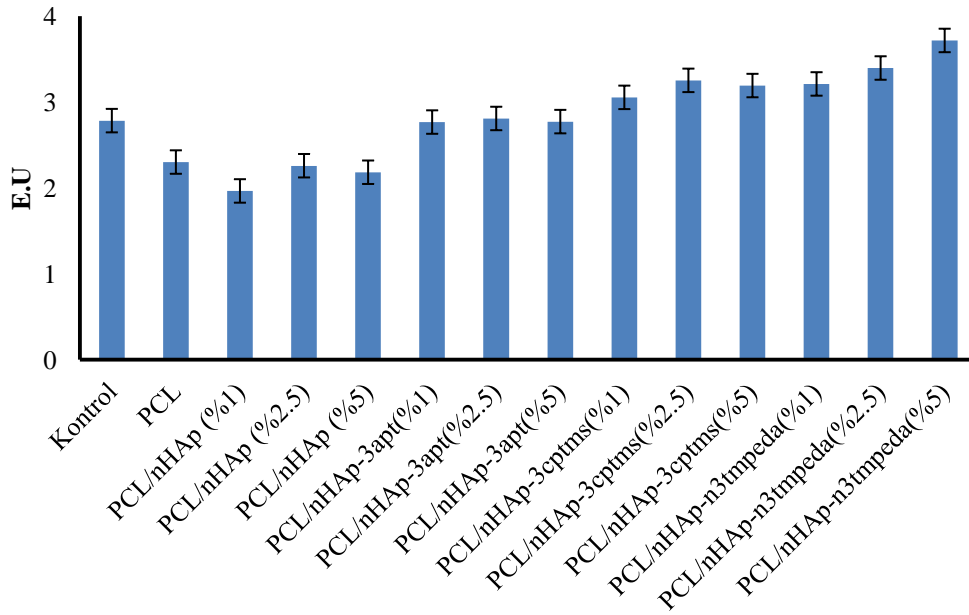
Çözücü ortamında etkileştirme yöntemiyle sentezlenmiş nanokompozitlerin biyoyumluluklarını ölçmek için enzim aktiviteleri üzerine etkileri araştırılmıştır. PCL ve nanokompozit filmlerinin, bu test için kullanılan antioksidan enzimlerin üzerine olan etkileri sırasıyla, katalaz (CAT) (Şekil 3.57), glutatyon-s transferaz (GST) (Şekil 3.58), glutatyon peroksidaz (GSH-Px) (Şekil 3.59), glutatyon 6-fosfat



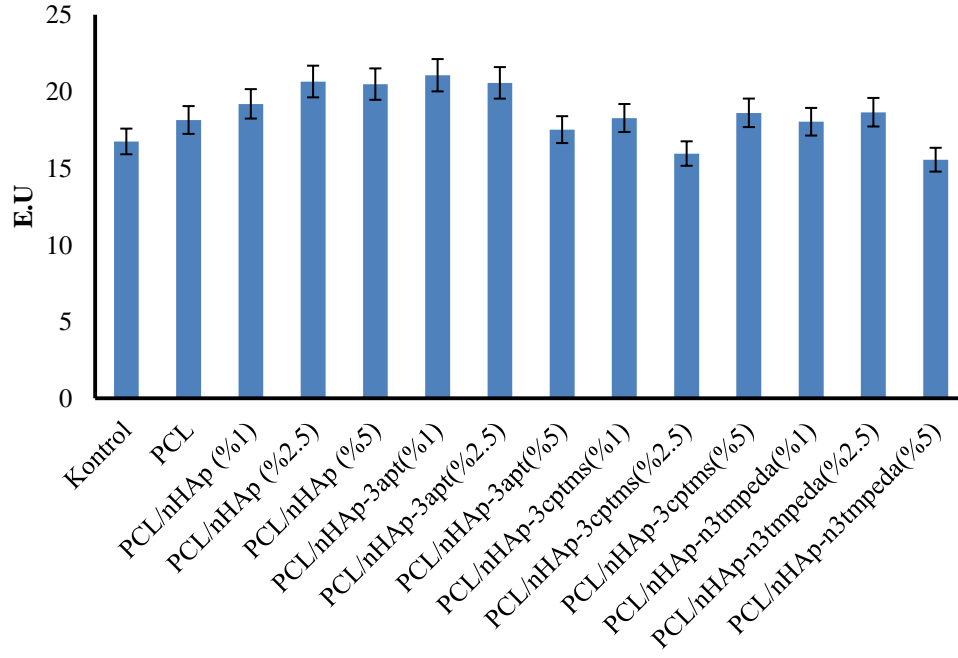
dehidrogenaz (G6PD) (Şekil 3.60), glutatyon redüktaz (GR) (Şekil 3.61) ve süperoksit dismutaz (SOD) (Şekil 3.62) kontrol grubu ile karşılaştırılmalı olarak verilmiştir.



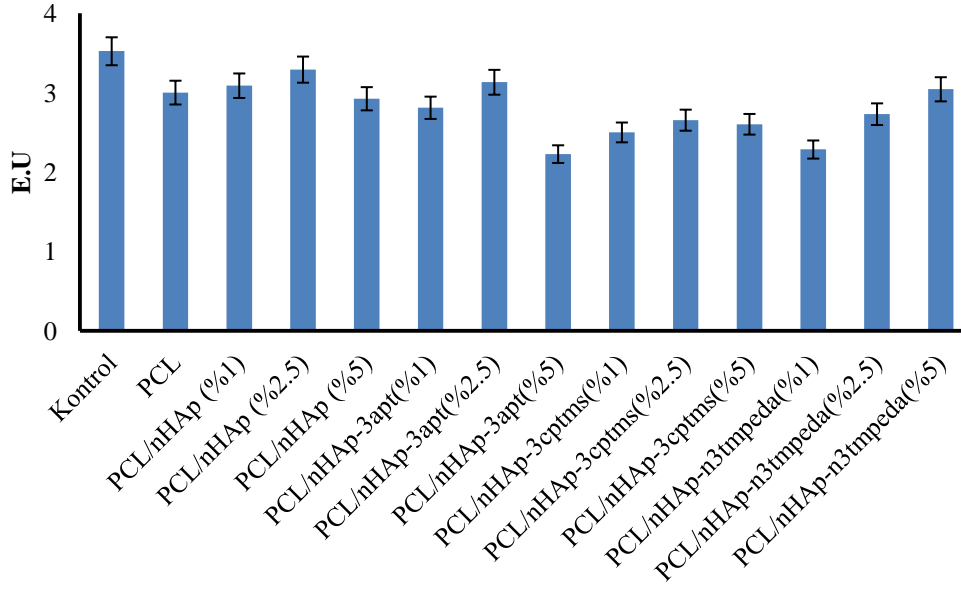
Şekil 3.57: PCL ve nanokompozitlerinin CAT aktivitesine etkileri.



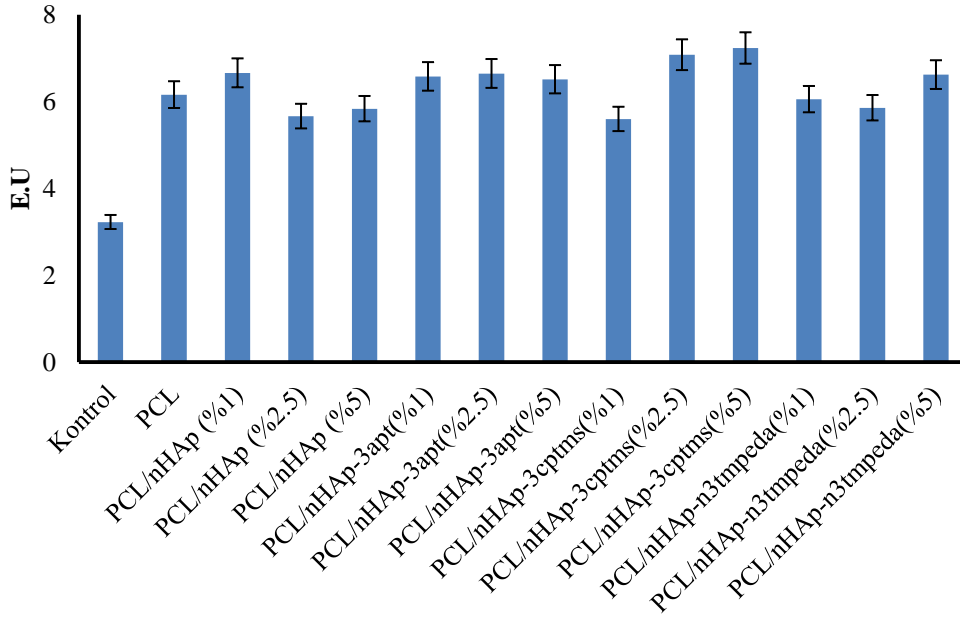
Şekil 3.58: PCL ve nanokompozitlerinin GST aktivitesine etkileri.



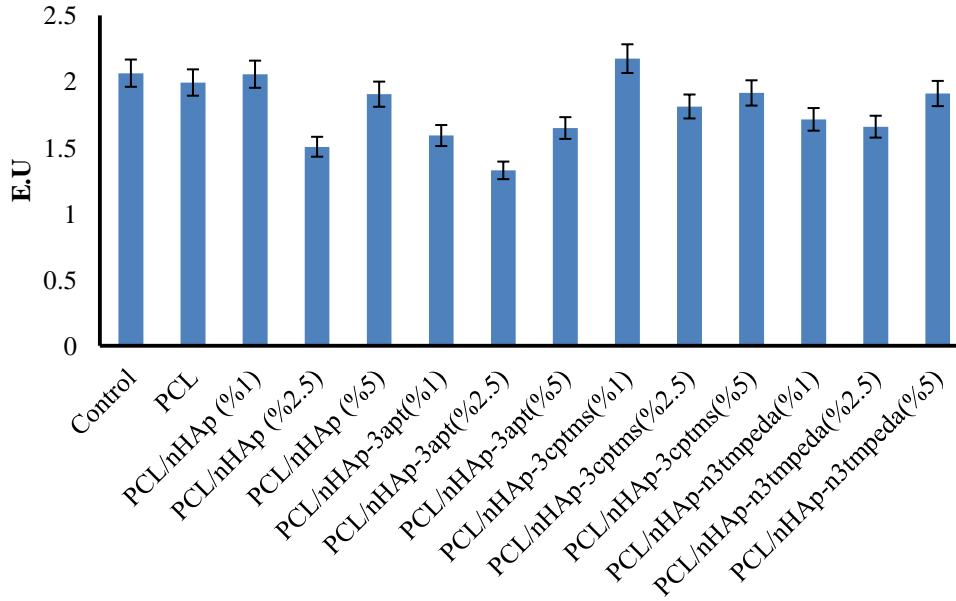
Şekil 3.59: PCL ve nanokompozitelerinin GSH-Px aktivitesine etkileri.



Şekil 3.60: PCL ve nanokompozitelerinin G6PD aktivitesine etkileri.



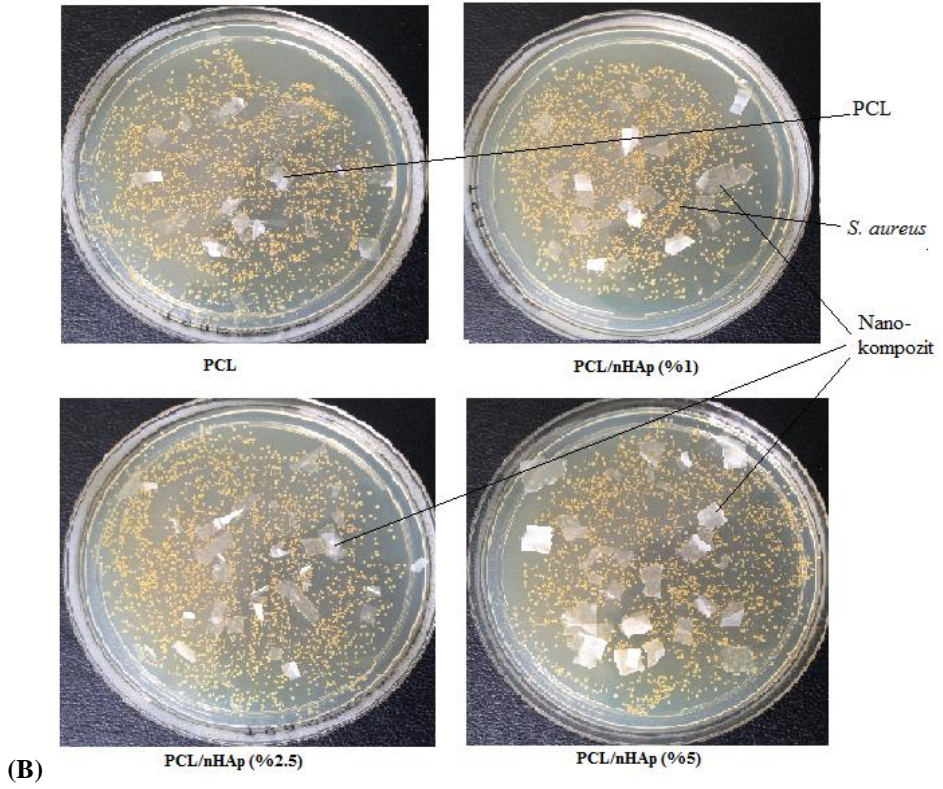
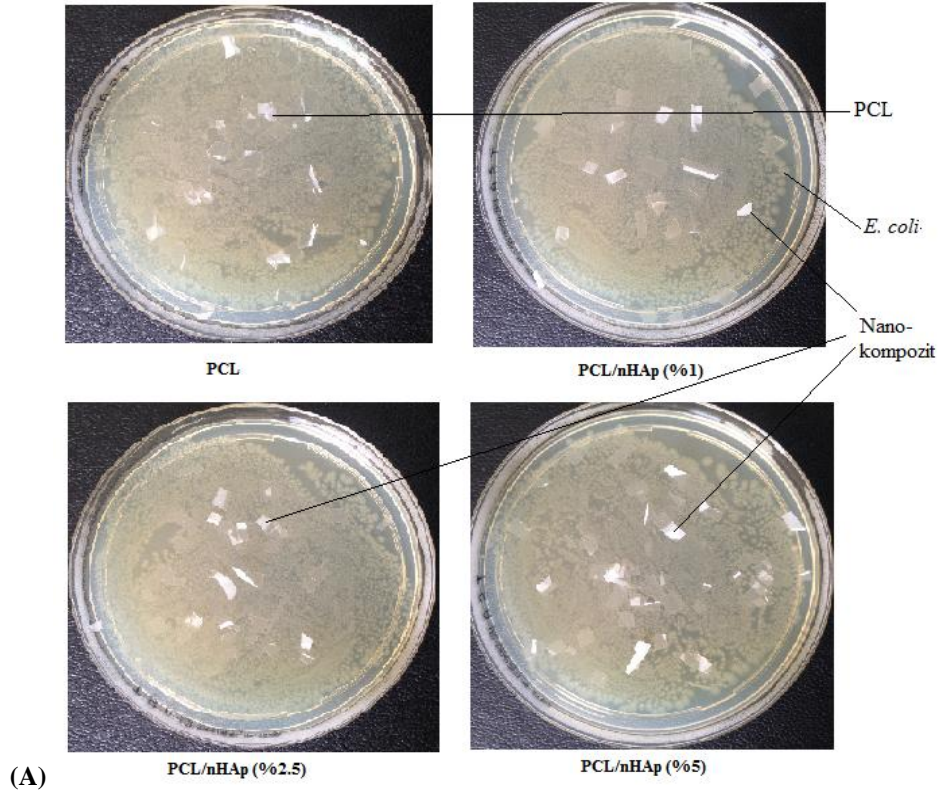
Şekil 3.61: PCL ve nanokompozitlerinin GR aktivitesine etkileri.



Şekil 3.62: PCL ve nanokompozitlerinin SOD aktivitesine etkileri.

### 3.3.9 PCL ve Nanokompozitlerinin Antibakteriyel Aktivite Sonuçları

Şekil 3.63'te PCL ve bazı nanokompozitlerinin *Escherichia coli* ve *Staphylococcus aureus* bakterilerine karşı Antibakteriyel aktivitelerine ait fotoğraflar verilmiştir.

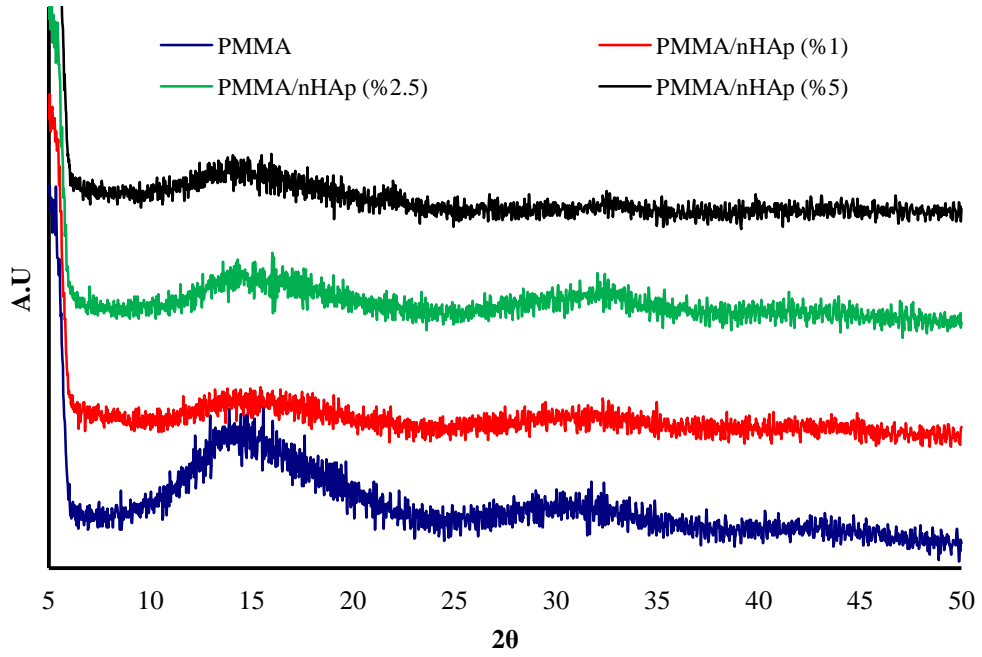


**Şekil 3.63:** PCL, PCL/nHAp(%1), PCL/nHAp(%2.5) ve PCL/nHAp(%5) nanokompozitlerinin *Escherichia coli* (A) ve *Staphilacoccus aureus* (B) bakterilerine karşı Antibakteriyel aktiviteleri.

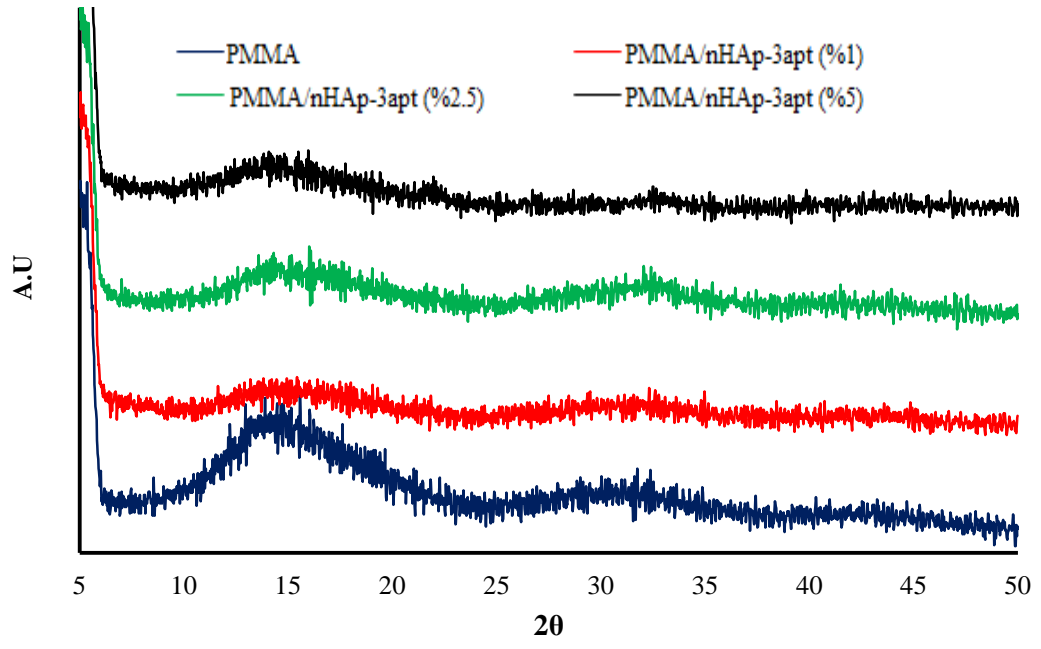
### 3.4 PMMA ve PMMA Nanokompozitlerinin Karakterizasyonu

#### 3.4.1 PMMA Nanokompozitlerinin XRD Analiz Sonuçları

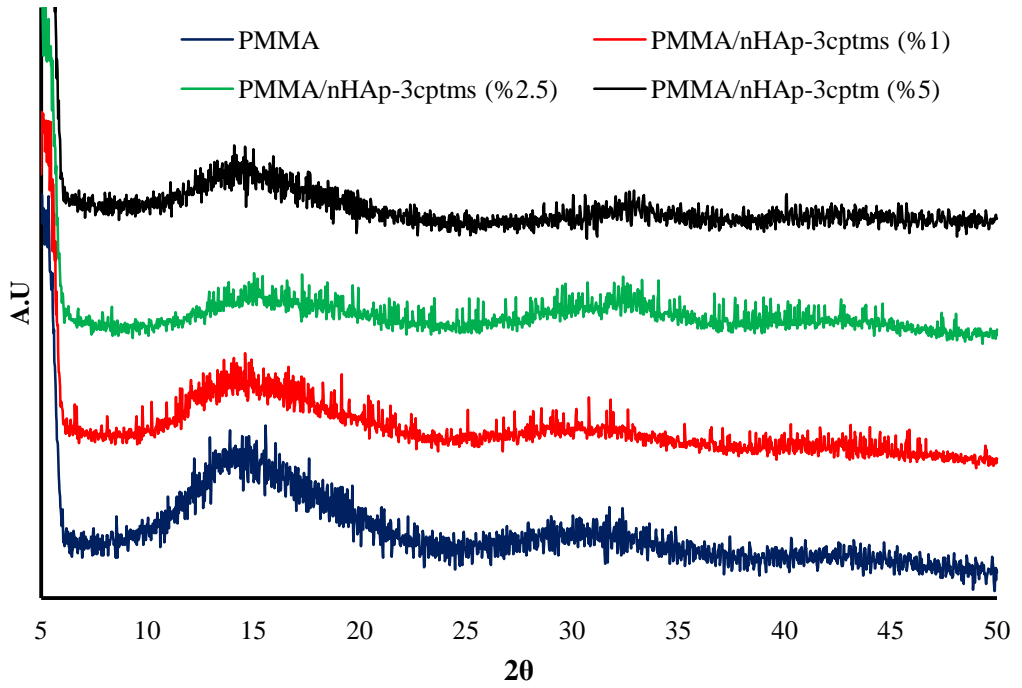
Eritme metodu ile sentezlenen PMMA ve PMMA/nHAp/modifiye nHAp nanokompozit filmlerinin XRD desenleri Şekil 3.64-3.67’de verilmektedir. Verilen XRD desenlerinden, dolgu maddelerinin (nHAp, nHAp-3apt, nHAp-3cptms ve nHAp-n3tmpeda) PMMA matrisinin içerisinde homojen bir şekilde dağıldığı görülmektedir.



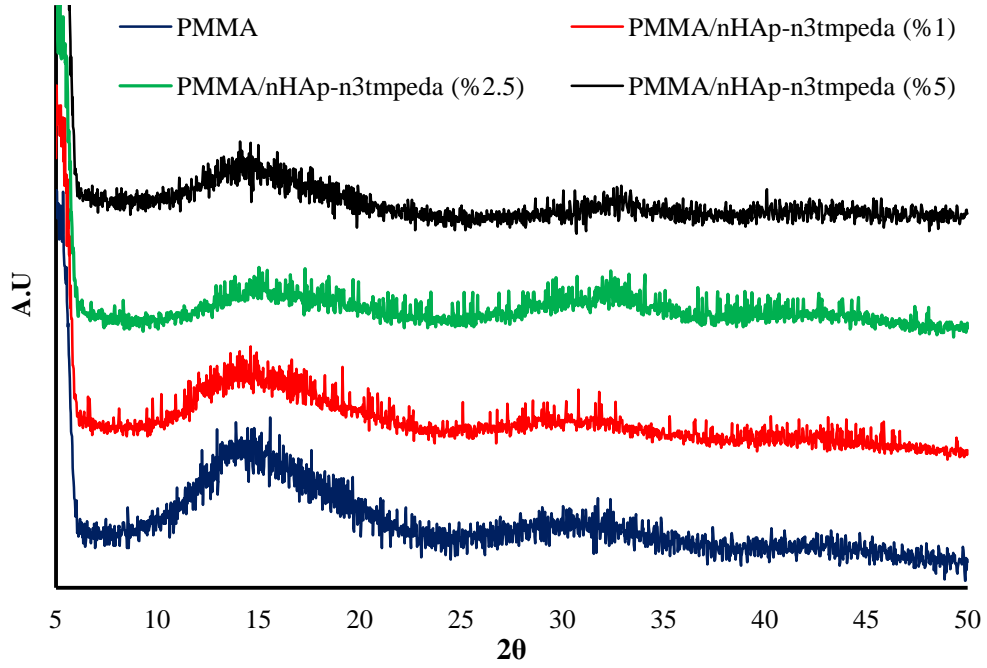
Şekil 3.64: PMMA ve PMMA/nHAp nanokompozitlerinin XRD desenleri.



Şekil 3.65: PMMA ve PMMA/nHAp-3apt nanokompozitelerinin XRD desenleri.



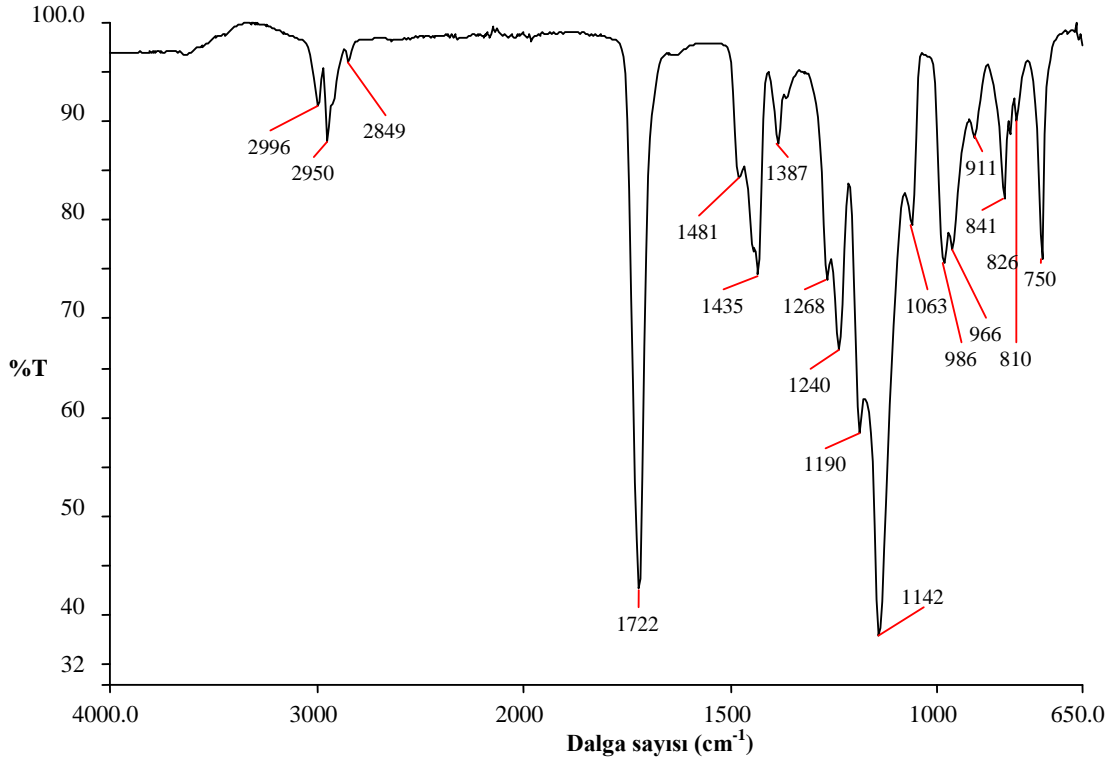
Şekil 3.66: PMMA ve PMMA/nHAp-3cptms nanokompozitelerinin XRD desenleri.



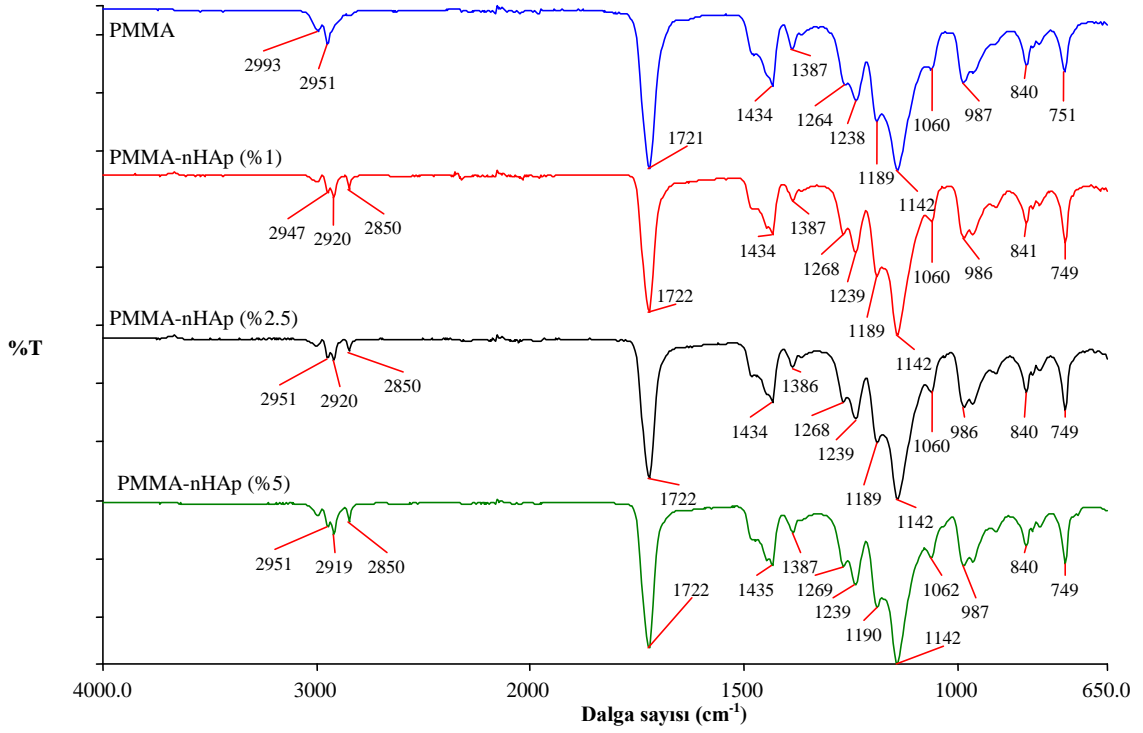
Şekil 3.67: PMMA ve PMMA/nHAp-n3tmpeda nanokompozitlerinin XRD desenleri.

### 3.4.2 PMMA Nanokompozitlerinin FTIR-ATR Analiz Sonuçları

PMMA ve PMMA nanokompozitlerinin FTIR-ATR spektrumları 650–4000  $\text{cm}^{-1}$  aralığında alınmıştır. PMMA ve nanokompozitlerine ait spektrumları karşılaştırmalı olarak Şekil 3.68–3.72’de sunulmaktadır. Şekil 3.69-3.72’de verilen grafiklerde, nanokompozitlerde yeni piklerin varlığı ve bazı piklerde kaymalar tespit edilmiştir.

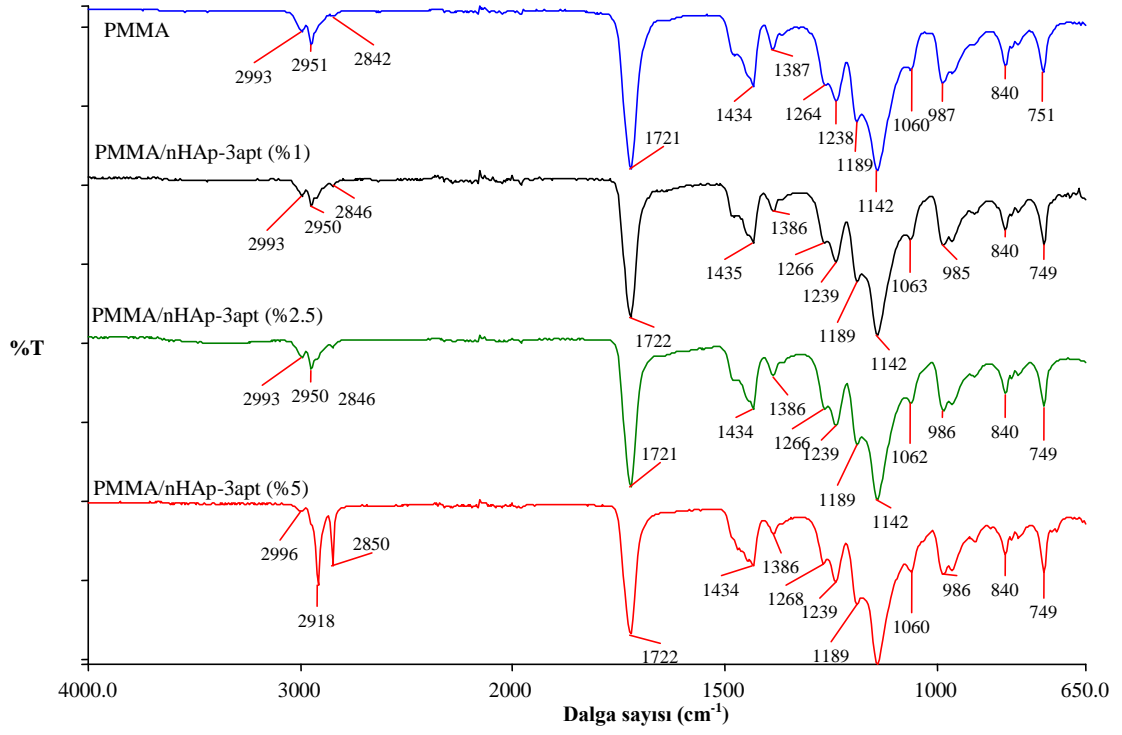


Şekil 3.68: PMMA polimerine ait FTIR-ATR spektrumları.

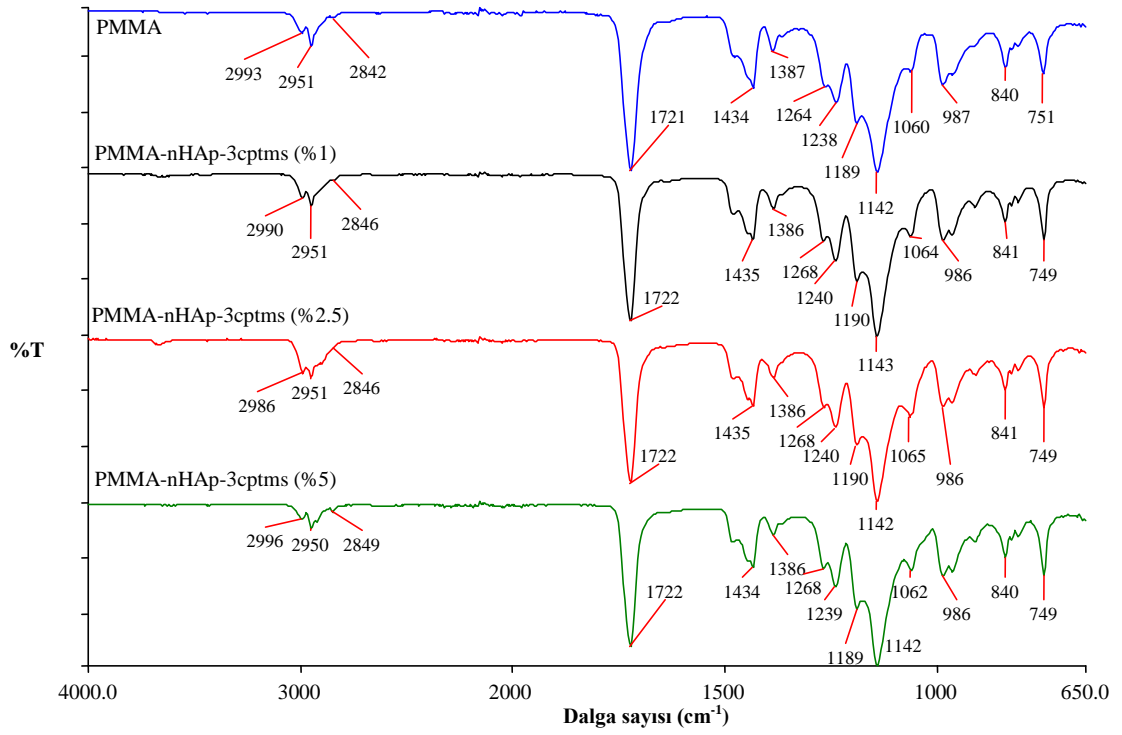


Şekil 3.69: PMMA ve PMMA/nHAp nanokompozitlerinin FTIR-ATR spektrumları.

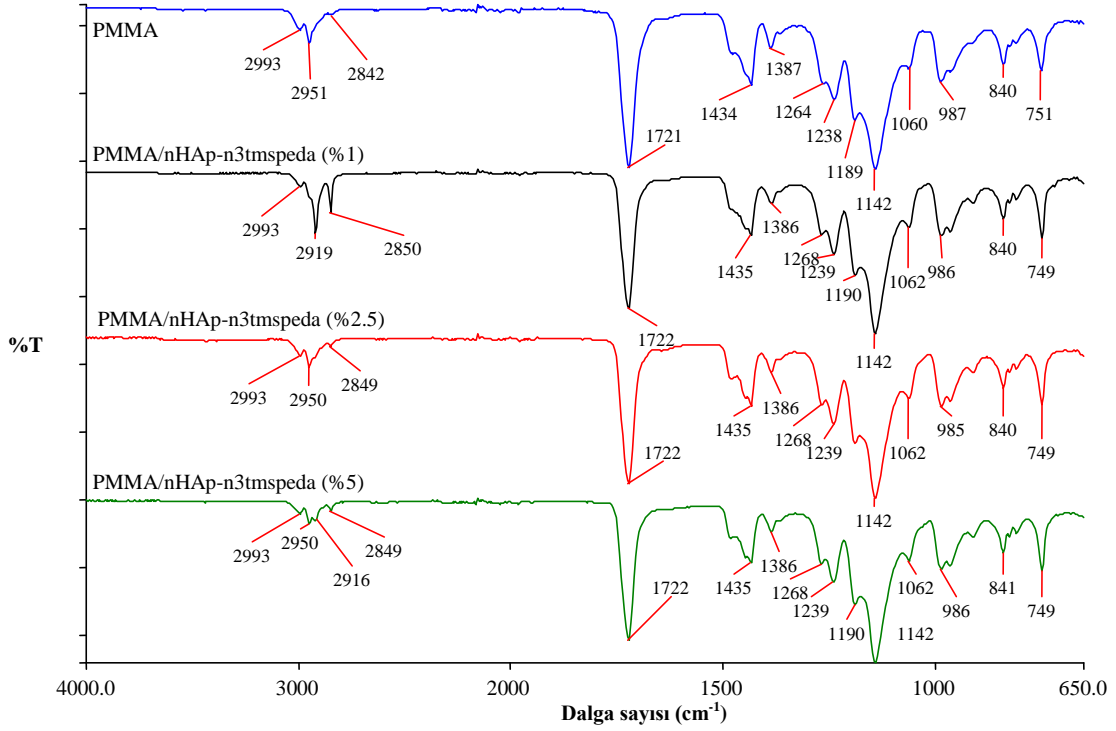




Şekil 3.70: PMMA ve PMMA/nHAp-3apt nanokompozitlerinin FTIR-ATR spektrumları.



Şekil 3.71: PMMA ve PMMA/nHAp-3cptms nanokompozitlerinin FTIR-ATR spektrumları.



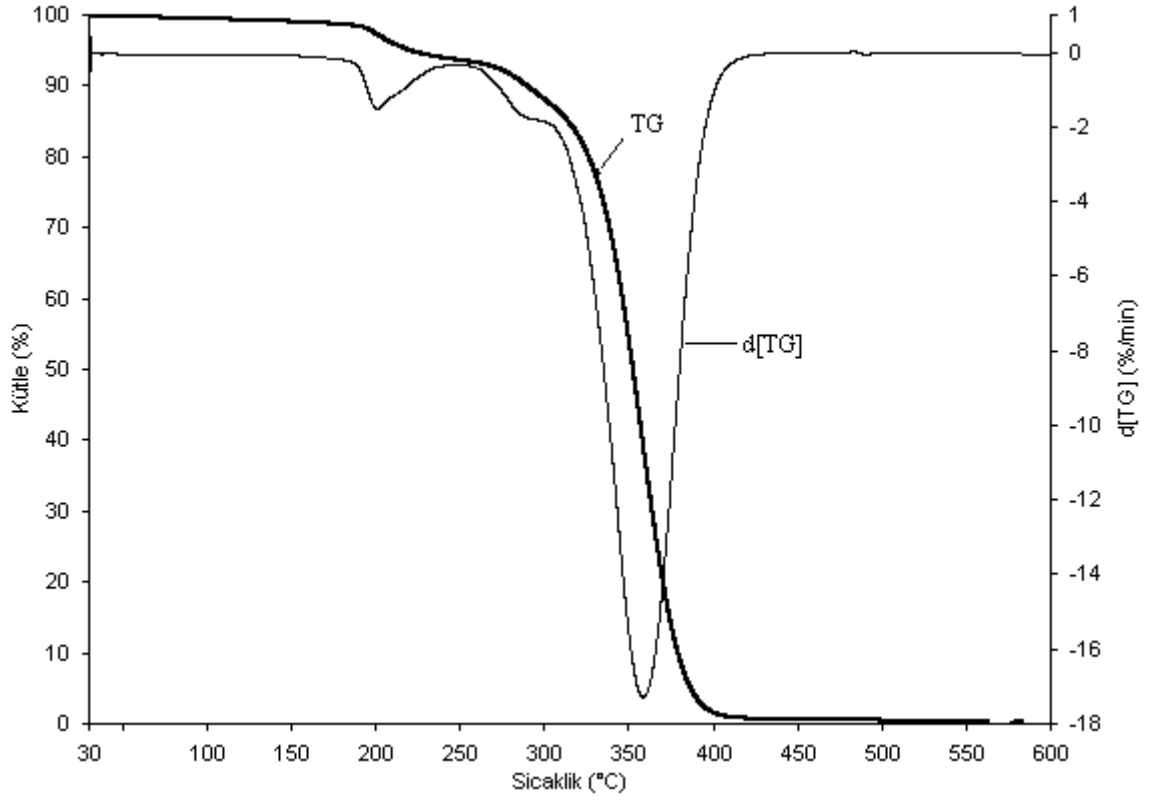
Şekil 3.72: PMMA ve PMMA/nHAp-n3tmspeda nanokompozitlerinin FTIR-ATR spektrumları.

### 3.4.3 PMMA Nanokompozitlerine Ait TG/d[TG] ve DSC Analiz Sonuçları

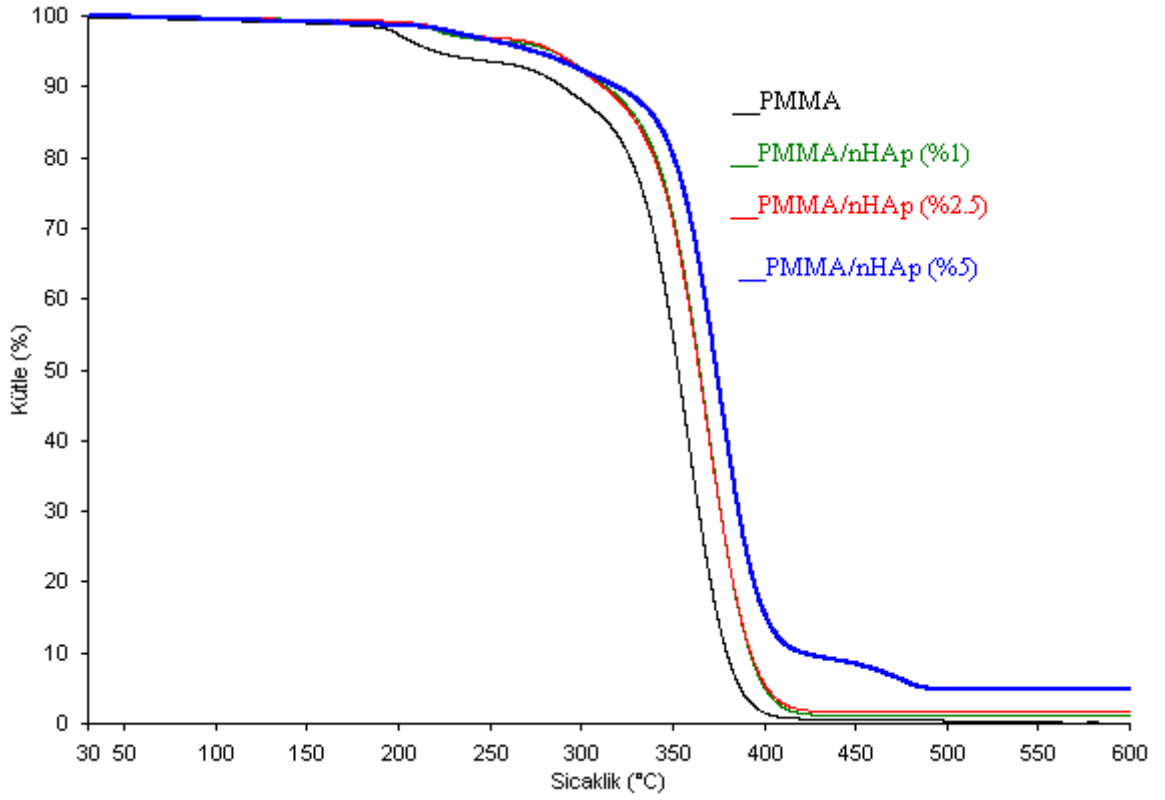
Eritme yöntemi ile sentezlenen film şeklindeki PMMA ve PMMA/nHAp/modifiye nHAp film nanokompozitlerinin termal analiz verileri Tablo 3.11’de, termogramları ise Şekil 3.73–3.77’te verilmektedir. Şekil 3.71’de sadece PMMA’ya TG ve türevi (d[TG]) verilmektedir. Şekil 3.73–3.77’te ise PMMA ve nanokompozitlerin karşılaştırmalı olarak sadece TG eğrileri gösterilmiştir. Termal kararlılıkları gösteren Tablo 3.11 incelendiğinde, tüm basamaklarda ısıya karşı dayanımlarında 64 °C’ye kadar bir iyileşme olduğu tespit edilmiştir.

**Tablo 3.11:** PMMA ve nanokompozitlerinin TG ve DSC eğrilerinden elde edilen verileri.

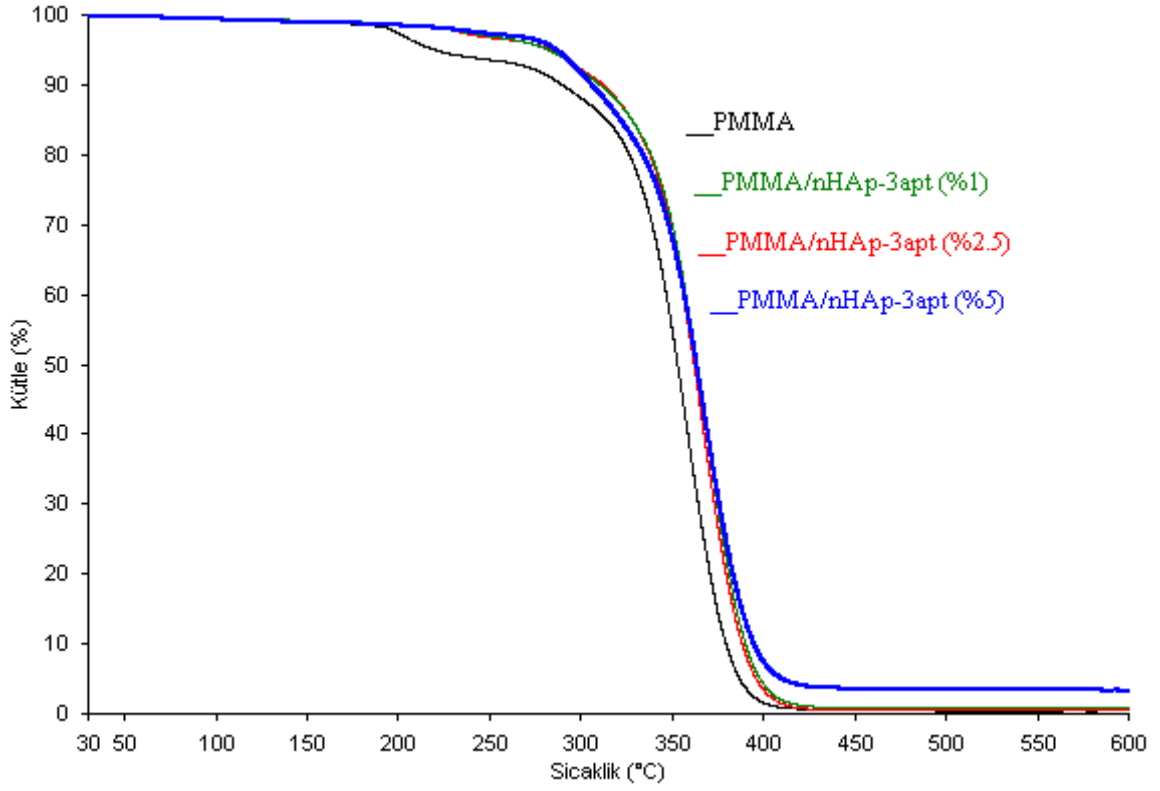
<b>Örnekler</b>	<b>T<sub>5</sub></b>	<b>T<sub>10</sub></b>	<b>T<sub>30</sub></b>	<b>T<sub>50</sub></b>	<b>T<sub>80</sub></b>	<b>Rezidü (%)</b>	<b>Tmax</b>	<b>T<sub>g</sub></b>
<b>PMMA</b>	220	290	339	353	371	0	359	98
<b>PMMA/nHAp (%1)</b>	284	313	352	365	383	1.20	370	103
<b>PMMA/nHAp (%2.5)</b>	285	312	351	364	383	1.63	371	108
<b>PMMA/nHAp (%5)</b>	273	319	361	374	395	4.73	378	106
<b>PMMA/nHAp-3apt(%1)</b>	282	310	350	363	381	0.93	368	108
<b>PMMA/nHAp-3apt(%2.5)</b>	283	312	349	362	379	0.48	368	107
<b>PMMA/nHAp-3apt(%5)</b>	286	306	348	364	384	3.28	371	110
<b>PMMA/nHAp-3cptms(%1)</b>	246	297	343	357	375	1.32	364	101
<b>PMMA/nHAp-3cptms(%2.5)</b>	289	316	347	359	377	1.38	365	101
<b>PMMA/nHAp-3cptms(%5)</b>	287	367	393	405	424	3.62	373	103
<b>PMMA/nHAp-n3tmpeda(%1)</b>	271	314	352	367	386	1.35	370	105
<b>PMMA/nHAp-n3tmpeda (%2.5)</b>	289	321	356	368	386	1.65	365	106
<b>PMMA/nHAp-n3tmpeda (%5)</b>	305	334	361	373	393	4.28	377	111



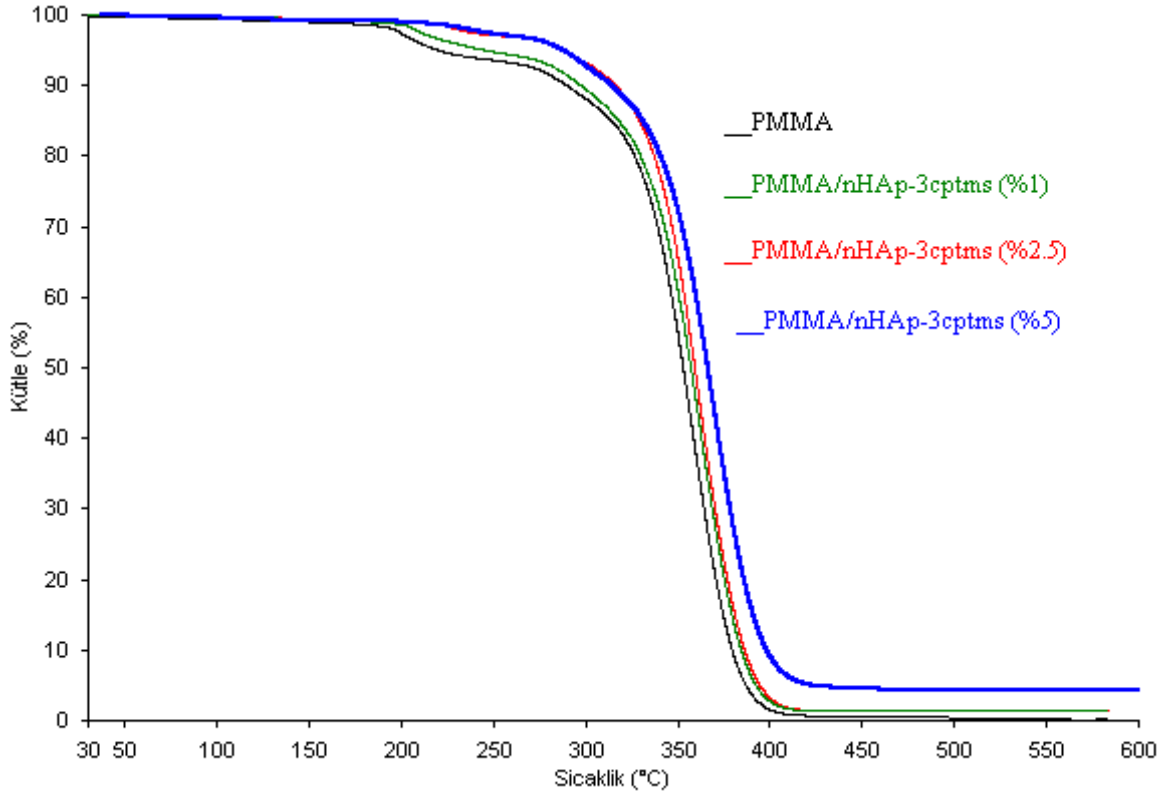
Şekil 3.73: PMMA polimerinin TG ve d[TG] eğrileri.



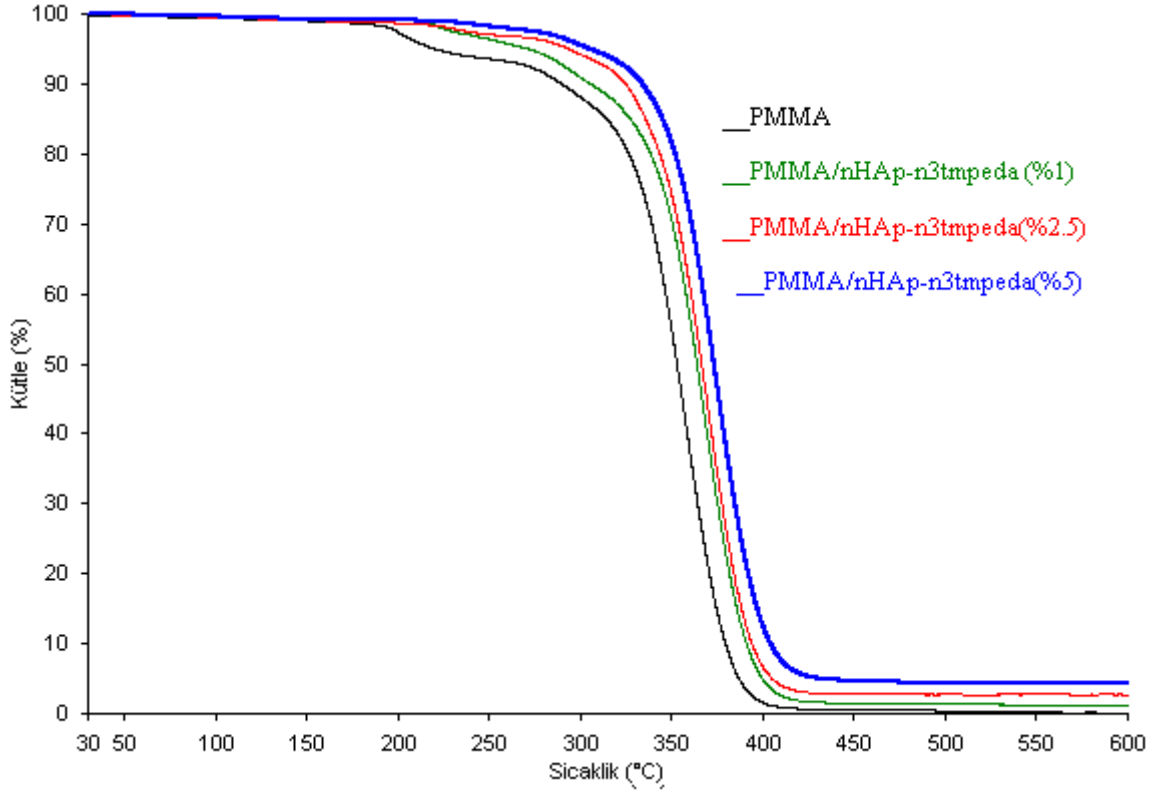
Şekil 3.74: PMMA ve PMMA/nHAp nanokompozitlerinin TG eğrileri.



Şekil 3.75: PMMA ve PMMA/nHAp-3apt nanokompozitlerinin TG eğrileri.



Şekil 3.76: PMMA ve PMMA/nHAp-3cptms nanokompozitlerinin TG eğrileri.



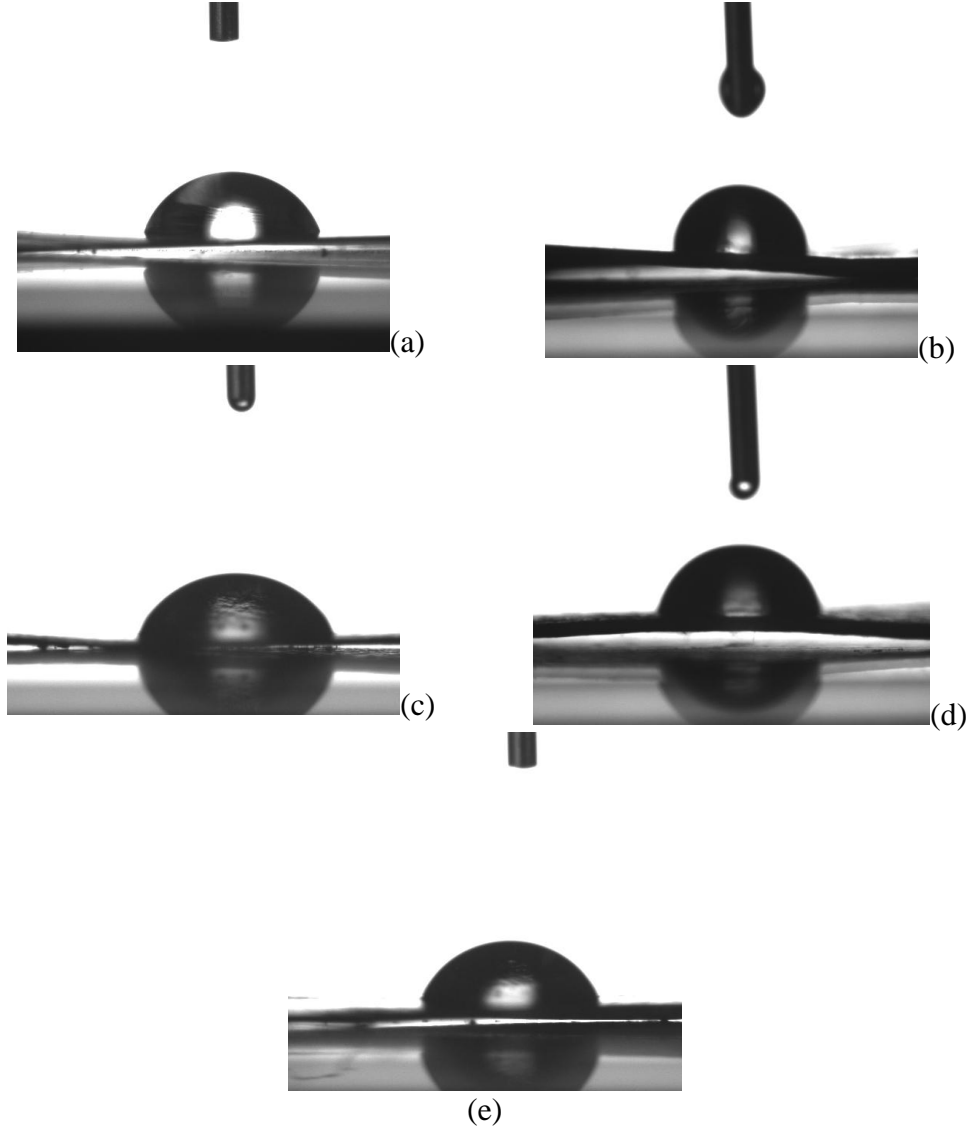
Şekil 3.77: PMMA ve PMMA/nHAp-n3tmpeda nanokompozitlerinin TG eğrileri.

#### 3.4.4 PMMA Nanokompozitlerine Ait Optik Temas Açısı Analiz Sonuçları

PMMA ve PMMA'ya ait nanokompozitlerin temas açısı ölçüm sonuçları Tablo 3.12'de ve PMMA, PMMA/nHAp(5%), PMMA/nHAp-3apt(5%), PMMA/nHAp-3cptms(5%) ve PMMA/n3tmpeda(5%) nanokompozitlerinin temas açısı ölçüm fotoğrafları Şekil 3.78'de verilmiştir. Hidrofilik bir yüzeye sahip olan PMMA'nın temas açısı  $63.75^\circ$  olarak ölçülmüştür.

**Tablo 3.12:** PMMA ve nanokompozitlerinin optik temas açısı ölçümlerine ait veriler.

<b>Örnekler</b>	<b>Temas Açısı(°)</b>
PMMA	63.75
PMMA/nHAp (%1)	64.09
PMMA/nHAp (%2.5)	72.65
PMMA/nHAp (%5)	92.14
PMMA/nHAp-3apt (%1)	85.45
PMMA/nHAp-3apt (%2.5)	77.25
PMMA/nhHAp-3apt (%5)	79.41
PMMA/nHAp-n3tmspeda (%1)	82.39
PMMA/ nHAp-n3tmspeda (%2.5)	80.31
PMMA/ nHAp-n3tmspeda (%5)	91.27
PMMA/nHAp-3cptms (%1)	75.16
PMMA/ nHAp-3cptms (%2.5)	78.42
PMMA/ nHAp-3cptms (%5)	81.39

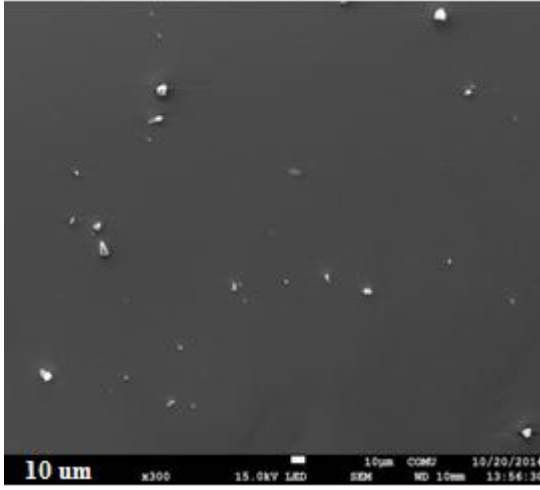


**Şekil 3.78:** PMMA ve bazı PMMA nanokompozitlerinin temas fotoğrafları; (a) PMMA, (b) PMMA/nHAp(%5) , (c) PMMA/nHAp-3apt(%5), (d) PMMA/nHAp-3cptms(%5) ve (e) PMMA/n3tmpeda(%5).

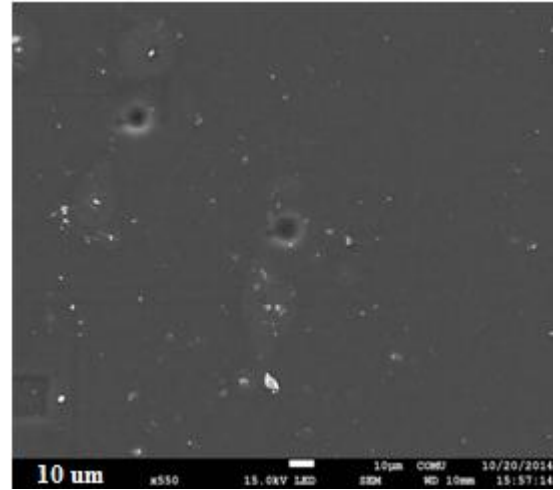
### 3.4.5 PMMA Nanokompozitlerine Ait SEM Analiz Sonuçları

PMMA nanokompozitlerine ait SEM fotoğraflarından bazıları Şekil 3.79'da verilmiştir. PMMA nanokompozitlerinin SEM fotoğrafları 1-10  $\mu\text{m}$  aralığında çekilmiştir.

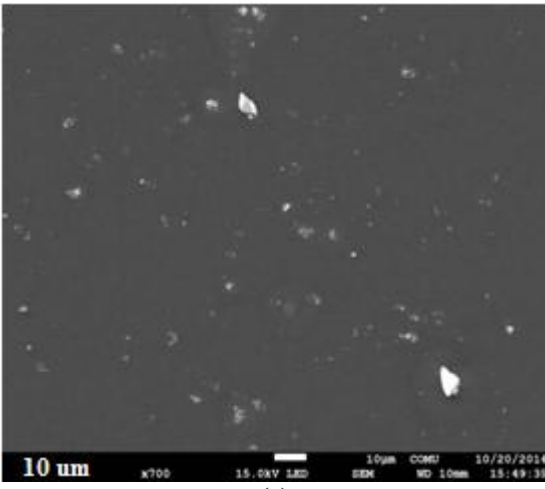




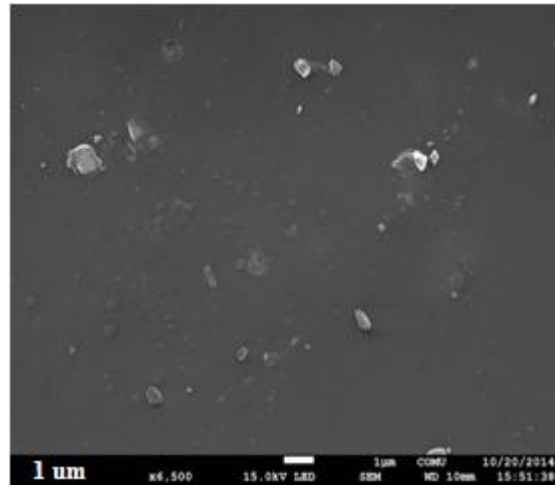
(a)



(b)



(c)

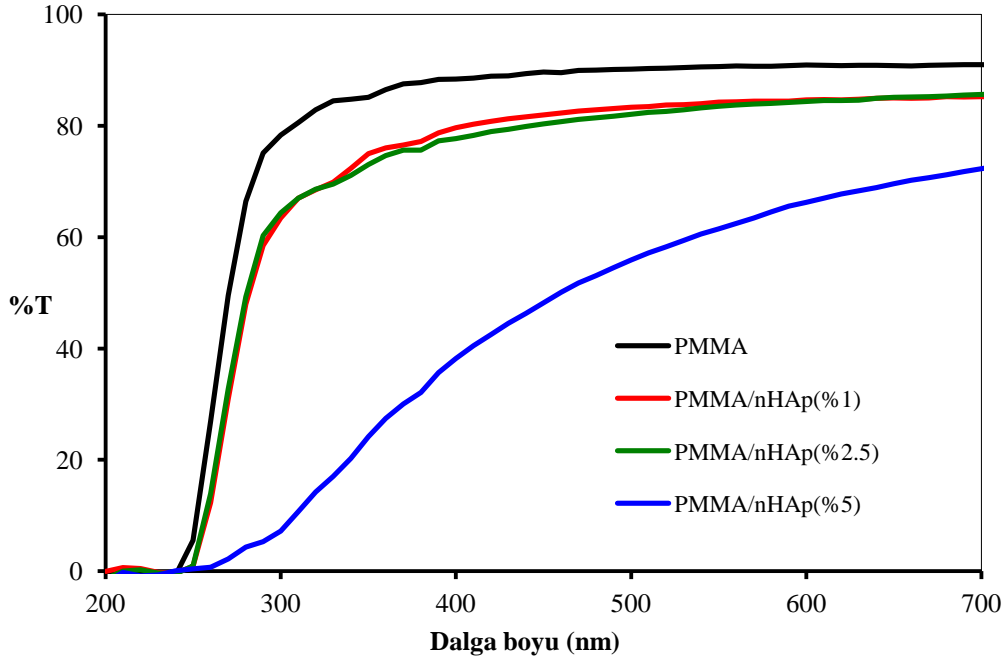


(d)

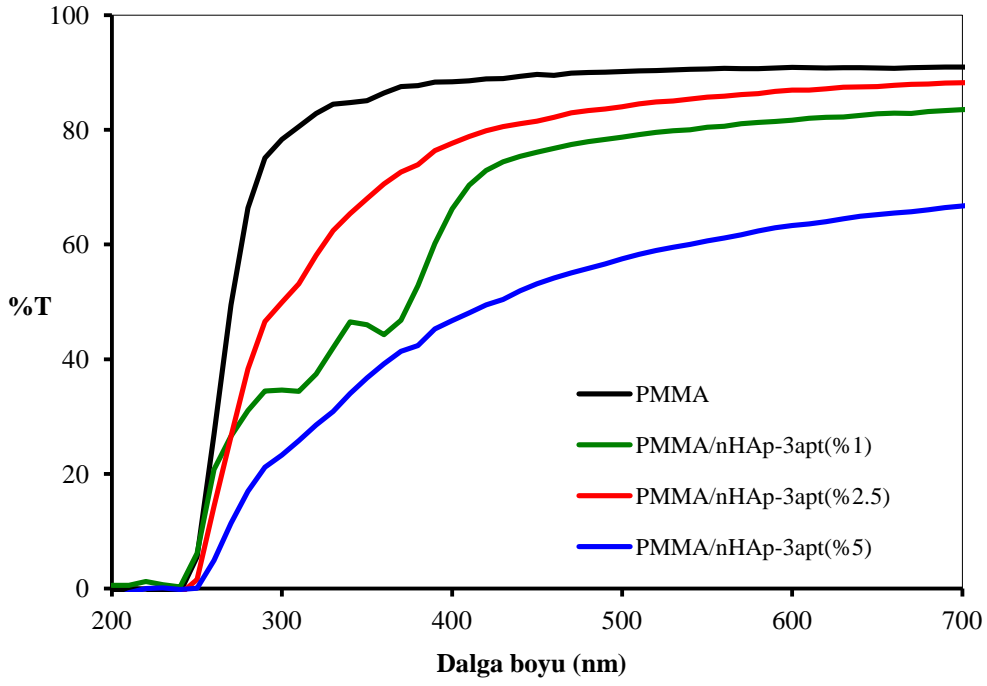
**Şekil 3.79:** PMMA/nHAp (%2.5) (a), PMMA/nHAp-3apt (%2.5) (b), PMMA/nHAp-3cptms (%2.5) (c) ve PMMA/nHAp-n3tmpeda (%2.5) (d) nanokompozitlerinin SEM fotoğrafları.

### 3.4.6 PMMA Nanokompozitlerine Ait UV-Visible Analiz Sonuçları

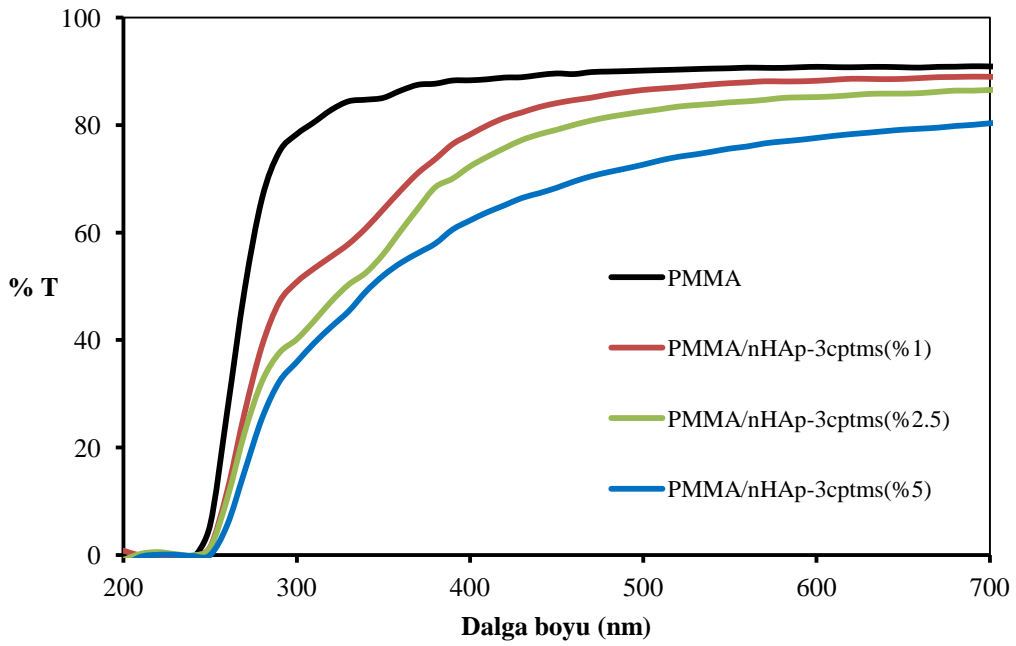
PMMA ve PMMA ait nanokompozitler UV-Visible spektrofotometre ile 200-700 nm dalgaboyu aralığında transmittansları ölçülmüştür. Spektrofotometre ile yapılan bu ölçümler sonucunda PMMA ve nanokompozitlerinin karşılaştırmalı grafikleri aşağıda Şekil 3.80–3.83’de verilmektedir.



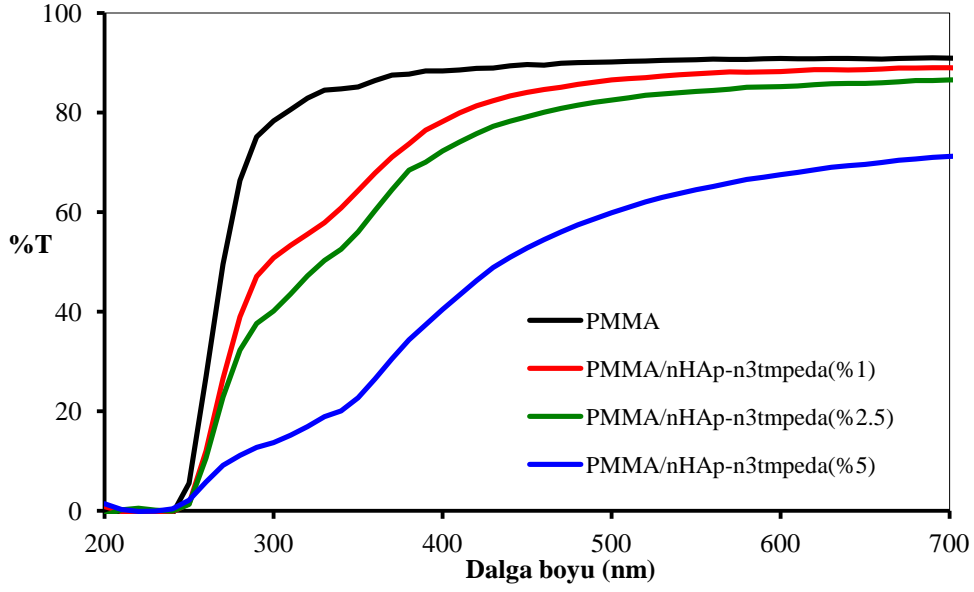
Şekil 3.80: PMMA ve PMMA/nHAp nanokompozitlerine ait Uv-Visible spektrumları.



Şekil 3.81: PMMA ve PMMA/nHAp-3apt nanokompozitlerine ait Uv-Visible spektrumları.



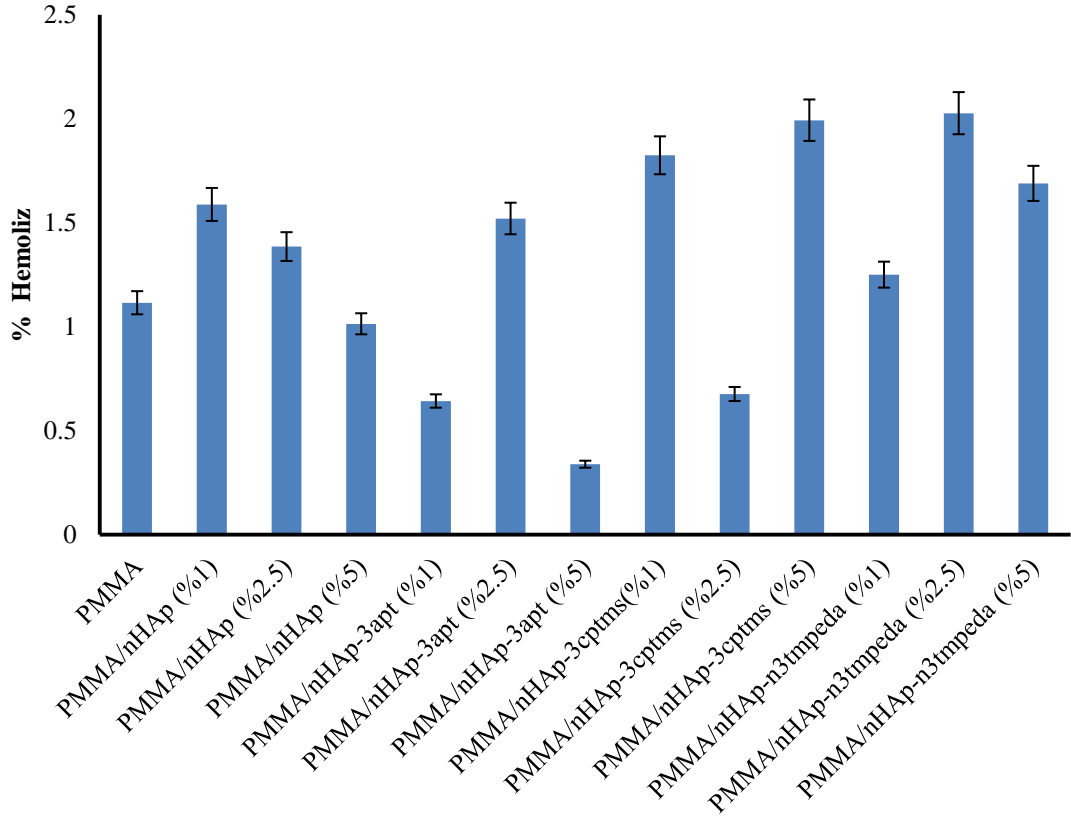
Şekil 3.82: PMMA ve PMMA/nHAp-3cptms nanokompozitlerine ait Uv-Visible spektrumları.



Şekil 3.83: PMMA ve PMMA/nHAp-n3tmpeda nanokompozitlerine ait Uv-Visible spektrumları.

### 3.4.7 PMMA Nanokompozitlerine Ait Homouyumluluk Analiz Sonuçları

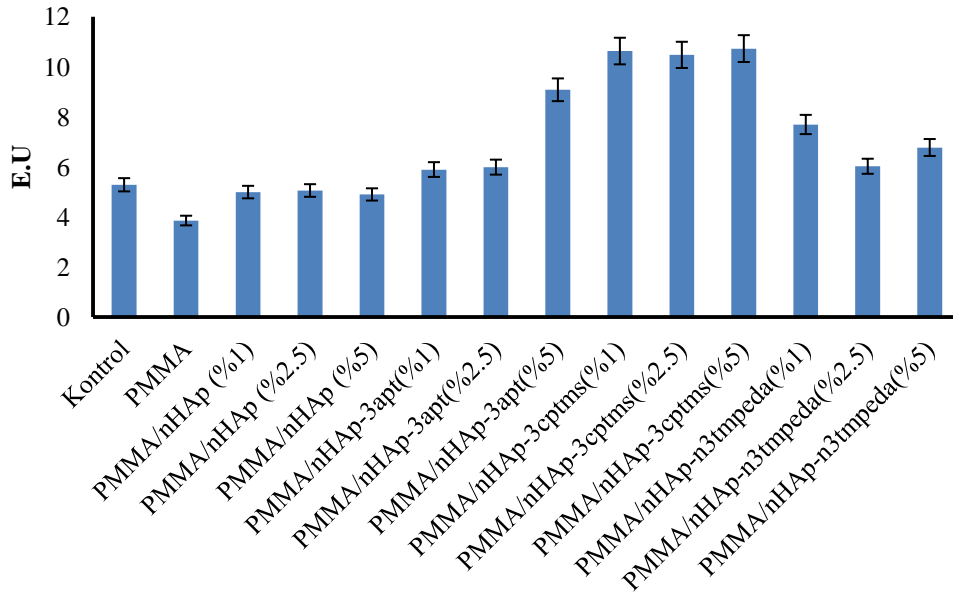
PMMA ve nanokompozitlerine ait homouyumluluk analiz sonuçları Şekil 3.84'de verilmiştir. Şekil 3.84 incelendiğinde, PMMA ve nanokompozit filmlerinin tümü % 5'in altında hemoliz derecesine sahip olduğu görülmektedir. Bu sonuçlar ile PMMA ve nanokompozit filmlerinin homouyumlu oldukları belirlenmiştir.



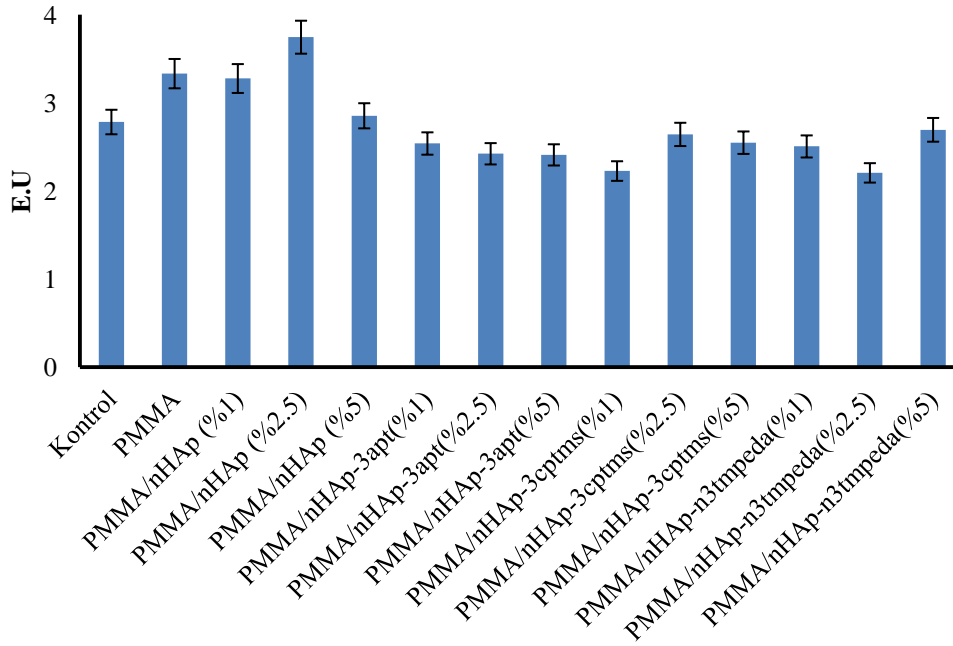
Şekil 3.84: PMMA ve PMMA nanokompozitlerinin homouyumluluk verileri.

### 3.4.8 PMMA Nanokompozitlerinin Antioksidan Enzim Aktivitesi Üzerine Etkisi

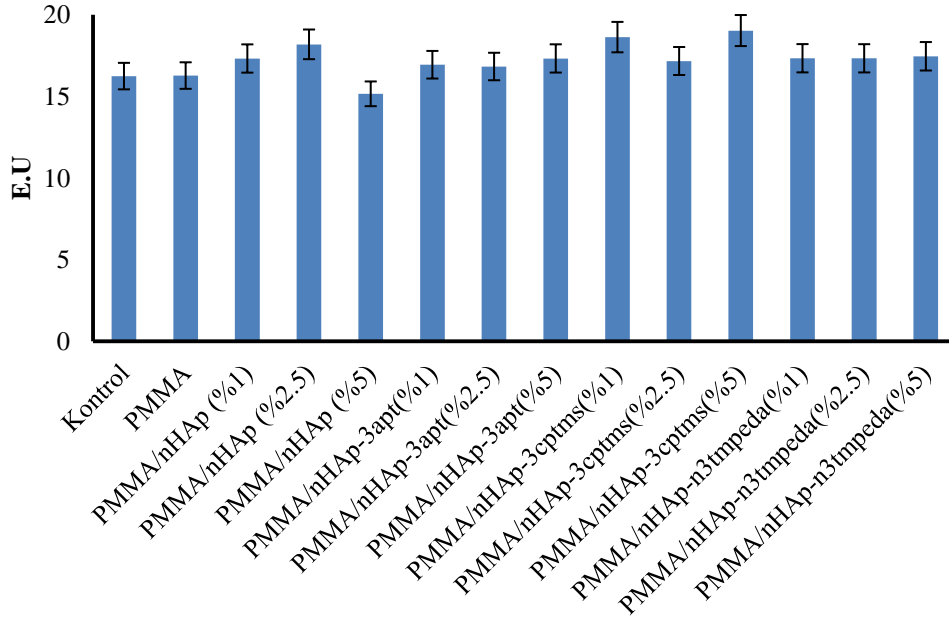
İnsan eritrositlerinin hemolizi ile elde edilen bazı antioksidan enzimlerinin (katalaz, glutasyon redüktaz, glutasyon peroksidaz, glutasyon transferaz, superoksit dismutaz ve glukoz 6-fosfat dehidrogenaz) nanokompozit filmleri ile muamelesi sonucunda aktivitelerinde gözlenen değişimler Şekil 3.85–3.90’de verilmiştir.



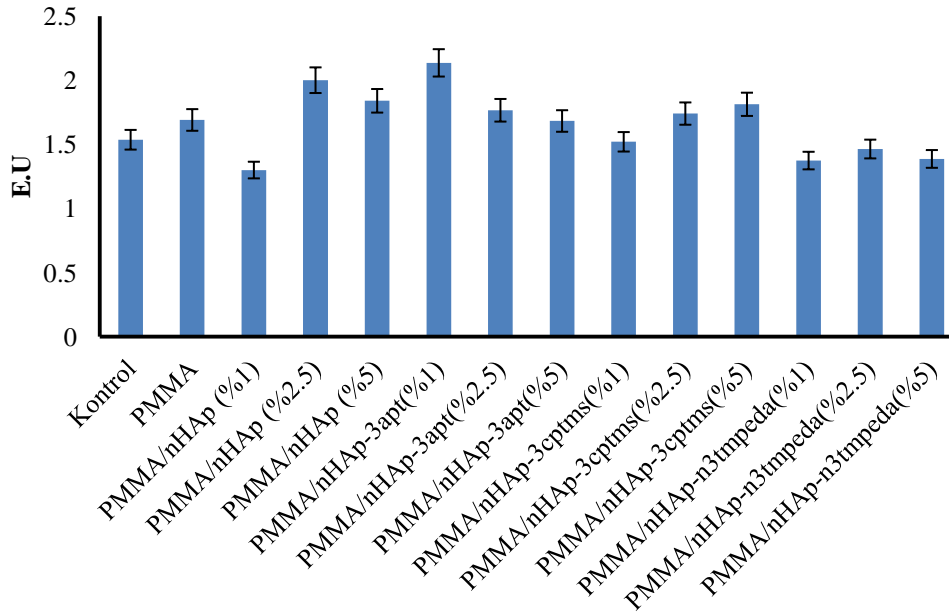
Şekil 3.85: PMMA ve nanokompozitlerinin CAT aktivitesine etkileri.



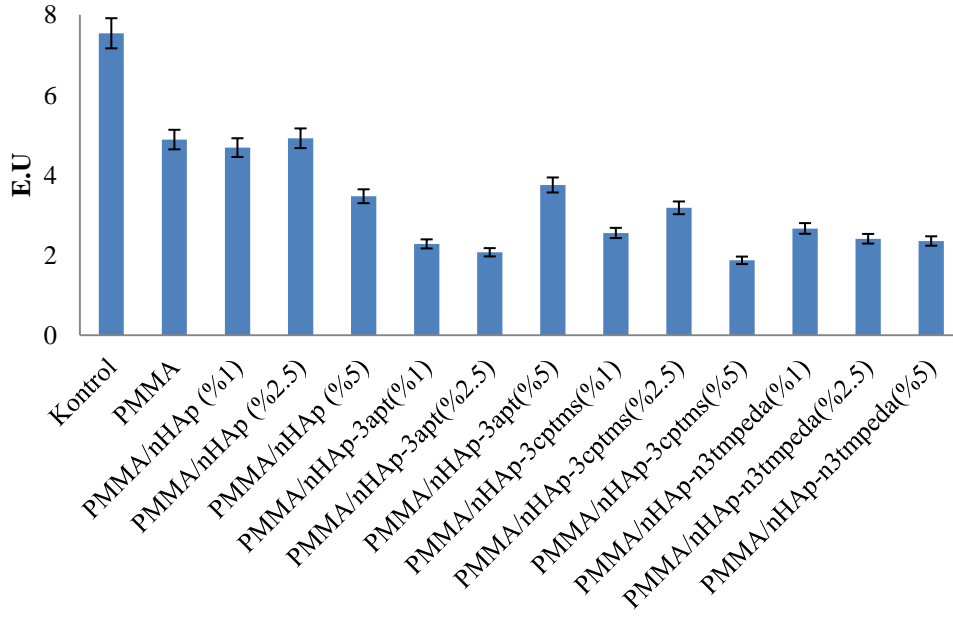
Şekil 3.86: PMMA ve nanokompozitlerinin GST aktivitesine etkileri.



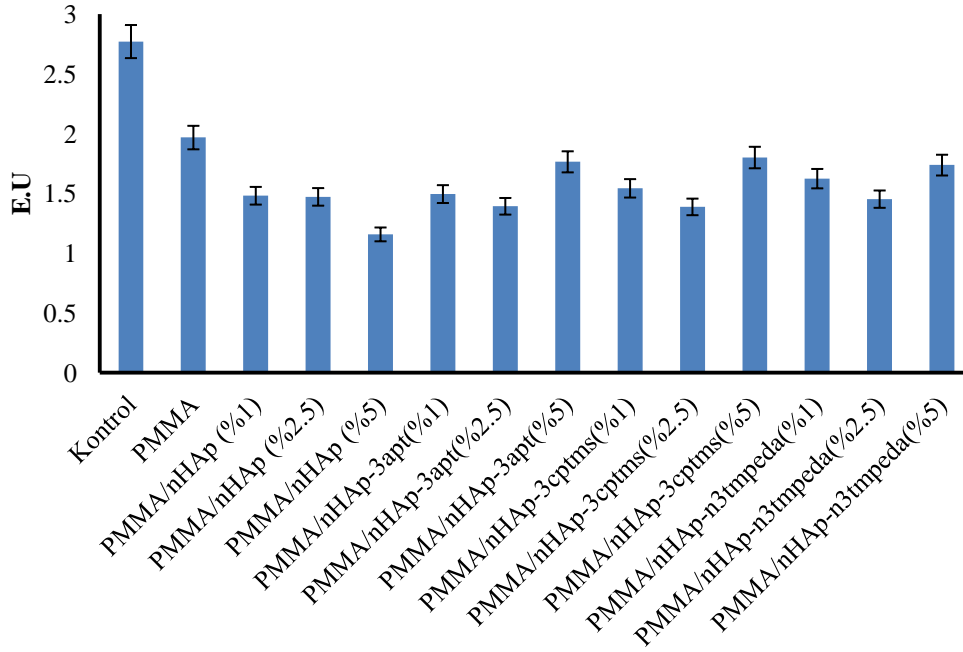
Şekil 3.87: PMMA ve nanokompozitlerinin GSH-Px aktivitesine etkileri.



Şekil 3.88: PMMA ve nanokompozitlerinin G6PD aktivitesine etkileri.



Şekil 3.89: PMMA ve nanokompozitlerinin GR aktivitesine etkileri.

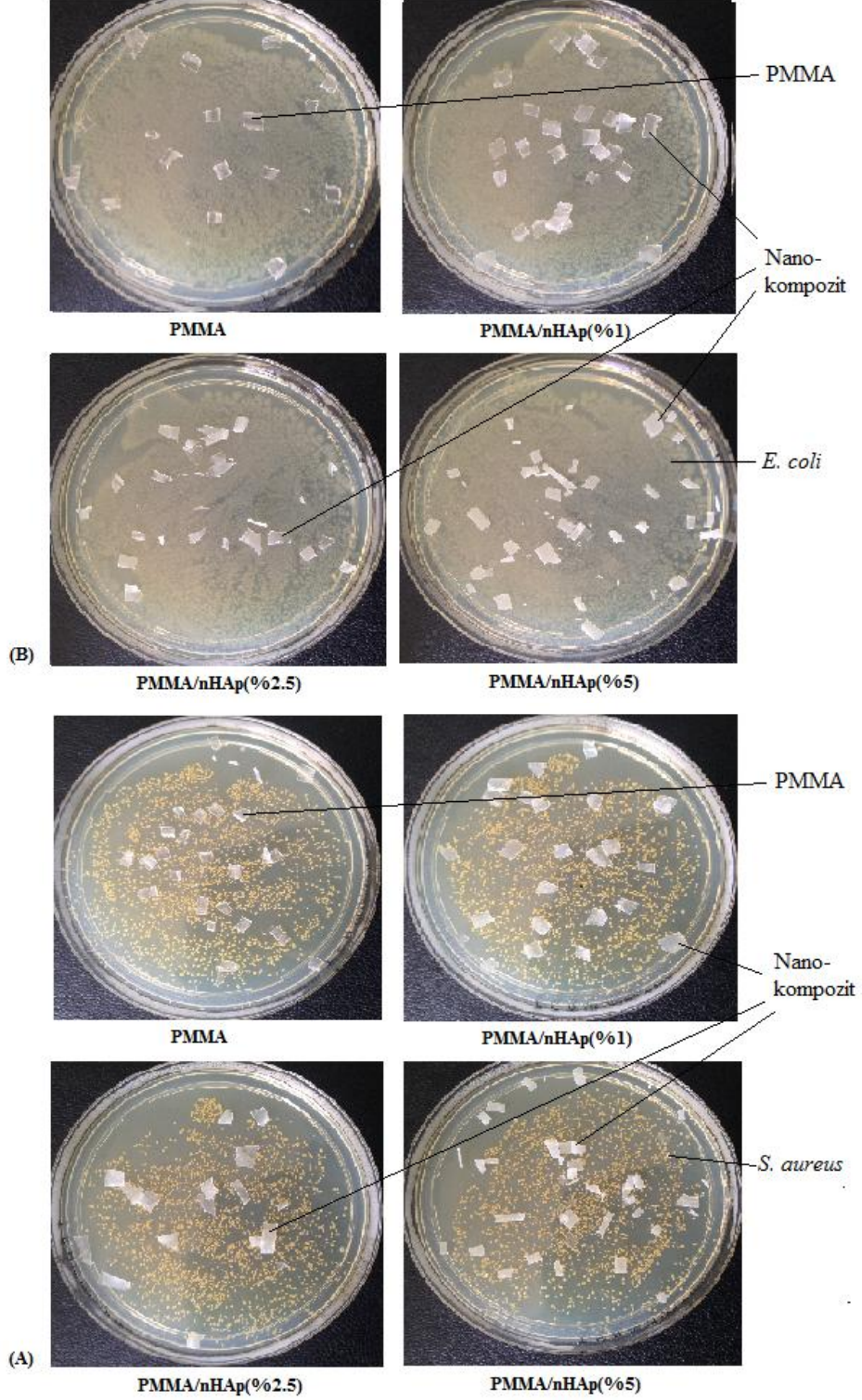


Şekil 3.90: PMMA ve nanokompozitlerinin SOD aktivitesine etkileri.



### 3.4.9 PMMA ve Nanokompozitlerinin Antibakteriyel Aktiviteleri

Şekil 3.91’te PCL ve bazı nanokompozitlerinin *Escherichia coli* ve *Staphylococcus aureus* bakterilerine karşı Antibakteriyel aktivitelerine ait fotoğraflar verilmiştir.



Şekil 3.91: PMMA, PMMA/nHAp(%1), PMMA/nHAp(%2.5) ve PMMA/nHAp(%5) nanokompozitlerinin *Escherichia coli* (B) ve *Staphylococcus aureus* (A) bakterilerine karşı Antibakteriyel aktiviteleri.

## 4. TARTIŞMA

PAA, PCL ve PMMA polimerlerinin matris, nHAp ve modifiye edilmiş nHAp (nHAp-3apt, nHAp-3cptms ve nHAp-n3tmpeda) örneklerinin dolgu maddesi olarak kullanılmasıyla sentezlenen nanokompozitlere ait karakterizasyon ve biyolojik uyumluluk verileri bu bölümde tartışılmaktadır.

### 4.1 Dolgu Malzemeleri

#### 4.1.1 Dolgu Malzemelerinin BET Analizleri

Tablo 3.1’de modifiye edilmiş killerin (nHAp-3apt, nHAp-3cptms ve nHAp-n3tmpeda), saf nHAp örneğine göre yüzey alanlarının daha büyük olduğu görülmektedir. nHAp örneğinin yüzey alanı  $19.597 \text{ m}^2/\text{g}$  iken modifiye edilmiş nHAp örneklerinin yüzey alanları yaklaşık olarak 2.5 kat artmıştır. Farklı organo-silan bileşikleriyle nHAp kristalinin yüzeyinin modifiye edilmesi, hegzagonal bir yapıya sahip olan nHAp kristalinin yüzey alanının artmasına sebep olmuştur. Farklı fonksiyonel gruplara sahip organosilan bileşikleriyle yüzey alanları farklı kristalin elde edilmesi reaktivite bakımından modifiyelerin aynı olmadıklarını göstermiştir. En yüksek yüzey alanına sahip örnek nHAp-3cptms  $54.463 \text{ m}^2/\text{g}$  olarak belirlenmiştir[56].

#### 4.1.2 Dolgu Malzemelerinin XRD Analizleri

Şekil 3.1 ve Tablo 3.2’de nHAp ve modifiye nHAp örneklerine ait XRD desenleri  $2\theta=5-50^\circ$  aralığında verilmiştir. nHAp’ın karakteristik pikleri  $2\theta= 25.5998^\circ, 31.5860^\circ$  ve  $32.5412^\circ$  ‘dir[67].

Şekil 3.2 ve Tablo 3.3’te nHAp-3apt desenine ait XRD pikleri  $2\theta= 25.8636^\circ, 31.6335^\circ$  ve  $34.1223^\circ$  şeklinde sıralanmıştır. nHAp-3apt ve saf nHAp karşılaştırıldığında

nHAp'ın 32.5412°'deki piki nHAp-3apt'de 34.1223°'e kaydığı gözlenmiştir. Diğer karakteristik pikler incelendiğinde ise pik yerleri değişmediği, ancak Şekil 3.2'den de görüldüğü gibi şiddetlerinde farklılık olduğu belirlenmiştir[68].

nHAp-3cptms' e ait Şekil 3.3'teki XRD deseni ve Tablo 3.4 incelendiğinde  $2\theta = 26.0041^\circ$ ,  $31.7551^\circ$  ve  $34.0663^\circ$  'de pikler olduğu tespit edilmiştir.  $2\theta = 25.5998^\circ$  ve  $32.5412^\circ$ 'deki piklerin yerleri ve şiddetleri incelendiğinde nHAp'ın 3- (kloropropiltrimetoksisilan) ile modifiye olduğu XRD deseni verilerine göre sırasıyla  $26.0041^\circ$  ve  $34.1223^\circ$ 'e kaydığı gözlenmiştir[68].

Şekil 3.4'te ve Tablo 3.5'te nHAp-n3tmpeda'ya ait XRD deseni ile karakteristik pikleri verilmiştir. nHAp-n3tmpeda'ya ait karakteristik pikleri diğer nHAp örneklerine oranla daha belirgindir. nHAp'ın  $2\theta = 32.5412^\circ$ 'deki nHAp-n3tmpeda  $2\theta = 34.1223^\circ$  olarak gözlenmiş olup, nHAp'a göre yerinin kaydığı söylenebilir. Piklerin yerleri ve şiddetlerindeki değişimler nHAp'ın yüzeyinin modifiye olduğunun bir kanıtıdır[34,67,68].

#### 4.1.3 Dolgu Malzemelerinin FTIR-ATR analizleri

Şekil 3.5'deki nHAP örneğine ait FTIR-ATR spektrumu incelendiğinde;  $3572 \text{ cm}^{-1}$  -OH grubuna,  $1455 \text{ cm}^{-1}$  C-H alifatik gerilme,  $1415 \text{ cm}^{-1}$   $\text{CO}_3^{2-}$  grubuna,  $1025$ ,  $961$  ve  $820 \text{ cm}^{-1}$ 'deki pikler ise  $\text{PO}_4^{3-}$  gruplarına atfedilmektedir.  $874 \text{ cm}^{-1}$ 'deki bant ise  $\text{HPO}_4^{3-}$  grubuna karşılık gelmektedir[69].

nHAp nanopartikülleri 3apt, 3cptms ve n3tmpeda ile modifikasyonu sonucu elde edilen nHAp-n3tmpeda, nHAp-3apt ve nHAp-3cptms'ye ait FTIR spektrumları Şekil 3.6 – 3.8'da verilmiştir. nHAp-3apt ve 3apt spektrumları incelendiğinde,  $3566$  ve  $2932 \text{ cm}^{-1}$ 'de görülen pikler C-H (alifatik) gerilme pikleridir.  $1015$  ve  $1068 \text{ cm}^{-1}$  de görülen pikler C-O (alifatik) geriliminden kaynaklanmaktadır.  $961$  ve  $864 \text{ cm}^{-1}$ 'deki bantlar ise  $\text{PO}_4^{3-}$  grubunu göstermektedir.  $688 \text{ cm}^{-1}$  bant ise  $-\text{NH}_2$  grubuna aittir. Elde edilen spektrumlar değerlendirildiğinde, nHAp'ın yapısındaki -OH gruplarının silanılı bileşikler ile etkileşerek

yüzey alanını değiştirdiği, yeni pikler oluşması ve var olan piklerin kayma göstermeleri ile etkin bir şekilde modifiye edildiğinin kanıtıdır[26].

3cptms ile elde edilen modifiye nHAp-3cptms'ye ait FTIR spektrumu incelendiğinde, 3cptms ait spektrumda  $1074 \text{ cm}^{-1}$ 'de görülen alifatik C-O gerilme pikinin, nHAp-3cptms'ye ait spektrumda  $1014 \text{ cm}^{-1}$ 'e kaydığı görülmektedir[26][69]. Spektrumlardaki diğer kaymalar ve şiddetlerindeki farklılıklar, gerçekleşen modifiye işleminin bir kanıtıdır.

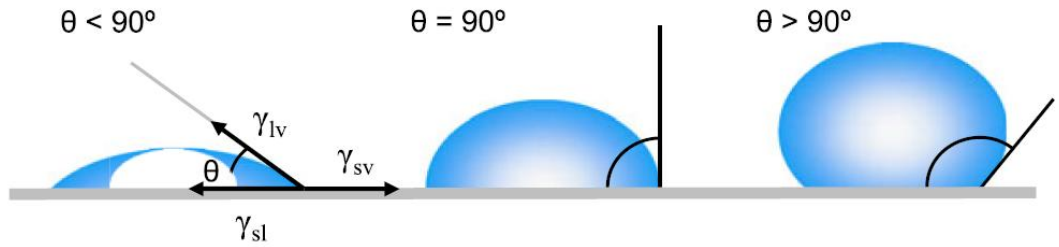
n3tmpeda ve nHAp-n3tmpeda spektrumları incelendiğinde farklılıklar görülmektedir. 3apt spektrumunda  $1069 \text{ cm}^{-1}$  de görülen C-O alifatik gerilme pikinin, nHAp-3apt spektrumunda  $1018 \text{ cm}^{-1}$ 'e kaydığı tespit edilmiştir. Ayrıca saf nHAp ile karşılaştırıldığında  $\text{PO}_4^{3-}$  grubunu gösteren  $870 \text{ cm}^{-1}$  pikin  $873 \text{ cm}^{-1}$ 'e kaydığı gözlenmiştir. Ayrıca pik şiddetlerinde farklılıklar modifikasyonun nHAp ve n3tmpeda arasında olduğunun kanıtı olarak sunulabilir[26,69].

#### 4.1.4 Dolgu Malzemelerinin TG/DTA Analizleri

nHAp partiküllerinin termal kararlılığı, nano hidroksiapatit destekli seramik ve kompozitlerin geliştirilmesi ve sinterleşme koşullarının kontrolünde oldukça önemlidir. Şekil 3.9–3.12'e göre, toz numune için partiküllerin yüksek termal kararlılığı dahilinde ölçülen sıcaklık oranları üzerinde önemli bir kütle kaybı gözlenmemiştir. Böylelikle, sıcaklık  $700 \text{ }^\circ\text{C}$ 'ye yükseldiğinde kütlenin çok küçük miktarının kaybolduğu ileri sürülebilir. Bu kütle kaybı; fiziksel olarak adsorblanmış su moleküllerinin serbest kalması ve bunu takiben bir kısım dehidroksilasyon ve/veya dekarboksilasyon reaksiyonlarının olabileceği düşünülebilir. nHAp ve modifiye edilmiş nHAp'lerin TG ve d[TG] grafiklerine bakıldığında sıcaklığa karşı dayanıklı bir bileşik olduğu ve termal kararlılığının  $1200 \text{ }^\circ\text{C}$ 'deki rezidü miktarının %97 - 88 olarak tespiti bunun kanıtlarından biridir[70].

#### 4.1.5 Dolgu Malzemelerinin Optik Temas Açısı Ölçümleri

nHAp, nHAp-3apt, nHAp-3cptms ve nHAp-n3tmpeda örneklerinin optik temas açılarının analiz sonuçları Tablo 3.6'da, analiz sonucu elde edilen fotoğraflar ise Şekil 3.14'te verilmiştir. Temas açısı ölçümleri çözücünün, katı pelet üzerindeki davranışı sonucu temas açısı ölçülerek hesaplanır. Sıvının katı pelet ile temas derecesi  $\Theta < 90^\circ$  ise hidrofilik özelliğe,  $\Theta > 90^\circ$  ise hidrofobik özelliğe sahip bir örnek olduğu tespit edilir (Şekil 4.1). Tablo 3.6 ve Şekil 3.14 incelendiğinde, temas açısı ölçümleri  $\Theta$ ,  $26.14^\circ$  ile  $20.72^\circ$  arasında değişiklik göstermiştir. Saf ve modifiye nanopartiküllerin ölçülen temas açılarının  $90^\circ$ 'den küçük olarak belirlenmesi nanopartiküllerin hidrofilik özellikte olduklarını göstermektedir. Saf nHAp'ın  $26.14^\circ$  temas açısına sahip olduğu belirlenmiştir. Saf nHAp modifiye edildiği organo-bileşikler sayesinde hidrofilik özelliğini arttırmıştır. Modifiyer bileşiklerden n3tmpeda, saf nHAp inorganik bileşiğinin yüzey alanını etkileyen en etkili bileşik olarak belirlenmiş ve temas açısı ölçüm sonucu ise  $20.72^\circ$  olarak ölçülmüştür[71-73].



Şekil 4.1: Homojen katı bir yüzeye damlatılan sıvının katı ile temas açısının ölçülmesi[73].

## 4.2 Nanokompozitlerin Karakterizasyonu

### 4.2.1 Polimer/nHAp/modifiye nHAp Nanokompozitlerine ait XRD Analizleri

Çözücü uzaklaştırma yöntemi ile sentezlenen PAA ve nanokompozitlerinin XRD desenleri Şekil 3.15–3.18'de verilmiştir. Tablo 3.2–3.5'te nHAp, nHAp-3apt, nHAp-3cptms ve nHAp-n3tmpeda örneklerinin XRD desenlerinden elde edilen  $2\theta$  ve kristal düzlemler arasındaki uzaklıklar (d) gösterilmiştir. XRD desenlerinden gözlemlendiği gibi, PAA'nın belirgin bir karakteristik pike sahip olmadığı, amorf bir yapı gösterdiği tespit

edilmiştir. Buna karşın nHAp ve modifiye nHAp örneklerinin  $2\theta = 25.86^\circ$ ,  $31.63^\circ$  ve  $34.12^\circ$  gibi belirgin karakteristik pikleri belirlenmiştir. Nanokompozit oluşumundan sonra, nHAp kristalinin karakteristik piklerinin azaldığı ancak piklerde önemli bir değişme olmadığı görülmektedir (Şekil 3.15–3.18). Nanokompozit oluşumu, nHAp partikülleri ve matriks arasındaki etkileşimlerden kaynaklanmaktadır. Ayrıca saf nHAp nanopartikülleri ile karşılaştırıldığında PAA/nHAp nanokompozitlerinin piklerinin biraz daha geniş ve zayıf olduğu görülmektedir. Diğer taraftan organosilan bileşikleriyle modifiye edilen nHAp nanopartiküllerinin  $2\theta = 26^\circ$  'deki karakteristik piki, nanokompozit oluşumu durumunda polimer matriks içerisindeki organomodifiye nHAp'ın düşük yoğunluğu nedeniyle görünmez. Çünkü polimer ve organomodifiye-nHAp arasında moleküler etkileşimler vardır ve nanopartiküller polimer matriks içerisinde disperse olmaktadır. Farklı konsantrasyonlarda dolgu (%1, 2.5 ve 5) maddesi kullanılarak hazırlanan PAA/nHAp ve PAA/modifiye-nHAp nanokompozitlerinin tümünde dolgu maddelerinin homojen bir dağılım gösterdikleri XRD desenlerinden anlaşılmaktadır. Aynı zamanda, XRD sonuçları FTIR-ATR sonuçları ile uyumludur [25,74].

PCL ve PCL matriksli biyokompozitlerin XRD desenleri Şekil 3.37–3.40'da karşılaştırmalı olarak sunulmuştur. XRD desenleri incelendiğinde, PCL'nin karakteristik pikleri sırasıyla  $2\theta = 21.91^\circ$  ve  $24.25^\circ$ 'dir. Nanokompozitlere bakıldığında ise saf PCL filmlerine oranla değişimler gözlenmektedir. %2.5 oranında dolgu maddesi içeren tüm nanokompozitlerde saf PCL'ye ait  $2\theta = 21.91^\circ$ 'deki pik,  $2\theta = 21.53^\circ$  ve  $2\theta = 22.21^\circ$  şeklinde çatallanmış iki farklı pik şeklinde görülmektedir. %5 oranında dolgu içeren tüm nanokompozitlerde ise pik şiddetleri saf PCL'ye ait piklere kıyasla oldukça zayıf kalmıştır. %1 ve %5 oranında nHAp içeren PCL/nHAp nanokompozitlerinin pikleri daha zayıf ve daha geniş oldukları görülmektedir. Pik şiddetleri eklenen dolgu maddesi miktarı ile ters orantılı olarak değişmektedir [75]. PCL/nHAp-3apt (%1) ve PCL/nHAp-3apt (%2.5) nanokompozitlerinin  $2\theta = 21.88^\circ$  noktasında yükselen karakteristik piki farklılaşmış ve nanokompozit durumunda sırasıyla  $2\theta = 21.28^\circ$ ,  $23.61^\circ$  ve  $24.07^\circ$  ile  $2\theta = 21.17^\circ$ ,  $21.81^\circ$ ,  $22.50^\circ$  ve  $24.07^\circ$  olarak farklı pikler oluşturmuştur. Üç farklı konsantrasyonda nHAp ve modifiye-nHAp kullanılarak hazırlanan nanokompozitlerde, PCL matriksi içerisinde homojen bir dağılım olduğu XRD desenlerinin  $2\theta$  değerlerindeki bu farklılıklar ve şiddetlerindeki değişimler göstermektedir. PCL ile nHAp ve modifiye-nHAp arasında etkileşim olduğu söylenebilir. PCL düşük erime noktası ve camsı geçiş sıcaklığına sahip

olduğundan kristallik oranı yüksektir. Kristallik oranı, polimerlerde kararlılık, morfoloji, mukavemet, bariyer, geçirgenlik ve biyobozunma gibi parametreleri etkilemektedir. Özellikle yüksek kristallik oranı PCL'in biyobozunurluğunu düşürmektedir. Kristallik oranının kontrolü amacı ile PCL'e inorganik ve organik katkı maddeleri ilave edilmektedir. Bu çalışmada, inorganik katkı maddesi olarak hidroksiapatit eklenmiştir. İnorganik dolgu madde miktarı arttıkça kristallik derecesi azalmakta, biyobozunurluk derecesi artmaktadır[76].

PMMA ve nanokompozitlerine ait XRD desenleri Şekil 3.64–3.67'te verilmiştir. XRD analizleri  $2\theta=5^{\circ}$ – $50^{\circ}$  arasında gerçekleştirilmiş ve desenler elde edilmiştir. PMMA'ya ait karakteristik pikler  $2\theta=14.33^{\circ}$  ve  $2\theta=31.73^{\circ}$ 'dir. PMMA bazlı nanokompozitlere ait XRD desenlerinde bu karakteristik piklerin şiddetleri azalmaktadır. Nanokompozit oluşumu ile polimerin amorflik derecesi artmaktadır. Hidroksiapatite ait karakteristik piklerin nanokompozitlere ait XRD desenlerinde görülmemesinin nedeni; inorganik dolgu maddesinin polimer matriks içerisinde homojen bir şekilde disperse olmasından kaynaklanmaktadır. Şekil 3.64–3.67 incelendiğinde, tüm nanokompozitlerin XRD desenleri saf PMMA ile karşılaştırıldığında  $2\theta=14.33^{\circ}$  ve  $2\theta=31.73^{\circ}$ 'deki piklerin şiddetlerinde değişimler gözlenirken yerlerinde herhangi bir değişiklik gözlenmemiştir[77]. XRD desenlerindeki değişimler, matriks ve dolgu maddesi arasında bir etkileşimin olduğunun kanıtıdır. nHAp ve modifiye- nHAp dolgu maddeleri PMMA matriksi içerisinde homojen olarak dağıldığı ve SEM ve FTIR-ATR'deki sonuçları ile de desteklenmektedir.

#### **4.2.2 Polimer/nHAp/modifiye-nHAp Nanokompozitlerine ait FTIR-ATR Analizleri**

Şekil 3.19'da saf PAA'ya ait FTIR-ATR spektrumu verilmiştir. Tablo 4.1'de ise bu spektruma ait önemli piklerin bazıları listelenmiştir.  $2939\text{ cm}^{-1}$ 'de görülen pik C-H ve  $\text{CH}_2$  ana zincir gerilmelerine,  $1704\text{ cm}^{-1}$ 'deki pik C=O gerilme pikine,  $1453\text{ cm}^{-1}$ 'de çıkan pik CH-CO gerilmelerine,  $1414$  ve  $1453\text{ cm}^{-1}$ 'deki pikler ise  $-\text{CH}_2$  gruplarının eğilmelerine ve son olarak  $1240\text{ cm}^{-1}$ 'deki ise C-O gerilmesine atfedilmektedir[78].

**Tablo 4.1** PAA'nın bazı karakteristik IR bantları[78].

Dalga sayısı (cm <sup>-1</sup> )	Fonksiyonel grup
2939	C-H ve CH <sub>2</sub> ana zincir gerilme
1704	C=O gerilme
1453	CH-CO bükülme
1414	-CH <sub>2</sub> - makaslama
1240	C-O gerilme

Şekil 3.20–3.23'te PAA ve PAA matrisli nanokompozitlerin IR spektrumları karşılaştırmalı olarak verilmiştir. PAA'nın 2939 cm<sup>-1</sup>'deki C-H gerilme bandının, nanokompozit spektrumlarında 2930-2933 cm<sup>-1</sup> arasında değişen bir kayma yaparak arttığı saptanmıştır. 1704 cm<sup>-1</sup>'deki C=O gerilme bandının, nanokompozitlerde 1691–1695 cm<sup>-1</sup> arasında bir kayma yaptığı ve pik şiddetinde belirgin bir azalma olduğu gözlenmiştir. PAA'nın 1414 cm<sup>-1</sup>'de -CH<sub>2</sub> makaslama ve 1240 cm<sup>-1</sup>'de C-O gerilme bantlarının, nanokompozitlerde PAA'ya göre düşük bir şiddete kayma yaptıkları saptanmıştır. 1170 cm<sup>-1</sup>'de C=O gerilme bantı, nanokompozitlerde 1704 cm<sup>-1</sup>, 1694 cm<sup>-1</sup> ve 1695 cm<sup>-1</sup>'e kaymıştır[25][74]. Dolgu maddesi miktarı arttıkça 1548 cm<sup>-1</sup>'de yeni bir pikin oluştuğu belirlenmiştir. Oluşan bu yeni pikin şiddetinde dolgu maddesi miktarının artması ile birlikte artma olduğu tespit edilmiştir. Tespit edilen bu yeni pikin hidroksiapatitten kaynaklandığı düşünülmektedir. Nanokompozitlerdeki dolgu miktarı arttıkça pik şiddetlerinde değişimlerin ve kaymaların arttığı görülmektedir.

PCL ve nanokompozitlerinin FTIR-ATR spektrumları Şekil 3.41–3.44'te verilmiştir. FTIR-ATR spektrumları incelendiğinde, saf PCL spektrumunun 1720 ve 1163 cm<sup>-1</sup> noktalarında görülen absorpsiyon bantları sırasıyla karbonil grubuna (C=O) ve asimetrik -C-O-C- gerilimlerine işaret ederken, 2944, 1470 ve 731 cm<sup>-1</sup>'de görülen pikler -(CH<sub>2</sub>)- bantlarını göstermektedir. 1293 cm<sup>-1</sup> bantı -C-O ve -C-C- amorf fazdaki gerilmeleri işaret etmektedir. Diğer IR titreşimleri ise serbest karbonil grupları ve hidroksil gruplarına aittir[79]. Nanokompozitlere ait spektrumlar incelendiğinde ise 961 ve 1045 cm<sup>-1</sup>'deki bantlar PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> iyonlarına aittir. Nanokompozitlerde bu grupların varlığı, nHAp ve modifiye nHAp'ların sahip olduğu PO<sub>4</sub><sup>3-</sup> grupları ile PCL'nin yapısında bulunan -OH grupları arasında bir etkileşim olduğunun belirtisi olarak gözlenmiştir[80, 81].



Şekil 3.68'deki PMMA'ya ait FTIR-ATR spektrumunda  $2996\text{ cm}^{-1}$  absorpsiyon bandı alifatik  $-(\text{C-H})-$  asimetric gerilme pikine,  $2950\text{ cm}^{-1}$  absorpsiyon bandı  $-(\text{C-H})-$  ve  $(\text{C})\text{CH}_3$  simetrik gerilme piklerine,  $1722\text{ cm}^{-1}$  absorpsiyon bandı  $(\text{C}=\text{O})$  pikine,  $1435\text{ cm}^{-1}$  absorpsiyon bandı  $\text{CH}_3$ ,  $-\text{CH}_2$ ,  $\text{O}-\text{CH}_2-$  eğilme piklerine,  $1240\text{ cm}^{-1}$  absorpsiyon bandı  $\text{C}(\text{C}=\text{O})-\text{O}$  fonksiyonel grubuna ait pike ve  $1142\text{ cm}^{-1}$  absorpsiyon bandı  $-(\text{C}-\text{O})-$  pikine işaret etmektedir[82]. Tablo 4.2'te bu spekturumun incelenmesinden sonra bazı karakteristik pikler fonksiyonel grupları ile verilmiştir. Eritme yöntemiyle sentezlenen PMMA nanokompozitlerinin FTIR-ATR spektrumları incelendiğinde ise farklı pikler ve aynı pikler arasındaki şiddet farkı açık bir şekilde gözlenmektedir.  $2916$  ve  $2918\text{ cm}^{-1}$  C-H gerilme bandının alkil gruplarının etkileşiminden dolayı çıktığı tespit edilmiştir(bkz. Şekil 3.69-3.72). Nanokompozitlerde görülen bir başka bant ise  $960\text{ cm}^{-1}$ 'dir.  $1062$ ,  $960\text{ cm}^{-1}$  bantları ise  $\text{PO}_4^{3-}$  gruplarını göstermektedir. Ayrıca, matriks içerisine dolgu maddesi (nHAp, nHAp-3apt, nHAp-3cptms ve nHAp-n3tmpeda) eklenmesi ile saf PMMA'nın spektrumunda gözlemlenen  $2996$  ve  $2950\text{ cm}^{-1}$  absorpsiyon bandlarında kaymalar tespit edilmiştir. IR spektrumları, PMMA ile dolgu örnekleri arasında etkileşimin kimyasal düzeyde olduğunu kanıtlamıştır.

**Çizel 4.2:** PMMA'nın IR spektrumuna ait bazı karakteristik bantlar.

Dalga sayısı ( $\text{cm}^{-1}$ )	Fonksiyonel grup
2951	$\text{CH}_3$ , $-\text{CH}_2-$ gerilme
1721	$\text{C}=\text{O}$ gerilme
1434	$\text{O}-\text{CH}_2$ eğilme
1142	$\text{C}-\text{O}$ gerilme

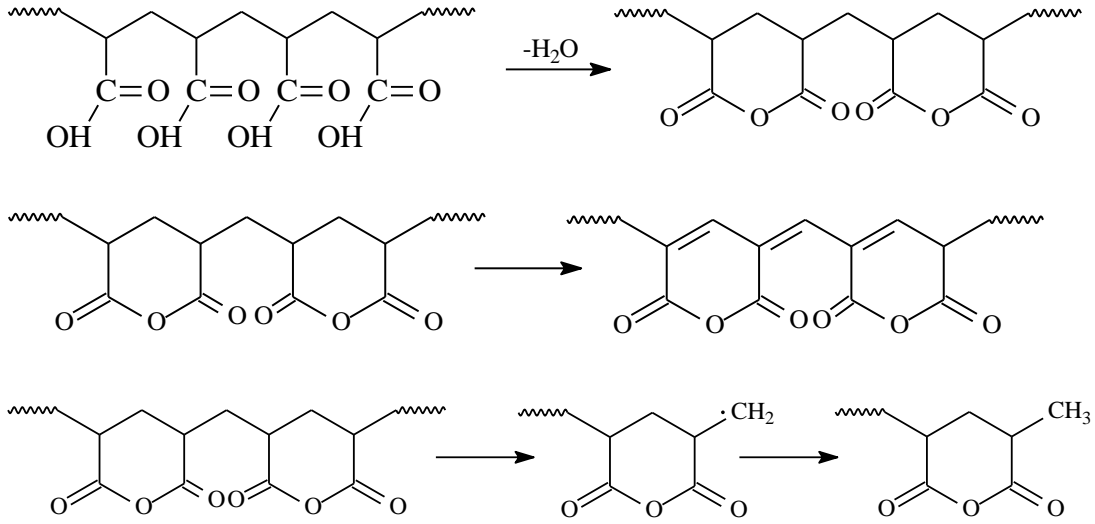
#### 4.2.3 Polimer/nHAp/modifiye-nHAp Nanokompozitlerine ait TG/DTA ve DSC analizleri

TG/DTA, polimer ve nanokompozitlerinin termal kararlılıklarını karşılaştırmak için kullanılmıştır. Bu termal kararlılık nHAP ve modifiye nHAp'ların polimer matriksi içerisindeki dağılımıyla direkt olarak ilişkilidir. Dolgu nanopartiküllerinin termal

kararlılığında, sinterleşme şartlarının kontrolü ve dolgu ile güçlendirilmiş kompozitlerin oluşumu büyük öneme sahiptir.

PAA'nın termal dehidratasyonu dehidratasyon, dekarboksilasyon ve zincir bölünmesi olmak üzere üç aşamada meydana gelmektedir. PAA filminin maksimum kütle kaybının olduğu sıcaklıklar yaklaşık 114, 290 ve 407 °C'dir. Dehidratasyon basamağı karboksil gruplarının molekül içi ya da moleküller arası reaksiyonlarından dolayı meydana gelmiş olabilir. 30-170 °C sıcaklık aralığındaki ilk kütle kaybı zayıf olarak bağlı fiziksel ve güçlü şekilde bağlı kimyasal suyun buharlaşmasından kaynaklanmaktadır. Bu basamaktaki kütle kaybı %6.68 olarak bulunmuştur. Bionanokompozit filmleri için 30-170 °C aralığındaki PAA'nın dehidratasyon piki daha yüksek sıcaklıklara kaymıştır. Bu kayma nanokompozitlerinin termal kararlılığının arttığını ifade etmektedir. Bu artış, hidroksiapatitin organofilik moleküllerle modifikasyonu sonucu polimer matriks ve dolgu maddesi arasındaki etkileşimin artmasından ve eklenen nHAP'ın PAA'nın hidrasyonunu engellemesinden kaynaklanmaktadır. Termal dehidratasyonunun başlangıç basamağı anhidrit oluşumunu içerir. Bu anhidritlerin büyüklüğü komşu asit grupları tarafından altı üyeli glutarik anhidrit halkalarının oluşumu ile ilgilidir. Karbondioksit çıkışı olan dekarboksilasyon basamağı 170 °C'nin üzerindeki sıcaklıklarda başlar ve hem su hem de karbonsioksit çıkışı 600 °C ve üzerindeki sıcaklıklara kadar devam eder. İkinci basamakta meydana gelen kütle kaybı %25.66'dır. Gaz olarak CO<sub>2</sub>'nin ayrılması anhidrit yapıların dekarboksilasyonu ve keten, keton ve oluşan doymamış ara bileşiklerin dekarboksilasyonunu gösterir. Sonuçlar, tüm nanokompozitler için dekarboksilasyon sıcaklığının daha düşük sıcaklıklara kaydığını göstermiştir. Dekarboksilasyon sıcaklığının daha düşük sıcaklıklara kayması PAA'nın karboksil gruplarının polimer içerisine nHAP'ın eklenmesiyle daha uygun konformasyona sahip olduğunun göstergesidir. Bu sebeple, karboksil grupları kolaylıkla bir diğeriyle etkileşir ve anhidrit yapılar oluşur. Üçüncü basamak olan zincir bölünmesi 325 °C'nin üzerinde meydana gelmekte ve bu basamaktaki kütle kaybı yaklaşık olarak %55.86 olarak hesaplanmıştır. Üçüncü basamak, 325 °C sıcaklık ve üzerinde gerçekleşen zincir parçalanması basamağıdır. Bu basamakta kısa akrilik dizileri ile dimer, trimer ve benzeri önemli birçok yapı meydana gelir[74]. Akrilik asit monomerleri depolimerizasyon reaksiyonunda oluşan yapılardan ayrılır[83]. Son basamak olan zincir parçalanması tüm sentezlenen bionanokompozitlerde daha yüksek sıcaklıklarda meydana gelmiştir. Bu durum polimer matrikse nHAP ve organo modifiye-

nHAP dolgu malzemelerinin katılmasıyla ve FTIR-ATR spektrumlarında belirtilen PAA polimerindeki karboksilik gruplar ile nHAp'taki  $Ca^{+2}$  iyonları arasındaki artan dolgu maddesi miktarı ile artan şelat oluşumundan kaynaklanabilir. PAA için dekompozisyon mekanizması Şekil 4.2'dedir.



Şekil 4.2: PAA'nın dekompozisyon mekanizması[74].

PAA ve biyo nanokompozitlerin termal kararlılık parametreleri TG, d[TG] ve DSC eğrilerinden belirlenmiştir ve Tablo 3.7'de gösterilmiştir. Elde edilen verilere göre; sentezlenmiş biyo nanokompozitlerin  $T_5$ ,  $T_{10}$  ve  $T_{30}$  sıcaklıklarında kararlı bir yapıya sahip oldukları tespit edilmiştir.  $T_{50}$  sıcaklığının, PAA/nHAp-n3tmpeda(%5) nanokompozitinin diğer nanokompozitlere oranla daha çok arttığı belirlenmiştir. Biyo nanokompozitlerin tümünün  $T_{50}$  sıcaklıkları yaklaşık 27–52 °C' lik artışlar göstererek yüksek oranda bir iyileşme olduğu tespit edilmiştir. Rezidü termal işlemde sonra örnekte artı kalan madde miktarıdır. PAA ve biyo nanokompozitler karşılaştırıldığında; rezidü miktarının, artan dolgu maddesi miktarına bağlı olarak arttığı gözlenmiştir. Rezidü miktarının en fazla tespit edildiği örnek PAA/nHAp-n3tmpeda (%5)'dir. Şekil 3.24-3.28 incelendiğinde; PAA/nHAp-3cptms (%2.5) hariç PAA ve PAA biyo nanokompozitlerinin degradasyonu üç basamakta gerçekleşmiştir. PAA/nHAp-3cptms(%2.5) nanokompozitinin degradasyon mekanizması dört basamakta gerçekleşmiştir. Genel olarak, tüm termogravimetrik analizler sonucunda, ilk kütle kaybı 100–200 °C aralığında, en yüksek kütle kaybı ise 200–500 °C aralığında meydana gelmiştir.

Tablo 3.7’de PAA ve nanokompozitlerinin camsı geçiş sıcaklıkları ( $T_g$ ) verilmiştir. Çözücü (distile su) uzaklaştırma yöntemiyle sentezlenen Saf PAA’nın  $T_g$  değeri 97 °C olarak bulunmuştur. %1, 2.5 ve 5’lik saf nHAp ile hazırlanan nanokompozitlerin  $T_g$  değerleri sırasıyla 113, 103 ve 109 °C’dir. Modifiye edilen nHAp dolgu maddeleri ile hazırlanan PAA nanokompozitlerinin  $T_g$  değerlerinin daha yüksek sıcaklıklara kayması modifikasyon işleminin önemini bir kez daha göstermiştir. Bu nanokompozitler yaklaşık 6–32 °C’lik artışlar göstermiştir. PAA/nHAp-n3tmpeda (%5) en yüksek  $T_g$  (125 °C) değerine sahip nanokompozittir[74].

PCL, vücut içerisinde implant olarak kullanılan biyobozunur bir polimerdir. PCL’nin yüzey hidrofobisite ve kristalliliğine bağlı moleküler ağırlığı non-enzimatik parçalanma ve enzimatik bölünme gibi daha yavaş gerçekleşen iki farklı fazda degradasyona uğrar. PCL formülasyonlarında non-enzimatik parçalanma, polimerik zincir fragmentlerin karbonil son grupları tarafından katalizlenen amorf bölgelerde başlar. Formülasyondaki su geçirgenliği, bu non-enzimatik parçalanma basamağı için sınırlayıcı bir orandadır. Devam eden parçalanmalarda polimerin başlangıçtaki moleküler ağırlığına bağlı uzun fragmentler oluşur. Oluşmuş uzun PCL fragmentleri ortamdaki polimerik matriks boyunca yeterli difüze olabileceği küçüklükte olduğu zaman, zincirden ağırlık kaybı başlar. Fakat ağırlık kaybının bu süreci PCL degradasyonunun bir sonraki aşamasında (4-6 ay) gerçekleştirir. PCL fragmentinin difüzyona uğraması için zincirin uzunluğu veya molekül ağırlığı 5000 g/mol’ ün altında olması gerekmektedir. Bu yığın prosesi, genel olarak karakterize edilmiş yüzeydeki oluk ve çatlaklar ile enzimatik yüzey erozyonu tarafından gerçekleştirilir[84].

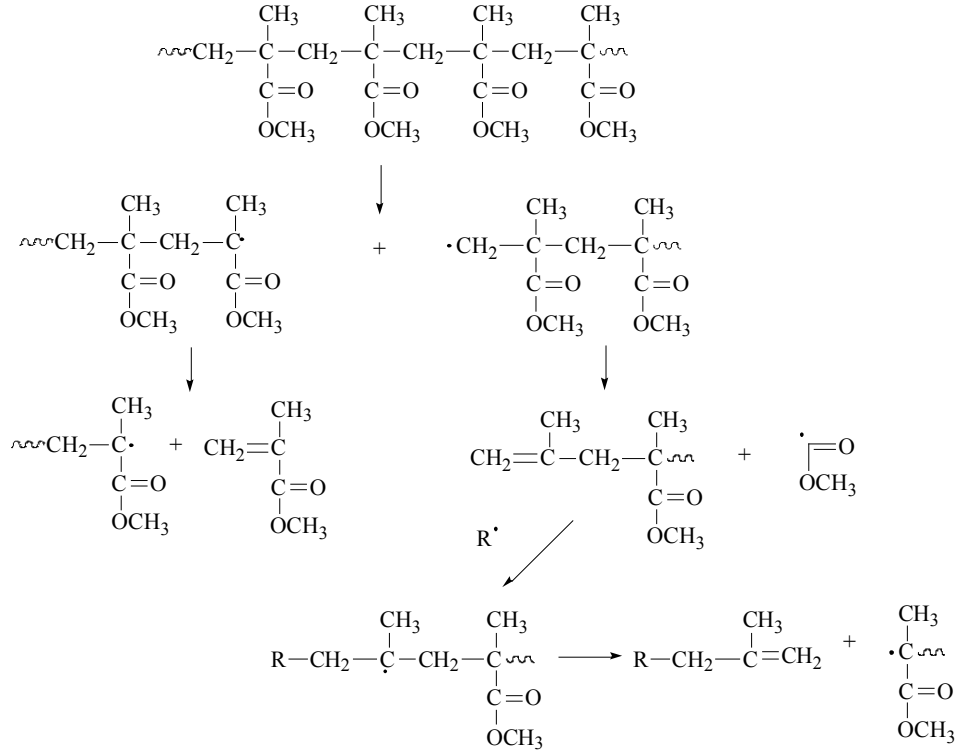
Dahası degradasyon sürecini sonlandıran TCA (krebs çemberi) devrinde hücre bölünmesinin fagositozu yada fragmentlerin difüzyonu ürünlerinin kullanılmasıyla oluşur. Parçalama çalışmalarından anlaşılacağı gibi, lipaz PCL’un degradasyon hızını artırır ve 3 - 4 hafta içerisinde PCL’u monomer ve oligomerlere parçalayabilir. Chen ve arkadaşları, lipaz varlığında sadece 3 hafta içerisinde PCL mikrokürelerinin degrade olduğunu kanıtlamıştır. Ancak lipaz yokluğunda, 9 hafta sonra bile hiçbir degradasyon belirtisi bulunmamaktadır. Polyester NPs üzerinde lipaz aktivitesini anlamak için Herzog ve arkadaşları tarafından gerçekleştirilen molar kinetik çalışmada, NPs üzerindeki lipaz

adsorpsiyonunun Langmuir modeline uygun olarak yüzeydeki enzimatik hidrolizin nedeni olduğu belirtilmiştir. Polimerik formülasyonun biyodegradasyonu; polimerin omurgasının yapısı, hidrofobisite, kristallenme derecesi, polimer uzunluğu, enzim varlığı yada yokluğu, partikül boyutu, yüzey alan porozitesi, fabrikasyon prosesi ve geometrisi gibi ürün parametrelerine bağlı olarak bulunmuştur [84].

PCL yaklaşık olarak  $-72.3\text{ }^{\circ}\text{C}$  camsı geçiş sıcaklığına sahiptir.  $T_g$  sıcaklığına bağlı olarak düşük erime noktasına sahip ( $58\text{--}63\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) olan bir polimerdir[85]. Şekil 3.45'e bakıldığında PCL'nin tek basamakta dekompozisyonu gerçekleşmektedir. Tablo 3.9'da ifade edildiği gibi PCL'nin %5'lik ağırlık kaybı  $364\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de olmaktadır. Sırasıyla %10, 30, 50 ve 80'lik kütle kayıpları  $378$ ,  $396$ ,  $406$  ve  $421\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de meydana gelmektedir. Termal analiz  $600\text{ }^{\circ}\text{C}$ 'ye kadar devam etmiştir ve  $600\text{ }^{\circ}\text{C}$  sonunda kalan rezidü miktarı %1.785 olarak belirlenmiştir. Aynı şartlarda devam edilen nanokompozitlerin termal analizlerinde Şekil 3.46–3.49'de de görüldüğü gibi termal bozunmaları tek aşamada gerçekleşmiştir. Bu aşamada PCL ve tüm nanokompozitlerinin kütle kaybı yaklaşık olarak %92 olarak hesaplanmıştır. Tablo 3.9 incelendiğinde genel olarak, %1, 2.5 ve 5'lik nanokompozitlerin termal bozunma sıcaklıklarının ve kalan rezidü miktarlarının, dolgu miktarı ile orantılı bir şekilde arttığı gözlemlenmiştir. PCL 'ye ait maksimum kütle kaybının meydana geldiği  $T_{max}$  sıcaklığı  $408^{\circ}\text{C}$  iken saf nHAp eklendiğinde artan dolgu maddesi miktarı ile bu değer artmaktadır. Ayrıca gerçekleştirilen nHAp'ın organomodifikasyonu ile PCL'ye kıyasla nanokompozitlerinin  $T_{max}$  değerleri genel olarak daha yüksek sıcaklıklara artmıştır. Yapılan termal analizlerden en yüksek termal kararlılığa sahip örnekler PCL/nHAp (%5) ve PCL/nHAp-3apt (%5) olarak belirlenmiştir.

PMMA, termal kararlığı yüksek olan ve monomerlerine degradasyonundan dolayı tercih edilen bir polimerdir. Termogravimetrik analizler sonucunda, saf PMMA'nın yapısında sıcaklık artışına bağlı olarak değişimler meydana gelmektedir. Saf PMMA'nın bozunması üç basamakta meydana gelmektedir. İlk basamak  $30\text{--}245\text{ }^{\circ}\text{C}$  aralığında zayıf zincirlerin yapıdan uzaklaşması ile gerçekleşmektedir. Bu basamakta %6.24 'lik bir kütle kaybı meydana gelmektedir. İkinci basamak  $245\text{--}305\text{ }^{\circ}\text{C}$  aralığında düzensiz zincir sonlanmaları ile degradasyon devam etmektedir. Bu basamaktaki kütle kaybı ise %6.25'dir. Son basamakta ise tekrarlanan birimlerdeki C-C bağlarının rastgele zincirden ayrılmasıyla  $305\text{--}420\text{ }^{\circ}\text{C}$  aralığında gerçekleşmektedir. Bu basamakta %86.79 'lık bir kütle

kaybı meydana gelmektedir. Termal bozunma sonlandıktan sonra radikaller oluşmaktadır. PMMA'nın bozunmasına ait termogramdan elde edilen veriler Tablo 3.11'de, termal bozunmasına ait mekanizma Şekil 4.3'da verilmektedir.



Şekil 4.3: PMMA'nın termal degradasyon mekanizması[59].

Tablo 3.11 incelendiğinde saf PMMA'nın %5'lik (T<sub>5</sub>) ağırlık kaybı 219 °C'de meydana gelmiştir. PMMA/nHAp-3cptms(%1) nanokompozitinde ise %5'lik kütle kaybı 245 °C'de gerçekleşmiştir. PMMA ile hazırlanan tüm nanokompozitlerde %5'lik kütle kayıpları 219-305 °C aralığında gerçekleşmiştir. Ayrıca Tablo 3.11'de sıcaklığa bağlı olarak (T<sub>5</sub>, T<sub>10</sub>, T<sub>30</sub>, T<sub>50</sub> ve T<sub>80</sub>) %5, 10, 30, 50 ve 80 kütle kayıpları sırasıyla gösterilmektedir. Nanokompozitlerde, dolgu maddesi oranı arttıkça (%1, 2.5 ve 5) termal kararlılığın ve dolayısıyla kalan rezidü miktarının arttığı görülmektedir(bkz. Şekil 3.74-3.77). Bu durum; nanokompozitlerin sentezi aşamasında matris olarak kullanılan PMMA'nın zincirleri arasına dolgu maddesinin yerleşmesi sonucu yapıdaki termal kararlılığın değişimi ile açıklanmaktadır. Saf PMMA'ya göre en yüksek termal kararlılığa sahip olan örnek PMMA/nHAp-n3tmbda(%5) nanokompoziti olarak belirlenmiştir.

Tablo 3.11'in son sütununda DSC verileri, camsı geçiş sıcaklığı ( $T_g$ ) olarak belirtilmiştir. Eritme yöntemiyle sentezlenmiş film şeklindeki PMMA'nın camsı geçiş sıcaklığı 98 °C olarak bulunmuştur. PMMA/nHAp-n3tmpeda (%5) nanokompozitine ait camsı geçiş sıcaklığı 111 °C, PMMA/nHAp-3cptms (%1) nanokompozitine ait camsı geçiş sıcaklığı 101°C olarak belirlenmiştir ki bu değerler sentezlenen nanokompozit malzemeler arasındaki en yüksek ve en düşük camsı geçiş sıcaklıklarıdır. Diğer tüm nanokompozitlerin camsı geçiş sıcaklıkları bu iki değer arasında değişmektedir. Tüm nanokompozitler, saf PMMA'ya göre daha yüksek bir camsı geçiş sıcaklığına sahiptir. Bu aynı zamanda nanokompozitlerin saf PMMA'dan daha kararlı bir yapıya sahip olduklarını göstermektedir.

#### **4.2.4 Polimer/nHAp/modifiye-nHAp Nanokompozitlerine ait Optik Temas Açısı Analizleri**

PAA ve PAA'nın nanokompozitlerinin temas açısı ölçümleri distile su kullanılarak yapılmış ve analiz sonuçları Tablo 3.8'de verilmiştir. Temas açısı ölçümleri materyal yüzeylerinin hidrofobik ya da hidrofilik olduklarının bir ölçüsüdür. PAA polimerinin temas açısı ölçüsü 84.58° olarak analiz edilmiştir. 90°'den küçük olan bu değer PAA polimerinin hidrofilik bir yüzeye sahip olduğunu gösterir. Tablo 3.8'de görüldüğü üzere PAA/nHAp-n3tmpeda (%5) ve PAA/nHAp-3cptms (%5) nanokompozitlerinin temas açısı ölçüm sonuçları sırasıyla 98.43° ve 100.86° olarak bulunmuştur. Her iki biyonanokompozitin temas açısı ölçüm sonuçları 90°'den büyük olduklarından dolayı yüzeyleri hidrofobik özelliktedir. PAA matriksli nHAp-n3tmpeda(%5), nHAp-3cptms(%2.5) ve nHAp-3cptms(%5) nanokompozitlerinin hidrofobik bir yüzeye sahip oldukları gözlenmiştir. Bu üç nanokompozit dışında diğer tüm nanokompozitlerin hidrofilik bir yüzeye sahip oldukları bulunmuştur.

PCL ve PCL nanokompozitlerinin optik temas açısı analizleri verileri Tablo 3.10'da, analiz ile ilgili bazı fotoğraflar ise Şekil 3.50'da sunulmuştur. Hidrofobik bir poliester olarak bilinen PCL polimerinin medikal ya da tıbbi uygulamalarda kullanılması için hidrofilik özellik kazandırılması gereklidir. Çözücü uzaklaştırma yöntemiyle film şeklinde sentezlenen PCL 66.20°'lik bir temas açısı ölçümü sonucu ile hidrofilik bir

yüzeyle sahip olduğu belirlenmiştir. PCL filminin yüzeyinin hidrofilik özellik kazanması, örneğin; ilaç taşınımında su esaslı vücut sıvısında emilimi hızlandırmak için büyük önem taşımaktadır.

PCL ve bazı dolgu örnekleri ile film şeklinde sentezlenen nanokompozitlerin temas açısı analizleri incelendiğinde, tüm sonuçlar  $90^{\circ}$  'den küçük olduğundan tüm yüzeylerin hidrofilik özellik kazandığı görülmektedir. Saf PCL'ye göre nanokompozitlerinin hidrofilik özellikleri düşmüştür. Bu değerler  $2-16^{\circ}$  arasında değişmektedir. Hidrofilik yüzeyi en yüksek olan nanokompozit  $67.99^{\circ}$ lik temas açısı sonucu ile PCL/nHAp(%1) olmuştur. Nanokompozitler arasında en düşük hidrofilik yüzeye sahip ise  $82.19^{\circ}$  ile PCL/nHAp-n3ctmseda(%5)'tir.

Tablo 3.12 ve Şekil 3.78 eritme metodu ile sentezlenen PMMA ve PMMA'ya ait nanokompozit filmlerinin sırasıyla temas açısı fotoğrafları ve temas açısı ölçüm sonuçları verilmiştir. PMMA yapısal olarak hidrofobik bir polimerdir ve saf film şeklinde elde edilen bu polimerin temas açısı  $63.75^{\circ}$  olarak ölçülmüştür. Film şeklinde elde edilmiş olan saf PMMA'nın hidrofobik bir yüzeye sahip olduğu belirlenmiştir. Polimer matrisine eklenen nanopartiküllerin artan miktarları ile doğru orantılı olarak nanokompozitlerin temas açıları artmıştır. Saf PMMA polimerine göre bazı nanokompozitlerin hidrofilik özelliği azalırken bazı nanokompozitlerin ise hidrofobik özelliği artmaktadır. Bu durum Hap nanopartiküllerinin hidrofilik malzemeler olmasıyla açıklanabilir. İki hidrofilik yüzeye sahip materyalin kompozit oluşturarak farklı yüzeye sahip olması durumu literatürde rastlanmaktadır. Sentezlenen nanokompozitler arasında PMMA/nHAp (%5) ve PMMA/nHAp-n3tmspeda (%5)'nin yüzeylerinin hidrofobik özelliğe sahip olduğu belirlenirken, temas açısı sırasıyla  $92.14^{\circ}$  ve  $91.67^{\circ}$  olarak ölçülmüştür[59,73].

#### **4.2.5 Polimer/nHAp/modifiye-nHAp Nanokompozitlerine ait Optik Transmittans Analizleri**

Nanokompozitlerin optik transmittansları 200–700 nm dalga boyu aralığında ölçülmüştür. PAA ve nanokompozitlere ait ölçülen optik transmittans verileri grafiğe



aktarılarak Şekil 3.31-3.34’de gösterilmiştir. Medikal uygulamalar için kullanılacak olan kompozitler ya da diğer bir deyişle implantlar UV bölgedeki ışınları bloke etme özelliği taşımaları gerekmektedir[86]. Şekil 3.31–3.34 incelendiğinde, film şeklindeki nanokompozitlerin yapısındaki dolgu oranı arttıkça UV-Visible ışığın bloke edilme oranı artmaktadır. Saf PAA %50 ve daha fazla transmittansı 340 nm ve üzeri dalga boylarında gerçekleştirmiştir. Görünür bölgede (400–700 nm) %65–90 arasında bir transmittans özelliği göstermiştir[87]. %1 oranında dolgu maddesi içeren nanokompozitler saf PAA filmlerine oranla optik transmittansı görünür bölgede %65–75 aralığında gerçekleşmiştir. UV bölgede (200 – 400 nm) ise saf PAA ile benzer özellikler göstermektedirler. %2.5 oranında dolgu içeren nanokompozitler saf PAA filmlerine göre yaklaşık olarak %55 – 70 oranında transmittans özellik göstermiştir. UV bölgede ise saf PAA ya göre %15 oranında transmittans düşmüştür. PAA/nHAp (%5) nanokompoziti hariç, %5 oranında dolgu içeren tüm nanokompozitler saf PAA’ya göre UV-Visible ışığın yaklaşık olarak %75 oranında transmittansını bloke etmiştir. 400–700 nm aralığındaki görünür bölgede yaklaşık olarak %10–36 arasında, 200–400 nm aralığındaki UV bölgede ise PAA/nHAp (%5) %50, PAA/nHAp-3apt (%5) %36, PAA/nHAp-3cptms (%5) %11 ve PAA/nHAp-n3tmpeda (%5) %15’in altında bir transmittans özellik göstermiştir.

PCL ve nanokompozitlerinin optik transmittans analizlerinin sonuçları şekil 3.52–3.55 arasında verilmiştir. Şekiller incelendiğinde, film şeklindeki saf PCL görünür bölgenin (400–700 nm) tüm aralığında yaklaşık olarak %95’lik bir transmittans özellik göstermiştir. Saf PCL filminin 320–400 nm (UV bölge) lik bölgede ise yine %95’lik transmittansa sahip olduğu tespit edilmiştir. 320 nm’den 200 nm’e doğru ilerledikçe transmittansta düşüş olduğu görülmüştür.

PCL matiksli %1, 2.5 ve 5’lik dolgu maddeleri ile hazırlanan nanokompozitler incelendiğinde, dolgu maddesine bağlı olarak transmittans ters orantılı bir biçimde düşmüştür. 400–700 nm arasında görünür bölgede PCL/nHAp-3apt(%1) nanokompoziti hariç tüm %1’lik nanokompozitlerde transmittans %80–87 arasında değişmiştir. PCL/nHAp-3apt(%1)’nin görünür bölgedeki transmittansı %54 olarak bulunmuştur. %1 oranında dolgu maddesi içeren nanokompozitlerin UV bölgede transmittansları değişim göstermiştir. %1’lik tüm nanokompozitlerde, 240–250 nm arasında %50, daha yüksek dalga boylarında ise artan bir transmittans tespit edilmiştir. PCL/nHAp(%2.5) ve

PCL/nHAp-n3tmpeda(%2.5) nanokompozitlerin görünür bölgede %50–54, 280–295 nm’de %50 ve dalga boyu düştükçe transmittansın düştüğü gözlemlenmiştir. PCL/nHAp-3apt(%2.5) ve PCL/nHAp-3cptms(%2.5) nanokompozitlerinde görünür bölgede %12, UV bölgede ise dalga boyu düştükçe transmittansın düştüğü tespit edilmiştir. %5 oranında dolgu maddesi içeren tüm nanokompozitlerin görünür bölgede %4-12 arasında, UV bölgede ise %4 ve dalga boyu düştükçe transmittansın düştüğü belirlenmiştir. Grafikler, dolgu maddelerinin (nHAp, nHAp-3apt, nHAp-3cptms ve nHAp-n3tmpeda) nanokompozit içerisindeki yüzdesi arttıkça, nanokompozitlerin ışık geçirgenliklerini orantılı bir şekilde azaldığını ifade etmektedir.

PMMA ve nanokompozitlerinin UV-Visible transmittans analizleri 200–700 nm arasında yapılmıştır ve sonuçlar Şekil 3.80-3.83’de verilmiştir. 270 nm ve daha yüksek dalga boylarda PMMA’nın UV-Visible spektrumu, %50 üzerinde transmittansa sahip olduğunu göstermiştir[77]. 250 nm ve daha düşük dalga boylarında ise saf PMMA filminin hiç bir transmittans özellik göstermediği tespit edilmiştir. Nanokompozitlerde durum biraz daha farklı gözlemlenmiştir. Saf PMMA’ya göre nanokompozitlerde dolgu maddesi arttıkça transmittansın düştüğü gözlenmiştir. Düşük transmittans ile birlikte dalga boyu derecesine göre de farklı davranışlar sergilemişlerdir. PMMA/nHAp (%1) ve PMMA/nHAp (%2.5) örnekleri %50 ve daha fazla transmittansı 280 nm ve üzeri dalga boylarda göstermişlerdir. PMMA/nHAp-3apt (%1) nanokompoziti 300 nm ve üzeri dalga boylarında %50 ve daha fazla transmittans göstermiştir. 300 nm ve üzeri dalga boylarında PMMA/nHAp-3cptms (%1) ve PMMA/nHAp-n3tmpeda (%1) nanokompozitleri %50 ve daha yüksek oranda transmittans göstermiştir. %2.5 ve %5 lik dolgu içeren diğer tüm nanokompozitler için yaklaşık olarak 360 nm ve üzeri dalga boylarında %50 ve üzerinde transmittans tespit edilmiştir.

#### **4.2.6 Polimer/nHAp/modifiye-nHAp Nanokompozitlerine ait SEM Analizleri**

Sentezlenmiş nanokompozitlerin yüzey morfolojilerine belirlemek için SEM mikroskopundan faydalanılmıştır. Fotoğraf çekimleri Şekil 3.30, 3.51 ve 3.79’de belirtildiği gibi 10µm ile 100nm aralığında yapılmıştır. Şekil 3.30’da bazı PAA nanokompozitlerine ait verilen SEM fotoğraflarında dolgu maddelerinin matriks içerisinde

dağıldığı görülmüştür. SEM fotoğraflarına göre incelenen nanokompozit yüzeylerinden, dolgu maddelerinin homojen bir şekilde dispersiyonu gözlemlenmektedir.

Şekil 3.51 bazı PCL nanokompozitlerine ait SEM fotoğrafları verilmiştir. PCL nanokompozitlerinin yüzey morfolojileri nanopartiküler ile kaplı olduğu görülmektedir. Dolgu maddesinin miktarına bağlı olarak nanokompozit yüzeylerinin morfolojileri farklılık göstermektedir. Şekil 3.51’de görüldüğü gibi PCL matriksi içerisinde nHAp ve modifiye nHAp dolgu maddelerinin homojen bir şekilde dağılımları görülmektedir.

PMMA nanokompozitlerine ait bazı SEM görüntüleri Şekil 3.79’de verilmektedir. Şekil 3.79 incelendiğinde, PMMA matriksinin yüzey morfolojisinin nano krasitalin yapıdaki dolgu maddeleriyle kaplandığı görülmektedir. Kristalin yapıdaki nanopartiküller PMMA matriksi içerisinde homojen bir şekilde disperse oldukları belirlenmiştir. Karakterizasyon aşamasının bir basamağı olan elektron mikroskopu ile görüntüleme tekniği ile nanokompozitlerin yüzey morfolojilerinin yapısı tayin edilmiştir.

### **4.3 Nanokompozitlerin Biyoyumlulukları**

#### **4.3.1 Polimer/nHAp/modifiye-nHAp Nanokompozitlerine ait Homoyumluluk Analizleri**

Çözücü ortamında etkileştirme yöntemiyle sentezlenen film şeklindeki PAA ve nanokompozitlerinin homoyumlulukları Şekil 3.35’te verilmiştir. Bölüm 2’de hemoliz yüzdesi %10’dan daha az ise sentezlenen nanokompozitlerin biyoyumlu; hemoliz yüzdesi %5’den az ise homoyumlu olarak kabul edileceği belirtilmişti. Şekil 3.35’te verilen grafikte PAA ve naokompozitlerinin sonuçlarına bakıldığında PAA polimerinin kan hücrelerinin hemolizine sebep olduğu görülmüştür. Çakır R., fare fibroblast hücreleri üzerine yaptığı çalışmasında saf PAA polimerinin hücrelerin yapısını bozduğu ve toksik etki yarattığını tespit etmiştir[88]. G. S. Saliaja ve arkadaşları, hidroksiapatit dolgulu kitosan/PAA ile dolgunsuz kitosan/PAA kompozitlerinin insan osteosarkoma hücreleri

üzerine karşılaştırmalı olarak toksik etkilerini araştırdıktan sonra hidroksiapatitli kompozitlerin hücrelerin canlılığı açısından daha iyi sonuçlar verdiğini bulmuşlardır[89]. E. De Giglio ve arkadaşlarının sentezledikleri Ti temelli PAA kompozitlerin osteoblast benzeri MG-63 hücreleriyle biyouyumluluklarının kayda değer bir toksik etki göstermediğini ve SEM görüntüleriyle hücre canlılığının kompozitlerle uyumlu bir şekilde devam ettiğini keşfetmişlerdir[13]. Çalışmamızın bu kısmı literatür ile uyumluluk göstermektedir. Saf PAA biyouyumluluk testinde toksik özellik göstermiştir. PAA/nHAp nanokompozitlerinin ise kan hücrelerinin hemoliz yüzdesinin artan dolgu maddesi miktarı ile azaldığı görülmüştür. Nanokompozitlerdeki dolgu miktarı arttıkça kan hücreleri ile olan uyumluluğun arttığı görülmüştür. Bazı nanokompozitler saf PAA'nın hemoliz yüzdesini %60 oranında düşürmelerine rağmen biyouyumlu olarak kabul edilmemektedir. PAA/nHAp(%2.5), PAA/nHAp-3cptms(%5), PAA/nHAp-n3tmpeda(%1) ve PAA/nHAp-n3tmpeda(%2.5) nanokompozitleri ise %10'nun altında hemoliz yüzdesi gösterdikleri için biyouyumlu nanokompozitlerdir. %5 oranında dolgu içeren diğer tüm nanokompozitlerin hemoliz yüzdeleri %5'in altında olmaları kan hücreleri ile uyumlu olduklarını gösterdiğinden bu nanokompozitler homouyumlu olarak kabul edilmektedir.

PCL biyobozunur bir polimer olduğu için canlı sistemi dahil oldukça yaygın bir kullanım sahasına sahiptir. Beşkardeş I. G.'ler sentezledikleri %20'lik PCL kompozitlerinin biyoaktivitelerini belirlemek için preosteoblast hücre hattı olan MC3T3-E1 kullanılmışlardır. SEM görüntüleri ile hücrelerin çoğaldığı belirlenmiştir. Alkalen fosfataz aktivitesi ve osteokalsin seviyesinin ölçümü ile PCL kompozitlerinin toksik etki göstermediklerini tespit etmişlerdir[9]. Maheshwari S. U. ve arkadaşları, doku mühendisliği uygulamalarında kullanılmak üzere sentezledikleri PVA/Hap/PCL kompozitlerinin MG-63 osteoblast hücreleri ile biyouyumluluklarını araştırmışlar. Araştırma sonucunda PCL içeren kompozitlerin hücrelerin adezyonunu arttırdığını ve çoğalmasını desteklediğini gözlemlemişlerdir[80]. Şekil 3.56 incelendiği zaman, PCL ve PCL/nHAp/organo nHAP olarak sentezlenen nanokompozitlerin hemoliz yüzdesinin %5'den daha az olduğu görülmektedir. Yukarıda belirtildiği üzere hemoliz oranının %5'ten az olmasıyla birlikte PCL ve PCL/ nHAp/organo nHAP nanokompozitlerinin homouyumlu olduğu anlaşılmaktadır. PCL'nin % hemoliz derecesi çok düşüktür ve yaklaşık olarak %0.6'dır. Bu sonuçlar, PCL filmlerinin oldukça yüksek homouyumluluğa ve biyouyumluluğa sahip polimerler olduğunu göstermektedir. Yine oldukça yüksek bir

biyoyumluluğa sahip olan nHAp[46] ile hazırlanan polimer nanokompozitlerin biyoyumlulukları incelendiğinde, PCL/nHAp ve PCL/nHAp-3apt nanokompozitlerinin tümünün en az saf PCL filmleri kadar homoyumluluğa sahip olduğu belirlenmiştir. Bu nanokompozitlerin % hemoliz değerleri %0.15-0.60 arasında değişmektedir. PCL/nHAp-3cptms ve PCL/nHAp-n3tmpeda nanokompozitlerinin % hemoliz değerleri %0.75–1.80 arasındadır. Diğer nanokompozitlere ve saf PCL'ye göre daha düşük ancak normal şartlarda oldukça yüksek homoyumluluğa sahip oldukları görülmektedir.

Kemik dolgu malzemesi olarak faydalanılan PMMA kompozitleri büyük ilgi görmektedir. Sentezledikleri PMMA/hidroksiapatit kompozitlerinin biyoyumluluklarını araştırmak için osteoblast hücrelerini kullanan Dalby M. J. ve arkadaşları hücrelerin artan hidroksiapatit oranına bağlı olarak çoğaldıklarını ve hücrelerin yüksek alkalen fosfataz aktivitesi sahip olduğunu göstererek biyoyumlu özellik gösterdiklerini tespit etmişler[90]. Canlı sistemler için kullanılacak biyomalzemelerin vücut sıvıları ile etkileşim içinde halindedir. Bu nedenle biyomalzemelerin hidrofilik özellikte olmaları gerekmektedir. Cantürk Ö., oksijen plazma uygulaması ile PMMA filmlerinin hidrofilik özelliğini arttırmıştır. Kontrol grubuna göre PMMA filmlerinin fibroblast hücrelerinin adhezyonu ve çoğalmasını arttırdığını bulmuştur[17]. Eritme yöntemi kullanarak sentezlediğimiz film şeklindeki PMMA ve PMMA/dolgu maddesi nanokompozitlerinin biyoyumlulukları ve homoyumlulukları Şekil 3.84'de verilmiştir. Şekil 3.84 incelendiğinde, PMMA ve PMMA/ dolgu maddesi nanokompozitlerin hemoliz yüzdelerinin %5'den daha az olduğu görülmektedir. Daha önceki bölümlerde belirtildiği gibi hemoliz oranının %5'ten az olması PMMA ve PMMA/ dolgu maddesi nanokompozitlerinin homoyumlu olduklarını göstermektedir. PMMA'nın % hemoliz derecesi çok düşük olup yaklaşık olarak %1.11'dir. Bu sonuç ile PMMA filminin oldukça yüksek biyoyumluluğa sahip bir polimer olduğu görülmektedir.

Şekil 3.84'deki diğer parametrelere bakıldığında, yüksek homoyumluluğa sahip, farklı % hemoliz sonuçları tespit edilmiştir. Matriks olarak kullanılan PMMA'daki dolgu maddesi oranının değişmesi, homoyumluluk derecesinin değişmesine sebep olmuştur. PMMA/nHAp(%1) ve PMMA/nHAp(%2.5)'nin %hemoliz değerleri sırasıyla %1.60 ve %1.40'tır. Ancak PMMA/nHAp(%5) nanokompozitin %hemoliz değeri %1'dir. PMMA/nHAp(%5)'in saf PMMA'dan daha iyi homoyumluluğa sahip olduğu tespit edilmiştir. PMMA/nHAp-3apt(%1), PMMA/nHAp-3apt(%5) ve PMMA/nHAp-3cptms

(%2.5) nanokompozitlerinin % hemoliz değerleri %0.34-0.68 arasında değişmektedir. en yüksek homouyumluluk özelliği PMMA/nHAp-3apt(%5) nanokompoziti göstermiş olup hemoliz değeri %0.34 olarak tespit edilmiştir. Diğer nanokompozitlerin % hemoliz değerleri %1.25–2.02 arasında değişmektedir.

#### **4.3.2 Polimer/nHAp/modifiye-nHAp Nanokompozitlerinin Antioksidan Enzim Aktivite Üzerine Etkileri**

Eritrositlerin hemolizi sonucu elde edilen 6 farklı antioksidan enzimi ile film şeklindeki PCL ve PCL/nanopartikül nanokompozitlerinin muamelesi sonucu enzim aktivitelerindeki değişimler grafiklendirilmiştir. Şekil 3.57–3.62’de sunulan bu grafiklerde sonuçların karşılaştırılması için bir kontrol grubunda mevcuttur. Şekil 3.56–3.61 incelendiğinde genel olarak enzim aktivitelerinde önemli bir değişikliğin olmadığı tespit edilmiştir.

Şekil 3.57’de PCL ve PCL/dolgu maddesi nanokompozitlerinin CAT enzimi aktivitesi üzerine etkisi görülmektedir. Kontrol grubu incelendiğinde enzim aktivitesinin göstermiş olduğu enzim ünitesi  $6.6\pm 0.8$  EU’dur. Sırasıyla PCL ve nanokompozitler ile muamele edilen enzim aktivitelerinin değerleri 5.1-7.4 EU arasında değişmektedir. Kontrol grubu ile etkileşim sonrasındaki enzimlerin göstermiş olduğu EU değerleri arasında kayda değer bir değişimin gerçekleşmediği tespit edilmiştir( $p>0.05$ ).

Şekil 3.58’de PCL ve nanokompozitlerin GST enzimi aktivitesini üzerine etkisi gösterilmiştir. Kontrol grubunda gösterilmiş olan enzim aktivitesinin değeri  $2.8\pm 0.2$  EU’dur. Saf PCL ile muamele edildikten sonra aktivite  $2.3\pm 0.07$  EU ve diğer tüm nanokompozitler ile muamele edildikten sonra aktivite 2.0-3.7 EU arasında değişim göstermiştir. Şekil 3.58 incelendiğinde, nanokompozitlerde değişen nanopartikül miktarları ve değişen dolgu maddesine bağlı olarak enzim aktivitesindeki değişimler belirlenmiştir. Nanokompozitlerde dolgu miktarlarının artması (%1, 2.5 ve 5) enzim aktivitesinin artmasını sağlamıştır. Çalışmada kullanılan farklı dolgular (nHAp, nHAp-3apt, nHAp-3cptms, nHAp-n3tmpeda) arasında enzim aktivitesini en çok etkileyen nHAp-n3tmpeda

olarak tespit edilmiştir. PCL/nHAp-n3tmpeda nanokompozitlerinin GST enziminin aktivitesi üzerine gösterdiği etkinin kayda değer olmadığı gözlenmiştir( $p>0.05$ ,  $p=0.11$ ).

PCL ve PCL/dolgu maddesi nanokompozitlerinin GSH-Px enzimi aktivitesi üzerine etkisi Şekil 3.59'da sunulmuştur. Bu grafikte, kontrol grubunun gösterdiği enzim aktivite değeri  $16.7\pm 1.5$  EU'dir. PCL ve nanokompozitler ile muamele edilen GSH-Px aktivitesinin değerleri 15.5-21.0 EU arasında değişmekte olduğu belirlenmiştir. PCL/nHAp ve PCL/nHAp-3apt nanokompozitlerindeki dolgu miktarının artması ile enzim aktivitesinde artma gözlenmiştir. PCL/nHAp-3apt'nin GSH-Px enzim aktivitesinde kayda değer bir değişimin olmadığı tespit edilmiştir( $p>0.05$ ).

G6PD enziminin saf PCL ve nanokompozitleri ile muamelesi sonucu göstermiş olduğu aktivitesinin değerleri Şekil 3.60'ta sunulmuştur. G6PD enziminin aktivitesinin değeri (kontrol)  $3.7\pm 0.2$  EU'dir. Bu enzimin belli bir süre saf PCL ve nanokompozitleri ile muamele edildikten sonra elde edilen aktivitesinin 2.2-3.3 EU arasında değişmekte olduğu belirlenmiştir. Şekil 3.60 incelendiğinde, saf PCL ile muamele edildiğinde %15 oranında enzim aktivitesini düşürdüğü gözlenmiştir. G6PD ile muamele edilen %2.5 oranında dolgu maddesi içeren tüm nanokompozitlerin enzimin aktivitesinde önemsenecek bir değişime sebep olmadığı tespit edilmiştir. PCL/nHAp-3apt (%5) enzimin aktivitesine olumsuz yönde etkilemesine rağmen istatistiksel olarak anlamlı olmadığı kabul görülmektedir( $p>0.05$ ).

Şekil 3.61'de saf PCL ile nanokompozitlerinin GR ile muamelesi sonucu gösterdiği aktivite değerleri ve GR'nin aktivitesi verilmiştir. GR'nin aktivitesinin göstermiş olduğu ve kontrol grubu olarak kabul edilen enzim aktivitesi değeri  $3.2\pm 0.2$  EU'dur. GR'nin filmler ile muamelesi sonucu elde edilmiş enzim aktivitesinin değerleri 5.6-7.2 EU arasında değişmektedir. Saf PCL'nin enzim ile etkileşmeden sonraki aktivitesinde sebep olduğu değişim %50 oranında olmuştur. En yüksek enzim aktivitesi PCL/nHAp-3cptms (%5) ile muamele edildikten sonra hesaplanan enzim aktivitesidir. Yaklaşık olarak tüm nanokompozitlerin GR ile etkileşimi sonrasında aktivitenin iki katına çıktığı tespit edilmiştir( $p<0.05$ ).

SOD enziminin aktivitesi  $2.06 \pm 0.05$  EU ve saf PCL filmi ile muamele edildikten sonra göstermiş olduğu aktivitesi  $2.0 \pm 0.01$  EU olarak bulunmuştur (bkz. Şekil 3.62). Bu sonuç, saf PCL filminin SOD aktivitesi üzerinde herhangi bir etkisinin olmadığını göstermiştir. %2.5 oranında dolgu maddesi içeren tüm nanokompozitler enzim aktivitesini düşürmüştür. PCL/nHAp-3apt (%2.5) enzim aktivitesinin çok az oranda düşüşüne sebep olduğu belirlenmiştir. Diğer tüm nanokompozitlerin ise aktiviteyi istatistiksel olarak anlamlı bir şekilde etkilemediği görülmektedir ( $p > 0.05$ ).

Sentezlenen saf PMMA ve nanokompozitlerinin enzim aktivitelerine olan etkileri Şekil 3.85–3.90’de gösterilmiştir. Hiçbir çözücü kullanılmadan eritme yöntemiyle sentezlenen filmler, belli bir süre enzimlerin bulunduğu ortamda tutulduktan sonra enzimlerin aktivite ölçümleri yapılmıştır. Ayrıca enzimler filmler ile temas ettirilmeden önce kontrol olarak aktivite tayinleri yapılmıştır. Tüm işlemler bittikten sonra saf PMMA ve nanokompozitlerinin enzim aktiviteleri üzerine farklı etkiler yarattığı gözlemlenmiştir (Şekil 3.85–3.90). Şekiller incelendiğinde, hem saf PMMA hem de içerdikleri dolgu maddelerinin oranı ve çeşidi ile tüm nanokompozitlerin enzim aktiviteleri üzerinde farklı davranışlar sergiledikleri görülmüştür.

Şekil 3.85’te görüldüğü gibi CAT enziminin kontrol aktivitesi ile tüm filmler ile muamele edildikten sonra enzim aktivitesinin değerleri arasında önemli farklar olduğu gözlemlenmiştir. Saf PMMA filminin CAT enziminin aktivitesini düşürdüğü tespit edilmiştir. Ancak PMMA matriksli tüm nanokompozitler zıt bir davranış sergileyerek, CAT aktivitesinin artmasına sebep olmuşlardır. CAT kontrol aktivitesinin göstermiş olduğu enzim aktivitesi  $5.3 \pm 0.3$  EU’dir. CAT’ın saf PMMA ile etkileştirildikten sonraki aktivitesi  $3.8 \pm 0.2$  EU olarak kayıt edilmiştir. PMMA/nHAp-3apt (%5), PMMA/nHAp-3cptms (%1), PMMA/nHAp-3cptms (%2.5) ve PMMA/nHAp-3cptms (%5) nanokompozitlerinin CAT ile muamelesi sonucu aktivitesinin (9.1-10.7) iki katına çıktığı belirlenmiştir ( $p < 0.05$ ). Diğer nanokompozitlerin ise CAT aktivitesi üzerinde herhangi bir etkilerinin olmadıkları tespit edilmiştir ( $p > 0.05$ ).

Şekil 3.86’da GST enziminin PMMA ve nanokompozitleri ile hem muamele edilmeden hem de edildikten sonraki enzim aktivitesinin değerleri sunularak grafik haline



dönüştürülmüştür. GST kontrol aktivitesinin gösterdiği değer  $2.9 \pm 0.3$  EU'dir. Saf PMMA filmi, PMMA/nHAp (%1), PMMA/nHAp (%2.5) ve PMMA/nHAp (%5) ile muamele edildikten sonra aktivite değerinde artışlar gözlenmiştir. Aktivitedeki en yüksek değişime neden olan nanokompozit PMMA/nHAp (%2.5) olup, ancak bu aktivite değişiminin anova teti sonucu önemsiz olduğu belirlenmiştir ( $p > 0.05$ ). Diğer tüm nanokompozitlerin GST enzimi ile muamelesi sonucunda aktivitenin önemsenmeyecek şekilde azaldığı görülmüştür ( $p > 0.05$ ).

GSH-Px enziminin PMMA ve nanokompozitleri ile muamelesi sonucu elde edilen enzim aktivitelerinin absorbans değerleri Şekil 3.87'de sunulmuştur. Şekil 3.87 incelendiğinde, GSH-Px enziminin kontrol aktivitesinin değeri  $16.2 \pm 0.5$  EU olarak hesaplanmıştır. GSH-Px'in PMMA ve nanokompozitler ile muamele edildikten sonraki aktivitelerinde önemli bir değişimin meydana gelmediği tespit edilmiştir. Enzim aktivitesini değerleri 16.4-17.3 EU arasında bulunmuş ve tüm nanokompozitler ve saf PMMA filmleri etkileşimlerinden sonra aktivitelerinde önemli bir değişim tespit edilmemiştir ( $p > 0.05$ ). Şekil 3.87'deki veriler GSH-Px ile PMMA ve nanokompozitler arasında uyumlu bir etkileşimin olduğunu göstermektedir.

Şekil 3.88'de G6PD enziminin kontrol aktivitesinin değeri ve saf PMMA ve PMMA/ dolgu maddesi nanokompozitleri ile muamele edildikten sonraki aktivitesinin değerleri grafik olarak sunulmuştur. G6PD enziminin kontrol aktivitesinin değeri  $1.5 \pm 0.03$  EU'dir. Bu enzimin saf PMMA ve nanokompozitleri ile muamele edildikten sonra aktivitesinde azalan ve artan değişimler gözlenmiştir. En büyük değişimi PMMA/nHAp-3apt (%1) nanokompoziti ile etkileşimde belirlenmiş ve aktivitesinin %40-50 oranında arttığı görülmüştür. G6PD'nin aktivitesini azaltan nanokompozit ise PMMA/nHAp-n3tmpeda (%1)'dir. PMMA/nHAp-n3tmpeda (%1) ile muamele edilen enzimin göstermiş olduğu enzim aktivitesi  $1.3 \pm 0.15$  EU olarak tespit edilmiştir. Tüm nanokompozitlerin etkileri incelendiğinde, genel olarak enzim aktivitesini arttırarak aktivatör gibi davrandığı söylenebilir ( $p < 0.05$ ).

Şekil 3.89'da GR enziminin aktivitesinin farklı durumlardaki absorbans değerleri verilmiştir. Kontrol grubu olarak kabul edilen enzim aktivitesinin değeri  $7.7 \pm 0.1$  EU'dir.

Saf PMMA ve PMMA/dolgu maddesi nanokompozitleri ile muamele edilen kan örneklerindeki enzim aktiviteleri değerleri 1.9-4.9 EU arasında değişmektedir. Nanokompozitler, GR enziminin aktivitesini önemli ölçüde düşürmüştür( $p < 0.05$ ).

Şekil 3.90'de SOD enziminin kontrol aktivitesi ve SOD enzimi üzerine saf PMMA ve nanokompozitlerinin etkilerini açıklayan grafik verilmiştir. Grafik incelendiğinde, SOD enzimin saf PMMA ve nanokompozitleri ile muamelesinden sonra aktivitesinde %20 oranında bir düşüş gözlenmiştir. SOD aktivitesinin en az düşüşü PMMA/nHAp (%1), en fazla düşüşü ise PMMA/nHAp (%5) ile muamelesinden sonra olduğu belirlenmiştir. GR enzim çalışmasında olduğu gibi, SOD enzim aktivitesi PMMA ve nanokompozitleri ile muamele edildikten sonra düşüş göstermiş, ancak istatistiksel olarak anlamlı bir değişim olmadığı tespit edilmiştir( $p > 0.05$ )

#### 4.3.3 Nanokompozitlerin Antibakteriyel Aktiviteleri

Polimerler ve bazı nanokompozitlerin bakterisit etkileri *E. coli* ve *S. aureus* bakterilerine karşı test edilmiştir. Antibakteriyel test sonucu elde edilen veriler Şekil 3.36, 3.63 ve 3.91'de sunulmuştur. Her iki bakteri türüne karşı tüm saf polimerler ve sadece %1, 2.5 ve 5 oranında nHAp nanopartikülleri içeren nanokompozitlerin antibakteriyel aktivite tayinleri yapılmıştır. Saf PAA ve nanokompozitlerinin antibakteriyel aktivite analizleri Şekil 3.36'da verilmiştir. Şekil 3.36 incelendiğinde saf PAA'nın farkedilebilir herhangi bir antibakteriyel aktivitesi gözlenmemiştir. Ancak PAA nanokompozitlerinin farklı oranlarda her iki bakteri türünün gelişimini engellediği gözlenmiştir. Nanokompozitlerin antibakteriyel aktivitesi artan dolgu maddesine bağlı olarak artmaktadır. Gratzl G. ve arkadaşları sentezledikleri poli(stiren)-poli(akrilik asit)-diblok (PS-b-PAA) kopolimerinin *E. coli* bakterisine karşı antibakteriyel aktivitesini sulu süspansiyonda belirlemeye çalışmışlardır. Su ile temas eden PS-b-PAA kompozitin yüzeyi PAA-blok grupların yüzeye hareketi ile modifiye olmuştur ve buna bağlı olarak ortamın pH'ı değişerek daha asidik bir ortam olmuştur. Ortamın asidik olması ile maksimum oranda antibakteriyel aktivite görülmüştür[91]. Shanmugam S., ve arkadaşları saf hidroksiapatitin ve farklı Cu iyonları ile modifiye ettikleri hidroksiapatitin *Staphylococcus aureus* ve *Escherichia coli* bakterilerine karşı antibakteriyel etkilerini araştırmışlardır. Saf hidroksiapatit *S. aureus*

bakterisine %48 oranında etki ederken, *E. coli*'ye karşı %82 oranında etki ettiğini bulmuşlardır. Daha sonra farklı Cu iyonları ile modifiye ettikleri hidroksiapatitin *S. aureus* ve *E. coli* bakterilerine karşı sırasıyla %66-98 ve %25-82 oranında etki ettiğini bulmuşlardır[92]. Çalışmamızda da antibakteriyel etkili hidroksiapatitin PAA nanokompozitlerine antibakteriyel aktivite kazandırmıştır ve *E. coli* bakterisine karşı daha yüksek aktivite tespit edilmiştir. Bu sonuç gram-pozitif ve gram-negatif bakterilerinin sahip oldukları hücre duvarlarıyla ilgili olabilir. Sonuç olarak nanokompozitlerin her iki bakteri türüne karşı farklı antibakteriyel aktivitelere sahip oldukları bulunmuştur.

PCL filmlerinin disk difüzyon yöntemiyle antibakteriyel aktivitesini *E. coli* ve *S. aureus* karşı çalışan Liao N. ve arkadaşları PCL filmi etrafında herhangi bir zon gözlemlememişlerdir. Ancak, tetrasiklin hidroklorit kullanılarak sentezlenen PCL kompozitlerinde antibakteriyel aktiviteyi gösteren zonu gözlemlemişlerdir[93]. Benzer bir şekilde Takala P. N. ve arkadaşları PCL/MC/PCL filmlerini bazı fenolik ve terpenik (organik asit, rosmarinik asit ve esansiyel yağ) ile güçlendirerek gram-negatif bakterilerine karşı güçlü bir antibakteriyel aktivite tespit etmişlerdir[94]. Şekil 3.63'te PCL ve %1, 2.5 ve 5 nHAp dolgu maddesi içeren nanokompozitlerinin Antibakteriyel aktivite analizi sonuçları verilmiştir. Şekil 3.63'te görüldüğü gibi PCL kendi çevresinde bir zon oluşturacak şekilde hem *E. coli* hem de *S. aureus* bakterilerinin gelişimini engelleyecek herhangi bir aktiviteye sahip olmadığı tespit edilmiştir. Ancak film şeklindeki PCL ve nanokompozitlerin üzerinde herhangi bir bakteri üremesi tespit edilmemiştir. Antibakteriyel bir özelliğe sahip olan nHAp Şekil 3.36'daki gösterdiği aktiviteyi PCL ile oluşturduğu filmlerde göstermediği gözlenmiştir. Ancak yukarıda bahsedildiği gibi saf PCL ve nanokompozit filmlerinin üzerinde her iki bakteri türüne ait koloni gözlemlenmediği için antibakteriyel aktiviteye sahip oldukları tespit edilmiştir. Bu durumda, PCL ve nanokompozitleri gram-negatif ve gram-pozitif bakterilerinin taşınması, tutunması, üremesi ve gelişmesi için uygun olmadıkları söylenebilir[94].

PMMA'nın antibakteriyel aktiviteye sahip bir biyomalzeme ile yaptığı kompozitlerde genellikle mikrobiyal direnç özelliğini korumaktadır. Abou-Aiad T. H. M., sentezlediği polihidroksibütirat/PMMA kompozitlerinin bazı patojenik mikroorganizmalara artan PMMA oranına bağlı olarak daha yüksek antibakteriyel aktivite gösterdiğini belirlemiştir[95]. Yine bir başka çalışmada, Pongprayon T. ve arkadaşları

PMMA/Na<sup>+</sup>-bentonit nanokompozitlerini sentezlemişler ve *E. coli* ve *Salmonella typhimurium* bakterilerine karşı etkisini araştırmışlardır. Na<sup>+</sup>-bentonit nanopartiküllerinin sahip olduğu yüksek antibakteriyel aktiviteden dolayı PMMA/ Na<sup>+</sup>-bentonit nanokompozitlerinde yüksek antibakteriyel aktivite gösterdiğini bulmuşlardır[96]. PMMA'nın bu özelliği devam ettirmesi biyomalzemeler açısından oldukça önemlidir. Çalışmamızın bu kısmı literatüre paralellik göstermektedir. PMMA ve nanokompozitlerine ait antibakteriyel aktivite analiz sonuçları Şekil 3.91'de sunulmuştur. Saf PMMA filmleri bakterilerin gelişimi ve taşınması için uygun yapıya sahip değildirler. Şekil 3.91'de sunulan analiz sonucunda hem saf PMMA hem de nanokompozitlerinin *E. coli* ve *S. aureus* bakterilerinin gelişimi ve üremesi için uygun bir ortam teşkil etmemektedirler. Antibakteriyel bir özelliğe sahip olan hidroksiapatit[88], nanokompozit oluşturmak için bir araya geldiği polimerler ile bu özelliğini sürdürmektedir. Ancak sentezlenen tüm nanokompozitlerin sahip olduğu antibakteriyel aktiviteleri farklıdır. Nanokompozit sentez yönteminin seçimi, çözücü ortamında etkileştirme yöntemi kullanımı durumunda çözücünün etkisi ya da dolgu maddelerinin matriks ile yaptığı etkileşim antibakteriyel aktivitenin farklılık göstermesinde etkili olabilir.

## 5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Sunulan tez kapsamında medikal uygulamalara yönelik olarak farklı konsantrasyonlarda dolgu maddesi kullanılarak çeşitli biyouyumlu polimerik malzemelerin sentezi, karakterizasyonu ve biyouyumluluk sistemlerinde kullanılabilirliği araştırılmıştır. Çalışma kapsamında elde edilen önemli sonuçlar aşağıda özetlenmiştir.

- Saf nHAp ve organo silan bileşikleri ile modifiye edilen nHAp nanopartikülleri ile PAA, PCL ve PMMA bazlı nanokompozitler çözücü ortamında etkileştirme yöntemi ile sentezlenmiş ve elde edilen nanokompozitlerin karakterizasyonu XRD, FTIR-ATR, TGA, DSC, SEM, optik temas açısı, UV-Visible spektroskopisi ile incelenmiştir.
- XRD, FTIR-ATR ve BET sonuçları, nHAp nanopartiküllerinin organo silan bileşikleri ile modifiye edildiğini ve farklı yüzey alanlarına sahip nanopartiküller olduğunu kanıtlamıştır.
- PAA, PCL ve PMMA bazlı tüm nanokompozitlerin XRD desenleri ve SEM fotoğrafları tüm dolgu maddelerinin polimer matriks içerisinde homojen olarak nano seviyede dağıldığını ve dolguların matriks olarak kullanılan polimerlerin zincirleri arasında girdiğini göstermiştir.
- Tüm nanokompozitlerin, polimerlerin ve saf ve modifiye dolgu maddelerinin FTIR-ATR spektrumlarında görülen yeni bantlar ya da piklerdeki kayma, matriks ile dolgu maddesi arasında bir etkileşim meydana geldiğini doğrulamıştır.
- TG/DTA verileri, PAA ve PMMA matriksi nanokompozitlerin saf PAA ve PMMA'ya göre termal kararlılığın belirgin bir şekilde arttığını göstermiştir. PCL matriksli nanokompozitlerinin saf PCL'ye göre termal kararlılıkları önemli derecede değişmediği sonucuna varılmıştır.

- PAA ve PMMA bazlı nanokompozitlerin camsı geçiş sıcaklıkları saf polimerlere oranla artmıştır. Ancak PCL'nin camsı geçiş sıcaklığı (yaklaşık olarak -20 °C) çok düşük olduğundan çalışmada kullanılan DSC şartları doğrultusunda PCL ve PCL matrisli nanokompozitlerde camsı geçiş sıcaklığı ölçülememiştir.
- Film şeklinde sentezlenen saf polimerler ve tüm nanokompozitlerin temas açısı analizleri farklılık göstermiştir. Temas açısı analiz sonuçlarının farklılığı, polimerin dolgu maddeleri ile etkileşerek yüzey yapılarının farklılaştığını göstermektedir. Ölçülen temas açıları yüzeyin hidrofilik ya da hidrofobik karakterde olup olmadığını göstermiştir.
- Optik transmitans analizlerine göre tez çalışmasında kullanılan film şeklindeki saf polimerlerin UV ve görünür bölgedeki ışık geçirgenlikleri oldukça yüksektir. Biyoaktif ve biyoyumlu özellikteki dolgu maddeleri ve polimerler ile hazırlanmış nanokompozitler hem UV hem de görünür bölgedeki ışığı bloke etmiştir. Aynı zamanda dolgu maddelerinin konsantrasyonunun artması ile daha fazla ışık bloke edilmiştir.
- SEM fotoğraflarından dolgu maddelerinin matris içersine nanoboyutta ve homojen bir şekilde disperse olduğu anlaşılmıştır. SEM fotoğrafları ile XRD sonuçları uyum içindedir.
- Homouyumluluk testlerinde, saf PCL ve PMMA polimerleri ile bu polimerlere ait tüm nanokompozitler homouyumluluk dereceleri arasında farklılık olduğu tespit edilmiştir. Ancak PAA polimeri ve nanokompozitlerinin biyuyumluluk ve homouyumluluk dereceleri farklılık göstermiştir. Saf PAA polimeri biyuyumluluk özellik göstermezken, nanokompozitlerinin çoğu biyoyumlu ve homouyumlu özellik göstermiştir.
- Enzimler sulu ortamda aktivite gösterdikleri için PAA polimeri ve nanokompozitlerinin su alıp şişme (hidrojel) özelliğinden dolayı antioksidan enzim aktiviteleri üzerindeki etkileri araştırılamamıştır. PCL ve PMMA polimerleri ve nanokompozitlerinin antioksidan enzim aktiviteleri üzerine

farklı etkilerde buldukları tespit edilmiştir. Fakat hiçbir polimer ve nanokompozit antioksidan enzim aktivitesini inhibe etmemiştir.

- Saf polimerler ve nanokompozitler farklı antibakteriyel aktiviteler göstermişlerdir. Antibakteriyel aktiviteye sahip hidroksiapatit nanopartikülleri polimerler ile etkileşince farklı antibakteriyel aktiviteler sergilemiştir. Bu durum polimer ile nanohidroksiapatitin etkileşimi ile ilişkilendirilmiştir.

## 6. KAYNAKLAR

- [1] Chen, Q., Liang, S. and Thouas, G. A., “Elastomeric biomaterials for tissue engineering,” *Prog. Polym. Sci.*, vol. 38, no. 3–4, pp. 584–671, Mar. 2013.
- [2] Şahinler, S., “Kemik harcı kullanılarak hazırlanmış farklı yapıların mekanik özelliklerinin incelenmesi,” İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Mühendisliği Anabilim Dalı, 2005.
- [3] Slavutsky, A. M., Bertuzzi, M. A., Armada, M., García, M. G. and Ochoa, N. A., “Preparation and characterization of montmorillonite/brea gum nanocomposites films,” *Food Hydrocoll.*, vol. 35, pp. 270–278, Mar. 2014.
- [4] Wang, Y., Zhang, Y., Du, W., Wu, C. and Zhao, J., “Intelligent core-shell nanoparticles and hollow spheres based on gelatin and PAA via template polymerization,” *J. Colloid Interface Sci.*, vol. 334, no. 2, pp. 153–160, Jun. 2009.
- [5] Paital, S. R. and Dahotre, N. B., “Calcium phosphate coatings for bio-implant applications: Materials, performance factors, and methodologies,” *Mater. Sci. Eng. R Reports*, vol. 66, no. 1–3, pp. 1–70, Aug. 2009.
- [6] Cengiz, B., “Hidroksiapatit nanoparçacıklarının sentezi,” Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Mühendisliği Ana Bilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Ankara Üniversitesi, Ankara, 2007.
- [7] Gümüşdereliolu, M., “Biyomalzemeler,” *Bilim ve Teknik Dergisi*, Ankara, July-2002.
- [8] Webster, T. J. and Ejiolor, J. U., “Increased osteoblast adhesion on nanophase metals: Ti, Ti6Al4V, and CoCrMo,” *Biomaterials*, vol. 25, no. 19, pp. 4731–9, Aug. 2004.
- [9] Beşkardeş, I. G., “Biyoseramik ve biyosinyal moleküllerle desteklenmiş poli(kaprolakton) doku iskeleleri: Sentez, karakterizasyon ve kemik doku mühendisliği uygulamaları,” Fen bilimleri Enstitüsü, Kimya Ana Bilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi, Ankara, 2008.
- [10] Shukla, N. B., Daraboina, N. and Madras, G., “Oxidative and photooxidative degradation of poly(acrylic acid),” *Polym. Degrad. Stab.*, vol. 94, no. 8, pp. 1238–1244, Aug. 2009.
- [11] Yang, J. M., Huang, M. J. and Yeh, T. S., “Preparation of poly(acrylic acid) modified polyurethane membrane for biomaterial by UV radiation without degassing,” *J. Biomed. Mater. Res.*, vol. 45, no. 2, pp. 133–139, May 1999.



- [12] Giglio, E. D., Cometa, S., Cioffi, N., Torsi, L. and Sabbatini, L., "Analytical investigations of poly(acrylic acid) coatings electrodeposited on titanium-based implants: a versatile approach to biocompatibility enhancement.," *Anal. Bioanal. Chem.*, vol. 389, no. 7–8, pp. 2055–2063, Dec. 2007.
- [13] Giglio, E. D., Cafagna, D., Ricci, M. A., Sabbatini, L., Cometa, S., Ferretti, C. and Mattioli-Belmonte, M., "Biocompatibility of poly(acrylic acid) thin coatings electro-synthesized onto titanium-based implants," *J. Bioact. Compat. Polym.*, vol. 25, no. 4, pp. 374–391, May 2010.
- [14] Engineering, M., "Preparation and characterization of poly (  $\epsilon$  -caprolactone ) PCL scaffolds for tissue engineering applications preparation and characterization of poly (  $\epsilon$  -caprolactone ) PCL scaffolds for tissue engineering applications," vol. 769008, no. 207, 2009.
- [15] Melo F. D. and Marijnissen-Hofste, J., "Investigation of physical properties of a polycaprolactone dermal filler when mixed with lidocaine and lidocaine/epinephrine.," *Dermatol. Ther. (Heidelb)*, vol. 2, no. 1, p. 13, Dec. 2012.
- [16] Okamoto M. and John, B., "Synthetic biopolymer nanocomposites for tissue engineering scaffolds," *Prog. Polym. Sci.*, vol. 38, no. 10–11, pp. 1487–1503, Oct. 2013.
- [17] Özcan, C., "Surface free energy evaluation, plasma surface modification and biocompatibility studies of pmma films," Natural and Applied of Sciences, Chemistry, M. S. Thesis, Middle East Technical University, Ankara, 2006.
- [18] Pasinli, A., and Aksoy, R. S., "Yapay Kemik Uygulamaları İçin Hidroksiapatit Hydroxyapatite For Artificial Bone Applications," *Biyoteknoloji Elektronik Dergisi*, vol. 2010, no. 1, pp. 41–51, 2010.
- [19] Kalita, S. J., Bhardwaj, A. and Bhatt, H. A., "Nanocrystalline calcium phosphate ceramics in biomedical engineering," *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 27, no. 3, pp. 441–449, Apr. 2007.
- [20] Ezeroğlu, F., "Synthesis and characterization of poly(ether/ester) based thermoplastic elastomer nanocomposites", Department of Polymer, Science and Technology, Ph.D. Thesis, Middle East Technical University, Istanbul, (2013).
- [21] Polat, Y., "Influence of halloysite nanotubes on the mechanical and thermal properties of EPDM nanocomposites," Science Engineering and Technology, Polymer Science and Technology, M. Sc. Thesis, Istanbul Technical University, Istanbul, 2014.
- [22] Şener, G., Denктаş, E. B., Göktürk, I., Bayram, C., Kavaz, D., Pala, B. B., Çakmak, S., Karahaliloğlu, Z., Şam, M., Poor, I. O., Topal, M., "Nanobülten-13," pp. 5-13, Ankara, May-2011.
- [23] Şen, F., Palancıoğlu, H. and Aldaş, K., "Polimerik Nanokompozitler ve Kullanım Alanları," vol. 2010, no. 7, pp. 111–118, 2010.

- [24] Yeşiltaş, M., Dursun, S., Erkan, N., “Doğal Biyopolimer Bazlı (Biyobozunur) Nanokompozit Filmler ve Su Ürünlerindeki Uygulamaları,” *J. Fish. Sci.*, vol. 4, no. 1, pp. 50–77, 2010.
- [25] Bertoni, E., Bigi, A., Falini, G., Panzavolta, S. and Roveri, N., “Hydroxyapatite / polyacrylic acid nanocrystals,” *Journal of Materials Chemistry*, no. 002, pp. 779–782, 1999.
- [26] Turhan, Y., “Kil/polivinil türevleri nanokompozitlerinin sentezi ve karakterizasyonu,” Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Ana Bilim Dalı, Balıkesir Üniversitesi, Balıkesir, 2010.
- [27] Liu, Y., Cai, D., Yang, J., Wang, Y., Zhang, X. and Yin, S., “In vitro hemocompatibility evaluation of poly ( 4-hydroxybutyrate ) scaffold,” *Int. J. ClinExp. Med.*, vol. 7, no. 5, pp. 1233–1243, 2014.
- [28] Seyfert, U. T., Biehl, V., and Schenk, J., “In vitro hemocompatibility testing of biomaterials according to the ISO 10993-4,” *Biomol. Eng.*, vol. 19, pp. 91–96, 2002.
- [29] Jiang, B., Akar, B., Waller, T. M., Larson, J. C., Appel, A. A. and Brey, E. M., “Design of a composite biomaterial system for tissue engineering applications,” *Acta Biomater.*, vol. 10, no. 3, pp. 1177–1186, 2014.
- [30] Kayalılar, M. E., “Antioksidan enzimlerin aktivite ölçümü için yeni spektroskopik yöntemlerin geliştirilmesi,” Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Ana Bilim Dalı, İstanbul Üniversitesi, İstanbul, 2011.
- [31] Zachara, B. A., Gromadzińska, J., Wąsowicz, W. and Zbróg, Z., “Red blood cell and plasma glutathione peroxidase activities and selenium concentration in patients with chronic kidney disease : A review,” *Acta Biochimica Polonica*, vol. 53, no. 4, pp. 663–677, 2006.
- [32] Mercan, U., “Toksikolojide serbest radikallerin önemi,” *YYU Vet. Fak. Derg.*, vol. 15, no. (1–2), pp. 91–96, 2004.
- [33] Schöneich, C., “Reactive oxygen species and biological aging: a mechanistic approach,” *Exp. Gerontol.*, vol. 34, no. 1, pp. 19–34, Jan. 1999.
- [34] Özcan, T., “Biyonanoimplantların biyouyumluluğu,” Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Ana Bilim Dalı, Balıkesir Üniversitesi, Balıkesir, 2010.
- [35] Sadi, G., “Oxidative damage and regulation of antioxidant enzymes instreptozotocin induced diabetic rats,” Natural and Applied Sciences, Biochemistry Department, Ph.D. Thesis, Middle East Technical University, Ankara, 2009.
- [36] Brigelius-Flohé R. and Maiorino, M., “Glutathione peroxidases,” *Biochim. Biophys. Acta*, vol. 1830, no. 5, pp. 3289–3303, May 2013.
- [37] Yu, Y., Song, J., Guo X., Wang, S., Yang, X., Chen, L., and Wei, J., “Characterization and structural analysis of human selenium-dependent glutathione

- peroxidase 4 mutant expressed in *Escherichia coli*,” *Free Radic. Biol. Med.*, vol. 71, pp. 332–338, Jun. 2014.
- [38] Garai-Ibabe, G., Saa, L. and Pavlov, V., “Enzymatic product-mediated stabilization of CdS quantum dots produced in situ: application for detection of reduced glutathione, NADPH, and glutathione reductase activity,” *Anal. Chem.*, vol. 85, no. 11, pp. 5542–5546, Jun. 2013.
- [39] Tandoğan, B., Ulusu, N. N., “Kinetic mechanism and molecular properties of glutathione reductase,” *FABAD J. Pharm Sci.*, pp. 230–237, 2008.
- [40] Oakley, A. J., Bello, M. L., Battistoni, A., Ricci, G., Rossjohn, J., Villar, H. O. and Parker, M. W., “The structures of human glutathione transferase P1-1 in complex with glutathione and various inhibitors at high resolution,” *J. Mol. Biol.*, vol. 274, no. 1, pp. 84–100, Nov. 1997.
- [41] Zwieten, R. V., Verhoeven, A. J. and Roos, D., “Inborn defects in the antioxidant systems of human red blood cells,” *Free Radic. Biol. Med.*, vol. 67, pp. 377–386, Feb. 2014.
- [42] Kono Y., and Fridovich, I., “Superoxide radical inhibits catalase,” *J. Biol. Chem.*, vol. 257, no. 10, pp. 5751–5754, May 1982.
- [43] Wu, T. H., Liao, M. H., Kuo, W. Y., Huang, C. H., Hsieh, H. L., and Jinn, T. L., “Characterization of copper/zinc and manganese superoxide dismutase in green bamboo (*Bambusa oldhamii*): Cloning, expression and regulation,” *Plant Physiol. Biochem.*, vol. 49, no. 2, pp. 195–200, Feb. 2011.
- [44] Ustaoglu, Z., “Developing antimicrobial surfaces using ion-exchanged zeolites,” Chemical Engineering, Ph.D. Thesis, Yeditepe University, Istanbul, 2013.
- [45] Ordoobadi, S. M., “Fusion peptides for controlling antimicrobial activity on biomedical implants,” Istanbul Technical University, 2007.
- [46] Khan, A. S., Wong, F. S. L., McKay, I. J., Whiley, R. A. and Rehman, I. U. , “Structural, mechanical, and biocompatibility analyses of a novel dental restorative nanocomposite,” *J. Appl. Polym. Sci.*, vol. 127, no. 1, pp. 439–447, Jan. 2013.
- [47] Cheng Z. and Teoh, S. H., “Surface modification of ultra thin poly ( $\epsilon$ -caprolactone) films using acrylic acid and collagen,” *Biomaterials*, vol. 25, no. 11, pp. 1991–2001, May 2004.
- [48] Wang, H., Li, Y., Zuo, Y., Li, J., Ma, S. and Cheng, L., “Biocompatibility and osteogenesis of biomimetic nano-hydroxyapatite/polyamide composite scaffolds for bone tissue engineering,” *Biomaterials*, vol. 28, no. 22, pp. 3338–48, Aug. 2007.
- [49] Lee, H. H., Yu, H. S., Jang, J. H. and Kim, H. W., “Bioactivity improvement of poly( $\epsilon$ -caprolactone) membrane with the addition of nanofibrous bioactive glass,” *Acta Biomater.*, vol. 4, no. 3, pp. 622–629, May 2008.

- [50] Dai, Y., Zhang, C., Cheng, Z., Ma, P., Li, C., Kang, X., Yang, D. and Lin, J., “pH-responsive drug delivery system based on luminescent CaF<sub>2</sub>:Ce(3+)/Tb(3+)-poly(acrylic acid) hybrid microspheres,” *Biomaterials*, vol. 33, no. 8, pp. 2583–2592, Mar. 2012.
- [51] Park, J. S., Yang, H. N., Woo, D. G., Jeon, S. Y. and Park, K. H., “Poly(N-isopropylacrylamide-co-acrylic acid) nanogels for tracing and delivering genes to human mesenchymal stem cells,” *Biomaterials*, vol. 34, no. 34, pp. 8819–8834, Nov. 2013.
- [52] Yu, H. S., Hong, S. J., and Kim, H. W., “Surface-mineralized polymeric nanofiber for the population and osteogenic stimulation of rat bone-marrow stromal cells,” *Mater. Chem. Phys.*, vol. 113, no. 2–3, pp. 873–877, Feb. 2009.
- [53] Guarino V. and Ambrosio, L. “The synergic effect of polylactide fiber and calcium phosphate particle reinforcement in poly epsilon-caprolactone-based composite scaffolds,” *Acta Biomater.*, vol. 4, no. 6, pp. 1778–1787, Nov. 2008.
- [54] Yang, F., Wolke, J. G. C. and Jansen, J. A., “Biomimetic calcium phosphate coating on electrospun poly(ε-caprolactone) scaffolds for bone tissue engineering,” *Chem. Eng. J.*, vol. 137, no. 1, pp. 154–161, Mar. 2008.
- [55] Gain, A. K., Song, H. Y. and Lee, B. T., “Microstructure and mechanical properties of porous yttria stabilized zirconia ceramic using poly methyl methacrylate powder,” *Scr. Mater.*, vol. 54, no. 12, pp. 2081–2085, Jun. 2006.
- [56] Vasiliev, A. N., Zlotnikov, E., Khinast, J. G. and Riman, R. E., “Chemisorption of silane compounds on hydroxyapatites of various morphologies,” *Scr. Mater.*, vol. 58, no. 12, pp. 1039–1042, Jun. 2008.
- [57] Shen, Z., Simon, G. P., and Cheng, Y.-B., “Comparison of solution intercalation and melt intercalation of polymer–clay nanocomposites,” *Polymer (Guildf.)*, vol. 43, no. 15, pp. 4251–4260, Jul. 2002.
- [58] Bhiwankar N. N. and Weiss, R. A., “Melt intercalation/exfoliation of polystyrene–sodium-montmorillonite nanocomposites using sulfonated polystyrene ionomer compatibilizers,” *Polymer (Guildf.)*, vol. 47, no. 19, pp. 6684–6691, Sep. 2006.
- [59] Koçer, B., “Al-Montmorillonit/pol(metil metakrilat) nanokompozitlerinin sentezi ve karakterizasyonu,” Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Balıkesir Üniversitesi, Balıkesir, 2013.
- [60] Marois, Y. and Be, M. C., “Studies of primary reference materials low-density polyethylene and polydimethylsiloxane: A Review,” *Journal of Biomedical materials*, pp. 467–477, 2001.
- [61] Chang, P. C., Liu, B. Y., Liu, C. M., Chou, H. H., Ho, M. H., Liu, H. C., Wang, D. M. and Hou, L. T., “Bone tissue engineering with novel rhBMP2-PLLA composite scaffolds,” *J. Biomed. Mater. Res. A*, vol. 81, pp. 771–780, 2007.

- [62] Yadav, S. S., Srikanth, E., Singh, N. and Rathaur, S., "Identification of GR and TrxR systems in *Setaria cervi*: Purification and characterization of glutathione reductase.," *Parasitol. Int.*, vol. 62, no. 2, pp. 193–198, Apr. 2013.
- [63] Akkemik, E., Taser, P., Bayindir, A., Budak, H. and Ciftci, M., "Purification and characterization of glutathione S-transferase from turkey liver and inhibition effects of some metal ions on enzyme activity.," *Environ. Toxicol. Pharmacol.*, vol. 34, no. 3, pp. 888–894, Nov. 2012.
- [64] Karasakal, Ö. F., "Tarımda Kullanılan Bazı Pestisitlerin *Cyprinus carpio carpio*'daki Antioksidan Enzimlere Etkisinin Değerlendirilmesi," Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Ana Bilim Dalı, Balıkesir Üniversitesi, Balıkesir, 2013.
- [65] Abd Ellah, M. R., Okada, K., Goryo, M., Oishi, A. and Yasuda, J., "Superoxide dismutase activity as a measure of hepatic oxidative stress in cattle following ethionine administration.," *Vet. J.*, vol. 182, no. 2, pp. 336–341, Nov. 2009.
- [66] Thomas, V., Yallapu, M. M., Sreedhar, B. and Bajpai, S. K., "A versatile strategy to fabricate hydrogel-silver nanocomposites and investigation of their antimicrobial activity.," *J. Colloid Interface Sci.*, vol. 315, no. 1, pp. 389–395, Nov. 2007.
- [67] Moshaverinia, A., Ansari, S., Moshaverinia, M., Roohpour, N., Darr, J. A. and Rehman, I., "Effects of incorporation of hydroxyapatite and fluoroapatite nanobioceramics into conventional glass ionomer cements (GIC).," *Acta Biomater.*, vol. 4, no. 2, pp. 432–440, Mar. 2008.
- [68] Shaltout, A. A., Allam, M. A. and Moharram, M. A., "FTIR spectroscopic, thermal and XRD characterization of hydroxyapatite from new natural sources.," *Spectrochim. Acta. A. Mol. Biomol. Spectrosc.*, vol. 83, no. 1, pp. 56–60, Dec. 2011.
- [69] Gheisari, H., Karamian, E. and Abdellahi, M., "A novel hydroxyapatite-hardystonite nanocomposite ceramic," *Ceram. Int.*, vol. 41, no. 4, pp. 5967–5975, 2015.
- [70] Sadat-Shojai, M., Khorasani, M. T., Jamshidi, A. and Irani, S., "Nano-hydroxyapatite reinforced polyhydroxybutyrate composites: a comprehensive study on the structural and in vitro biological properties.," *Mater. Sci. Eng. C. Mater. Biol. Appl.*, vol. 33, no. 5, pp. 2776–2787, Jul. 2013.
- [71] Gum, T., Valiente, M., Khulbe, K. C., Palet, C. and Matsuura, T., "Characterization of activated composite membranes by solute transport, contact angle measurement, AFM and ESR," vol. 212, pp. 123–134, 2003.
- [72] Tredwin, C. J., Young, A. M., Georgiou, G., Shin, S. H., Kim, H. W. and Knowles, J. C., "Hydroxyapatite, fluor-hydroxyapatite and fluorapatite produced via the sol-gel method. Optimisation, characterisation and rheology.," *Dent. Mater.*, vol. 29, no. 2, pp. 166–173, Feb. 2013.
- [73] Yuan Y. and Lee, T. R., "*Surface Science Techniques*", vol. 51. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2013.

- [74] De la Fuente, J. L., Wilhelm, M., Spiess, H. W., Madruga, E. L., Fernández-García, M. and Cerrada, M. L., “Thermal, morphological and rheological characterization of poly(acrylic acid-g-styrene) amphiphilic graft copolymers,” *Polymer (Guildf)*, vol. 46, no. 13, pp. 4544–4553, Jun. 2005.
- [75] Lai, K., Ji, L., Long, C., Li, L., He, B., Wu, Y. and Gu, Z., “Synthesis of functionalizable and biodegradable polymers via ring-opening polymerization of 5-benzyloxy-trimethylene carbonate and  $\epsilon$ -caprolactone,” DOI: 10.1002/app.34735, 2011.
- [76] Alp, B., Mayda, S. and Cesur, S., “Poli kaprolakton temelli biyobozunur ambalaj üretimi,” *11. Ulusal Kimya Mühendisliği Kongresi*, 2014, pp. 1–14.
- [77] Shobhana, E., “X-ray diffraction and UV-Visible studies of PMMA thin films,” *International Journal of Modern Engineering Research*, vol. 2, no. 3, pp. 1092–1095, 2012.
- [78] Ghaffarlou, M., “Poli (N - vinilimidazol )/poli (akrilik asit ) ve poli (n - vinilimidazol)/poli (metakrilik asit ) interpolimer komplekslerinin sulu ortamda oluşumu ve karakterizasyonu,” Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Ana Bilim Dalı, Hacettepe Üniversitesi, Ankara, 2012.
- [79] Yu, H., Jia, Y., Yao, C. and Lu, Y., “PCL/PEG core/sheath fibers with controlled drug release rate fabricated on the basis of a novel combined technique,” *Int. J. Pharm.*, vol. 469, no. 1, pp. 17–22, Jul. 2014.
- [80] Maheshwari, S. U., Samuel, V. K. and Nagiah, N., “Fabrication and evaluation of (PVA/HAp/PCL) bilayer composites as potential scaffolds for bone tissue regeneration application,” *Ceram. Int.*, vol. 40, no. 6, pp. 8469–8477, Jul. 2014.
- [81] Ahmed, F., Saleemi, S., Khatri, Z., Abro, M. I. and Kim, I. S., “Co-electrospun poly( $\epsilon$ -caprolactone)/cellulose nanofibers-fabrication and characterization,” *Carbohydr. Polym.*, vol. 115, pp. 388–93, Jan. 2015.
- [82] Tomar, A. K., Mahendia, S. and Kumar, S., “Structural characterization of PMMA blended with chemically synthesized PANi,” *Pelagia Research Library*, vol. 2, no. 3, pp. 327–333, 2011.
- [83] Dubinsky, S., Grader, G. S., Shter, G. E. and Silverstein, M. S., “Thermal degradation of poly(acrylic acid) containing copper nitrate,” *Polym. Degrad. Stab.*, vol. 86, no. 1, pp. 171–178, Oct. 2004.
- [84] Dash, T. K. and Konkimalla, V. B. “Poly- $\epsilon$ -caprolactone based formulations for drug delivery and tissue engineering: A review,” *J. Control. Release*, vol. 158, no. 1, pp. 15–33, Feb. 2012.
- [85] Rezwan, K., Chen, Q. Z., Blaker, J. J. and Boccaccini, A. R., “Biodegradable and bioactive porous polymer/inorganic composite scaffolds for bone tissue engineering,” *Biomaterials*, vol. 27, no. 18, pp. 3413–31, Jun. 2006.

- [86] Rouhi, J., Mahmud, S., Naderi, N., Ooi, C. R. and Mahmood, M. R., “Physical properties of fish gelatin-based bio-nanocomposite films incorporated with ZnO nanorods,” *Nanoscale Res. Lett.*, vol. 8, no. 1, p. 364, Jan. 2013.
- [87] Pál, E., Seemann, T., Zöllmer, V., Busse, M. and Dékány, I., “Hybrid ZnO/polymer thin films prepared by RF magnetron sputtering,” *Colloid Polym. Sci.*, vol. 287, no. 4, pp. 481–485, Jan. 2009.
- [88] Çakır, R., “Polimerlerin toksisitesinin incelenmesinde yeni kültür modelinin geliştirilmesi” Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyomühendislik Ana Bilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Yıldız Teknik Üniversitesi, İstanbul, 2008.
- [89] Sailaja, G.S., Ramesh, P., Kumary, T.V., Varma, H.K. “Human osteosarcoma cell adhesion behaviour on hydroxyapatite integrated chitosan–poly(acrylic acid) polyelectrolyte complex” *Acta Biomaterialia*, 2: 651–657, .2006.
- [90] Dalby, M.J., Di Silvio, L., Harper, E.J., Bonfield, W., “Increasing hydroxyapatite incorporation into poly(methylmethacrylate) cement increases osteoblast adhesion and response” *Biomaterials*, 23: 569–576, 2002.
- [91] Gratzla, G., Walkner, S., Hild, S., Hassel, A. W., Weber, H. K., Paulik, C., “Mechanistic approaches on the antibacterial activity of poly(acrylic acid) copolymers” *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 126: 98–105, 2015.
- [92] Shanmugam, S. and Gopal, B., “Copper substituted hydroxyapatite and fluorapatite: Synthesis, characterization and antimicrobial properties,” *Ceram. Int.*, vol. 40, no. 10, pp. 15655–15662, 2014.
- [94] Martinez-Abad, A., Sanchez, G., Fuster, V., Lagaron, J. M., Ocio, M. J., “Antibacterial performance of solvent cast polycaprolactone (PCL) films containing essential oils” *Food Control*, 34: 214-220, 2013.
- [95] Abou-Aiad T. H. M., “Morphology and Dielectric Properties of Polyhydroxybutyrate (PHB)/Poly(methylmethacrylate) (PMMA) Blends with Some Antimicrobial Applications” *Polymer-Plastics Technology and Engineering*, 46: 435–439, 2007.
- [96] Pongprayoon, T., Nuangchamnong, R., Yanumet, N., “Antimicrobial resistance of clay polymer nanocomposites” *Applied Clay Science*, 86: 179–184, 2013.