



T.C.

ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

DOKTORA TEZİ



**DAMAR DOKU MÜHENDİSLİĞİ UYGULAMALARI İÇİN
KOLAJEN/POLİMER/ELASTİN MATRİKSİNİN ÜRETİLMESİ**

İhsan BAŞARAN

Kimya Anabilim Dalı

ÇANAKKALE

T.C.
ÇANAKKALE ONSEKİZ MART ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
DOKTORA TEZİ

DAMAR DOKU MÜHENDİSLİĞİ UYGULAMALARI İÇİN
KOLAJEN/POLİMER/ELASTİN MATRİKSİNİN ÜRETİLMESİ

İhsan BAŞARAN

Kimya Anabilim Dalı

Tezin Sunulduğu Tarih: 05/02/2018

Tez Danışmanı:
Doç. Dr. Ayhan ORAL

ÇANAKKALE

İhsan BAŞARAN tarafından Doç. Dr. Ayhan ORAL yönetiminde hazırlanan ve 05/02/2018 tarihinde aşağıdaki jüri karşısında sunulan “**Damar Doku Mühendisliği Uygulamaları için Kolajen/Polimer/Elastin Matriksinin Üretilmesi**” başlıklı çalışma, Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Kimya Anabilim Dalı**’nda **DOKTORA TEZİ** olarak oybirliği/oyçokluğu ile kabul edilmiştir.

JÜRİ

Doç. Dr. Ayhan ORAL

Başkan

Prof. Dr. Şenay ŞANLIER

Üye

Doç. Dr. Sema EKİCİ

Üye

Doç. Dr. Yeliz YILDIRIM

Üye

Yrd. Doç. Dr. Yavuz Emre ARSLAN

Üye

Prof. Dr. Levent GENÇ

Müdür

Fen Bilimleri Enstitüsü

Sıra No:.....

Bu çalışma Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimince Desteklenmiştir. Proje Numarası: FDK-2017-1266

İNTİHAL (AŞIRMA) BEYAN SAYFASI



Bu tezde görsel, işitsel ve yazılı biçimde sunulan tüm bilgi ve sonuçların akademik ve etik kurallara uyularak tarafımdan elde edildiğini, tez içinde yer alan ancak bu çalışmaya özgü olmayan tüm sonuç ve bilgileri tezde kaynak göstererek belirttiğimi beyan ederim.

İhsan BAŞARAN

TEŞEKKÜR

Bu tezin gerçekleŐtirilmesinde, çalıŐmam boyunca benden bir an olsun yardımlarını esirgemeyen saygı değer danışman hocam Doç. Dr. Ayhan ORAL'a, tez izleme komitesi üyeleri Doç. Dr. Sema EKİCİ, Yrd. Doç. Dr. Yavuz Emre ARSLAN ve Yrd. Doç. Dr. Zikriye ÖZBEK'e, bu çalıŐmayı destekleyen Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Bilimsel Araştırma Proje koordinasyon merkezine ve çalışma süresince tüm zorlukları benimle göğüsleyen ve hayatımın her evresinde bana destek olan değerli aileme ve sonsuz teŐekkürlerimi sunarım.

İhsan BAŞARAN
anakkale, Őubat 2018

SİMGELER VE KISALTMALAR

ATRP	Atom transfer radikal polimerizasyonu
DPAP	2,2-dimetoksi-2-fenilasetofenon
DTNB	5,5-ditiyobis (2-nitrobenzoik asit)
EDC	1-etil-3-[3-dimetilaminopropil] karbodiimit
ESCA	X-ışını fotoelektron ile kimyasal analiz
FTIR	Fourier dönüşümlü kızıl ötesi
HEMA	Hidroksietilmetakrilat
HFIP	1,1,1,3,3,3-Hekzafloro-2-izopropanol
iPT	Titanyum(IV) izopropoksit
JEL-KOL-ELA	Jelatin-kolajen-elastin nanolifi
JEL-KOL-ELA-PCL	Halka açılması polimerleşmesi ile PCL aşılınmış JEL-KOL-ELA
JEL-KOL-ELA-SH	Tiyol modifiyeli jelatin-kolajen-elastin nanolifi
JEL-KOL-ELA-S-PCL	Tiyol-en reak. ile PCL aşılınmış JEL-KOL-ELA nanolifi
JEL-PCL	Halka açılması polimerleşmesi ile PCL aşılınmış Jelatin nanolif
JEL-SH	Tiyol modifiyeli jelatin
JEL-S-PCL	Tiyol-en Foto-klik reaksiyonu ile elde edilmiş Jelatin-PCL yapısı
NHS	N-hidroksi süksinamid
NIPAM	N-izopropilakrilamid
NMR	Nükleer manyetik rezonans
PAA	poli (akrilik asit)
PCL	poli (ϵ -kaprolakton)
PCL-Vin	Vinil fonksiyonelli poli (ϵ - kaprolakton)
PEO	poli (etilen oksit)
PET	poli (etilentetrafitalat)
PGA	poli (glikolik asit)
PHBV	poli (3-hidroksibütirat-ko-3-hidroksivalerat)
PLA	poli (laktik asit)
PLGA	poli (laktik asit-ko-glikolik asit)
PMMA	poli (metilmetakrilat)
PP	poli-propilen

PTFE	poli (tetrafloroetilen)
PU	poli-üretan
SEM	Taramalı elektron mikroskobu
XPS	X-ışını fotoelektron spektroskopisi



ÖZET

DAMAR DOKU MÜHENDİSLİĞİ UYGULAMALARI İÇİN KOLAJEN/POLİMER/ELASTİN MATRİKSİNİN ÜRETİLMESİ

İhsan BAŞARAN

Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Kimya Anabilim Dalı Doktora Tezi

Danışman : Doç. Dr. Ayhan ORAL

05/02/2018, 92

Bu tez çalışmasında, son yıllarda damar doku mühendisliği uygulamalarında kullanılan kolajen/elastin/poli (ϵ - kaprolakton) kovalent bağlı matriksi, literatürde bulunan geleneksel yöntemler (plazma muamelesi, aminoliz gibi ön işlemler) ve çapraz bağlayıcı kullanılmadan üretilmiştir. Bu amaç için, özgün iki farklı yöntem kullanılmıştır. Bunlardan bir tanesi poli (ϵ - kaprolakton) (PCL)'un kolajen ve elastin içeren nanoliflerin yüzeyinden, ϵ -kaprolakton monomerinin halka açılması polimerizasyonunun başlatılması ile aşılmasıdır. Bu yöntem için öncelikle elektroğirme işlemi ile kolajen elastin içeren nanolif yapıları hazırlanmıştır. Daha sonra, titanyum(IV) izopropoksit ile kolajen ve elastin üzerindeki serbest amin grupları polimerizasyon başlatıcısı olarak kullanılmıştır ve poli (ϵ - kaprolakton) nanolif yüzeyine aşılmasıdır. Nanolifler ve üzerine aşılana PCL, taramalı elektron mikroskobu (SEM) ve enerji dağılımlı x-ışını analizleri (EDX) ile belirtilmiştir. Kimyasal yapının doğrulanmasında Fourier dönüşümlü kızıl ötesi (FTIR) spektroskopisi ve raman spektroskopisi kullanılmıştır. Malzemenin hidrofilitik derecesinin belirlenmesi için su temas açısı (WCA) analizi yapılmıştır. kolajen-elastin-PCL matriksinin hazırlanması için kullanılan diğer yöntem ise proteinlerin tiyol fonksiyonelli hale getirilmesi ve PCL'un vinil fonksiyonelli olarak sentezlenmesinden sonra tiyol-en foto klik reaksiyonu ile blok kopolimerin oluşturulmasıdır. Hazırlanan vinil fonksiyonelli ve tiyol fonksiyonelli makromoleküllerin kimyasal yapıları, FTIR ve ¹HNMR ile doğrulanmıştır. Reaksiyon sonrasında elde edilen blok kopolimer yapısı ise raman spektroskopisi ile belirlenmiştir.

Anahtar sözcükler: Biyopolimer Nanolif, Halka Açılması Polimerleşmesi, Aşı Ko-olimer, Tiyol-en Foto-Klik, Doku Mühendisliği, Elektroğirme

ABSTRACT

PRODUCTION OF COLLAGEN/POLYMER/ELASTIN MATRIX FOR VASCULAR TISSUE ENGINEERING APPLICATIONS

İhsan BAŞARAN

Çanakkale Onsekiz Mart University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Doctoral Dissertation in Chemistry

Advisor : Asst. Prof Dr. Ayhan ORAL

05/02/2018, 92

In this thesis, covalently bonded collagen/elastin/poly(ϵ -caprolactone) matrix which used efficiently in vascular tissue engineering in recent years, was prepared without using the conventional methods (pretreatments such as plasma treatment, aminolysis) found in the literature. Two different methods were used for his purpose. One of these method is grafting the poly(ϵ -caprolactone) (PCL) via initiating the ring opening polymerization on the surface of nanofibers containing collagen and elastin. Firstly, collagen and elastin containing nanofibers were prepared via electrospinning process for this method. Then Ti(IV) isopropoxide and free amine groups on the collagen and elastin were used as initiators of ring opening polymerization of ϵ -caprolactone and PCL was grafted onto nanofiber surface. The nanofibers and grafted PCL were indicated by scanning electron microscopy (SEM) and energy dispersive x-ray (EDX) analysis. Fourier transformed infrared (FTIR) and Raman spectroscopy were used for confirming the chemical structures. Water contact angle measurements were made for determining the degree of hydrophilicity of the material. The other method used for preparing collagen/elastin/PCL matrix is to the applying thiol-ene photo-click reaction between thiolated proteins and vinyl-modified PCL. Chemical structures of the prepared vinyl-modified PCL and thiolated macromolecules were confirmed via FTIR and ^1H NMR analysis. Then the chemical structure of the block copolymer was verified by Raman spectroscopy.

Keywords: Biopolymer, Ring-Opening Polymerization, Graft Co-polymer, Thiol-ene Photo-Click, Tissue Engineering, eElectrospinning

İÇİNDEKİLER

Sayfa No

TEZ SINAVI SONUÇ FORMU.....	ii
İNTİHAL (AŞIRMA) BEYAN SAYFASI.....	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR	v
ÖZET	vii
ABSTRACT.....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	xii
ÇİZELGELER DİZİNİ	xv
BÖLÜM 1	
GİRİŞ	1
1.1. Damar Doku Mühendisliği.....	1
1.2. Damar Doku Mühendisliğinde Kullanılan Biyobozunur Polimerler ve İskele Yapılar	2
1.2.1. PGA ve PLA.....	3
1.2.2. Poli (ϵ -Kapolakton).....	5
1.2.3. Kolajen	7
1.2.4. Elastin	9
1.3. Hücre Dışı Matriks Proteinleri ile Sentetik Polimerden Oluşan Hibrid Yapıların Hazırlanması için Kullanılan Yöntemler	10
1.4. Klik Reaksiyonları	14
1.4.1. Tiyol-en Klik Reaksiyonları	15
BÖLÜM 2	
ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR	17
2.1. ϵ -Kapolakton'un Halka Açılması Polimerizasyonunun Amin veya Hidroksil Grubu İçeren Bileşikler ile Başlatıldığı Çalışmalar	17
2.2. Kolajen ve Benzeri Hücre Dışı Matriks Proteinlerinin Sentetik Polimerler ile Blok Kopolimerinin Hazırlanması ile İlgili Çalışmalar	23
BÖLÜM 3	
MATERYAL VE YÖNTEM.....	32
3.1. Materyal	32
3.2. Deneysel Yöntemler.....	33
3.2.1. Jelatin-PCL Ve Jelatin-Kolajen-Elastin-PCL Blok Kopolimerinin Jelatin Nanolif Yüzeyi Üzerinden Başlatılan Halka Açılması Polimerizasyonu ile Hazırlanması.....	33
3.2.1.1. Jelatin Nanoliflerin Elektroğirme Yöntemiyle Hazırlanması	33
3.2.1.2. Jelatin-Kolajen-Elastin Nanoliflerin Elektroğirme Yöntemiyle Hazırlanması	34

3.2.1.3. Nanolif Yüzeyinden ϵ - Kaprolaktonun Halka Açılması Polimerizasyonu ile Jelatin Poli (ϵ - Kaprolakton) Aşılı Kopolimerinin Hazırlanması	35
3.2.2. Tiyol-en Klık Reaksiyonu ile PCL/Jelatin ve Jelatin-Kolajen-Elastin/PCL Yapılarının Hazırlanması.....	38
3.2.2.1. Tiyol Fonksiyonelli Jelatin Hazırlanması	38
3.2.2.2. Tiyol Fonksiyonelli Jelatin-Kolajen-Elastin Nanolifinin Hazırlanması	38
3.2.2.3. Vinil Modifiyeli PCL'nin Hazırlanması	39
3.2.2.4. Tiyolleme Reaksiyonlarının Ellman Testi ile Doğrulanması	39
3.2.2.5. Tiyol-en Foto Klık Reaksiyonu	39
3.3. Karakterizasyon Metodları	40
3.3.1. Taramalı Elektron Mikroskopu (SEM) Analizi.....	40
3.3.2. Enerji Dağılımlı X-Işını (EDX) Analizi	40
3.3.3. Fourier Dönüşümlü Kıızıl Ötesi (FTIR) Analizi	40
3.3.4. Raman Spektrum Analizi	41
3.3.5. Nükleer Manyetik Rezonans (NMR) Analizi.....	41
3.3.6. Termogravimetrik Analiz (TGA)	41
3.3.7. Su Temas Açısı Analizi	41
3.3.8. Çözünme Testi.....	41
BÖLÜM 4	
ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA	42
4.1. Nanolif Yüzeyi Üzerinden Başlatılan Halka Açılması Polimerizasyonu ile Hazırlanan Jelatin-PCL Blok Kopolimerleri.....	42
4.1.1. SEM ve EDX analizi ile Yüzeydeki PCL analizi.....	42
4.1.2. Üretilen JEL-PCL'nin FTIR ile Kimyasal Yapısının Karakterize Edilmesi	53
4.1.3. Üretilen JEL-PCL'nin Raman Spektrometresi ile Kimyasal Yapısının Karakterize Edilmesi	54
4.1.4. Suda Çözünürlük Testi	56
4.1.5. Su Temas Açısı Analizi	57
4.1.6. Termogravimetrik Analiz (TGA)	58
4.2. Nanolif Yüzeyi Üzerinden Başlatılan Halka Açılması Polimerizasyonu ile Hazırlanan Jelatin-Kolajen-Elastin-PCL Blok Kopolimerleri	60
4.2.1. Üretilen JEL-ELA-KOL-PCL'nin Raman Spektrometresi ile Kimyasal Yapısının Karakterize Edilmesi.....	60
4.2.2. Su Temas Açısı Analizi	63
4.2.3. Suda Çözünürlük Testi	64
4.2.4. Termogravimetrik Analiz (TGA)	65
4.3. Tiyol-en Foto Klık Reaksiyonu ile Jelatin-PCL Blok Kopolimerinin Hazırlanması ve Karakterizasyonu.....	66
4.3.1. Tiyol Fonksiyonelli Jelatinin Hazırlanması.....	66

4.3.2. Vinil fonksiyonelli PCL'nun Sentezlenmesi	69
4.3.3. PCL-Vin'in ¹ HNMR ile Karakterizasyonu	70
4.3.4. Tiyollenmiş proteinler ile Vinil Fonksiyonelli PCL'nun Tiyol-en Foto Klik Reaksiyonu	71
4.3.5. Tiyol-en Foto Klik Reaksiyonu ile Elde Edilen Jelatin-PCL Blok Kopolimerinin FTIR Spektrumu ile Analizi	73
4.3.6. Tiyol-en Foto Klik Reaksiyonu ile Elde Edilen Jel-KOL-ELA-PCL Blok Kopolimerinin Raman Spektrumu ile Analizi	74
4.3.7. Suda Çözünme Testi.....	75
BÖLÜM 5	
SONUÇ VE ÖNERİLER.....	77
KAYNAKLAR	80
ÖZGEÇMİŞ	I



ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 1.1. PGA'nın (a) glikolik asitten polikondenzasyonla ve (b) glikolitten halka açılması polimerizasyonu ile sentezlezi	3
Şekil 1.2. PLA'nın iki farklı yöntem ile polimerizasyonuna ait tepkimeler (Referans Mehta ve ark., 2015 alındı)	4
Şekil 1.3. ϵ - kaprolaktonun metal alkoksit varlığında (a) amin ve (b) alkol ile halka açılması polimerizasyon reaksiyonu	6
Şekil 1.4. Kolajen yapısındaki X-Y-Glisin tekrarlanan birimi	8
Şekil 1.5. Kolajenin üçlü sarmal yapısı ve alfa zincirlerinin Gly-Pro-Hyp tekrarlanan birimi ile kimyasal yapısının gösterimi	8
Şekil 1.6. Polimer-kolajen hibrit yapılarının ozon, plazma ve gama ışını ön işlemleri ile hazırlama yöntemleri	13
Şekil 1.7. Polimer-Kolajen hibrit yapılarının hazırlanmasında kullanılan diğer yöntemler	14
Şekil 1.8. Serbest radikal yöntemi(a) ve katalizör kullanılan yöntem (b) ile tiyol-en reaksiyonu	15
Şekil 1.9. İdeal serbest radikalik tiyol-en klik reaksiyonu (Referans Hoyle ve Bowman, 2010'dan alındı)	16
Şekil 2.1. Hidroksil grubu içeren siklofosfozen sentezi ve yıldız şeklinde PCL hazırlanması (Referans Yuan ve ark., 2005'den alındı)	17
Şekil 2.2 ϵ -kaprolaktonun ve trimetil karbonatın etil glukozit ile halka açılması polimerizasyonu (Referans Bisht ve ark., 1998'den alınmıştır)	18
Şekil 2.3. Kitin yüzeyinden başlatılan halka açılması polimerizasyonu (Referans Setoguchi ve ark., 2012'dan alınmıştır.)	18
Şekil 2.4 Polipropilen yüzeyinde başlatılan halka açılması polimerizasyonu ile PCL aşılması reaksiyonu (Referans Sui ve ark., 2007'den alınmıştır.)	19
Şekil 2.5 Hidroksi modifiyeli çok duvarlı karbon nanotüp sentezi ve nanotüp yüzeyinden başlatılan halka açılma polimerizasyonu (Referans Zhou ve ark., 2013'den alınmıştır)	20
Şekil 2.6. kolin molekülü ile ϵ -kaprolaktonun halka açılma polimerizasyonu ile PCL sentezi (Referans Sobczak 2012'den alınmıştır)	20
Şekil 2.7.Çekirdek olarak poli(amidoamin)'in kol olarak PCL'nun oluşturduğu çok kollu yıldız kopolimerinin halka açılması polimerizasyonu ile üretilmesi reaksiyonu (Referans Zhan ve ark., 2015'den alınmıştır)	21
Şekil 2.8. Amino asitlerin halka açılması polimerizasyonu ve başlatma mekanizması (Referans Oledzka ve ark., 2011'den alınmıştır)	22
Şekil 2.9. Paira ve ark.,'nın farklı peptidler ile (A), Motala-Timol ve ark.'nın polilisin ile yaptıkları halka açılması polimerizasyonu ve son ürünler	22
Şekil 2.10. Propargil aminden çok amin fonksiyonelli alkin içeren başlatıcı sentezi (A), amin grupları üzerinden ϵ -kaprolaktonun halka açılması polimerizasyonu (B) ve azid fonksiyonelli PEO ile Klik reaksiyonu sonucunda PCL-PEO blok kopolimerinin reaksiyonu (Referans Hua ve ark., 2018'den alınmıştır.)	23
Şekil 2.11. Ar plazma yöntemi ile silikon kauçuk üzerine PAA aşılması ve daha sonra karbodiimid ile kolajen immobilizasyonu (Referans Lee ve ark., 1996'dan alınmıştır)	24
Şekil 2.12. PAA aşılmalı PET yüzeyine bağlanan kolajenin SEM görüntüsü (sağda) ve kolajen ile etkileştirilmemiş kontrol numunesi (solda) (büyütme oranı x4000). (Referans Bisson ve ark., 2002'den alınmıştır)	25
Şekil 2.13. PU üzerine aşılmalı PAA ve kolajen (Referans Van Wachem ve ar., 2002'den	

alınmıştır).....	26
Şekil 2.14 Gama ışınından yararlanılarak PLA üzerine tek basamakta PAA ve kolajenin kovalent bağlanması (Referans Yang ve ark., 2003'den alınmıştır).....	27
Şekil 2.15. Aminoliz reaksiyonu ile hazırlanan PLA film üzerine glutaraldehit ile kolajen immobilizasyonu (Referans Tan ve ark. 2008'den alınmıştır).....	28
Şekil 2.16. PHBV filminin aminoliz reaksiyonu ve sonrasında glutaraldehit ile kolajenin bağlanması reaksiyonu (Referans Wang ve ark., 2009a'dan alınmıştır)	29
Şekil 2.17. Amit modifiye PHBV hazırlanması, amit gruplarının amine indirgenmesi ve kolajen immobilizasyonu (Referans Wang ve ark., 2009c'den alınmıştır)	30
Şekil 2.18. polimer yüzeyinin CDI ile aktive edilmesi ve sonrasında kolajenin kovalent olarak bağlanması reaksiyonu (Referans Yan ve ark., 2010'dan alınmıştır.)	30
Şekil 2.19. PCL yüzeyinin bromlaması üzerine ATRP reaksiyonu ile NIPAM ın polimerizasyonu ve sonrasında kolajen immobilizasyonu (Referans (Xu ve ark., 2011'den alınmıştır.).....	31
Şekil 3.1. Jelatin elektroçirme çözeltisinin hazırlanması.....	33
Şekil 3.2. (A) Deneylede kullanılan elektroçirme cihazı ve (B) jelatin nanolifi üretimindeki elektroçirme parametreleri şekilsel gösterimi	34
Şekil 3.3. Jelatin-kolajen-elastin elektroçirme çözeltisinin hazırlanmasının şematik gösterimi	35
Şekil 3.4. Aşı polimerizasyon reaksiyon düzeneği	37
Şekil 4.1. Jelatin nanolifin hazırlanması ve halka açılması polimerizasyonu ile nanolif yüzeyine PCL bağlanması.....	42
Şekil 4.2. Hazırlanan jelatin nanoliflerinin SEM görüntüleri.....	43
Şekil 4.2.'nin devamı	44
Şekil 4.3. JEL-PCL-1sa'ın SEM görüntüleri.....	45
Şekil 4.3.'ün devamı	46
Şekil 4.4. JEL-PCL-2sa'ın SEM görüntüleri	47
Şekil 4.4.'ün devamı	48
Şekil 4.5. JEL-PCL-4sa'ın SEM görüntüleri.....	48
Şekil 4.5.'in devamı	49
Şekil 4.5.'in devamı	50
Şekil 4.6. JEL-PCL-24sa'ın SEM görüntüleri.....	51
Şekil 4.6.'nın devamı	52
Şekil 4.7. JEL-PCL-1sa üzerindeki PCL ve jelatine ait 3 farklı bölgedeki EDX spektrumları ve SEM görüntüsü	53
Şekil 4.8. PCL, jelatin nanolif ve JEL-PCL'ye ait FTIR spektrumları	54
Şekil 4.9. Üretilen JEL-PCL'nin Ramam spektrumu	56
Şekil 4.10. Jelatin nanolifin suya daldırılmadan önceki (a) ve sonraki (b) hali ile JEL-PCL'nin suya daldırmadan önceki (c) ve sonraki hali (d).....	57
Şekil 4.11. PCL, saf jelatin ve JEL-PCL'ye ait su temas açısı sonuçları	58
Şekil 4.12. Jelatin, PCL, JEL-PCL'nin (a) TGA ve (b) dTG eğrileri.....	59
Şekil 4.13. JEL-KOL-ELA-PCL'nin halka açılması polimerizasyonu ile hazırlanması.....	60
Şekil 4.14. JEL-KOL-ELA nanolifinin konfokal mikroskop görüntüsü ve raman spektrumu	61
Şekil 4.15. JEL-KOL-ELA-PCL nanolifinin konfokal mikroskop görüntüsü ve raman spektrumu.....	62
Şekil 4.16. JEL-KOL-ELA nanolifin reaksiyondan önce PCL aşılandıktan sonraki raman spektrumları	62
Şekil 4.17. Cam yüzeyine kaplanmış numunelerin su temas açıları.....	63
Şekil 4.18. Direk nanolif ve PCL aşılantmış nanolif yüzeyi üzerine su damlatıldığında elde	

edilen temas açısı sonuçları	64
Şekil 4.19. Çözünürlük testi fotoğrafları	65
Şekil 4.20. JEL-KOL-ELA malzemesine ait TGA ve dTG diagramları	66
Şekil 4.21. Jelatinin tiyollenme reaksiyonu	67
Şekil 4.22. JEL-SH'ın Ellman reaktifi ile reaksiyonu ve renk değişimleri	67
Şekil 4.23. JEL-KOL-ELA ve ellman testi yapıldıktan sonraki molekülün ¹ HNMR spektrumları	69
Şekil 4.24. Vinil fonksiyonelli PCL sentezi	70
Şekil 4.25. Vinil fonksiyonelli PCL'nin proton NMR spektrumu.....	71
Şekil 4.26. Tiyol-en foto klik reaksiyonu ile JEL-S-PCL sentezinin şekilsel gösterimi	72
Şekil 4.27. Saf jelatin ve JEL-S-PCL'in FTIR spektrumları	73
Şekil 4.28. JEL-KOL-ELA nanolifinin ve tiyol-en reaksiyonundan sonraki malzemenin (JEL-KOL-ELA-S-PCL) Raman spektrumları	75
Şekil 4.29. Tiyol-en klik reaksiyonu ile hazırlanan JEL-KOL-ELA-S-PCL'nin suda çözünme testi	76



ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa No

Çizelge 1. Kullanılan kimyasallar ve özellikleri.....	32
Çizelge 3.2. Örnek kodları, kullanılan madde miktarları ve reaksiyon koşulları tablosu....	37
Çizelge 4.1. TGA ve dTG eğrilerinden elde edilen bozunma verileri.....	60



BÖLÜM 1

GİRİŞ

1.1. Damar Doku Mühendisliği

Son dönemdeki ölümlerin büyük bir kısmının sebebi kardiyovasküler hastalıklar olduğu ortaya çıkmıştır. Bu kardiyovasküler hastalıklara ise, damar sertliği olarak da bilinen arterioskleroz durumu yani kalbi besleyen arterlerin duvarının kalınlaşması ile kan akışının azalması ve sonrasında o bölgedeki akışın kaybedilmesi olayı neden olmaktadır(McClure ve ark., 2011). Tıpta bu tür durumla karşılaşıldığında, kan akışının tekrar sağlanması amacıyla, hastanın açık olan kendi damarlarından biri (genellikle periferik damar veya göğüs atardamarı) eklenerek baypas ameliyatı gerçekleştirilmektedir. Fakat bu operasyonun, hastanın kendi damarının uygun olmaması, nakil gerçekleştirildikten sonra eski damarın olduğu yerde muhtemel bir hastalık oluşabilmesi, hastanın bu ameliyat ile hasta kalma süresinin uzaması gibi nedenlerden dolayı her zaman iyi bir tercih olmadığı düşünülmüştür(Rosamond ve ark., 2008). Bu nedenle, poli(tetrafloroetilen) (PTFE), poli(etilentetraftalat) (Dacron) ve poliüretan (PU) sentetik polimerleri kullanılarak, gerçek damar ile yer değiştirebilecek yapılan yapay damarlar üretilmiştir. Daha sonra yapılan araştırmalar sonucunda, bu sentetik polimerlerden yapılan yapay damarların, trombosit oluşturması, uyuşmazsızlık sorunlarına yol açması baypas ameliyatında kullanılan 6mm'den daha küçük iç çapa sahip olan bu arterlerin yerini tutması için uygun olmadığı kanısına varılmıştır(Ravi ve Chaikof, 2010). Biyobozunur olmayan PTFE, PET ve PU ile ancak orta ve geniş çaplı yapay damar üretilmediği gibi biyobozunur olmaması ve doğal damar rejenerasyonuna ortam sağlayamaması nedeniyle metabolizmada kalıcı bir protez halinde kullanılması gerektiği anlamına gelmektedir. Metabolizmada kalıcı yabancı bir madde çoğunlukla insan vücudunun tepkisine ve bakteriyel enfeksiyonlara maruz kalır. Tüm bu durumlar göz önünde bulundurulduğunda yapay damar üretilen malzemede öncelikli olarak aranan kriterler belirlenmiştir(Thomas ve ark., 2003; McClure ve ark., 2011)Bu temel kriterler şöyle özetlenebilir:

- Cerrahların ellerinde kolaylıkla tutabilmesi, çok iyi dikiş tutma özelliğine sahip olması, esnekliğini koruyarak eğilme ve bükülmelerden etkilenmemesi gerekmektedir,
- Biyouyumlu olması ve bunun yanı sıra toksik ve trombojenik etkisi olmayan, enfeksiyona dayanıklı bir karakteristiği olmalı
- İyileşme süresince İnflamasyona (iltihap), hiperplaziye (hücrelerin anormal

çoğalması) neden olmamalı,

- Sızdırmaz olmasının yanı sıra otolog dokunun büyümesine olanak verecek boşluklu yapıya da sahip olmalı
- Dolaşımın yarattığı baskıya dayanacak mekanik güce sahip olmalı
- Son olarak da üretilmesi, sterilize edilmesi, saklanması kolay olmalı, ekonomik olmalı ve istenilen boyut ve şekilde ayarlanılabilecek şekilde kullanıma hazır olmalıdır(McClure ve ark., 2011; Cleary ve ark., 2012; Abruzzo ve ark., 2014; Hasan ve ark., 2014; Jaspán ve Hines, 2015; Ren ve ark., 2015).

Damar doku mühendisliği alanında, hem doğal damarın yerini alabilecek yeterli fiziksel özelliklere sahip olan hem de aşılandığı yerde iltihaba, anormal hücre büyümesi ve pıhtılaşmaya yol açmadan damar dokusunun rejenarasyonuna ortam sağlayan iskele yapılar üretilerek incelenmiştir. İlk üretilen PTFE ve Dacron yapay damarlarına endotelial hücre ve fibronektin ekilmesi ile hücre tutunması ve rejenarasyonu arttırılsa da mekanik olarak yine de yeterli olmadığı görülmüştür(Herring ve ark., 1979). İlerleyen çalışmalarda biyobozunur olmayan polimerlerin yerine biyobozunur polimerler kullanılması öne çıkmaktadır. Bunun nedeni de polimerik malzemenin iyileşme sürecinden sonra kaybolması ve yerinde yalnızca yeni oluşan damar dokunun kalıyor olmasıdır. Böylece hem vücutta yabancı bir madde kalmamış olmakta hem de gerekli damar dokusu sağlanmaktadır(Xue ve Greisler, 2003).

1.2. Damar Doku Mühendisliğinde Kullanılan Biyobozunur Polimerler ve İskele Yapılar

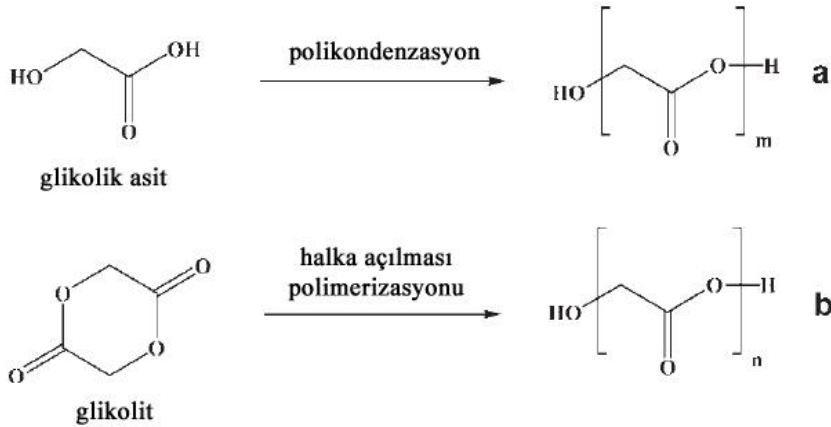
Son yıllarda, biyobozunur polimerlerin sentezi ve özellikleri üzerine yapılan çalışmalar ve geliştirmelerin artması, medikal alanda kullanımını da hızla yaygınlaşmasına neden olmuştur(Park ve ark., 2017). Biyobozunur polimerlerin belli bir süre içerisinde hiç bir toksik yan ürün bırakmadan monomer birimlerine parçalanması ve bu birimlerin vücut tarafından absorbe ediliyor olması medikal alanda kullanılması için oldukça uygun olduğu kanısına varılmıştır. Ayrıca gerekli modifikasyonların yapılması veya kopolimerlerin hazırlanması ile mekanik özellikleri ve bozunma sürelerinin ayarlanması da mümkün olmaktadır. Bu avantajlar göz önünde bulundurularak damar doku mühendisliği uygulamaları için biyobozunur polimerler ve doğal biyopolimerler kullanılarak çalışmalar yürütülmüştür(Amass ve ark.,1998).

Bu alanda en çok kullanılan sentetik biyopolimerler arasında poli(glikolik asit) (PGA),

poli(laktik asit) (PLA), poli(ϵ -kaprolakton) (PCL) bulunmaktadır(McClure ve ark.. 2011).

1.2.1. PGA ve PLA

PGA, camsı geçiş sıcaklığı 35-40°C arasında, erime noktası 225-230°C arasında ve % kristallinitesi %45-55 arasında olan alifatik bir poliesterdir. PGA glikolik asidin polikondenzasyon reaksiyonu veya halkalı dimeri glikolidin halka açılması polimerizasyonu ile sentezlenmektedir(Matsumura ve ark., 2008).

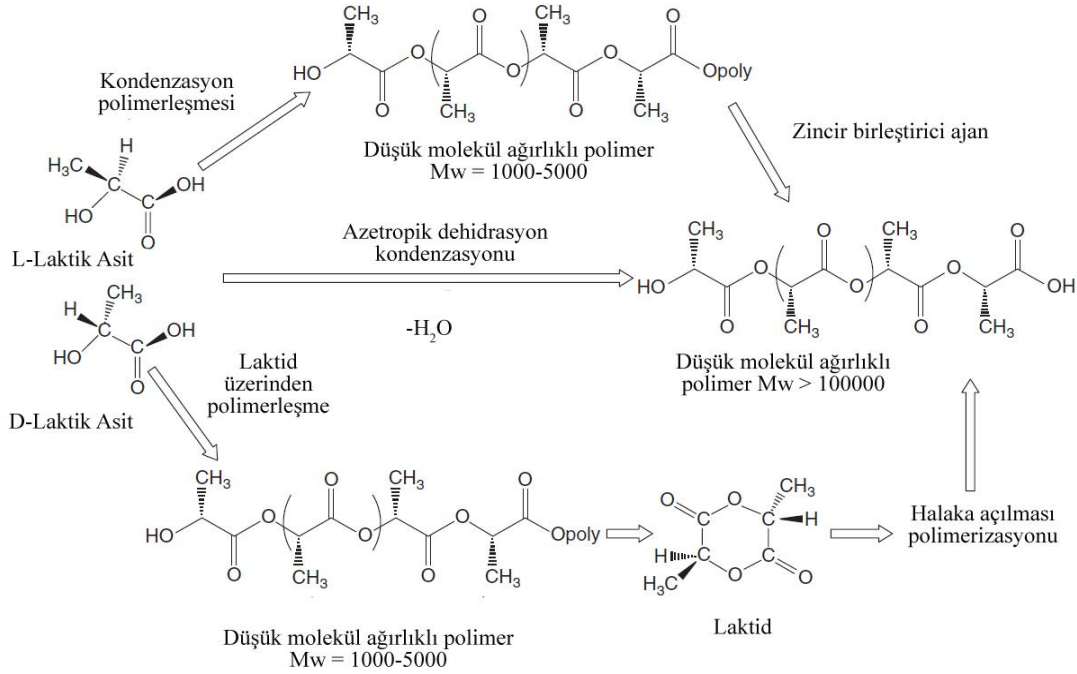


Şekil 1.1. PGA'nın (a) glikolik asitten polikondenzasyonla ve (b) glikolitten halka açılması polimerizasyonu ile sentezlezi

PGA metabolizmada, ester bağlarının hidrolizi ile monomer birimi glikolik asite parçalanarak bozunur ve sonrasında su ve karbondioksit olarak vücutta elimine olur. In vivo ortamda PGA bozunurken özelliklerini kaybetmeye 4 hafta içinde başlar ve tamamen bozunması yaklaşık 6 ay sürmektedir.(Mooney ve ark., 2006).

Damar eşdeğeri olarak kullanılması için PGA ile ilk çalışmalar 1983 yılında yapılmıştır ve deneyler sonucunda yapının damar doku iskelesi için biyouyumlu ve bioabsorblanır uygun yapıda olabileceği açıklanmıştır(Lauritzen 1983). Bunun üzerine, daha sonra PGA ile bu alanda daha fazla çalışma yapılmıştır. Polimerik malzeme olarak PGA'nın kullanıldığı bu çalışmalarda oluşan yapıların hücre aktiviteleri için iyi özellikte fakat mekanik özelliklerinin gerçek damara göre düşük olduğu söylenmiştir(Niklason, 1999; Prabhakar ve ark., 2003; Boland ve ark., 2004). Daha sonra PGA ile PCL birlikte kullanıldığında istenilen mekanik özelliğe yaklaşılmıştır(Iwasaki ve ark., 2008).

PLA, camsı geçiş sıcaklığı 55-60oC, erime sıcaklığı 180oC civarında ve yaklaşık kristalinite oranı %37 olan biyobozunur alifatik bir poliesterdir. Farklı molekül ağırlıklarına sahip PLA polimeri, laktik asit monomerinden polikondenzasyon ile veya halkalı dimeri laktidin halka açılması polimerizasyonu olarak iki farklı yöntem ile sentezlenebilmektedir(Mehta ve ark., 2005).



Şekil 1.2. PLA'nın iki farklı yöntem ile polimerizasyonuna ait tepkimeler (Referans Mehta ve ark., 2015 alındı)

PLA'nın damar doku mühendisliği alanındaki ilk çalışmaları 80'li yıllarda damar protezin kaplaması ve biyobozunur damar protezi üretilmesi ile başlamıştır(Lommen ve ark., 1983; van der Lei ve ark., 1985, 1987). Sonraki yıllarda, kolajen de içeren boru şeklindeki iskele yapı üretilirken, bu iskelenin bir tabakası olarak PLA lifleri kullanılmış ve hücre kültürü çalışmalarında yumuşak kas dokusu oluşumu başarılı olduğu görülmüştür. Bu yapıda elektroğirilmiş lif yapıdaki PLA kullanılması, araştırmacıları bu alandaki çalışmalarını daha çok PLA liflerinden oluşan iskeleler kullanmaya yönlendirmiştir. Daha sonra 2009 yılında Wang ve ark., iç tabakasını silk fibrinon-jelatin ve dış tabakası PLA'dan oluşan boru şeklinde ve damar doku mühendisliğine uygun elektroğirilmiş nanolif iskele yapı hazırlamışlardır(Wang ve ark., 2009b).

PLA ve PGA karşılaştırıldığında, PGA biyomühendislik alanında kullanılmadan

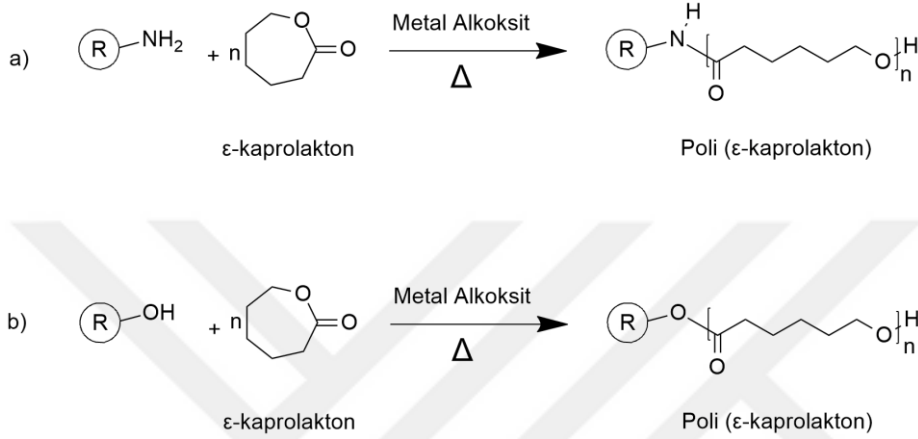
önce gerekli yüzey modifikasyonlara ihtiyaç duyulurken PLA tabanlı materyallerin yüzey modifikasyona gerek olmadan direkt kullanılabilirdiği saptanmıştır. Bu yeterliliğe rağmen ilerleyen zamanlarda yapılan denemeler sonucu, PLA üzerine bu tür modifikasyonlar uygulandığında çok daha uyumlu biyobozunur damar iskele yapıları elde edildiği sonucu ortaya çıkmaktadır. Örneğin bu amaçla PLA filmleri yüzeyine jelatin/N-maleik asit – kitosan aşılansarak iskele hazırlandığında, damar doku mühendisliği için denemelerinde saf PLA'ya göre daha olumlu sonuçlar vermiştir(Zhu ve ark., 2009).

Biyobozunur damar doku mühendisliğinde yeni ve farklı özelliklerde iskele yapılar hazırlamak üzere PLA ve PGA birlikte kullanılmıştır ve bu çalışmalarda PLA ve PGA blend olarak (PLA/PGA) ya da kopolimer (poli (laktik asit-ko-glikolik asit) (PLGA) şeklinde yer almaktadır. Bu biyobozunur polimerler damar iskele yapıları faydalı materyaller olmuştur(Izhar ve ark., 2001; Mooney ve ark., 2006; Wen ve ark., 2007). Elde edilen olumlu sonuçlara rağmen, bu iki maddenin kullanımı bazı önemli dezavantajları olduğu belirlenmiştir. Hem PLA hem de PGA sert malzemelerdir ve gerçek arterlerden oldukça farklıdır bu yüzden hiperplaziye neden olma riski taşımaktadır. Ayrıca PGA çok hızlı bozunan bir biyobozunur polimerdir ve anevrizmaya ya da yırtılmalara yol açması bakımından risklidir(McClure ve ark., 2011).

1.2.2. Poli (ϵ -Kapolakton)

PCL, camsı geçiş sıcaklığı yaklaşık -60°C , erime sıcaklığı 50°C ve kristalin yüzdesi %40-50 civarında olan yarı kristal biyobozunur bir alifatik poliesterdir(Pego ve ark., 2003; Wu ve ark., 2009; Tinajero-Díaz ve ark., 2014; Assaf ve ark., 2017). PCL, ϵ -kapolaktonun uygun bir başlatıcı ile halka açılması polimerizasyonu üzerinden sentezlenir. Elde edilen PCL kullanılan başlatıcı cinsi miktarı, reaksiyon koşulları, reaksiyon süresi gibi etkenlere bağlı olarak farklılık göstermektedir. Başlatıcı olarak organometalik bileşikler ve yaygın olarak da alüminyum, kalay, magnezyum, çinko, titanyum alkoksitlerin kullanılır(Yu ve ark., 2005). Metal alkoksitler kullanıldığında halka açılması polimerizasyonunu başlama basamağı türü (coordination-insertion) nedeniyle diğer organometalik başlatıcılara (metal oksit, metal karboksilat gibi) göre son ürün olarak daha yüksek molekül ağırlıklı PCL elde edilmektedir. Metal alkoksitlerin halka açılması polimerizasyonunda bağlı reaktivite sırası ise şöyle belirtilmiştir: $\text{Sn} > \text{Ti} > \text{Zn} > \text{Al}$ (Sattayanon ve ark., 2015). Bunun yanı sıra, ϵ -kapolaktonun halka açılması polimerizasyonunda, bir metal alkoksit ile birlikte alkol (R-OH) veya amin (R-NH₂) grubu

içeren bir bileşik kullanıldığında R-NH₂ veya R-OH grubu ko-başlatıcı görevi yaparak halka açılması polimerizasyonu başlatır ve her bir polimer zinciri sonunda kalır (Şekil 3.)(Storey ve Sherman, 2002). Reaksiyon mekanizmasına ilişkin yapılan çalışmalarda kalay (II) oktoat ile etkileşen R-OH alkoldeki R-O ile Oct-Sn-OR 'ye dönüştüğü ve daha sonra halka açılması polimerizasyonunu başlattığı. Benzer durum R-NH₂ kullanıldığında da görülmüştür(Kowalski ve ark., 2005).



Şekil 1.3. ϵ - kaprolaktonun metal alkoksit varlığında (a) amin ve (b) alkol ile halka açılması polimerizasyon reaksiyonu

PCL halka açılması polimerizasyonu için metal alkoksitin yanında R-OH veya R-NH₂ içeren; etilen glikol, 1,3-propandiol, 1-bütanol (Storey ve Sherman, 2002; Bratton ve ark., 2005), benzil alkol (Chen ve ark., 2004; Yu ve ark., 2005), bütülin (Kowalski ve ark., 2005), 2,5-dibromo-1,4(dihidroksimetil)benzen (Yurteri ve ark., 2004), 2,2-etilidenbis(4,6-ter-bütülfenol) (Shueh ve ark., 2004), tiyofen metanol (Kerman ve ark., 2005), hidroksi uçlu siklotrifosfazen(Yuan ve ark., 2005), dipentaeritritol (Wang ve ark., 2005) ve peptidler (Paira ve ark., 2012) kullanıldığında aynı mekanizma üzerinden yürüyerek bu ko-başlatıcıların PCL zincirine eklendiğini ortaya koyulmuştur. Aynı şekilde hidroksil veya amin grubu içeren makromoleküller kullanıldığı durumlarda makrobaşlatıcı olarak davranmasının avantajı ile PCL'un aşı ko-polimerleri sentezlenebilmiştir (Yuan ve ark., 2005; Liu ve ark., 2006; Dayanvea ve ark., 2007; Li ve ark., 2007; Remant Bahadur KC ve ark., 2007; Meerod ve ark., 2008; Chagneux ve ark., 2009; Hua ve ark., 2009; Cheng ve ark., 2011; Ju ve ark., 2011; Setoguchi ve ark., 2012).

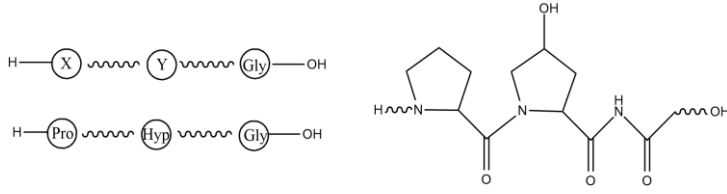
PCL'nın metabolizmada bozunması, uygun enzimin bulunmaması nedeniyle yalnızca hidrolitik bozunma ile gerçekleşir. Enzimler ile desteklenmeden sadece hidrolitik

bozunmaya uğrayarak parçalanması nedeniyle PCL'nin bozunması, molekül ağırlığına bağlı olarak yaklaşık 3-4 yıla kadar uzanabilen uzun bir süreçte tamamlanmaktadır. Bu durum nedeniyle 80'li yıllarda biyomedikal alanda kullanılmasına sıcak bakılmayan PCL, ilerleyen yıllarda doku mühendisliği alanı ortaya çıkması ile tekrar gündeme gelmiştir. PCL'nin reolojik ve viskoelastik özellikleri iskele yapılar oluşturmak üzere iyi bir polimer olduğunun ortaya koyulması ile bu alanda PCL ile yapılan araştırmalar ve yayınların sayısı hızla artmıştır(Woodruff ve Hutmacher, 2010). Mekanik olarak PCL'nin iyi dayanımı, uzun bozunma süresi ve uyumluluğu nedeniyle damar doku mühendisliği çalışmaları için önemli bir biyomateryal malzemesi konumuna gelmiştir. Yüzey özelliklerinin hücre tutunması için önemli bir parametre olan hidrofilik özellik açısından zayıf olması nedeniyle ise PCL'nin tek başına kullanımını kısıtlamış ve PCL'a yüzey modifikasyonları uygulanarak bu eksikliği giderilmeye çalışılmıştır. Bu sorun üzerine yapılan ilk denemelerden bir tanesi PCL yüzeyini hidrojen peroksit ile muamele edilmesinin ardından UV ışığı ko-polimerleşme yöntemiyle poli-metilmetakrilat (PMMA) ile modifiye edilmiştir. Yapılan hücre çoğalması çalışmaları sonucunda ise PMMA modifiye edilmiş PCL üzerinde modifiye edilmemiş PCL'a göre daha fazla endotelial hücre tutunduğu görülmüştür(Zhu ve ark., 2002). Başka bir yüzey modifikasyonu ise PCL yüzeyini NaOH muamelesi ile modifiye etmektir. Bu modifikasyon sonucunda hidrofiliğin artması ile birlikte yine saf PCL yüzeyine göre daha yüksek oranda hücre tutunması sağlanabilmektedir(Serrano ve ark., 2005, 2008). Ayrıca plazma ışın muamelesi de PCL yüzeyi hidrofiliğinin artırılmasında kullanılan metodlardan birisidir. Plazma muamelesi sonrasında PCL yüzeyinde karboksil gruplarının oluşması ile jelatin, kolajen, elastin gibi önemli hücre dışı proteinlerinin kovalent bağlanmasına olanak sağlayarak elde edilen hibrit malzemenin hücre çoğalma verimini oldukça fazla arttırmaktadır(Sousa ve ark., 2014a).

1.2.3. Kolajen

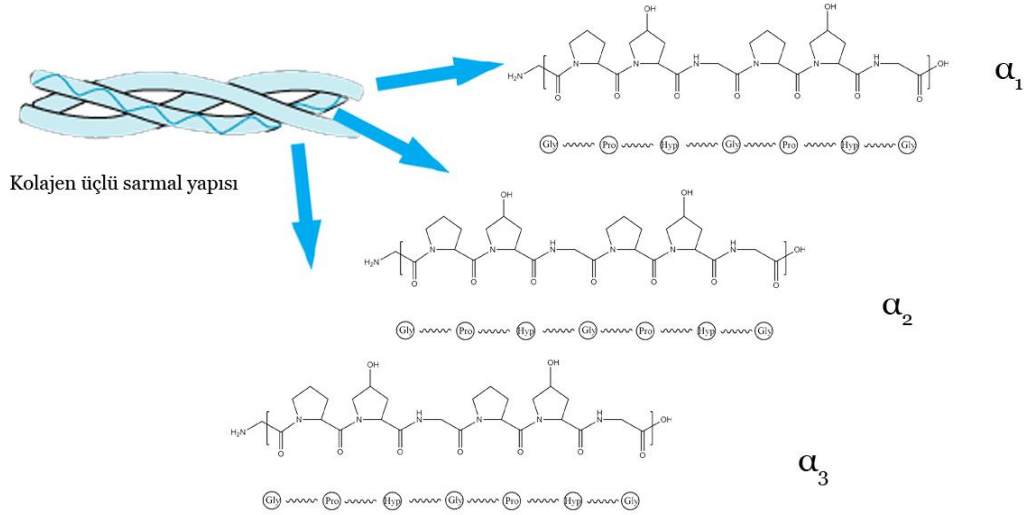
Kolajen, insan vücudundaki tüm proteinlerin yaklaşık ağırlıkça %30'nu oluşturarak en büyük paydaya sahiptir. Vücuttaki eklem, tendon, bağ ve damar dokularının temel bileşenidir. Farklı supramoleküler yapılarda bulunan kolajen bu sayede benzersiz bir fonksiyonellik çeşitliliğine de sahiptir(Patino ve ark., 2002).

Kolajen, her bir zincirinde yaklaşık 1000 amino asit bulunduran üç polipeptid zincirinden oluşur ve her bir zincirde Glisin-X-Y amino asit tekrar eden birimi görülmektedir. X ve Y herhangi bir amino asidi temsil etmektedir fakat çoğunlukla bu amino asitler prolin (X) ve hidroksiprolindir (Y) (Şekil 1.4).



Şekil 1.4. Kolajen yapısındaki X-Y-Glisin tekrarlanan birimi

Kolajenin temel birimi olan tropokolajen, yaklaşık 3000 Å uzunluğunda ve 15 Å çapında boru şeklinde moleküler zincirden oluşmaktadır. Kolajenlerin yapısal bakımdan temel olarak üçlü sarmal veya küresel olmak üzere iki farklı türü bulunmaktadır. Damar dokularında bulunan kolajenin büyük bir kısmı üç tane α zincirinin oluşturduğu sarmal lifsi yapıdaki Tip I kolajendir. Tip I kolajendeki üçlü sarmalda, α zincirleri arasında hidrojen bağları bulunur. Glisin bu üçlü sarmalın genellikle orta eksenine yönelmiş halde bulunurken X-Y amino asit (genellikle prolin ve hidroksiprolin) bölümleri dış eksenlerde yer almaktadır (Ferreira ve ark., 2012).



Şekil 1.5. Kolajenin üçlü sarmal yapısı ve alfa zincirlerinin Gly-Pro-Hyp tekrarlanan birimi ile kimyasal yapısının gösterimi

İnsan vücudunda yaralanmalardan sonra oluşan doku kaybında dokunun yenilenmesi için kolajene ihtiyaç duymaktadır. Bu bölgelere aşırı miktardaki kolajen verilmesi anatomik ve fibrosis yapılarında kayıplara neden olurken yetersiz miktarda kolajen verilmesi durumunda da iyileşecek bölümde mekanik özellik yetersizliğinden yırtılmalar ve

bozulmalar meydana gelebilmektedir(Hasirci ve Yucel, 2007). Damar doku mühendisliği açısından bu durum göz önünde bulundurulduğunda, bir yapay damar malzemesi ilk aşamada mekanik gücünü sentetik biyobozunur polimerden alır ve bozunması başladıktan sonra kaybedilen gücün başka bir yapı ile desteklenebiliyor olması gerektiği ortaya koyulmaktadır. Şayet yeterli kolajen ile gereken destek sağlanamazsa bu durum anevrizmaya (damar genişlemesi) ve/veya yırtık çatlak gibi sorunlara yol açabilmektedir. Ayrıca uygulanan gücü iletebilmesi ve dağıtabilmesi, biyolojik sinyallerin hedef hücrelere sağlayabilmesi, oldukça hidrofilik, antijenik ve hücreler ile uyumlu olması gibi özellikleri nedeniyle, damar doku mühendisliği için hazırlanan iskele yapıların kolajen içermesi önem arz etmektedir(Barnes ve ark., 2007).

Damar doku mühendisliği uygulaması amacıyla kolajen 1986 yılında Weinberg ve Bell tarafından fibroblast hücreleri gömülmüş kolajen jeli olarak hazırlandığında araştırmacılar tarafından ilk göze çarpan eksikliğin mekanik gücü olmuştur(Weinberg ve Bell, 1986). Bunun üzerine yapılan çalışmalarda sonrasında kolajen-fibroblast yapısının hazırlanmasının ardından çapraz bağlama işlemiyle daha gelişmiş mekanik dayanıma sahip olduğu belirtilmiştir(Berglund ve ark., 2003). Alternatif bir yaklaşım ile çapraz bağlama olmaksızın daha yüksek miktarda kolajen kullanılarak da bu mekanik özelliğe ulaşıldığı Cummings ve ark. tarafından gözlenmiştir(Cummings ve ark., 2004). İlerleyen yıllarda biyobozunur sentetik bir polimer olan PCL ile kolajen beraber kullanıldığı mekanik özelliklerin PCL ile geliştirildiği, hücre uyumluluğunun kolajen ile sağlandığı yapay damar çalışmalara daha fazla yer verilmiştir(McClure ve ark., 2011).

1.2.4. Elastin

Elastin, insan metabolizmasındaki elastik özellik taşıyan lif yapıların temel bileşenidir. Akciğer, deri ve damar gibi elastik özellik gerektiren dokuların hücre dışı matriksnin önemli proteindir. Biyolojik ortamda suda çözünen tropoelastinin kimyasal çapraz bağlanmasıyla elastin proteini meydana gelir. Çapraz bağlı yapısı elastine sulu ortamda stabil olabilme ve üzerine uygulanan kuvvetlere dayanıklılık kazandırmaktadır. Çapraz bağlı yapısına rağmen mekanik testlerde %100 ile %220 arasında maksimum uzama özelliğine sahip olduğu ve daha da önemlisi uzatılıp eski haline geri getirildiği testlerde uzama-rahatlama döngüsünü milyarlarca kez yapılmasına karşın yapısında bozulma olmadığı görülmüştür. Elastin proteini amino asit bileşimi bakımından kolajen göre oldukça farklılık gösterir. Asidik ve bazik özellikteki amino asitlerin oldukça düşük oranda olduğu elastin, yüksek oranda prolin, valin, lösin ve alanin gibi hidrofobik amino

asitleri içerir. Esnek kısımlarını glisin ve prolinin oluşturduğu bölümlerde sağlanır. Hidrofobik bölümlerin yanı sıra hidrokspirolin ve allisin bölümleri de bulunmaktadır. Ayrıca elastin de kolajen gibi bir dokunun büyümesi, olgunlaşması ve onarılması olaylarında hücre gelişimine olanak sağlayan bir hücre dışı matriks proteindir. Fakat elastin, çözünür olmayan doğası nedeniyle modifikasyon ve işlenme olanağını kısıtlaması bir biyomateryal kaynağı olarak kullanılma durumunu da olumsuz etkiler. Bu nedenle elastini bir biyomalzeme hammaddesi olarak kullanılmasını sağlamak üzere elastini α -elastin, κ -elastin gibi çözünür formlarına dönüştürerek kullanıma hazır hale getirmişlerdir. (Pepe ve ark., 2007; Tamburro, 2009; Almine ve ark., 2010; Kristensen ve Karsdal, 2016; Miranda-Nieves ve Chaikof, 2017).

Damar dokusunda hücre dışı proteini olarak elastin, kolajenden sonra en bol bulunan proteindir. Damar doku mühendisliği için hazırlanan iskele yapıları için elastin de kullanılmaktadır. Kolajen gibi elastin de tek başına mekanik özelliği gerçek damara yakın olacak şekilde sağlayamadığı için bu alanda genellikle PLA, PLGA, PGA, PEO ve özellikle PCL ile beraber kullanılarak test edilmiştir (Wyre ve Downes 2000; S. Lee ve ark.. 1996; Yang ve ark.. 2003; Y. Zhu, Chan-Park, ve Chian 2005).

Kolajen ve elastinin damar dokusunda yüksek oranda olması nedeniyle damar doku mühendisliği uygulamalarında bu iki proteinin çözünür formlarının birlikte kullanıldığı iskele yapılar üretilmiştir. Bu çalışmalarda kolajen ile birlikte elastin de kullanıldığında hem mekanik özelliklerde hem de hücre tutunması özelliğinde gelişme olduğu tespit edilmiştir. Mekanik özelliklerin geliştirilmesi ve malzemenin kararlılığının artırılması NHS, EDC gibi çapraz bağlayıcıların kullanılması ile yapılmıştır. Ayrıca Kolajen ve elastin ile birlikte PCL kullanıldığında ise mekanik dayanımın daha ileri seviyelere ayarlanabildiği gözlemlenmiştir (Y. Zhu ve Chan-Park 2007; Fu ve ark.. 2014; Zhao ve ark.. 2006).

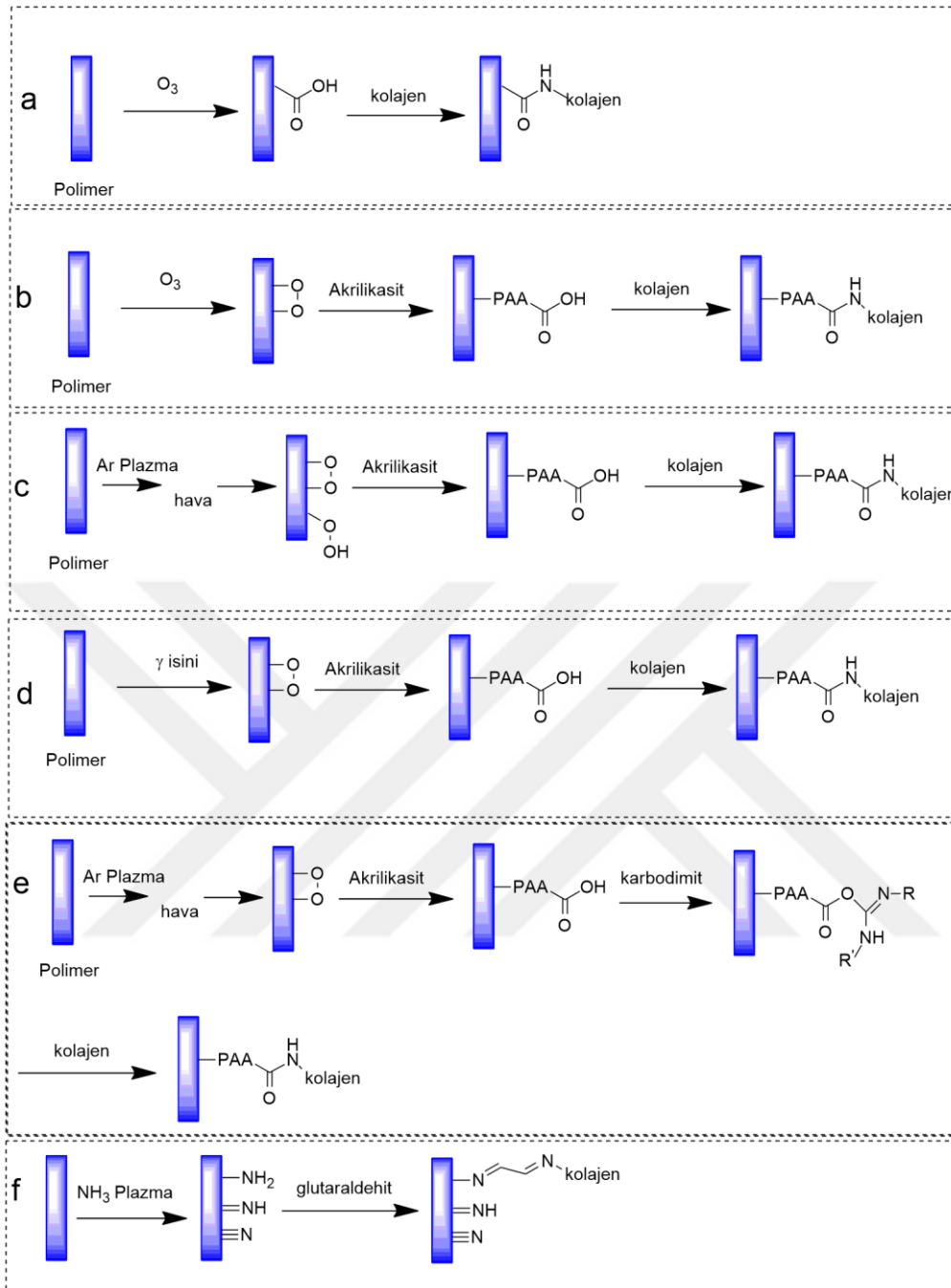
1.3. Hücre Dışı Matriks Proteinleri ile Sentetik Polimerden Oluşan Hibrid Yapıların Hazırlanması için Kullanılan Yöntemler

Damar doku mühendisliği uygulamalarında hem hücre gelişimini sağlayacak hem de mekanik dayanımı ve elastikliğinin ayarlanabileceği uygun iskele yapı denemeleri jelatin, kolajen, elastin gibi hücre dışı matriks proteinlerin ile sentetik polimerin kaynaştırılması ile hazırlanmaktadır. Bu hibrit makromoleküler yapılar, farklı yöntemler kullanılarak blend halinde veya kovalent bağlarla blok ko-polimerler olarak hazırlanmıştır.

Kovalent bağı polimer-protein konjüge malzemelerin hazırlanması işleminde genellikle hidrofobik özellikte olan polimerlerin hidrofiliğinin artırılması ve/veya protein molekülleri ile reaksiyona girebilecek amin, karboksilik asit gibi fonksiyonel grupların oluşturulması için ön işlem yapılmaktadır. Bu ön işlemler genellikle oksijen, azot, argon, amonyak plazma muamelesi, ozon muamelesi, gamma ışını muamelesi hidrojen peroksit muamelesi, aminoliz, amino asit ile modifikasyon gibi işlemlerden olabilmektedir.

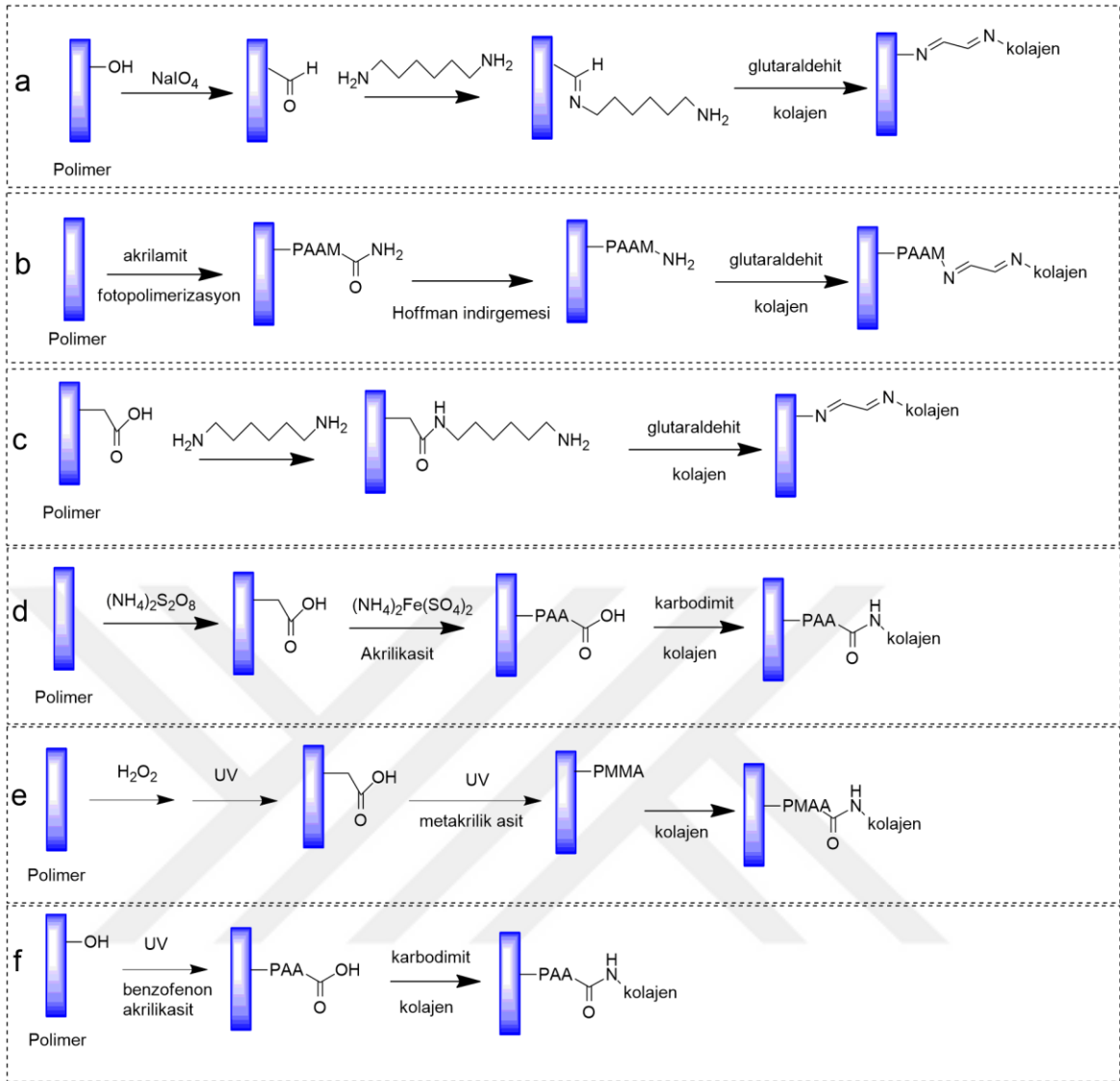
Ozon muamelesi ile $-OH$ grubu içeren polimerlerin bu gruplarını $-COOH$ 'a dönüştürülmesinden sonra kolajen ile uygun reaksiyon ortamında etkileştirilerek kovalent bağı polimer-kolajen elde edilmektedir Şekil 1.6-a. Ayrıca şekil 1.6-b'de gösterildiği gibi ozon muamelesi kullanılarak polimer yüzeyinde peroksit grupları oluşmasının ardından akrilik asit monomeri ile polimerizasyonu gerçekleştirilerek poliakrilik asit aşılır ve yine $-COOH$ grupları içeren bir polimere dönüştürülmüş olur ve daha sonra kolajen immobilizasyonu gerçekleştirilir(Matsumura ve ark., 2000). Benzer bir şekilde Ar plazma muamelesi ve hemen ardından oksijene maruz bırakılması ile polimer yüzeyinde akrilik asitin polimerleşebileceği peroksit bölgeleri oluşturulur(Şekil 1.6-c). Poli (akrilik asit) aşılansın polimer daha sonra kolajen ile etkileştirilerek immobilizasyon gerçekleştirilir(Bisson ve ark., 2002; Choi ve ark., 2009). Amonyak plazma uygulaması ile polimer yüzeyine azot içeren polar gruplar elde edilir ve sonraki aşamada protein moleküllerinin bağlanmasına uygun hale getirilir(Zhao ve ark., 2006). Bu işlem şekil 1.6-f'de gösterilmiştir. Protein aşılansın için kullanılan bir başka ön işlem gama ışını muamelesidir. Protein aşılansın polimere uygun dozda gama ışını uygulandıktan sonra akrilik monomerler bu yüzeyde polimerleştirilerek aşı kopolimerizasyon yapılır(Gupta ve Revagade, 2007) (Şekil 1.6-d). Ön işlem basamağında sonraki kolajen aşılansın basamağında protein bağlayıcısı olarak bazı çapraz bağlayıcılar da kullanılmaktadır. Bu çapraz bağlayıcılar genellikle glutaraldehit(Zhao ve ark., 2006; He ve ark., 2013) suda çözünür karbodimidler(Cheng ve Teoh, 2004a; Yan ve ark., 2010; Sousa ve ark., 2014), N-hidroksisüksinimit (NHS) olmaktadır(Choi ve ark., 2009). Çapraz bağlayıcıların kullanıldığı kolajen immobilizasyonu reaksiyon örnekleri şekil 1.6-e ve şekil 1.6-f'de gösterilmiştir. Hücre dışı matriks proteinlerini polimerler ile kovalent bağlamakta plazma ve ışın uygulamaları haricinde kullanılan farklı yöntemler de bulunmaktadır. Bunlardan bir tanesi $-OH$ grubu içeren polimerin bu grubu aldehite yükseltgendikten sonra hekzaetilendiamin bağlanması ve ardından glutaraldehit ile kolajene bağlanması işlemidir. Bu işlemde hekzaetilendiamindeki bir amin grubu polimerdeki aldehit grubu ile reaksiyonu

ile bağlanır ve diğer amin grubu da kolajene bağlanması için köprü görevi görür(Ayhan ve Piskin, 2000). Polimerin protein ile reaksiyona girebilmesi için gereken amin grupları önce poliamit aşılması ve sonrasında Hoffman indirgeme yönteminden oluşan iki basamaklı bir yöntem uygulanarak da elde edilmektedir(Wang ve ark., 2009c). Bunlara ek olarak karboksilli asit grubu bulunduran polimerlere amin grubu bağlanması işlemi direkt olarak 1,8-diaminooktan, 1,6-hekzan diamin gibi bileşikler ile reaksiyona girmesi ile de elde edilebilir. Amin fonksiyonelli polimer sonraki basamakta uygun çapraz bağlayıcılardan biri ile kolajen elastin gibi proteinlere kovalent olarak bağlanılır(Zhu ve ark., 2005; Zhu ve Chan-Park, 2007; Wang ve ark., 2009a; Zhu ve Ong, 2009) Protein immobilizasyonu için polipropilen gibi bir polimere PAA aşılması ön işlemi için ışın, ozon muamelesi gibi yöntemler uygulanmak istenmediği durumda bu yöntemlere alternatif olarak amonyum demir (II) sülfat muamelesi işlemi kullanılabilir. PAA aşılması işleminden sonra protein immobilizasyonu gelir(Zhang ve ark., 2006).



Şekil 1.6. Polimer-kolajen hibrit yapılarının ozon, plazma ve gama ışını ön işlemleri ile hazırlama yöntemleri

Akrilik monomerin bir polimer yüzeyinde polimerleşerek aşılması için peroksit muamelesi ve ardından UV ışına maruz bırakma işlemi de kullanılır. Bu şekilde



Şekil 1.7. Polimer-Kolajen hibrit yapılarının hazırlanmasında kullanılan diğer yöntemler

proteinin bağlanabileceği $-COOH$ grubu sağlanmış olur(Xiao ve ark., 2007). Benzer bir yöntem ise polimer yüzeyini tip II fotobaşlatıcı ile etikledikten sonra akrilik monomerin bu polimer yüzeyinde UV ışını altında polimerleştirilmesidir. Bu yöntemde peroksit muamelesine gerek kalmamaktadır(Lee ve ark., 2007).

1.4. Klık Reaksiyonları

2001 yılında Sharpless ve ark., organik reaksiyonların 20. yüzyıldaki gelişmelerden yararlanarak ılımlı reaksiyon koşullarında, yüksek verimli, oldukça seçici reaktiflikte, yan ürün oluşturmayan heteroatom-bağlı moleküler sistemlerin oluşturulması için yeni bir yaklaşımda bulunmuştur. Bu tür reaksiyonların seçici ve hızlı olması nedeniyle klık reaksiyonları adı verilmiştir. Geniş çeşitlilikteki farklı fonksiyonel sentetik molekülün ve

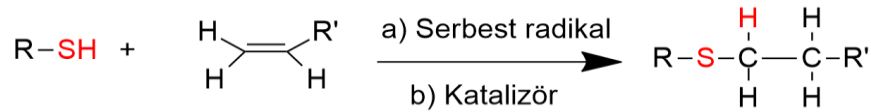
organik malzemenin sentezlendiği birçok verimli reaksiyon tipi klik reaksiyonu başlığı altında toplanmıştır. bu reaksiyonların ortak karakteristik özellikleri şöyledir:

- Yüksek verim
- Hiç yan ürün oluşturmaması veya oluşan yan ürünlerin kromotagrafik yöntemler gerekmeden uzaklaştırılabilmesi
- Ortamdaki oksijen ve suya karşı hassasiyeti olmaması
- Ilımlı, çözücüsüz veya sulu ortamda reaksiyonun gerçekleşebilmesi
- Ortogonal olması
- Çok çeşitli başlangıç maddeleri ile gerçekleştirilmeye uygun olmasıdır.

Bakır(I) katalizli azit alkin siklokatılma klik reaksiyonu literatürde bir çok dendrimer, fonksiyonel blok kopolimerler, çapraz bağlı polimerler, hidrojeller oluşturulmasında kullanıldığı görülmektedir. Benzer amaç için kullanılan farklı bir klik reaksiyon yöntemi de tiyol-en klik reaksiyonudur:

1.4.1. Tiyol-en Klik Reaksiyonları

Tiyol grubu içeren bir molekül (R-SH) bir alken molekülünün karbon-karbon çift bağına katılarak yeni bir bileşik oluşturur. Verimi oldukça yüksek olan bu reaksiyon hem serbest radikal katılma hem de katalizörlü olarak gerçekleştirilebilmektedir. Şekil 1.8’de gösterildiği gibi her iki metotta da aynı ürün oluşmaktadır.

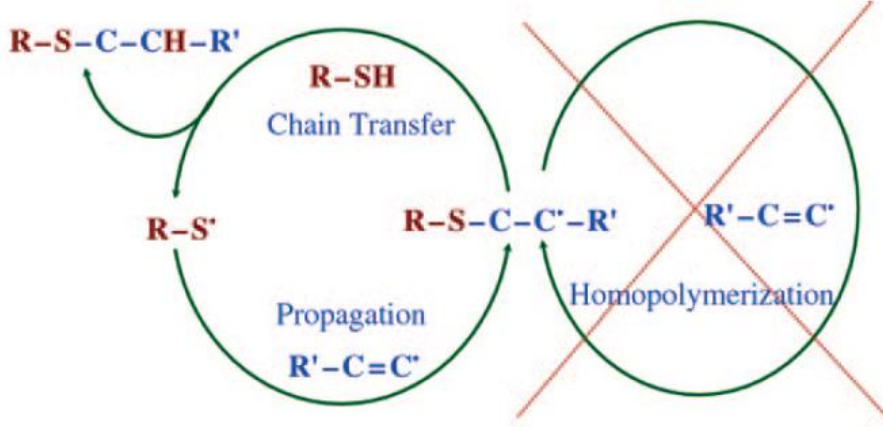


Şekil 1.8. Serbest radikal yöntemi(a) ve katalizör kullanılan yöntem (b) ile tiyol-en reaksiyonu

Bu reaksiyon, çok az miktarda katalizör gerektirmesi, yüksek reaksiyon hızı, çevre dostu çözücüler içerisinde gerçekleştirilebilmesi, ortamdaki oksijene ve su buharına hassasiyetinin olmaması ve çok çeşitli tiyol ve en ile reaksiyona girebilmesi özellikleri ile klik reaksiyonu özelliği taşımaktadır. Hem radikalik hem de Micheal katılması tiyol-en klik reaksiyonlarıyla birçok yeni özellikli hidrojel, yapıştırıcı, kopolimer sentezlenmiştir.

Serbest radikalik tiyol-en reaksiyonu, R-SH ‘ın R-S* radikaline dönüştükten sonra çift bağa katılması ile başlar. Katılma olduktan sonra ortamdaki R-SH’ın hidrojeninin ürüne transferi ile sonlanır ve H’i kopan R-S radikalik R-S*’ye dönüşürerek tekrar çift

bağa katılır ve bu döngü reaksiyon dengeye gelinceye kadar devam eder. Radikalik tiyol-en klik reaksiyonun bu döngüsü şekil 1.9'de gösterilmiştir. İdeal bir radikalik tiyol-en reaksiyonu, radikalik homopolimerizasyonu ile sonuçlanmaz(Hoyle ve Bowman, 2010).



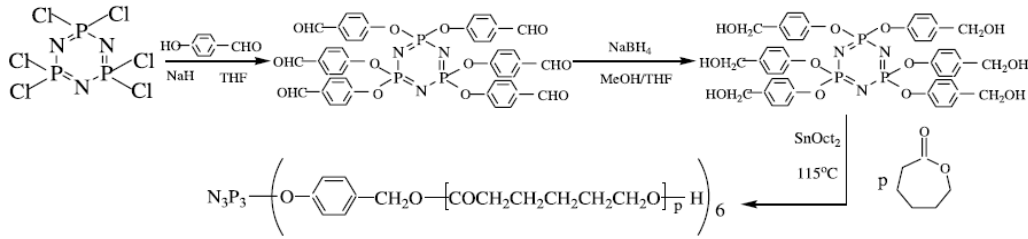
Şekil 1.9. İdeal serbest radikalik tiyol-en klik reaksiyonu (Referans Hoyle ve Bowman, 2010'dan alındı)

BÖLÜM 2

ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

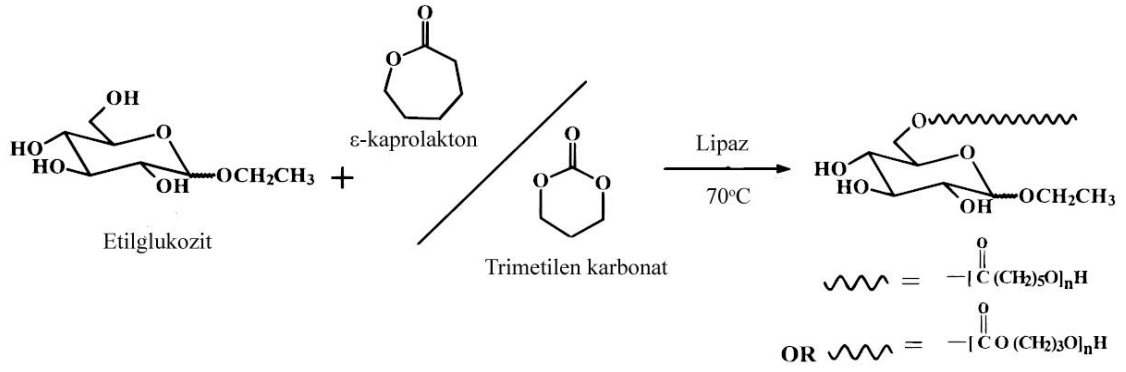
2.1. ε-Kaprolakton'un Halka Açılması Polimerizasyonunun Amin veya Hidroksil Grubu İçeren Bileşikler ile Başlatıldığı Çalışmalar

Yuan ve ark., hidroksil grubu içeren siklotrifosfozeni ko-başlatıcı olarak kullanarak yıldız şeklinde PCL sentezlemişlerdir. Bu çalışmada siklotrifosfozen ile birlikte başlatıcı metal alkoksit olarak kalay (II) oktoat kullanılmıştır(Yuan ve ark., 2005). Hidroksil grubu içeren siklofosfozenin sentezi ve polimerizasyon reaksiyonu şekil 2.1 de gösterilmiştir.



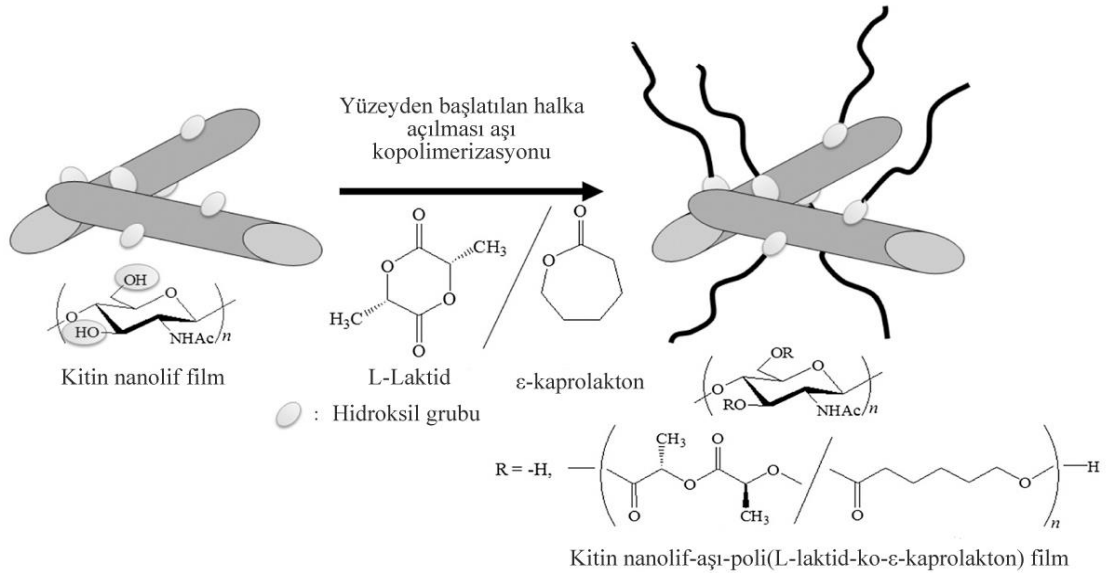
Şekil 2.1. Hidroksil grubu içeren siklofosfozen sentezi ve yıldız şeklinde PCL hazırlanması (Referans Yuan ve ark., 2005'den alındı)

Schulze ve ark.'nın 2006 yılında yaptığı çalışmada 2-hidroksietilmetakrilat (HEMA) ile kalay (II) oktoat başlatıcı ikilisi olarak kullanılarak vinilik grup bulunduran PCL makromonomeri sentezlemişlerdir. Daha sonra bu makromonomer ile HEMA monomerinin radikalik polimerizasyon ile poli (ε-kaprolakton-ko-hidroksietilmetakrilat) blok kopolimeri sentezlenebilmiştir(LIU ve ark., 1998). Ural ve ark., PCL/hidroksiapatit kompozitini ε- kaprolaktonun halka açılması polimerizasyonu hidroksiapatit üzerindeki –OH grupları üzerinden başlatarak hazırlamışlardır(Ural ve ark., 2000). Touris ve ark., ise poli(stiren-ko- ε- kaprolakton) blok kopolimeri hazırlamak için önce –OH fonksiyonelli polistiren (PS-OH) sentezlemişlerdir. Daha sonra bir titanyum kompleksi ile PS-OH, ε- kaprolaktonun halka açılması polimerizasyonu için başlatıcı olarak kullanıldığında PS üzerinden yürüyen polimerizasyon sayesinde bu blok kopolimeri sentezlemişlerdir(Touris ve ark., 2008). Bisht ve ark., hem ε-kaprolaktonun hem de trimetilen karbonatın halka açılması polimerizasyonunda etilglukopiranositi başlatıcı, lipaz enzimini de katalizör olarak kullanmıştır(Şekil 2.2). Daha sonra oluşan polimer zincirlerine glukopiranositin bağlandığını NMR analizleri ile göstermişlerdir(Bisht ve ark., 1998).



Şekil 2.2 ϵ -kaprolaktonun ve trimetil karbonatın etil glukozit ile halka açılması polimerizasyonu (Referans Bisht ve ark., 1998'den alınmıştır)

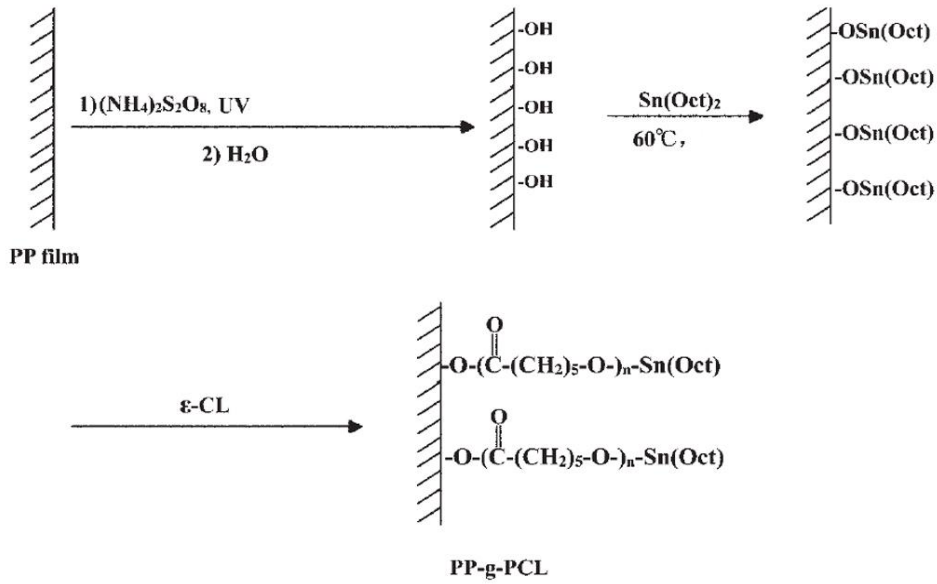
Setoguchi ve ark., hazırladıkları kitin nanolif filmeri yüzeyine PCL ve PLA aşılması işlemini kitin üzerindeki -OH gruplarının halka açılması polimerizasyonunu başlatması ile gerçekleştirmişlerdir (Şekil 2.3). Bu polimerizasyonda kitin makrobaşlatıcı görevinde iken kalay (II) oktoat katalizör olarak kullanılmıştır (Setoguchi ve ark., 2012).



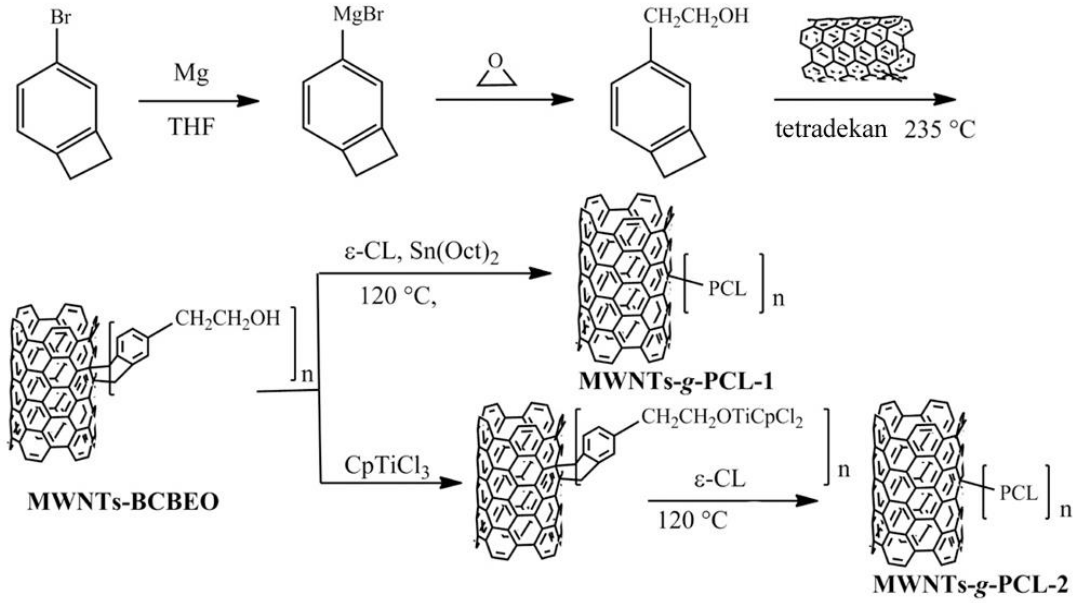
Şekil 2.3. Kitin yüzeyinden başlatılan halka açılması polimerizasyonu (Referans Setoguchi ve ark., 2012'dan alınmıştır.)

PCL ile blok kopolimer hazırlandığı başka bir çalışma da Sui ve ark., öncelikle PP film yüzeyini UV ile birlikte $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$ ile muamele ederek PP film yüzeyinde -OH gruplarının oluşmasını sağlamışlardır daha sonra kalay (II) oktoat ile beraber halka

açılması polimerizasyonu ile PCL'ü PP yüzeyine aşılamışlardır (Şekil 2.4). Bu çalışmada da PP ϵ -kaprolakton un halka açılması polimerizasyonu için makrobaşılatıcı görevi görmüştür(Sui ve ark., 2007). Zhou ve ark., çok duvarlı karbon nanotüplerin yüzeyini –OH grupları olacak şekilde modifiye ettikten sonra kalay (II) oktoat veya siklopentadieniltitanyum triklorür ($CpTiCl_3$) varlığında halka açılması polimerizasyonu ile nanotüpler üzerine PCL aşılamışlardır(Şekil 2.5). Bu işlemde nanotüpler üzerinden başlayan polimerleşme sayesinde polimer/çok duvarlı nanotüp nanokompoziti eş zamanlı ve tek basamakta gerçekleştirilmiştir(Zhou ve ark., 2013).

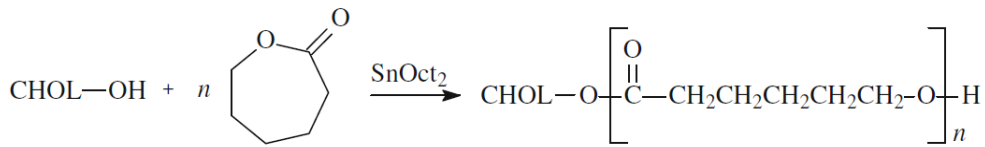


Şekil 2.4 Polipropilen yüzeyinde başlatılan halka açılması polimerizasyonu ile PCL aşılması reaksiyonu (Referans Sui ve ark., 2007'den alınmıştır.)

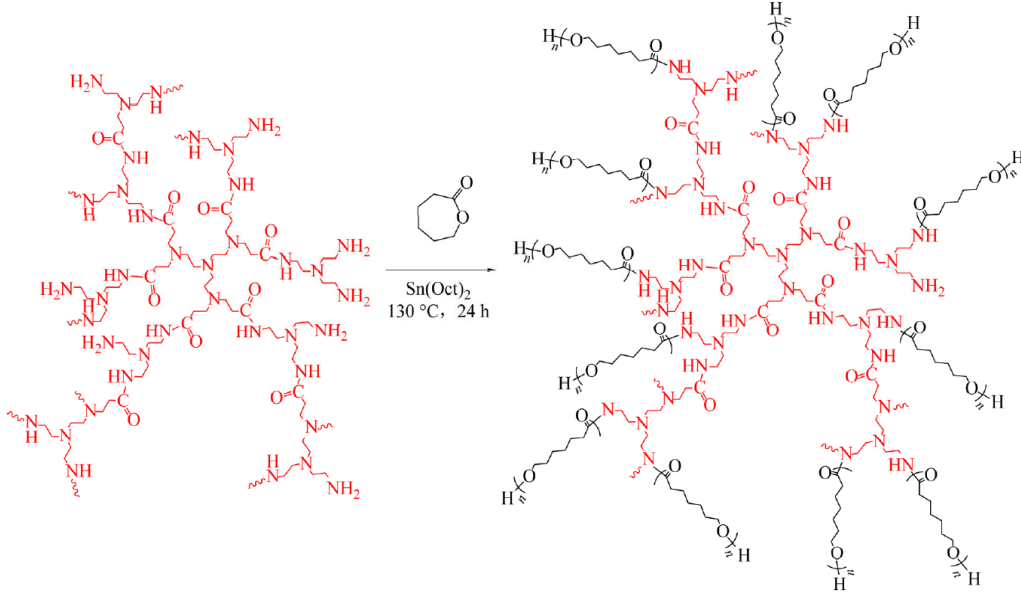


Şekil 2.5 Hidroksi modifiyeli çok duvarlı karbon nanotüp sentezi ve nanotüp yüzeyinden başlatılan halka açılma polimerizasyonu (Referans Zhou ve ark., 2013'den alınmıştır)

Sobczak, şekil 2.6'da gösterildiği gibi -OH grubu içeren kolin (CHOL) molekülünü ve kalay (II) oktoatı ε-kaprolaktonun halka açılması polimerizasyonu için başlatıcı olarak kullanmıştır(Sobczak 2012). Zhan ve ark., hiper dallanmış poli(amidoamin)'in serbest amin gruplarını kaprolaktonun polimerizasyonunda kalay (II) oktoat ile birlikte kullandıklarında poli(amidoamin)/PCL çok kollu yıldız kopolimerini elde etmişlerdir(Zhan ve ark., 2015). Şekil 2.7'de bu reaksiyon ve son ürün gösterilmektedir.

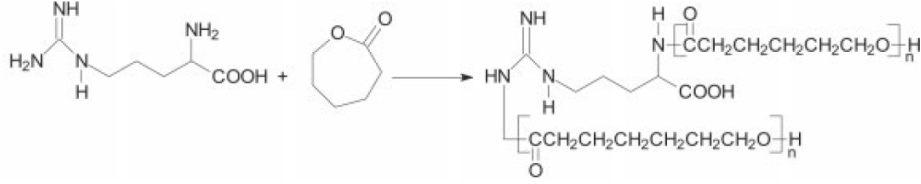


Şekil 2.6. kolin molekülü ile ε-kaprolaktonun halka açılma polimerizasyonu ile PCL sentezi (Referans Sobczak 2012'den alınmıştır)

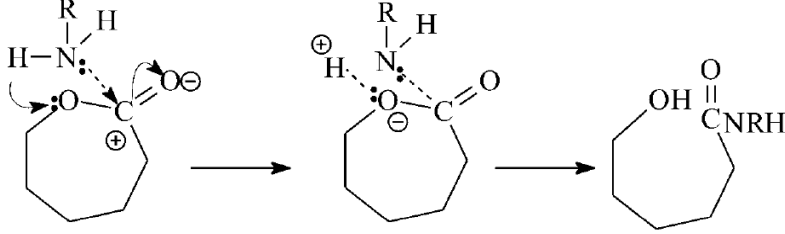


Şekil 2.7.Çekirdek olarak poli(amidoamin)'in kol olarak PCL'nun oluşturduğu çok kollu yıldız kopolimerinin halka açılması polimerizasyonu ile üretilmesi reaksiyonu (Referans Zhan ve ark., 2015'den alınmıştır)

Oledzka ve ark.'nın 2011'deki denemelerinde, başka hiç bir katalizör veya başlatıcı kullanılmadan amino asitlerin $160\text{ }^\circ\text{C}$ sıcaklıkta ϵ -kaprolaktonun halka açılması polimerizasyonunu başlatabileceği ve poli(ϵ -kaprolaktonun) sentezleneceğini göstermişlerdir. Elde edilen polimerlerin kimyasal yapıları NMR analizi ile kanıtlanmıştır. Yazarlar yayınladıkları bu makalede amino asitlerin amin grubunun ϵ -kaprolaktonun karbonil grubundaki elektronca fakir karbona saldırması ile başladığını önermişlerdir (Şekil 2.8)(Oledzka ve ark., 2011).

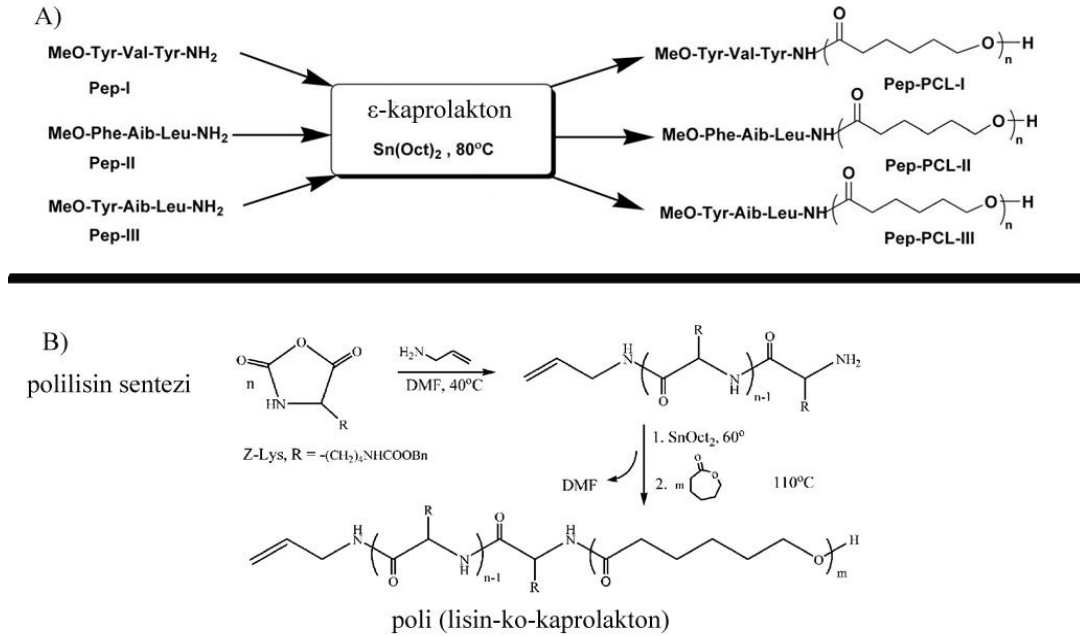


Önerilen başlama mekanizması



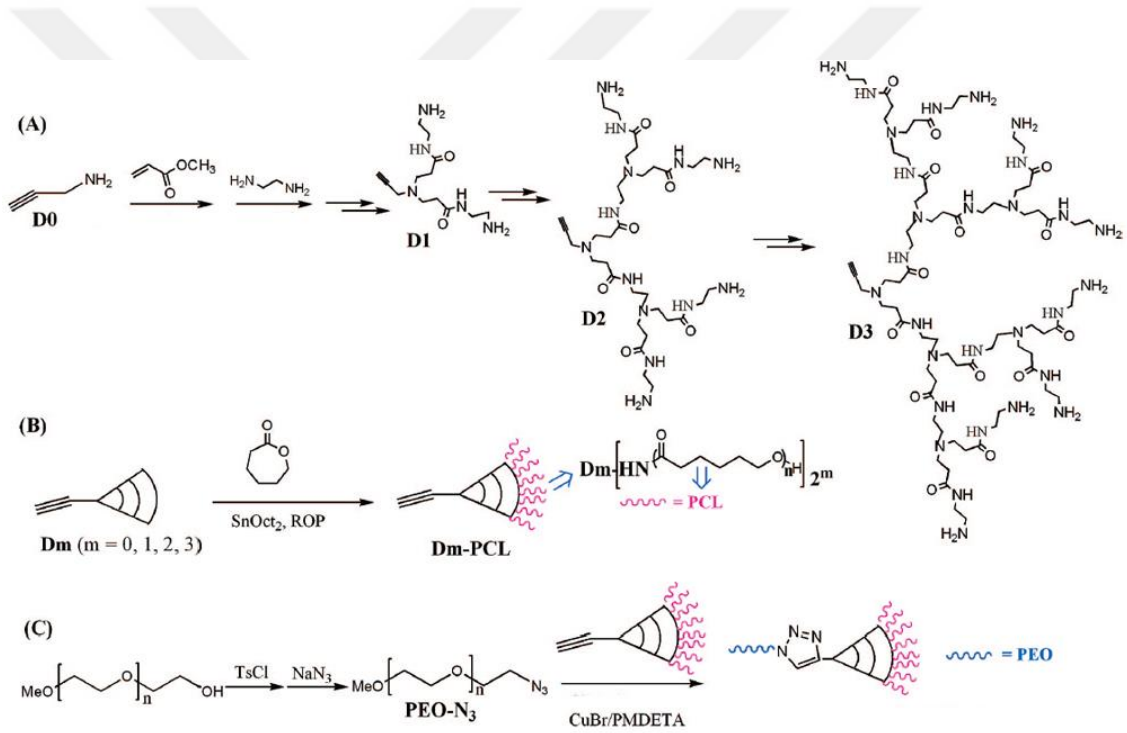
Şekil 2.8. Amino asitlerin halka açılması polimerizasyonu ve başlatma mekanizması (Referans Oledzka ve ark., 2011'den alınmıştır)

Benzer çalışmalarda, Paira ve ark., 3 farklı peptidin amin gruplarından yararlanarak ve kalay(II)oktoatı kullanarak, Motala-Timol ve ark., ise polilisinin amin grubundan yararlanarak ve kalay(II)oktoatı kullanarak peptid fonksiyonelli PCL, (Şekil 2.9) (Motala-timol ve ark., 2008).



Şekil 2.9. Paira ve ark.,'nın farklı peptidler ile (A), Motala-Timol ve ark.'nın polilisin ile yaptıkları halka açılması polimerizasyonu ve son ürünler

Klik reaksiyonları için polimer zincirinde alkin fonksiyonel grubu olması gerekmektedir ve Hua ve ark., klik reaksiyonuna uygun PCL sentezi için propargilaminden türetilen birden fazla amin grubu içeren 3 farklı molekül ve kalay oktoatı ϵ -kaprolaktonun halka açılması polimerizasyonu için başlatıcı olarak kullanmışlardır. Son üründe alkil grubu bulunan PCL zincirleri elde edilmiştir. Şekil 2.10'da gösterilen D1, D2 ve D3 D0 olarak gösterilen propargil aminden türetilen 3 farklı molekülün birden fazla ucunda halka açılması polimerizasyonu için başlatıcı görevi gören amin ve bir ucunda PCL zincirine bağlandıktan sonra klik reaksiyonu için gereken alkin grubu içermektedir. Araştırmacılar daha sonra sentezledikleri bu alkil fonksiyonelli PCL ile azid fonksiyonelli polietilen oksit (PEO-N₃) arasındaki bakır katalizli alkin-azid klik reaksiyonu ile PCL PEO blok kopolimerini sentezlemişlerdir(Hua ve ark., 2008).

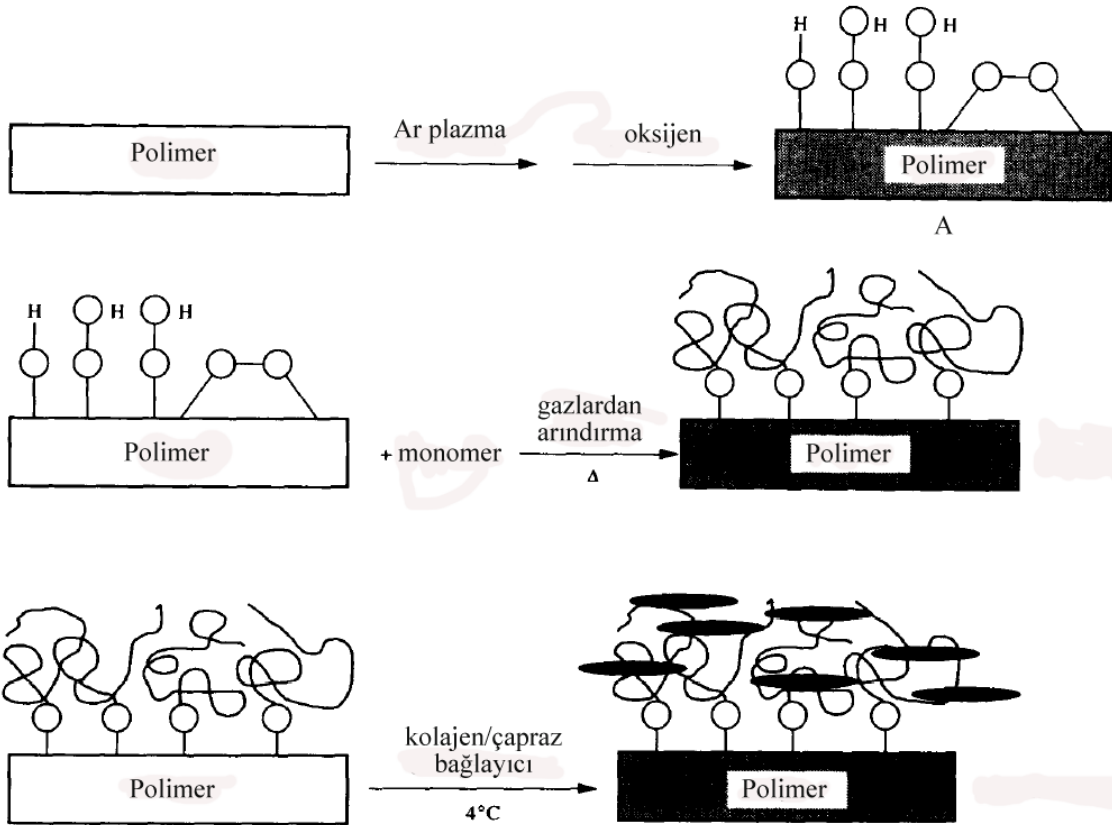


Şekil 2.10. Propargil aminden çok amin fonksiyonelli alkin içeren başlatıcı sentezi (A), amin grupları üzerinden ϵ -kaprolaktonun halka açılması polimerizasyonu (B) ve azid fonksiyonelli PEO ile Klik reaksiyonu sonucunda PCL-PEO blok kopolimerinin reaksiyonu (Referans Hua ve ark., 2018'den alınmıştır.)

2.2. Kolajen ve Benzeri Hücre Dışı Matriks Proteinlerinin Sentetik Polimerler ile Blok Kopolimerinin Hazırlanması ile İlgili Çalışmalar

1996 yılında Lee ve ark., silikon kauçuk üzerine önce Ar plazma yöntemi ile akrilik asiti kauçuk yüzeyinde polimerleştirerek kauçuk-PAA blok kopolimerini, daha sonra

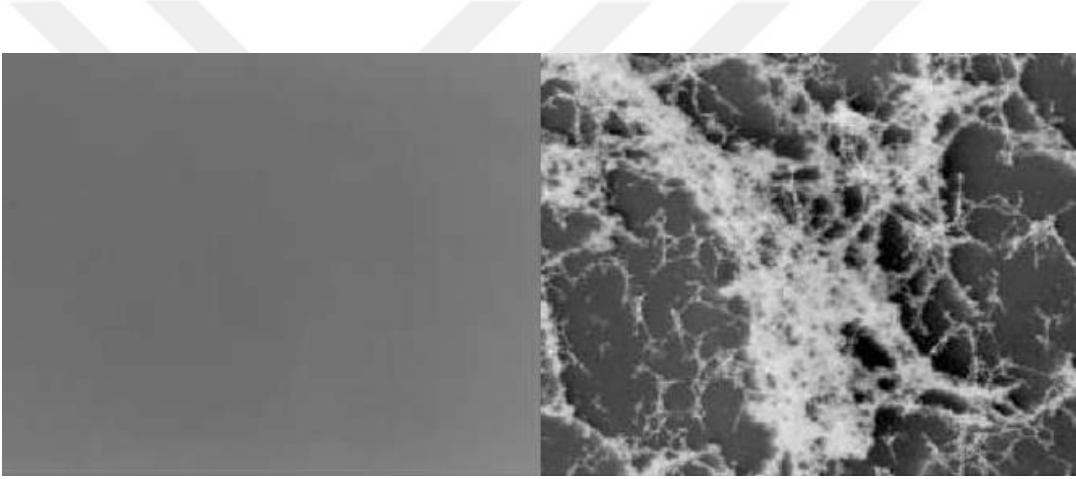
yüzeydeki PAA'nın karboksili asit grupları ve karbodiimid bağlayıcı ajanı ile kolajeni aşılamaşlardır (Şekil 2.11). Kolajen, PAA ve silikon kauçuktan oluşan bu malzemenin yüzey özellikleri FTIR, ESCA, su temas açısı, SEM ile karakterize edilirken, biyoyumluğu da kornea epitel hücresi ile denenmiştir. Reaksiyonlar FTIR ve ESCA ile doğrulanmıştır. Yüzey hidrofiliği su temas açısı ile test edilmiştir ve hazırlanan ürünün su temas açısı 55° olarak ölçülmüştür. Kornea hücrelerinin tutunması ve üremesi için yapılan denemeler sonucunda oldukça uyumlu olduğu belirlenmiştir (Lee ve ark., 1996).



Şekil 2.11. Ar plazma yöntemi ile silikon kauçuk üzerine PAA aşılamaş ve daha sonra karbodiimid ile kolajen immobilizasyonu (Referans Lee ve ark., 1996'dan alınmıştır)

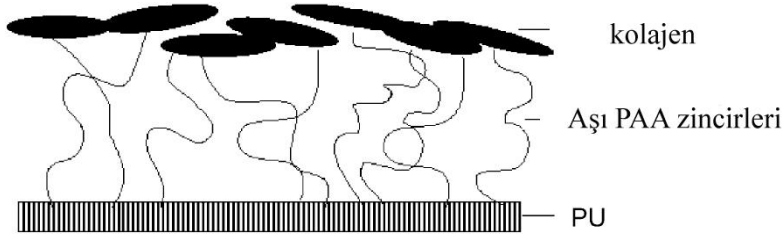
Ayhan ve Piskin'in yaptığı çalışmada, hazırladıkları poli (etilenglikoldimetakrilat)/poli (hidroksietilmetakrilat) kopolimer mikroboncukları üzerine kovalent bağlı kolajen immobilize edilmiştir. Bunun için mikroboncuklar kolajen ile reaksiyona girebilmesi için öncelikle heksametilen diamin ile modifiye edilmiştir ve daha sonra glutaraldehit ile kolajen bağlanması gerçekleştirilmiştir (Şekil 1.7a). Matsumura ve ark., ozon yöntemi ile poli (etilen-ko-vinil alkol) üzerine PAA aşıladıktan sonra kolajen bağlanması gerçekleştirilmiştir (Matsumura ve ark., 2000). Bisson ve ark. da Ar plazma

yönteni ile PET yüzeyini aktive ettikten sonra akrilik asidin polimerleştirilmesi ile yüzeye PAA aşılması yapılmıştır. PAA aşıl原因mış PET yüzeye (g-PAA-PET) daha sonra tip I kolajen immobilize etmişlerdir. Bissoon ve ark.'nın kullandığı yöntem şekil 1.6'da gösterilmiştir. g-PAA-PET yüzeyine immobilize olan kolajen miktarı ninhidrin metodu ile ortalama $17.2 \mu\text{g}/\text{cm}^2$ olarak hesaplanmıştır ve ayrıca yüzeye bağlanan kolajen SEM ile görüntülenmiştir(şekil 2.12). Daha sonra saf PET yüzeyi, PAA aşıl原因mış g-PAA-PET yüzeyi ve kolajen immobilize edilmiş g-PAA-PET yüzeylerinde ayrı ayrı insan yumuşak kas dokusu tutunması test edilmiştir. Bu testlerde elde edilen sonuçlara göre hücre tutunmasının en yüksek olduğu yüzey kolajen immobilize edilmiş g-PAA-PET olduğu gözlenmiştir. Ayrıca g-PAA-PET'e olan hücre tutulması oranı saf PET'e göre daha yüksek bulunmuştur. (Bisson ve ark., 2002)



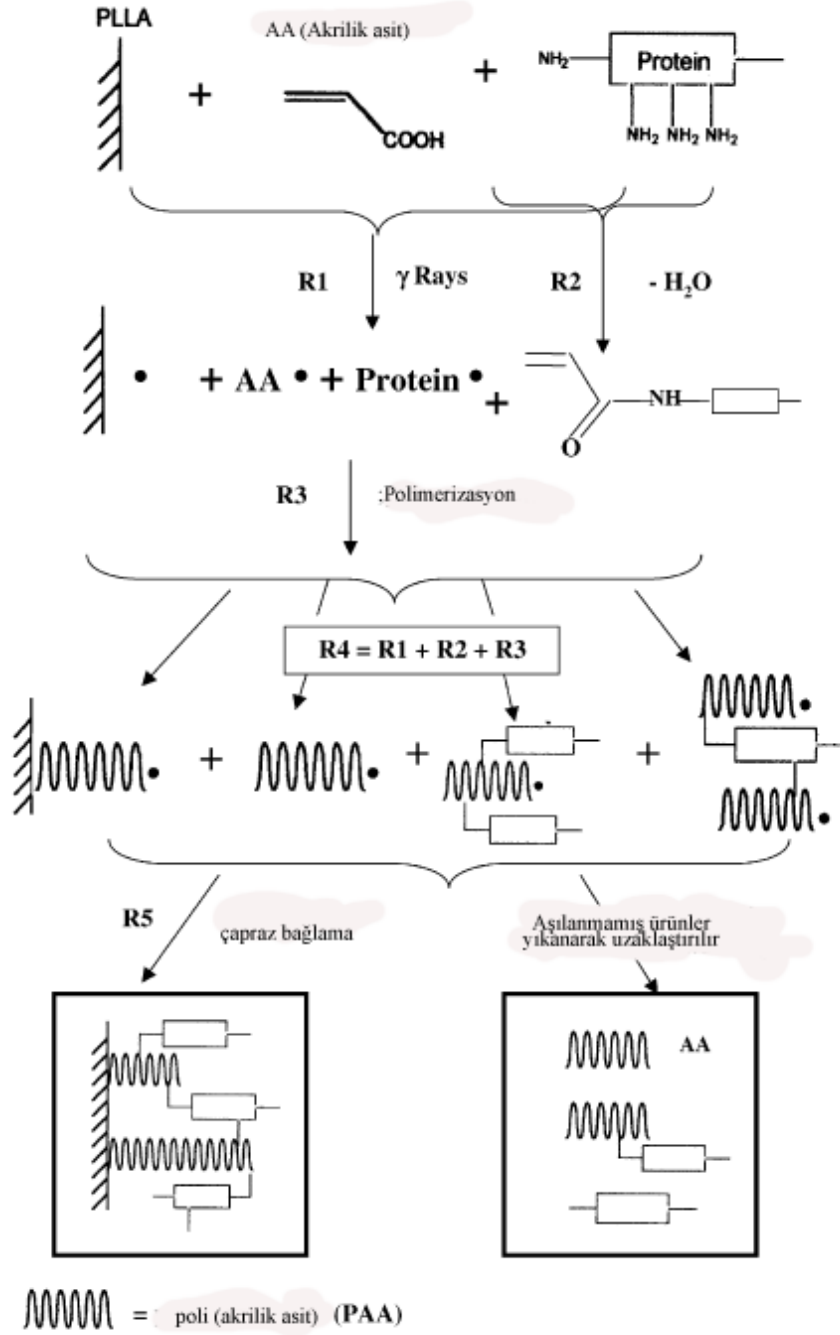
Şekil 2.12. PAA aşıl原因mış PET yüzeyine bağlanan kolajenin SEM görüntüsü (sağda) ve kolajen ile etkileştirilmemiş kontrol numunesi (solda) (büyütme oranı x4000). (Referans Bisson ve ark., 2002'den alınmıştır)

Van Wachem ve ark., ise PU filmini %40 akrilik asit monomeri, 6 mM seryum amonyum nitrat, 0.06 M amonyum nitrat bulunan çözelti içerisine koyup karıştırarak PU yüzeyine PAA aşıl原因mıştır. PAA aşıl原因mış PU filmi (PAA-PU) daha sonra 3-etil-1-(diamino-propil)-karbodiimit ve N-hidroksisüksinimit ile kolajen tip I'i film yüzeyine immobilize etmiştir(şekil 2.13) (Van Wachem ve ark., 2002).



Şekil 2.13. PU üzerine aşılantmış PAA ve kolajen (Referans Van Wachem ve ar., 2002'den alınmıştır)

Yang ve ark., PLA polimerine PAA ve kolajeni gamma ışını yöntemi ile aşılantmıştır. Bu çalışmadaki yöntemde önceki çalışmalardan farklı olarak tek basamakta bütün reaktiflerin (PLA, akrilik asit, akrilik asit homopolimerizasyon inhibitörü, kolajen) ortamda olduğu bir reaksiyon rotası çizilmiştir ve çapraz bağlayıcı kullanılmadan makromoleküllerin birbirine bağlanması gama ışınının çapraz bağlama etkisi ile yapılmıştır. Bu metodun şematik gösterimi şekil 2.14'de gösterilmektedir(Yang ve ark., 2003).

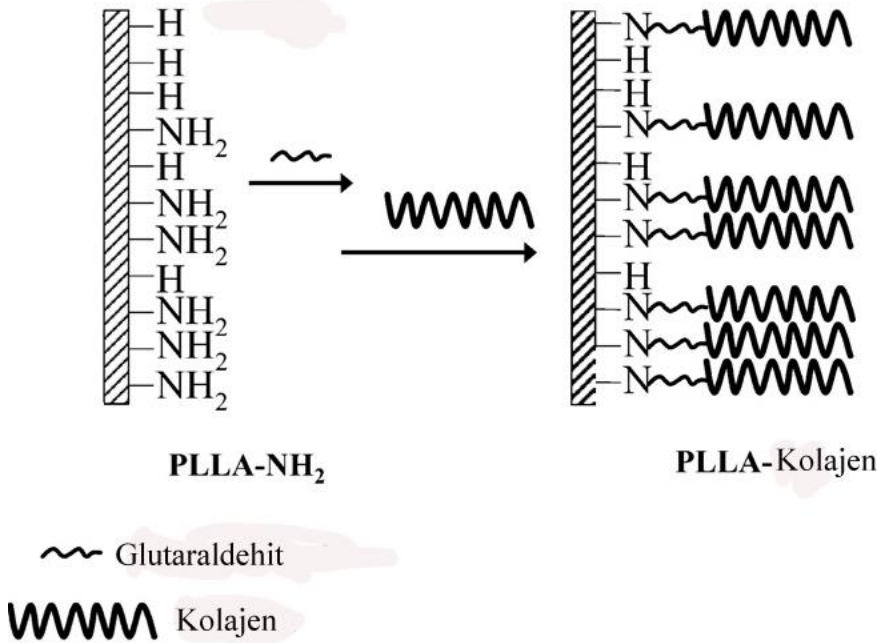


Şekil 2.14 Gama ışınından yararlanılarak PLA üzerine tek basamakta PAA ve kolajenin kovalent bağlanması (Referans Yang ve ark., 2003'den alınmıştır)

Cheng ve ark., PCL film yüzeyine Argon plazma muamelesi ve ardından oksijen maruz bırakarak üzerinde akrilik asidin polimerleşmesini sağlayacak peroksitlerin oluşmasını sağlamıştır. Akrilik asidin peroksitler oluşan PCL yüzeyinde polimerleştirilmesi UV ışını etkisiyle gerçekleştirilmiştir. PAA aşılansız PCL (PAA-PCL), daha sonra 1-Etil-3-(3-dimetilaminopropil) karbodiimide hidroklorür varlığında kolajen ile çapraz bağlanması gerçekleştirilerek kolajen immobilize olmuş PCL elde

edilmiştir (şekil 2.15). Aşılana kolajen XPS ve FTIR analizleri ile doğrulanmıştır ve hidrofilik ölçüsü su temas açısı analizi ile belirlenmiştir. FTIR analizinde kolajenin son ürünlerdeki varlığı, kolajende bulunan amit grubuna ait 1566 cm^{-1} 'deki pikin ortaya çıkması ile, XPS analizlerinde ise N atomuna ait pik ve O=C-N, C-N bölgelerindeki karbonların verdiği pikler ile kanıtlanmıştır. Bu çalışmada ayrıca kolajenin bağlama miktarının PAA aşılama sırasında kullanılan akrilik asit monomer konsantrasyonu ile doğru oranda arttığı belirtilmiştir. Temas açısı analizinde PCL'nin su temas açısı 66° olarak belirlenmiştir ve %9'luk akrilik asit ile PAA aşılama ve kolajen immobilize edilmiş son ürünün su temas açısının ise 45° 'ye düştüğü gözlemlenmiştir (Cheng ve Teoh, 2004b).

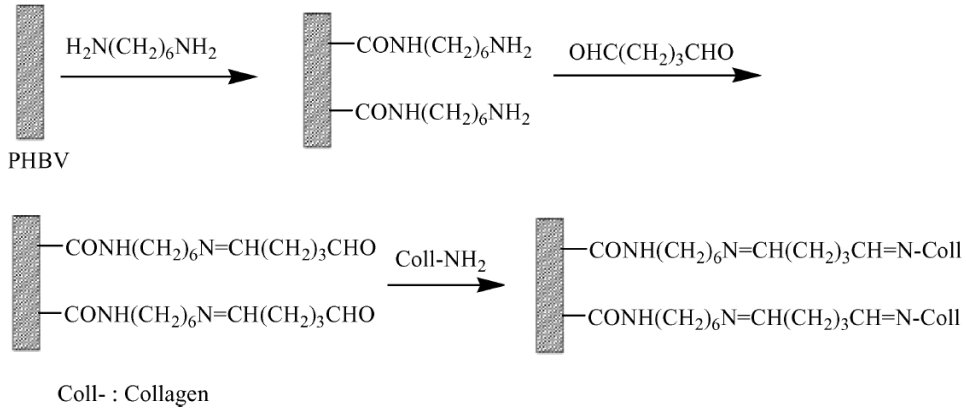
Tan ve ark., PLA filmi üzerine aminoliz reaksiyonu sonrasında glutaraldehit ile kolajeni kovalent olarak bağlamışlardır (Şekil 2.15). Bu çalışmada aminoliz reaksiyonu süresinin artması ile kolajen bağlanma oranının arttığı ve su temas açısının düştüğü görülmüştür (Tan ve ark., 2008).



Şekil 2.15. Aminoliz reaksiyonu ile hazırlanan PLA film üzerine glutaraldehit ile kolajen immobilizasyonu (Referans Tan ve ark. 2008'den alınmıştır)

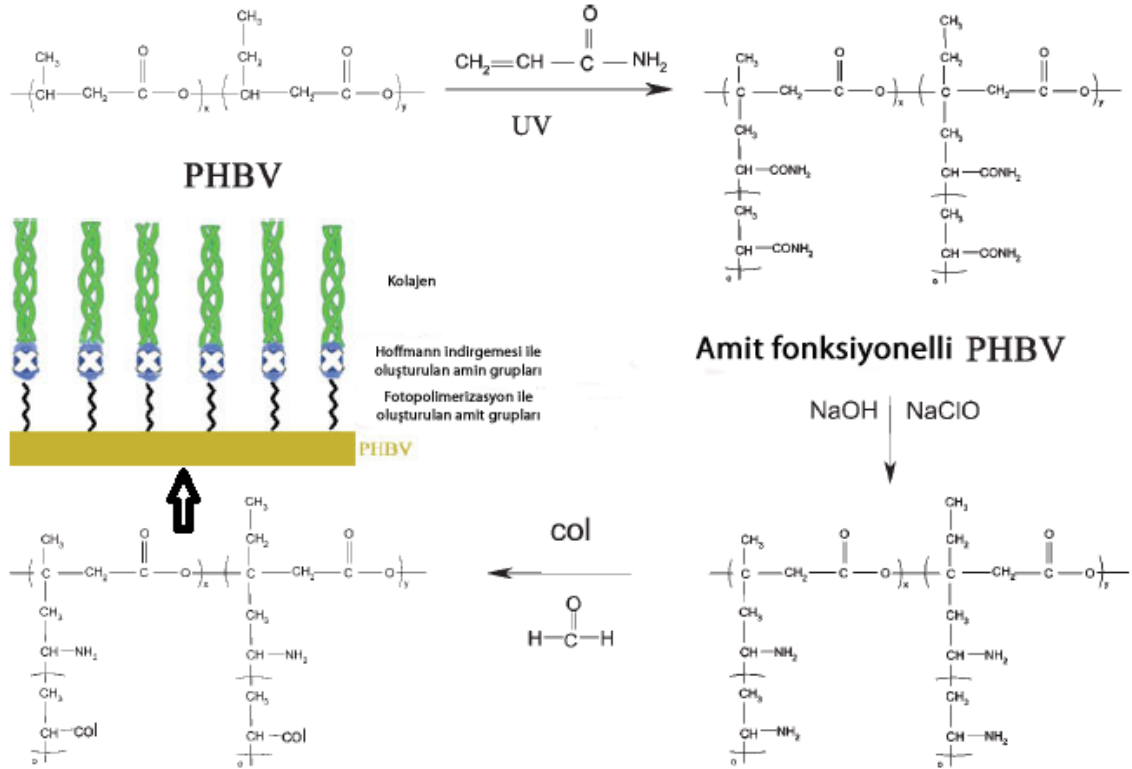
Wang ve ark., poli (3-hidroksibütirat-ko-3-hidroksivalerat) (PHBV) filmini 1,6-hekzandiamin/2-propanol çözeltisi içerisine daldırarak amin fonksiyonelli PHBV (PHBV-NH₂) hazırladıktan sonra glutaraldehit ile kolajen bağlanmasını gerçekleştirmişlerdir (şekil 2.16). PHBV-NH₂ hazırlaması basamağında kullanılan hekzandiaminin konsantrasyonuna

bağlı olarak artan kolajen bağlanma miktarı ve su temas açısının azaldığı görülmüştür(Wang ve ark., 2009a).



Şekil 2.16. PHBV filminin aminoliz reaksiyonu ve sonrasında glutaraldehit ile kolajenin bağlanması reaksiyonu (Referans Wang ve ark., 2009a'dan alınmıştır)

Aynı araştırma grubu PHBV filmini farklı iki basamaklı bir yöntem ile amin fonksiyonelli hale getirmiştir. Bu yöntemde önce Fotopolimerizasyon yöntemi ile PHBV zinciri üzerinde akril amit benzofenon fotobaşlatıcısı kullanılarak polimerleştirilmişlerdir ve bu sayede amit fonksiyonelli PHBV sentezlenmiştir. Hoffman indirgeme yöntemi ile amit grupları amin gruplarına indirgenmiş ve formaldehit ile birlikte kolajen bağlanması gerçekleştirilmiştir. Bu metod ve basamakları şekil 2.17'de gösterilmektedir(Wang ve ark., 2009c).

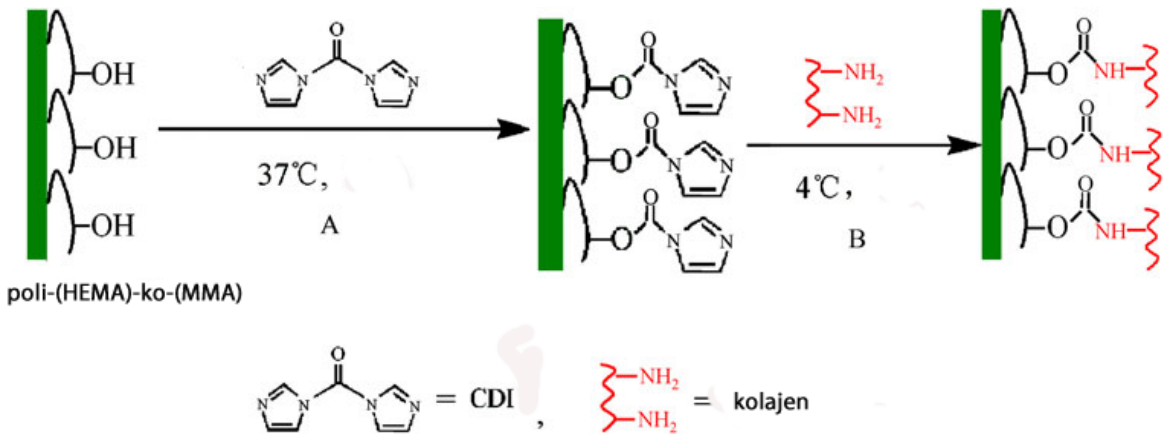


Kolajen ile modifiye edilmiş PHBV

Amin ile modifiye edilmiş PHBV

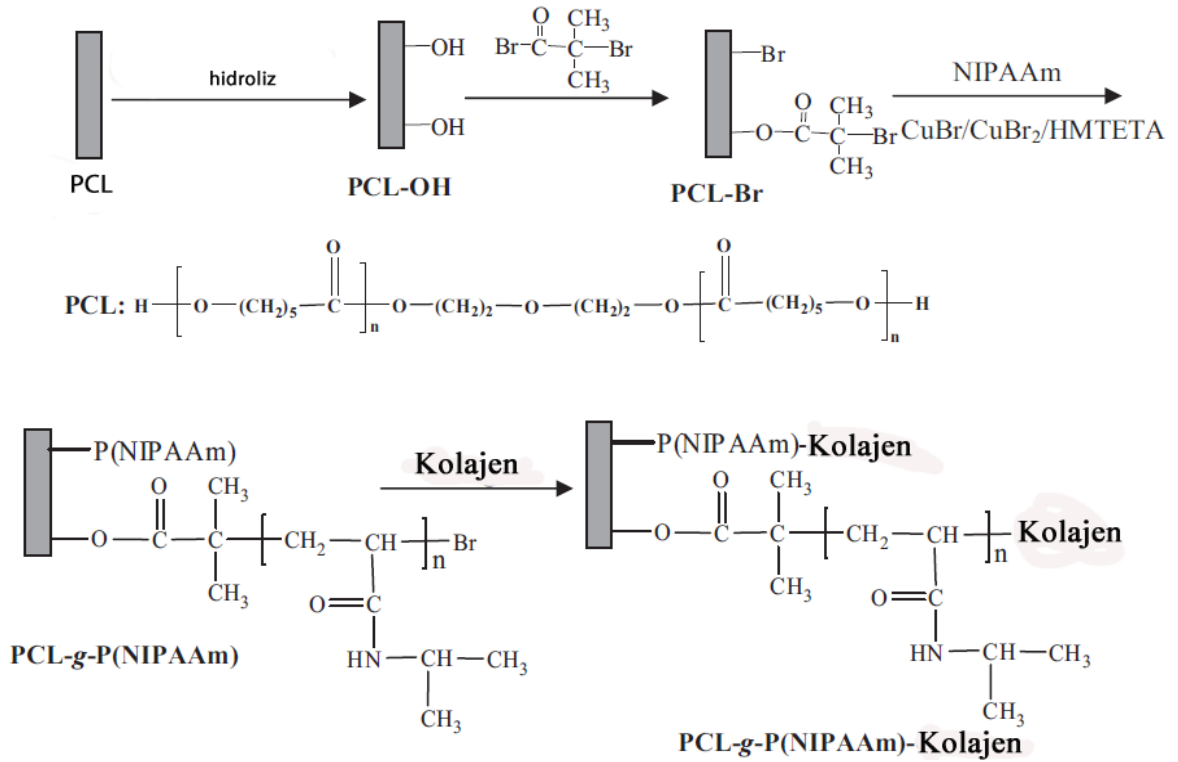
Şekil 2.17. Amit modifiye PHBV hazırlanması, amit gruplarının amine indirgenmesi ve kolajen immobilizasyonu (Referans Wang ve ark., 2009c'den alınmıştır)

Yan ve ark., Poli (hidroksietilmetakrilat-ko-metilmetakrilat) yüzeyindeki -OH gruplarını karbodiimid ajan ile aktive etkten sonra kolajen bağlamasını gerçekleştirmiştir. Bu reaksiyonlar da şekil 2.18'de gösterilmiştir (Yan ve ark., 2010).



Şekil 2.18. polimer yüzeyinin CDI ile aktive edilmesi ve sonrasında kolajenin kovalent olarak bağlanması reaksiyonu (Referans Yan ve ark., 2010'dan alınmıştır.)

Xu ve ark., kovalent bağlı PCL, NIPAM ve kolajenden oluşan ısıya duyarlı bağlı blok kopolimeri hazırlamak için öncelikle PCL film yüzeyindeki –OH ile 2-bromoizobütirili etkileştirerek Br fonksiyonelli PCL (PCL-Br) elde etmiştir. Bu aşamadan sonra PCL-Br yüzeyinde ATRP reaksiyonu ile NIPAM'ı polimerleştirerek PCL-PNIPAM blok kopolimerini daha sonra da –Br fonksiyonelli grubu üzerinden kolajeni kovalent olarak bağlamışlardır. Bu reaksiyon şematik olarak şekil 2.19'da gösterilmektedir(Xu ve ark., 2011).



Şekil 2.19. PCL yüzeyinin bromlamsı üzerine ATRP reaksiyonu ile NIPAM ın polimerizasyonu ve sonrasında kolajen immobilizasyonu (Referans (Xu ve ark., 2011'den alınmıştır.)

BÖLÜM 3

MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Materyal

Bu tez çalışmasında kullanılan tüm kimyasallar, markaları ve özellikleri aşağıda çizelge 1’de verilmiştir:

Çizelge 1. Kullanılan kimyasallar ve özellikleri

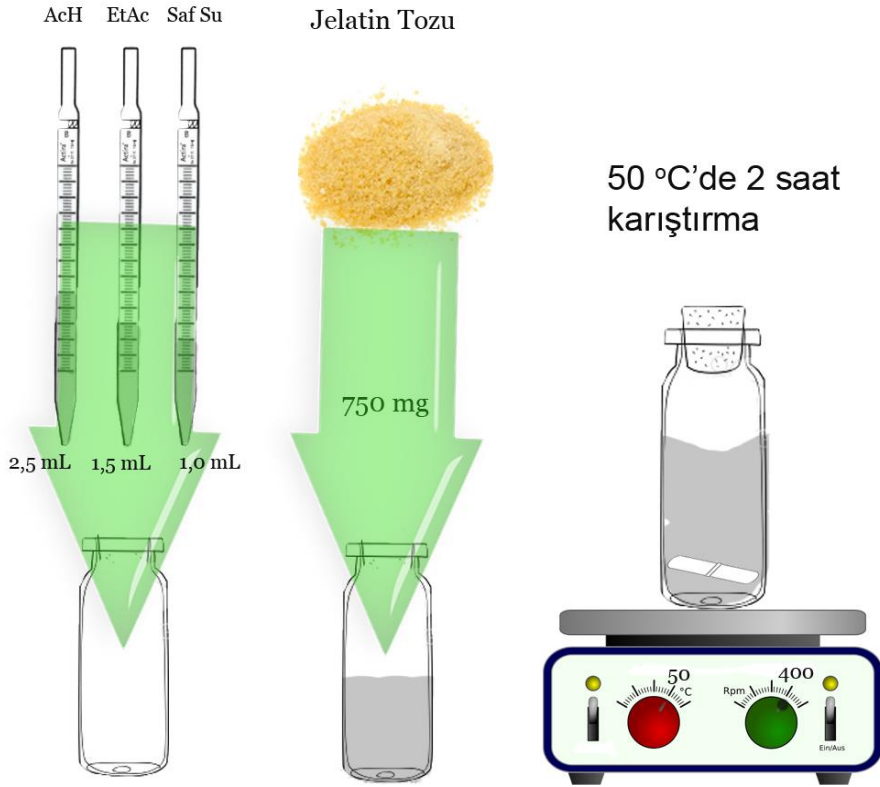
Kimyasal Adı	Marka ve Özellik
Jelatin	Alfasol 250 bloom
Asetik asit	% 100, Susuz, MERCK, EMSURE
Kolajen	Sıçan kuyruğunda izole edilmiş
Elastin from bovine neck ligament	Sigma Aldrich
Ethyl Acetate	%99.5, Merck, EMPROVE
Titanium(IV) isopropoxide	%97, Sigma Aldrich
Diklorometan	Merck, EMSURE
Ethyl alcohol	Merck, EMPLURA
ϵ - kaprolakton	%99, GmbH
Kalsiyum Hidrür	Sigma Aldrich
Molecular Sieve	Acros Organics
2-Hidroksietil metakrilat	%97, Sigma Aldrich
2,2-Dimetoksi-2-fenilasetofenon	%99, Sigma Aldrich
5,5-Ditiyobis(2-nitrobenzoik asit)	%98, Sigma Aldrich
1,1,1,3,3,3-trifloroizopropanol	%99, Sigma Aldrich
Döteryumoksit	Döteryum derecesi; %99, Sigma Aldrich
Kloroform-D	Döteryum derecesi %99, Sigma Aldrich
γ -Tiyobütürolakton	%98, Sigma Aldrich

3.2. Deneysel Yöntemler

3.2.1. Jelatin-PCL Ve Jelatin-Kolajen-Elastin-PCL Blok Kopolimerinin Jelatin Nanolif Yüzeyi Üzerinden Başlatılan Halka Açılması Polimerizasyonu ile Hazırlanması

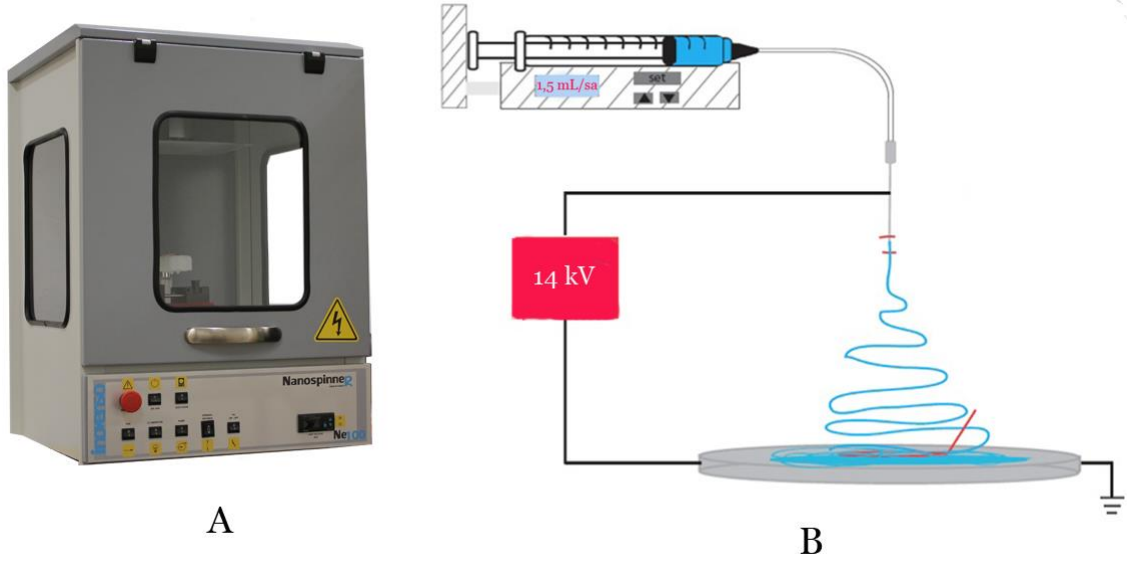
3.2.1.1. Jelatin Nanoliflerin Elektroğirme Yöntemiyle Hazırlanması

Öncelikle jelatinin elektroğirme işleminde kullanılacak çözeltisi için çözücü karışımı hazırlandı. Bu çözücü karışım daha önce Bisson ve ark.'nın kullandığı gibi asetik asit, etil asetat, su (5:3:2) ile hazırlandı. 5 mL'lik çözelti için 2,5 mL asetik asit, 1,5 mL etil asetat, 1 mL saf su kullanıldı. Daha sonra bu çözücü karışımı içerisinde 750 mg jelatin eklenip 50°C'de 2 saat karıştırılarak %15 (w/v)'lik çözeltisi hazırlanmış oldu.



Şekil 3.1. Jelatin elektroğirme çözeltisinin hazırlanması

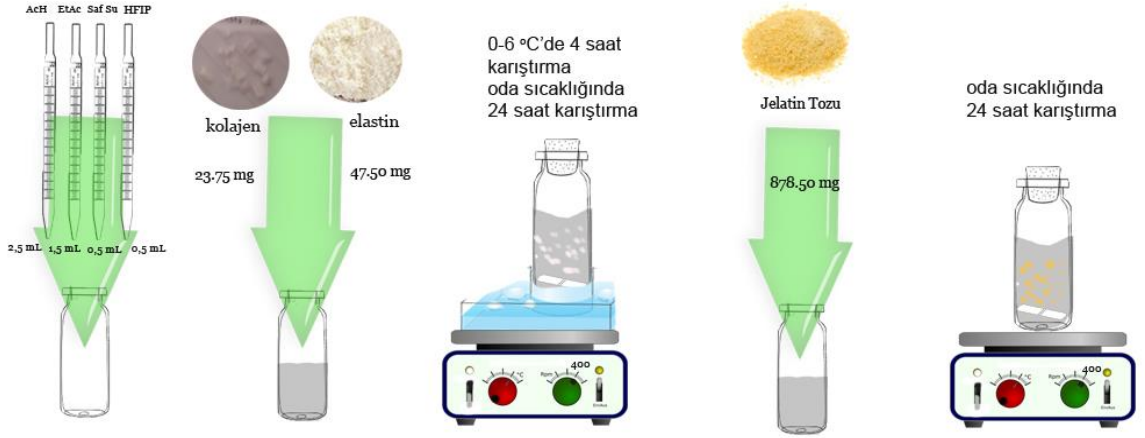
Hazırlanan bu çözelti 5 mL'lik şırınga içerisine koyuldu ve şırınga pompası ekipmanı içeren (New Era Pump Systems NE300) Inovenso NE100 elektroğirme cihazına yerleştirildi. Akış hızı 1,5mL/sa, uygulanan voltaj 14kV olarak ayarlandı ve tip ile toplayıcı arasındaki mesafe 13 cm'de tutularak 3 saat boyunca elektroğirme yapıldı.



Şekil 3.2. (A) Deneyleerde kullanılan elektroğirme cihazı ve (B) jelatin nanolifi üretimindeki elektroğirme parametreleri şekilsel gösterimi

3.2.1.2. Jelatin-Kolajen-Elastin Nanoliflerin Elektroğirme Yöntemiyle Hazırlanması

Öncelikle jelatin-kolajen-elastin karışımının elektroğirme işleminde kullanılacak çözeltisi için çözücü karışımı hazırlandı. Bu çözücü karışımı asetik asit, etil asetat, su, HFIP (5:3:1:1) ile hazırlandı. 5 mL'lik çözelti için 2,5 mL asetik asit, 1,5 mL etil asetat, 0,5 mL saf su, 0,5 mL HFIP kullanıldı. Bu çözücü karışımı içerisinde önce 23,75 mg kolajen ve 47,5 mg elastin ilave edildi ve buz banyosu içerisinde koyularak 0-6°C arasında 4 saat, oda sıcaklığında 1 gün karıştırıldı. Daha sonra çözelti içerisinde 878,50 mg jelatin tozu ilave edilerek oda sıcaklığında 1 gün karıştırılarak %19 (w/v)'lik çözeltisi hazırlanmış oldu.



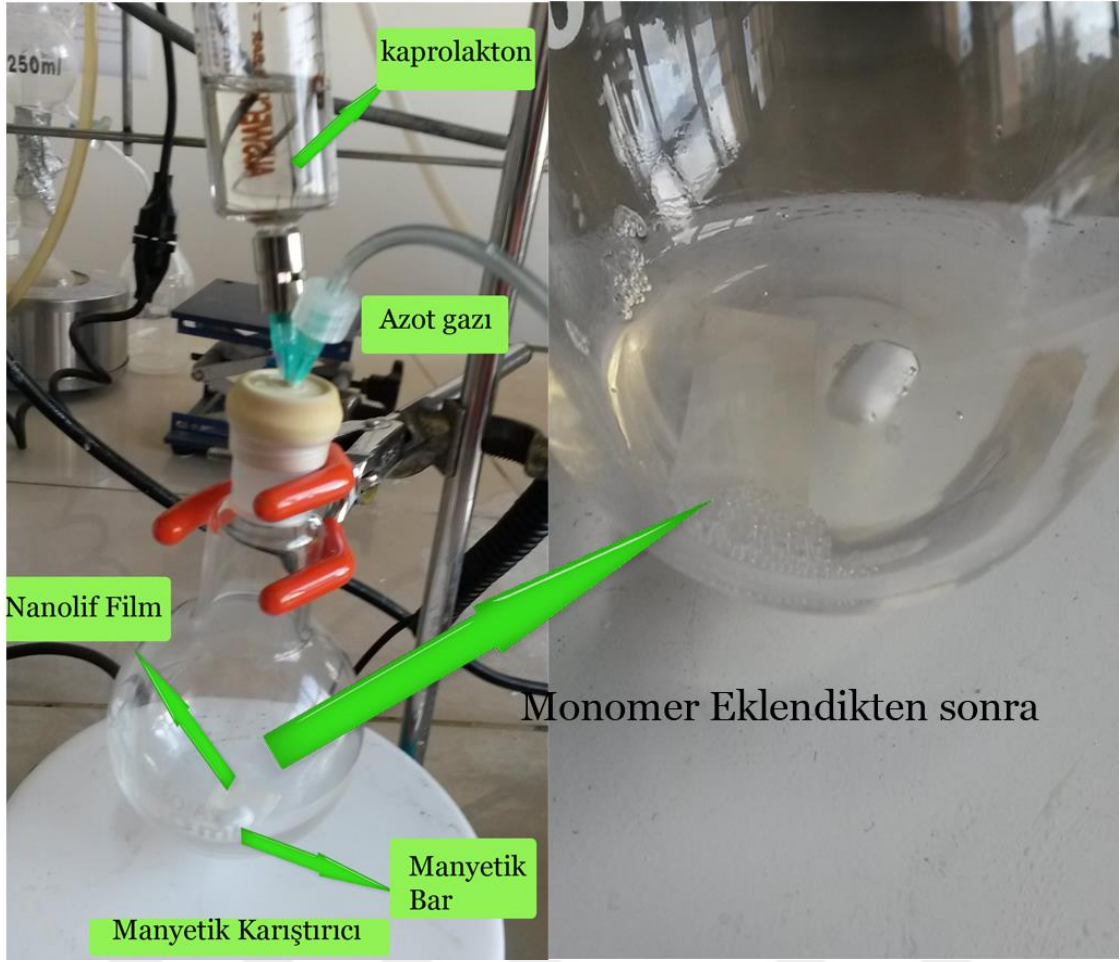
Şekil 3.3. Jelatin-kolajen-elastin elektroeğirme çözeltisinin hazırlanmasının şematik gösterimi

Hazırlanan bu çözelti 5 mL'lik şırınga içerisine koyuldu ve şırınga pompası ekipmanı içeren (New Era Pump Systems NE300) Inovenso NE100 elektroeğirme cihazına yerleştirildi. Akış hızı 1,5mL/sa, uygulanan voltaj 24kV olarak ayarlandı ve tip ile toplayıcı arasındaki mesafe 17 cm'de tutularak 3 saat boyunca elektroeğirme işlemi ile nanolifleri hazırlandı.

3.2.1.3. Nanolif Yüzeyinden ϵ - Kaprolaktonun Halka Açılması Polimerizasyonu ile Jelatin Poli (ϵ - Kaprolakton) Aşı Kopolimerinin Hazırlanması

Reaksiyonlar öncesinde monomer kalsiyum hidrür ile kurutulduktan sonra vakum altında destile edilerek suyu uzaklaştırılmıştır. Kurutulan monomer, moleküler sieve 4A ile birlikte saklanmıştır. Daha önce hazırlanan nanolifinden bir makas ile dikdörtgen şeklinde kesit alınmıştır ve reaksiyon öncesinde tartılmıştır. Dikdörtgen kesiti alınan nanolif parçası ince uçlu bir pens ile tutularak reaksiyon tüpünün dip kısmına koyulduktan sonra ortamdan su buharını tamamen uzaklaştırmak amacı ile önce 1mbar'a kadar vakum yapılmıştır ve reaksiyon tüpü içerisinden N_2 gazı geçirilmiştir. Bu işlem, ortamda su buharı ve oksijenin tamamen uzaklaşığına emin olunmak amacı ile 3 kez tekrarlanmıştır. Bu işlemden sonra 25 μ L IPT nanolif üzerine mikropipet ile damlatılmıştır. IPT, nanolif parça tarafında tamamen emildikten ve etkileştikten sonra N_2 gazı altında şırınga ile 1 mL ϵ -kaprolakton (CL) reaksiyon ortamına eklenmiştir. Reaksiyon süresinin oluşan malzemenin fiziksel yapısına etkisini gözlemlemek amacı ile jelatin nanolif ile farklı reaksiyon sürelerinde (1, 2, 4, 24 saat) deney tekrarlanmıştır. Jelatin-kolajen-elastin nanolifi ile yapılan tüm reaksiyonlar ise 24 saat sürdürülmüştür. Her bir deney sonunda oluşan PCL

homopolimerinin uzaklaştırılması için diklorometan ilave edilip nanolif reaksiyon ortamında çıkarılmıştır. Ardından yaklaşık 20'şer mL diklorometan ve etanol ile 3 kez yıkanarak oda koşullarında kurumaya bırakılmıştır. Daha sonra oda sıcaklığında 1 gün vakum etüvünde kurutulmuştur (Jelatin-kolajen-elastin nanolifi ile yapılan reaksiyonda yıkama için yalnızca diklorometan kullanılmıştır). Ayrıca kontrol numunesi olarak değerlendirmek üzere jelatin olmadan sadece ϵ - kaprolakton ile aynı koşullarda polimerizasyon yapılarak poli (ϵ -kaprolakton) (PCL) sentezlenmiştir. Bunun için de reaksiyon tüpü vakum altında 1 saat kurutulduktan sonra azot gazı ile doldurulmuştur daha sonra tekrar vakum uygulanıp azot geçirilmiş ve bu işlem 3 kez daha tekrar edilmiştir. Azot gazı akışı kesilmeden inert ortamda şırınga ile 1 mL ϵ -kaprolakton ve 25 μ L IPT reaksiyon tüpüne eklenmiştir ve 24 saat polimerizasyon reaksiyonu için bırakılmıştır. Elde edilen beyaz katı 2,5 mL diklorometanda çözüldükten sonra 50 mL metanolde çöktürülmüştür ve santrifüjlenmiştir. Santrifüjlenen tüpteki sıvı dekante edildikten sonra metanol ile 3 kez yıkayarak tekrar santrifüj ve dekantasyon işlemi yapılmıştır. Elde edilen ürün oda sıcaklığında 2 gün 40°C'de vakum etüvünde 1 gün bırakılarak kurutulmuştur. Kurutulan ürün tartılarak aşılana PCL miktarı hesaplanmıştır. Reaksiyonda kullanılan madde miktarları, reaksiyon koşulları ve her bir ürünün kodlaması tablo 2.'de verildiği gibidir. Reaksiyon düzeneği de şekil 3.4'de gösterilmektedir.



Şekil 3.4. Aşı polimerizasyon reaksiyon düzeneği

Çizelge 3.2. Örnek kodları, kullanılan madde miktarları ve reaksiyon koşulları tablosu

Örnek Kodu	Monomer	Başlatıcı	Katalizör	Çözücü	Sıcaklık (°C)	Süre (saat)
PCL	CL (1 mL)	-	iPT (25 µL)	-	25	1
JEL-PCL-1sa	CL (1 mL)	Jelatin Nanolif	iPT (25 µL)	-	25	1
JEL-PCL-2sa	CL (1 mL)	Jelatin Nanolif	iPT (25 µL)	-	25	2
JEL-PCL-4sa	CL (1 mL)	Jelatin Nanolif	iPT (25 µL)	-	25	4
JEL-PCL-24sa	CL (1 mL)	Jelatin Nanolif	iPT (25 µL)	-	25	24
PCL-KOL-ELA-GNF	CL (1 mL)	Jelatin-kolajen-elastin nanolif	iPT (25 µL)	-	4	48

3.2.2. Tiyol-en Klık Reaksiyonu ile PCL/Jelatin ve Jelatin-Kolajen-Elastin/PCL Yapılarının Hazırlanması

Bu reaksiyon ile blok kopolimerlerin hazırlanması için öncelikle tiyol grubu (-SH) içeren jelatin (JEL-SH) ve jelatin-elastin-kolajen (JEL-KOL-ELA-SH) ve vinil grubu fonksiyonelli PCL (PCL-Vin) hazırlanmıştır. Daha sonra bu iki makromoleküller yapı uygun başlatıcı ve reaksiyon ortamında foto-klık reaksiyonu ile bağlandıktan sonra karakterize edilmiştir. JEL-SH ile yapılan reaksiyon ile elde edilen ürün JEL-S-PCL, nanofiber ile yapılan ürün JEL-KOL-ELA-S-PCL şeklinde kodlanmıştır.

3.2.2.1. Tiyol Fonksiyonelli Jelatin Hazırlanması

JEL-SH hazırlanması için daha önce Russo ve ark.'nın kullandığı yöntem kullanılmıştır(Russo ve ark., 2016). Bunun için 0,5 g jelatin tozu 10 mL PBS (pH:7.4) bulunan 50mL'lik reaksiyon balonu içerisinde içerisinde 60°C'de ısıtıcılı manyetik karıştırıcıda karıştırılarak çözülmüştür. Ayrı bir beherde 200 µL tiyobütirolakton 10 mL etanol içerisinde oda sıcaklığında çözülmüştür. Jelatin çözeltisi içeren reaksiyon balonuna tiyobütirolakton çözeltisi yavaş yavaş şırınga ile damlatılarak eklenmiştir ve 24 saat reaksiyon için bırakılmıştır. Reaksiyon bitiminde balondaki çözelti pastör pipeti ile 250 mL metanol içerisine damlatılarak çöktürülmüştür. Çöken jelatin karışımın santrifüjlenmesi ve ardından dekantasyon ile ayrılmıştır. Ayrılan jelatin, metanol ile 3 kez yıkanmış ve aynı santrifüjleme-dekantasyon işlemi uygulanarak tiyobütirolaktonun fazlası uzaklaştırılmıştır. Ürün daha sonra açık havada 1 gün ve vakum etüvünde oda sıcaklığında 1 gün kurutulmaya bırakılmıştır.

3.2.2.2. Tiyol Fonksiyonelli Jelatin-Kolajen-Elastin Nanolifinin Hazırlanması

Nanoliflerin yüzeyinde -SH grupları oluşturmak üzere ise dikdörtgen şeklinde kesilen nanofiber içerisinde 10 mL'de 25 µL tiyobütirolakton çözülmüş reaksiyon balonu içerisine koyulmuştur ve oda sıcaklığında 24 saat çalkanarak reaksiyon sürdürülmüştür. Reaksiyon sonrasında nanolif bir pens yardımıyla çıkarılıp beher içerisinde diklorometan ile yıkandıktan sonra tiyol-en reaksiyonuna kadar ağzı kapaklı bir kaptaki diklorometan içerisinde bekletilmiştir. Elde edilen ürünlerden JEL-KOL-ELA nanolifi ile hazırlananı ise JEL-KOL-ELA-NF-SH şeklinde etiketlenmiştir.

3.2.2.3. Vinil Modifiyeli PCL'nin Hazırlanması

Vinil fonksiyonel grubu (C=C) içeren PCL sentezi daha önce Taşdelen-Yücedağ ve ark.'nın kullanmış olduğu yöntem ile hazırlanmıştır(Taşdelen-Yücedağ ve Erciyes, 2014). Bunun için, 125 µL HEMA (aktif bazik alümina kolonundan geçirilmiş ve MgSO₄ ile kurutulmuş) ve 25µL kalay (II) oktoat daha önce vakumlanmış ve azot gazı ile doldurulmuş şlenk tüpüne azot gazı altında cam şırınga ile ilave edildikten sonra manyetik karıştırıcılı ısıtıcı ile 60°C'de 1 saat karıştırılmıştır. Üzerine daha sonra 5 mL ε-kaprolakton monomeri azot gazı altında ilave edildikten sonra reaksiyon sıcaklığı 140°C'ye çıkarılmıştır ve 4 saat reaksiyon için karıştırılmıştır. Reaksiyon sonrasında oda sıcaklığına geldiğinde katılaşmış ürün önce 10 mL diklorometan çözülmüştür ve daha sonra 250 mL metanolde çöktürülmüştür. Çöken ürün daha sonra 3 kez metanolde yıkanmıştır. Yıkama işlemi santrifüjleme ardından dekantasyon işlemi ile yapılmıştır. Ürün oda sıcaklığında 1 gün vakum etüvünde 40°C'de 1 gün kurutulmuştur. Elde edilen son ürün PCL-Vin şeklinde etiketlenmiştir.

3.2.2.4. Tiyolleme Reaksiyonlarının Ellman Testi ile Doğrulanması

Proteinler üzerindeki -SH gruplarının belirlenmesi için Ellman testi olarak bilinen yöntem kullanılmıştır. Bu testte ditiyobis (nitrobenzoik asit) (DTNB) -SH grubu içeren protein ile etkileşerek protein yapısına bağlanır ve S-S bağından dolayı sarı bir renkte ürün elde edilir. Ayrıca ¹HNMR analizi yapıldığında yapıya bağlanan DTNB nedeniyle aromatik protonlara ait pikler görülür. Bu test, Russo ve ark.'nın kullandığı yöntem referans alınarak yapılmıştır(Russo ve ark., 2014). Bunun için öncelikle 4 mg DTNB, daha önce tablet ile hazırlanmış olan 2,5 mL PBS çözeltisi (pH: 7.4) içerisinde 40°C'de ultrasonik banyoda 5 dk bekletilerek çözülmüştür. daha sonra 10 mg tiyollenmiş madde bu çözeltinin içerisine ilave edilmiştir. Reaksiyon sonrası sarı renkte çözelti oluşmuştur. Bu test ayrıca kontrol numunesi için tiyolleme reaksiyonu yapılmamış saf jelatin ile de aynı şekilde yapılmıştır. Sarı renkli çözelti bir petri kabına dökülmüştür ve çözücü tamamen uçtuktan sonra sarı renkli madde bol miktarda etanol ile 3 kez yıkandıktan sonra oda sıcaklığında kurutulmaya bırakılmıştır.

3.2.2.5. Tiyol-en Foto Klik Reaksiyonu

Tiyol-en foto-klik reaksiyonu JEL-SH ile PCL-Vin, JEL-KOL-ELA-NF-SH ile PCL-Vin arasında olmak üzere 2 farklı şekilde uygulanmıştır. Bu reaksiyonlar için Russo ve ark.'nın yaptığı çalışmadaki reaksiyon koşulları referans alınmıştır(Russo ve ark., 2014).

JEL-SH ile PCL-Vin arasında yapılan tiyol-en foto kilik reaksiyonu için 50 mg JEL-SH, ağzı kapalı bir kap içerisinde 3:2 oranında karışmış 5 mL asetik asit:HFIP içerisinde karıştırılarak berrak çözeltisi hazırlanmıştır. 1 mg fotobaşlatıcı DPAP (2,2-dimetoksi-2-fenilasetofenon) ve 50 mg PCL-Vin, manyetik bar ile şilifli quartz tüp içerisine koyulmuştur ve tüpün kapağı bir septum ile kapatılmıştır. Tüp içerisine azot gazı verildikten sonra azot gazı geçerken bu tüpün içerisine daha önce hazırlanan JEL-SH çözeltisi şırınga ile eklenmiştir. Maddeler eklendikten kısa bir süre sonra tüm katı maddelerin çözündüğü şeffaf ve berrak bir çözelti oluştuğu görülmüştür. Bu berrak çözelti manyetik karıştırıcı bulunan fotoreaktöre koyularak reaksiyon başlatılmıştır. 2 saatlik reaksiyon sonrasında hafif sarıya dönüşen çözelti bir petri kabına dökülmüştür ve çözücünün tamamen uzaklaşması beklenmiştir. Elde edilen katı madde reaksiyona girmeyen JEL-SH ve fotobaşlatıcının uzaklaştırılması amacıyla bol su ile 3 kez yıkanmıştır. Son ürün JEL-S-PCL olarak kodlanmıştır.

JEL-KOL-ELA-NF-SH ile PCL-Vin arasındaki reaksiyon için, 1 mg fotobaşlatıcı DPAP (2,2-dimetoksi-2-fenilasetofenon) ve 20 mg PCL-Vin, manyetik bar ile şilifli quartz tüp içerisine koyulmuştur. Tüp içerisine daha önceden hazırlanmış ve DCM içerisinde bekletilen tiyollenmiş nanolif bir pens yardımıyla quartz tüp içerisine koyulmuştur ve üzerine 2,5 mL yeni DCM eklenmiştir. Tüpün ağzı kapatılarak fotoreaktöre reaksiyon için koyulmuştur. 2 saatlik reaksiyon sonrasında nanolif pens ile tüp içerisinden çıkarıldıktan sonra DCM ile 3 kez yıkanmıştır.

3.3. Karakterizasyon Metodları

3.3.1. Taramalı Elektron Mikroskopu (SEM) Analizi

Hazırlanan yapıların yüzey morfolojisi JEOL JSM-7100-F SEM cihazı ile 15kV voltaj uygulanarak görüntülenerek yapılmıştır.

3.3.2. Enerji Dağılımlı X-Işını (EDX) Analizi

Hazırlanan yapıların yüzeyindeki polimer ve protein bölgelerindeki elementlerin analizi SEM cihazına bağlı Oxford Instruments X-Max EDX dedektörü ile belirlenmiştir.

3.3.3. Fourier Dönüşümlü Kızıl Ötesi (FTIR) Analizi

Ürünlerin ve modifikasyonsuz maddelerin kimyasal yapısının aydınlatılması amacıyla FTIR spektrumları alınmıştır. Bu spektrumlar Perkin Elmer Fourier Transform Infra-Red Spectrum One cihazı ile alınmıştır. Spektrumlar $650-4000\text{ cm}^{-1}$ aralığında 2cm^{-1}

çözünürlükte alınmıştır.

3.3.4. Raman Spektrum Analizi

Ürünlerin ve modifikasyonsuz maddelerin yapısının aydınlatılması amacıyla Raman spektrumları WITEC Alpha 300 RA cihazı ile alınmıştır. Spektrumlar, 532 nm'lik lazer ve 50X objektif kullanılarak 100-4000 cm^{-1} aralığında alınmıştır.

3.3.5. Nükleer Manyetik Rezonans (NMR) Analizi

Kimyasal yapı analizinde çözünebilen formdaki ürünlerin analizi proton NMR ile gerçekleştirilmiştir. Yaklaşık 10 mg numune 650 μL uygun döteryumlu çözücüde (jelatin için D_2O 'da 50°C 'de, PCL için CDCl_3 oda sıcaklığında) çözülerek JEOL ECX 400 NMR cihazında spektrumları kaydedilmiştir.

3.3.6. Termogravimetrik Analiz (TGA)

Numunelerin termal bozunma ile karakterizasyon X cihazı ile 600°C 'ye kadar $5^\circ\text{C}/\text{dk}$ ısıtma hızında ve azot atmosferi altında yapılmıştır.

3.3.7. Su Temas Açısı Analizi

Malzemelerin hidrofilik derecesindeki değişim su temas açısı analizi ile yapılmıştır. Bu analiz için numunelerin asetik asit içerisinde çözeltisi hazırlandıktan sonra cam (76x22 mm) üzerine Laurell EDC-650-15B marka spin coater cihazı ile 3000 rpm'de 45 sn süresince ince filmi şeklinde kaplanmıştır. Cam üzerine kaplanan malzemeler daha sonra vakum etüvünde 40°C 'de 1 saat süre ile kurutulmuştur. Polimer yüzeylerindeki statik temas açıları, bilgisayar kontrollü, otomatik şırınga (hassasiyet; $\pm 1^\circ$) bulunan Attension Theta temas açısı cihazı ile ölçülmüştür. Denge temas açısı değerleri ve (qe) şırıngadan su damlatıldıktan 2 saniye sonrasında ölçülen değerlerdir.

3.3.8. Çözünme Testi

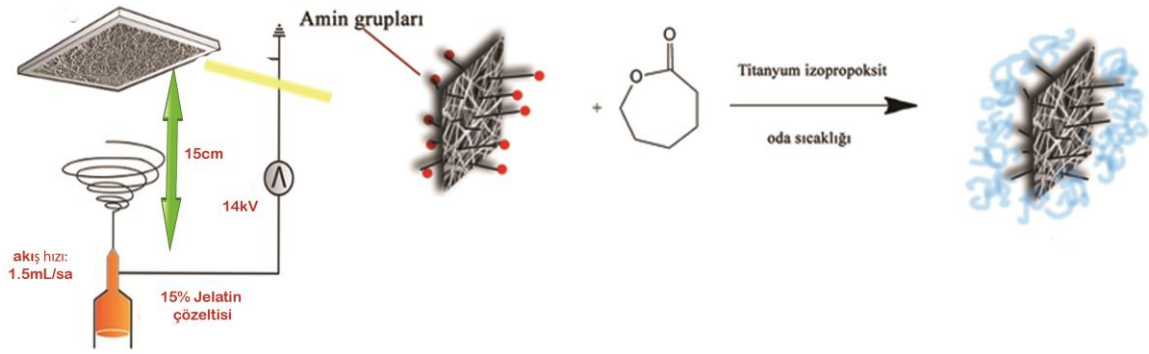
Hazırlanan yeni malzemelerin ve modifiye edilmemiş saf maddelerin suda çözünüp çözünmediğini ve suya karşı dayanıklılığının test edilmesi için pH değeri 7.4 olan olan fosfat tampon çözeltisi içerisine koyularak gözlemlenmiştir. Malzemenin sudaki görünümünün nasıl olduğu gösterilmek üzere suya daldırmadan önceki ve sonraki fotoğrafları çekilerek gösterilmiştir.

BÖLÜM 4

ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

4.1. Nanolif Yüzeyi Üzerinden Başlatılan Halka Açılması Polimerizasyonu ile hazırlanan Jelatin-PCL Blok Kopolimerleri

JEL-PCL blok kopolimeri jelatin üzerindeki $-NH_2$ grupları ve titanyum(IV) izopropoksit başlatıcı sistemi ile jelatin nanolif üzerinde halka açılması polimerizasyonu ile şekil 4.1’de gösterildiği reaksiyon ile hazırlanmıştır.



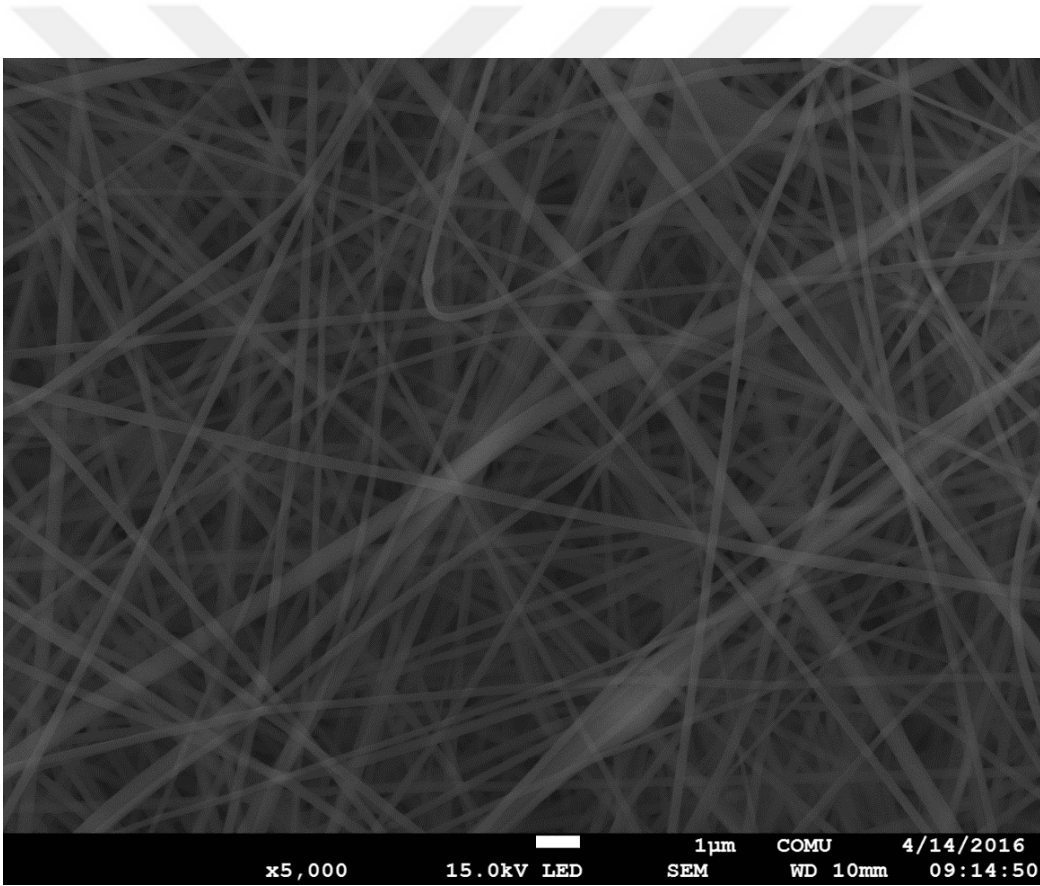
Şekil 4.1. Jelatin nanolifin hazırlanması ve halka açılması polimerizasyonu ile nanolif yüzeyine PCL bağlanması

4.1.1. SEM ve EDX analizi ile Yüzeydeki PCL analizi

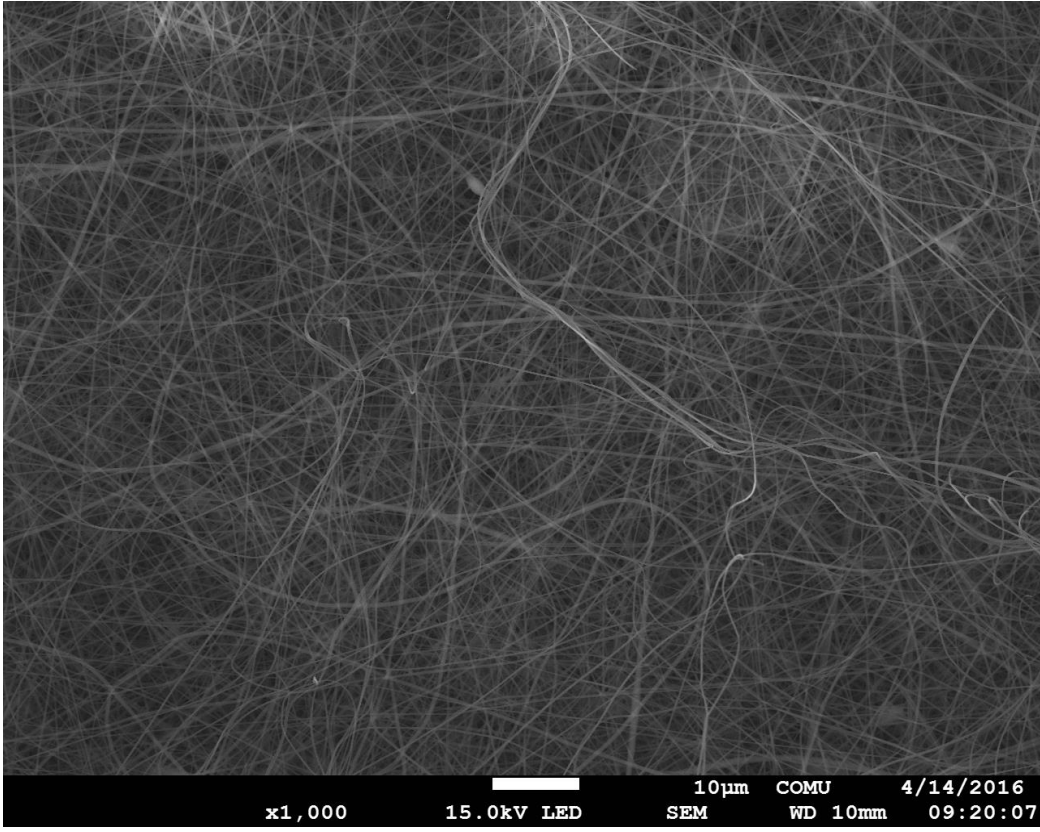
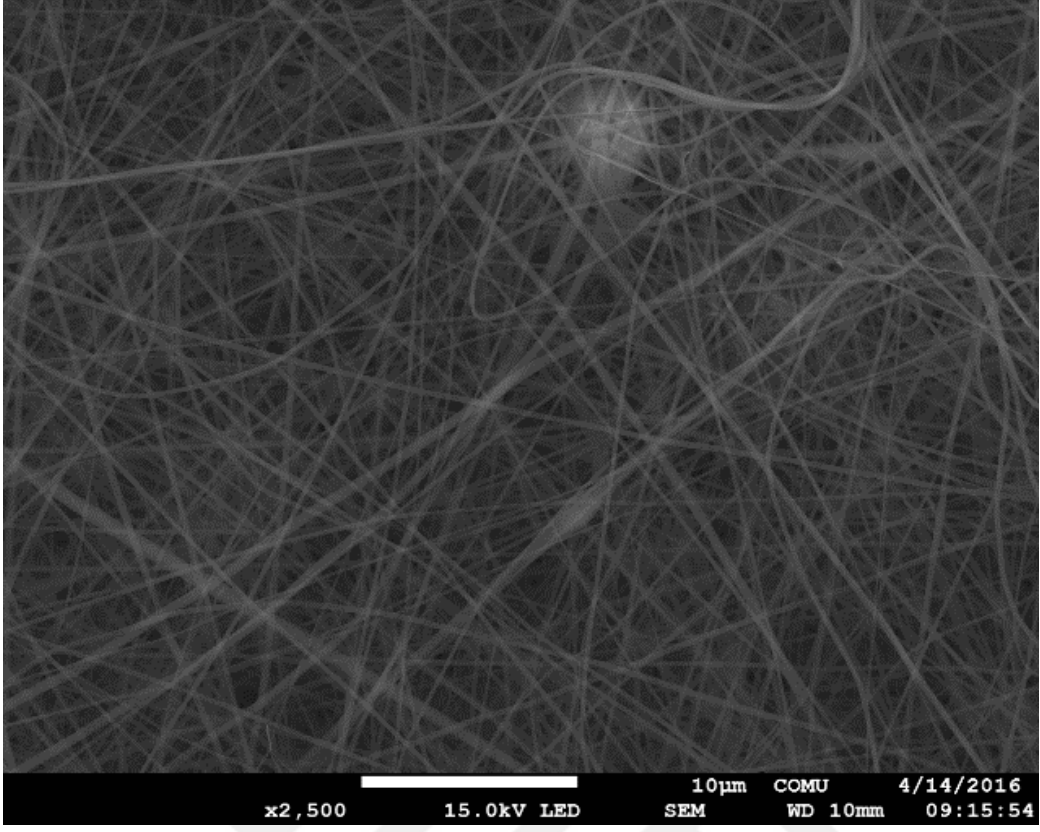
Jelatin nanoliflerinin ve nanolifler üzerinde başlatılan reaksiyon sonucu oluşan PCL bölümlerinin görüntülenmesi amacıyla farklı sürelerdeki reaksiyonlarla hazırlanan JEL-PCL-1sa, JEL-PCL-2sa, JEL-PCL-4sa, JEL-PCL-24sa ürünlerin SEM görüntüleri alınmıştır. Ayrıca PCL’ye ait olduğu düşünülen bölümler ile jelatine ait olduğu düşünülen bölümlerin elementel analizi C, O ve N elementleri göz önünde bulundurularak EDX ile analiz edilmiştir.

Reaksiyon öncesinde hazırlanan jelatin nanoliflerinin SEM görüntüleri Şekil 4.2’de gösterilmiştir. 1 saatlik halka açılması polimerizasyonu sonrasında bu liflerin kalınlaştığı ve bazı bölgelerde lif yapısında olmayan PCL’a ait kütleli bölgelerin oluştuğu görülmüştür (Şekil 4.3). Bu yapı üzerindeki bu bölümlerin PCL’ye ait olduğunu desteklemek için EDX analizi yapılmıştır. Şekil 4.7’de JEL-PCL-1sa’ın bir bölgesi üzerinde 3 farklı alanda (A, B ve C) EDX spektrumları alınmıştır. A, B, C alanlarında sırasıyla jelatin nanolifleri, jelatin nanolif ile bir miktar PCL ve lif yapısında olmayan kütleli PCL bölümleridir. Spektrum A yalnızca jelatin içeren bölgeye aittir ve hesaplanan

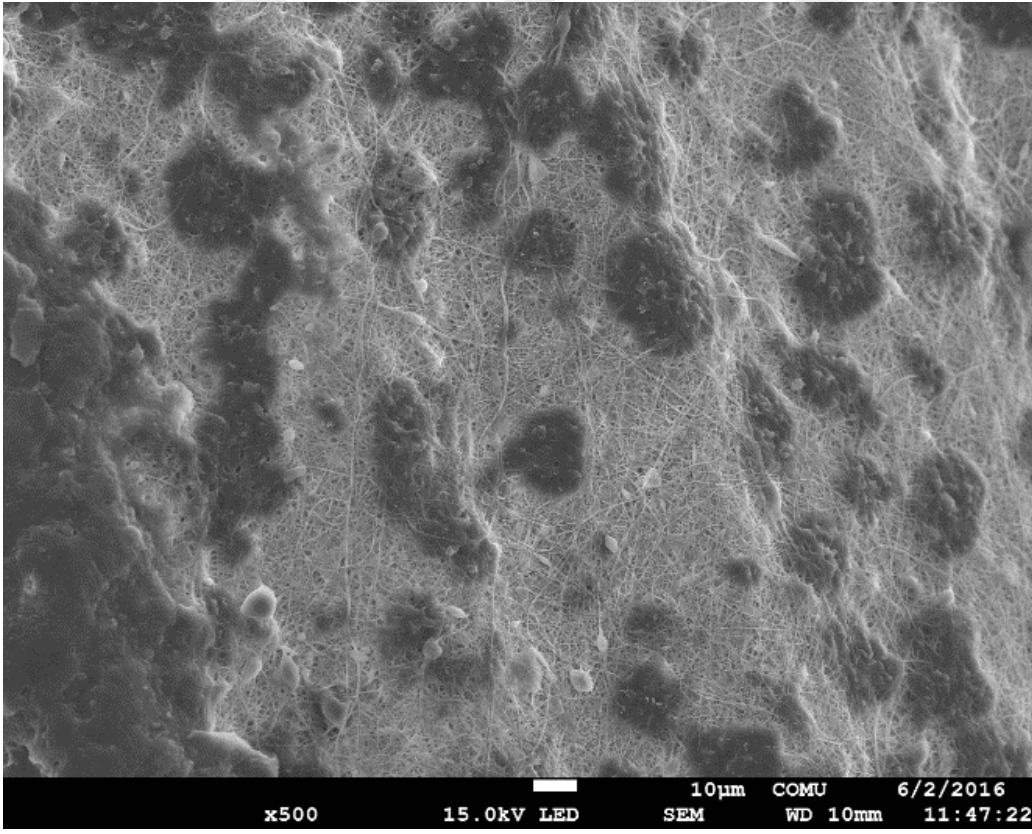
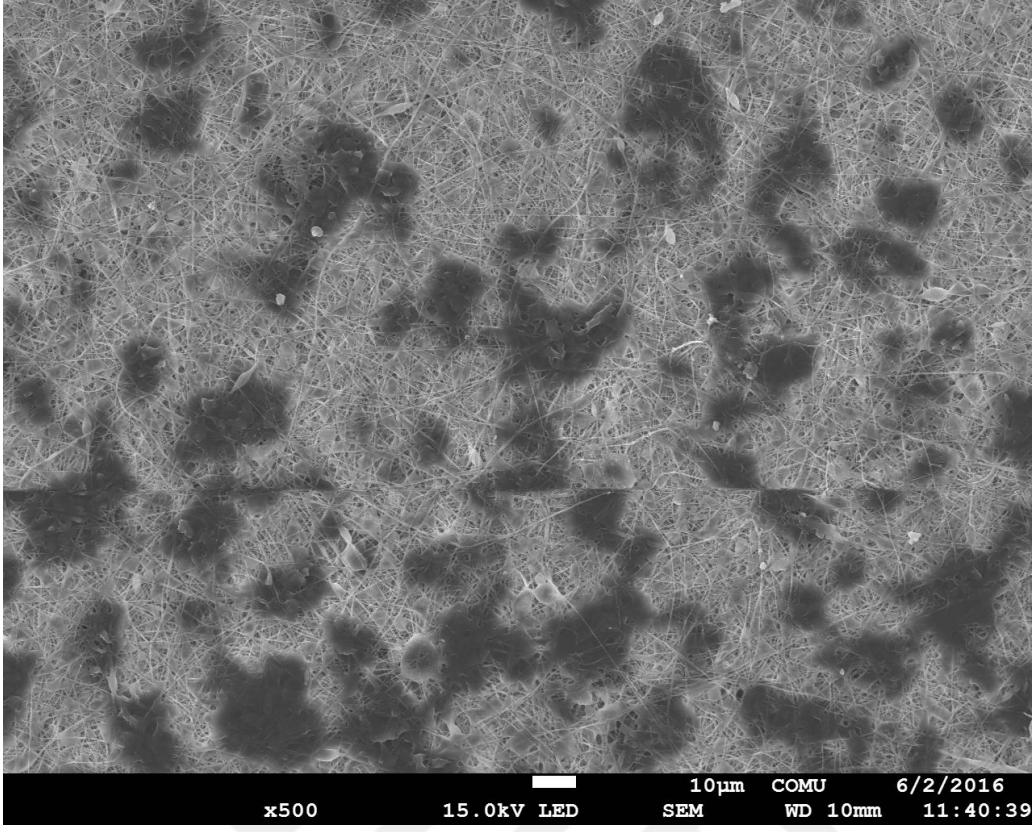
atom oranları C için %68,3, N için 17,9, O için %13.6 şeklindedir. PCL ve jelatin nanolifi beraber içeren bölgeye ait olan Spektrum B'de N oranının %5.7'ye düştüğü ve karbon oranının da %84'e yükseldiği görülmüştür. Tamamıyla koyu renkte kütleli PCL bölgesine ait olan Spektrum C'de ise N oranının 0'a düştüğü görülmektedir. PCL'ye ait olduğu düşünülen bölümlerin artması ile PCL'nun yapısında N atomu bulundurmaması ve alifatik uzun zincirleri sahip olması nedeniyle N oranının düştüğü ve C oranının arttığı düşünülmektedir. Böylece lif üzerindeki bu koyu renkteki katı ve lif yapısında olmayan bölümlerin PCL'ye ait olduğu desteklenmiş oldu. Reaksiyon süresi 2 ve 4 saat olarak arttırıldığında PCL'ye ait bölümlerin arttığı ve nanolif bölgelerinin daha da kalınlaştığı görülmüştür. 24 saat reaksiyon sonunda ise liflerin üzerinde büyüyen PCL yapısının yüzeyi tamamen kapladığı görülmüştür.



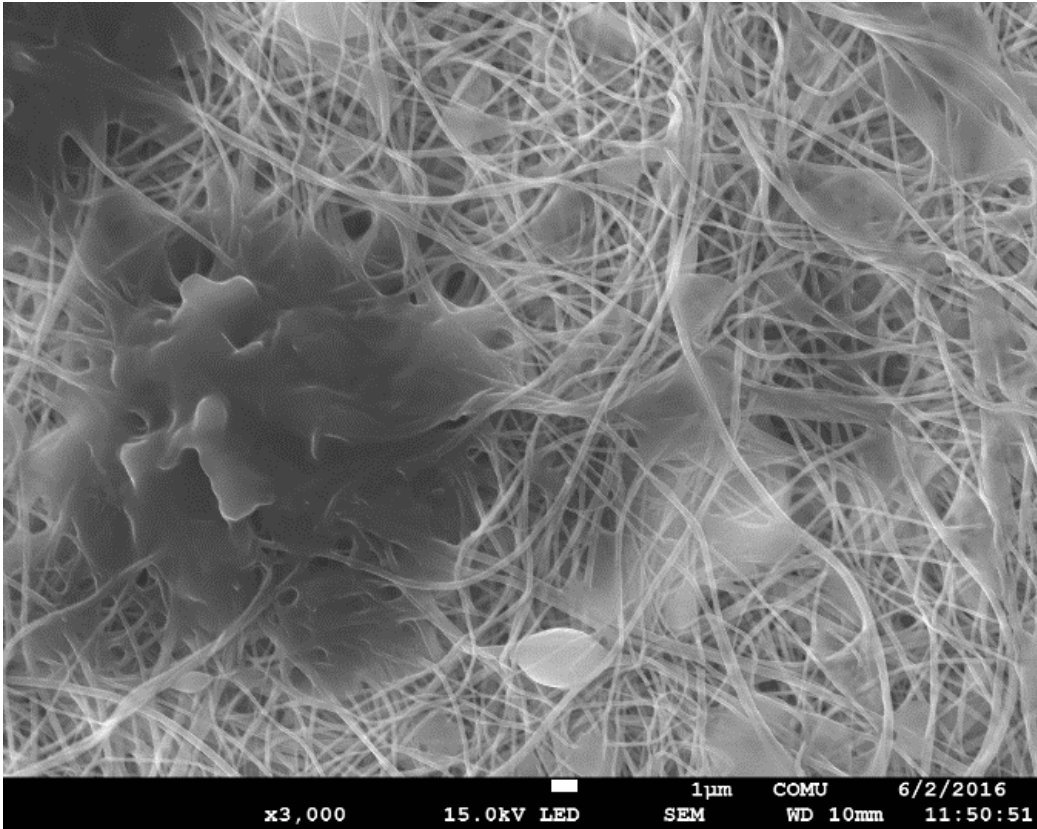
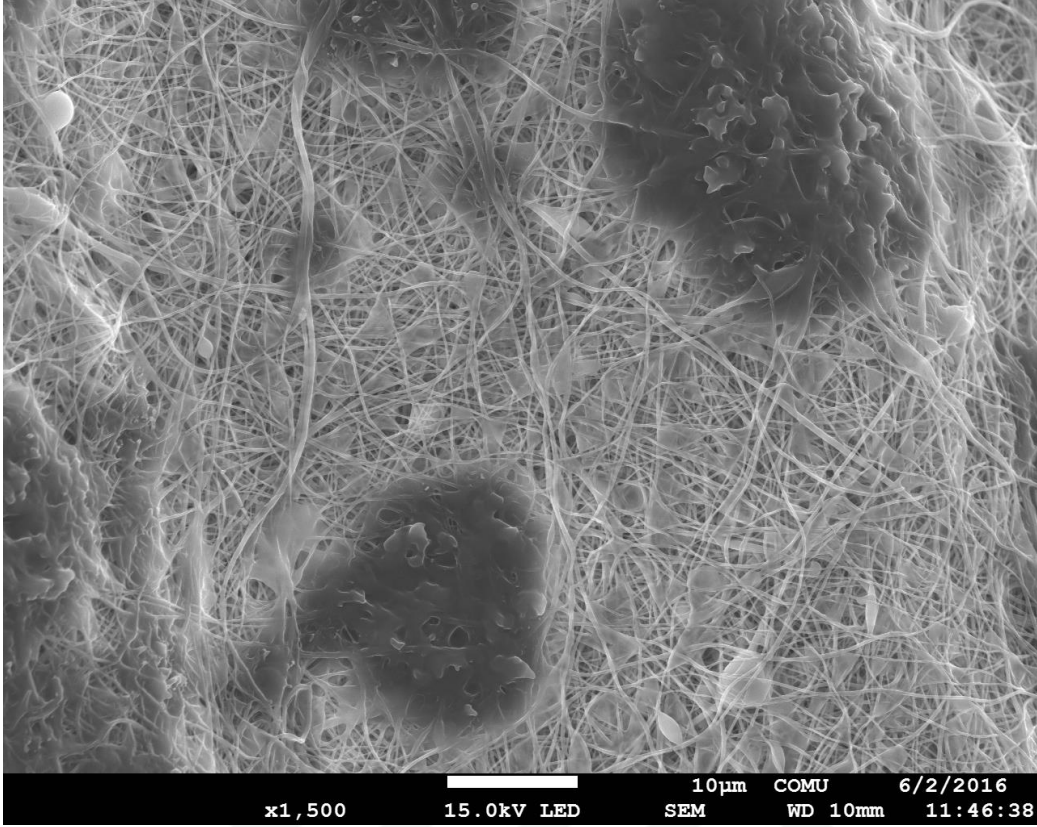
Şekil 4.2. Hazırlanan jelatin nanoliflerinin SEM görüntüleri



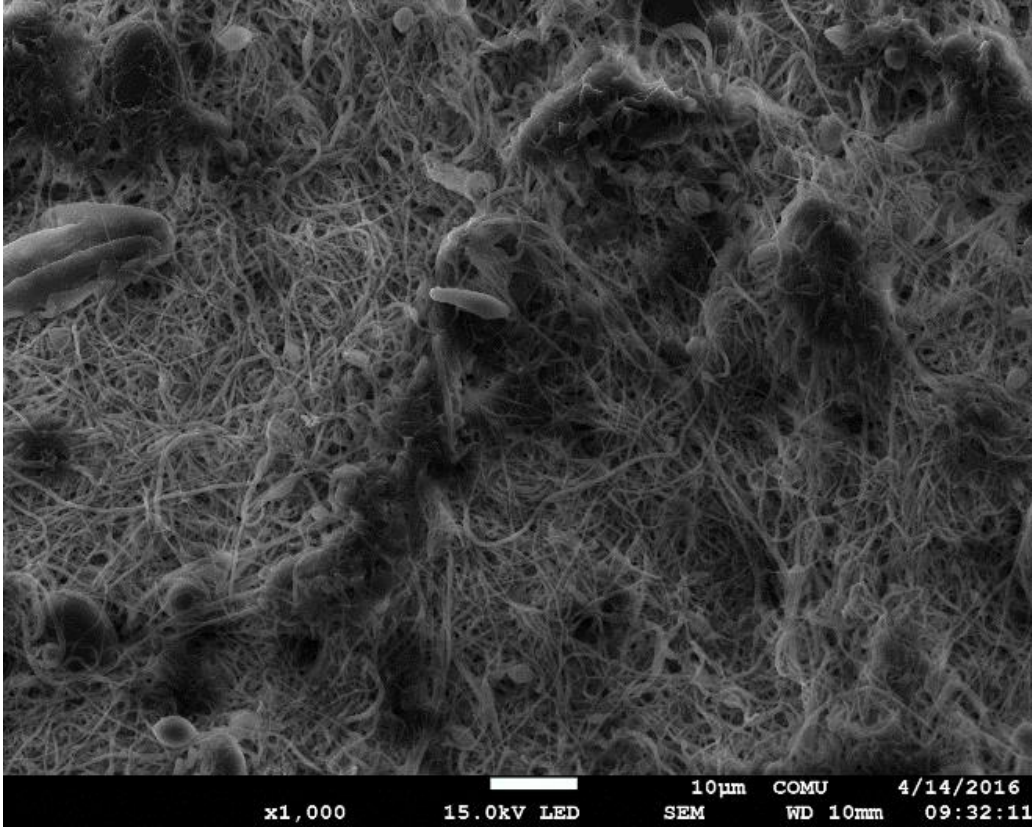
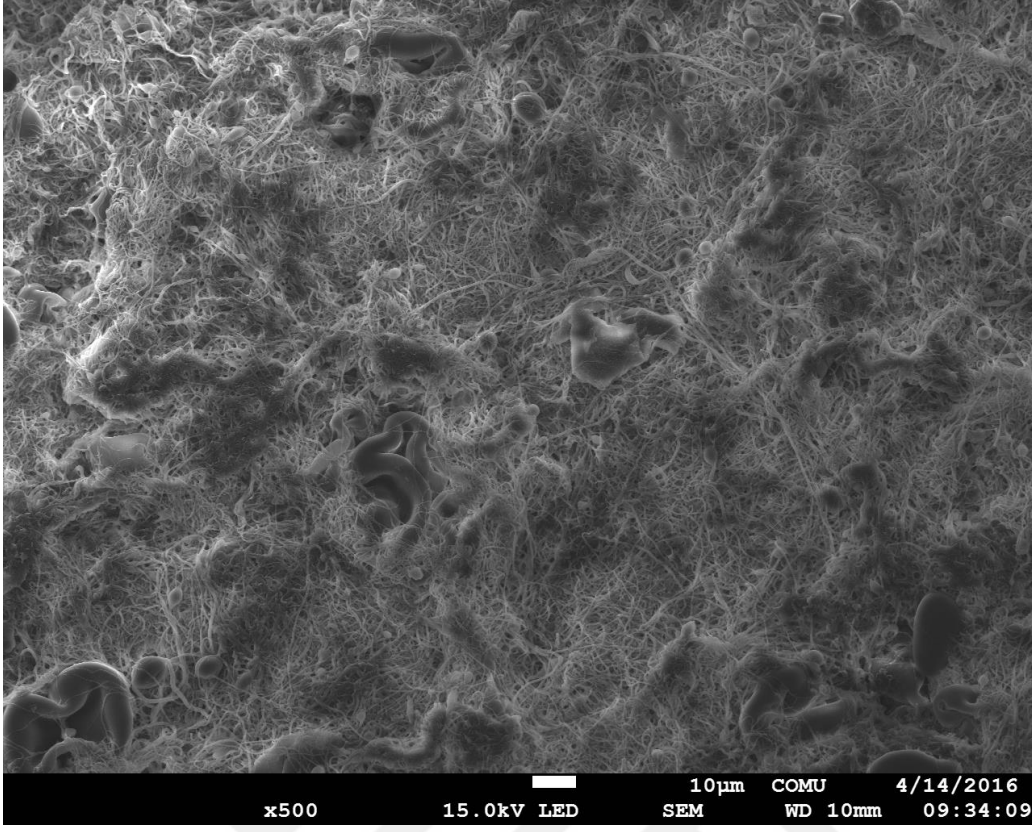
Şekil 4.2.'nin devamı



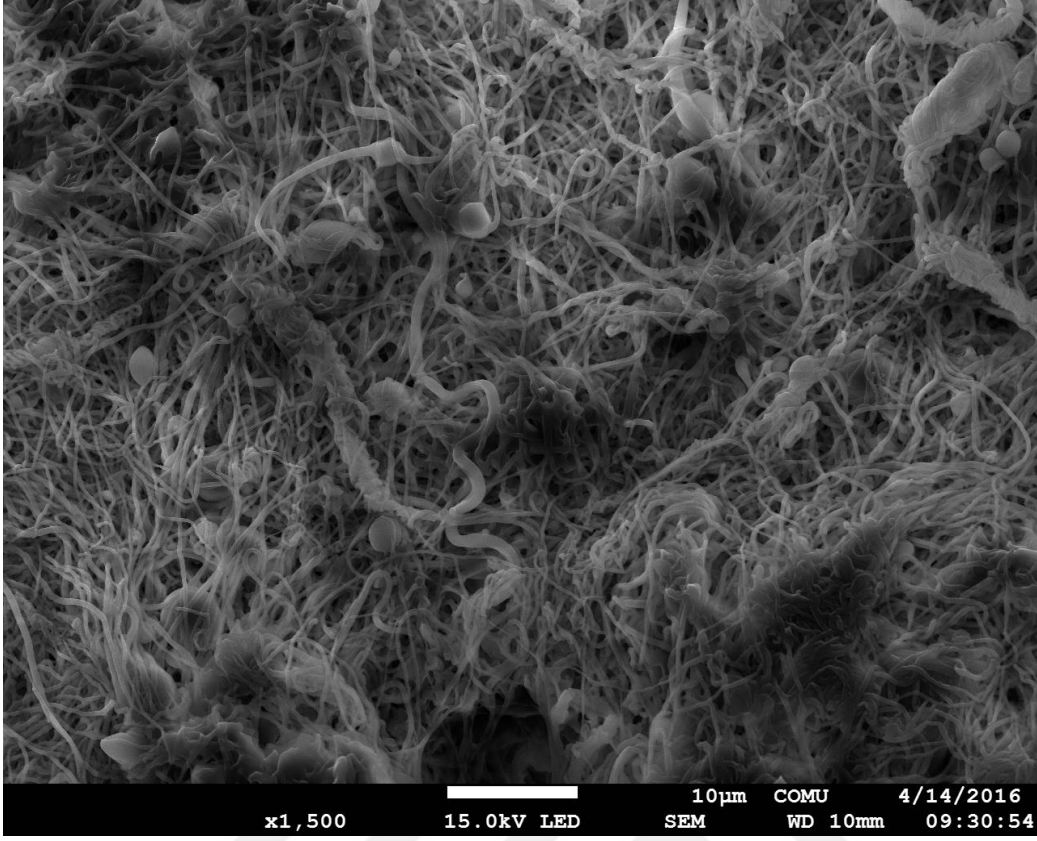
Şekil 4.3. JEL-PCL-1sa'nın SEM görüntüleri



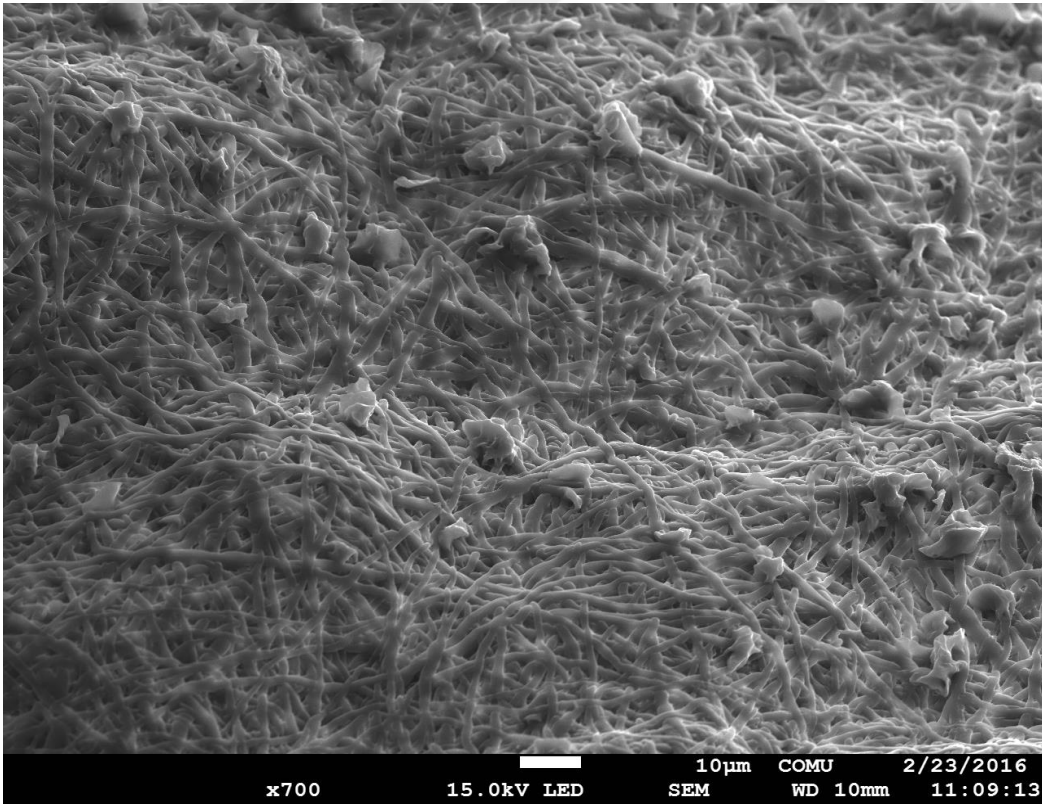
Şekil 4.3.'ün devamı



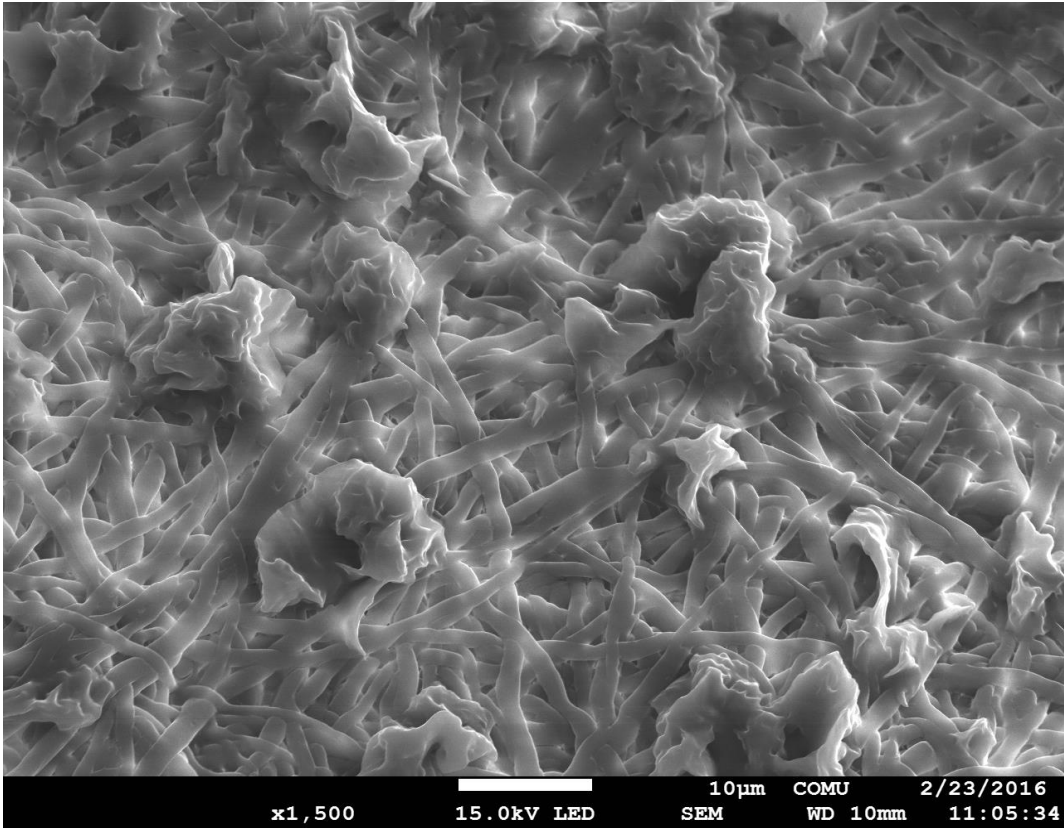
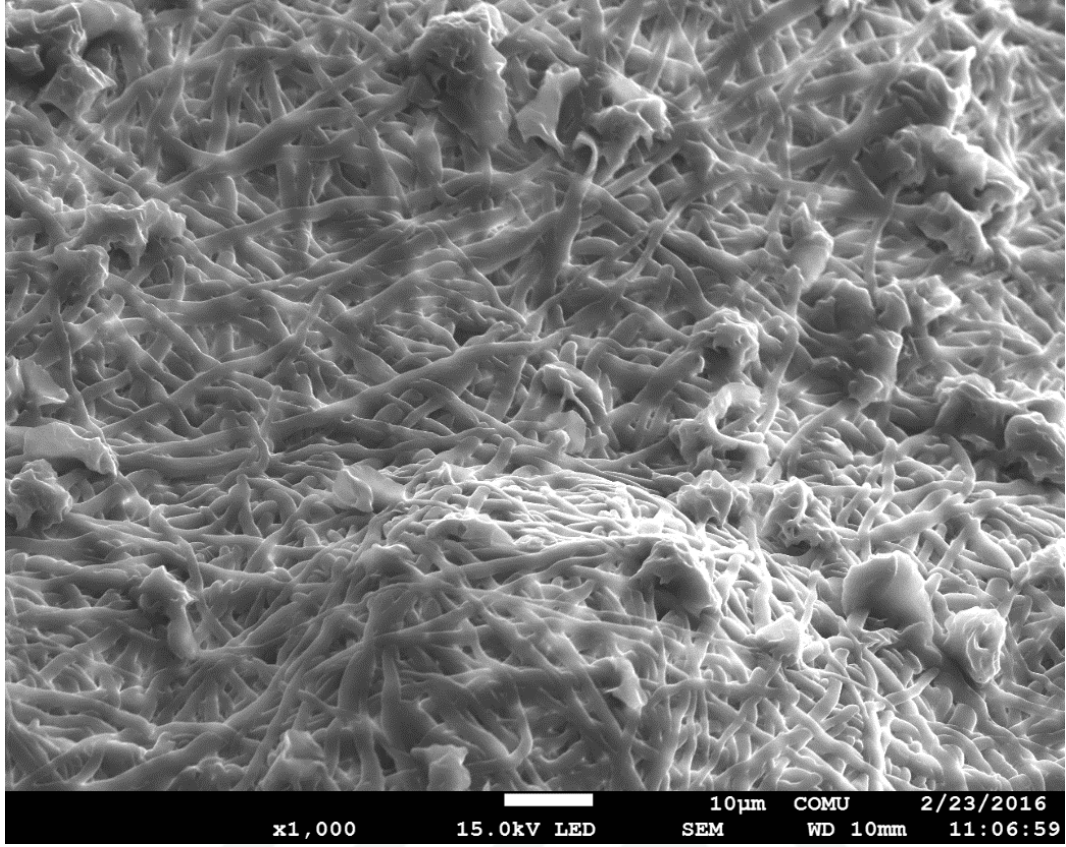
Şekil 4.4. JEL-PCL-2sa'nın SEM görüntüleri



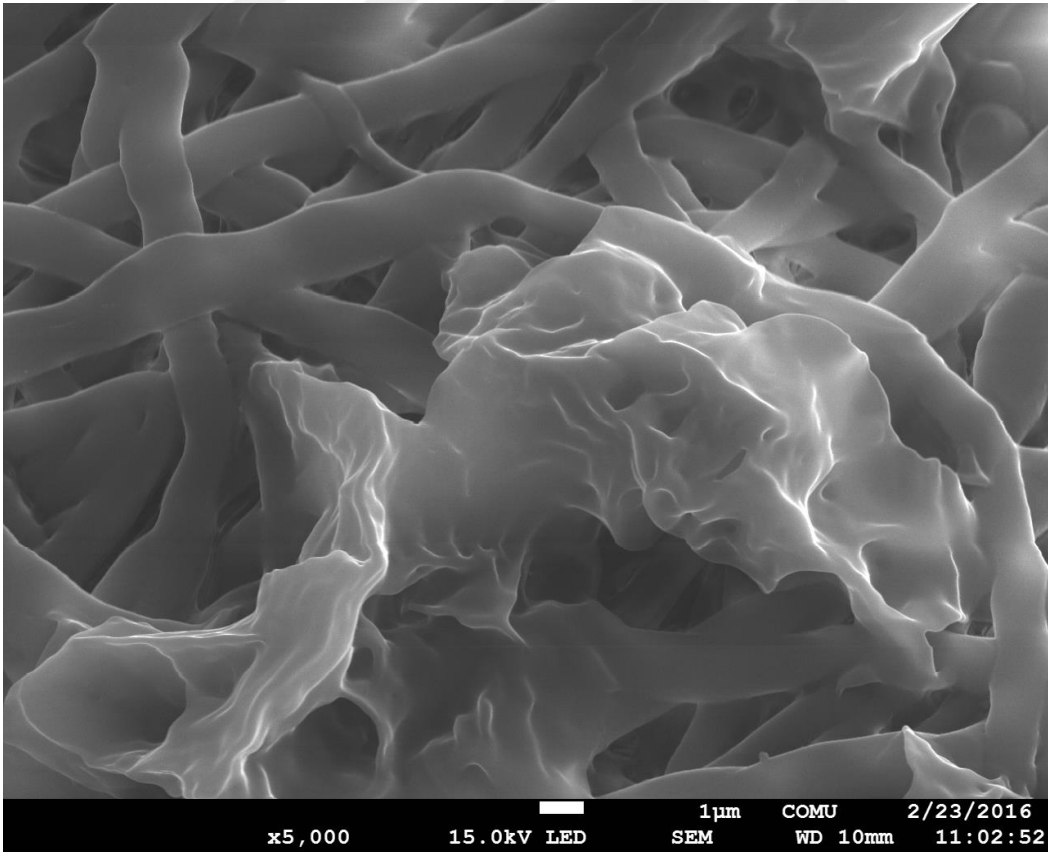
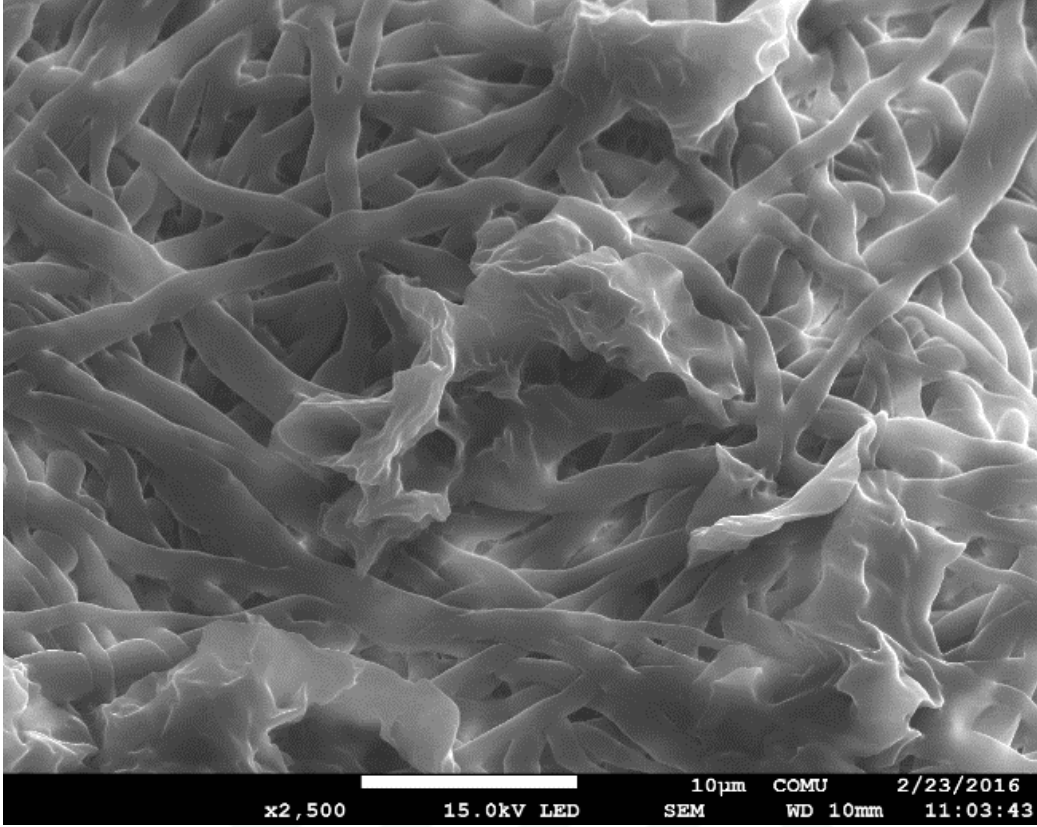
Şekil 4.4.'ün devamı



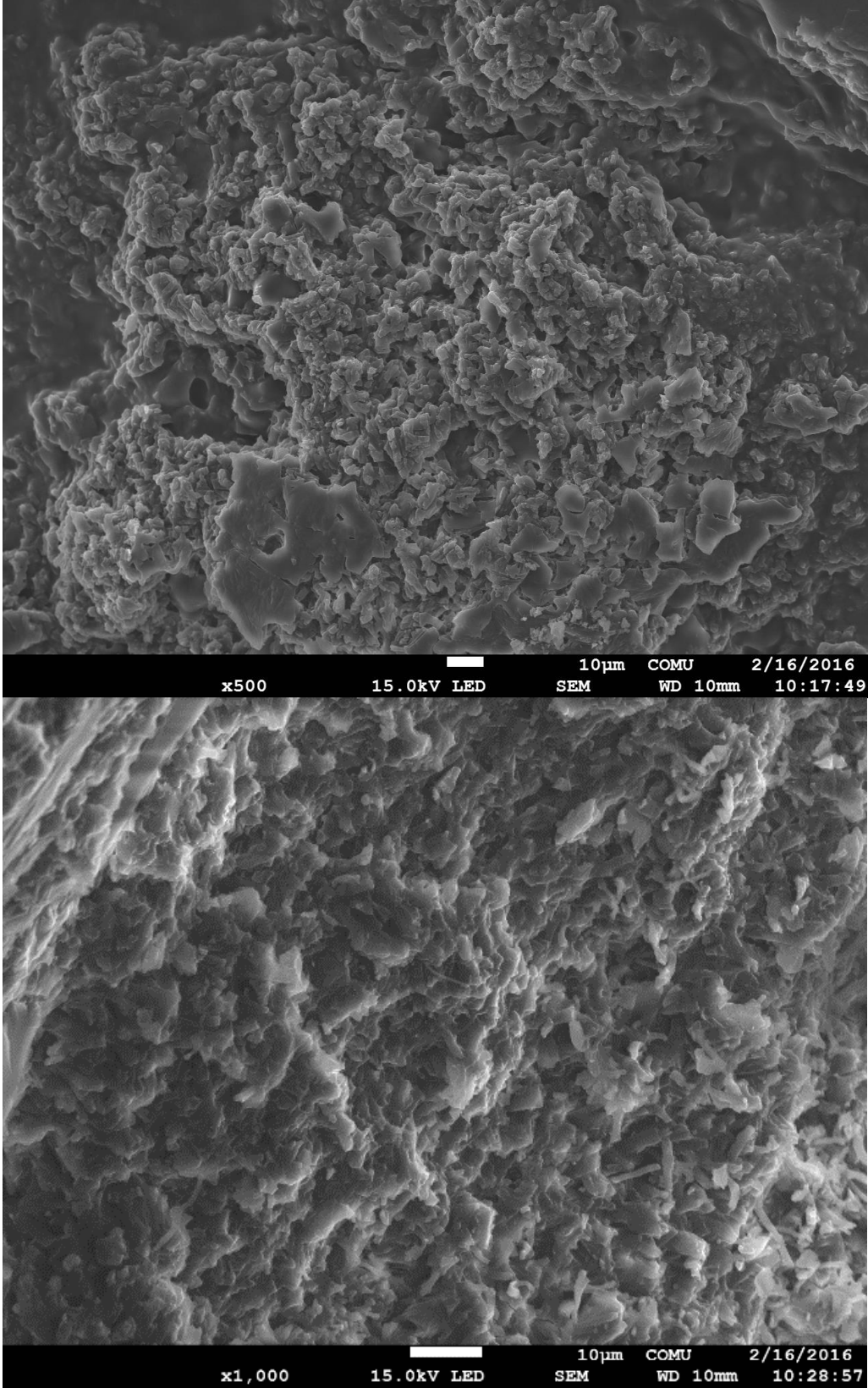
Şekil 4.5. JEL-PCL-4sa'ın SEM görüntüleri



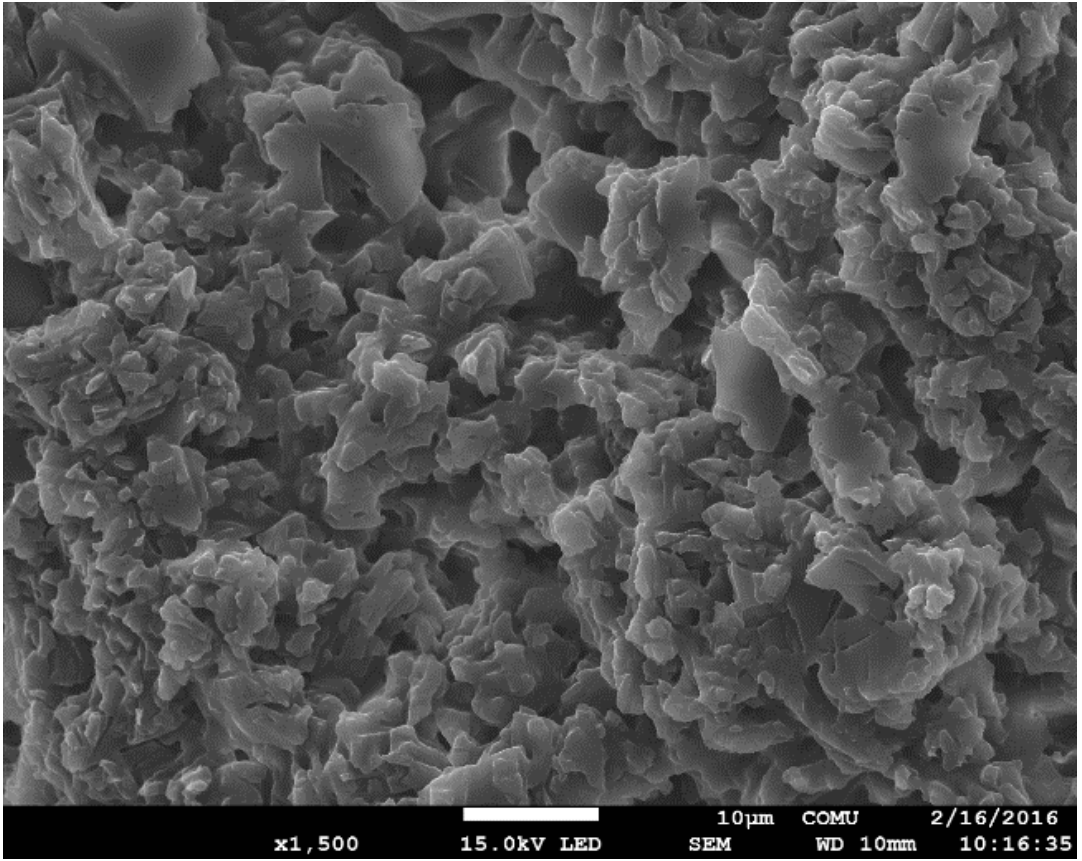
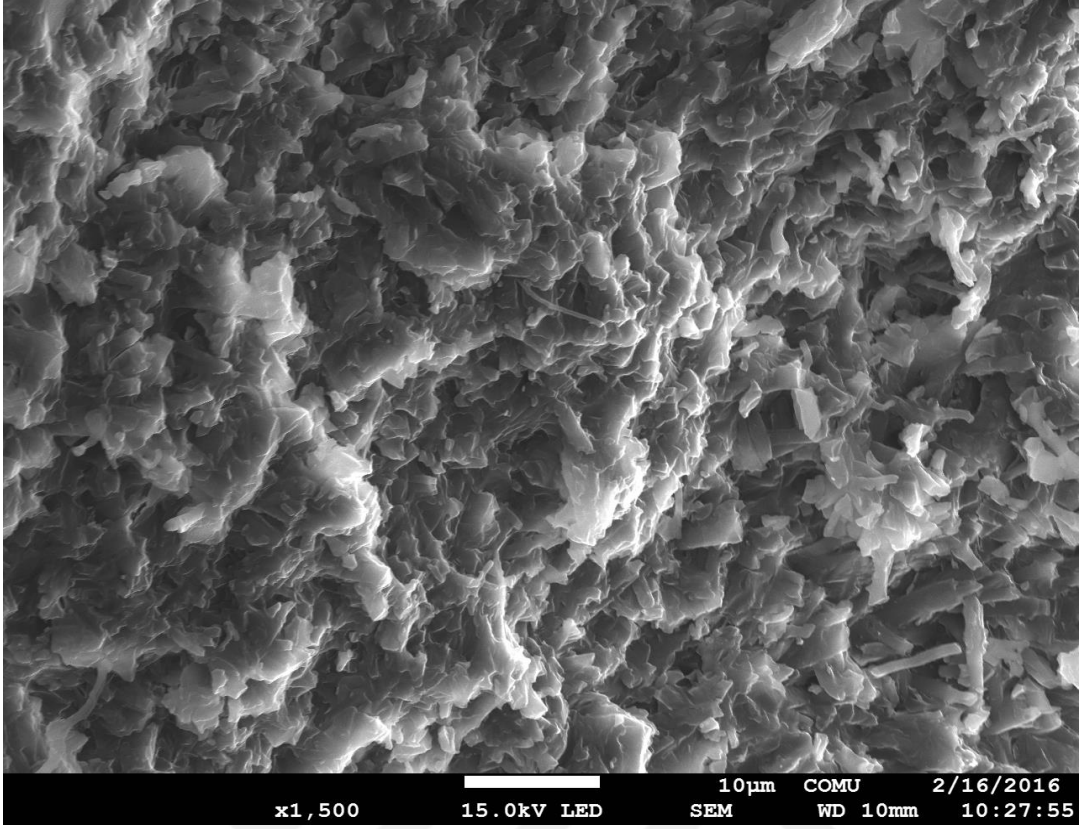
Şekil 4.5.'in devamı



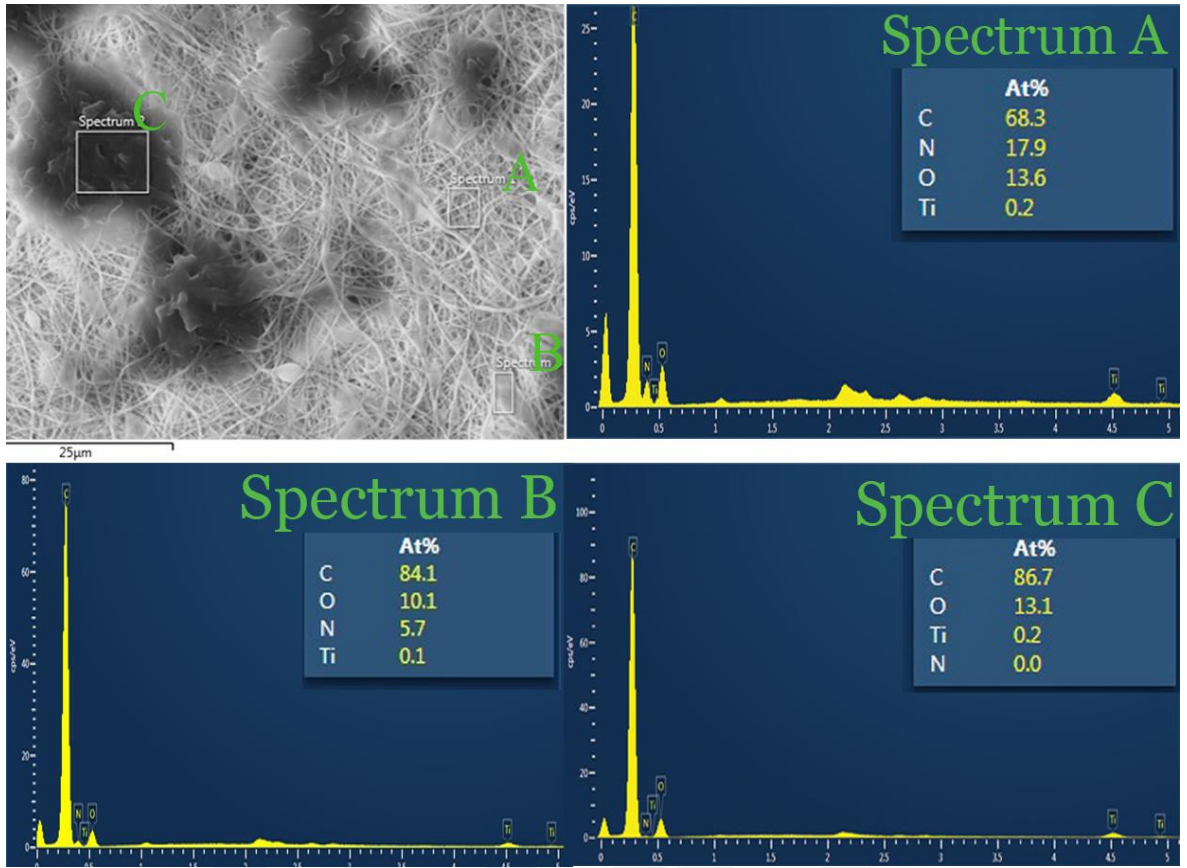
Şekil 4.5.'in devamı



Şekil 4.6. JEL-PCL-24sa'nın SEM görüntüleri



Şekil 4.6.'nın devamı

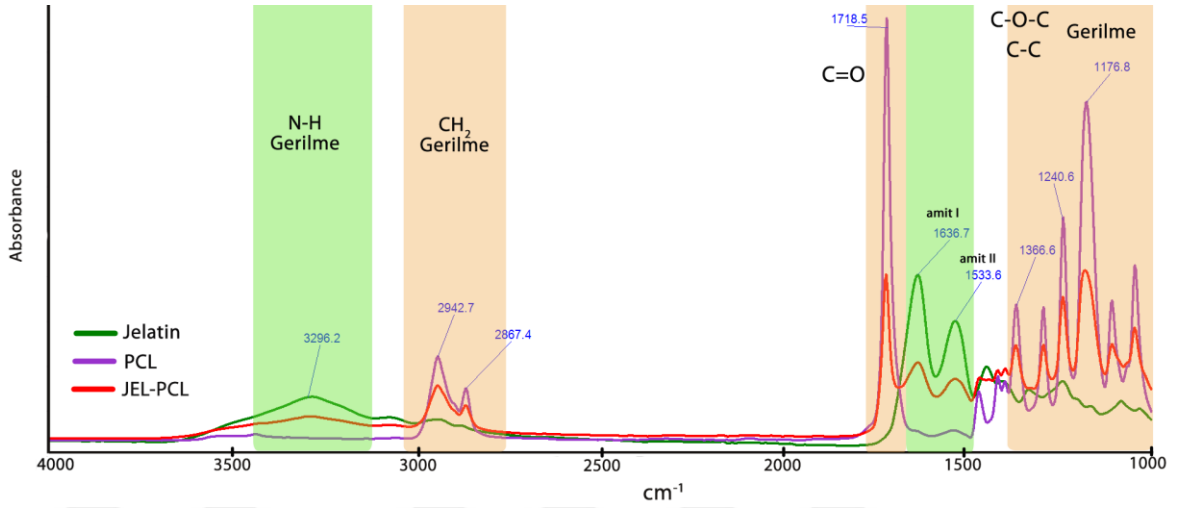


Şekil 4.7. JEL-PCL-1sa üzerindeki PCL ve jelatine ait 3 farklı bölgedeki EDX spektrumları ve SEM görüntüsü

4.1.2. Üretilen JEL-PCL'nin FTIR ile Kimyasal Yapısının Karakterize Edilmesi

SEM ve EDX analizlerinden sonra jelatine kovalent bağlanan PCL'nin doğrulanması için FTIR analizi yapılmıştır. JEL-PCL'nin FTIR spektrumu saf jelatin ve saf PCL'nin spektrumları ile karşılaştırılarak yorumlanmıştır. Saf PCL, saf jelatin ve JEL-PCL'ye ait FTIR spektrumları şekil 4.8'de gösterilmektedir. Jelatin spektrumunda 1636 cm^{-1} de amit I'e ait (C=O gerilme) ve 1533 cm^{-1} de amit II'ye ait (N-H eğilme) iki karakteristik pik görülmektedir. Ayrıca N-H gerilme piki de 3296 cm^{-1} 'de görülmüştür. PCL için bakıldığında 1718 cm^{-1} 'de ester grubuna ait karakteristik karbonil (C=O) piki görülmektedir. PCL'ye ait diğer karakteristik pikler ise şöyledir: 2942 cm^{-1} (asimetrik CH_2 gerilme), 2867 cm^{-1} (simetrik CH_2 gerilme), 1290 cm^{-1} (C-O ve C-O-C asimetrik gerilme). Saf jelatin ve PCL'ye ait pikler daha önceki çalışmalar ile doğrulanmıştır (Guo ve ark., 2015; Xue ve ark., 2015; Ilsouk ve ark., 2017) PCL aşılandıktan sonra jelatinin 3296 cm^{-1} 'deki N-H gerilme piki, amit I ve amit II piklerinin şiddetinin azaldığı ve GNF-PCL'ye ait spektrumda görülmektedir. Reaksiyondan sonra PCL'ye ait C=O gerilme piki ve CH_2 gerilme pikleri belirgin bir şekilde ortaya çıkmıştır ve jelatine ait piklerin azalması ve

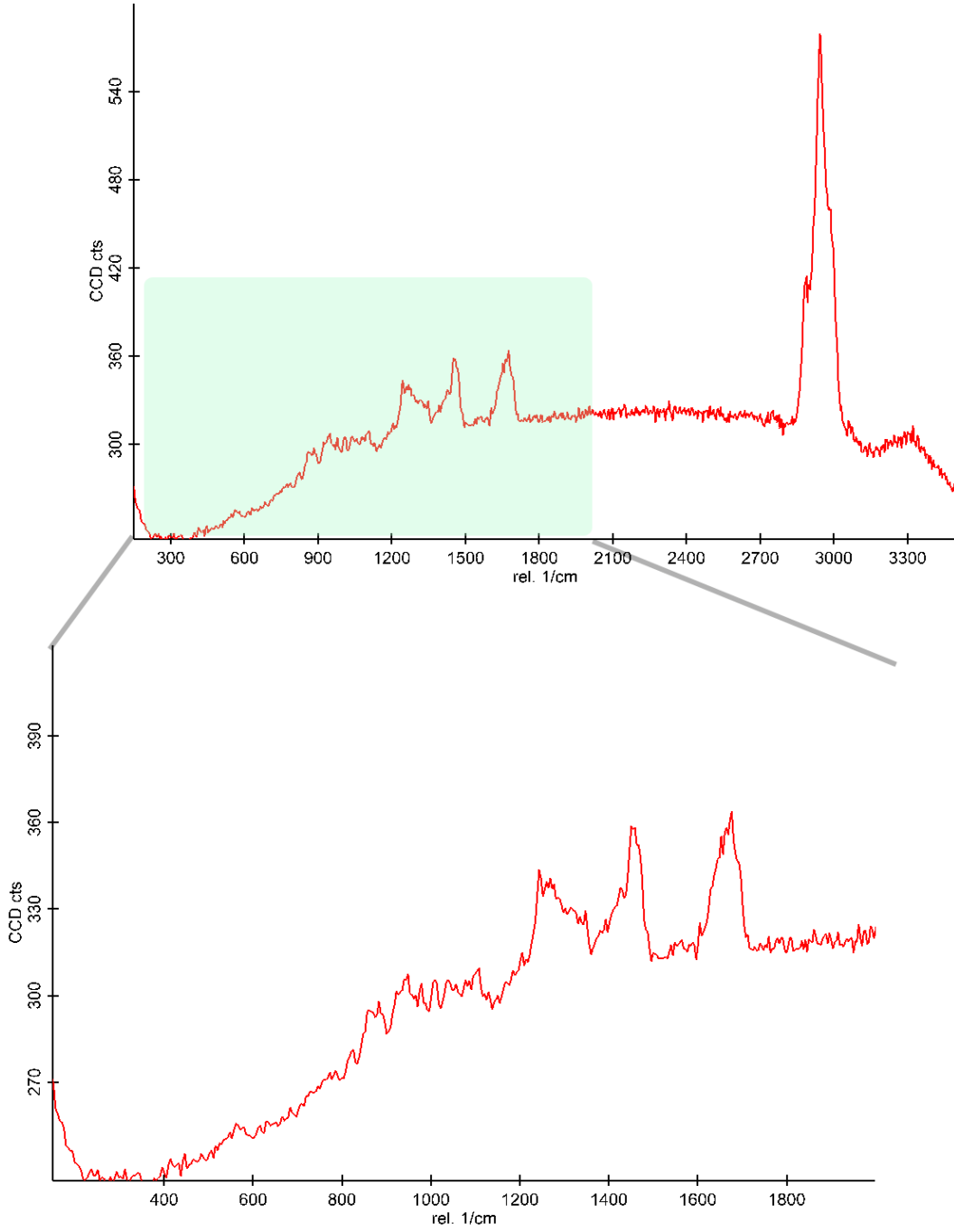
PCL'ye ait karakteristik piklerin görülmesi ve önceki çalışmalara göre (Mattanavee ve ark., 2009) bu reaksiyon ile PCL'nin jelatine kimyasal olarak bağlandığını göstermektedir.



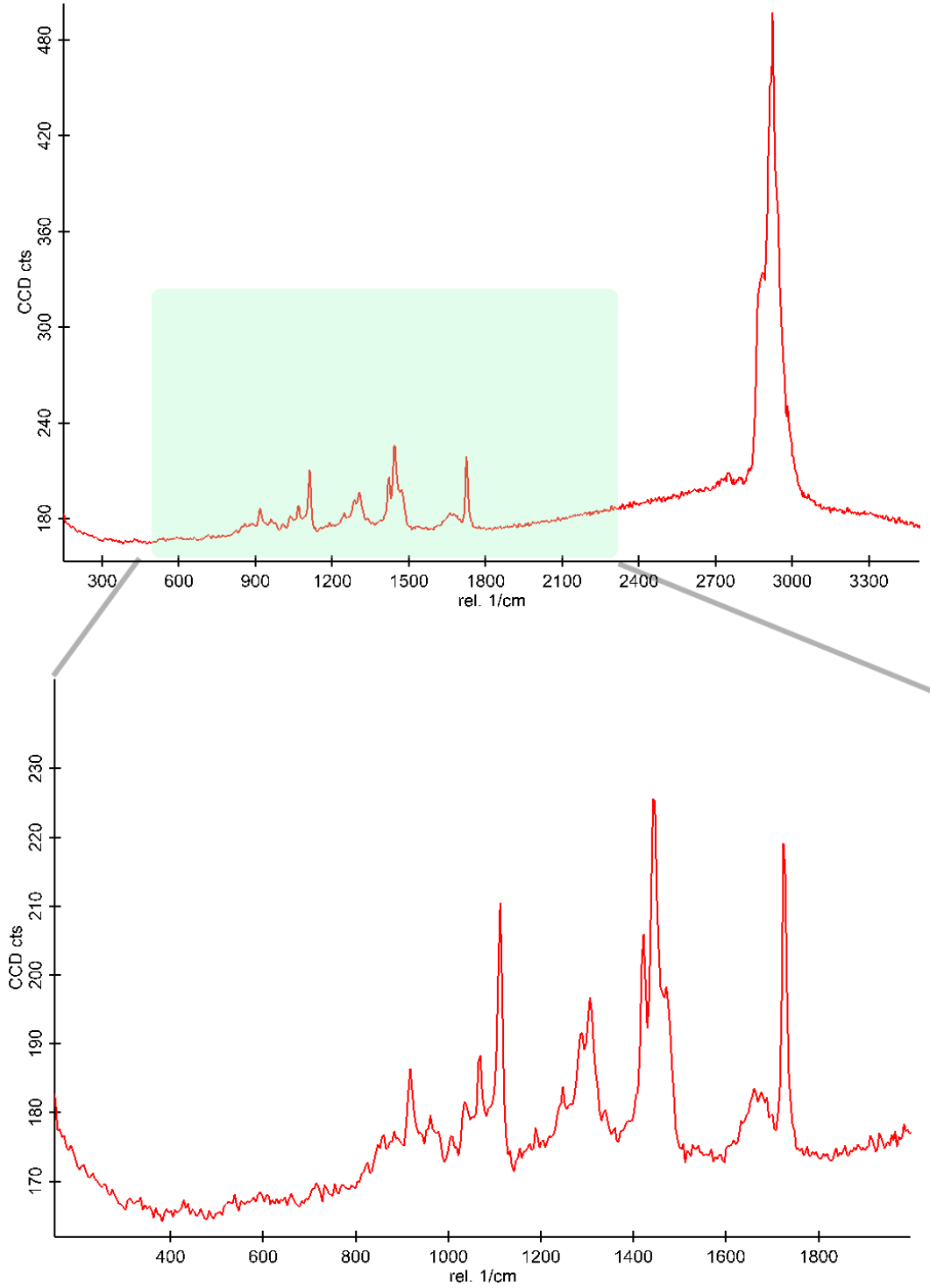
Şekil 4.8. PCL, jelatin nanolif ve JEL-PCL'ye ait FTIR spektrumları

4.1.3. Üretilen JEL-PCL'nin Raman Spektrometresi ile Kimyasal Yapısının Karakterize Edilmesi

Bu çalışmadaki maddelerin kimyasal bağlarını ve fonksiyonel gruplarının aydınlatılmasında Raman spektrometresinden de faydalanılmıştır. Reaksiyondan önceki jelatin nanolifinin Raman spektrumu ile reaksiyon sonrasında elde edilen JEL-PCL'nin Raman spektrumları sırası ile şekil 4.8 ve şekil 4.9'da gösterilmiştir. Saf jelatinin tipik Raman spektrumunda bulunan 1654 cm^{-1} 'de görülen C=O gerilme titreşiminde kaynaklanan şiddetli amit I bandı görülmektedir. Jelatinin bir başka karakteristik piki 1250 cm^{-1} civarında görülen C-N gerilme ve N-H eğilme bandını içeren amit III pikidir. Halka açılması polimerizasyonu ile PCL'nun yüzeye aşılmasından sonra raman spektrumunda PCL'a ait karakteristik pikler belirgin şekilde görülmektedir. Bu tipik PCL pikleri şöyledir: 1724 cm^{-1} (alifatik ester C=O gerilme), $1470\text{-}1416\text{ cm}^{-1}$ (δCH_2), $1303\text{-}1282$ (ωCH_2), $1108\text{-}1033\text{ cm}^{-1}$ (skeletal CH_2). Saf jelatin ve PCL'ye ait pikler daha önceki çalışmalar ile doğrulanmıştır (Bauer ve ark., 2016; Liu ve ark., 2016).



Şekil 4.8. Saf jelatin nanolifinin Raman spektrumu



Şekil 4.9. Üretilen JEL-PCL'nin Ramam spektrumu

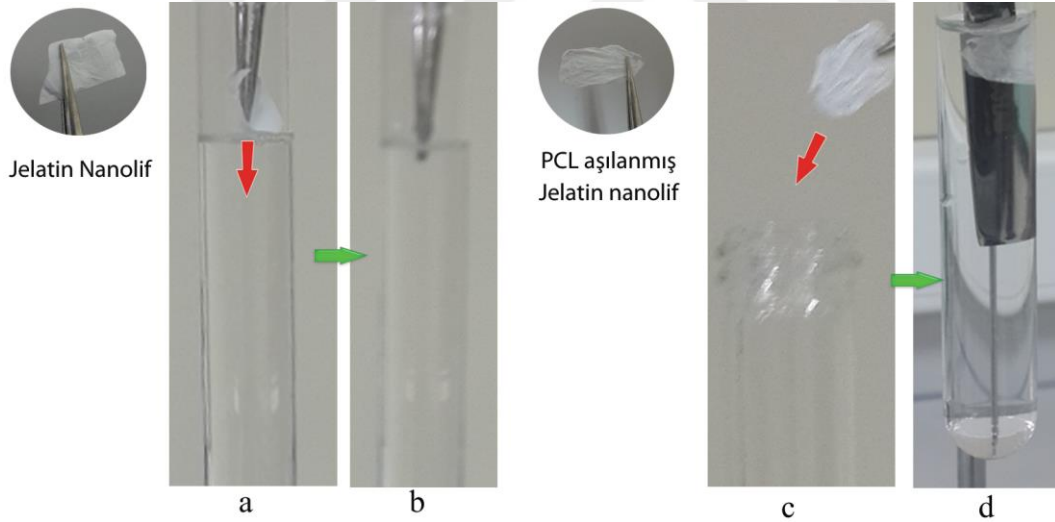
4.1.4. Suda Çözünürlük Testi

Biyomateryellerin suda çözünmesi biyomedikal alandaki kullanımını kısıtlamaktadır. Jelatin ile hazırlanan malzemeler bu nedenle uygulama öncesinde genellikle çapraz bağlanması gerekmektedir. Yeni hazırlanan JEL-PCL'nin suda çözünüp çözünmediğini gözlemlemek için suya daldırılmıştır. Ayrıca karşılaştırmak için saf jelatin nanolifi de suya

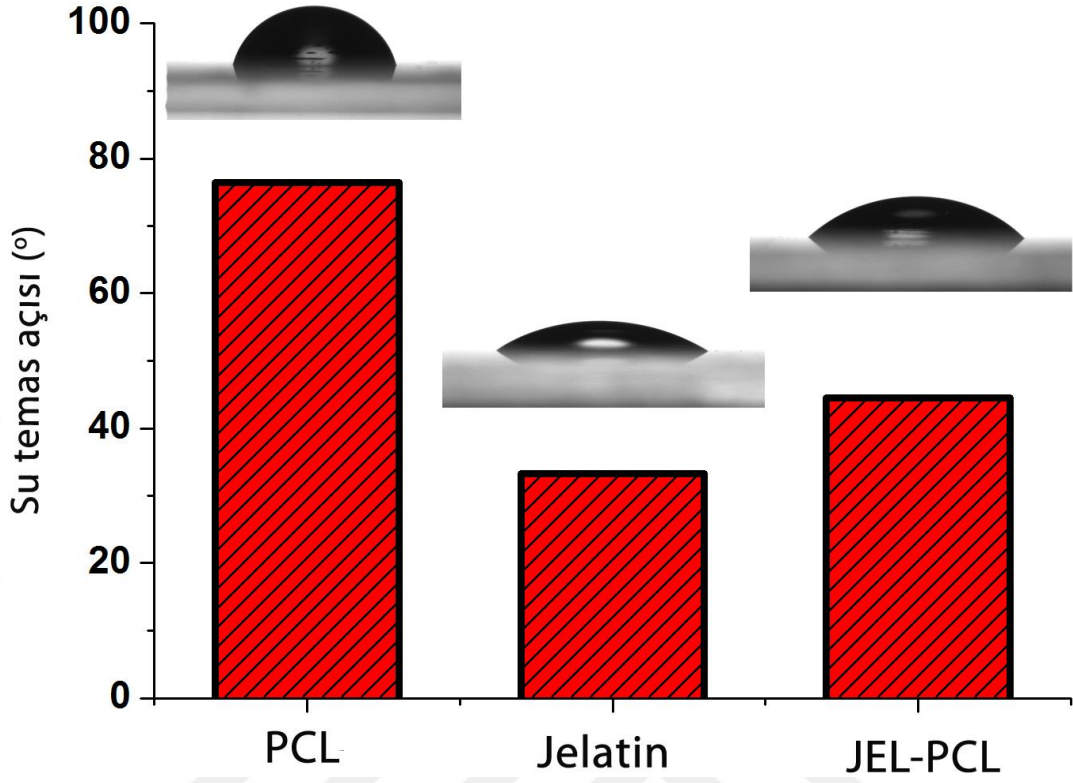
daldırılarak gözlemlenmiştir. Çözünürlük testinde şekil 4.10'da görüldüğü üzere suya daldırılan jelatin yapısını hemen kaybederken JEL-PCL çözünmeden kalmıştır ve 24 saat sonra da tekrar kontrol edildiğinde çözünmeden kaldığı görülmüştür.

4.1.5. Su Temas Açısı Analizi

Hidrofilik özellik doku mühendisliği uygulamaları için önemli bir parametredir. Daha önceki çalışmalardaki bilgilere göre, hücrelerin tutunmaya istekli olduğu malzemelerin temas açısının 40° civarında olduğu bilinmektedir. Bu nedenle JEL-PCL'nin hidrofilik derecesi ölçülmek üzere su temas açısı analizi yapılmıştır. Bu analiz öncesinde saf PCL, saf jelatin ve JEL-PCL asetik asitte çözüldükten sonra cam üzerine spin coater ile kaplanmıştır. Şekil 4.11'de su temas açısı analizi sonuçları gösterilmektedir. Bu sonuçlara göre saf jelatinin temas açısı $33,2^\circ$, saf PCL'nin temas açısı $76,4^\circ$ ölçülürken jelatin nanolif üzerine PCL aşılansak hazırlanan JEL-PCL'nin temas açısı $44,5^\circ$ olarak ölçülmüştür. Bu sonuca göre hazırlanan JEL-PCL çözülerek tekrar kullanımda doku mühendisliği uygulamaları için uygun olacağı söylenebilmektedir.



Şekil 4.10. Jelatin nanolifin suya daldırılmadan önceki (a) ve sonraki (b) hali ile JEL-PCL'nin suya daldırılmadan önceki (c) ve sonraki hali (d)

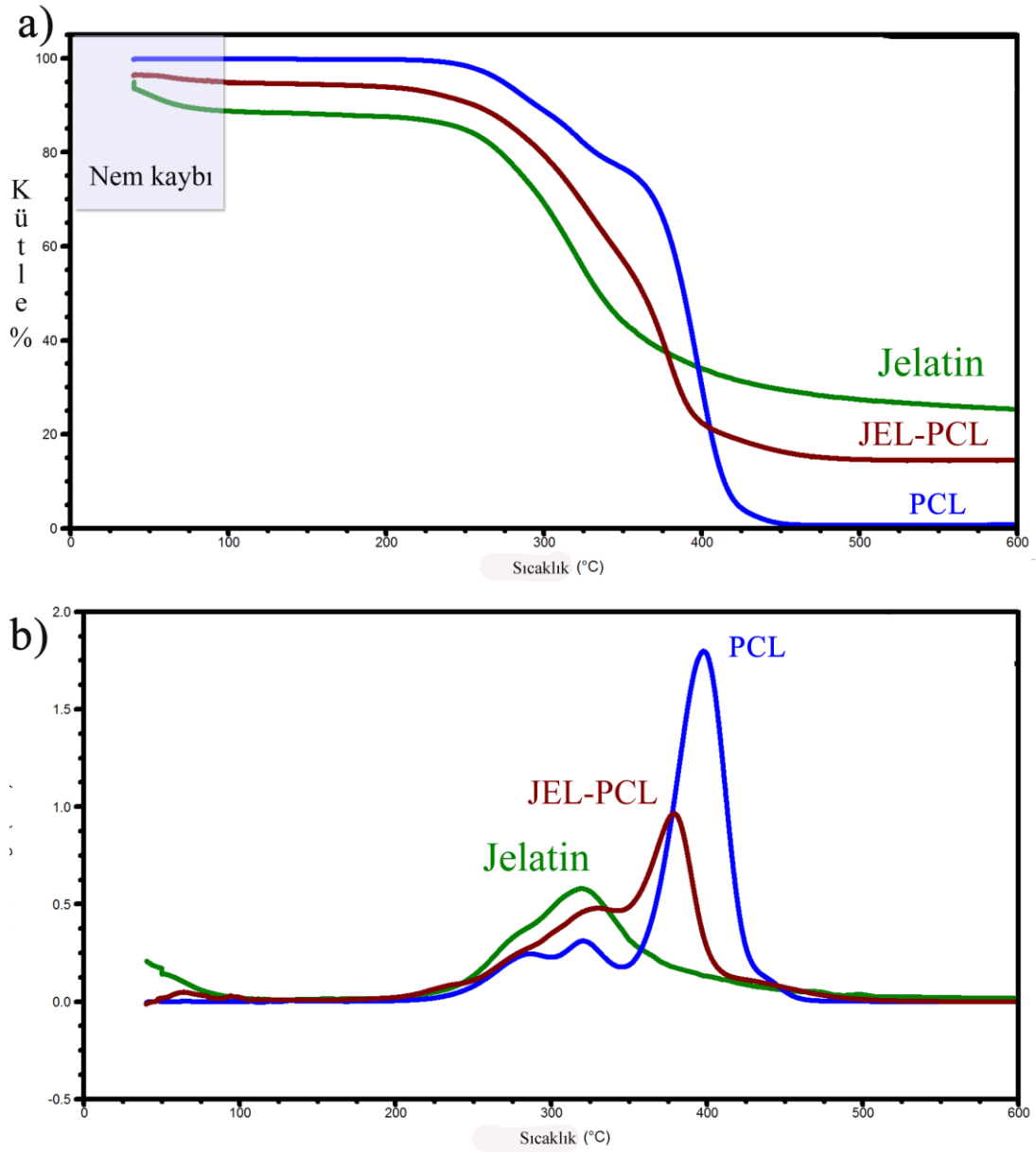


Şekil 4.11. PCL, saf jelatin ve JEL-PCL'ye ait su temas açısı sonuçları

4.1.6. Termogravimetrik Analiz (TGA)

Üretilen JEL-PCL'deki aşılana PCL'nin varlığının ortaya çıkarılması ve PCL'nin aşılmasının jelatinin termal bozunma sıcaklıklarına nasıl etki ettiğinin belirlenmesi ve jelatinin absorpladığı nem miktarının gösterilmesi amacıyla TGA analizi yapılmıştır. Diğer yandan malzemelerin bozunma davranışı parametreleri, eğer bu malzeme Chiono ve ark.'nın yaptığı çalışmada olduğu gibi istenilen farklı bir şekilde elde edilmek üzere ekstrüzyon işlemi için kullanılacak ise doku mühendisliği uygulamaları için ayrıca önemli olmaktadır (Chiono ve ark., 2008).

JEL-PCL'nin termal bozunma karakteristiği PCL ve jelatin ile karşılaştırılmak üzere termogravimetrik analiz uygulanmıştır. Şekil 4.12'de bu maddelerin TGA ve dTG eğrileri görülmektedir. Bu eğrilere ilişkin hesaplanan polimerin kütle kaybının başladığı sıcaklığı (T_{on}), polimerin %20'sinin bozunduğu sıcaklık (T_{20}), polimerin kütle kaybının %50'sinin kaybedildiği sıcaklık (T_{50}) ve kütle kaybı hızının en yüksek olduğu sıcaklık (T_{max}) değerleri çizelge 4.1'de verilmiştir. T_{max} , polimerin dTG eğrisinin tepe noktasındaki sıcaklık olarak alınmıştır. Jelatinin TGA ve dTG eğrileri incelendiğinde 50 ile 100° arasındaki ilk kütle kaybı hidrofilik jelatin moleküllerinin absorplamış olduğu suyun



Şekil 4.12. Jelatin, PCL, JEL-PCL 'nin (a) TGA ve (b) dTG eğrileri

bozunması/buharlaşmasıdır. PCL'nin hidrofobik alkil zincirinden dolayı aynı aralıkta (50-100°C) suyun bozunmasına ilişkin bir veri görülmemektedir. Bu sonuçlardan aşılana PCL moleküllerinin jelatinin higroskopik doğasını yaklaşık %50 oranında düşürdüğü (nem miktarı %11'den %5'e düşmesi) söylenebilir. Ayrıca bozunma sıcaklıkları ve eğrilere bakıldığında saf jelatinin saf PCL'ye göre termal kararlılığının daha düşük olduğu ve PCL'nin jelatine aşılmasından sonra termal bozunma karakteristiğinin saf jelatin ile saf PCL arasındaki değerlere değiştiği görülmektedir.

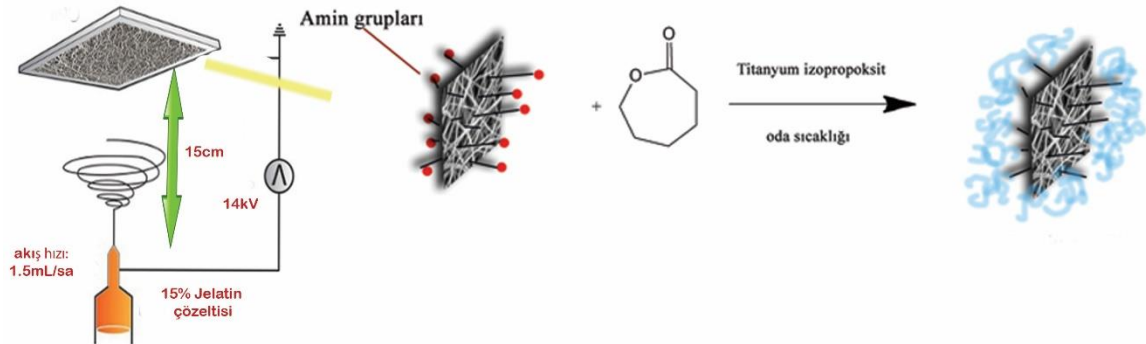
Çizelge 4.1. TGA ve dTG eğrilerinden elde edilen bozunma verileri

Örnek	Su miktarı (%)	T _{on}	T ₂₀	T ₅₀	T _{max}
PCL	-	213,9	332,4	388,5	397,8
GNF	11	194,5	272,0	335,0	319,0
GNF-PCL	5	204,6	298,3	362,8	377,7

T_{on}: bozunmaya başlama sıcaklığı, T₂₀: polimerin %20'sinin bozunduğu sıcaklık, T₅₀: Polimerin %50'sinin bozunduğu sıcaklık, T_{max}: dTG eğrisinin tepe noktasındaki sıcaklık

4.2. Nanolif Yüzeyi Üzerinden Başlatılan Halka Açılması Polimerizasyonu ile Hazırlanan Jelatin-Kolajen-Elastin-PCL Blok Kopolimerleri

Nanolifler üzerinden başlatılan halka açılması polimerizasyonu ile PCL'nin kimyasal bağlı olarak immobilize edilmesi SEM, EDX, FTIR, Raman spektrumları ile kanıtlandıktan sonra damar doku mühendisliğinde kullanılması tercih edilen kolajen-elastin ve PCL içeren malzeme de aynı metod ile hazırlanmıştır ve ürünler karakterize edilmiştir. Metod kısmında da belirtildiği gibi ilk önce jelatin-kolajen-elastin nanolifi hazırlanmıştır ve sonrasında yüzeyden polimerleşme ile PCL aşılması gerçekleştirilmiştir (şekil 4.13).

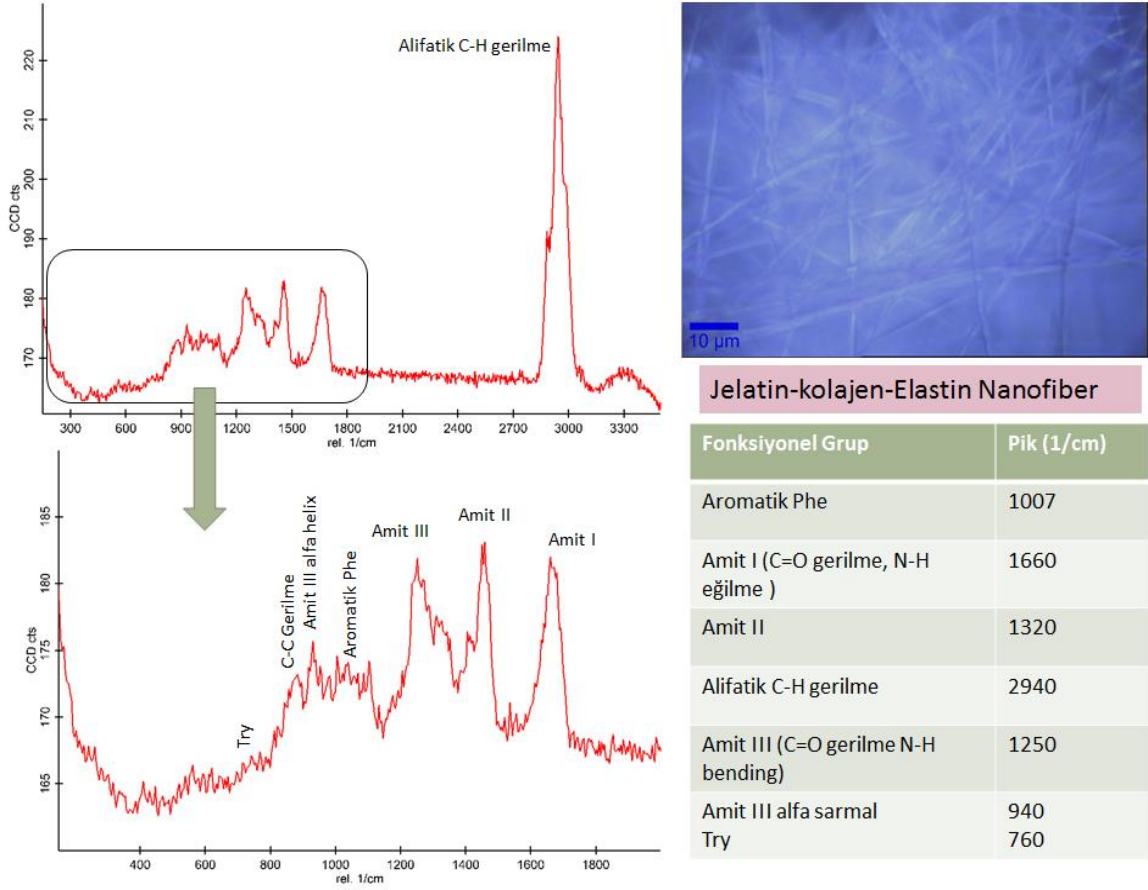


Şekil 4.13. JEL-KOL-ELA-PCL'nin halka açılması polimerizasyonu ile hazırlanması

4.2.1. Üretilen JEL-ELA-KOL-PCL'nin Raman Spektrometresi ile Kimyasal Yapısının Karakterize Edilmesi

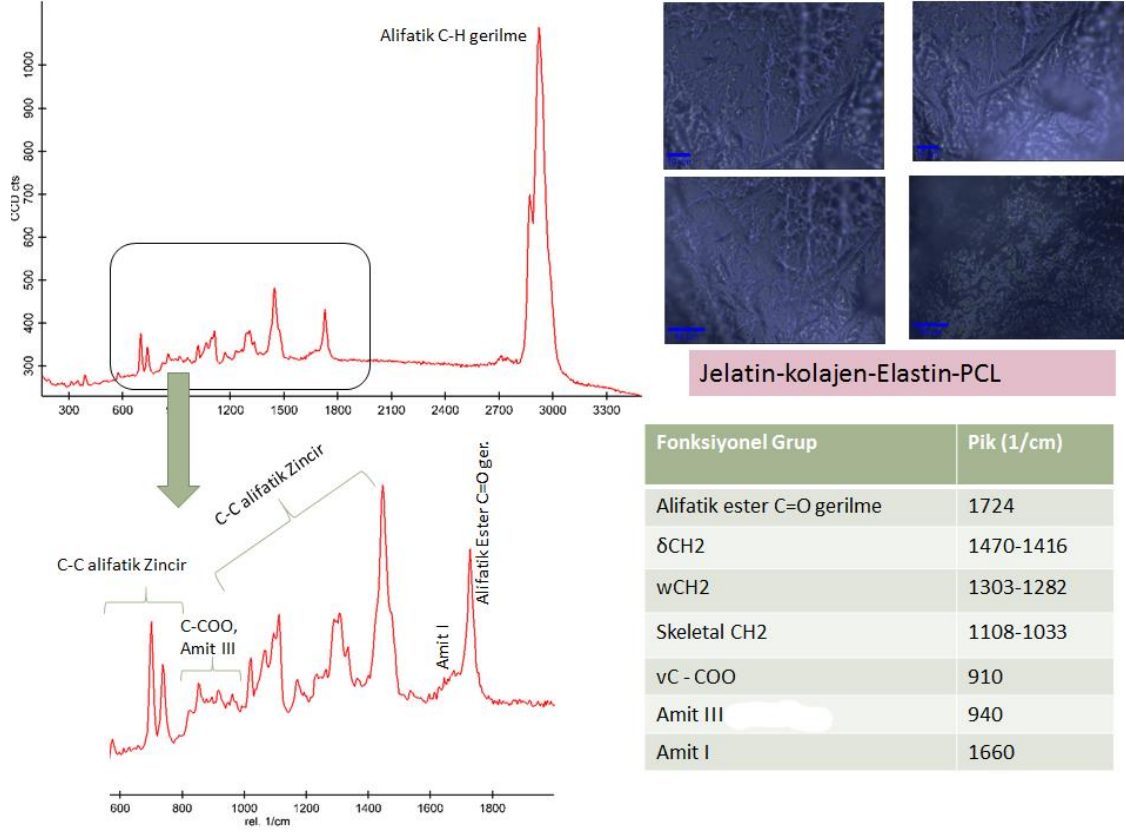
Reaksiyondan önceki JEL-ELA-KOL nanolifinin konfokal mikroskop görüntüsü ve raman spektrumu ile reaksiyon sonrasında elde edilen JEL-ELA-KOL-PCL'nin Raman spektrumları sırası ile şekil 4.14 ve şekil 4.15'te gösterilmiştir. JEL-ELA-KOL nanolifi büyük oranda jelatin içermektedir ayrıca kolajenin peptid zinciri jelatin ile benzer

olmasından dolayı bu nanolifin Raman spektrumu jelatin nanolifin raman spektrumuna (Şekil 4.8) çok benzemektedir. Ayrıca bu yapının spektrumunda gözlenen raman pikleri Şekil 4.14'ün sağ alt köşesindeki tabloda listelenmiştir.

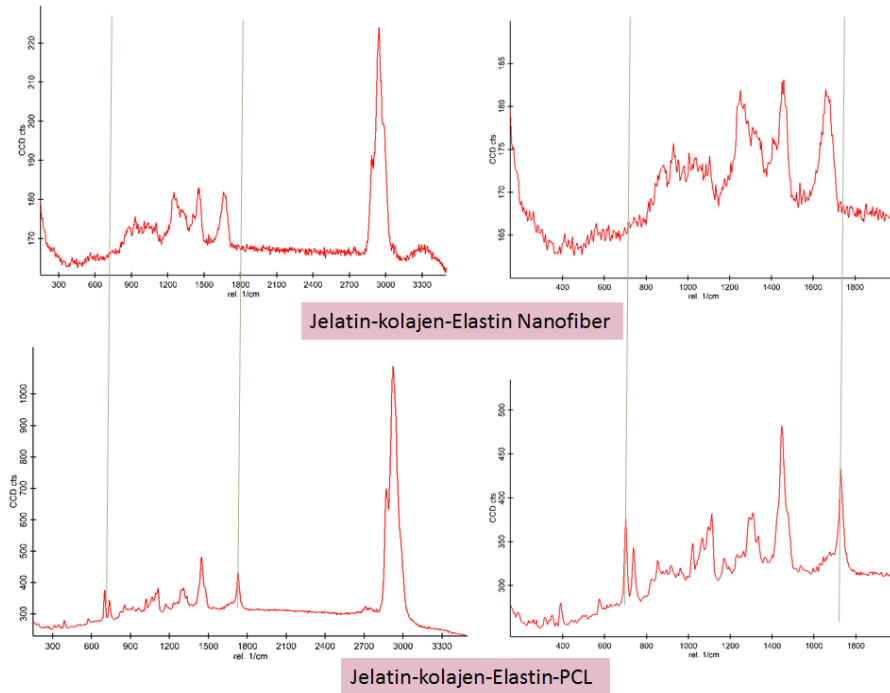


Şekil 4.14. JEL-KOL-ELA nanolifinin konfokal mikroskop görüntüsü ve raman spektrumu

Nanolif üzerine PCL aşılmasından sonra raman spektrumunda PCL pikleri ortaya çıkmıştır ve mikroskop görüntüsünde de lif yapıların yerini kütleli lif olmayan bölümlere bıraktığı görülmektedir. Raman spektrumunda jelatinin piklerinin bastırılmış ve PCL piklerinin domine etmiş olması yüzeyin tamamen PCL ile kaplanmış olduğunu gösterdiği düşünülmektedir. PCL'ye ait bu pikler şöyledir: 1724 cm^{-1} (alifatik ester C=O gerilme), 1454 cm^{-1} (δCH_2), 1306 cm^{-1} (wCH_2), 1030 cm^{-1} (skeletal CH_2), $700\text{-}747\text{ cm}^{-1}$ (C-C alifatik zincir).



Şekil 4.15. JEL-KOL-ELA-PCL nanolifinin konfokal mikroskop görüntüsü ve raman spektrumu



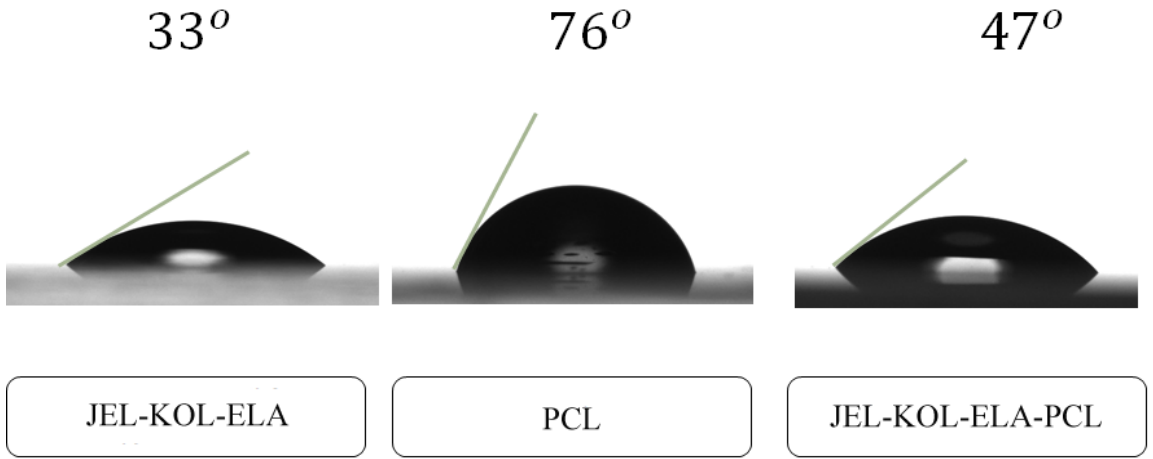
Şekil 4.16. JEL-KOL-ELA nanolifin reaksiyondan önce PCL aşılındıktan sonraki raman spektrumları

4.2.2. Su Temas Açısı Analizi

Kolajen ve elastin içeren nanolif üzerine halka açılması PCL ile aşılamanın yeni malzemenin su temas açısı ölçülmüştür. Bu analiz için; iki farklı şekilde numune hazırlanmıştır:

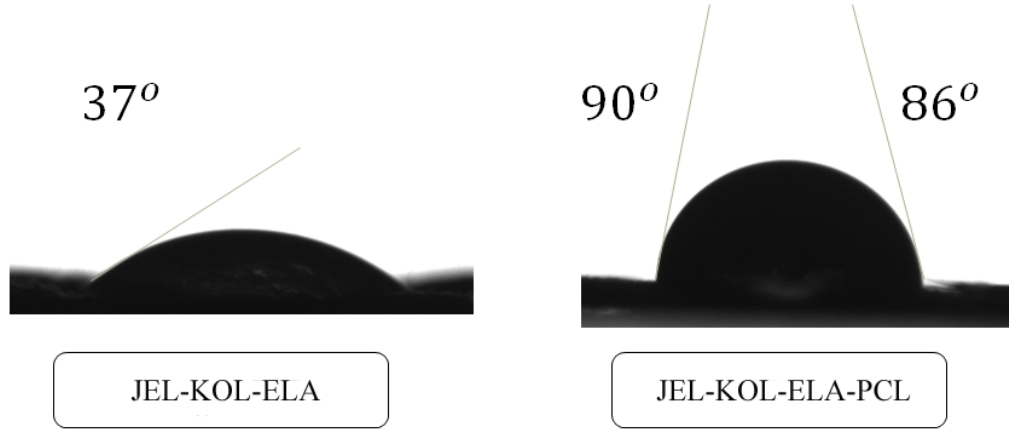
1. Asetik asitte çözeltisi hazırlandıktan sonra spin coater ile cam üzerine ince film hazırlayarak ve
2. Maddeler olduğu gibi kullanılarak.

Cam üzerine kaplanan maddelerin su temas açısı sonuçları şekil 4.17'de gösterilmiştir. Kaplama yapılan yüzeye damlatılan su ile elde edilen sonuçlara göre JEL-ELA-KOL'nin su temas açısı 33° , PCL'nin temas açısı 76° , JEL-KOL-ELA-PCL'nin temas açısı ise iki maddenin arasında değerde; 47° olarak ölçülmüştür. Maddelerin üzerine direkt olarak suyun damlatıldığı deneyde ise JEL-KOL-ELA nanolifinin temas açısı 37° , JEL-KOL-ELA-PCL'nin temas açısı ise ortalama 88° (soldan 90° , sağdan 86°) olarak ölçülmüştür. Bu sonuç ile nanolif yüzeyinin tamamen PCL ile kaplandığı desteklenmiştir.



*Bu sonuçlar damlatmadan 2 saniye sonra elde edilen görüntü ve açı değerleridir

Şekil 4.17. Cam yüzeyine kaplanmış numunelerin su temas açıları



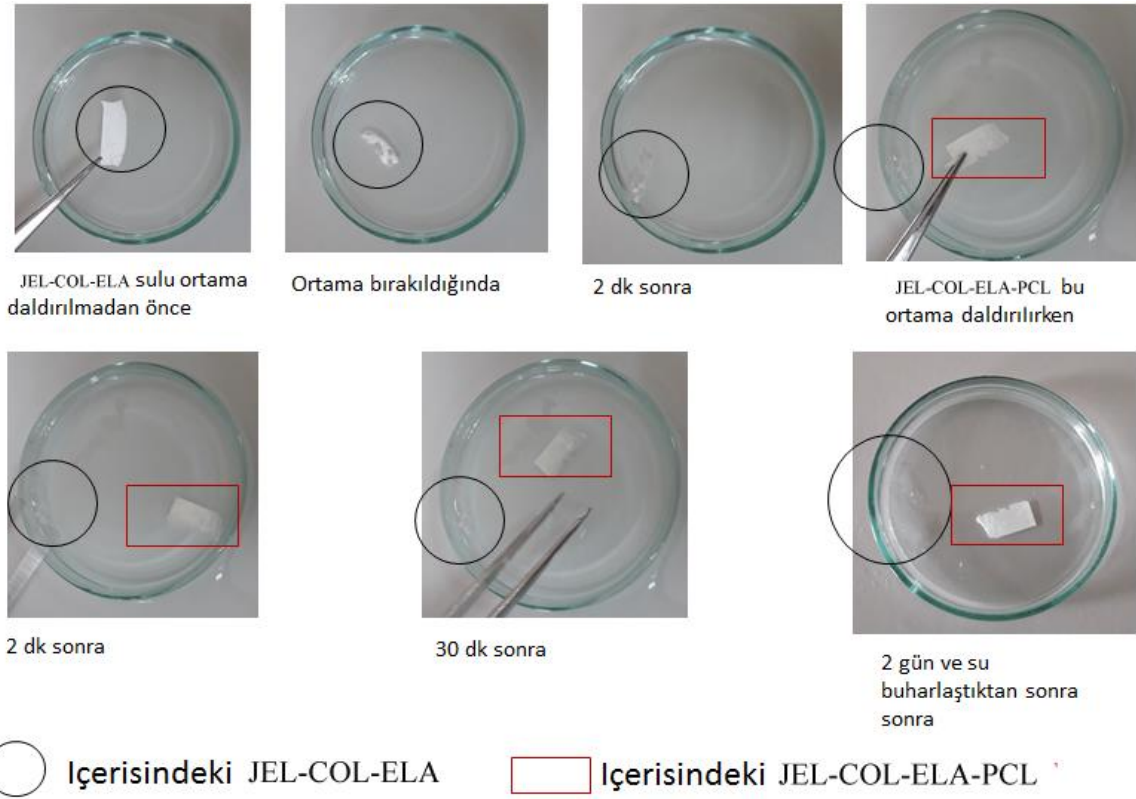
*Bu sonuçlar damlatmadan 2 saniye sonra elde edilen görüntü ve açı değerleridir

Şekil 4.18. Direk nanolif ve PCL aşılınmış nanolif yüzeyi üzerine su damlatıldığında elde edilen temas açısı sonuçları

4.2.3. Suda Çözünürlük Testi

JEL-KOL-ELA jelatin içermesi nedeniyle sulu ortamda yapısı bozularak çözünmektedir. Yeni hazırlanan JEL-KOL-ELA-PCL'nin biyomateryal olarak kullanılabilir olması için suya karşı dirençli olması ve çözünmemesi gerekmektedir. Bir önceki bölümde hazırlanan JEL-PCL için yapılan suda çözünürlük testi sonucunda yeni malzemenin çözünmeden yapısını koruduğu görülmüştür. Aynı test, JEL-KOL-ELA-PCL için de tekrarlanmıştır. Bu test, bir petri kabı içerisine koyulan ve pH:7.4'e ayarlanmış fosfat tamponu çözeltisi içerisinde gerçekleştirilmiştir. JEL-KOL-ELA-PCL bu sulu ortama koyularak gözlemlenmiştir. Ayrıca karşılaştırmak için sadece nanolif olan JEL-KOL-ELA da aynı şekilde bu kabın içerisine koyularak deneme tekrarlanmıştır. Şekil 4.19'da ilk önce JEL-KOL-ELA'dan alınan kesitin suya daldırıldığında görülen değişiklik gösterilmiştir. Şekilde görüldüğü gibi JEL-KOL-ELA kısa süre içerisinde su ile etkileşerek yapısı dağılmaya başlamıştır. Daha sonra JEL-KOL-ELA bu petri kabının içerisinde çözünmeye devam ederken JEL-KOL-ELA-PCL daldırılmıştır ve çözünmediği görülmüştür. 30 dk sonra JEL-KOL-ELA-PCL yapısını aynen korurken JEL-KOL-ELA parçalanmıştır. 2 gün bu şekilde bırakıldıktan sonra petri kabındaki su buharlaştığında JEL-KOL-ELA'nın lif yapısının kaybolduğu ve parçalara ayrılarak film şeklinde petri kabında kaldığı görülmüştür. JEL-KOL-ELA-PCL ise suya daldırılmadan önceki şeklini ve formunu koruduğu görülmüştür. Bu sonuç ile yüzeye PCL aşılmasından sonra bu

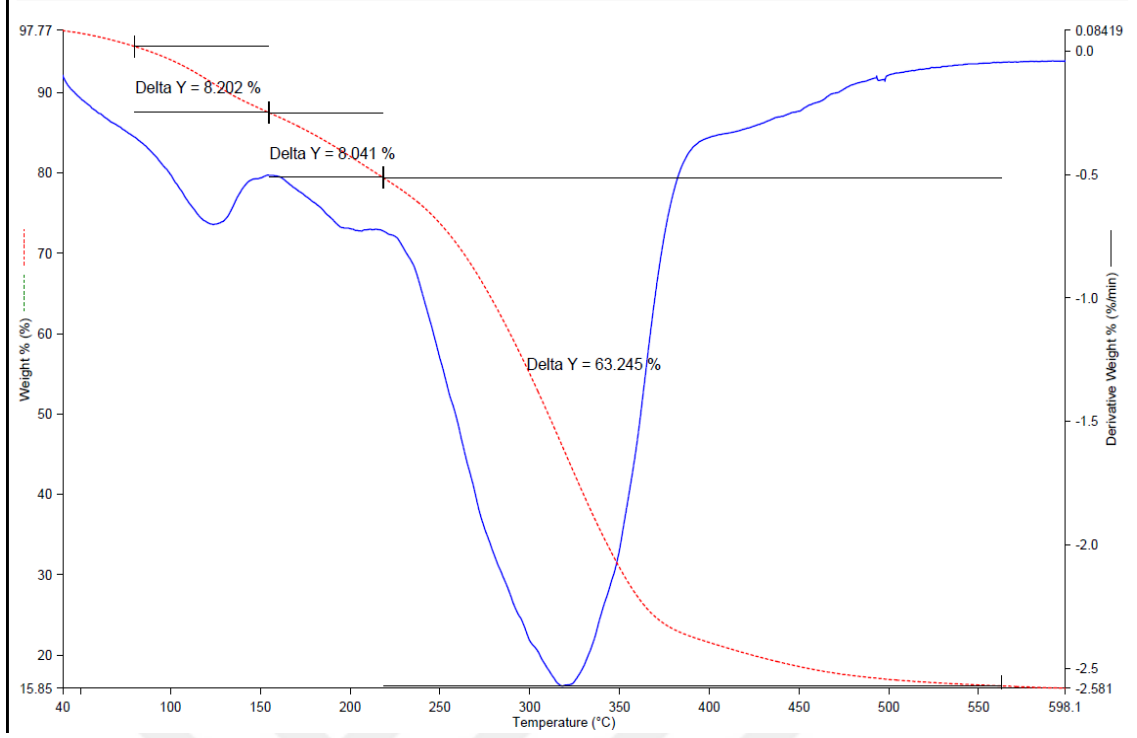
malzemenin suda çözünmeyen dayanıklı ve PCL, kolajen, elastin ve jelatin içeren yeni bir malzemeye çapraz bağlama işlemi uygulanmadan dönüştürüldüğü kanısına ulaşılmıştır.



Şekil 4.19. Çözünürlük testi fotoğrafları

4.2.4. Termogravimetrik Analiz (TGA)

Elde edilen yeni malzemenin termal kararlılığındaki değişimin gözlenmesi ve malzeme bileşiminin karakterize edilmesi amacıyla JEL-KOL-ELA-PCL'a TGA uygulanmıştır. TGA ve dTG eğrisi şekil 4.20'de gösterilmektedir. Kırmızı kesik çizgi ile gösterilen TGA eğrisi ve mavi kesiksiz çizgi dTG eğrisini göstermektedir. 100°C civarında olan ilk bozunma malzeme tarafından absorblanmış nemin bozunması/buharlaşması olarak değerlendirilmiştir. dTG eğrisinde ufak bir omuz oluşturan 2. bozunma 175°C'de başlamıştır ve bu bozunma 240°C'de başlayan son bozunma evresi ile birleştiği görülmektedir. 2. bozunmanın PCL'ye göre daha düşük sıcaklıkta başlayan jelatine ait olduğu düşünülmektedir. Bu kütle kaybı başladıktan kısa bir süre sonra bozunma evresi başlamıştır, 320°C'de kütle kaybının hızı maksimuma ulaşmıştır.



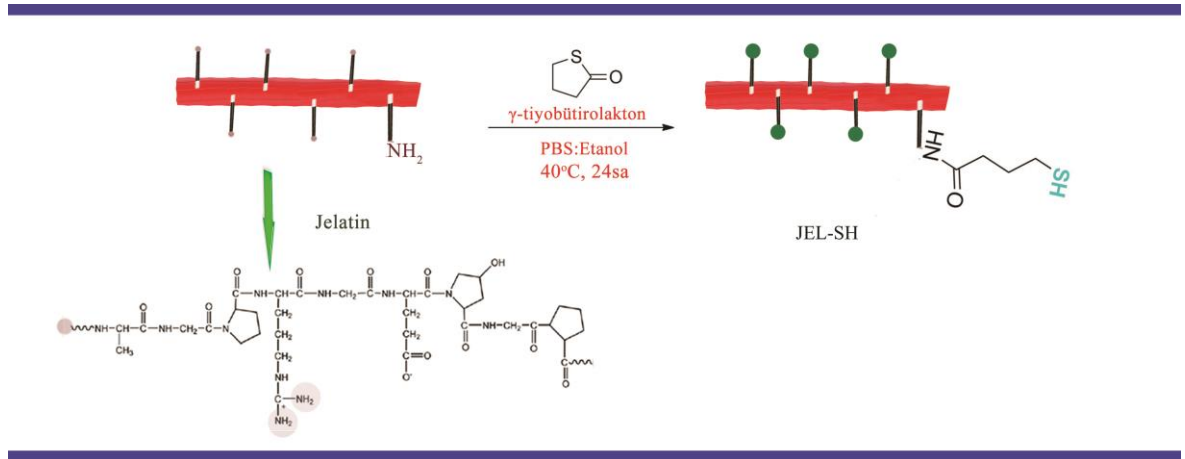
Şekil 4.20. JEL-KOL-ELA malzemesine ait TGA ve dTG diagramları

Bozunma sıcaklıkları ve eğrilere bakıldığında PCL'nin JEL-KOL-ELA'e aşılmasından sonra termal bozunma karakteristiğinin saf jelatin ile saf PCL arasındaki değerlere değiştiği görülmektedir.

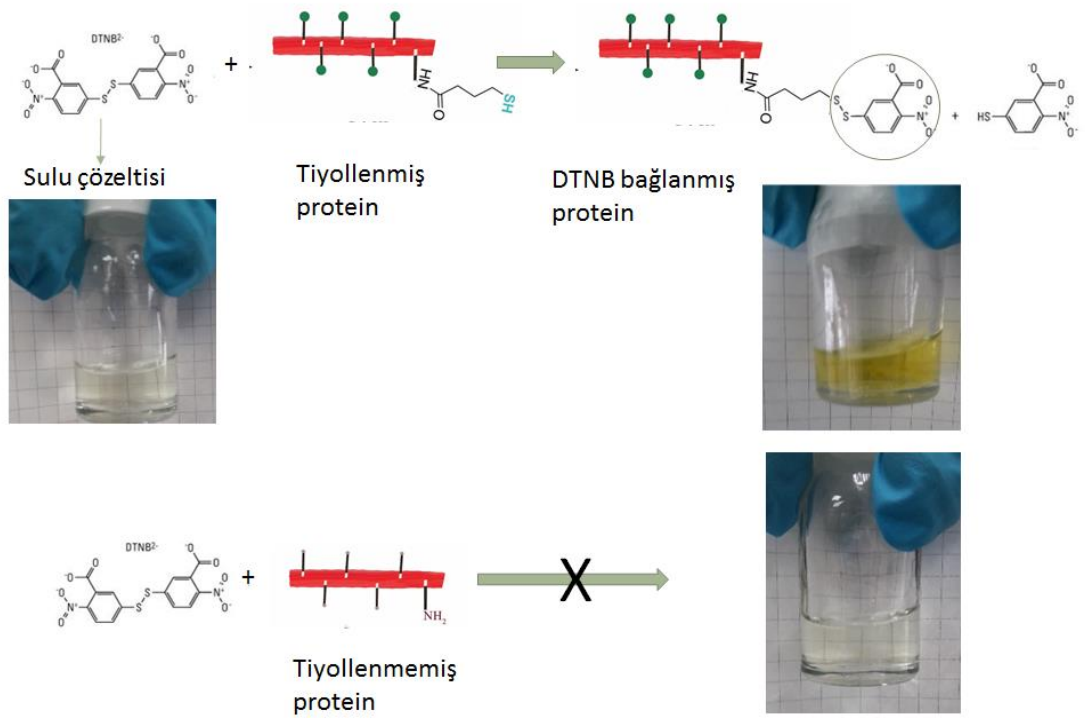
4.3. Tiyol-en Foto Klik Reaksiyonu ile Jeltin-PCL Blok Kopolimerinin Hazırlanması ve Karakterizasyonu

4.3.1. Tiyol Fonksiyonelli Jelatinin Hazırlanması

Tiyol-en reaksiyonu için gerekli olan $-SH$ fonksiyonelliğini jelatine kazandırmak üzere şekil 4.21'deki reaksiyon yapılmıştır.



Şekil 4.21. Jelatinin tiyollenme reaksiyonu

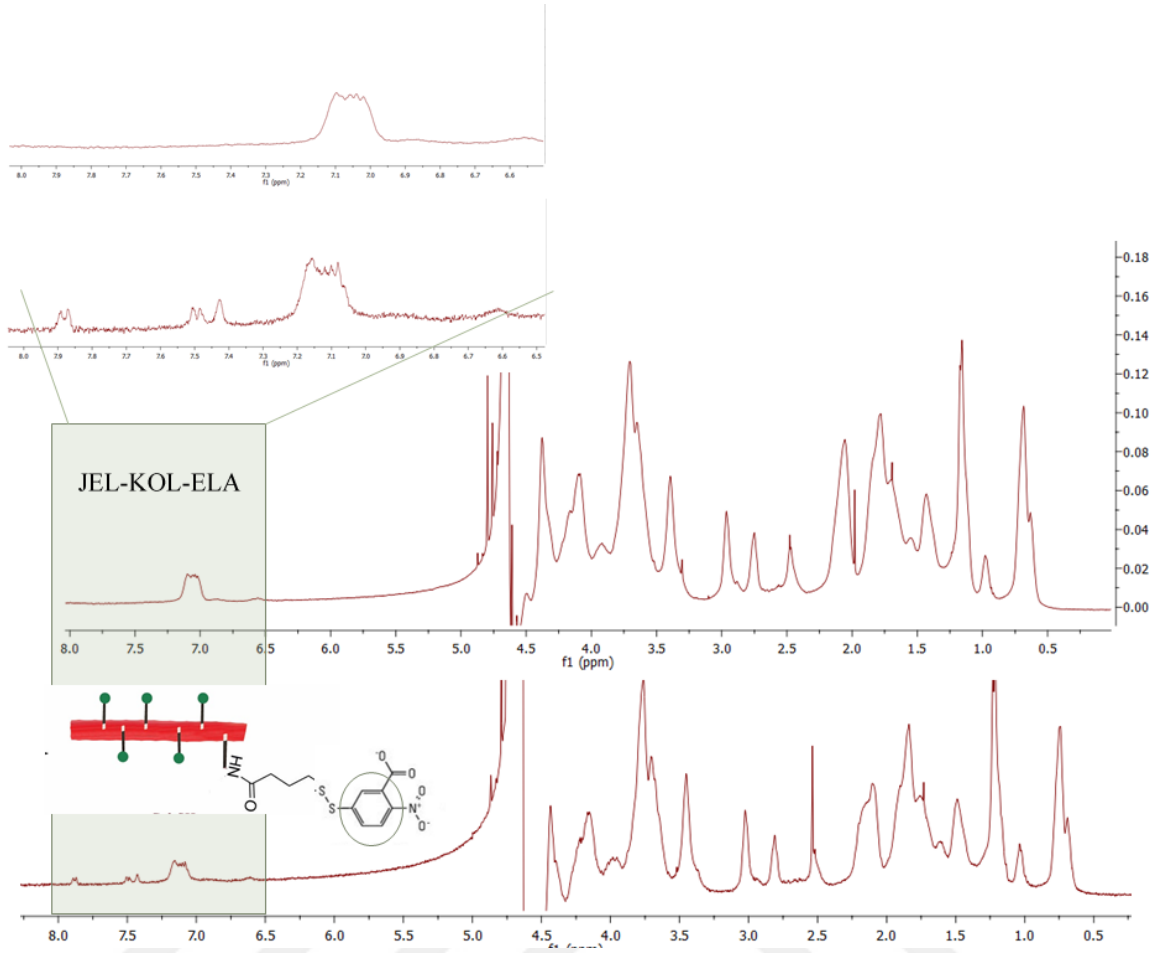


Şekil 4.22. JEL-SH'nin Ellman reaktifi ile reaksiyonu ve renk değişimleri

Bu reaksiyonda jelatin üzerinde bulunan serbest amin grupları tiyobütürolakton ile etkileştirilerek şekil 4.21'de görüldüğü gibi bir ucunda -SH grubu bulunan jelatin molekülleri (JEL-SH) hazırlanmıştır. Tiyollenme reaksiyonunun doğrulanması için Ellman testi yapılmıştır. Ditiyobis (nitrobenzoik asit) (DTNB) sulu çözeltisinde JEL-SH ile reaksiyona sokularak renk değişimi olup olmadığına bakılmıştır. Bu test sonucunda saf jelatin ile sarı renkli çözelti oluşmazken JEL-SH ile yapılan testte sarı renkli çözelti

oluşmuştur. Bu teste ilişkin reaksiyon ve renk değişimine ait fotoğraflar şekil 4.22'de gösterilmiştir.

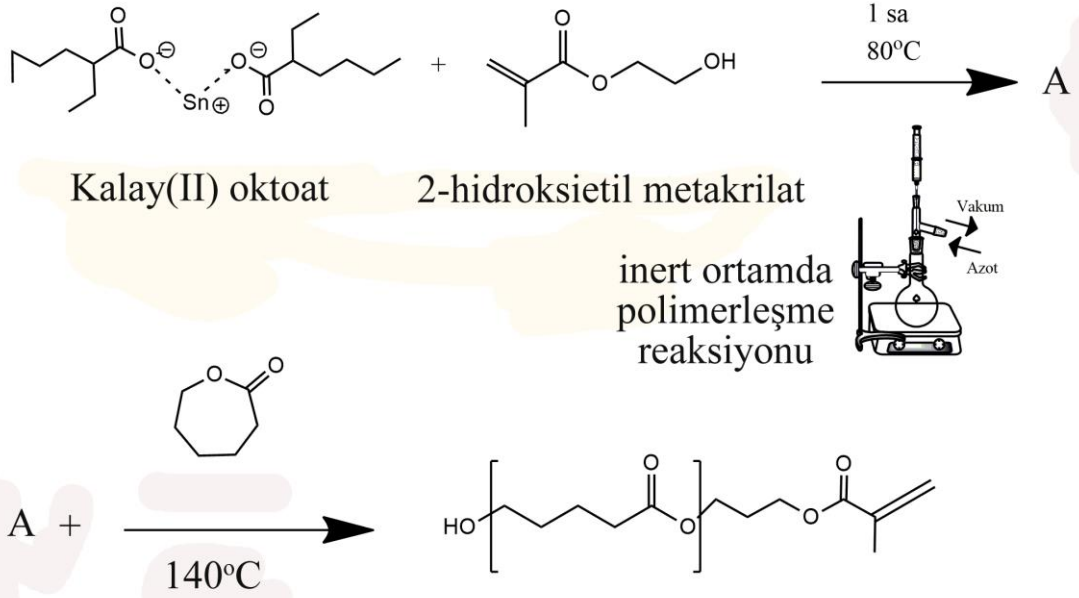
Jelatin üzerinden yapılan tiyolleme reaksiyonu bu şekilde doğrulandıktan sonra JEL-KOL-ELA-SH tiyollenmiş nanolifi için de bu test uygulanmıştır ve ¹HNMR spektrumu ile karakterize edilmiştir. Çözelti içerisinde daldırılıp reaksiyon için beklendikten sonra JEL-KOL-ELA-SH lifi yıkandıktan sonra D₂O'da çözülerek ¹HNMR spektrumu alınmıştır. Bu spektrum ise şekil 4.23'de verilmiştir. spektruma göre saf nanolife ait pikler şöyledir: Valin, Lösin, İzolösin amino asitlerinden 0.68 ppm (γ,δ -CH₃), Treonin amino asidinden 0.89 ppm (γ -CH₃), Alanin amino asidinden 1.16 ppm (γ -CH₃), Lisin amino asidinden 1.43 ppm (β,γ,δ -CH₃), Arjinin amino asidinden 1,78 ppm (β,γ -CH₃), Prolin amino asidinden 2,05 ppm (β,γ,δ -CH₂), Aspartik asit amino asidinden 2.48 ppm (β -CH₂), Lisin amino asidinden 2.75 ppm (ϵ -CH₂), Arjinin amino asidinden 2.96 ppm (δ -CH₂), glisin amino asidinden 3.39'da (α -CH₂), Hidroksiprolin amino asidinden 3.7 ppm (γ -CH₂), Fenil alanin aminoasidinden 7.08 ppm (aromatik). Protein ile ellman reaktifi arasındaki reaksiyon sonrasında fenil grubundan kaynaklanan 7.5, 7.9 ve 7.4 ppm'deki piklerin oluştuğu görülmektedir(Russo ve ark., 2014). Bu piklerin olduğu bölüm spektrumların verildiği şeklinin içerisinde ayrıca büyütülerek gösterilmiştir.



Şekil 4.23. JEL-KOL-ELA ve ellman testi yapıldıktan sonraki molekülün ¹H NMR spektrumları

4.3.2. Vinil fonksiyoneli PCL'nun Sentezlenmesi

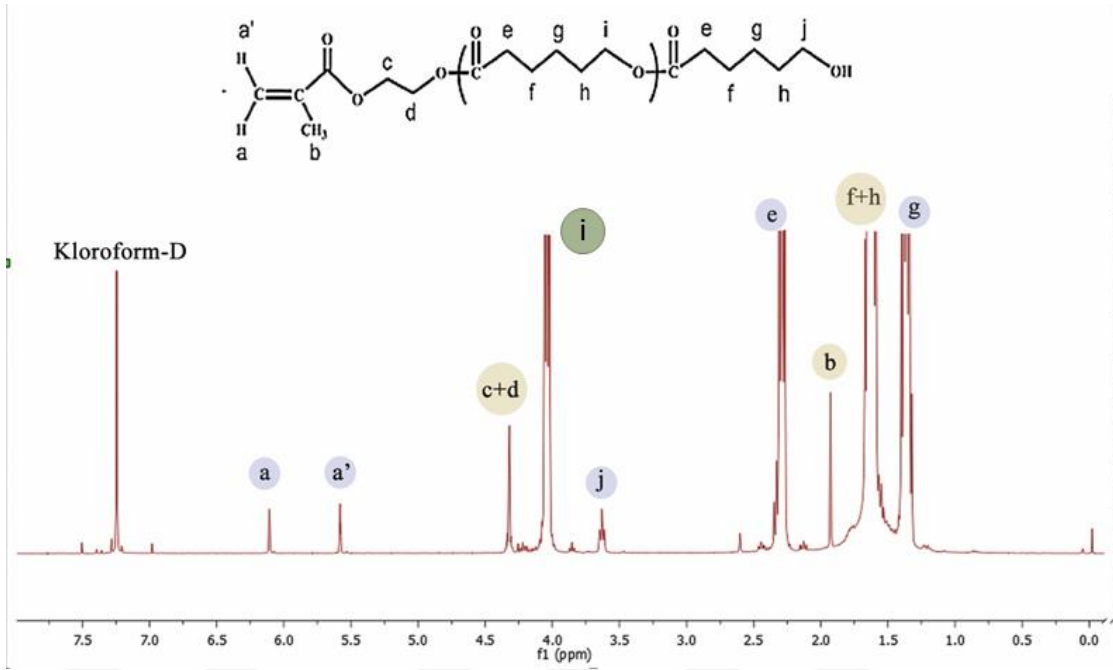
Zincirlerinin ucunda vinil (C=C) grubu içeren PCL'nin (PCL-Vin) sentezi için ε-kaprolaktonun halka açılması polimerizasyonu hidroksi etil metakrilat (HEMA) ve kalay (II) oktoat başlatıcı sistemi ile gerçekleştirilmiştir. HEMA'nın –OH grubu halka açılması polimerizasyonunu başlattığı için PCL zincirlerinin sonunda HEMA'nın diğer ucundaki C=C ile vinil fonksiyoneli hale getirilmiştir. Reaksiyon şekil 4.24.'de gösterilmektedir.



Şekil 4.24. Vinil fonksiyonelli PCL sentezi

4.3.3. PCL-Vin'in $^1\text{HNMR}$ ile Karakterizasyonu

Bu yapının $^1\text{HNMR}$ spektrumu şekil 4.25'de gösterilmiştir. Spektrumda PCL ana zincirine ait pikler 1.33 ppm, 1.57 ppm ve 2.26 ppm'de görülmüştür. PCL'nin bu piklerinin yanı sıra 3.61 ppm'de ve 3.71 ppm'de sırasıyla $\text{CH}_2\text{-OH}$ $\text{CH}_2\text{-O-OH}$ ' ait pikler görülmektedir ve 1.90 ppm ve 4.06 ppm'de ise $-\text{CH}_3$ ve $-\text{CH}_2\text{-CH}_2$ ye ait pikler bulunur. PCL zincirin ucuna eklenen olefinik protonlara ait pikler ise 5.57 ppm ve 6.10 ppm'de görülmüştür. Bu analiz sonucunda vinil fonksiyonelli PCL'nin başarıyla sentezlendiği doğrulanmıştır(Tasdelen-Yucedag ve Erciyes, 2014).

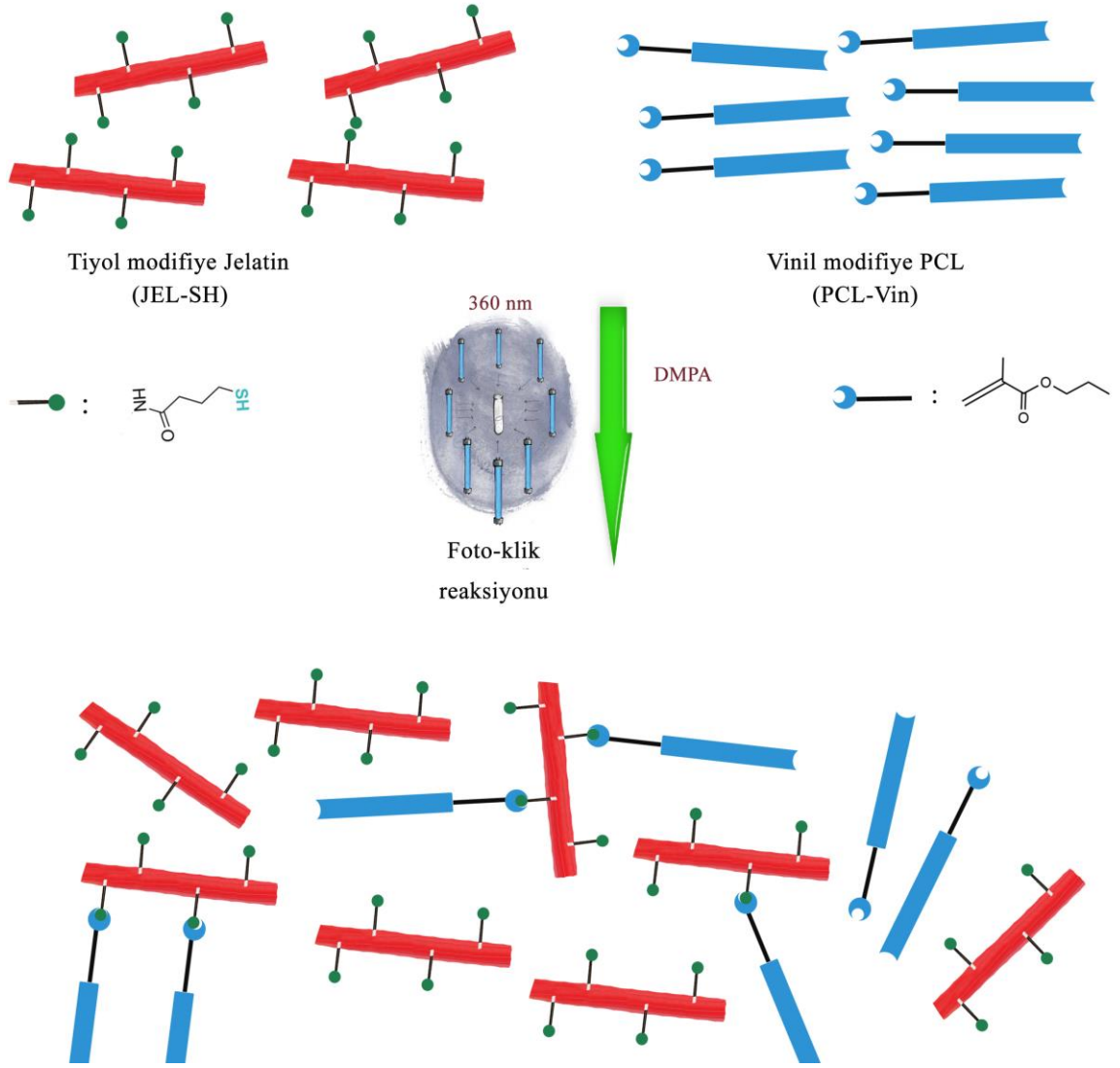


Şekil 4.25. Vinil fonksiyonelli PCL'nin proton NMR spektrumu

4.3.4. Tiyollenmiş proteinler ile Vinil Fonksiyonelli PCL'nun Tiyol-en Foto Klık Reaksiyonu

Şekil 4.26.'te gösterilen bu Tiyol-en Foto klık reaksiyonu,

- 1) Tiyollenen saf jelatin tozu (JEL-SH) ile PCL-Vin arasında
- 2) Tiyollenen Jelatin/kolajen/elastin nanolifi (JEL-KOL-ELA-SH) ile PCL-Vin arasında olmak üzere iki farklı denemesi yapılmıştır (Bölüm 3.2.2.5).

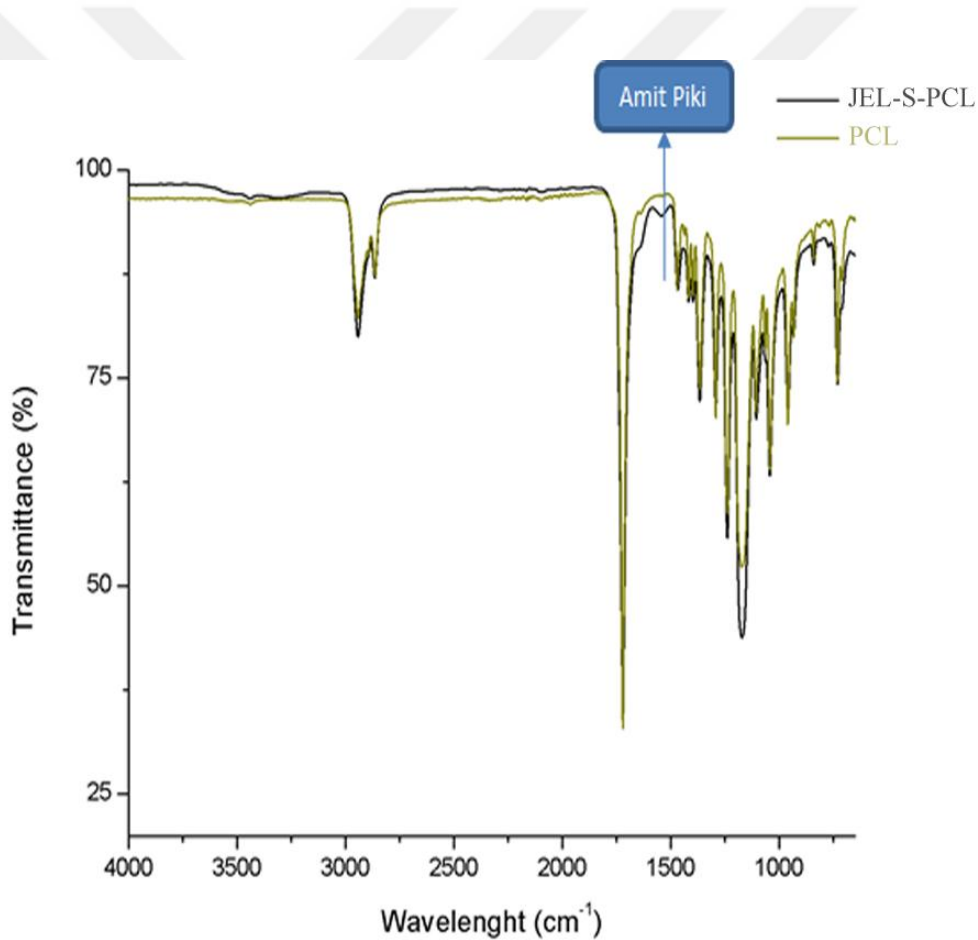


Şekil 4.26. Tiyol-en foto klik reaksiyonu ile JEL-S-PCL sentezinin şekilsel gösterimi

Bunlardan birincisinde reaksiyon sonrasında renksiz çözeltinin hafif sarı renge dönüşmesi makromoleküller arasında $-S-S-$ bağının oluştuğunu işaret etmiştir. Elde edilen açık sarı ürün karışımı reaksiyona girmeyen jelatin moleküllerini uzaklaştırılması için bol saf su ile yıkanmıştır ve FTIR ile yapısı aydınlatılmıştır. 2. denemede ise halka açılması polimerizasyonu ile PCL aşılmasında olduğu gibi bu kez tiyol-en reaksiyonu ile PCL'nin aşılacağı bir reaksiyon kurulmuştur ve reaksiyona girmeyen PCL uzaklaştırılması için ise bol DCM ile yıkanmıştır. Bu ürün de Raman spektrometresi ile kimyasal yapısı aydınlatılmıştır.

4.3.5. Tiyol-en Foto Klık Reaksiyonu ile Elde Edilen Jelatin-PCL Blok Kopolimerinin FTIR Spektrumu ile Analizi

Yıkama işleminden sonra kurutulan örnek kimyasal bağlanan PCL'nin varlığının gösterilmesi için FTIR analizi yapılmıştır. FTIR spektrumu şekil 4.27'te gösterilmektedir. Saf PCL'nin FTIR spektrumu daha önce bölüm 4.1.2'de incelendiğinde elde edilen karakteristik PCL pikleri bu sonuçlarda da aynıdır. Foto klık reaksiyonundan sonra jelatinin yapıya bağlanması ile bu molekülden gelen yeni şiddeti düşük amit piki (1636 cm^{-1}) görülmüştür. Bu yeni pik, yapıda jelatinin olduğunu gösterdiği, pikin şiddetinin düşük olması ise düşük miktarda jelatinin bağlandığı düşünülmektedir. Bunun nedeni de tiyol-en reaksiyonunda kullanılan vinil grubunun bağlı olduğu akrilat grubunun tiyol-en reaksiyonlarında veriminin düşük olmasına neden olması olabilir.



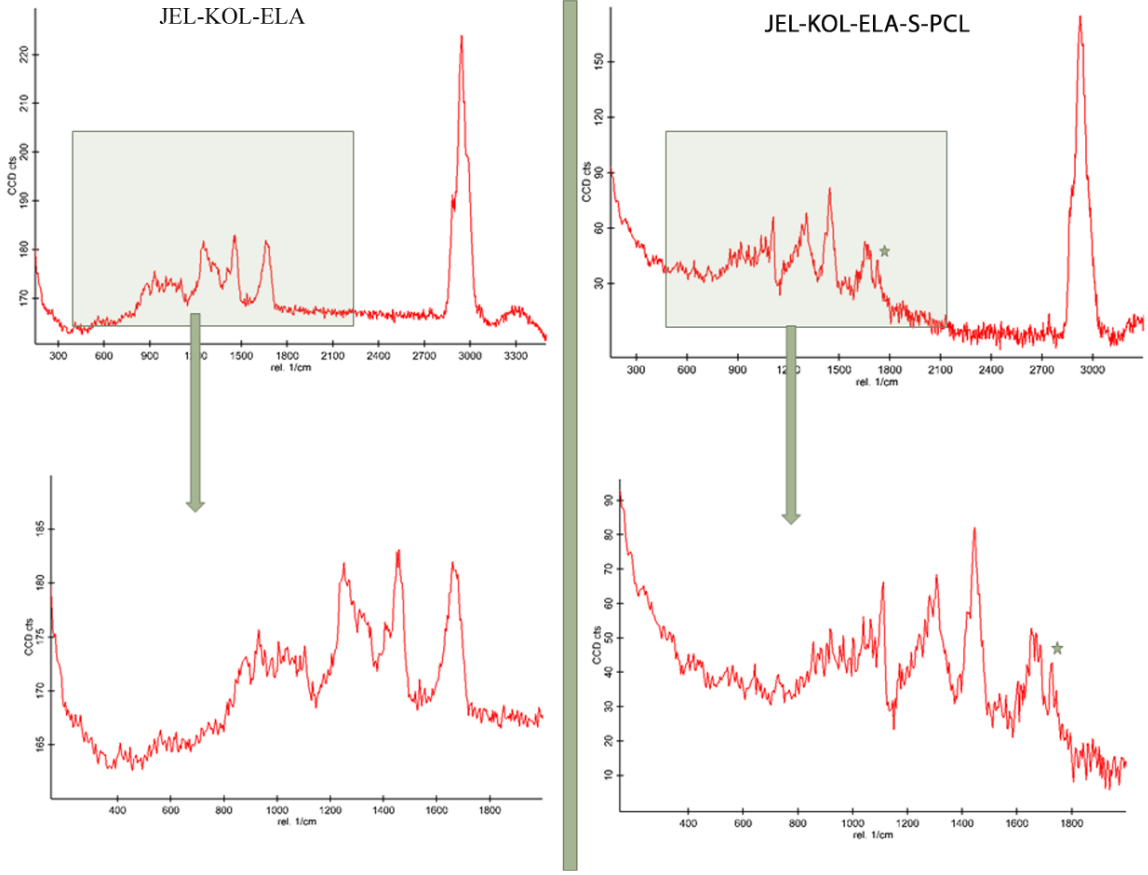
Şekil 4.27. Saf jelatin ve JEL-S-PCL'in FTIR spektrumları

Bu model çalışma tiyol-en reaksiyonunun gerçekleşmesi ile blok kopolimer oluşturulabileceğini göstermiştir.

Daha sonra kolajen ve elastin içeren tiyollenmiş nanolif JEL-KOL-ELA-SH ile PCL-Vin tiyol-en foto klik reaksiyonu gerçekleştirilmiştir.

4.3.6. Tiyol-en Foto Klik Reaksiyonu ile Elde Edilen Jel-KOL-ELA-PCL Blok Kopolimerinin Raman Spektrumu ile Analizi

Tiyollenmiş JEL-KOL-ELA nanolifi üzerinde gerçekleştirilen tiyol en foto klik reaksiyonundan sonra aşılana PCL, karakterize edilmesi için Raman analizi yapılmıştır ve bu spektrum şekil 4.28'da gösterilmektedir. Tiyol-en reaksiyonu uygulanmadan önceki saf nanolifin Şekil 4.28'daki spektrumuna göre karakteristik amit I, amit II, amit III pikleri sırasıyla 1654 cm^{-1} 'de, 1320 cm^{-1} 'de, 1250 cm^{-1} 'de görülmüştür. Tiyol-en reaksiyonu ile nanolif yüzeyine PCL aşılandıktan sonra 1724 cm^{-1} 'de PCL'nin ana zincirindeki karbonil grubunun C=O gerilme piki hafif şekilde çıktığı görülmüştür. Bu tez çalışmasında daha önce (bölüm 4.2.1) aynı nanolif üzerinden halka açılması polimerizasyonu ile PCL aşılandığında nanolif yüzeyinin PCL ile kaplandığı için Raman spektrumunda PCL'nin karakteristik pikleri belirgin bir şekilde ortaya çıktığı ve proteinin piklerini azalttığı gözlemlenmişti. Tiyol-en reaksiyonun veriminin sadece jelatin ile yapılan reaksiyonda düşük olduğu FTIR spektrumundaki pikin zayıf olmasında daha önce belirtmişti. Bu durum JEL-KOL-ELA nanolifi üzerinden yapılan tiyol-en klik reaksiyonunda da benzer verimlilikte olduğu düşünülmektedir.

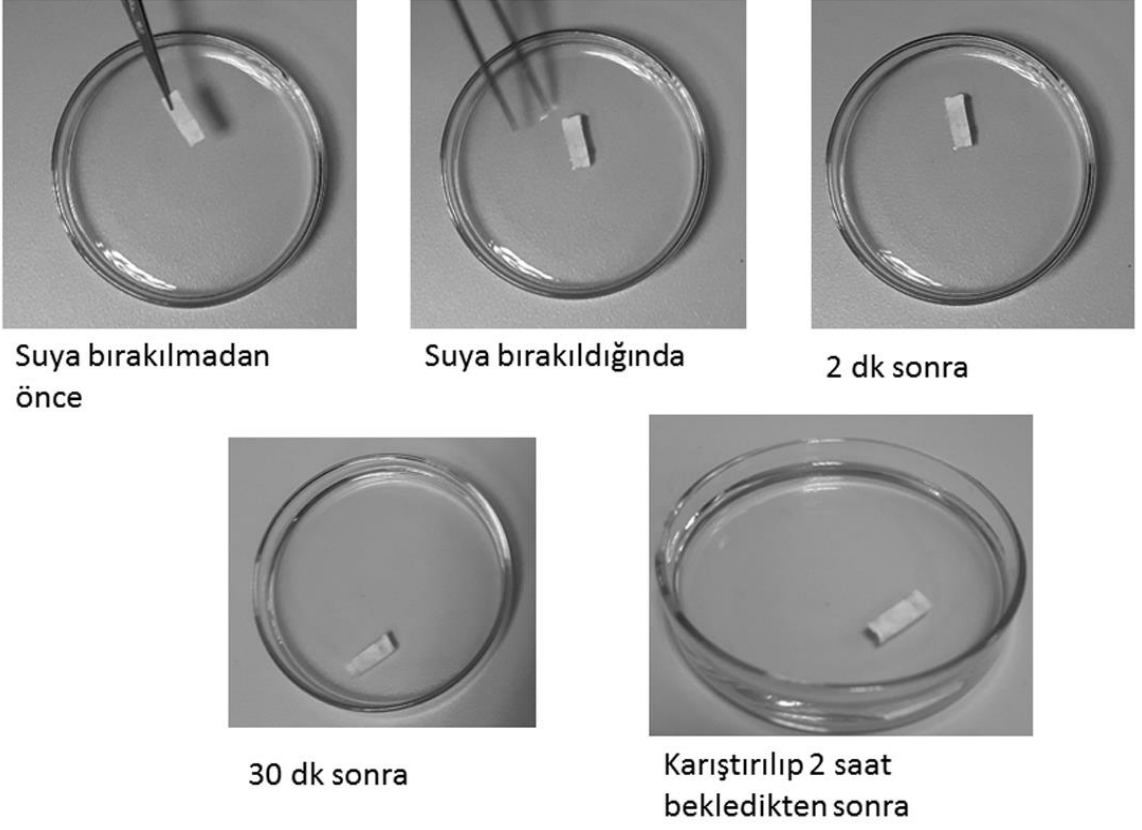


Şekil 4.28. JEL-KOL-ELA nanolifinin ve tiyol-en reaksiyonundan sonraki malzemenin (JEL-KOL-ELA-S-PCL) Raman spektrumları

4.3.7. Suda Çözünme Testi

Diğer lif üzerinde PCL aşılması çalışmalarında olduğu gibi bu nanolifin de aşılama sonrasındaki suda çözünmesi ve suya dayanıklılığı test edilmiştir. Beklenildiği gibi PCL bağlanan yeni nanolif yapının saf nanolifin aksine suda çözünmediği görülmüştür. Bu görüntüler şekil 4.29.'de gösterilmektedir.

Tiyol-en Klık reaksiyonu ile hazırlanan JEL-KOL-ELA-S-PCL



Şekil 4.29. Tiyol-en klık reaksiyonu ile hazırlanan JEL-KOL-ELA-S-PCL'nin suda çözünme testi

BÖLÜM 5

SONUÇ VE ÖNERİLER

Damar doku mühendisliği uygulamalarında kolajen/elastin/PCL hibrit malzemesinin kullanımı, hücre tutunması ve gelişimine uygun ve esneklik ve dayanım bakımından iyi mekanik özellikte olması nedenleri ile son yıllarda ön plana çıkmıştır. Kovalent bağlı ve sulu ortamda kararlı yapıda olan bu malzemenin üretilmesinde genellikle plazma muamelesi, PAA ile modifikasyon, aminoliz reaksiyonları gibi bir veya birden fazla ön işlemin uygulandığı ve proteinlerin bağlanması basamağında glutaraldehit, EDC, NHS gibi metabolizmada zehirleyici etkisi olabilen bileşikler kullanılmaktadır. Bu nedenle PCL'nin kovalent bağlı olduğu, kolajen ve elastin içeren matriksi üretilmesi daha önceki çalışmalarda kullanılan yöntemlerden farklı olarak PCL'nin nanolif yüzeyinde halka açılması polimerleşmesi ile sentezlenmiştir.

Kolajen-elastin-PCL yapısının hazırlanmasından önce kullanılacak metodun olabilirliği kolajenin denature edilmiş formu olan jelatin ile denenmiştir. Kolajen 40°C'nin üzerindeki sıcaklıklarda denatüre olması nedeniyle bu reaksiyonun 40°C'den daha düşük sıcaklıklarda gerçekleştirilmesi gerekmiştir. Literatürdeki bilgilere göre ϵ -kaprolaktonun halka açılması polimerizasyonu genellikle kalay(II) oktoat katalizörü ile ve 80-180°C arasında yapıldığı ancak son zamanlarda daha ılımlı koşullarda (4-40°C arasında) halka açılması polimerizasyonu için Ti(IV) izopropoksitin kullanıldığı keşfedilmiştir. Bu nedenle kalay(II)oktoat yerine Ti(IV) izopropoksit kullanılmıştır.

Jelatin yüzeyindeki serbest amin grupları ile Ti(IV) izopropoksit, halka açılması polimerizasyonunu nanolif yüzeyinde başlatarak PCL'nin protein yapısına kovalent bağlanması sağlanmıştır. Fiziksel etkileşimler ile bağlanmış olabileceği düşünülen PCL kalıntıları da reaksiyon sonrasında diklorometan ile yıkama sonucu uzaklaştırılmıştır.

Farklı sürelerde yapılan reaksiyonlar sonucu PCL'nin lifler üzerindeki oluşumu SEM analizi ile görüntülenmiştir. Lif çaplarının giderek büyüdüğü ve ilerleyen sürelerde lif yapıda olmayan hacimli PCL bölümlerinin oluştuğu görülmüştür. Ayrıca EDX analizi ile PCL olduğu düşünülen bölgelerde elementel analiz yapıldığında azot oranının düştüğü, C oranının arttığı görülerek bu bölümlerin PCL'ye ait olduğu desteklenmiştir.

EDX analizinin yanı sıra FTIR ve Raman analizleri ile proteinler (jelatin, kolajen, elastin) ve PCL'nin kimyasal yapıları aydınlatılmıştır. Oluşturulan JEL-PCL üründe FTIR analizinde hem jelatine hem de PCL'ye ait pikler görülmüştür. Raman analizinde ise

yüzeydeki PCL'nin piklerinin belirgin bir şekilde görüldüğü gözlemlenerek reaksiyon desteklenmiştir.

Termogravimetrik analizde yeni oluşan ürünün termal bozunma eğrisinin iki polimerin arasında bir eğri oluşturduğu görülmüştür.

Doku mühendisliği uygulamalarında hücre tutunması için önemli olan hidrofilik özellik su temas açısı analizi ile belirlenmiştir. JEL-PCL çözülerek spin coater ile cam yüzeyine kaplandıktan sonra yapılan su temas açısı analizinde doku mühendisliği uygulamaları için uygun olabilecek bir değer olan 44°C ölçülmüştür. Su ile etkileştirildiğinde yapıda bozunma veya suda çözünme görülmemiştir. Böylece daha önceki çalışmalarda gerekli olan çapraz bağlama işlemine gerek kalmadığı düşünülmüştür.

Jelatin ile bu reaksiyonun ve ürünün karakterize edilmesinin ardından, Jelatin-kolajen-elastin karışımının nanolifi (JEL-KOL-ELA) hazırlanmıştır ve jelatin ile yapılan reaksiyonun aynısı yapılarak ürünler analiz edilmiştir. Raman analizi ile yüzeye aşıl原因an PCL yapısı aydınlatılmıştır, TGA ile termal davranışındaki değişiklik analiz edilmiştir, su temas açısı analizi ile hidrofilikliği analiz edilmiştir ve su içerisine daldırılarak sudaki çözünürlüğü test edilmiştir. Bu analizlerde jelatin ile yapılmış matriks ile benzer sonuçlar elde edilerek reaksiyon doğrulanmıştır.

PCL'nin kovalent bağlı olduğu, kolajen ve elastin içeren matriksler ayrıca tiyol-en foto klik reaksiyonu ile yapılarak karakterize edilmiştir. Bunun için önceden hazırlanan jelatin-kolajen-elastin nanolifi tiyollenmiştir. Tiyol grupları Elman testi ile doğrulanmıştır. Ayrıca vinil fonksiyonelli PCL, ϵ -kaprolaktonun HEMA/kalay(II)oktoat başlatıcısı ile halka açılması polimerizasyonu ile sentezlenmiştir. Tiyol modifiyeli Gel-KOL-ELA-SH nanolifi üzerinde PCL-Vin ve fotobaşlatıcı varlığında tiyol-en foto kilik reaksiyonu yürütülerek JEL-KOL-ELA-S-PCL üretilmiştir. Raman analizinde PCL'ye ait karbonil piki görülmüştür. Bu spektrumdaki karbonil pikinin halka açılması polimerleşmesi ile PCL'nin aşılandığı JEL-KOL-ELA-PCL Raman spektrumundaki karbonil pikine göre daha düşük olduğu görülmüştür. Buradan tiyol-en reaksiyonu ile halka açılması ile aşılama yönteminde olduğu kadar PCL aşılanmadığı anlaşılmıştır.

Sonuç olarak bu tezde, literatürde bulunan önceki çalışmalarda kullanılan plazma muamelesi, aminoliz reaksiyonları, PAA aşılama, çapraz bağlama işlemleri olmadan kolajen-elastin içeren ve kovalent PCL bağlı yapılar halka açılması polimerizasyonu ile eş zamanlı aşılama ile ve ayrıca tiyol-en foto klik reaksiyonu kullanılarak hazırlanmıştır.

Bu çalışmadaki kullanılan metodlarda önceki çalışmalara göre daha az basamak içermesi ve zararlı olabilecek bir kimyasalın (glutaraldehit, EDC, NHS) yapıda

bulunmaması yönleri ile bu malzemenin üretimi konusuna önemli bir katkı sağlayacağı düşünülmektedir.



KAYNAKLAR

- Abruzzo A., Fiorica C., Palumbo V. D., Altomare R., Damiano G., Gioviale M.C., Tomasello G., 2014. "Using Polymeric Scaffolds for Vascular Tissue Engineering." *International Journal of Polymer Science*.
- Almine J. F., Bax D.V., Mithieux S.M., Nivison-Smith L., Rnjak J., Waterhouse A., Wise S.G., Weiss A.S., 2010. "Elastin-Based Materials." *Chemical Society Reviews* 39 (9): 3371.
- Amass W., Amass A., Tighe. B. 1998. "A Review of Biodegradable Polymers: Uses, Current Developments in the Synthesis and Characterization of Biodegradable Polyesters, Blends of Biodegradable Polymers and Recent Advances in Biodegradation Studies." *Polymer International* 47 (2): 89–144.
- Assaf K., Leal C.V., Derami M.S., Duek E.A.R., Ceragioli H.J., Oliveira A.L.R., 2017. "Sciatic Nerve Repair Using Poly(epsilon-Caprolactone) Tubular Prosthesis Associated with Nanoparticles of Carbon and Graphene." *Brain and Behavior* 7 (8): e00755.
- Ayhan H., and Piskin E., 2000. "Collagen Immobilization onto P(EGDMA/HEMA) Microbeads for Cell Affinity Systems." *Journal of Bioactive and Compatible Polymers* 15 (1): 27–42.
- Barnes C.P., Sell S.A., Boland E.D., Simpson D.G., Bowlin. G.L. 2007. "Nanofiber Technology: Designing the next Generation of Tissue Engineering Scaffolds." *Advanced Drug Delivery Reviews*, 59 (14): 1413-1433
- Bauer A.J.P., Wu Y., Li. B., 2016. "Electrospun Poly(epsilon-caprolactone)/Polyhedral Oligomeric Silsesquioxane-Based Copolymer Blends: Evolution of Fiber Internal Structures." *Macromolecular Bioscience* 16 (5): 705–16.
- Berglund J.D., Mohseni M.M., Nerem R.M., Sambanis A., 2003. "A Biological Hybrid Model for Collagen-Based Tissue Engineered Vascular Constructs." *Biomaterials* 24 (7): 1241–1254.
- Bisht K.S., Deng F., Gross R.A., Kaplan D.L., Swift. G., 1998. "Ethyl Glucoside as a Multifunctional Initiator for Enzyme-Catalyzed Regioselective Lactone Ring-Opening Polymerization." *Journal of the American Chemical Society* 120 (7): 1363–

1367.

- Bisson I., Kosinski M., Ruaulta S., Gupta B., Hilborn O., Wurmd F., Frey P., 2002. "Acrylic Acid Grafting and Collagen Immobilization on Poly (Ethylene Terephthalate) Surfaces for Adherence and Growth of Human Bladder Smooth Muscle Cells." *Biomaterials* 23: 3149–58.
- Boland E.D., Telemeco T.A., Simpson D.G., Wnek G.E., Bowlin G.L., 2004. "Utilizing Acid Pretreatment and Electrospinning to Improve Biocompatibility of Poly(glycolic Acid) for Tissue Engineering." *Journal of Biomedical Materials Research - Part B Applied Biomaterials* 71 (1): 144–152.
- Bratton D., Brown M., Howdle S.M., 2005. "Tin(II) Ethyl Hexanoate Catalyzed Precipitation Polymerization of Epsilon-Caprolactone in Supercritical Carbon Dioxide." *Macromolecules* 38 (4): 1190–1195.
- Chagneux N., Trimaille T., Rollet M., Beaudoin E., Gérard P., Bertin D., Gigmes D., 2009. "Synthesis of Poly(n-Butyl Acrylate)-B-Poly(ϵ -Caprolactone) through Combination of SG1 Nitroxide-Mediated Polymerization and Sn(Oct) 2-Catalyzed Ring-Opening Polymerization: Study of Sequential and One-Step Approaches from a Dual Initiator." *Macromolecules* 42 (24): 9435–42.
- Chen C.T., Huang C.A., Huang B.H., 2004. "Aluminum Complexes Supported by Tridentate Aminophenoxide Ligand as Efficient Catalysts for Ring-Opening Polymerization of ϵ -Caprolactone." *Macromolecules* 37 (21): 7968–7973.
- Cheng J., Ling X., Zhong Z., Zhuo R., 2011. "Synthesis of Dendrigraft Poly(????-Caprolactone)s Using Side Hydroxyl Groups for the Grafting of Branch Chains." *Macromolecular Rapid Communications* 32 (22): 1839–1845.
- Cheng Z., and Teoh. S.H., 2004. "Surface Modification of Ultra Thin Poly (ϵ -Caprolactone) Films Using Acrylic Acid and Collagen." *Biomaterials* 25 (11): 1991–2001.
- Chiono V., G. Vozzi C.G., Cortez J., Barbani N., Gentile P., Giusti. P., 2008. "Enzymatically-Modified Melt-Extruded Guides for Peripheral Nerve Repair." *Engineering in Life Sciences* 8 (3): 226–237.
- Choi L., Park H., Chun H.J., Kim C., Jang J.W., 2009. "Collagen Modified Polystyrene

- Plate for Enhanced Cell Cultivation.” *Tissue Engineering* 6 (4): 432–437.
- Cleary M.A., Geiger E., Grady C., Cameron B., Naito Y., Breuer C., 2012. “Vascular Tissue Engineering: The next Generation.” *Trends in Molecular Medicine*. Elsevier B.V.
- Cummings C.L., Gawlitta D., Nerem R.M., Stegemann J.P., 2004. “Properties of Engineered Vascular Constructs Made from Collagen Fibrin, and Collagen-Fibrin Mixtures.” *Biomaterials* 25 (17): 3699–3706.
- Dayananda K., Pi B.S., Kim B.S., Park T.G. Lee D.S., 2007. “Synthesis and Characterization of pH/temperature-Sensitive Block Copolymers via Atom Transfer Radical Polymerization.” *Polymer* 48 (3): 758–762.
- Ferreira A.M., Gentile P., Chiono, V., Ciardelli. G., 2012. “Collagen for Bone Tissue Regeneration.” *Acta Biomaterialia* 8 (9) : 3191–3200.
- Fu W., Liu Z., Feng B., Hu R., He X., Wang H., Yin M., Huang H., Zhang H., Wang W., 2014. “Electrospun gelatin/PCL and collagen/PLCL Scaffolds for Vascular Tissue Engineering.” *International Journal of Nanomedicine* 9 (1): 2335–2344.
- Guo Z., Xu J., Ding S., Li H., Zhou C., Li L., 2015. “In Vitro Evaluation of Random and Aligned Polycaprolactone/gelatin Fibers via Electrospinning for Bone Tissue Engineering.” *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition* 26 (15) : 989–1001.
- Gupta B., Revagade N., 2007. “Radiation-Induced Graft Modification of Knitted Poly (Ethylene Terephthalate) Fabric for Collagen Immobilization” no. February: 281–85.
- Hasan A., Memic A., Annabi N., Hossain M., Paul A., Dokmeci M.R., Dehghani F., Khademhosseini A., 2014. “Electrospun Scaffolds for Tissue Engineering of Vascular Grafts.” *Acta Biomaterialia* 10 (1) : 11–25.
- Hasirci V., Yucel D., 2007. “Encyclopedia of Biomaterials and Biomedical Engineering.” *Encyclopedia of Biomaterials and Biomedical Engineering* 1–17.
- He F., Li J., Ye J., 2013. “Improvement of Cell Response of the Poly(lactic-Co-Glycolic Acid)/calcium Phosphate Cement Composite Scaffold with Unidirectional Pore Structure by the Surface Immobilization of Collagen via Plasma Treatment.” *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 103 : 209–16.

- Herring M.B., Dilley R., Jersild R.A., Boxer L., Gardner A., Glover J., Glover J., 1979. "Seeding Arterial Prostheses with Vascular Endothelium. The Nature of the Lining." *Annals of Surgery* 190 (1): 84–90.
- Hoyle C.E., Bowman C.N., 2010. "Thiol-Ene Click Chemistry." *Angewandte Chemie - International Edition* 49 (9): 1540–1573.
- Hua C., Dong C. Wei Y., 2009. "Versatile Strategy for the Synthesis of Dendronlike Polypeptide/linear Poly(epsilon-Caprolactone) Block Copolymers via Click Chemistry." *Biomacromolecules* 10 (5): 1140–1148.
- Hua C., Peng S.M., Dong C.M., 2008. "Synthesis and Characterization of Linear-Dendron-like Poly(epsilon-Caprolactone)-B-Poly(ethylene Oxide) Copolymers via the Combination of Ring-Opening Polymerization and Click Chemistry." *Macromolecules* 41 (18): 6686–6695.
- Ilsouk M., Raihane M., Lahcini M., Meri R.M., Zicāns J., Cimdina L.B., Kharas G.B., 2017. "Bionanocomposites Poly(epsilon-Caprolactone)/organomodified Moroccan Beidellite Clay Prepared by in Situ Ring Opening Polymerization: Characterizations and Properties." *Journal of Macromolecular Science Part A: Pure and Applied Chemistry* 54 (4) : 201–210.
- Iwasaki K., Kojima K., Kodama S., Paz A.C., Chambers M., Umezu M., C.A., Vacanti 2008. "Bioengineered Three-Layered Robust and Elastic Artery Using Hemodynamically-Equivalent Pulsatile Bioreactor." *Circulation* 118: 52-57
- Izhar U., Schwalb H., Borman J.B., Hellener G.R., Hotoveli-Salomon A., Marom G., Stern T., Cohn. D., 2001. "Novel Synthetic Selectively Degradable Vascular Prostheses: A Preliminary Implantation Study." *Journal of Surgical Research* 95 (2): 152–160.
- Jaspan V.N., Hines G.L., 2015. "The Current Status of Tissue-Engineered Vascular Grafts." *Cardiology in Review* 23 (5): 236–39.
- Ju M., Gong F., Cheng S. Gao, Y., 2011. "Fast and Convenient Synthesis of Amine-Terminated Polylactide as a Macroinitiator for omega-Benzylloxycarbonyl-L-Lysine-N-Carboxyanhydrides." *International Journal of Polymer Science* 2011: 1–8.
- Kerman I., Toppare L., Yilmaz F., Yagci Y., 2005. "Thiophene Ended epsilon-Caprolactone Conducting Copolymers and Their Electrochromic Properties." *Journal of*

Macromolecular Science Part A 42 (4): 509–20.

- Kowalski A., Libiszowski J., Biela T., Cypryk M., Duda A., Penczek S., 2005. “Kinetics and Mechanism of Cyclic Esters Polymerization Initiated with Tin(II) Octoate. Polymerization of ϵ -Caprolactone and L,L-Lactide Co-Initiated.” *Macromolecules* 33 (20) : 7359-7370
- Kristensen J.H., Karsdal. M.A., 2016. *Biochemistry of Collagens, Laminins and Elastin*. Elsevier Inc. USA, 197-201
- Lauritzen C.. 1983. “Experimental Studies on Absorbable Vascular Grafts for Microsurgery.” *Scandinavian Journal of Plastic and Reconstructive Surgery* 17 (2): 133–135.
- Lee S., Hsiue G., Chang P., Kao C., 1996. “Plasma-Induced Grafted polymerization of Acrylic Acid and Subsequent Grafting of Col-Lagen onto Polymer Film as Biomaterials.” *Biomaterials* 17 (16): 1599–1608.
- Lee W., Lee T.G., Koh W.G., 2007. “Grafting of Poly(acrylic Acid) on the Poly(ethylene Glycol) Hydrogel Using Surface-Initiated Photopolymerization for Covalent Immobilization of Collagen.” *Journal of Industrial and Engineering Chemistry* 13 (7): 1195–1200.
- Li H., Riva R., Jérôme R., Lecomte P., 2007. “Combination of Ring-Opening Polymerization And ‘click’ chemistry for the Synthesis of an Amphiphilic Tadpole-Shaped Poly(ϵ -Caprolactone) Grafted by PEO.” *Macromolecules* 40 (4): 824–31.
- Liu L., Chen L., Fang Y., 2006. “Self-Catalysis of Phthaloylchitosan for Graft Copolymerization of ϵ -Caprolactone with Chitosan.” *Macromolecular Rapid Communications* 27 (23): 1988–1994.
- Liu X., Zhang N., Yu L., Zhou S., Shanks R., Zheng. J., 2016. “Imaging the Phase of Starch-Gelatin Blends by Confocal Raman Microscopy.” *Food Hydrocolloids* 60: 7–10.
- Liu Y., Schulze M., Albertsson A.C., 1998. “ α -Methacryloyl- ω -Hydroxyl-Poly(ϵ -Caprolactone) Macromonomer: Synthesis, Characterization, and Copolymerization.” *Journal of Macromolecular Science Part A* 35 (2): 207–32.

- Lommen E., Gogolewski S., Pennings A.J., Wildevuur C.R., Nieuwenhuis P., 1983. "Development of a Neo-Artery Induced by a Biodegradable Polymeric Vascular Prosthesis." *Transactions - American Society for Artificial Internal Organs* 29 (28): 255–259.
- Matsumura K., Hyon S.H., Nakajima N., Peng C., Tsutsumi S., 2000. "Surface Modification of Poly(ethylene-Co-Vinyl Alcohol) (EVA). Part I. Introduction of Carboxyl Groups and Immobilization of Collagen." *Journal of Biomedical Materials Research* 50 (4): 512–17.
- Matsumura S., Hlil A.R., Lepiller C., Gaudet J., Guay D., Shi Z., Holdcroft S., Hay A.S., 2008. "Synthesis and Rheology of Biodegradable Poly(glycolic Acid) Prepared by Melt Ring-Opening Polymerization of." *American Chemical Society, Polymer Preprints, Division of Polymer Chemistry* 49 (1): 511–512.
- Mattanavee W., Suwantong O., Puthong S., Bunaprasert T., Hoven V.P., Supaphol P., 2009. "Immobilization of Biomolecules on the Surface of Electrospun Polycaprolactone Fibrous Scaffolds for Tissue Engineering." *ACS Applied Materials and Interfaces* 1 (5): 1076–1085.
- McClure M. J., Wolfe P.S., Rodriguez I.A., Bowlin. G.L., 2011. "Bioengineered Vascular Grafts: Improving Vascular Tissue Engineering through Scaffold Design." *Journal of Drug Delivery Science and Technology* 21 (3). Elsevier Masson SAS: 211–227.
- Meerod S., Tumcharern G., Wichai U., Rutnakornpituk M., 2008. "Magnetite Nanoparticles Stabilized with Polymeric Bilayer of Poly(ethylene Glycol) Methyl Ether-Poly(ϵ -Caprolactone) Copolymers." *Polymer* 49 (18): 3950–3956.
- Mehta R., Kumar V., Bhunia H., Upadhyay S.N., 2005. "Synthesis of Poly(Lactic Acid): A Review." *Journal of Macromolecular Science, Part C: Polymer Reviews* 45 (4): 325–349.
- Miranda-Nieves D., Chaikof E.L., 2017. "Collagen and Elastin Biomaterials for the Fabrication of Engineered Living Tissues." *ACS Biomaterials Science and Engineering* 3 (5): 694–711.
- Mooney D. J., Mazzoni C. L., Breuer C., McNamara K., Hern D., Vacanti J. P., Langer R., 2006. "Stabilized Polyglycolic Acid Fibre-Based Tubes for Tissue Engineering." In

The Biomaterials: Silver Jubilee Compendium, 129–138.

Motala-timol S., Jhurry D., Zhou J., Bhaw-luximon A., Mohun G., Ritter H., 2008.

“Amphiphilic Poly (L -Lysine- B -Caprolactone) Block Copolymers : Synthesis , Characterization , and Solution Properties” *Macromolecules* 41: 5571–76.

Niklason L. E., 1999. “Functional Arteries Grown in Vitro.” *Science* 284 (5413): 489–93.

Oledzka E., Sokolowski K., Sobczak M., Kolodziejcki W., 2011. “ α -Amino Acids as Initiators of ϵ -Caprolactone and L,L-Lactide Polymerization.” *Polymer International* 60 (5): 787–93.

Paira T.K., Banerjee S., Mandal T.K., 2012. “Peptide-Poly(ϵ -Caprolactone) Biohybrids by Grafting-from Ring-Opening Polymerization: Synthesis, Aggregation, and Crystalline Properties.” *Journal of Polymer Science, Part A: Polymer Chemistry* 50 (11): 2130–41.

Park J.Y., Kyung K.H., Tsukada K., Kim S.H., Shiratori. S., 2017. “Biodegradable Polycaprolactone Nanofibres with β -Chitosan and Calcium Carbonate Produce a Hemostatic Effect.” *Polymer (United Kingdom)* 123. Elsevier Ltd: 194–202.

Patino M.G., Neiders M.E., Andreana S., Noble B., Cohen. R.E., 2002. “Collagen : An Overview.” *Implant Dentistry* 11 (3): 280–85.

Pego P., Zhong Z.Y., Dijkstra P.J., Grijpma D.W., Feijen J., 2003. “Influence of Catalyst and Polymerization Conditions on the Properties of 1,3-Trimethylene Carbonate and ϵ -Caprolactone Copolymers.” *Macromolecular Chemistry and Physics* 204 (5–6): 747–54

Pepe A., Bochicchio B., Tamburro. A.M., 2007. “Supramolecular Organization of Elastin and Elastin-Related Nanostructured Biopolymers.” *Nanomedicine (London, United Kingdom)* 2 (2): 203–128.

Prabhakar V., Grinstaff M.W., Alarcon J., Knors C., Solan A.K., Niklason L.E., 2003. “Engineering Porcine Arteries: Effects of Scaffold Modification.” *Journal of Biomedical Materials Research Part A* 67 (1): 303–311.

Ravi S., Chaikof. E.L., 2010. “Biomaterials for Vascular Tissue Engineering.” *Regenerative Medicine* 5 (1): 107–120.

- Remant Bahadur K.C., Bhattarai S.R., Aryal S., Bhattarai N., Lee B.M. Kim H.Y., 2007. "Synthesis and Characterization of Amine-Functionalized Amphiphilic Block Copolymers Based on Poly(ethylene Glycol) and Poly(caprolactone)." *Polymer International* 56 (April): 518–524.
- Ren, X., Feng Y., Guo J., Wang H., Li Q., Yang J., Hao X., Lv J., Ma N., Li W., 2015. "Surface Modification and Endothelialization of Biomaterials as Potential Scaffolds for Vascular Tissue Engineering Applications." *Chem. Soc. Rev.* 44 (15): 5680–5742.
- Rosamond W., Flegal K., Furie K., Go A., Greenlund K., Haase N., Hailpern S.M., 2008. "Heart Disease and Stroke Statistics--2008 Update: A Report From the American Heart Association Statistics Committee and Stroke Statistics Subcommittee." *Circulation* 117 (4): 125–146.
- Russo L., Battocchio C., Secchi V., Magnano E., Nappini S., Gabrielli L., Comell F., 2014. "Thiol-ene Mediated Neoglycosylation of Collagen Patches: A Preliminary Study." *Langmuir* 30: 1336–1342.
- Russo Laura, Sgambato A., Visone R., Occhetta P., Moretti, M., Rasponi, M., Nicotra, F., Cipolla, L., 2016. "Gelatin Hydrogels via Thiol-Ene Chemistry." *Monatshefte Fur Chemie* 147 (3): 587–92.
- Sattayanon C., Sontising W., Limwanich W., Meepowpan, P., Punyodom W., Kungwan N., 2015. "Effects of Alkoxide Alteration on the Ring-Opening Polymerization of ϵ -Caprolactone Initiated by N-Bu₃SnOR: A DFT Study." *Structural Chemistry* 26 (3): 695–703.
- Serrano M.C., Pagani R., Ameer G.A., Vallet-Regí M., Portolés M.T., 2008. "Endothelial Cells Derived from Circulating Progenitors as an Effective Source to Functional Endothelialization of NaOH-Treated Poly(ϵ - Caprolactone) Films." *Journal of Biomedical Materials Research - Part A* 87 (4): 964–971.
- Serrano M.C., Portolés M.T., Vallet-Regí M., Izquierdo I., Galletti L., Comas J.V., Pagani R., 2005. "Vascular Endothelial and Smooth Muscle Cell Culture on NaOH-Treated Poly(epsilon-Caprolactone) Films: A Preliminary Study for Vascular Graft Development." *Macromolecular Bioscience* 5: 415–423.

- Setoguchi T., Yamamoto K., Kadokawa J.I., 2012. "Preparation of Chitin Nanofiber-Graft-Poly(l-Lactide-co- ϵ -Caprolactone) Films by Surface-Initiated Ring-Opening Graft Copolymerization." *Polymer (United Kingdom)* 53 (22): 4977–4982.
- Shueh M.L., Wang Y.S. Huang B.H., Kuo C.Y., Lin C.C., 2004. "Reactions of 2,2-methylenebis(4-Chloro-6-Isopropyl-3-Methylphenol) and 2,2-ethylidenebis(4,6-Di-Tert-Butylphenol) with Mg₂NBu₂: Efficient Catalysts for Ring-Opening Polymerization of ϵ -Caprolactone and L-Lactide." *Macromolecules* 37 (14): 5155–5162.
- Sobczak M., 2012. "Enzyme-Catalyzed Ring-Opening Polymerization of Cyclic Esters in the Presence of Poly(ethylene Glycol)." *Journal of Applied Polymer Science* 125 (5): 3602–3609.
- Sousa I., Mendes A., Pereira R.F., Bártolo P.J., 2014. "Collagen Surface Modified Poly(ϵ -Caprolactone) Scaffolds with Improved Hydrophilicity and Cell Adhesion Properties." *Materials Letters* 134. Elsevier: 263–267.
- Storey R.F., Sherman J.W., 2002. "Kinetics and Mechanism of the Stannous Octoate-Catalyzed Bulk Polymerization of ϵ -Caprolactone." *Macromolecules* 35 (5): 1504–1512.
- Sui Y., Zhao J., Gan S., Zhao H., Yang W., 2007. "Surface-Initiated Ring-Opening Polymerization of Caprolactone from the Surface of PP Film." *Journal of Applied Polymer Science* 105: 877–884.
- Tamburro A.M., 2009. "A Never-Ending Love Story with Elastin: A Scientific Autobiography." *Nanomedicine (London, England)* 4 (4): 469–87.
- Tan H., Wan L., Wu J., Gao C., 2008. "Microscale Control over Collagen Gradient on Poly(l-Lactide) Membrane Surface for Manipulating Chondrocyte Distribution." *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 67 (2): 210–215.
- Tasdelen-Yucedag C., Erciyas A.T., 2014. "Modification of Polycaprolactone-Styrene-Vinyl Trimethoxysilane Terpolymer with Sunflower Oil for Coating Purposes." *Progress in Organic Coatings* 77 (11). Elsevier B.V.: 1750–1760.
- Thomas A.C., , Campbell G.R. Campbell J.H., 2003. "Advances in Vascular Tissue Engineering." *Cardiovascular Pathology* 12 (5): 271–276.

- Tinajero-Díaz E., Guerrero-Ramírez L.G., Manríquez-González R., Martínez-Richa A., Nuño-Donlucas S.M., 2014. “Star-Shaped Poly(ϵ -Caprolactone)-Co-Poly(ethylene Glycol) Synthesized with Oxalyl Chloride as Linker Molecule.” *Journal of Macromolecular Science, Part A* 51 (6): 499–510.
- Touris A., Kostakis K., Mourmouris S., Kotzabasakis Y., Pitsikalis M., Hadjichristidis N., 2008. “Complex Macromolecular Architectures Based on N-Hexyl Isocyanate and ϵ -Caprolactone Using Titanium-Mediated Coordination Polymerization.” *Macromolecules* 41 (7): 2426–38.
- Ural E., Kesenci K., Fambri L., Migliaresi C., Piskin E., 2000. “Poly(d,l-Cactide/ ϵ -Caprolactone)/hydroxyapatite Composites.” *Biomaterials* 21 (21): 2147–54.
- Van der Lei B., Wildevuur C.R., Dijk F., Blaauw E.H., Molenaar I., Nieuwenhuis P., 1987. “Sequential Studies of Arterial Wall Regeneration in Microporous, Compliant, Biodegradable Small-Caliber Vascular Grafts in Rats.” *The Journal of Thoracic and Cardiovascular Surgery* 93 (5): 695–707.
- Van der Lei B., Wildevuur C.R.H., Nieuwenhuis P., Blaauw E.H., Dijk, F. Hulstaert C.E., Molenaar I., 1985. “Regeneration of the Arterial Wall in Microporous, Compliant, Biodegradable Vascular Grafts after Implantation into the Rat Abdominal Aorta - Ultrastructural Observations.” *Cell and Tissue Research* 242 (3): 569–578.
- Van Wachem P. B., Hendriks M., Blaauw E.H., Dijk F., Verhoeven M.L.P.M., Cahalan P.T., Van Luyn, M.J.A., 2002. “(Electron) Microscopic Observations on Tissue Integration of Collagen-Immobilized Polyurethane.” *Biomaterials* 23 (6): 1401–1409.
- Wang J.L., Wang L.U., Dong C.M., 2005. “Synthesis, Crystallization, and Morphology of Star-Shaped Poly(ϵ -Caprolactone).” *Journal of Polymer Science, Part A: Polymer Chemistry* 43 (22): 5449–5457.
- Wang L., Wang Y., Cao D., 2009. “Surface Modification of Poly(3-Hydroxybutyrate-Co-3-Hydroxyvalerate) Membrane by Combining Surface Aminolysis Treatment with Collagen Immobilization.” *Journal of Macromolecular Science, Part A* 46 (8): 765–773.
- Wang S., Zhang Y., Wang H., Yin G., Dong Z., 2009. “Fabrication and Properties of the

- Electrospun Polylactide/silk Fibroin-Gelatin Composite Tubular Scaffold.” *Biomacromolecules* 10 (8): 2240–2244.
- Wang Y., Ren L.Y.K., Wu G., Chen X., Zhao Q., 2009. “Surface Engineering of PHBV by Covalent Collagen Immobilization to Improve Cell Compatibility.” *Journal of Biomedical Materials Research - Part A* 88 (3): 616–627.
- Weinberg C., Bell, E., 1986. “A Blood Vessel Model Constructed from Collagen and Cultured Vascular Cells.” *Science* 231: 397–400.
- Wen S., Zhao L., Wang S., Li J., Chen H., Liu J., Liu Y., Luo Y., Changizi R., 2007. “Human Vascular Smooth Muscle Cells and Endothelial Cells Cocultured on Polyglycolic Acid (70/30) Scaffold in Tissue Engineered Vascular Graft.” *Chinese Medical Journal* 120 (2002): 1331–1335.
- Woodruff M.A., Hutmacher D.W., 2010. “The Return of a Forgotten Polymer - Polycaprolactone in the 21st Century.” *Progress in Polymer Science (Oxford)* 35 (10): 1217–1256.
- Wu R., Al-Azemi T.F., Bisht K.S., 2009. “One-Shot Block Copolymerization of a Functional Seven-Membered Cyclic Carbonate Derived from L-Tartaric Acid with ϵ -Caprolactone.” *Macromolecules* 42 (7): 2401–2410.
- Wyre R. M., Downes S., 2000. “An in Vitro Investigation of the PEMA/THFMA Polymer System as a Biomaterial for Cartilage Repair.” *Biomaterials* 21 (4): 335–343.
- Xiao Y., Xu Y., Lu J., Zhu X., Fan H., Zhang X., 2007. “Preparation and Characterization of Collagen-Modified Polylactide Microparticles.” *Materials Letters* 61 (13): 2601–2605.
- Xu F. J., Zheng Y.Q., Zhen W.J., Yang W.T., 2011. “Thermoresponsive poly(N-Isopropyl Acrylamide)-Grafted Polycaprolactone Films with Surface Immobilization of Collagen.” *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces* 85 (1): 40–47.
- Xue J., Niu Y., Gong M., Shi R., Chen D., Zhang L., Lvov Y., 2015. “Electrospun Microfiber Membranes Embedded with Drug-Loaded Clay Nanotubes for Sustained Antimicrobial Protection.” *ACS Nano* 9 (2): 1600–1612.
- Xue L., Greisler H.P., 2003. “Biomaterials in the Development and Future of Vascular

- Grafts.” *Journal of Vascular Surgery* 37 (2): 472-480.
- Yan T., Sun R., Li C., Tan B., Mao X., Ao N., 2010. “Immobilization of Type-I Collagen and Basic Fibroblast Growth Factor (bFGF) onto Poly (HEMA-Co-MMA) Hydrogel Surface and Its Cytotoxicity Study.” *Journal of Materials Science: Materials in Medicine* 21 (8): 2425–2433.
- Yang Y., Porté M.C., Marmey P., El Haj A.J., Amédée J., Baquey C., 2003. “Covalent Bonding of Collagen on poly(L-Lactic Acid) by Gamma Irradiation.” *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research, Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms* 207 (2): 165–174.
- Yu T.L., Wu C.C., Chen C.C., Huang B.H., Wu J., Lin C.C., 2005. “Catalysts for the Ring-Opening Polymerization of ϵ -Caprolactone and L-Lactide and the Mechanistic Study.” *Polymer* 46 (16): 5909–5917.
- Yuan W., Tang X., Huang X., Zheng S., 2005. “Synthesis, Characterization and Thermal Properties of Hexarmed Star-Shaped Poly(ϵ -Caprolactone)-b-poly(D,L-Lactide-Co-Glycolide) Initiated with Hydroxyl-Terminated Cyclotriphosphazene.” *Polymer* 46 (5): 1701–1707.
- Yurteri S., Cianga I., Degirmenci M., Yagci Y., 2004. “Synthesis and Characterization of Poly(p-Phenylene)-Graft-Poly(ϵ -Caprolactone) Copolymers by Combined Ring-Opening Polymerization and Cross-Coupling Processes.” *Polymer International* 53 (9): 1219–1225.
- Zhan C., Li S. Cui J., Chen Y., 2015. “Multiarm Star Poly(ϵ -Caprolactone) with Hyperbranched Polyamidoamine as Core Capable of Selective Accommodating Cationic or Anionic Guests.” *Chinese Journal of Polymer Science (English Edition)* 33 (6): 920–930.
- Zhang Y., Wang W., Feng Q., Cui F., Xu Y., 2006. “A Novel Method to Immobilize Collagen on Polypropylene Film as Substrate for Hepatocyte Culture.” *Materials Science and Engineering C* 26 (4): 657–663.
- Zhao J., Wang J., Tu M., Luo B., Zhou C., 2006. “Improving the Cell Affinity of a poly(D,L-Lactide) Film Modified by Grafting Collagen via a Plasma Technique.” *Biomedical Materials* 1 (4): 247–252.

- Zhou B., Tong Z., Huang J., Xu J., Fan Z., 2013. "Isothermal Crystallization Kinetics of Multi-Walled Carbon Nanotubes-Graft-Poly(ϵ -Caprolactone) with High Grafting Degrees." *CrystEngComm* 15 (38) : 7824.
- Zhu A., Zhao F., Ma T., 2009. "Photo-Initiated Grafting of gelatin/N-Maleic Acyl-Chitosan to Enhance Endothelial Cell Adhesion, Proliferation and Function on PLA Surface." *Acta Biomaterialia* 5 (6): 2033–2044.
- Zhu Y., Chan-Park M.B., 2007. "Density Quantification of Collagen Grafted on Biodegradable Polyester: Its Application to Esophageal Smooth Muscle Cell." *Analytical Biochemistry* 363 (1): 119–27. doi:10.1016/j.ab.2007.01.007.
- Zhu Y., Chan-Park M.B., Chian K.S., 2005. "The Growth Improvement of Porcine Esophageal Smooth Muscle Cells on Collagen-Grafted poly(DL-Lactide-Co-Glycolide) Membrane." *Journal of Biomedical Materials Research - Part B Applied Biomaterials* 75 (1): 193–199.
- Zhu Y., Gao C., Shen J., 2002. "Surface Modification of Polycaprolactone with Poly(methacrylic Acid) and Gelatin Covalent Immobilization for Promoting Its Cytocompatibility." *Biomaterials* 23 (24): 4889–4895.
- Zhu Y., Feng Ong W., 2009. "Epithelium Regeneration on Collagen (IV) Grafted Polycaprolactone for Esophageal Tissue Engineering." *Materials Science and Engineering C* 29 (3). Elsevier B.V.: 1046–1050.

ÖZGEÇMİŞ

KİŞİSEL BİLGİLER

Adı Soyadı : İHSAN BAŞARAN

Doğum Yeri : FATİH

Doğum Tarihi : 24/05/1986

EĞİTİM DURUMU

Lisans Öğrenimi : KİMYA / ÇANAKKALE ONSEKİZ MART
ÜNİVERSİTESİ

Yüksek Lisans Öğrenimi : KİMYA / ÇANAKKALE ONSEKİZ MART
ÜNİVERSİTESİ

Bildiği Yabancı Diller : İNGİLİZCE

YÖKDİL (2017 Mart): 88.75)

YAPTIĞI TEZLER

Yüksek Lisans Tezi: Polilaktik asit montmorillont nanokompoziti hazırlanması

BİLİMSEL FAALİYETLERİ

a) Yayınlar -SCI -Diğer

Başaran İ, Oral A, “Grafting of Poly (ϵ -Caprolactone) on Electrospun Gelatin Nanofiber via Surface Initiated Ring-Opening Polymerization.” International Journal of Polymeric Materials and Polymeric Biomaterials. (2018)

Başaran, İ., Oral A., "Preparation of Poly (lactic acid) Nanocomposite via Catalyst-Modified Montmorillonite." Polymer-Plastics Technology and Engineering 54.14 (2015)

Başaran, İ., Oral A.,. "Synthesis and characterization of poly (L-Lactic acid)/clay nanocomposite via metal-free process." Polymer-Plastics Technology and Engineering 52.12 (2013)

b) Bildiriler -Uluslararası -Ulusal

İhsan Başaran, Ayhan Oral. Preparation of Gelatin-Polymer Based Graft Copolymers. *Joint Science Congress of Materials and Polymers. Macedonia/2017.*

Mert Akgün, İhsan Başaran, Ayhan Oral. The Effect of Cinnamaldehyde on the Crystallinity and Morphology of Poly(Lactic)Acid. *Joint Science Congress of Materials and Polymers. Macedonia/2017.*

Ayhan Oral, İhsan Başaran. Preparation and Characterization of Gelatin/Geraniol Electrospun Nanofibers. 24th Congress of the Society of Chemists and Technologists of Macedonia. Macedonia/2016

Aysema Sayık, İhsan Başaran, Ayşe Sergüzel Yusufoglu. “Investigation Of Biological And Cancer Therapeutic Activities And Chemical Compounds Of Turmeric As Potential Prodrug”. 9th Conference on Medicinal and Aromatic Plants of Southeast European Countries. Bulgaria/2016

Mert Akgün, İhsan Başaran, Seyhan Ulusoy, Ayhan Oral, “Investigation Of Antibacterial And Physical Effects Of Rose Essential Oil On Biodegradable Poly(Lactic Acid) Films”. 9th Conference on Medicinal and Aromatic Plants of Southeast European Countries. Bulgaria/2016

İhsan Başaran, Y. Emre Arslan, Ayhan Oral. “A review on block co-polymerization of collagen and FDA approved synthetic polymers for regenerative medicine applications”. *ChemCYS 2016, Belguim-2016*

Kaan Akalın, İhsan Başaran, Ayhan Oral, SeyhanUlusoy. “Characterization of Poly(lactic acid) Zeolite Composite Films and Investigation of the Antibacterial Effect”. *27. Ulusal Kimya Kongresi, Çanakkale-2015*

İhsan Başaran, SeyhanUlusoy, Ayhan Oral. “Preparation Antibacterial Biopolymer Matrix.” *2. İlaç Kimyası, Üretimi, Teknolojisi, Standardizasyonu Kongresi. Antalya/2014.*

İhsan Başaran, Salih Can Suner, Ayhan Oral. “Preparation of CinnamaldehydePolylactic Acid Antibacterial Polymer Film and Investigation the Antibacterial Effect. VII. International Packaging Congress & Exhibition, Book of Abstracts, p-121, 2013. İzmir/2013

İşıl Bayram, İhsan Başaran, Ayhan Oral. “Preparation of Polycyclohexene oxide/Organic Modified MontmorilloniteNanocompositevia Photopolymerization IV. Ulusal Polimer Bilimi ve Teknolojisi Kongresi. Çanakkale/2012

İhsanBaşaran, İşıl Bayram, Ayhan Oral. “ Preparation and Characterization of Poly(L-Lactic Acid) Nanocomposite via Sn-Montmorillonite.” IV. Ulusal Polimer Bilimi ve Teknolojisi Kongresi. Çanakkale/2012

İŞ DENEYİMİ

Çalıştığı kurum	Görevi	Yıl
Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi	Uzman/Araştırmacı (TEM, NMR)	2015-halen çalışıyor
Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi Kimya Bölümü, Biyopolimer ve İleri Polimerik Malzemeler Araştırma Laboratuvarı	Lisansüstü öğrenci araştırmacı	2010-2015

İLETİŞİM

E-posta Adresi : ihsanbasaran.tr@gmail.com