



**FATİH SULTAN MEHMET VAKIF ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
BİYOMEDİKAL MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI
BİYOMEDİKAL MÜHENDİSLİĞİ PROGRAMI**

**3 BOYUTLU BİYO BASKI YÖNTEMİ İLE
BİYOAKTİF KATKILI TRANSDERMAL DOKU İSKELETİ
ÜRETİMİ VE SALIM KİNETİĞİ MATEMATİKSEL
MODELLEMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ALP ERDOĞAN ÖZTÜRK

İSTANBUL, 2024



**FATİH SULTAN MEHMET VAKIF ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
BİYOMEDİKAL MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI
BİYOMEDİKAL MÜHENDİSLİĞİ PROGRAMI**

**3 BOYUTLU BİYO BASKI YÖNTEMİ İLE
BİYOAKTİF KATKILI TRANSDERMAL DOKU İSKELETİ
ÜRETİMİ VE SALIM KİNETİĞİ MATEMATİKSEL
MODELLEMESİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**ALP ERDOĞAN ÖZTÜRK
(220231005)**

(Dr. Öğr. Üyesi Fatih Çiftçi)

İSTANBUL, 2024

03/07/2024

LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE

Biyomedikal Mühendisliği Anabilim Dalı Biyomedikal Mühendisliği Tezli Yüksek Lisans programı öğrencisi 220231005 numaralı Alp Erdoğan ÖZTÜRK'ün hazırladığı “3 Boyutlu Bio Baskı Yöntemi İle Biyoaktif Katkılı Transdermal Doku İskeleti Üretimi ve Salım Kinetiği Matematiksel Modellemesi” konulu Yüksek Lisans/Doktora/Sanatta Yeterlik tezi ile ilgili Tez Savunma Sınavı, 03/07/2024 Çarşamba günü saat 11:00’da yapılmış, sorulara alınan cevaplar sonunda adayın tezinin **Kabulüne Geçirilmesi/Oy Birliği** ile karar verilmiştir.

Tez adı değişikliği yapılması halinde: Tez adının “Üç Boyutlu Biyobaskı ile Üretilen Zerdeçal Özü İçeren Çapraz Bağlı Pva/Cs-Aljinat Biyokompozit İskelelerin Karakterizasyonu ve İn Vitro Değerlendirilmesi”. şeklinde değiştirilmesi uygundur.

| Jüri Üyesi | Karar |
|---|-------|
| 1. (Danışman) Dr. Öğr. Üyesi Fatih ÇİFTÇİ | KABUL |
| 2. Doç. Dr. Gökhan ÖZER | KABUL |
| 3. Dr. Öğr. Üyesi Nilüfer DUYGULU | Kabul |
| 4. | |
| 5. | |
| 6. (İkinci Danışman)*..... | |

*2. Danışman varsa doldurulması gerekmektedir.

ETİK BİLDİRİM

Bu tezin yazılmasında bilimsel ahlak kurallarına uyulduğunu, başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunulduğunu, kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapılmadığını, tezin herhangi bir kısmının bağlı olduğum üniversite veya bir başka üniversitedeki başka bir çalışma olarak sunulmadığını beyan ederim.

Alp Erdoğan Öztürk

TEŐEKKÜR

Tecrübelerini benden esirgemeyen ve karşılaştığım zorluklarda her daim ayakta kalmamı sağlayan babama, kaybolmuş hissettiğimde, elimden tutup doğru yolu gösteren, bugün olduğum kişi olmamı sağlayan anneme, akademik hayatımı yakından takip eden dedeme ve anneanneme ve tez sürecinde hep yanımda olan kardeşime teşekkürü borç bilirim.

Alp Erdoğan Öztürk

3 BOYUTLU BİYO BASKI YÖNTEMİ İLE BİYOAKTİF KATKILI TRANSDERMAL DOKU İSKELETİ ÜRETİMİ VE SALIM KİNETİĞİ MATEMATİKSEL MODELLEMESİ

Alp Erdoğan Öztürk

ÖZET

Doku mühendisliği alanı, cilt enfeksiyonları, yaralanmaları ve yanık problemleri gibi kendiliğinden iyileşme sürecinin imkânsız veya yetersiz olduğu durumlarda vücudun kaybettiği cildi geri kazanmasına yardımcı olmanın bir yoludur. Cilt enfeksiyonları tedavisinde yapay deri üretimi biyo-baskı cihazlarıyla sağlanmaktadır. Biyo-baskı iskelesi için optimum PVA/KS-aljinat/Zerdeçal bileşimini belirlemek amacıyla farklı bileşimlerde PVA/KS-aljinat karışımı hidrojelilerin mikro yapısını, fizikokimyasal özelliklerini ve basılabilirliğini araştırmak için kullanılmıştır. Bu çalışmada, Kitosan (KS), sodyum aljinat (ALG) ve Polivinil alkol (PVA) kombinasyonundan nanokompozitler sentezledik. Daha sonra, Zerdeçal nanokompozitlerin içine kapsüllenmiş ve Fourier-transform kızılötesi spektroskopisi (FTIR), elektron mikroskobu (SEM) ile karakterize edilmiştir. Bu çalışmaların yanında Zerdaçal biyoaktif maddesinin, salım kinetiği mekanizması Franz difüzyon hücresi ile ölçülmüş ve matematiksel modelleri incelenmiştir. Ayrıca, kapsüllenmiş Zerdeçal, serbest Zerdeçal'dan daha yüksek antibakteriyel, antioksidan ve anti-inflamatuar aktivite göstermiştir. Sonuçlara göre, albümin denatürasyonu için maksimum inhibisyon (%83,59), maksimum antioksidan aktivite (%85,79) ve 23,68 mg GAE/100 g ile en yüksek TPC içeriği PVA/KS-ALG biyokompozitinde bulunmuştur. Bu nedenle, üç biyopolimer KS ve ALG ile PVA'nın eş zamanlı kullanımının Zerdeçal'ın terapötik etkinliğini sinerjik olarak artıracığı sonucuna

varılmıştır. Sonuç olarak, PVA/KS-ALG biyokompozitinin yeni nano-kompoziti, özellikle inflamatuvar hastalıklar ve kanser olmak üzere çeşitli hastalıkları tedavi etmek için biyomedikal uygulamalar ve ilaç dağıtım sistemleri için etkili bir strateji ve umut verici bir aday sunmaktadır.

Anahtar Kelimeler: Biyomalzemeler, Doku İskeleleri, İlaç Dağıtımı, Kitosan, Zerdeçal, 3 Boyutlu Biyobaskı, Eklemeli İmalat

**PRODUCTION OF BIOACTIVE ADDED TRANSDERMAL
TISSUE SKELETON USING 3D BIOPRINTING METHOD AND
MATHEMATICAL MODELING OF RELEASE KINETICS**

Alp Erdoğan Öztürk

ABSTRACT

The field of tissue engineering is a way to help the body regain lost skin in cases where the self-healing process is impossible or inadequate, such as skin infections, injuries and burn problems. Artificial skin production in the treatment of skin infections is provided by bioprinting devices. In order to determine the optimum PVA/CS-alginate/ Turmeric composition for bioprinting scaffold, PVA/CS-alginate mixture of different compositions was used to investigate the microstructure, physicochemical properties and printability of hydrogels. In this study, we synthesised nanocomposites from the combination of chitosan (KS), sodium alginate (ALG) and polyvinyl alcohol (PVA). Then, turmeric was encapsulated into the nanocomposites and characterised by Fourier-transform infrared spectroscopy (FTIR), electron microscopy (SEM). In addition to these studies, the release kinetics mechanism of turmeric bioactive substance was measured by Franz diffusion cell and mathematical models were analysed. In addition, encapsulated turmeric showed higher antibacterial, antioxidant and anti-inflammatory activity than free turmeric. According to the results, the maximum inhibition for albumin denaturation (83.59%), maximum antioxidant activity (85.79%) and the highest TPC content with 23.68 mg GAE/100 g were found in PVA/CS-ALG biocomposite. Therefore, it was concluded that the simultaneous use of three biopolymers KS and ALG and PVA would synergistically enhance the therapeutic efficacy of turmeric. As a result, the new nanocomposite of PVA/KS-ALG biocomposite can be used to treat various diseases, especially inflammatory diseases and cancer.

Keywords: Biomaterials, Tissue Scaffolds, Drug Delivery, Chitosan, Turmeric, 3D Bioprinting, Additive Manufacturing

ÖN SÖZ

Yüksek lisans eğitimim ve tez çalışmam boyunca vaktini ve desteğini hiçbir zaman esirgmeden yardımına yetişen değerli danışmanı hocam; Dr. Öğr. Üyesi Fatih ÇİFTÇİ'ye, bitirme projemi gerçekleştirmemde büyük emeği olan Dr. Öğr. Üyesi Hayriye AKTAŞ DİNÇER'e, biyomedikal mühendisliğinin temellerinden en uç ayrıntılarına kadar bizlere çok şeyler katan sayın Prof. Dr. Bahattin KARAGÖZOĞLU'na ve eğitim hayatım boyunca desteklerini esirgmeden her daim yanımda olan aileme teşekkürlerimi sunuyorum.

Haziran 2024

Alp Erdoğan Öztürk

İÇİNDEKİLER

| | |
|--|------|
| ÖZET..... | v |
| ABSTRACT | vii |
| ÖN SÖZ..... | ix |
| SEMBOLLER..... | xii |
| ŞEKİL LİSTESİ..... | xiii |
| TABLO LİSTESİ..... | xiv |
| KISALTMALAR | xv |
| GİRİŞ | 1 |
| BİRİNCİ BÖLÜM | 6 |
| 1. BİYOMALZEMELER VE BİYOTEKNOLOJİ ÇALIŞMALARI..... | 6 |
| 1.1. GENEL | 6 |
| 1.2. HİDROJELLER | 7 |
| 1.3. HİDROJEL MATRİSLER VE YARA ÖRTÜLERİ..... | 8 |
| 1.4. İLAÇ DAĞITIMINDA HİDROJELLER | 9 |
| İKİNCİ BÖLÜM..... | 10 |
| 2. POLİMERİK ÇÖZELTİ İÇİN KULLANILAN MALZEMELER | 10 |
| 2.1. GENEL | 10 |
| 2.2. POLİVİNİL ALKOL..... | 11 |
| 2.3. KİTOSAN..... | 12 |
| 2.3. ALJİNAT | 13 |
| 2.4. ZERDEÇAL EKSTRESİ..... | 15 |
| ÜÇÜNCÜ BÖLÜM..... | 16 |
| 3. ÜÇ BOYUTLU BİYOBASKI | 16 |
| 3.1. ÜÇ BOYUTLU BİYOBASKI TEKNOLOJİSİ..... | 16 |
| 3.2. 3B BİYOBASKI YÖNTEMLERİ..... | 16 |
| 3.3. EKSTRÜZYON TABANLI BİYOBASKI | 17 |
| 3.4. PNÖMATİK EKSTRÜZYON YÖNTEMİNİ ETKİLEYEN PARAMETRELER | 18 |
| 3.4.1. Çözelti Parametreleri..... | 18 |
| 3.4.2. İşlem (Proses) Parametreleri..... | 19 |
| 3.5. BİYOMÜREKKEP VE BİYOMALZEME MÜREKKEBİ | 20 |
| DÖRDÜNCÜ BÖLÜM | 21 |
| 4. MATERYAL VE METOD | 21 |
| 4.1. HİDROJEL ÇÖZELTİLERİN HAZIRLANMASI..... | 22 |
| 4.2. ALJİNAT KULLANIMI VE HAZIRLANMASI | 23 |
| 4.3. ZERDEÇAL KULLANIMI VE EKSTRAKSİYONU..... | 23 |
| 4.4. ŞİŞME VE BOZUNMA ÇALIŞMALARI..... | 23 |

| | |
|--|-----------|
| 4.5 REOLOJİK KARAKTERİZASYON..... | 24 |
| 4.6 TEK EKSENLİ BASINÇ TESTLERİ..... | 24 |
| 4.7 SPEKTROMETRİK ANALİZ..... | 25 |
| 4.8 MEKANİK ÖZELLİKLER | 25 |
| 4.9 TARAMALI ELEKTRON MİKROSKOBU (SEM) ANALİZİ İLE MORFOLOJİK ÖZELLİKLERİN BELİRLENMESİ | 25 |
| 4.10 FOURİER-TRANSFORM KIZILÖTESİ SPEKTROSKOPİSİ (FT-IR) ANALİZİ İLE KİMYASAL BAĞLARIN BELİRLENMESİ | 26 |
| 4.11 EKSTRAKLARIN KOMBİNASYONLARININ ANTİOKSİDAN POTANSİYELLERİNİN BELİRLENMESİ..... | 26 |
| 4.12 SALIM KİNETİĞİ’NİN BELİRLENMESİ | 27 |
| 4.13 SİTOTOKSİSİTENİN BELİRLENMESİ | 27 |
| 4.14 HÜCRE HATTI BOYAMA | 28 |
| 4.15 İSTATİSTİKSEL ANALİZ | 28 |
| BEŞİNCİ BÖLÜM..... | 30 |
| BULGULAR VE TARTIŞMA | 30 |
| 5.1. DOKU İSKELELERİNİN ÜRETİLMESİ | 30 |
| 5.2. SEM ANALİZİ..... | 31 |
| 5.3. POR ANALİZİ..... | 33 |
| 5.4. MEKANİK TESTLER | 34 |
| 5.5. FITR ANALİZLERİ..... | 35 |
| 5.6. IN VİTRO SALIM KİNETİĞİ, MATEMATİKSEL MODELLEME | 37 |
| 5.7. SİTOTOKSİSİTE TESTLERİ | 43 |
| SONUÇ..... | 45 |
| KAYNAKÇA..... | 46 |

SEMBOLLER

| | | |
|-----------------------|---|----------------------------|
| Mm | : | Milimetre |
| µm | : | Mikrometre |
| Nm | : | Nanometre |
| °C | : | Santigrat |
| CO₂ | : | Karbondioksit |
| PVA | : | Polivinil alkol |
| PEG | : | Polietilen glikol |
| NH₂ | : | Amin |
| PAA | : | Poliakrilik Asit |
| PNIPAA | : | Poli(N-İzopropilakrilamid) |
| PEVA | : | Polietilen vinil asetat |
| EVA | : | Etilen-vinil asetat |
| ADH | : | Adipik asit dihidrazit |

ŞEKİL LİSTESİ

| | |
|---|----|
| Şekil 1.1: Hidrojel Oluşum Mekanizmaları | 7 |
| Şekil 2.1: Polivinil Alkol Formülü | 11 |
| Şekil 3.1: 3B Biyobaskı Yöntemleri | 17 |
| Şekil 5.1: Çözelti Örnekleri | 30 |
| Şekil 5.2: Biyobaskı İşlemi | 30 |
| Şekil 5.3: Doku iskeleleri | 31 |
| Şekil 5.4: SEM görüntüleri | 32 |
| Şekil 5.5: Çapraz bağlamanın por boyutuna etkisi | 33 |
| Şekil 5.6: Çekme germe testleri | 34 |
| Şekil 5.7: PVA, PVA-Turmerik, PVA-KS ve PVA-Turmerik-KS-ALG fonksiyonel yapılarının gösterimi | 35 |
| Şekil 5.8: Hücre canlılığı testi sonuçları | 44 |

TABLO LİSTESİ

| | |
|--|----|
| Tablo 1: Transdermal Olarak Uygulanan Bazı İlaçlar..... | 3 |
| Tablo 2.1: Aljinat Bazlı Hidrojeller..... | 14 |
| Tablo 4.1: Biyolojik Deneyler Sonunda Oluşturulan Kombinasyonlar | 27 |
| Tablo 5.1: PVA-Turmerik formülizasyonuna ait Turmerik Firsr-order salım kinetiği değer tablosu..... | 37 |
| Tablo 5.2: Biyolojik Deneyler Sonunda Oluşturulan Kombinasyonlar | 38 |
| Tablo 5.3: Biyolojik Deneyler Sonunda Oluşturulan Kombinasyonlar | 39 |
| Tablo 5.4: PVA-Turmerik- formülizasyonuna ait First-order salım kinetiği modellemesi tablosu..... | 40 |
| Tablo 5.5: PVA-KS formülizasyonuna ait Zero-order salım kinetiği modellemesi tablosu ... | 40 |
| Tablo 5.6: PVA-Turmerik-KS-ALG formülizasyonuna ait Zero-order salım kinetiği modellemesi tablosu | 41 |
| Tablo 5.7: PVA-Turmerik, PVA-KS, PVA-Turmerik-ALG formülizasyonuna ait biyoaktif maddelerin kümülatif salım % değerleri tablosu | 42 |

KISALTMALAR

| | |
|-------------|---|
| KS | : Kitosan |
| ALG | : Aljinat |
| 3B | : Üç Boyutlu |
| SEM | : Taramalı Elektron Mikroskobu |
| TEM | : İletim Elektron Mikroskobu |
| FTIR | : Fourier-Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi |

GİRİŞ

Deri, insan vücudunun en büyük organıdır ve kolay erişilebilirliği nedeniyle, ilaç dağıtımında önemli bir rol oynamaktadır. Yara ise biyolojik, kimyasal, fiziksel, mekanik hasarlar sonucunda deride oluşan hasar veya yırtılma olarak tanımlanabilir. Daha bilimsel bir tanımla yara, derinin doğal anatomik yapı ve işlevsel bütünlüğünde oluşan bir kesintidir. Yara iyileşmesi, yeni hücrelerin çoğalması, doku bütünlüğünün restorasyonu ve yaranın anatomik, fizyolojik ve histolojik yapısının geri kazanılmasıyla ortaya çıkan karmaşık, dinamik, biyokimyasal ve sitolojik olayların tamamına denir. Bu işlem, iltihaplanma, hücre göçü, anjiyogenez, matris sentezi, yeni kolajen oluşumu ve reepitelizasyon gibi çeşitli hücresel, biyokimyasal ve moleküler aşamaları içerir. Doku mühendisliği alanı, cilt enfeksiyonları, yaralanmaları ve yanık problemleri gibi kendiliğinden iyileşme sürecinin imkânsız veya yetersiz olduğu durumlarda vücudun kaybettiği cildi geri kazanmasına yardımcı olmanın bir yoludur. Cilt enfeksiyonları tedavisinde yapay deri üretimini biyo-baskı cihazlarıyla sağlanmaktadır. Bu çalışmada biyo-baskı iskelesi için optimum PVA/KS-ALG/Turmerik bileşimini belirlemek amacıyla farklı bileşimlerde PVA/KS- PVA/KS-ALG hidrojellerin mikro yapısını, fizikokimyasal özelliklerini ve basılabilirliğini araştırmak için kullanılmıştır

Doku mühendisliği çalışmalarında membran uygulamaları yüksek bir öneme sahiptir. Membranların genel özelliği, esneklik, biyouyumluluk, kararlılık, hazırlama ve uygulama kolaylığı olmasıdır. Özellikle biyopolimer tabanlı membranların seçimli geçirgen özellikte olması, gözenekli yapısı ve yarı iletken sensor olarak kullanılabilir olması biyosensör uygulamalarda doku ile örtü arasındaki pH, glikoz ve ter gibi. Fizikokimyasal değerlerin ölçülebilir ve seçici geçirgen özelliği sayesinde kullanım alanını artırmaktadır. İlaç genellikle gözenekli bir membranla kaplanmış bir rezervuarda bulunur veya gömülü ilacı serbest bırakmak için vücut sıcaklığında eriyen yapışkan bir matris içine yerleştirilir. En ünlü transdermal bantlardan biri, sigarayı bırakmaya yardımcı olmak için kana düşük dozlarda nikotin salan nikotin bandıdır.

Doku mühendisliği çalışmalarında polivinil klorür, polietilen, polivinil asetat vb. çeşitli polimerlerden yararlanılmaktadır. Polivinil klorür (PVC) esnek ve geçirimsiz bir

destek olarak öne çıkar ve aşınma sırasında yapısal bütünlük sağlar. Polietilen (PE) ve Polipropilen (PP), destek veya yapışkan katmanlarda mekanik mukavemete katkıda bulunur. Polietilen vinil asetat (PEVA), salım oranlarının kontrol edildiği ilaç rezervuarlarında kullanılır. Çok yönlü bir yapıştırıcı olan poliüretan, güçlü cilt yapışması ve yama dayanıklılığı sağlar. Poliakrilat polimerler mükemmel yapışma sağlarken, Polivinilpirolidon (PVP) matris sistemlerinde ilaç salım kinetiğini modüle eder. Silikon elastomerler, esneklikleri ve biyouyumlulukları ile genel yama konforuna katkıda bulunur. Bir başka kopolimer olan etilen-vinil asetat (EVA), rezervuar sistemlerinden ilaç salımının hassas kontrolüne yardımcı olur. Orta ila şiddetli ağrıların tedavisi için yavaş salımlı PLGA matris yamalar halinde transdermal buprenorfin formülasyonu (Transtec) piyasaya sürülmüştür. Buprenorfin güçlü bir mu-reseptör kısmi agonistidir ve yaygın olarak analjezik bir ilaç olarak kullanılmaktadır (Tzschentke, 2002). Transdermal uygulamada biyopolimerik çapraz bağlı filmler kullanan ilaç dağıtım sistemleri, plastikleştirici olarak Transcutol® ve penetrasyon artırıcı olarak terpenlerden oluşan kitosan jellerin, transdermal filmlerin iyi mekanik özellikleri ve biyoadezivitesi nedeniyle ondansetronun transdermal filmlerini hazırlamak için kullanılabileceğini göstermiştir. Kardiyovasküler hastalıkların tedavisinde kullanılan Propranolol HCL gibi beta blokörlerin transdermal olarak verilebilmesi için yapılan çalışmalarda HPMC, Uceryl, olioksietilen 2-oleil eter, Eudragit RS-100 ve modifiye edilmiş ksantan filmleri gibi polimerlerden yapılan filmler kullanılmıştır (Ahad, 2013). İbuprofen yüklü poli(laktid-ko-glikolid)/poli(etilen glikol)-g-kitosan içeren elektrospun membranlar kontrollü ilaç dağıtım uygulamalarında kullanılmıştır. Elektrospun PCL ve PCL-g-HA NFM'ler, peritendinöz yapışmayı önlemek ve biyomimetik tendon kılıfları olarak hizmet etmek üzere başarıyla hazırlanmıştır. Peptid bazlı farmasötikler olan peptidin, insülin, kalsitonin ve vazopressinin transdermal iletimi için hidrojel bazlı iyontoterapötik ilaç rezervuar matrisleri kullanılmıştır. Poliakrilamid tipi hidrojin şişme davranışı bir monomer ve çapraz bağlayıcı konsantrasyonunun fonksiyonu incelenmiş ve minimum şişme özelliklerine sahip bir hidrojel sentezlenmiştir.

Polimerik membranlar aracılığıyla vücuda çeşitli yöntemlerle ilaç dağıtımını sağlanabilmektedir. Bu yöntemlerden biri transdermal ilaç dağıtımıdır. Transdermal uygulama, bir maddenin cildin çeşitli katmanlarından geçerek sistemik kan dolaşımına yayıldığı durumlar için kullanılan bir kavramdır. İlaç molekülünün etkili penetrasyonu transdermal ilaç salımında önemli bir rol oynar. Günlük hayatta sıkça kullanılan güneş

kremleri, böcek kovucular ve antiseptikler gibi birçok bileşik vücuda dermal olarak uygulanırken, diğerleri cilt katmanlarına nüfuz ederek cildin içindeki veya hemen altındaki hedef bölgelere ulaşır. Transdermal salınımda ilaç deriye çeşitli yollardan nüfuz edebilir: (a) Keratinositlerin hücreler arası boşluklarını işgal eden lipid matriks yoluyla olan hücreler arası yol (lipofilik moleküller tarafından çokça tercih edilmektedir), (b) korneositler yoluyla olan transselüler (hücre içi) yol ve (c) kıl folikülleri, yağ bezleri ve ter bezleri boyunca olan trans appendiks yolu. Transdermal dağıtım genellikle hepatic ilk geçiş etkisi gösteren ve gastrointestinal (GI) sistemde kararsız olan ilaçların verilmesi için tercih edilirken dermal (topikal) dağıtım sadece derideki patolojik bölgeleri hedeflemek ve minimum sistemik emilim sağlamak için kullanılmalıdır. Transdermal olarak uygulanan bazı ilaçlar ve kullanım alanları Tablo 1’de verilmiştir.

Tablo 1: Transdermal olarak uygulanan bazı ilaçlar

| İlaç | Kullanım Alanı |
|------------------------------|---|
| Skopolamin | Yol tutması |
| Nitrogliserin | Angina pectoris |
| Nikotin | Sigarayı bırakma |
| Lidokain/epinefrin | Lokal dermal analjezi |
| Fentanil HCl | Akut ameliyat sonrası ağrı |
| Rotigotin | Parkinson hastalığı |
| Metilfenidat | Dikkat eksikliği ve hiperaktivite bozukluğu |
| Buprenorfin | Ağrı |
| Rivastigmin | Demans |
| Estradiol | Post-menstrual sendrom |
| Diklofenak Dietilamin | İltihaplanmalar |

Doku mühendisliği çalışmalarında hidrojeller ilaç dağıtım uygulamaları için en umut verici biyopolimerler arasındadır. Büyük miktarlarda suyu emebilen ve tutabilen ayarlanabilir, enjekte edilebilir polimer bazlı ağlardan oluşurlar. Sentetik olarak PEG, PAA, PNIPAAm ve polipeptitler, doğal olarak ise aljinat, HA, kolajen, kitosan, jelatin, dekstran ve ipek gibi çeşitli polimerlerden üretilebilirler. Hidrojel yaklaşımını kullanmanın avantajı, hücre yüklü iskelenin düzensiz şekilli yara bölgelerine minimal invaziv olarak iletilebilmesi ve sonunda faz geçişi üzerine uyum sağlayıp yerleşebilmesidir. Ayrıca, hidrojeller, iyi biyoyumluluk ve minimum bağışıklık tepkisi

gösterir, in vivo olarak kolayca metabolize olan amino asitlere ayrışır ve bu nedenle hem ilaç dağıtımını hem de rejeneratif mühendislik uygulamaları için avantajlı olan emilebilir bir iskele sağlar. Yaranın korunmasını, iyi nemlendirilmesini ve oksijenlenmesini sağlayarak iyileşmeyi destekleyebilir. Hidrojel iskeleler ameliyat sürelerini kısaltabilir, ameliyat sonrası ağrı ve yara dokusunu en aza indirerek maliyeti potansiyel olarak düşürebilir.

Kitosan doğal bir polisakkarittir ve kitin molekülünden asetil gruplarını uzaklaştıran bir işlem olan kitin deasetilasyonu ile üretilir. Kitosan'ın sağladığı mukavemet özelliklerinin yanı sıra, yaradaki inflamasyonu azaltmak ve yaranın nemli kalmasını sağlamak amacıyla aljinattan faydalanılmaktadır. Aljinat, kahverengi deniz yosunlarının hücre duvarlarından elde edilen doğal bir polisakkarittir. Aljinatın tıp alanında kullanımı, özellikle yara örtüleri üzerindeki etkileri ve biyouyumluluğu nedeniyle önemlidir. Aljinat, su tutma kapasitesi yüksek bir bileşiktir. Yara yüzeyine uygulandığında, jöle benzeri bir yapı oluşturarak yaranın nemli kalmasına yardımcı olur. Aljinatın anti-inflamatuar özellikleri de vardır. Yara veya tahriş olmuş deri üzerine uygulandığında, inflamasyonu azaltabilir ve ağrıyı hafifletebilir. Aljinatın en önemli özelliklerinden biri, hücrelere veya cilt dokularına yapışmamasıdır. Bu özellik, düşük yapışkanlı yara örtülerinin tasarımında önemlidir. Yara bölgelerinde kullanılan bu örtüler, eksüdalara emebilirler. Ancak, kuru yaralarda kullanılmamaları önerilir, çünkü bu tip yaralarda emilimi teşvik ederler ve nemin yenilenmesini sağlamazlar. Şu anda, aljinatın klinik olarak kullanıldığı örnekler arasında Kaltostat™ ve AlgSite M™ gibi yara örtüleri bulunmaktadır. Bu örtüler, yara bölgelerindeki sıvıları emerek temiz bir ortam sağlarlar. Ancak, aljinatın daha etkili bir şekilde kullanılabilmesi için yeni hidrojel yara örtülerinin geliştirilmesi gerekmektedir. Bu yeni örtüler, yaraların daha kapsamlı bir şekilde tedavi edilmesine yardımcı olabilir ve aljinatın avantajlarını daha etkili bir şekilde kullanabilir.

Zerdeçalın (Turmerik) bilimsel adı *Kurkuma longa*'dır ve Hint safranı olarak da bilinmektedir. Zerdeçal ekstresi, zerdeçal köklerinin öğütülmesi ve ardından ekstraksiyon yöntemleriyle kurkuminin çıkarılmasıyla gerçekleşir. Bu işlem sırasında çeşitli çözücüler veya doğal yağlar kullanılabilir. Zerdeçal, güçlü anti-inflamatuar özelliklere sahiptir ve iltihaplı hastalıkların semptomlarını hafifletebilir. Kurkumin aynı zamanda güçlü bir antioksidandır. Serbest radikallerin neden olduğu hücresel hasarı önleyerek yaşlanmayı yavaşlatabilir ve hastalıklara karşı koruyucu bir etki sağlayabilir, kan basıncını düşürmeye ve kolesterol seviyelerini dengelemeye yardımcı olur. Kurkuminin, kolajen

retimini artırıcı ve fibroblast aktivasyonunu destekleyici etkileri vardır. Bu özellikleri sebebiyle yara iyileşme sürecini hızlandırabilir ve cilt dokusunun sağlıklı bir şekilde yenilenmesine yardımcı olur.

BİRİNCİ BÖLÜM

1. BİYOMALZEMELER VE BİYOTEKNOLOJİ ÇALIŞMALARI

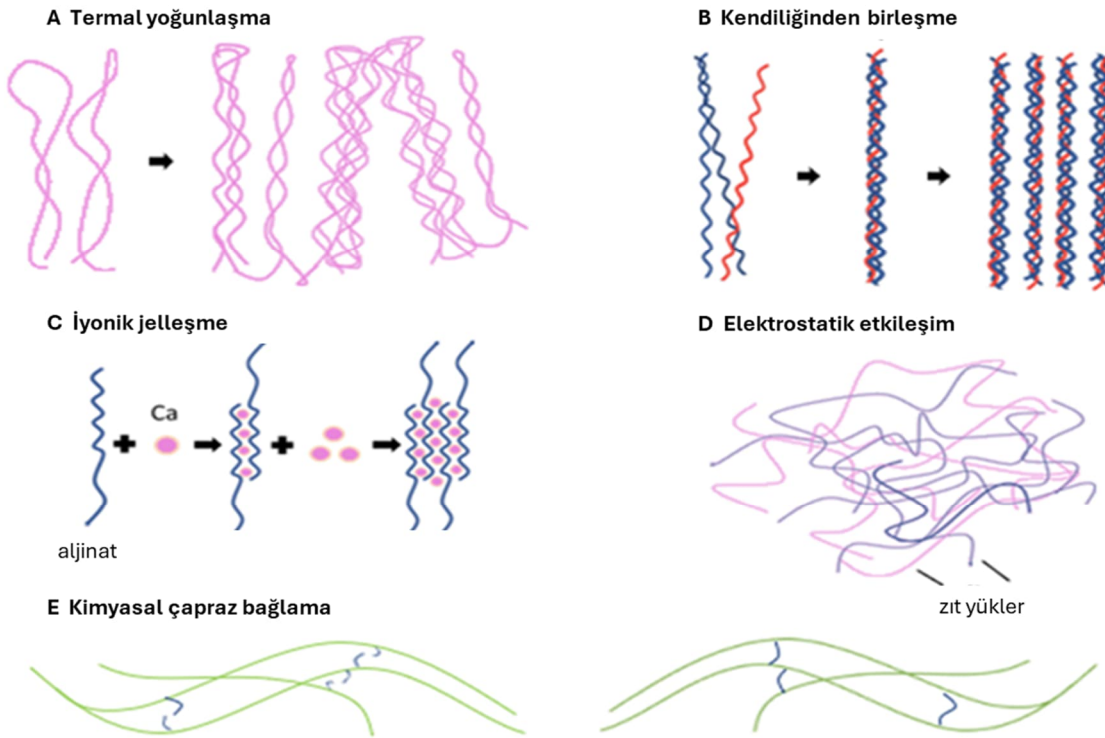
1.1. GENEL

Bir biyomalzeme, tek başına veya karmaşık bir sistemin parçası olarak, canlı sistemlerin bileşenleriyle etkileşimlerin kontrolü yoluyla, insan veya veterinerlik tıbbında herhangi bir terapötik veya teşhis prosedürünün seyrini yönlendirmek için kullanılan bir form almak üzere tasarlanmış bir madde olarak tanımlanabilir (Ratne ve diğ., 2004). Herhangi bir biyomalzeme, en azından, toksik veya zararlı etkilere neden olmama ve içine dahil edildiği biyolojik sistem üzerinde yeterli hücre/doku tepkilerini teşvik etme yeteneği olarak tanımlanan biyouyumluluk gerekliliğini karşılamalıdır (Williams, 2008). Biyomalzemeler ve biyoteknoloji hem terapötik hem de teşhis uygulamalarını geliştirerek tıbbi teknolojilerin ilerlemesinin ayrılmaz bir parçasıdır. Doğal veya sentetik kaynaklardan elde edilebilen biyomalzemeler, hasarlı doku ve organları değiştirmek veya onarmak için biyolojik sistemlerle etkileşime girecek şekilde tasarlanmıştır. Biyoteknolojide bu malzemeler genellikle hücre büyümesini ve doku rejenerasyonunu destekleyen iskeleler oluşturmak için kullanılır (Banyard vd., 2015; Chong vd., 2023; Farag, 2023; Festas vd., 2020). Örneğin, polilaktik asit (PLA) ve poli(laktik-ko-glikolik asit) (PLGA) gibi biyolojik olarak parçalanabilen polimerler, doku mühendisliğinde hücre yapışmasını, çoğalmasını ve farklılaşmasını destekleyen iskeleler üretmek için yaygın olarak kullanılmaktadır (Sahoo, 2003). Dahası, biyoteknoloji biyomalzemelerin özelliklerini geliştirmek için moleküler düzeyde modifikasyonunu mümkün kılmaktadır. Örneğin, büyüme faktörlerinin biyomalzeme iskelelere dahil edilmesi iyileşme sürecini önemli ölçüde hızlandırabilir ve doku entegrasyonunu geliştirebilir. Rejeneratif tıpta, kök hücrelerin biyomalzeme iskelelerle kombinasyonu, kırık ve kemik gibi karmaşık dokuların onarımı ve rejenerasyonunda umut verici sonuçlar göstermiştir. Dolayısıyla, biyomalzemeler ve biyoteknolojinin yakınsaması sadece tıbbi tedavilerin işlevselliğini ve

etkinliğini iyileştirmekle kalmamakta, aynı zamanda kişiselleştirilmiş tıp ve gelişmiş terapötik stratejiler için yeni yollar açmaktadır

1.2. HİDROJELLER

Polimer bilimindeki gelişmeler, yıllar boyunca farklı uygulamalarda kullanılan hidrojel sistemlerinin üretilmesiyle sonuçlanmıştır. Hidrojeller büyük miktarlarda suyu emebilen ve tutabilen ayarlanabilir, enjekte edilebilir polimer bazlı ağlardan oluşurlar. Sentetik polimerler olarak PEG, PAA, PNIPAAm ve polipeptitler ile doğal polimerler olarak aljinat, HA, kolajen, kitosan, jelatin, dekstran ve ipek gibi çeşitli polimerlerden üretilirler. Hidrojeller kimyasal ve fiziksel çapraz bağlama ile oluşturulabilir. Isı ve iyonik jelleşme, kendi kendine birleşme ve elektrostatik etkileşimler gibi fiziksel mekanizmalar kullanılarak hidrojeller kolaylıkla üretilir. Bununla birlikte, nitelikleri çoğunlukla polimerlerin doğal özelliklerine dayanır ve bu prosedürler kullanılarak yapılan hidrojellerin ince ayar için sınırlı bir toleransı vardır. Bunun aksine, kimyasal çapraz bağlama teknikleri daha hassas çapraz bağlama sağlar, ancak tipik olarak polimerlerin değiştirilmesini gerektirir, bu da biyolojik işlevselliğini tehlikeye atabilir (Talebian, 2018; Ahmed, 2015).



Şekil 1.1 Hidrojel oluşum mekanizmaları

Fiziksel çapraz bağlama farklı yöntemlerle elde edilebilir. Bu yöntemler arasında kendiliğinden birleşme, termal yoğunlaşma, elektrostatik etkileşim ve iyonik jelleşme yer almaktadır. Termal yoğunlaşma, jelleşme işlemi sırasında sıcaklık dalgalanmalarının bir sonucu olarak polimer zincirleri fiziksel olarak birbirine dolandığında gerçekleşir. Kendiliğinden birleşme hidrojen bağları, van der Waals kuvvetleri ve hidrofobik etkileşimler gibi kovalent olmayan bağlara bağlıdır. İyonik ve elektrostatik etkileşimler, karşıt yüklerin etkileşiminden kaynaklanır. Kimyasal çapraz bağlama ise kimyasal olarak aktif polimerlerin kovalent bağlanmasıyla elde edilir. Radikal polimerizasyon, aldehit tamamlama, yüksek enerjili ışınlama, klik kimyası, karbodiimid kimyası, enzim etkin biyokimya ve azid-alkin reaksiyonları dahil olmak üzere çok sayıda teknik kullanılmıştır. Fiziksel süreçlerle karşılaştırıldığında, kimyasal çapraz bağlama teknikleri hidrojel matrisinde daha fazla stabilite sağlar. Ayrıca hidrojel üretiminde daha fazla kontrol ve esneklik sağlarlar (Gomez, 2020).

1.3. HİDROJEL MATRİSLER VE YARA ÖRTÜLERİ

Hidrojel yara örtüleri, nemli bir iyileşme ortamı sağlayarak yara iyileşmesini hızlandıran, ağrıyı azaltan ve enfeksiyon riskini minimize eden etkili biyomalzemelerdir. Klinik uygulamalarda geniş bir yelpazede kullanılmakta olup, özellikle yanıklar, kronik yaralar ve cerrahi yaralar gibi zorlu durumlarda önemli avantajlar sunar. Yüksek su içeriğine, biyoyumluluğa, esnekliğe, mekanik güce sahiptir ve yara iyileşmesi için gerekli olan gaz alışverişine izin verir. Hidrojel örtüler nemli bir ortam sağlayarak epitelizasyonu teşvik eder, fibroblast proliferasyonunu destekler ve keratinosit göçünü artırarak iyileşme sürecini hızlandırır. Ek olarak, soğutma etkileri, sinir uçlarının kurumasını önlerken, özellikle yanıklar ve ağrılı ülserler için faydalı olan önemli bir ağrı rahatlama sağlar. Hidrojeller ayrıca dış kirleticilere karşı bir bariyer görevi görür ve bazıları antimikrobiyal ajanlar katılarak enfeksiyon riskini daha da azaltır (Boateng ve diğ., 2008). Bandajlar ve gazlı bezler gibi geleneksel yara örtüleri, kuru ve hafif, eksüdalı yaralar için oldukça emici ve etkili olmalarına rağmen, düzenli uygulama gerektirir ve bu nedenle pansuman değişimi sırasında ağrıya neden olabilir. Ayrıca, zayıf yapışma özelliklerine sahiptirler ve yara için yeterli drenaj sağlayamazlar. Aynı zamanda hidrojeller, diğer türlerinden geleneksel yara örtülerinden farklı olarak, biyoaktif maddelerin yaraya hedefli bir şekilde verilmesinin gerekli olduğu uygulamalarda onları mükemmel bir seçim haline getiren pozitif bozunma özelliklerine sahiptir (Boateng,

2008). Kendi kendini iyileştiren hidrojel malzeme bilimindeki en son gelişmeler arasındadır. Kendi kendini iyileştiren hidrojeldeki iyileşme süreci, bir hidrojel ağının tersine çevrilebilir oluşumuna izin veren dinamik kovalent bağların veya kovalent olmayan bağların eklenmesiyle kolaylaştırılır (Taylor, 2016).

1.4. İLAÇ DAĞITIMINDA HİDROJELLER

Polimer bilimindeki gelişmeler, yıllar içinde farklı ilaç dağıtım uygulamaları için kullanılan hidrojel sistemlerinin üretilmesiyle sonuçlanmıştır. Hidrojeller, ilaç dağıtım uygulamaları için kullanılan en umut verici biyopolimerler arasındadır. Hidrojeller, antibiyotikler, büyüme faktörleri, anti-enflamatuar ajanlar, analjezikler ve antioksidanlar gibi terapötik ajanlarla yüklenebilir. Bu gömülü terapötik ajanlar kontrollü bir şekilde salınır ve zaman içinde sürekli iletim sağlar (Peppas ve Hoffman, 2000). Hidrojellerin ilaç dağıtımındaki salım mekanizmaları aşağıdaki gibidir:

Şişme Kontrollü Salınım: Hidrojeller su veya biyolojik sıvıların varlığında şişerek kapsüllenmiş ilaçların kontrollü salımına olanak sağlar. Şişme derecesi ve dolayısıyla salım hızı, çapraz bağlanma yoğunluğu ve polimer bileşimi ayarlanarak modüle edilebilir.

Difüzyon Kontrollü Salınım: İlaçlar hidrojel matrisi boyunca polimer yapısı, çapraz bağlama yoğunluğu ve ilaç moleküllerinin boyutu tarafından kontrol edilen oranlarda yayılır. Bu difüzyon mekanizması, terapötik ajanların zaman içinde istikrarlı bir şekilde salınmasını sağlar.

Çevreye Duyarlı Salınım: Akıllı hidrojel pH, sıcaklık ve iyonik güç gibi harici uyaranlara yanıt verebilir. Bu duyarlılık, enfeksiyon (pH değişiklikleri) veya inflamasyon (sıcaklık değişiklikleri) gibi belirli yara koşullarına yanıt olarak ilaç salınımını tetiklemek için kullanılabilir (Gupta, 2002). Örneğin, PLGA asit ve PEG (PLGA-PEG-PLGA) triblok kopolimerleri, biyolojik olarak parçalanabilirlikleri ve kabul edilebilir güvenlik profilleri nedeniyle ilgi çekici ısıya duyarlı sistemlerdir ve fizyolojik sıcaklıkta (37°C) sol gel geçişine uğradıkları gösterilmiştir.

İKİNCİ BÖLÜM

2. POLİMERİK ÇÖZELTİ İÇİN KULLANILAN MALZEMELER

2.1. GENEL

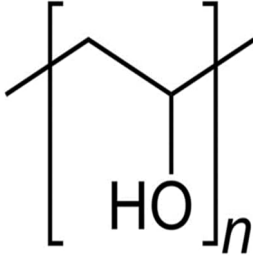
Polimer malzemelerinin özellikleri ve çözelti oluşumundaki katkıları gösterilmiştir bu polimer çözeltilerinin tasarımını geliştirmek için hazırlanan her bir çözeltinin viskozitesi, iletkenliği ve yüzey aktifliğinin incelenmesinde önemli bir basamaktır. Polimerlerin çapraz bağlanması yoluyla nanokompozitlerin hazırlanması, başta ilaç dağıtım sistemleri olmak üzere çeşitli biyomedikal uygulamalarda büyük önem taşımaktadır. Çapraz bağlama, ortaya çıkan nanokompozitlerin fiziksel, kimyasal ve biyolojik özelliklerinin geliştirilmesinde kritik bir rol oynayarak performans ve işlevselliğin artmasını sağlar.

Kitosan, sodyum aljinat ve polivinil alkol (PVA) gibi biyolojik olarak parçalanabilen polimerler, özellikle biyolojik olarak parçalanabilen polimerik nano taşıyıcılar olarak ilaç dağıtım uygulamalarındaki üstün özellikleriyle yaygın olarak tanınmaktadır. Bu malzemeler biyoyoumluluk, toksik olmama ve zararlı olmayan yan ürünlere dönüşebilme özellikleriyle tıbbi ve farmasötik kullanım için ideal adaylardır. Kitosan/aljinat/PVA (KS/ALG/PVA) nanokompozitlerinin geliştirilmesine odaklanılarak, bunların etkili nano taşıyıcı sistemleri olarak kullanılması amaçlanmaktadır. Sentezlenen nanokompozitlere çeşitli biyolojik aktiviteleriyle tanınan bir bileşik olan Kurkumin eklenerek Kurkumin yüklü nanokompozitin *in-vitro* antibakteriyel, antioksidan, anti-enflamatuar ve anti-kanser özelliklerinin yanı sıra ilaç salım profili analiz edilmiştir.

Çözelti parametreleri belirlenen biyopolimerler için uygun çözücüler belirlenerek polimer derişimi etkisi, çözelti iletkenliği etkisi, polimer moleköl ağırlığı etkileri tespit edilerek araştırılmıştır. Kullanılacak polimere göre çözücüler değiştirilerek nanofiber yapıların morfolojik karakterizasyonun incelenmesi uygulama kısmı için önemli bir başlangıçtır.

2.2. POLİVİNİL ALKOL

Polivinil alkol (PVA), 1924 yılında Herrmann ve Haehnel tarafından üretilen ilk sentetik kolloiddir (Finch, 1973). PVA, vinil asetat monomerinin polivinil asetata (PVAc) polimerizasyonu ve asetat gruplarının PVA'ya hidrolize edilmesiyle üretilir. Polivinil alkol, uygun biyouyumluluk, iyi hidrofiliklik, toksik olmama, suda uygun çözünürlük ve yeterli kimyasal ve mekanik dayanım gibi uygun özelliklere sahip bir polimerdir (Li ve diğ., 2004). Bu özelliklerinden dolayı PVA filmlerde, kozmetiklerde, liflerde, ilaçlarda, kontakt lenslerde, yapay organlarda ve nanokompozitlerde uygulanmaktadır. PVA'nın Kitosan ile nanokompleks oluşumunu iyileştirmek için birçok yol kullanılır, bu da ilaç dağıtım sistemi olarak uygun ve kararlı bir nanokompozit verir (Zhang, 2010).



Şekil 2.1. Polivinil Alkol formülü

PVA'nın üretimde kullanılmak üzere asidoliz, alkalın hidroliz ve aminoliz gibi farklı hidroliz yöntemleri bulunmaktadır. Endüstriyel PVA üretiminde, PVA'nın sodyum hidroksit mevcudiyetinde metanol değiştirilmiş ester ile asetat gruplarının hidrolize edildiği alkalın alkoliz yöntemi kullanılır.

Polivinil alkol (PVA), fiziksel ve kimyasal direnci, suda çözünebilen yarı kristal yapısı, biyouyumluluğu, esnekliği, toksik olmaması ve işleme kolaylığı nedeniyle geniş bir uygulama alanına sahiptir. Bu özellikler, tekstil, biyomedikal malzemeler, çeşitli farmasötik uygulamalar, kanser hücresi öldürme sistemleri, embolik malzemeler, filmler ve membranlar, yapıştırıcılar ve bağlayıcılarda lif olarak kullanılmasına yol açmıştır (Hamielec ve diğ., 1982). Gıda endüstrisinde ve tıbbi

uygulamalarda, PVA toksik olmayan ve biyouyumlu doğası nedeniyle değerlidir. Ayrıca, toprak stabilizatörü ve termit ve mantar çürütmesine karşı ahşap koruyucu olarak hizmet vermektedir (Mohareb ve diğ., 2011). PVA elyafı özellikle yüksek kristal kafes modülüne atfedilen yüksek gerilme ve basınç dayanımları, gerilme modülü ve aşınma direnci ile dikkat çekmektedir (Lee ve diğ., 2004). PVA'nın bu fiziksel özelliklerini maksimize etmek için moleküler ağırlık, sabunlaşma derecesi ve sindiyotaktiklik gibi moleküler parametreler kontrol edilebilir (Lyoo et al., 1996).

PVA, bu tez çalışmasında ana polimer olarak kullanılmıştır. Yüksek optimizasyonu, antimikrobiyal özellikleri ve su ile kolay çözünebilir yapıya sahip olması sebebiyle tercih edilmiştir.

2.3. KİTOSAN

Bir amino polisakkarit olan kitosan (KS) aynı zamanda selülozdan sonra en yaygın bulunan ikinci biyopolimerdir (M. A. Ibrahim vd., 2023; Kou vd., 2021, 2022; Parhi, 2020). Esas olarak karides gibi kabukluların dış iskeletinden elde edildiği gibi mantarlar ve bazı böceklerin kanatları gibi diğer kaynaklardan da elde edilebilmektedir (Kou ve diğ., 2021). Kitosan eldesi kabuklardaki kitinin deasetilasyonu ile gerçekleşir. Bu işlem, kabuklardaki kitinin yapısındaki asetil gruplarının bir alkali çözelti (örneğin, sodyum hidroksit) çıkarılmasını içerir. Bu işlem sonucunda, kitin molekülünde D-glukozamin birimleri artar ve kitosan oluşur. Deasetilasyon işlemi sonrasında elde edilen kitosan çözeltisi ayıklanır ve saflaştırılır. Bu adım, istenmeyen katı maddelerin ve artık kimyasalların çözüldükten uzaklaştırılmasını içerir. Saflaştırılan kitosan çözeltisi daha sonra kurutulur ve öğütülür. Bu işlemler, Kitosan'ın istenen formda (toz halinde genellikle) kullanıma hazır hale getirilmesini sağlar. Kitosanın biyouyumluluk, biyolojik olarak parçalanabilirlik, toksik olmama, antimikrobiyal ve hidrofilitik gibi polisakkaritlerin ortak özelliklerine sahip olduğu iyi bilinmektedir (Sanjanwala ve diğ., 2024). Bu da kitosanı tıp, eczacılık, kimya, tarım ve çevre alanlarında çok çeşitli uygulamalarda çok kullanışlı bir bileşik haline getirmiştir (Dash ve diğ., 2011). Kitosanın reaksiyonu, NH₂ grubunun varlığı nedeniyle selüloza göre çok yönlüdür. Kitosan zayıf asitle çözünerek membran uygulamalarında kullanılabilir. Zayıf asitle çözünen kitosan protonlanır ve bu proton membranlarda iyon iletkenliğini sağlar. Ancak Kitosan'ın mekanik özellikleri yeterli olmadığı için sentetik ve

biyoyumlu polimerlerle kullanılmalıdır. Kullanılabilecek sentetik polimerlerden biri PVA'dır. Kitosan, formaldehit ile sentetik polimer PVA ile karıştırılarak termal stabiliteyi artırır. Bu kompozitlerde Kitosan'ın biyoyumluluğu ve PVA'nın film oluşturuıcı özellikleri bir araya gelerek çeşitli uygulamalarda kullanılmaktadır (Xu ve diğ., 2007).

Bu tez çalışmasında Kitosan kullanılmasındaki başlıca nedenler, doku iskelesinin cilde olan adezyonunu arttırmak ve doku iskelesinin yapısal bütünlüğünü arttırmaktır.

2.3. ALJİNAT

Aljinat (ALG), alglerin hücre duvarlarında bulunan doğal bir polisakkarittir. Bu polimer, aljinik asit ve aljinat tuzları adı verilen bileşiklerin karışımından oluşur. Ticari olarak satılan aljinatlar ham alglerden elde edilmektedir. Kahverengi deniz yosununun hücre duvarlarında bulunan aljinik asidin suda çözünmeyen karışık tuzları çıkarılarak sodyum aljinatlara dönüştürülür. Aljinatlar seyreltilmiş asitte, tipik olarak hidroklorik asitte (HCl) çözülerek safsızlıklar elimine edilir ve aljinat verimi artırılır. Yüksek saflıktaki aljinatlar kurutulur ve öğütülür (Fertah ve diğ., 2017).

Aljinat hidrojelleri oluşturmak için iyon etkileşimi, kovalent çapraz bağlama, ısıyla jelleşme ve hücre çapraz bağlama gibi çeşitli teknikler kullanılabilir. Aljinat hidrojellerin fiziksel ve kimyasal özellikleri, çapraz bağlamanın türü ve yoğunluğu değiştirilerek çeşitli biyolojik uygulamalar için modifiye edilebilir (Lee ve Yuk, 2007).

Aljinat jel oluşumunun en yaygın yöntemi, hafif koşullar altında gerçekleştirilebilen çok değerlikli katyonlarla iyonik çapraz bağlamadır. Genellikle aljinat bazlı hidrojel hazırlamak için iyonik ajan olarak Ca^{2+} kullanıldığını bildirmiştir.

Tablo 2.1: Aljinat bazlı hidrojeller

| Materyal | Çapraz bağlama | Kullanılan metodlar | Aktif bileşen | Özellikleri |
|--------------------------------|-----------------------------------|--|-------------------------|--|
| Aljinat + poliakrilamid (PAAM) | İyonik ve kovalent çapraz bağlama | Güçlü ve zayıf çapraz bağları bir araya getirilmesi | / | Yüksek kırılma mukavemeti |
| Aljinat + RGD-peptit | İyonik çapraz bağlama | Kalsiyum aljinatın sol-jel geçişi | RGD-peptit | Hücre tutunurluluğunu artırma |
| Aljinat + PAM | Kendiliğinden montaj | Hidrojen bağı destekli kendiliğinden montaj | / | Yüksek mekanik dayanıklılığı Kendi kendine iyileşme |
| Aljinat | Enzimatik çapraz bağlama | HPR katalizli oksidatif çapraz bağlama | / | Hücrelerin kontrollü adezyonu ve çoğalması |
| Aljinat + kitosan + jelatin | Kovalent çapraz bağlama | Schiff-base reaksiyonu | Tetrasiklin hidroklorür | Antibakteriyel Yara iyileşmesini destekleme |
| Aljinat + PNIPAm | İyonik çapraz bağlama | / | Cefazolin | İstek üzerine ilaç salınımı |
| Aljinat+jelatin | Enzim katalizli çapraz bağlama | HRP-katalizli | 10T1/2 ve HAE hücreleri | Daha hızlı hücre büyümesi İstek üzerine bozunma |
| Aljinat + kitosan + nano-HA | Polielektrolit çapraz bağlama | Zıt yüklü grupların elektrostatik etkileşimlerle tahrik edilmesi | Paratiroid hormonu | BMSC'lerin gelişmiş osteojenik farklılaşması |
| Aljinat + pektin | İyonik çapraz bağlama | / | Simvastatin | Promotes angiogenesis, epithelial regeneration and increased collagen deposition Speed up wound healing |
| Aljinat + kitosan + PVA | Radyasyon çapraz bağlama | Gama-radyasyonu | Gümüş NPlar | Antibakteriyel Yaraları rahatlatma |
| Aljinat + PVA | Fiziksel çapraz bağlama | Dondurma-çözdürme yöntemi | Sodyum ampisilin | Yüksek protein emilimi Antibakteriyel |

Bu tez çalışmasında aljinat, su tutma kapasitesi buna bağlı olarak yarayı nemli tutması ve iskeleye suya dayanıklılık kazandırması bakımından tercih edilmiştir.

2.4. ZERDEÇAL EKSTRESİ

Zerdeçal ekstresi, zerdeçal kökünden elde edilen ve çeşitli sağlık yararları ile ilişkilendirilen bir bitkisel ekstre'dir. Zerdeçal ekstresi, içerdiği kurkuminoidler gibi biyoaktif bileşenler nedeniyle yara iyileşmesinde potansiyel bir rol oynayabilir.

Kurkumin, kolajen genlerini yukarı regüle ederek ve fibroblast proliferasyonunu uyararak kolajen üretimini artırır, böylece yara kapanmasını ve doku rejenerasyonunu iyileştirir. Kurkumin, bakterilere, mantarlara ve virüslere karşı geniş spektrumlu antimikrobiyal aktivite sergiler, bu da yara enfeksiyonlarını önlemeye ve iyileşme sürecini desteklemeye yardımcı olur. Reaktif oksijen türlerini (ROS) temizleyerek ve süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz gibi antioksidan enzimlerin aktivitesini artırarak güçlü bir antioksidan olarak hareket eder (Phan ve diğ., 2001).

Kurkumin, transforming growth factor-beta (TGF- β), epidermal growth factor (EGF) ve platelet-derived growth factor (PDGF) dahil olmak üzere yara iyileşmesinde rol oynayan büyüme faktörlerinin aktivitesini düzenleyerek hücre proliferasyonunu ve doku onarımını teşvik eder (Thangapazham, 2008).

Kurkuminin hidrojellerle birlikte kullanıldığı çeşitli çalışmalar ortaya konmuştur. Bu çalışmalar, yara iyileşmesi ve ilgili biyomedikal uygulamalar için çok yönlü platformlar olarak Kurkumin yüklü hidrojellere artan ilgiyi vurgulamaktadır. Bu çalışmalar, kurkuminin hidrojel matrislerine dahil edilerek iyileştirilmiş yara yönetimi için terapötik özelliklerinden yararlanmanın fizibilitesini ve etkinliğini göstermektedir. Kurkuminin terapötik etkinliğini iyileştirmek ve sulu çözünürlüğünü ve biyoyararlanımını artırmak için hidrojelde Kurkumin kapsüllemesi, polimerik nanopartiküller, lipozomlar, polimerik miseller, polimer-Kurkumin konjugatlarının oluşumu ve biyolojik olarak parçalanabilir mikroküreler dahil olmak üzere çeşitli stratejiler geliştirilmiştir.

ÜÇÜNCÜ BÖLÜM

3. ÜÇ BOYUTLU BİYOBASKI

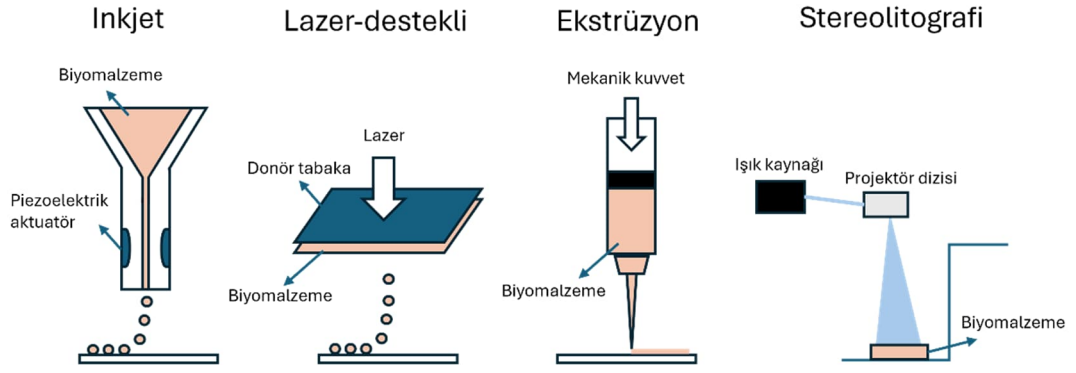
3.1. ÜÇ BOYUTLU BİYOBASKI TEKNOLOJİSİ

Üç boyutlu (3B) Biyobaskı, hücreleri, büyüme faktörlerini, biyo-mürekkepleri ve biyomalzemeleri birleştirerek 3B baskı benzeri teknikler kullanarak fonksiyonel yapılar üretme sürecidir. Biyobaskı, ilaç araştırmalarına yardımcı olmak için dokuları ve organ modellerini basabilir. Bununla birlikte, Biyobaskı canlı hücresel yapıların klinik uygulamaya dönüştürülmesi, işlevsel organlar oluşturmak için gerekli karmaşıklık ve hücre sayısı nedeniyle çeşitli sorunlarla karşılaşmaktadır. Bu sebepten yenilikler ekstraselüler matriks basımından hücreleri hidrojellerle karıştırarak istenen dokuyu üretmek için tabaka biriktirmeye kadar uzanmaktadır. Ek olarak, 3B Biyobaskı ile eklemleri ve bağları yeniden oluşturmak için kullanılacak iskelelerin basılmasına başlamıştır ve son zamanlarda, çevresel iyileştirme uygulamalarında da kullanılmıştır, bunlar arasında, kirleticilerin uzaklaştırılmasına yardımcı olabilen işlevsel mikroorganizmalar barındıran işlevsel biyofilmlerin üretimi bulunmaktadır (Murphy, 2014).

3.2. 3B BİYOBASKI YÖNTEMLERİ

Zamanla farklı Biyobaskı teknolojileri geliştirilmiştir. Ekstrüzyon tabanlı 3B Biyobaskı yarı katı ekstrüzyon ya da eritme tabanlı modelleme kullanır. Çeşitli biyomedikal sektörlerde yaygın olarak kullanılmıştır ve yumuşak dokuları ve kemik yapılarını taklit eden modellerin üretilmesini sağlayarak implantlar için bir fırsat sunar. Mürekkep tabanlı biyobaskı, bir substrata sıvı damlacıkların termal, elektrostatik veya piezoelektrik kuvvetlerle püskürtülmesine dayanan temas etmeyen bir yöntemdir. Bu teknik maliyet ve canlı materyallerle uyumluluk açısından karşılaştırmalı olarak daha kabul edilebilir ve damla biyomürekkeplerin yüksek hızda yapımı avantajına sahiptir. Basınç destekli biyobaskı, bir yazıcının nozulundan biyomalzemelerin dışarıya çıkarılmasına dayanır ve bir 3B biyolojik yapı oluşturmak için izin verir; bu, oda

sıcaklığında işlem yapılmasını sağlar ve homojen hücrelerin substrata doğrudan entegrasyonunu sağlar. Basınç, pnömatik basınç veya pistonun koordineli hareketi veya bir vidalı basınç vasıtasıyla sürekli bir filament şeklinde oluşturulur. Lazer destekli biyobaskı yöntemi, enerji kaynağı olarak darbe şeklinde bir lazer ışını kullanarak bir yüzeye biyomalzemelerin depolanmasını sağlar. Lazer destekli biyobaskının prensibi, lazerin biyomalzemelerin katı bir yüzeye transferini indüklemek için kullanılmasıdır; bu, sıvı biyomalzemenin buharlaşmasına ve substrata damlacık formunda ulaşmasına neden olur. Substrat ya biyopolimerlerden ya da hücre kültürü ortamından oluşur ve hücresel yapışmayı ve depozito edilen biyomalzemenin sürdürülebilir büyümesini destekler.



Şekil 3.1: 3B Biyobaskı Yöntemleri

3.3. EKSTRÜZYON TABANLI BİYOBASKI

Ekstrüzyon tabanlı baskı, eritilmiş katı malzeme veya viskoz sıvının sürekli bir akışını bir çeşit delikten (genellikle bir nozul veya şırınga) çıkarmayı içeren 3B baskı alanında çok yaygın bir tekniktir. Dört ana ekstrüzyon türü bulunmaktadır: Bunlar pnömatik tahrikli, piston tahrikli, vida tahrikli ve eksantrik vida tahrikli olarak bilinir. Her ekstrüzyon yönteminin kendi avantajları ve dezavantajları vardır. Pnömatik ekstrüzyon, sıvı biyo-mürekkebi bir biriktirme ajanı aracılığıyla zorlamak için basınçlı hava kullanır. Hava, biyo-mürekkebi iten havanın kirli olmadığından emin olmak için kullanılmadan önce genellikle sterilize edilir. Piston tahrikli ekstrüzyon, bir kılavuz vida ile bağlantılı bir piston kullanır. Pistonun doğrusal hareketi, malzemenin

nozuldandan sıkılmasını sağlar. Vida tahrikli ekstrüzyon, dönme hareketi kullanarak malzemeyi dışarı çıkarmak için bir vidalı vida kullanır. Vida tahrikli cihazlar, daha yüksek viskoziteli malzemelerin kullanılmasına ve daha fazla hacimsel kontrol sağlamaya izin verir. Eksantrik vida tahrikli sistemler, ekstruder içindeki kendinden sızdırmaz odalardan dolayı düşük ila yüksek viskoziteli malzemelerin çok daha hassas bir şekilde biriktirilmesine izin verir. (Lepowsky E, Muradoglu M, Tasoglu S 2018).

3.4. PNÖMATİK EKSTRÜZYON YÖNTEMİNİ ETKİLEYEN PARAMETRELER

Baskı parametreleri, baskı sonuçlarını etkilemek için ayarlanabilen çok çeşitli değişkenlerdir. Baskı parametreleri iki kategoriye ayrılabilir. Proses parametreleri, nozül yüksekliği, baskı hızı ve ekstrüzyon basıncı gibi yazıcı tarafında ayarlanan faktörlerdir. Malzeme parametreleri, kullanılan malzemenin bileşimi ve viskozitesi gibi yapısal özellikleriyle ilgilidir (Fu ve diğ. 2021). Nem, sıcaklık ve ortam basıncı gibi çevresel etmenler ise biyoyazıcı kabini içinde minimuma indirilir.

3.4.1. Çözelti Parametreleri

3.4.1.1. Mekanik özellikler

Mekanik özellikler, malzemenin mekanik strese nasıl tepki vereceğini belirler. Örneğin, kemik dokusu için kullanılan iskelelerin yük taşıma işlevlerini desteklemek için sert ve güçlü olması gerekirken, karaciğer veya beyin gibi yumuşak dokular için kullanılanların doğal hareketlere zarar vermeden uyum sağlaması için daha elastik olması gerekir. Biyomürekkebin mekanik özellikleri, uygun desteği sağlamak ve yapışma, çoğalma ve farklılaşma gibi hücresel faaliyetleri kolaylaştırmak için hedef dokuyla eşleşmelidir (Strobel ve diğ. 2020).

3.4.1.2. Viskozite

Farklı baskı yöntemleri farklı viskozite gerektirebileceğinden, biyomalzemenin viskozitesi sıcaklıkla değişme ve kesme incilmesi gibi ayarlanabilir olmalıdır. İkinci olarak, nozüllerin sıkışmasını önlemek için biyomalzeme baskıdan önce sıvı halde olmalı ve şekli korumak için baskıdan sonra mümkün olan en kısa sürede katılaşma/jelatinizasyon olmalıdır (Loozen, 2019). Viskozite çok yüksekse,

tıkanmaya neden olabilir veya aşırı basınç gerektirerek potansiyel olarak hücrelere zarar verebilir. Tersine, viskozite çok düşükse, biyomürekkep iyi tanımlanmış yapılar oluşturmayabilir ve kontrolsüz bir şekilde yayılabilir (He ve diğ. 2016).

3.4.1.3. Biyouyumluluk

Biyouyumluluk, ürünün hücrelerde veya konak dokuda olumsuz bir reaksiyona neden olmamasını sağlar. Biyomürekkepler toksisiteden kaçınırken hücre bağlanmasını, çoğalmasını ve farklılaşmasını desteklemelidir. Aljinat ve jelatin gibi doğal polimerler biyouyumlulukları nedeniyle sıklıkla kullanılır (Gopinathan ve diğ. 2018)

3.4.2. İşlem (Proses) Parametreleri

3.4.2.1. Enjektör Ucu ve Plaka Arasındaki Mesafe

Enjektör ucu ile plaka arasındaki mesafe üretim sürecinin şeklini, verimliliğini ve sonucunu etkileyen bir parametredir. Bu mesafenin uygun şekilde ayarlanması ve kontrol edilmesi, istenen sonuçların elde edilmesi ve proses istikrarının korunması için gereklidir. Mesafe az olduğunda, dik açılı şekle sahip baskı çizgileri daha yaygınken, aynı koşulları altında, mesafe fazla olduğunda daha yumuşak köşeler gözlenmektedir. Bunun nedeni akan biyomalzemenin nozül yön değiştirirken bir tepki gecikmesine maruz kalmasıdır (He ve diğ. 2016).

3.4.2.2. Enjektör Ucunun Çapı

Doğru iğnenin seçilmesi biyo-baskı işleminin doğruluğu açısından çok önemlidir. İğnenin geometrisi ve uzunluğu, kayma gerilimini ve baskı sürecinin süresini belirleyerek hücre canlılığını etkiler (Tian ve diğ. 2021). Daha büyük çaplar baskı sürecinde daha yüksek hız sağlar. Daha küçük bir çap daha fazla basınç gerektirir ve biyo-baskı hızını azaltır, ancak işlemin sonunda daha yüksek bir çözünürlük sağlar.

3.4.2.3. Ekstrüzyon Basıncı

Basınç çok düşükse biyomürekkep akamaz ya da noktalar halinde veya kesikli bir şekilde akar. Basınç çok yüksekse, biyoyazıcı filamentini baskı alt tabakasına yerleştirmek için yeterince hızlı hareket edemeyebilir. Bununla birlikte,

biyomürekkebin nozülde akacağı ve düzgün şekilde yazdırılacağı geniş bir basınç aralığı vardır. Çapraz bağlanmadan önce yapısal bütünlüğü zayıf olan malzemeler için kullanıcılar daha hızlı baskı yapmak ve yapı çökmeye başlamadan önce çapraz bağlanmak için daha yüksek basınçlar kullanabilir (Tian ve diğ. 2021).

1.1. 3.5. BİYOMÜREKKEP VE BİYOMALZEME MÜREKKEBİ

Son yıllarda, özellikle biyo-baskı için uygun malzemelerin eksikliği, bu alandaki hızlı ilerlemeyi sınırlayan en büyük dezavantajlardan biri olarak tanımlandığından, yeni biyo-bağlantuların üretimi ve karakterizasyonuna artan ilgi büyümüştür. Bu durum, biyo-baskı için biyo-mürekkep formülasyonlarında veya biyo-mürekkep olarak kullanılacak materyallerin geliştirilmesi ve modifiye edilmesine yönelik yeni stratejilerin geliştirilmesiyle sonuçlanmıştır,

Biyomürekkep terimi ilk kez 2003 yılında organ baskısı bağlamında kullanılmış ve biyokağıt terimiyle birlikte tanıtılmıştır. Başlangıçta konsept, bir biyo-kağıt (hidrojel) sağlamak ve ardından biyo-baskı yoluyla canlı hücreleri veya doku sferoidlerini 'biyo-mürekkep' olarak yerleştirmektir. Bu nedenle, biyomürekkep terimi başlangıçta hidrojellerin üzerine veya içine 3B olarak yerleştirilen hücresel bileşene atıfta bulunmuştur. Bu tanımlar göz önünde bulundurulduğunda, bir biyomürekkep olarak nitelendirilen biyomalzemeler, formülasyon ve işleme sırasında bir hücre dağıtım ortamı olarak hizmet etmelidir.

Yazdırılabilen ve yazdırıldıktan sonra içine hücreler ekilebilen, ancak doğrudan hücrelerle formüle edilmeyen biyomalzemeler, biyomalzeme mürekkepleri olarak adlandırılmaktadır. Biyomalzeme mürekkepleri, biyoreaktörler, hücre tohumlama, implantlar için iskeleler üretmek bunların yanında yapı içinde içsel bir mekanik destek oluşturmak için hibrit yaklaşımlar gibi alanlarda kullanılabilirler. Buna göre, canlı hücrelerin hayatta kalmasını etkilemeyecek şekilde basılabilen ve daha sonra çözülebilen malzemeler biyomürekkep değil, biyomalzeme mürekkepleridir (Groll ve diğ. 2018).

DÖRDÜNCÜ BÖLÜM

4. MATERYAL VE METOD

Sarf Malzemeler

- Tüm kimyasallar Sigma-Aldrich'ten satın alındı.
- Sodium alginate, Alginic acid sodium salt, 1 kg
- Tekkim TK.800202.01002 Kalsiyum Klorür
- Dihidrat, Kristal Analytic, Bp,Ph
- Eur,Usp. 1 kg *2
- Hidrojen Fosfat (Susuz) Extra pure 1 kg
- Dulbecco's Phosphate Buffered Saline (DPBS)
- Fetal Bovine Serum (FBS)
- Penicillin/Streptomycin solution (Pen/Strep)
- Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM) F-12
- Trypsin EDTA
- Hücre kültür flaskları (T25, T75, T150)
- Hücre kültür tabakları (24 kuyulu, 12 kuyulu, 6 kuyulu)
- Steril enjektör (10 ml ve 50 mL)
- Serolojik pipet (5 mL, 10 mL, 25 mL)
- Steril ve kapaklı santrifüj tüpleri (15 mL ve 50 mL)
- MTT Cell proliferation kit
- LIVE/DEAD kiti
- Paraformaldehit
- DAPI
- Tween 20
- Hematoksilen & eozin boyama kiti
- Glutaraldehit

Kullanılan cihazlar

- Buzdolabı (Arçelik, Türkiye)
- Liyofilizatör (Christ 1.2 D Alpha Plus)
- Fourier Dönüşümlü Kızıl Ötesi Spektrometresi (FTIR) cihazı (Thermo Fisher Scientific, model Perkin Elmer Spectrum Two, Almanya)
- Hassas terazi (Radwag, AS 220 R.2, Polonya)
- Manyetik karıştırıcı (Wisd laboratuvar ekipmanları, Wise Stir, MSH-20A)
- Desikatör
- Evaporatör
- 3B Biyobaskı cihazı (Axolotl Biosystems MEW, Türkiye)
- Viskozimetre (Brookfield Ametek, ABD)
- Reometre (Discovery HR-2, Hybrid rheometer)
- CO₂'li inkübatör (Thermo Scientific, ABD)
- Soğutmalı santrifüj (Eppendorf, 5810R, Almanya)
- Ultrasonikasyon banyosu (Everest, Cleanex 812, Türkiye)
- Işık/Florasana ters faz mikroskop (Zeiss Axio Vert.A1, Almanya)
- Su banyosu (Memmert, Almanya)
- Basma test cihazı (Instron Universal Testing Machine, model 3342, ABD)
- Taramalı elektron mikroskopisi (SEM) cihazı, Kritik nokta kurutucu (Leica Microsystems, model Leica EM CPD300, Almanya)

4.1. HİDROJEL ÇÖZELTİLERİN HAZIRLANMASI

Hidrojel yapı oluşturmak için çözelti malzemeleri hazırlanmıştır. Tüm hidrojeller hücre kültürüne uygun olacak şekilde biyogüvenlik kabininde steril solüsyonlar kullanılarak hazırlanmıştır. Bu malzemeler; PVA ve ALG ve Turmerik. 2 gram sodyum PVA polimeri 100 ml distile su içerisinde çözüldü. Sodyum periyodat çözeltisi (NaIO₄, %2.67) 1: 1 mol oranında PVA çözeltisine yavaş yavaş eklendi. Oksidasyon reaksiyonu için karışım 24 saat süresince inkübe edilecektir. Okside olan HA çözeltisi 3 gün boyunca diyaliz (MWCO 6000 Da) edilecek ve liyofilize edildi. 6 mg PVA 100 ml Fosfat tampon çözeltisinde (PBS) (pH 7.4) içerisinde 4 °C de çözüldü. 2, 4 ve 8 mg adipic acid dihidrazide (ADH) benzer koşullarda ayrı ayrı 100 ml PBS

içerisinde çözüldü. Hidrojel elde edebilmek için 20 ml ADH çözeltisi 80 ml okside HA çözeltisi ile karıştırıldı. Hidrojelin degradasyon ve şişme testleri PBS içinde 37 ° C de %5 CO₂ ortamı altında gerçekleştirilecektir.

4.2. ALJİNAT KULLANIMI VE HAZIRLANMASI

Aljinat (Sigma-Aldrich, Lot # BCBM3568V) %1, %2 ve %3 derişime sahip olacak şekilde 1 gram Aljinat (ALG) 100 ml ultra saf su ile çözdürüldü. 121°C’de 15 dakika otoklavlayarak steril hale getirildi. Aljinat hidrojelinin çapraz bağlanması Ca⁺², Mg⁺² gibi iyonlar ile sağlandığından %2’lik 100 mL CaCl₂ solüsyonu 0.20 µm çaplı filtrelerden geçirilerek steril hale getirildi.

4.3 ZERDEÇAL KULLANIMI VE EKSTRAKSİYONU

Zerdeçal ekstraksiyonu (Turmerik) 10’ ar gramlık kartuşlar hazırlanarak metanol çözücüsü içerisinde soxhlet aparatı ile ekstrakt edildi. Elde edilen ekstraktların çözücülerini rotary evaporatörde (Hei-VAP Advantage, Heidolph, GER) ultra saf su ile buharlaştırıldı. Hazırlanan ekstraktlar kullanılabildiği kadar +4 °C’ de saklandı. Hazırlanan karışıma 5, 10, 15 ve 20 mg Zerdeçal ilave edilecek ve benzer şekilde 30 dakika karıştırıldı. Hazırlanan Alg/PVA/Zerdeçal karışımı 1300 rpm oda sıcaklığında karıştırılırken CaCl₂ çözeltisi damla damla eklenecektir ve çapraz bağlanma gerçekleştirilecektir. Çapraz bağlama reaksiyonu, oda sıcaklığında 3 saat süresince gerçekleştirilecektir. Biyo yazıcı sonrası çapraz bağlanmanın CaCl₂ çözeltisinin jel üstüne enjeksiyonu ile sağlandı.

4.4 ŞİŞME VE BOZUNMA ÇALIŞMALARI

Hidrojeller, yukarıdaki prosedürde belirtildiği gibi üretildi ve daha sonra 37 ° C’de bir orbital çalkalayıcı-inkübatör içinde 80 rpm’lik bir çalkalama hızı ile beklemeye alındı. Şişme çözeltisi, reaksiyona girmemiş çapraz bağlayıcı ve diğer biyoaktif madde öncüllerini uzaklaştırmak ve çözünen konsantrasyonunun birikmesini önlemek için düzenli olarak değiştirildi. Belirli zaman noktalarında, hidrojeller çıkarıldı, hafifçe kurutuldu ve ağırlıkları kaydedildi. Bozunma çalışmaları durumunda,

hyaluronidaz ilave edildi (yani 100 U mL⁻¹, 50 U mL⁻¹ veya 10 U mL⁻¹) Ca⁺² 8 mM konsantrasyonu ile hazırlanan bir Ringer çözeltisine). Bu nedenle, şişme ve bozunma, suya daldırmadan önceki ağırlığa (W₀) kıyasla her bir zaman noktasında (W_t) hidrojinin ağırlık yüzdesi ile izlendi, bu da şu şekilde tanımlandı:

$$\text{Swelling Factor (\%)} = W_t/W_0$$

4.5 REOLOJİK KARAKTERİZASYON

Tüm reoloji, normal kuvveti 0 N'de sabit tutarak, 37 °C'de paralel plaka konfigürasyonu (50 mm veya 8 mm çap) ile donatılmış bir Anton Parr MCR 302 reometre üzerinde gerçekleştirildi. Optimizasyon sırasında, jelleşme kinetiği için tipik bir reolojik testte (yani, zamanın bir fonksiyonu olarak depolama modülünün (G') ve kayıp modülünün (G) evrimi; zaman süpürme), hidrojenleri 37 °C'de alt plakaya yayıldı. Üst plaka hemen 0,5 mm'lik bir plaka ayırımına indirildi ve ölçüm başlatıldı. Jelleşme işlemine müdahaleyi en aza indirmek ve ölçümü doğrusal viskoelastik bölge içinde tutmak için 5 Hz'lik bir frekans ve %1'lik bir gerinim uygulandı. Normal kuvvet de 0 N'de sabit tutuldu. Jel noktası, G' ve G'' arasındaki çaprazlama ile belirlendi.

Benzer şekilde, aljinatın Ca⁺² iyonları ile çapraz bağlanma sürecini izlemek için, 0,5 mL CaCl₂ 150 mM homojen bir şekilde üstüne dağıtıldı ve PVA/Turmerik/ALG sistemi ile dikkatlice karıştırıldı. Bu deneyden oluşturulan jel üzerinde %0,5'lik sabit bir gerinim uygulanarak frekans taramaları gerçekleştirilirken, frekans logaritmik olarak 0,1'den 100 rad s⁻¹'e yükseltildi. Bu arada, genlikli taramalar, 10 rad s⁻¹'lik sabit bir frekans uygulanarak gerçekleştirilirken, gerinim logaritmik olarak %0,01'den %100'e yükseltildi. Tüm ölçümler üç kopya halinde tekrarlandı ve temsili çizelgeler gösterildi. Optimize edilmiş PVA/Turmerik/ALG hidrojenler, daha önce belirtildiği gibi, ancak 8 mm çapında paralel bir plaka kullanılarak frekans ve genlik taramaları ile karakterize edildi.

4.6 TEK EKSENLİ BASINÇ TESTLERİ

Tüm tek eksenli basınç testleri, 1 kN'lik bir yük hücresi ile donatılmış bir M100⁻¹CT Testometrik üzerinde gerçekleştirilmiştir. Yukarıda tarif edildiği gibi (n =

8-10) hazırlanan hidrojel numuneleri, ya hazırlanmış olarak (yani gece boyunca jelleşmeden sonra) ya da 1, 7, 14 ve 21 gün boyunca kültür ortamına daldırıldıktan sonra test edildi. 0.1 N'luk bir ön yük kuvveti ayarlandı ve her test 5 mm min⁻¹'lik bir sıkıştırma hızında gerçekleştirildi. Her jel, nihai basınç gerilimini ve gerinimini belirlemek için %98 gerilime tabi tutuldu. Döngüsel kompresyon ile ilgili olarak, her bir jel hem yükleme hem de boşaltma eğrileri için 5 mm min⁻¹' de% 30 gerilime tabi tutuldu. Veriler Wintest analiz programı kullanılarak analiz edilmiştir.

4.7 SPEKTROMETRİK ANALİZ

Biyoaktif maddelerin UV spektrumu Epoch II Multiplate Reader (Biotek Instruments) kullanılarak 200-400 nm aralığında kuvars küvetler içinde elde edilmiştir. Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR) analizi, zayıflatılmış toplam yansıma (ATR) ekipmanı kullanılarak kuru numunelerle gerçekleştirilmiştir.

4.8 MEKANİK ÖZELLİKLER

Tasarlanan biyo baskı malzemelerin mekanik özelliklerini (çekme dayanımı ve kopma uzaması ölçümleri) değerlendirmek için doku analizörü (Stable Micro Systems) kullanıldı. Biyoaktif kompozit malzemeler, basınç testleri için 6 mm çapında ve 100 mm yüksekliğinde, çekme testleri için ise 5 cm uzunluğunda, 3 cm genişliğinde ve 3 mm kalınlığında silindirik filmler olarak hazırlandı. Biyoaktif kompozit malzemeler, % 80 maksimum gerinime kadar 10 mm/dakika hızında yapıldı. Her numune dörtlü olarak ölçüldü. Bir Biyoaktif kompozit malzemenin basınç modülü ve Young modülü, % 0-25 gerinime karşılık gelen gerinim-gerilim eğrilerinin başlangıçtaki doğrusal bölümünün eğimi kullanılarak hesaplandı. Kompozit filmlerin esnekliğini ve geri kazanılabilirliğini karakterize etmek için aynı hızı izleyerek % 70 gerinime kadar dört ardışık basınç döngüsü için döngüsel basınç testleri gerçekleştirildi. Her numune dört tekrar halinde test edildi.

4.9 TARAMALI ELEKTRON MİKROSKOBU (SEM) ANALİZİ İLE MORFOLOJİK ÖZELLİKLERİN BELİRLENMESİ

Üretilen tüm kompozit malzemelerin morfolojik özellikleri bir taramalı elektron mikroskopu (SEM; EVO LS 10 by ZEISS) cihazı kullanılarak analiz edilmiştir. SEM, ikincil elektron modunda 5 kV'de çalıştırılmış ve görüntüler 10 kV'lik

bir voltajda daha fazla incelenmiştir. İletkenliği sağlamak için, polimerler bu doğal özelliğe sahip olmadığından, tüm numunelere bir altın-paladyum kaplama uygulanmıştır.

4.10 FOURİER-TRANSFORM KIZİLÖTESİ SPEKTROSKOPİSİ (FT-IR) ANALİZİ İLE KİMYASAL BAĞLARIN BELİRLENMESİ

Üretilen kompozit malzemelerin bulunan fonksiyonel grupları analiz etmek için FT-IR spektroskopisi yapılmıştır. Karakterizasyon çalışmaları Bruker Alpha FT-IR cihazı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Kompozit malzemelerin içindeki fonksiyonel grupları tanımlamak ve analiz etmek için 4000 ila 400 cm⁻¹ spektral aralığı kullanılmıştır.

4.11 EKSTRAKLARIN KOMBİNASYONLARININ ANTIOKSİDAN POTANSİYELLERİNİN BELİRLENMESİ

Ekstraktlardan elde edilen kombinasyonların antioksidan potansiyellerinin belirlenmesinde DPPH testi kullanılmıştır. Her bir kombinasyondan 20 µL örnek alınacaktır ve her bir kombinasyon için 200 µL (200 µM) DPPH eklendikten sonra elde edilen solüsyon vortekslenmiştir. 30 dakika karanlık ortamda oda koşullarında inkübe edildikten sonra 517 nm UV spektrofotometrede ölçümler alınmıştır. Antioksidan potansiyelleri aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanmıştır.

$$A_{kontrol} = (Etanol + DPPH)_{abs}$$

Tablo 4.1: Biyolojik Deneyler Sonunda Oluşturulan Kombinasyonlar

| Ekstraktlar | ZE:ALG:Kitosan (mg/ml) |
|---------------|------------------------|
| 1.Kombinasyon | 2.5:1.25:1.25 |
| 2.Kombinasyon | 1.25:2.5:1.25 |
| 3.Kombinasyon | 1.25:1.25:2.50 |
| 4.Kombinasyon | 2.5:2.5:1.25 |
| 5.Kombinasyon | 1.25:2.5:2.5 |
| 6.Kombinasyon | 2.5:1.25:2.5 |

4.12 SALIM KİNETİĞİ'NİN BELİRLENMESİ

Salım kinetiğinin belirlenmesi için biyoaktif maddeler 1 mg tartıldıktan sonra ultra saf suya konuldu ve ultrasonik su banyosunda çözdürüldü. Daha sonra solüsyonlar 10.000 kDa'luk selüloz membrana sahip diyaliz kapsüllerine konularak salım başlatıldı. In vitro salım çalışması, 0, 0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 24, 48, 96, 120 ve 240 saatlik zaman aralıklarında gerçekleştirildi. Numunelerin inkübasyonu, çalkalama altında 37 °C'de çalkalamalı bir su banyosunda yapıldı. Numunelerden 0, 0.5, 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 24, 48, 96, 120 ve 240 saatlik zaman aralıklarında örnekler alındıktan sonra UV-vis spektrofotometrede absorbanları alındı. Alınan bu absorbanlar kalibrasyon grafiğine ait denkleme yerine konularak kümülatif salım grafiği çıkarıldı.

4.13 SİTOTOKSİSİTENİN BELİRLENMESİ

Kompozit matların biyolojik karakterizasyonu L929 fare fibroblast hücre hattı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Deneyden önce tüm numuneler bir saat boyunca UV sterilizasyonundan geçirilmiş ve ardından 96 kuyucuklu plakalara yerleştirilmiştir. L929 hücreleri, hazırlanan kompozit matlar üzerinde 1×10^4 hücre/mL yoğunlukta her bir kuyucuğa ekilmiştir. Kompozit matlar daha sonra yedi gün boyunca 37 °C'de %5 CO₂ ile inkübe edilmiştir. Kullanılan büyüme ortamı DMEM-düşük glikoz, FBS, penisilin-streptomisin çözeltisi (%0,5, v/v) ve L-glutaminden (%0,5, v/v) oluşuyordu.

Kompozit matlar üzerine ekilen L929 fare fibroblast hücreleri için in vitro hücre canlılığı değerlendirilmesi, hücre kültürünün birinci, üçüncü ve yedinci günlerinde MTT deneyi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Büyüme ortamı, önceden belirlenmiş her gün için %5 CO₂ ile 37°C'de inkübasyondan sonra çıkarılmıştır. Ardından, her bir kuyucuğa 90 µL taze besiyeri ve 10 µL MTT çözeltisi eklenmiş ve inkübasyon 3 saat boyunca sürdürülmüştür. Bu inkübasyon süresinin ardından, MTT çözeltisi dikkatlice atılmış ve formazan kristallerini çözmek için 200 µL DMSO eklenmiştir. Kompozit matlar daha sonra tamamen çözünmeyi sağlamak için 1 saat daha inkübe edilmiştir. Son olarak, kuyucuklardan besiyerleri alınmış ve çözeltilerin absorban değerleri 540 nm'de Dynamic LEDETECT96 mikroparka okuyucu ile ölçülmüştür.

4.14 HÜCRE HATTI BOYAMA

DAPI (4',6-diamidino-2-fenilindol), hücre çekirdeğini boyamak için kullanılan, hücre çekirdeklerini açıkça hedef alan ve etiketleyen, floresan mikroskopunda mavi hale getiren bir boyadır. Öncelikle nükleer karşıt boya olarak kullanılır. DAPI'nin mavi rengi, diğer hücresel yapılar için kullanılan yeşil, sarı veya kırmızı floresan problemlerle canlı bir kontrast oluşturduğundan floresan mikroskopisinde etkilidir. DAPI çekirdekleri seçici olarak boyar ve tipik olarak sitoplazmayı işaretlemeyiz. Boyama prosedürü, numunelerin PBS içinde 5 dakika boyunca dengelenmesini içeriyordu. Daha sonra bir DAPI stok çözeltisi PBS içinde 300 nM konsantrasyona seyreltildi ve örnekler bu çözelti ile yaklaşık 3-5 dakika inkübe edildi. İnkübasyondan sonra, fazla boyayı uzaklaştırmak için örnekler birkaç kez PBS ile yıkandı. Son olarak, boyanmış çekirdekler bir floresan mikroskopu kullanılarak gözlemlenmiştir. Dio-6 (3,3'-Dihexyloxacarbocyanine iodide) önceki boya metodolojilerinde olduğu gibi boyama prosedürlerinde kullanılmıştır. Boya, endoplazmik retikulum işlevinin ve morfolojisinin değerlendirilmesinde seçicilik göstermektedir.

4.15 İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Deneysel veriler, istatistiksel analiz için GraphPad Prism 8 yazılımı kullanılarak tek yönlü varyans analizine (ANOVA) tabi tutulmuştur. Ortalama

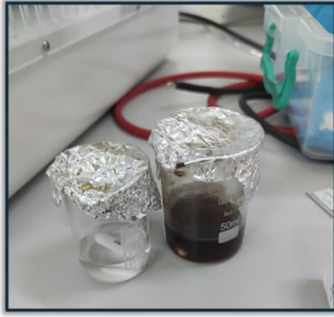
değerler Duncan'ın çoklu aralık testi (DMRT) kullanılarak istatistiksel karşılaştırmaya tabi tutulmuş ve anlamlılık seviyeleri $p<0.05$ eşliğinde belirlenmiştir.

BEŞİNCİ BÖLÜM

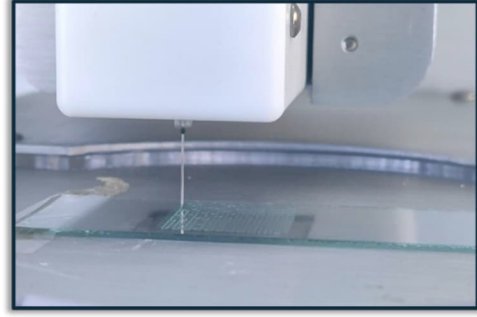
BULGULAR VE TARTIŞMA

5.1. DOKU İSKELELERİNİN ÜRETİLMESİ

Polivinil alkol (PVA) çözeltisi (%0.02 w/v) ve sodyum aljinat (ALG) çözeltisi (%0.1 w/v) ayrı ayrı deiyonize suda hazırlanmıştır. Çözeltisini hazırlamak için ALG'ye çapraz bağlama ajanı olarak uygun miktarda Kalsiyum klorür (10 mM) eklenmiştir. KS-PVA ve KS-ALG biyokompozitleri, PVA veya ALG çözeltisinin kitosan çözeltisine KS: PVA (w/w) veya KS: ALG oranı 3.0: 1.0 olacak şekilde oda sıcaklığında 500 rpm'de 2 saat karıştırılarak ayrı ayrı hazırlanmıştır.

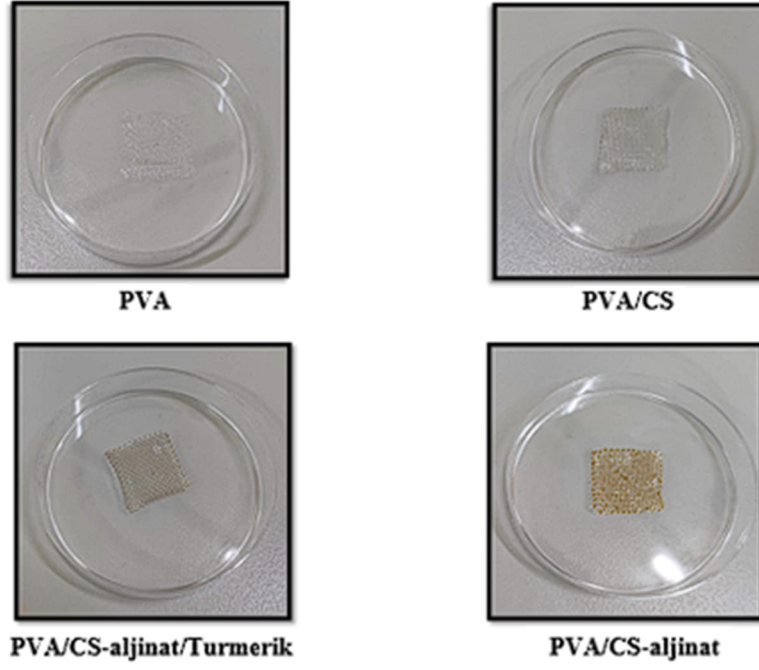


Şekil 5.1: Çözelti örnekleri



Şekil 5.2: Biyobaskı işlemi

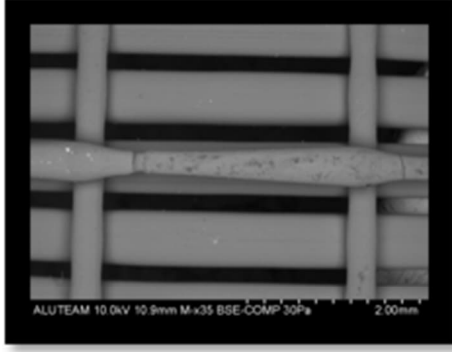
Çözeltiler Axo Mew model 3B biyoyazıcıda belirlenen şablona göre 40 psi basınç altında basılmıştır. Baskıda 0,22mm iç çapında ve 40 mm uzunluğunda 27 Gauge baskı iğneleri kullanılmıştır. Üretilen doku iskelelerinin bir kısmı Ca⁺ çözeltisine daldırma yöntemi aracılığıyla çapraz bağlanmıştır.



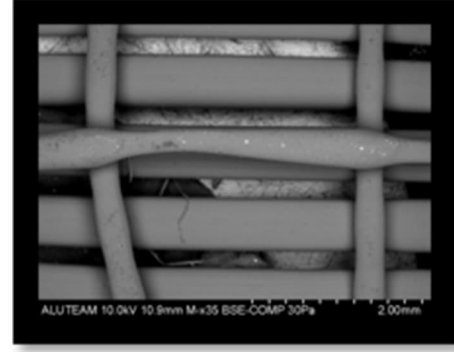
Şekil 5.3: Doku iskeleleri

5.2. SEM ANALİZİ

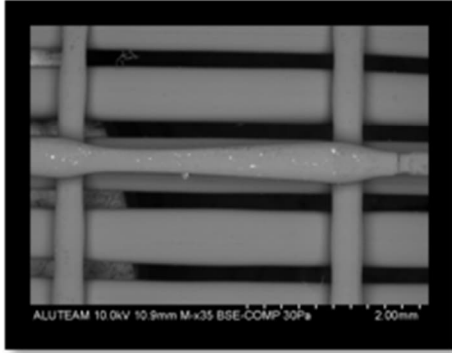
Örnekler taramalı elektron mikroskobu (SEM) aracılığıyla incelenmiştir. PVA/KS doku iskelesinde az miktarda kırılmalar gözlemlenmiştir. PVA/KS-ALG ve PVA/KS



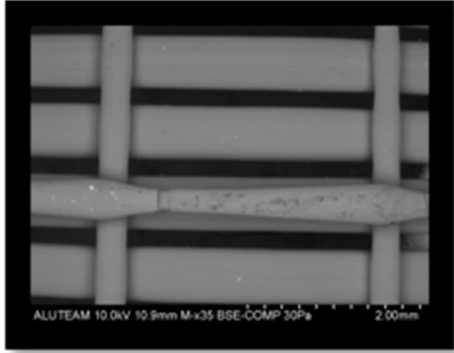
PVA



PVA/CS



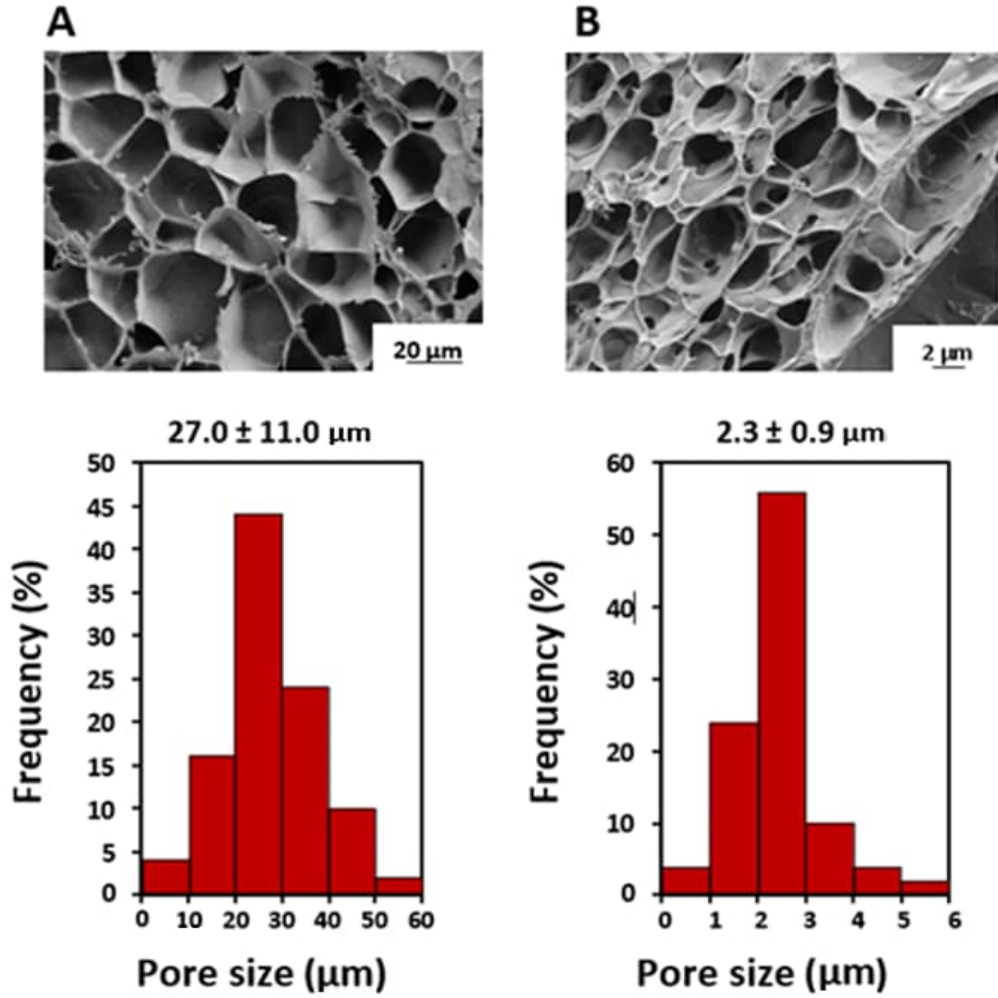
PVA/CS-aljinat/Turmerik



PVA/CS-aljinat

Şekil 5.4: SEM görüntüleri

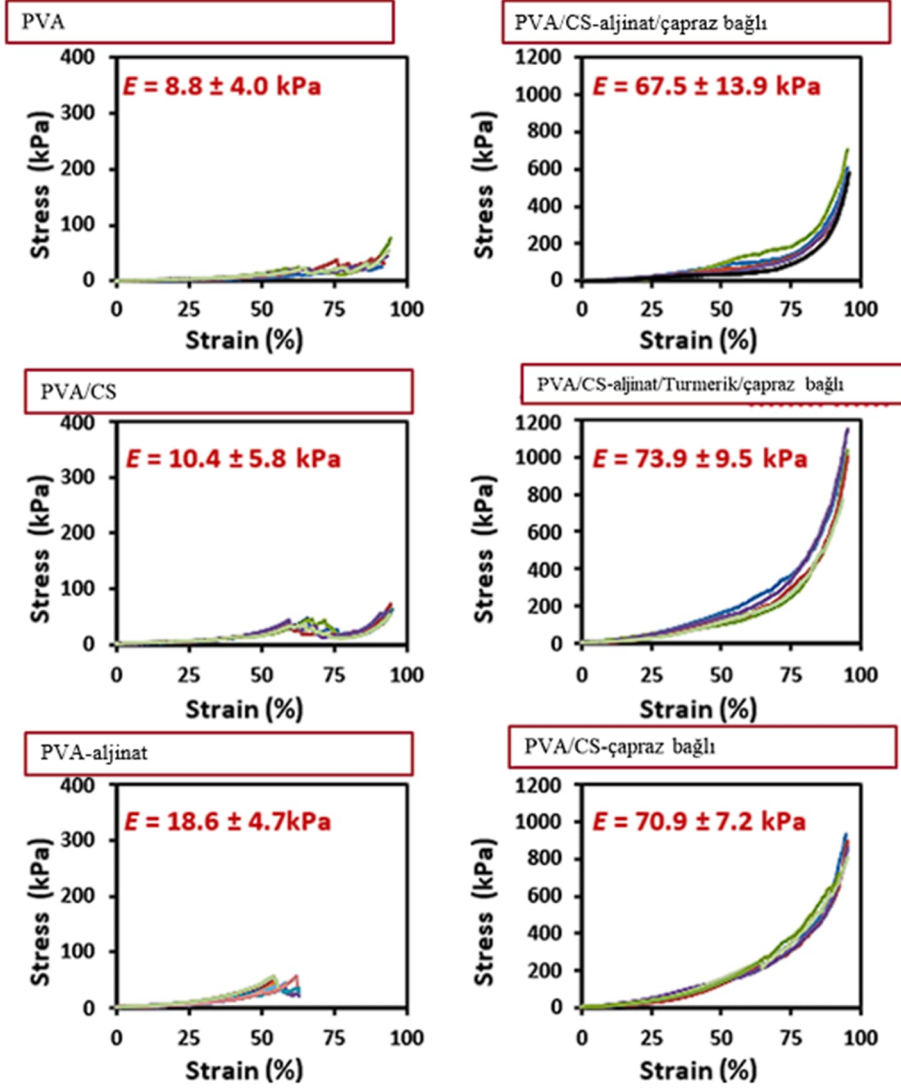
5.3. POR ANALİZİ



Şekil 5.5: Çapraz bağlamanın por boyutuna etkisi

Bu incelemede Ca^+ çapraz bağlı olan numunelerde Ca^+ çapraz bağlı olmayan numunelere göre por boyutlarında küçülme olduğu gözlenmiştir.

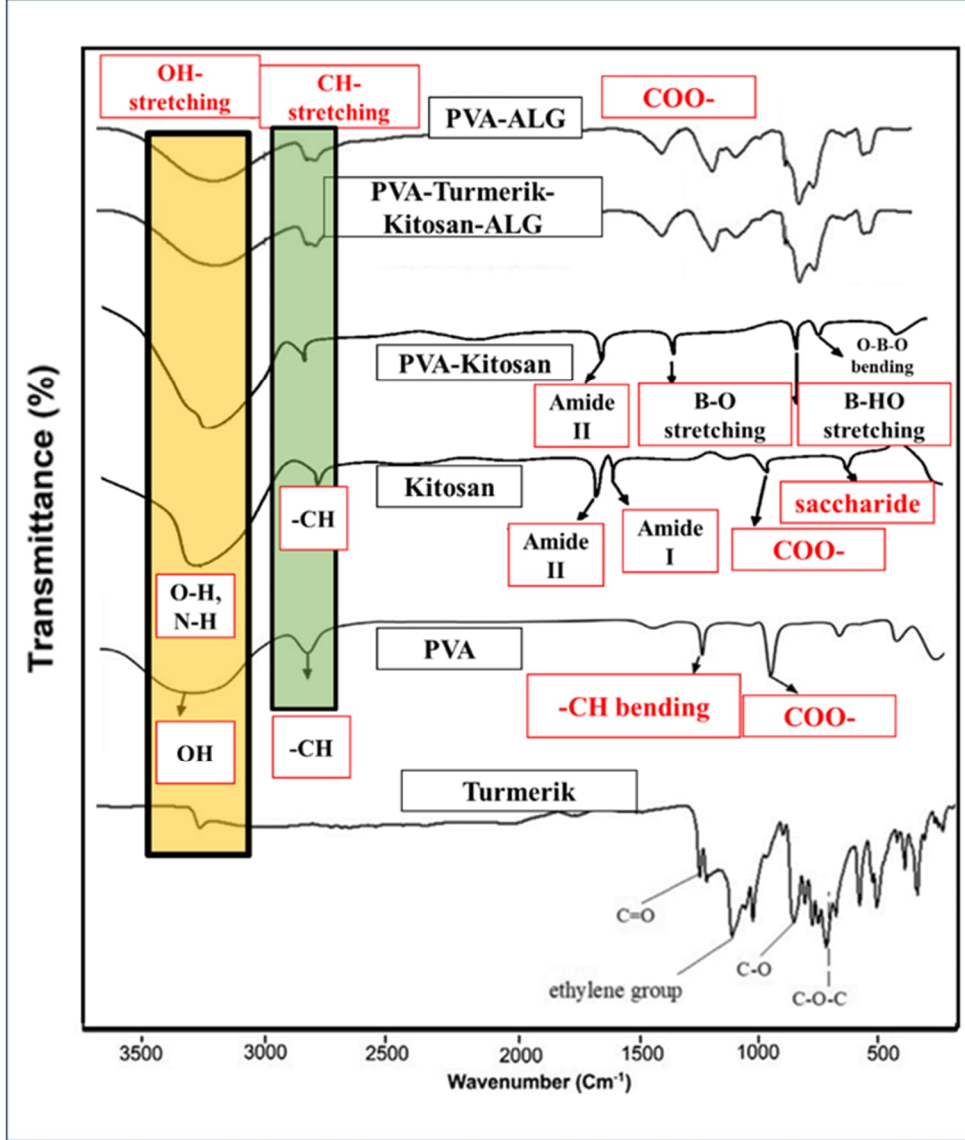
5.4. MEKANİK TESTLER



Şekil 5.6: Çekme germe testleri

Üretilen doku iskelelerine basma çekme testleri yapılmıştır. En yüksek elastikiyet modülüne sahip biyokompozitin çapraz bağı 3B biyokompozit PVA/KS-ALG/Turmerik olduğu tespit edilmiştir. Bunun yanında genel olarak çapraz bağlamanın doku iskelelerine mukavemet özelliği kazandırdığı gözlemlenmiştir.

5.5. FITR ANALİZLERİ



Şekil 5.7: PVA, PVA-Turmerik, PVA-KS ve PVA-Turmerik-KS-ALG fonksiyonel yapılarının gösterimi

Saf PVA 3412 cm⁻¹ (OH gerilmesi), 2862 cm⁻¹ (CH gerilmesi), 1419 cm⁻¹ (CH bükülmesi) ve 1093 cm⁻¹'de ana absorpsiyon pikleri göstermiştir (Jansi vd., 2023; Mansur vd., 2008; Mejía Suaza vd., 2023). KS FTIR spektrumunda, 1648 cm⁻¹ ve 1562 cm⁻¹'deki absorpsiyon pikleri sırasıyla amid I ve II piklerine atfedilir (Cirri vd., 2021; Dara vd., 2020; M. Ibrahim vd., 2011).

892 cm^{-1} , 1092 cm^{-1} 'deki geniş pik sakkarit yapısını gösterir; sırasıyla tek C tek bağ bağ gerilme titreşimi ve 2928 cm^{-1} 'deki pik tipik CH gerilme titreşimleridir. 3380 cm^{-1} 'deki geniş pik OH ve NH simetrik titreşimine atfedilir (Bhatia vd., 2024; Duarte vd., 2002; X. Liu vd., 2020).

PVA-CS Biyokompozitlerin FTIR spektrumunda, PVA ve KS karakteristik pikleri belirgindir ve 3380-3412 cm^{-1} bölgelerindeki hidrojen bağlı O-H-N'nin gerilme titreşimlerine karşılık gelen geniş bant açıkça daha düşük dalga sayılarına kaymıştır. Bu durum PVA'daki hidroksil grupları, CS zincirleri ve borat molekülleri arasında bir çapraz bağlanma reaksiyonu olduğunu göstermektedir (Ali ve Gherissi, 2017; Chopra vd., 2022; Li vd., 2019; R. Liu vd., 2014; Menazea vd., 2020; Supriya Bhatt vd., 2023; Vimala vd., 2011). Ayrıca, 673, 761 ve 1409 cm^{-1} 'de yeni piklerin ortaya çıkması sırasıyla OH stretching olarak atfedilir (Jufri vd., 2022; Li vd., 2019; Srinivasa vd., 2003; Wang vd., 2004).

PVA-ALG biyokompozitine yüklenen Turmerik FTIR spektrumlarını göstermektedir. Karşılaştırma için saf Kurkumin özü tozu (Turmerik) kullanılmıştır. Karakteristik pikler 1750 cm^{-1} , 1270 cm^{-1} ve 1100 cm^{-1} 'de sunulmuştur. Bunlar sırasıyla C = O gerilmesi, C-O gerilmesi ve C-O-C gerilmesine atfedilmiştir. Ayrıca 1450 cm^{-1} dalga sayısının varlığı da ortaya çıkmıştır. Bu C-H gerilmesine karşılık geliyordur (Mirzaie vd., 2019; Rezagholizade-shirvan, Fathi Najafi, vd., 2022; Rezagholizade-shirvan, Najafi, vd., 2022). Turmerik ait tüm karakteristik piklerin enol formu ve keto formu olduğu kaydedilmiştir. Bu durum önceki birçok literatürle aynıdır. Ayrıca, sodyum aljinat bazlı hidrojel kompozitine yüklenen kurkuminin fonksiyonel grubunu araştırmak için, bozulmamış hidrojel ile karşılaştırılması ele alınmıştır. Hidrojel matrisine az miktarda Turmerik eklenmesi nedeniyle, kurkumin ile ilgili önemli bir pik mevcut değildi. Ya da kurkuminin konumu hidrojel ağı arasında sunulmuştur. Bu da hidrojel yüzeyinde tespit edilmesini zorlaştırmıştır. Ayrıca, hidrojel için tüm karakteristik pikler benzer özelliklerde sunulmuştur. O-H gerilmesinin varlığı nedeniyle 3200 ve 3500 cm^{-1} arasındaki geniş bölge gözlenmiştir. Bu muhtemelen sodyum aljinat ve polivinil alkol yapısına ait hidroksil grubunun varlığından kaynaklanmaktadır. Hidrojele yüklenen kurkuminin neme karşı hassas olduğu söylenebilir. Ağ boyunca hidroksil grubu aracılığıyla H-bağı oluşturulabilir. Bakteri oluşumuna neden olabilir. C-H gerilmesi ve C-O gerilmesinin varlığı

nedeniyle sırasıyla 2900 cm⁻¹ ve 1600 cm⁻¹ dalga sayıları gözlenmiştir. Bunların organik yapı ve karbonil grubu olduğu kaydedilmiştir (He vd., 2018; Rezagholizade-shirvan, Fathi Najafi, vd., 2022; Shefa vd., 2020; Tu vd., 2023).

5.6. IN VİTRO SALIM KİNETİĞİ, MATEMATİKSEL MODELLEME

Tablo 5.1: PVA-Turmerik formülizasyonuna ait Turmerik Firsr-order salım kinetiği değer tablosu

| PVA-Turmerik | | | <i>Log C=log C0-K*t/2,303</i> | | | |
|--------------|-----------|------------|-------------------------------|-------------|------------|-------------|
| Süre (dk) | Süre (sa) | % salım | % kalan salım | Salınan | Kalan | % kalan log |
| 15 | 0.25 | 40.216364 | 59.78363596 | 3.016227303 | 4.4837727 | 1.776582325 |
| 30 | 0.5 | 46.2488186 | 53.75118136 | 3.468661398 | 4.0313386 | 1.730388014 |
| 45 | 0.75 | 54.6942551 | 45.30574491 | 4.102069132 | 3.39793087 | 1.656153275 |
| 60 | 1 | 54.2920915 | 45.70790855 | 4.071906859 | 3.42809314 | 1.65999135 |
| 90 | 1.5 | 62.3353643 | 37.66463574 | 4.675152319 | 2.82484768 | 1.575933772 |
| 120 | 2 | 72.3894553 | 27.61054473 | 5.429209145 | 2.07079085 | 1.441074975 |
| 360 | 6 | 78.4219099 | 21.57809012 | 5.881643241 | 1.61835676 | 1.334013003 |
| 390 | 6.5 | 80.4327281 | 19.56727192 | 6.032454606 | 1.46754539 | 1.29153028 |
| 420 | 7 | 85.2586918 | 14.74130824 | 6.394401882 | 1.10559812 | 1.168536027 |
| 450 | 7.5 | 84.4543645 | 15.54563552 | 6.334077336 | 1.16592266 | 1.191608481 |

Tablo 5.2: PVA-KS formülizasyonuna ait KS'nin Fırsr-order salım kinetiği değer tablosu

| PVA-KS | | | $Log C=log C_0-K*t/2,303$ | | | |
|-----------|------------|------------|---------------------------|----------------|------------|-------------|
| Süre (dk) | Sür e (sa) | % salım | % kalan salım | Toplam salınan | Kalan | % kalan log |
| 15 | 0.25 | 14.0648874 | 85.93511258 | 5.218073234 | 31.8819268 | 1.93417065 |
| 30 | 0.5 | 19.024183 | 80.97581701 | 7.057971889 | 30.0420281 | 1.908355339 |
| 45 | 0.75 | 20.2436819 | 79.7563181 | 7.510405984 | 29.589594 | 1.901765097 |
| 60 | 1 | 21.7883805 | 78.21161948 | 8.083489172 | 29.0165108 | 1.893271279 |
| 90 | 1.5 | 22.1135802 | 77.88641977 | 8.204138264 | 28.8958617 | 1.891461741 |
| 120 | 2 | 21.7070806 | 78.29291941 | 8.053326899 | 29.0466731 | 1.893722487 |
| 360 | 6 | 21.7070806 | 78.29291941 | 8.053326899 | 29.0466731 | 1.893722487 |
| 390 | 6.5 | 21.7070806 | 78.29291941 | 8.053326899 | 29.0466731 | 1.893722487 |
| 420 | 7 | 22.1948802 | 77.80511985 | 8.234300537 | 28.8656995 | 1.891008176 |
| 450 | 7.5 | 22.35748 | 77.64251999 | 8.294625083 | 28.8053749 | 1.890099623 |
| 480 | 8 | 22.1948802 | 77.80511985 | 8.234300537 | 28.8656995 | 1.891008176 |
| 1440 | 24 | 22.4387799 | 77.56122006 | 8.324787356 | 28.7752126 | 1.889644632 |
| 2880 | 48 | 22.7639796 | 77.23602036 | 8.445436448 | 28.6545636 | 1.887819888 |
| 4320 | 72 | 24.3899782 | 75.61002181 | 9.048681909 | 28.0513181 | 1.878579363 |
| 5760 | 96 | 31.349252 | 68.65074803 | 11.63057248 | 25.4694275 | 1.836645274 |
| 7200 | 120 | 36.2533693 | 63.74663073 | 13.45 | 23.65 | 1.804457235 |
| 8640 | 144 | 45.0134771 | 54.98652291 | 16.7 | 20.4 | 1.740256258 |
| 10080 | 168 | 73.6310515 | 26.3689485 | 27.31712011 | 9.78287989 | 1.421092812 |
| 11520 | 192 | 92.1024259 | 7.897574124 | 34.17 | 2.93 | 0.897493711 |
| 12960 | 216 | 98.0210297 | 1.97897031 | 36.36580201 | 0.73419799 | 0.296439279 |
| 14400 | 240 | 98.8332078 | 1.166792167 | 36.66712011 | 0.43287989 | 0.066993505 |

| | | | | | | |
|-------|-----|-------|------|----------|---------|-------------|
| 15840 | 264 | 98.26 | 1.74 | 36.45446 | 0.64554 | 0.240549248 |
|-------|-----|-------|------|----------|---------|-------------|

Tablo 5.3: PVA-Turmerik-KS-ALG formülizasyonuna ait First-order salım kinetiği modellemesi tablosu

| PVA-Turmerik-KS-ALG | | | $\text{Log } C = \log C_0 - K \cdot t / 2,303$ | | | |
|---------------------|-----------|---------|--|----------------|---------|-------------|
| Süre (dk) | Süre (sa) | % salım | % kalan salım | Toplam salınan | Kalan | % kalan log |
| 15 | 0.25 | 7.46 | 92.54 | 5.5499 | 68.8501 | 1.966331903 |
| 30 | 0.5 | 10.70 | 89.30 | 7.9628 | 66.4372 | 1.950838123 |
| 45 | 0.75 | 13.38 | 86.62 | 9.9536 | 64.4464 | 1.937626063 |
| 60 | 1 | 13.66 | 86.34 | 10.1647 | 64.2353 | 1.936200916 |
| 90 | 1.5 | 13.82 | 86.18 | 10.2853 | 64.1147 | 1.935384441 |
| 120 | 2 | 15.73 | 84.27 | 11.7030 | 62.6970 | 1.925674089 |
| 360 | 6 | 15.32 | 84.68 | 11.4013 | 62.9987 | 1.927758382 |
| 390 | 6.5 | 15.28 | 84.72 | 11.3712 | 63.0288 | 1.927966262 |
| 420 | 7 | 15.41 | 84.59 | 11.4617 | 62.9383 | 1.927342323 |
| 450 | 7.5 | 15.00 | 85.00 | 11.1600 | 63.2400 | 1.929418644 |
| 480 | 8 | 15.12 | 84.88 | 11.2505 | 63.1495 | 1.928796789 |
| 1440 | 24 | 15.20 | 84.80 | 11.3109 | 63.0891 | 1.928381724 |
| 2880 | 48 | 23.31 | 76.69 | 17.3433 | 57.0567 | 1.884733661 |
| 4320 | 72 | 26.83 | 73.17 | 19.9614 | 54.4386 | 1.864334074 |
| 5760 | 96 | 38.63 | 61.37 | 28.7386 | 45.6614 | 1.787976157 |
| 7200 | 120 | 44.35 | 55.65 | 32.9945 | 41.4055 | 1.745484988 |
| 8640 | 144 | 53.27 | 46.73 | 39.6347 | 34.7653 | 1.66957261 |
| 10080 | 168 | 57.37 | 42.63 | 42.6856 | 31.7144 | 1.629682896 |
| 11520 | 192 | 70.99 | 29.01 | 52.8202 | 21.5798 | 1.462475033 |
| 12960 | 216 | 80.60 | 19.40 | 59.9686 | 14.4314 | 1.287734589 |
| 14400 | 240 | 89.11 | 10.89 | 66.3012 | 8.0988 | 1.036847714 |
| 15840 | 264 | 88.53 | 11.47 | 65.8663 | 8.5337 | 1.059563418 |
| 17280 | 288 | 88.42 | 11.58 | 65.7839 | 8.6161 | 1.063736914 |

Tablo 5.4: PVA-Turmerik formülizasyonuna ait First-order salım kinetiği modellemesi tablosu

| PVA-Turmerik | | | $C_t=C_0+K_0t$ | |
|--------------|-----------|-----------|----------------|-------------|
| Süre (dk) | Süre (sa) | % salım | Toplam salınan | Kalan |
| 15 | 0.25 | 40.216364 | 4.483772697 | 3.016227303 |
| 30 | 0.5 | 46.248819 | 3.468661398 | 4.031338602 |
| 45 | 0.75 | 54.694255 | 4.102069132 | 3.397930868 |
| 60 | 1 | 54.292091 | 4.071906859 | 3.428093141 |
| 90 | 1.5 | 62.335364 | 4.675152319 | 2.824847681 |
| 120 | 2 | 72.389455 | 5.429209145 | 2.070790855 |
| 360 | 6 | 78.42191 | 5.881643241 | 1.618356759 |
| 390 | 6.5 | 80.432728 | 6.032454606 | 1.467545394 |
| 420 | 7 | 85.258692 | 6.394401882 | 1.105598118 |
| 450 | 7.5 | 84.454364 | 6.334077336 | 1.165922664 |

Tablo 5.5: PVA-KS formülizasyonuna ait Zero-order salım kinetiği modellemesi tablosu

| PVA-KS | | | $C_t=C_0+K_0t$ | |
|-----------|-----------|---------|----------------|-------|
| Süre (dk) | Süre (sa) | % salım | Toplam salınan | Kalan |
| 15 | 0.25 | 14.06 | 5.22 | 31.88 |
| 30 | 0.5 | 19.02 | 7.06 | 30.04 |
| 45 | 0.75 | 20.24 | 7.51 | 29.59 |
| 60 | 1 | 21.79 | 8.08 | 29.02 |
| 90 | 1.5 | 22.11 | 8.20 | 28.90 |
| 120 | 2 | 21.71 | 8.05 | 29.05 |
| 360 | 6 | 21.71 | 8.05 | 29.05 |
| 390 | 6.5 | 21.71 | 8.05 | 29.05 |
| 420 | 7 | 22.19 | 8.23 | 28.87 |
| 450 | 7.5 | 22.36 | 8.29 | 28.81 |
| 480 | 8 | 22.19 | 8.23 | 28.87 |
| 1440 | 24 | 22.44 | 8.32 | 28.78 |
| 2880 | 48 | 22.76 | 8.45 | 28.65 |

| | | | | |
|-------|-----|-------|-------|-------|
| 4320 | 72 | 24.39 | 9.05 | 28.05 |
| 5760 | 96 | 31.35 | 11.63 | 25.47 |
| 7200 | 120 | 36.25 | 13.45 | 23.65 |
| 8640 | 144 | 45.01 | 16.70 | 20.40 |
| 10080 | 168 | 73.63 | 27.32 | 9.78 |
| 11520 | 192 | 92.10 | 34.17 | 2.93 |
| 12960 | 216 | 98.02 | 36.37 | 0.73 |
| 14400 | 240 | 98.83 | 36.67 | 0.43 |
| 15840 | 264 | 98.26 | 36.45 | 0.65 |

Tablo 5.6: PVA-Turmerik-KS-ALG formülizasyonuna ait Zero-order salım kinetiği modellemesi tablosu

| PVA-Turmerik-KS-ALG | | | $Ct=C_0+K_0t$ | |
|---------------------|-----------|---------|----------------|-------|
| Süre (dk) | Süre (sa) | % salım | Toplam salınan | Kalan |
| 15 | 0.25 | 7.46 | 5.55 | 68.85 |
| 30 | 0.5 | 10.70 | 7.96 | 66.44 |
| 45 | 0.75 | 13.38 | 9.95 | 64.45 |
| 60 | 1 | 13.66 | 10.16 | 64.24 |
| 90 | 1.5 | 13.82 | 10.29 | 64.11 |
| 120 | 2 | 15.73 | 11.70 | 62.70 |
| 360 | 6 | 15.32 | 11.40 | 63.00 |
| 390 | 6.5 | 15.28 | 11.37 | 63.03 |
| 420 | 7 | 15.41 | 11.46 | 62.94 |
| 450 | 7.5 | 15.00 | 11.16 | 63.24 |
| 480 | 8 | 15.12 | 11.25 | 63.15 |
| 1440 | 24 | 15.20 | 11.31 | 63.09 |
| 2880 | 48 | 23.31 | 17.34 | 57.06 |
| 4320 | 72 | 26.83 | 19.96 | 54.44 |
| 5760 | 96 | 38.63 | 28.74 | 45.66 |
| 7200 | 120 | 44.35 | 32.99 | 41.41 |
| 8640 | 144 | 53.27 | 39.63 | 34.77 |
| 10080 | 168 | 57.37 | 42.69 | 31.71 |
| 11520 | 192 | 70.99 | 52.82 | 21.58 |
| 12960 | 216 | 80.60 | 59.97 | 14.43 |
| 14400 | 240 | 89.11 | 66.30 | 8.10 |
| 15840 | 264 | 88.53 | 65.87 | 8.53 |
| 17280 | 288 | 88.42 | 65.78 | 8.62 |

Tablo 5.7: PVA-Turmerik, PVA-KS, PVA-Turmerik-ALG formülizasyonuna ait biyoaktif maddelerin kümülatif salım % değerleri tablosu

| Süre (dk) | % salım | | |
|-----------|--------------|--------|---------------------|
| | PVA-Turmerik | PVA-KS | PVA-Turmerik-KS-ALG |
| 15 | 40.21636404 | 14.06 | 7.46 |
| 30 | 46.24881864 | 19.02 | 10.70 |
| 45 | 54.69425509 | 20.24 | 13.38 |
| 60 | 54.29209145 | 21.79 | 13.66 |
| 90 | 62.33536426 | 22.11 | 13.82 |
| 120 | 72.38945527 | 21.71 | 15.73 |
| 360 | 78.42190988 | 21.71 | 15.32 |
| 390 | 80.43272808 | 21.71 | 15.28 |
| 420 | 85.25869176 | 22.19 | 15.41 |
| 450 | 84.45436448 | 22.36 | 15.00 |

Korelasyon katsayısına göre hem doğrusallık (doğrusal), biyoaktif malzemelerin salım kinetiği hem de salım modelinden bağımsız bir yaklaşımla benzerlikler ve farklılıklar, salım kinetiği ve çözünme profillerinin matematiksel modeli belirlenerek karşılaştırılmıştır. Salım için kullanılan 3B biyokompozit malzemeler içinde bulunan Turmerik, KS ve ALG malzemeleri PVA ile katkılanarak elde edilen hidrojellerin biyobaskı sonucu oluşan doku iskeleleri numuneleri kullanılmıştır.

Sırasıyla çeşitli formülasyonlar, PVA-Turmerik, PVA-KS, PVA-Turmerik-ALG *in vitro* ilaç salım çalışmaları için seçilmiştir. Katkılı PVAA 2B Biyokompozitlerin *in vitro* ilaç salımı, sırasıyla PBS (pH 7,4) ortamında simüle edilerek çalkalamalı su banyosu içinde difüzyon yayılımı olarak laboratuvar koşullarında 37 ± 1 ° 'de farklı saat dilimlerinde boyunca salınan kümülatif % değerleri, yapılmıştır (Tablo 5.1, 5.2, 5.3, 5.4, 5.5, 5.6, 5.7) (Ciftci, 2024; Özdemir vd., 2024).

PVA-Turmerik formülizasyonunda korelasyon katsayısı; $R^2 = 0,9274$ olarak hesaplanmıştır. Salım modeli first-order olarak seçilmiştir.

PVA-KS formülizasyonunda korelasyon katsayısı; $R^2 = 0,7911$ olarak hesaplanmıştır. Salım modeli first-order olarak seçilmiştir.

PVA-Turmerik-KS formülizasyonunda korelasyon katsayısı; $R^2 = 0,9267$ olarak hesaplanmıştır. Salım modeli first-order olarak seçilmiştir.

PVA-Turmerik formülizasyonunda korelasyon katsayısı; $R^2 = 0,8565$ olarak hesaplanmıştır. Salım modeli zero-order olarak seçilmiştir.

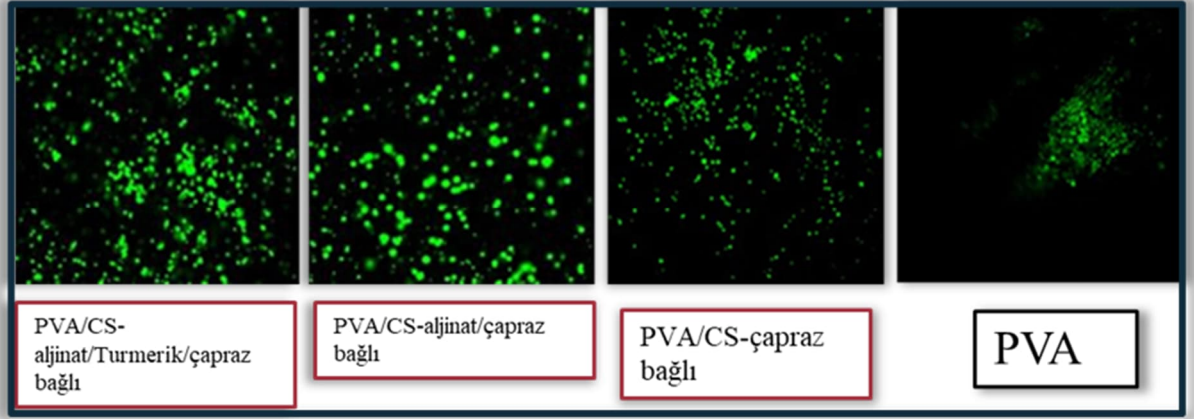
PVA-KS formülizasyonunda korelasyon katsayısı; $R^2 = 0,902$ olarak hesaplanmıştır. Salım modeli zero-order olarak seçilmiştir.

PVA-Turmerik-KS formülizasyonunda korelasyon katsayısı; $R^2 = 0,9852$ olarak hesaplanmıştır. Salım modeli zero-order olarak seçilmiştir.

Salınım kinetiğinin kümülatif Fitting eğrisi yapılarak salınım tipinin (n değeri) belirlenmiştir. Burada belirlenen “n” değerine göre “K ve R2” değerleri bulunmuştur.

5.7. SİTOTOKSİSİTE TESTLERİ

Doku kültürü ortamında doku iskelelerine sitotoksiste testleri yapılmıştır. 3B baskılı ürünlerinin sitotoksik olmadığını doğrulamak için MC3T3 (murin pre-osteoblast) hücreleri üzerinde hücre canlılığı testleri yapılmıştır. Bu amaçla, PVA/KS-aljinat/Turmerik biyokompozitler 35 gün boyunca 37 °C'de hücre kültürü ortamına daldırılmıştır. Daha sonra, hücre ortamı geri kazanılmış ve hücre çalışması için kullanılmadan önce santrifüjlenmiştir. Hücreler doku kültürü şişelerinde, tedarikçinin önerdiği şekilde MEM alfa ortamı (Gibco) kullanılarak, %10 FBS ve %1 pen/strep ilavesiyle 37 °C, %5 CO₂'de kültürlenmiştir. Canlılık deneyleri için hücreler 12 kuyucuklu plakalara (2000 hücre cm⁻²) ekilmiştir



Şekil 5.8: H uce canlılığı testi sonuçları

H uceleler 72 saat boyunca kuyucuklara yapıŐmaya ve çoğalmaya bırakılmıŐ, ardından farklı konsantrasyonlarda bozunma ürünleri veya  oz nm Ő alkin içeren h uce ortamı ile inkübe edilmiştir. Canlılık 24 saat ve/veya 72 saat sonra PrestoBlue metabolik test (Invitrogen) kullanılarak  l c lm Ő ve sonuçlar kontrollerle (0 mL alkinin/bozunma ürünleri) karşılaştırmalı olarak rapor edilmiştir.

SONUÇ

Bu çalışma üç biyopolimer olan Kitosan ve ALG ile PVA'nın eş zamanlı kullanımının Zerdeçal'ın terapötik etkinliğini sinerjik olarak artıracığı sonucuna varılmıştır.

- Sonuç olarak, PVA/Kitosan-aljinat biyokompozitinin yeni nano-kompoziti, özellikle inflamatuvar hastalıklar ve kanser olmak üzere çeşitli hastalıkları tedavi etmek için biyomedikal uygulamalar ve ilaç dağıtım sistemleri için etkili bir strateji ve umut verici bir aday sunmaktadır.
- 3B biyokompozit doku iskeleleri için mekanik testler uygulanabilir
- Kullanılan etken biyoaktif katkısı için salım kinetiği profili oluşturulabilir.
- Salım profili belirlenmiş 3B biyokompozit doku iskeleleri için hücre testi gerçekleştirilebilir.

KAYNAKÇA

- Ahad, A., Al-Jenoobi, F. I., Al-Mohizea, A. M., Akhtar, N., Raish, M., & Aqil, M.** (2015). Systemic delivery of β -blockers via transdermal route for hypertension. *Saudi pharmaceutical journal : SPJ : the official publication of the Saudi Pharmaceutical Society*, 23(6), 587–602. <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2013.12.019>
- Ahmed, E. M.** "Hydrogel: Preparation, characterization, and applications: A review," *Journal of Advanced Research*, vol. 6, no. 2. 2015. doi: 10.1016/j.jare.2013.07.006.
- Ali, M., Gherissi, A.** (2017). "Synthesis and characterization of the composite material PVA/Chitosan/5% sorbitol with different ratio of chitosan". *International Journal of Mechanical and Mechatronics Engineering*, 17(2), 15–28.
- Banyard, D. A., Bourgeois, J. M., Widgerow, A. D., & Evans, G. R. D.** (2015). Regenerative Biomaterials. *Plastic & Reconstructive Surgery*, 135(6), 1740–1748. <https://doi.org/10.1097/prs.0000000000001272>
- Bhatia, S., Shah, Y. A., Al-Harrasi, A., Jawad, M., Koca, E., Aydemir, L. Y.** (2024). "Novel applications of black pepper essential oil as an antioxidant agent in sodium caseinate and chitosan based active edible films". *International Journal of Biological Macromolecules*, 254.
- Boateng, J. S., Matthews, K. H., Stevens, H. N., & Eccleston, G. M.** (2008). Wound healing dressings and drug delivery systems: a review. *Journal of pharmaceutical sciences*, 97(8), 2892-2923.
- Chong, E. T. J., Ng, J. W., Lee, P. C.** (2023). "Classification and Medical Applications of Biomaterials–A Mini Review". *BIO Integration*.
- Chopra, H., Bibi, S., Kumar, S., Khan, M. S., Kumar, P., Singh, I.** (2022). "Preparation and Evaluation of Chitosan/PVA Based Hydrogel Films Loaded with Honey for Wound Healing Application". *Gels*, 8(2).
- Ciftci, F.** (2024). "Bioadhesion, antimicrobial activity, and biocompatibility evaluation bacterial cellulose based silver nanoparticle bioactive composite films". *Process Biochemistry*, 137, 99–110.
- Cirri, M., Maestrelli, F., Scuota, S., Bazzucchi, V., Mura, P.** (2021). "Development and microbiological evaluation of chitosan and chitosan-alginate microspheres for vaginal administration of metronidazole". *International Journal of Pharmaceutics*, 598.

- Dara, P. K., Mahadevan, R., Digita, P. A., Visnuvinayagam, S., Kumar, L. R. G., Mathew, S., Anandan, R.** (2020). "Synthesis and biochemical characterization of silver nanoparticles grafted chitosan (Chi-Ag-NPs): in vitro studies on antioxidant and antibacterial applications". *SN Applied Sciences*, 2(4).
- Dash, M., Chiellini, F., Ottenbrite, R. M., & Chiellini, E.** (2011). Chitosan—A versatile semi-synthetic polymer in biomedical applications. *Progress in polymer science*, 36(8), 981-1014.
- Duarte, M. L., Ferreira, M. C., Marvão, M. R., Rocha, J.** (2002). "An optimised method to determine the degree of acetylation of chitin and chitosan by FTIR spectroscopy". *International Journal of Biological Macromolecules*, 31(1–3), 1–8.
- Farag, M. M.** (2023). "Recent trends on biomaterials for tissue regeneration applications: review". *Journal of Materials Science*.
- Fertah M., Belfkira A., Dahmane E.m., Taourirte M., Brouillette F.** (2017). Extraction and characterization of sodium alginate from Moroccan *Laminaria digitata* brown seaweed. *Arab. J. Chem.* 10:S3707–S3714. doi: 10.1016/j.arabjc.2014.05.003
- Festas, A. J., Ramos, A., Davim, J. P.** (2020). "Medical devices biomaterials – A review". *Proceedings of the Institution of Mechanical Engineers, Part L: Journal of Materials: Design and Applications*.
- Finch, C. A.** (1973). *Polyvinyl Alcohol: Properties and Applications*. John Wiley & Sons.
- Fu, Z., Angeline, V., & Sun, W.** (2021). Evaluation of printing parameters on 3D extrusion printing of pluronic hydrogels and machine learning guided parameter recommendation. *International journal of bioprinting*, 7(4).
- Gomez, M.- Florit et al.**, "Natural-Based Hydrogels for Tissue Engineering Applications," *Molecules*, vol. 25, no. 24. 2020. doi: 10.3390/MOLECULES25245858.
- Gopinathan, J., & Noh, I.** (2018). Recent trends in bioinks for 3D printing. *Biomaterials research*, 22(1), 11.
- Groll, J., Burdick, J. A., Cho, D. W., Derby, B., Gelinsky, M., Heilshorn, S. C., Jüngst, T., Malda, J., Mironov, V. A., Nakayama, K., Ovsianikov, A., Sun, W., Takeuchi, S., Yoo, J. J., & Woodfield, T. B. F.** (2018). A definition of bioinks and their distinction from biomaterial inks. *Biofabrication*, 11(1), 013001. <https://doi.org/10.1088/1758-5090/aaec52>
- Gupta, P., Vermani, K., & Garg, S.** (2002). Hydrogels: from controlled release to pH-responsive drug delivery. *Drug Discovery Today*, 7(10), 569-579.

- Hamielec, A. E., MacDonald, M. E., & Shoichet, M. S.** (1982). Polyvinyl alcohol: Chemistry and Applications. *Journal of Macromolecular Science, Part C: Polymer Reviews*, 22(1), 1-56.
- He, F., Jiao, H., Tian, Y., Zhao, L., Liao, X., Fan, Z., Liu, B.** (2018). "Facile and large-scale synthesis of curcumin/PVA hydrogel: effectively kill bacteria and accelerate cutaneous wound healing in the rat". *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, 29(4), 325–343.
- He, Y., Yang, F., Zhao, H., Gao, Q., Xia, B., & Fu, J.** (2016). Research on the printability of hydrogels in 3D bioprinting. *Scientific reports*, 6(1), 29977.
- Ibrahim, M. A., Alhalafi, M. H., Emam, E. A. M., Ibrahim, H., Mosaad, R. M.** (2023). "A Review of Chitosan and Chitosan Nanofiber: Preparation, Characterization, and Its Potential Applications". *Polymers*.
- Ibrahim, M., Osman, O., Mahmoud, A. A.** (2011). "Spectroscopic analyses of cellulose and chitosan: FTIR and modeling approach". *Journal of Computational and Theoretical Nanoscience*, 8(1), 117–123.
- Jansi, R., Shenbagavalli, S., Revathy, M. S., Deepalakshmi, S., Indumathi, P., Mohammed, M. K. A.** (2023). "Structural and ionic transport in biopolymer electrolyte-based PVA: NaAlg with NH₄Cl for electrochemical applications". *Journal of Materials Science: Materials in Electronics*, 34(11).
- Jufri, M., Lusiana, R. A., Prasetya, N. B. A.** 2022. "Effects of Additional Polyvinyl Alcohol (PVA) on the Physiochemical Properties of Chitosan-Glutaraldehyde-Gelatine Bioplastic". *Jurnal Kimia Sains dan Aplikasi*, 25(3), 130–136.
- Kou, S. (Gabriel), Peters, L. M., Mucalo, M. R.** (2021). "Chitosan: A review of sources and preparation methods". *International Journal of Biological Macromolecules*.
- Kou, S. (Gabriel), Peters, L., Mucalo, M.** (2022). "Chitosan: A review of molecular structure, bioactivities and interactions with the human body and micro-organisms". *Carbohydrate Polymers*.
- Lee K.Y., Yuk S. H.** (2007) Polymeric protein delivery systems. *Prog. Polym. Sci.* 32:669–697. doi: 10.1016/j.progpolymsci.2007.04.001.
- Lee, J. S., Cho, J. H., Heo, H. S., Choi, J. W., Kim, K. S., & Jung, S. W.** (2004). Properties of PVA fiber for construction use. *Construction and Building Materials*, 18(8), 555-562.
- Lepowsky, E., Muradoglu, M., & Tasoglu, S.** (2018). Towards preserving post-printing cell viability and improving the resolution: Past, present, and future of 3D bioprinting theory. *Bioprinting*, 11, e00034.

- Li, G., Shi, W., Fang, Y., & Lu, G.** (2004). Polyvinyl alcohol: Synthesis, properties, and applications. *Journal of Macromolecular Science, Part B: Physics*, 43(4), 601-629.
- Li, T. T., Yan, M., Zhong, Y., Ren, H. T., Lou, C. W., Huang, S. Y., Lin, J. H.** (2019). "Processing and characterizations of rotary linear needleless electrospun polyvinyl alcohol(PVA)/Chitosan(CS)/Graphene(Gr) nanofibrous membranes". *Journal of Materials Research and Technology*, 8(6), 5124–5132.
- Liu, R., Xu, X., Zhuang, X., Cheng, B.** (2014). "Solution blowing of chitosan/PVA hydrogel nanofiber mats". *Carbohydrate Polymers*, 101(1), 1116–1121.
- Liu, X., Xu, Y., Zhan, X., Xie, W., Yang, X., Cui, S. W., Xia, W.** (2020). "Development and properties of new kojic acid and chitosan composite biodegradable films for active packaging materials". *International Journal of Biological Macromolecules*, 144, 483–490.
- Loai, S., Kingston, B. R., Wang, Z., Philpott, D. N., Tao, M., & Cheng, H. L. M.** (2019). Clinical perspectives on 3D bioprinting paradigms for regenerative medicine. *Regenerative Medicine Frontiers*, 1(1).
- Loozen, L. D., Wegman, F., Özbakir, B., Peppas, N. A., Koning, C. E., & van der Walle, C. F.** (2019). Strategies to tailor 3D bioprinting processes for personalized hydrogels. *Advanced Healthcare Materials*, 8(7), 1801048.
- Mansur, H. S., Sadahira, C. M., Souza, A. N., Mansur, A. A. P.** (2008). "FTIR spectroscopy characterization of poly (vinyl alcohol) hydrogel with different hydrolysis degree and chemically crosslinked with glutaraldehyde". *Materials Science and Engineering C*, 28(4), 539–548.
- Mechanical Considerations of Bioprinted Tissue** **Mohareb, A. S., Mohamed, E. E., El-Hossary, F. M., & Abdel-Mogoud, M. M.** (2011). Polyvinyl alcohol as a preservative for wood against termite and fungal decay. *International Biodeterioration & Biodegradation*, 65(4), 538-542.
- Mejía Suaza, M. L., Leos Rivera, J. C., Rodríguez Padilla, M. C., Moncada Acevedo, M. E., Ossa Orozco, C. P., Zarate Triviño, D. G.** (2023). "Poly(vinyl alcohol)/Silk Fibroin/Ag-NPs Composite Nanofibers as a Substrate for MG-63 Cells' Growth". *Polymers*, 15(8).
- Menazea, A. A., Ismail, A. M., Awwad, N. S., Ibrahim, H. A.** (2020). "Physical characterization and antibacterial activity of PVA/Chitosan matrix doped by selenium nanoparticles prepared via one-pot laser ablation route". *Journal of Materials Research and Technology*, 9(5), 9598–9606.
- Mirzaie, Z., Reisi-Vanani, A., Barati, M.** (2019). "Polyvinyl alcohol-sodium alginate blend, composited with 3D-graphene oxide as a controlled release system for curcumin". *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 50, 380–387.

- Murphy SV., Atala A.** (August 2014). "3D bioprinting of tissues and organs". *Nature Biotechnology*. 32 (8): 773–785.
- Özdemir, D. G., Evcimen Duygulu, N., Özarlan, A. C., Ciftci, F.** (2024). "Fabrication and characterization of Graphene oxide/Fucoidan/Chitosan reinforced Poly(vinyl alcohol) nanocomposites". *Journal of Molecular Structure*, 1301, 137330.
- Parhi, R.** (2020). "Drug delivery applications of chitin and chitosan: a review". *Environmental Chemistry Letters*.
- Peppas, N. A., & Hoffman, A. S.** (2000). Hydrogels. In *Biopolymers: PVA Hydrogels Anionic Polymerisation Nanocomposites* (pp. 93-123). Springer, Berlin, Heidelberg.
- Ratner, B. D., Hoffman, A. S., Schoen, F. J., & Lemons, J. E.** (2004). *Biomaterials Science: An Introduction to Materials in Medicine*. Elsevier.
- Rezagholizade-shirvan, A., Fathi Najafi, M., Behmadi, H., Masrournia, M.** (2022). "Preparation of nano-composites based on curcumin/chitosan-PVA-alginate to improve stability, antioxidant, antibacterial and anticancer activity of curcumin". *Inorganic Chemistry Communications*, 145.
- Rezagholizade-shirvan, A., Najafi, M. F., behmadi, hossein, Masrournia, M.** (2022). "Design and Synthesis of Novel Curcumin/Chitosan-PVA-Alginate Nanocomposite to Improve Chemico-Biological and Pharmaceutical Curcumin Properties". *SSRN Electronic Journal*.
- Sahoo, S. K., & Labhasetwar, V.** (2003). Biodegradable nanoparticles for cytosolic delivery of therapeutics. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 55(3), 329-347.
- Sanjanwala, D., Londhe, V., Trivedi, R., Bonde, S., Sawarkar, S., Kale, V., & Patravale, V.** (2024). Polysaccharide-based hydrogels for medical devices, implants and tissue engineering: A review.
- Seyfoddin, A., Dezfooli, S. M., & Greene, C. A.** (2019). *Engineering Drug Delivery Systems*. Woodhead Publishing.
- Shefa, A. A., Sultana, T., Park, M. K., Lee, S. Y., Gwon, J. G., Lee, B. T.** (2020). "Curcumin incorporation into an oxidized cellulose nanofiber-polyvinyl alcohol hydrogel system promotes wound healing". *Materials and Design*, 186.
- Srinivasa, P. C., Ramesh, M. N., Kumar, K. R., Tharanathan, R. N.** (2003). "Properties and sorption studies of chitosan-polyvinyl alcohol blend films". *Carbohydrate Polymers*, 53(4), 431–438.
- Supriya Bhatt, S., Thakur, G., Nune, M.** (2023). "Preparation and characterization of PVA/Chitosan cross-linked 3D scaffolds for liver tissue engineering". *Materials Today: Proceedings*.

- Talebian, S., Foroughi, J., Wade, S. J., Vine, K. L., Dolatshahi-Pirouz, A., Mehrali, M., Conde, J., & Wallace, G. G.** (2018). Biopolymers for Antitumor Implantable Drug Delivery Systems: Recent Advances and Future Outlook. *Advanced Materials*, 30(31).
- Taylor, D. L., & in het Panhuis, M.** (2016). Self-healing hydrogels. *Advanced Materials*, 28(41), 9060-9093. Thangapazham, R. L., et al. (2008). Role of growth factors and cytokines in prostate carcinogenesis. *Asian Journal of Andrology*, 10(2), 245-251.
- Tian, S., Zhao, H., & Lewinski, N.** (2021). Key parameters and applications of extrusion-based bioprinting. *Bioprinting*, 23, e00156.
- Tzschentke, T.M.** (2002). Behavioral pharmacology of buprenorphine, with a focus on preclinical models of reward and addiction, *Psychopharmacology* 161 (2002) 1–16.
- Tu, L., Fan, Y., Deng, Y., Hu, L., Sun, H., Zheng, B., ... Zhou, L.** (2023). "Production and Anti-Inflammatory Performance of PVA Hydrogels Loaded with Curcumin Encapsulated in Octenyl Succinic Anhydride Modified Schizophyllan as Wound Dressings". *Molecules*, 28(3).
- Vimala, K., Yallapu, M. M., Varaprasad, K., Reddy, N. N., Ravindra, S., Naidu, N. S., Raju, K. M.** (2011). "Fabrication of Curcumin Encapsulated Chitosan-PVA Silver Nanocomposite Films for Improved Antimicrobial Activity". *Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology*, 02(01), 55–64.
- Wang, T., Turhan, M., & Gunasekaran, S.** (2004). Selected properties of pH-sensitive, biodegradable chitosan–poly(vinyl alcohol) hydrogel. *Polymer International*, 53(7), 911–918. <https://doi.org/10.1002/pi.1461>
- Williams, D. F.** (2008). On the mechanisms of biocompatibility. *Biomaterials*, 29(20), 2941-2953.
- Xu, C. X., Chen, R., Zhen, X., Chen, X., Chen, Z.** 2007, Preparation of PVA-GA-CS / PVA-Fe-SA bipolar membrane and its application in electro-generation of 2,2-dimethyl-3-hydroxypropionic acid, *Journal of Membrane Science*, 307: 218-224.
- Zhang, Y., Rempel, C., & Liu, Q.** (2010). Preparation and properties of PVA-chitosan nanocomposites for drug delivery systems. *Journal of Applied Polymer Science*, 117(4), 2249-2257.