



**DERMATOLOJİK ETKİLİ İLAÇ SALINIM
SİSTEMLERİ OLARAK NANOFİBER
UYGULAMALARI VE İLAÇ SALINIM
PARAMETRELERİNİN İNCELENMESİ**

Yüksek Lisans Tezi

Serçin CEVİZLİDERE

Eskişehir 2018

**DERMATOLOJİK ETKİLİ İLAÇ SALINIM SİSTEMLERİ OLARAK
NANOFİBER UYGULAMALARI VE İLAÇ SALINIM PARAMETRELERİNİN
İNCELENMESİ**

Serçin CEVİZLİDERE

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Sibel EMİR DİLTEMİZ

Eskişehir

Anadolu Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Ağustos 2018

Bu tez çalışması BAP Komisyonunda kabul edilen 1706F394 no.lu proje kapsamında desteklenmiştir.

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

Serçin CEVİZLİDERE'nin "Dermatolojik Etkili İlaç Salınım Sistemleri Olarak Nanofiber Uygulamaları Ve İlaç Salınım Parametrelerinin İncelenmesi" başlıklı tezi 07/08/2018 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından değerlendirilerek "Anadolu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmenliği"nin ilgili maddeleri uyarınca, Analitik Kimya Anabilim dalında Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

<u>Jüri Üyeleri</u>	<u>Ünvanı-Adı Soyadı</u>	<u>İmza</u>
Üye (Tez Danışmanı):	Doç. Dr. Sibel EMİR DİLTEMİZ	
Üye	: Doç. Dr. Ayça ATILIR ÖZCAN	
Üye	: Prof. Dr. Ebru BİRLİK ÖZKÜTÜK	

Prof. Dr. Ersin YÜCEL

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ÖZET

DERMATOLOJİK ETKİLİ İLAÇ SALINIM SİSTEMLERİ OLARAK NANOFİBER UYGULAMALARI VE İLAÇ SALINIM PARAMETRELERİNİN İNCELENMESİ

Serçin CEVİZLİDERE

Kimya Anabilim Dalı

Anadolu Üniversitesi, Fen bilimleri Enstitüsü, Ağustos 2018

Danışman: Doç. Dr. Sibel EMİR DİLTEMİZ

Bu çalışmada, Dekspantenol ilaç etken maddesi farklı polimer çözeltileri içerisine yüklenmiş ve nanolif haline getirilmiştir. Nanolif haline getirmek için Elektro Çekim cihazı kullanılmıştır. İlaç salınımında polimer maddelerin salınmasını engellemek ve salınımı daha kontrollü hale getirebilmek için nanolifler çapraz bağlanmıştır. Her polimer için farklı çapraz bağlama yöntemleri geliştirilmiştir. İlaç etken maddesinin nanolif içerisindeki salınımını ölçmek için Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC) kullanılmıştır. Liflerin morfolojileri Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) cihazı ile bakılmış ve liflerin nanometre boyutunda olduğu gözlenmiştir. Nanoliflerin yapılarının belirlenmesi için Zayıflatılmış Toplam Yansıma-Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektrometre (ATR-FTIR) ve X-Işını Kırınımı (XRD) cihazları kullanılmıştır. Hidrofilisitelerinin belirlenmesi için Temas Açısı Ölçümü ve şişme testi yapılmıştır. Sonuç olarak, üç farklı polimer çözeltisi içerisine ilaç etken maddesi olan Dekspantenol yüklenmiş ve nano boyutta lifler elde edilmiştir. Dekspantenolün kontrollü ilaç salınımının olduğu yapılan analizler sonucunda gözlenmiştir.

Anahtar Sözcükler: Dekspantenol, Elektro çekim, İlaç salınımı, Nanolif

ABSTRACT

APPLICATIONS OF NANOFIBERS AS DERMATOLOGICAL DRUG RELEASE SYSTEMS AND INVESTIGATION OF DRUG RELEASE PARAMETERS

Serçin CEVİZLİDERE

Chemistry Program

Anadolu University, Graduate School of Sciences, August, 2018

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Sibel EMİR DİLTEMİZ

In this study, Dexpanthenol drug substance was loaded into polymer solutions using and made into nanofibers. The Electrospinning device was used to make the nanofiber. The nanofibers are cross-linked to prevent the release of polymer substances in the drug release and to make the release more controllable. Different crosslinking methods have been developed for each polymer. High Performance Liquid Chromatography (HPLC) was used to measure the release of the drug substance in the nanofiber. Morphologies of the fibers were observed with a Scanning Electron Microscope (SEM) device and the fibers were observed to be in nanometer size. The Attenuated Total Reflection-Fourier Transform Infrared Spectrometer (ATR-FTIR) and X-Ray Diffraction (XRD) devices were used to determine the structures of the nanofibers. Contact Angle measurement and Swelling test were performed to determine the hydrophilicity. As a result, Dexpanthenol, the drug substance, was loaded into three different polymer solutions and nano-sized fibers were obtained. Dexpanthenol was observed as the result of analyzes that showed controlled drug release.

Keywords: Dexpanthenol, Drug Release, Electrospinning, Nanofiber

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim süresince her konuda ilgi ve desteğini esirgemeyen, çalışmalarımnda bilgi ve önerileriyle beni yönlendiren hem akademik olarak hem de hayata yaklaşımıyla örnek aldığım, her zaman güler yüzü ile karşılayan güzel kalpli danışmanım Sayın Doç. Dr. Sibel EMİR DİLTEMİZ'e,

Bu süreç zarfında desteklerini esirgemeyen Biyokimya Laboratuvarındaki tüm hocalarım ve arkadaşlarıma,

Laboratuvar çalışmalarımnda her zaman yanımda olan, bilgi ve yardımlarını esirgemeyen Analitik kimya Laboratuvarındaki, sevgili Dr. Semra Özgün KÖSE'ye, Kardelen ECEVİT'e, Zeynep İdil TURGUT'a, Zuhale Arzu ŞENER'e ve Dr. Okan USLU'ya,

Lisans hayatımdan beri desteğini esirgemeyen, sabrı ve sevgisiyle her zaman yanımda olan Fatih ERGUVAN'a, Büşra DEMİR'e ve Nuray KUŞBUDU'ya,

Yaşamımın her anında bana öncelikle sevgiyi ve saygıyı aşılayan, eğitimimin boyunca beni hep destekleyen hep yanımda olan, gösterdikleri ilgi, yardım ve sabırları için hayattaki idolüm olan anneme ve babama, herşeyi ile yanımda olduğunu hissettiren canım kardeşime sonsuz teşekkür ederim.

Serçin CEVİZLİDERE

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Bu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı; bu çalışma kapsamında elde edilen tüm veri ve bilgiler için kaynak gösterdiğimi ve bu kaynaklara kaynakçada yer verdiğimi; bu çalışmanın Anadolu Üniversitesi tarafından kullanılan “bilimsel intihal tespit programı”yla tarandığını ve hiçbir şekilde “intihal içermediğini” beyan ederim. Herhangi bir zamanda, çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçları kabul ettiğimi bildiririm.

Serçin CEVİZLİDERE

İÇİNDEKİLER TABLOSU

Sayfa

BAŞLIK SAYFASI.....	i
JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI.....	ii
ÖZET.....	iii
ABSTRACT.....	iv
TEŞEKKÜR.....	v
ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ.....	vi
İÇİNDEKİLER.....	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	x
TABLolar DİZİNİ.....	xii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xiii
1. GİRİŞ.....	1
1.1. Nano ve Nanoteknoloji.....	1
1.2. Nanolif.....	1
1.2.1. Nanolif üretim yöntemleri.....	2
1.2.1.1. <i>Kendi kendine montaj (self assembly) ile nanolif üretim yöntemi</i>	3
1.2.1.2. <i>Şablon sentezi (template synthesis) ile nanolif üretim yöntemi</i>	3
1.2.1.3. <i>Çekim (drawing) ile nanolif üretim yöntemi</i>	4
1.2.1.4. <i>Faz ayırma (phasae seperation) ile nanolif üretim yöntemi</i>	5
1.2.1.5. <i>Eriyik üfleme (melt blown) ile nanolif üretim yöntemi</i>	6
1.2.1.6. <i>Elektro çekim (elektrospinning) ile nanolif üretim yöntemi</i>	6
1.2.2. Nanolif uygulama alanları.....	7
1.2.2.1. <i>Sensörler</i>	8
1.2.2.2. <i>Elektriksel ve optik uygulamalar</i>	8
1.2.2.3. <i>Filtrasyon uygulamaları</i>	9
1.2.2.4. <i>Koruyucu giysiler</i>	9

1.2.2.5. Tarım uygulamaları.....	9
1.2.2.6. Yara örtüleri.....	10
1.2.2.7. Kozmetik ürünler.....	10
1.2.2.8. Doku mühendisliği uygulamaları.....	10
1.2.2.9. Kompozitler.....	11
1.2.2.10. İlaç salınım uygulamaları.....	11
1.2.2.11. Tıbbi protezler.....	11
1.3. Elektro Çekim Cihazı.....	12
1.3.1. Elektro çekim yöntemine etki eden parametreler.....	15
1.3.1.1. Çözelti parametreleri.....	16
1.3.1.1.1. Çözelti konsantrasyonu.....	16
1.3.1.1.2. Molekül ağırlığı.....	16
1.3.1.1.3. Viskozite.....	17
1.3.1.1.4. Yüzey gerilimi.....	17
1.3.1.1.5. Çözeltinin iletkenliği.....	17
1.3.1.2. Proses parametreleri.....	18
1.3.1.2.1. Uygulanan voltaj.....	18
1.3.1.2.2. Akış hızı.....	18
1.3.1.2.3. Toplayıcı tipi.....	18
1.3.1.2.4. Toplayıcı ve beslenme ünitesi arasındaki mesafe...19	
1.3.1.3. Ortam parametreleri.....	19
1.4. Kontrollü İlaç Salınımı.....	19
1.5. Dekspantenol.....	21
2. MATERYAL VE METOT.....	23
2.1. Materyal.....	23
2.1.1. Kullanılan kimyasal maddeler.....	23
2.1.2. Kullanılan cihazlar.....	24
2.2. Metot.....	24
2.2.1. Dekspantenolün kalibrasyonunun oluşturulması.....	24
2.2.2. PCL/Gel/DexpH çözeltisinin hazırlanması, nanolif haline getirilmesi ve çapraz bağlanması.....	25
2.2.3. PVA/Chi/DexpH çözeltisinin hazırlanması, nanolif haline getirilmesi ve çapraz bağlanması.....	26

2.2.4. GelMA sentezi, GelMA/PCL/DexpH çözeltisinin hazırlanması, nanolif haline getirilmesi ve çapraz bağlanması.....	27
2.2.5. Karakterizasyon ve salınım çalışmaları.....	29
3. BULGULAR.....	31
3.1. PCL/Gel/DexpH Nanolifinin Karakterizasyon Ve Salınımının İncelenmesi.....	31
3.1.1. Taramalı elektron mikroskobu (SEM) analizi.....	31
3.1.2. Fourier dönüşümlü kızılötesi spektrometre (FTIR) analizi.....	34
3.1.3. X-ışını kırınımı (XRD) analizi.....	36
3.1.4. Temas açısı analizi.....	37
3.1.5. Şişme testi analizi.....	38
3.1.6. Kontrollü ilaç salınımı analizi.....	39
3.2. PVA/Chi/DexpH Nanolifinin Karakterizasyon Ve Salınımının İncelenmesi.....	41
3.2.1. Taramalı elektron mikroskobu (SEM) analizi.....	41
3.2.2. Fourier dönüşümlü kızılötesi spektrometre (FTIR) analizi.....	43
3.2.3. X-ışını kırınımı (XRD) analizi.....	46
3.2.4. Temas açısı analizi.....	47
3.2.5. Şişme testi analizi.....	48
3.2.6. Kontrollü ilaç salınımı analizi.....	49
3.3. GelMA/PCL/DexpH Nanolifinin Karakterizasyon Ve Salınımının İncelenmesi.....	51
3.3.1. Nükleer manyetik rezonans (NMR) analizi.....	51
3.3.2. Taramalı elektron mikroskobu (SEM) analizi.....	53
3.3.3. Fourier dönüşümlü kızılötesi spektrometre (FTIR) analizi.....	56
3.3.4. X-ışını kırınımı (XRD) analizi.....	58
3.3.5. Temas açısı analizi.....	59
3.3.6. Şişme testi analizi.....	60
3.3.7. Kontrollü ilaç salınımı analizi.....	61
4. SONUÇ.....	64
KAYNAKÇA.....	66
ÖZGEÇMİŞ	

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 1.1. Makro, mikro ve nano boyutta şekil örnekleri.....	1
Şekil 1.2. Elektro çekim yöntemiyle elde edilen nanolifin mikroskop görüntüsü.....	2
Şekil 1.3. Kendi kendine montaj ile nanolif üretimi.....	3
Şekil 1.4. Şablon sentezi ile nanolif üretimi.....	4
Şekil 1.5. Çekim yöntemi ile nanolif üretimi.....	5
Şekil 1.6. Faz ayırma yöntemi ile nanolif yöntemi.....	5
Şekil 1.7. Eriyik üfleme yöntemi ile nanolif yöntemi.....	6
Şekil 1.8. Elektro çekim yöntemi ile nanolif üretimi.....	7
Şekil 1.9. Nanolif uygulama alanları.....	8
Şekil 1.10. Elektro çekim cihazının prosesinin şematik gösterimi.....	13
Şekil 1.11. Taylor koni formunun şematik gösterimi.....	13
Şekil 1.12. Elektro çekim cihazının diyagramı.....	14
Şekil 1.13. Whippin kararsızlığı.....	15
Şekil 1.14. Kandaki ilaç derişiminin zamanla değişimi.....	20
Şekil 1.15. Pantotenk asit, Dekspantenol yapılarının gösterimi.....	22
Şekil 2.1. DexpH'ın kalibrasyon grafiğı.....	25
Şekil 2.2. Kullanılan kimyasalların yapıları; (a) Gel, (b) PCL, (c) DexpH, (d) GA.....	26
Şekil 2.3. Kullanılan kimyasalların yapıları; (a) PVA, (b) Chi, (c) DexpH, (d) GA, (e) NHS, (f) EDC.....	27
Şekil 2.4. Kullanılan kimyasalların yapıları; (a) GelMA, (b) PCL, (c) DexpH, (d) Irgacure.....	28
Şekil 3.1. Tablo 3.1 de verilen A,B,C nanoliflerinin SEM görüntüleri	33
Şekil 3.2. PCL/Gel Nanoliflerinin SEM görüntüleri.....	34
Şekil 3.3. PCL/Gel Nanoliflerinin IR spektrumları.....	36
Şekil 3.4. PCL/Gel Nanoliflerinin XRD sonuçları.....	37
Şekil 3.5. PCL/Gel Nanoliflerinin temas açısı ölçüm sonuçları.....	38
Şekil 3.6. PCL/Gel Nanoliflerinin şişme testi sonuçları.....	39
Şekil 3.7. PCL/Gel Nanoliflerinin DexpH kalibrasyon grafiğı.....	40

Şekil 3.8. PCL/Gel/DexpH Nanolifinin 120. dak ilaç salınım kromatogramı.....	40
Şekil 3.9. PCL/Gel/DexpH Nanolifinin kümülatif salınım grafiği.....	41
Şekil 3.10. PVA/Chi Nanolifinin ortalama lif çapı dağılım grafiği.....	42
Şekil 3.11. PVA/Chi Nanoliflerinin SEM görüntüleri.....	43
Şekil 3.12. PVA/Chi Nanoliflerinin çapraz bağlama öncesi IR spektrumları.....	45
Şekil 3.13. PVA/Chi Nanoliflerinin çapraz bağlama sonrası IR spektrumları.....	46
Şekil 3.14. PVA/Chi Nanoliflerinin XRD sonuçları.....	47
Şekil 3.15. PVA/Chi Nanoliflerinin temas açısı ölçüm sonuçları.....	48
Şekil 3.16. PVA/Chi Nanoliflerinin şişme testi sonuçları.....	49
Şekil 3.17. DexpH kalibrasyon grafiği.....	50
Şekil 3.18. PVA/Chi/DexpH Nanolifinin 5. dak ilaç salınım kromatogramı.....	50
Şekil 3.19. PVA/Chi/DexpH Nanolifinin kümülatif salınım grafikleri.....	51
Şekil 3.20. GelMA sentezinin şematik gösterimi.....	52
Şekil 3.21. GelMA'nın ^1H NMR spektrumu.....	53
Şekil 3.22. GelMA/PCL Nanoliflerinin SEM görüntüleri.....	55
Şekil 3.23. Tablo 3.2 deki Nanoliflerin SEM görüntüleri.....	56
Şekil 3.24. GelMA/PCL Nanoliflerinin IR spektrumları.....	58
Şekil 3.25. GelMA/PCL Nanoliflerinin XRD sonuçları.....	59
Şekil 3.26. GelMA/PCL Nanoliflerinin temas açısı ölçüm sonuçları.....	60
Şekil 3.27. GelMA/PCL Nanoliflerinin şişme testi sonuçları.....	61
Şekil 3.28. DexpH kalibrasyon grafiği.....	62
Şekil 3.29. GelMA/PCL/DexpH Nanolifinin 7. gün ilaç salınım kromatogramı.....	62
Şekil 3.30. GelMA/PCL/DexpH Nanolifinin kümülatif salınım grafiği.....	63

TABLÖLAR DİZİNİ

Sayfa

Tablo 1.1. Elektro çekim yöntemini etkileyen parametreler.....	16
Tablo 3.1. Nanolif parametre değerleri ve ortalama lif çapları.....	31
Tablo 3.2. Nanoliflerin çapraz bağlanması için uygulanan parametreler.....	54
Tablo 3.3. Nanoliflerin salınımlarının kıyaslanması.....	64



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

ATR-FTIR	: Zayıflatılmış Toplam Yansıma- Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektrometre
Chi	: Kitosan
DexpH	: Dekspantenol
EDC	: N-(3-dimetilaminopropil)-N'-etilkarbodiimid
FA	: Formik asit
GA	: Glutaraldehit
Gel	: Gelatin
GelMA	: Gelatin metakrilamid
HPLC	: Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
Irgacure	: 2-Hidroksi-4'-(2-hidroksietoksi)-2-metilpropiofenon
kV	: Kilo volt
mA	: Mili amper
MA	: Metakrilik Anhidrit
mM	: Mili molar
μ M	: Mikro metre
nm	:Nano metre
NHS	: N-Hidroksisüksinimid
NMR	: Nükleer Manyetik Rezonans
PBS	: Fosfat Tampon Çözeltisi
PCL	: Poli kaprolakton
PVA	: Poli vinil alkol
SEM	: Taramalı elektron mikroskobu
TFE	: 2,2,2-Trifloroetanol
XRD	: X-Işını Kırınımı

1. GİRİŞ

1.1. Nano ve Nanoteknoloji

‘Nanos’ kelimesi Yunancada cüce anlamına gelmektedir ve nano kelimesi bu kelimedenden türetilmiştir. Nano, ölçü birimi olarak milyarda bir anlamına gelmektedir (Şekil 1.1).

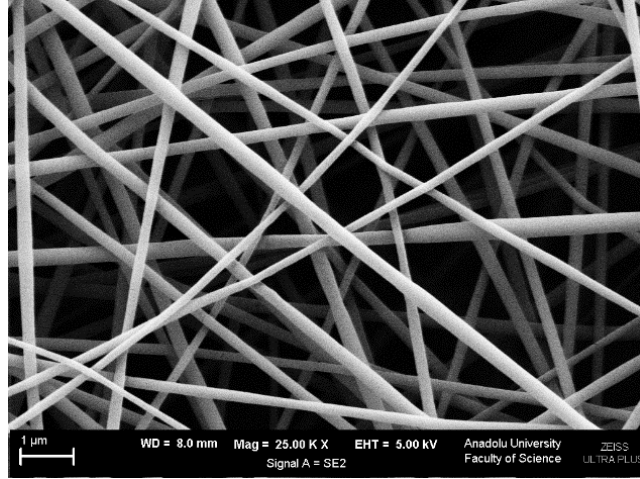
Metrenin milyarda bir ölçeği ile yapılan çalışmalara ise nanoteknoloji denilmektedir. Atom veya moleküllerin işlenmesi, ayrılması, birleştirilmesi ve bozulmasıyla, en az bir boyutu 100 nm’ye eşit veya 100 nm’den küçük olan malzemelerdir (Bozeman, Laredo, ve Mangematin).



Şekil 1.1. Makro, mikro ve nano boyutta şekil örnekleri

1.2. Nanolif

Nanolifler ise; son zamanlarda oldukça fazla uygulama alanına sahiptirler ve 100 nanometreden daha düşük bir çapa sahip olan elyafları ifade etmektedir. Elde edilen liflerin boyutunun nanometre altında olması çok daha büyük spesifik yüzey alanı ortaya çıkartır (Şekil 1.2). Bu spesifik özellik nanoliflerin kullanım alan yelpazesini genişletmektedir (Kamble vd.).



Şekil 1.2. Elektro çekim yöntemiyle elde edilen nanolifin mikroskop görüntüsü

Nanolifler;

- Yüksek yüzey alanı/hacim oranına sahip olmaları,
- Nano ölçekli materyallerle kolayca işlevsel hale getirilebilmeleri,
- Filtrasyon uygulamalarında yüksek performans göstermeleri,
- Gözenek boyutlarını kontrol edilebilmesi,
- İyi mekanik performans,
- Esnek yapıda olmaları gibi avantajları sayesinde birçok uygulama alanında kullanılmaktadır (Matlock-Colangelo ve Baeumner; Üstündağ).

1.2.1. Nanolif üretim yöntemleri

Doğal ve sentetik polimerlerden nanoliflerin hazırlanması için birçok yöntem kullanılmıştır.

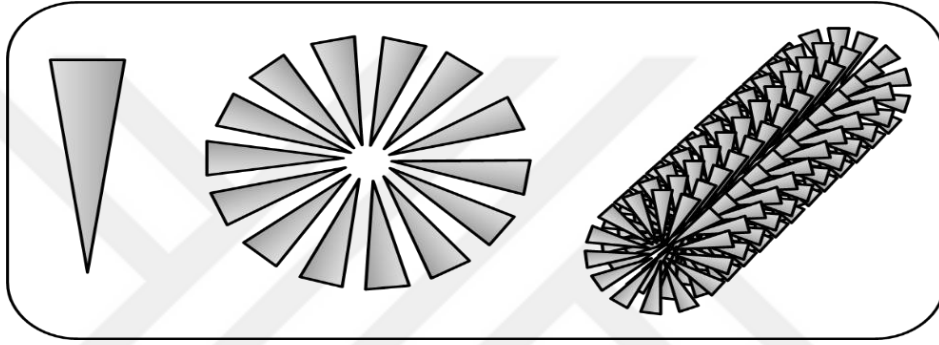
Nanolif üretim yöntemlerini aşağıdaki gibi altı başlık altında toplarsak eğer;

- Kendi kendine montaj (Self assembly) ile nanolif üretim yöntemi
- Şablon sentezi (Template synthesis) ile nanolif üretim yöntemi
- Çekim (Drawing) ile nanolif üretim yöntemi
- Faz ayırma (Phase separation) ile nanolif üretim yöntemi
- Eriyik üfleme (Melt blown) ile nanolif üretim yöntemi
- Elektro çekim (Electrospinning) ile nanolif üretim yöntemi (Kamble vd.).

1.2.1.1. Kendi kendine montaj (self assembly) ile nanolif üretim yöntemi

Kendi kendine montaj; insan müdahalesi olmaksızın bileşenlerin, kendiliğinden olarak düzenli ve stabil hale gelmesidir. Bu proseste, küçük moleküller ortak bir merkez etrafında bir araya gelerek nano ölçekli lifler oluşturmaktadır (Şekil 1.3).

Belirli polimerleri, herhangi bir dış etki olmadan nanolife dönüştüren bir tekniktir ve 100 nm boyutunda nanolif üretilmektedir. Standart laboratuvar ekipmanları kullanılır ancak oldukça fazla zaman alan bir metottur (Cui, Webber, ve Stupp; Mitarai).



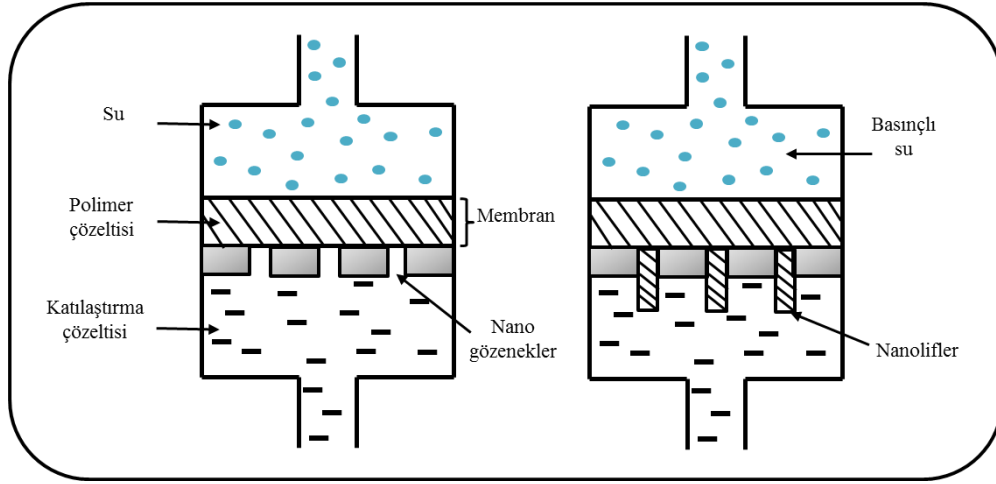
Şekil 1.3. Kendi kendine montaj ile nanolif üretimi

1.2.1.2. Şablon sentezi (template synthesis) ile nanolif üretim yöntemi

Şablon sentezi, istenilen malzeme veya yapıyı elde etmek için şablon olarak bir membran kullanılan bir prosestir. Membran olarak genellikle üzerinde nano ölçekli çapta gözenekler bulunan metal oksit membranlar kullanılmaktadır. DNA replikasyonu bu senteze örnek olabilir.

Sıvı polimer, su basıncı sayesinde membrandan şekil alarak geçer. Gözenekten çıkan polimer katılaştırma çözeltisiyle etkileşime girer ve gözenek boyutları belirlenen nano yapıllı maddeler elde edilmiş olur (Şekil 1.4).

Bu yöntemle, elektrik iletkenliği olan polimerler, metaller, yarı iletkenler veya karbon gibi çeşitli hammaddeler kullanılarak elde edilebilir. Standart laboratuvar ortamında üretilebilir ve basit bir prosese sahiptir. Elde edilen liflerin çapları kullanılan membranın gözenek boyutu ile belirlenir ve farklı çapta gözenekli membranlar sayesinde farklı çaplarda fibril veya tüp şeklinde nanolifler üretilmektedir (Mitarai vd.; Tao ve Desai).



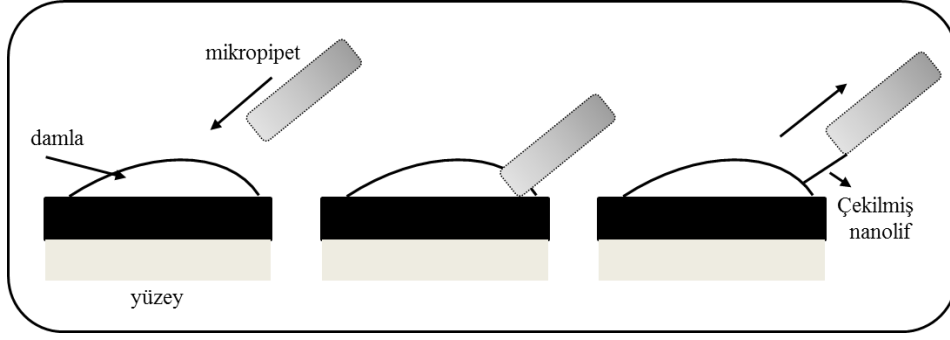
Şekil 1.4. Şablon sentezi ile nanolif üretimi

1.2.1.3. Çekim (drawing) ile nanolif üretim yöntemi

Çekim metodu kuru çekim olarak düşünülebilir ve bu teknikle tek ve uzun lifler elde edilebilir. Kullanılan polimerlerin, çekim sırasında deformasyonlara dayanabilmesi için viskoelastik bir yapıda ve oluşan gerilimi taşıyabilecek kadar da kohezif özellikte olması gerekir.

Çekim prosesi için, bir mikromanipülatör, bir mikropipet ve Silisyum dioksit (SiO_2) bir yüzey gerektirir. Basit bir prosesi olmasına rağmen sadece laboratuvar ortamında yapılan bir tekniktir.

Polimer uygun bir çözücü ile çözülür ve SiO_2 yüzeyine çözeltiden damla oluşturulur. Mikropipet damla ile temas ettirilir ve hızla çekilir. Çözücü yüzey alanı/hacim oranından dolayı hızla buharlaşır ve geriye katılaşmış lif kalır (Şekil 1.5). Ancak bu esnada çözücü hızla buharlaştığı için damlanın viskozitesi zamanla artar. Bu nedenle lif çekimi için süre çok fazla değildir. Çekim tekniğinde polimer çözeltisinin hacmindeki azalma lif çekimini sınırlar ve lif çapını etkiler (Mitarai vd.; Xing vd.).



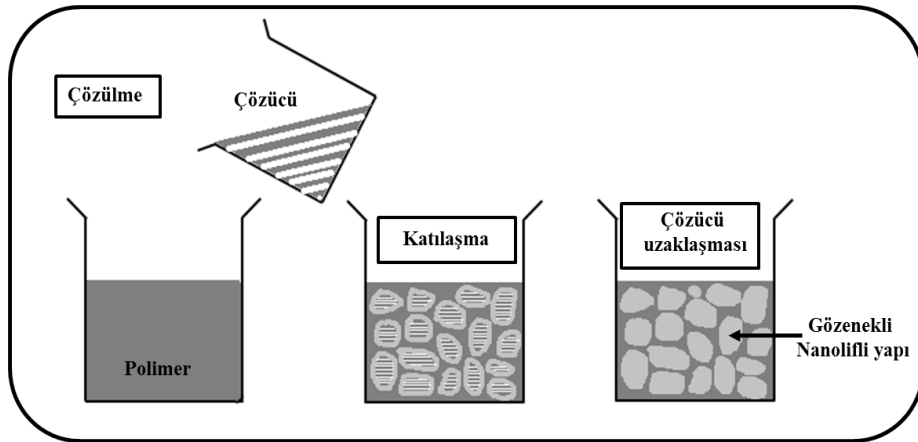
Şekil 1.5. Çekim yöntemi ile nanolif üretimi

1.2.1.4. Faz ayırma (phases separation) ile nanolif üretim yöntemi

Faz ayırma prosesinin ana mekanizması fiziksel uyumsuzluğa bağlı faz ayırımıdır. Gözenekli polimer membranları elde etmek için kullanılan bir yöntemdir.

Yöntem 5 aşamadan gerçekleşmektedir. İlk aşama polimeri uygun bir çözücünde çözmektir. İkinci aşama polimerin jelleşmesini sağlamaktır. Polimere uygun bir kimyasal madde eklenir ve bir şişede buzdolabında bekletilir. Üçüncü aşama çözücü uzaklaştırmaktır. Şişe dolaptan çıkarılır ve saf suyun içerisine koyularak 2 gün bekletilir. 2 gün boyunca saf su 3 kez değiştirilir. Dördüncü aşama dondurma işlemidir. Su içerisindeki jel çıkartılır, süzgeç yardımıyla süzülür ve donması için -18°C de 2 saat bekletilir. Son aşamada ise soğuk kurutma işlemi yapılır. Donmuş olan jel soğuk kurutma kanallarına boşaltılarak -55°C de 1 hafta bekletilir (Şekil 1.6).

Faz ayrımı yöntemi basit bir prosese sahiptir. Ancak birkaç polimerle sınırlıdır ve sadece laboratuvar ölçekli bir yöntemdir (Dinç; He vd.).

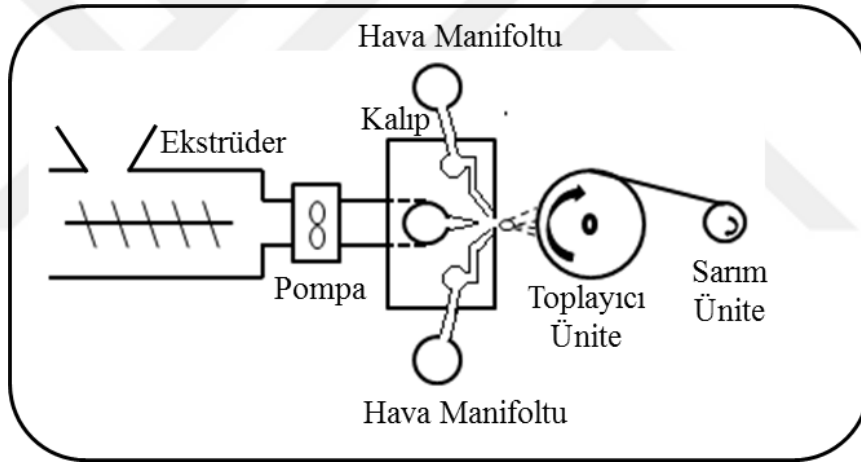


Şekil 1.6. Faz ayırma yöntemi ile nanolif üretimi

1.2.1.5. Eriyik üfleme (melt blown) ile nanolif üretim yöntemi

Eriyik üfleme yöntemiyle, termoplastik polimerlerden düşük maliyetle, büyük miktarlarda nanolif üretimi yapılmaktadır. Üretilen liflerin çapları genellikle 2 mikron veya daha fazladır, bu yüzden genellikle mikrolif üretiminde kullanılmaktadır. Bu tekniğin, yüksek yüzey alanına sahip olmasından dolayı iyi yalıtım ve filtrasyon özelliği gibi avantajları varken, üretim ekipmanları maliyetlerinin yüksek olması gibi dezavantajı da bulunmaktadır.

Eriyik üfleme düzeneğinde, ekstrüder, ölçüm pompaları, düze tertibatı, yüzey toplama ünitesi ve sarım ünitesi bulunmaktadır. Termoplastik polimer ekstrüderde eritilir ve pompa yardımıyla lif çekim bağılığına iletilir. Polimer düzeden püskürttürülür, hızlı ve sıcak hava üflemesi ile inceltir. Kesikli bir elyaf oluşur ve toplayıcı ünite fibrilli bir tülbent halinde toplanır (Şekil 1.7).

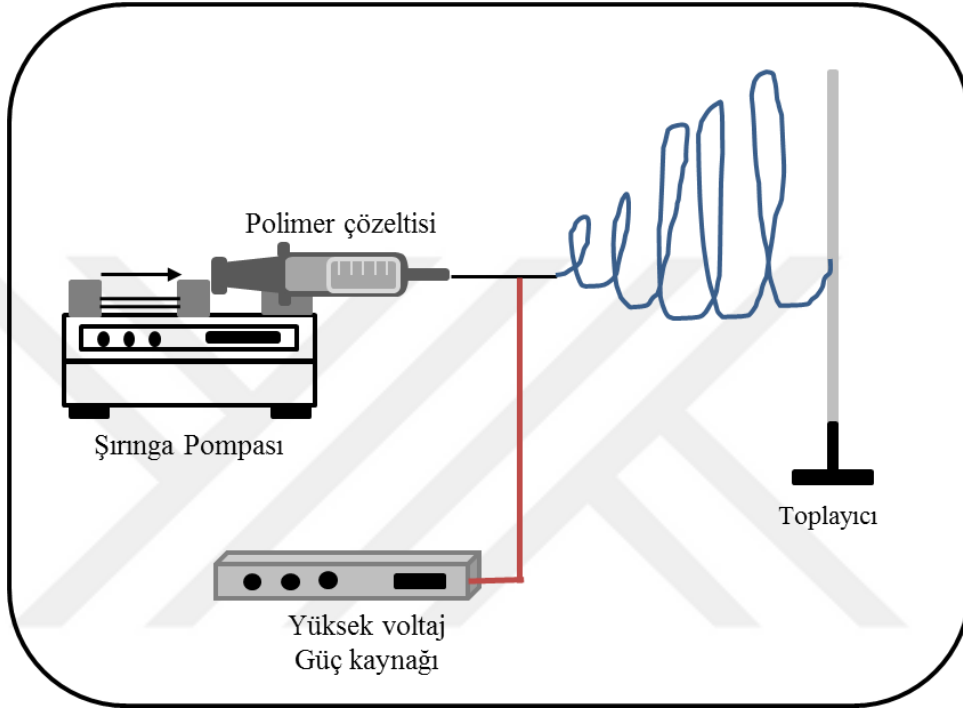


Şekil 1.7. Eriyik üfleme yöntemi ile nanolif üretimi

1.2.1.6. Elektro çekim (electrospinning) ile nanolif üretim yöntemi

Elektro çekim yöntemi temel olarak, elektriksel kuvvet altında bir polimer çözeltisinin damlacık üzerinden çekilerek mikro ve nano boyutta çapa sahip liflerin üretimi yöntemidir. Temel bir proses; bir yüksek voltaj güç kaynağı, bir beslenme ünitesi ve bir iletken toplayıcıdan oluşmaktadır (Şekil 1.8). Temel Elektro Çekim cihazının yanı sıra Koaksiyal Elektro çekim yöntemi de vardır. Koaksiyal yönteminde tek fark iğne ucundadır. İki eş merkezli hizalanmış iğneler sayesinde çekirdek-kabuk lifleri oluşturmaktadır. En büyük avantajı cihaz prosesinin basitliği ve düşük maliyetli olmasıdır. Bu avantajların yanı sıra sürekli yapı da lif üretilmesi ve lif üretiminin kısa

sürede gerçekleştirilebilmesidir. Elektro çekim yöntemiyle organik, inorganik ve biyolojik bileşenlerin lifli yapıları elde edilebilmektedir. Elde edilen lifler biyomedikal uygulamalar, tekstil, elektriksel ve optik uygulamalar gibi birçok alanda kullanılabilir (Mercante vd.).

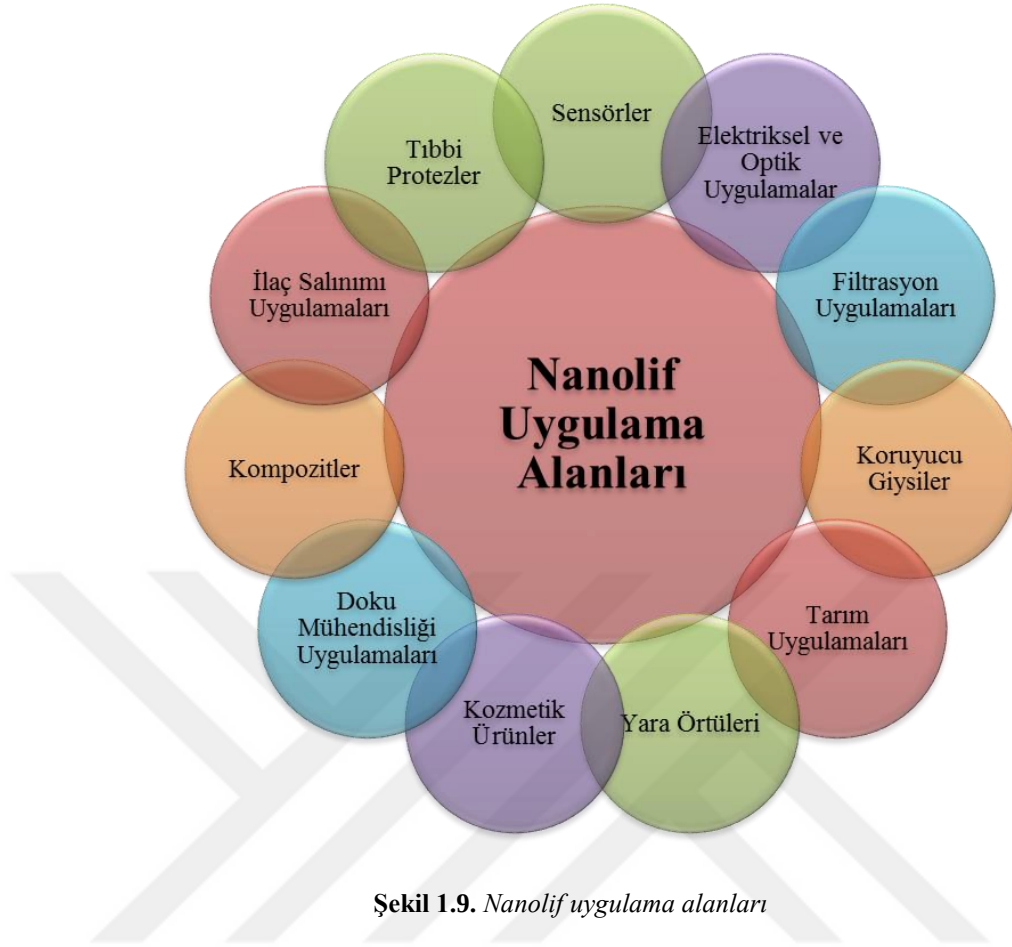


Şekil 1.8. Elektro çekim ile nanolif üretimi

1.2.2. Nanolif uygulama alanları

Nanoliflerin çok çeşitli uygulama alanları vardır ve bunun en önemli nedenleri, lif çaplarının mikron altı ve nanometre boyutlarında olması ve kullanılan polimerlerin çeşitliliğidir. Bunun yanı sıra çok yüksek yüzey alanı/hacim oranına, liflerin rastgele konumlanması nedeniyle çok yüksek gözenekliliğe ve çok iyi mekanik performansa sahip olmaları uygulama alanlarını arttırmaktadır.

Polimer nanolifleri; tıbbi protezler, sensörler, elektriksel ve optik uygulamaları, filtrasyon uygulamaları, koruyucu giysiler, tarım uygulamaları, yara örtüleri, kozmetik ürünler, doku mühendisliği uygulamaları, kompozitler, biyomedikal uygulamaları ve ilaç salınım uygulamaları gibi bir çok kullanım alanı bulunmaktadır (Şekil 1.9) (Subbiah vd.; Thenmozhi vd.).



Şekil 1.9. Nanolif uygulama alanları

1.2.2.1. Sensörler

Sensörlerin görevi, fiziksel ve kimyasal tepkileri elektrik sinyallerine dönüştürmektir. Nanolifler ise gaz sensörleri, kimyasal sensörler, optik sensörler ve biyo sensörler olarak kullanılmaktadır. Nanoliflerin geniş yüzey alanına sahip olması sayesinde yüksek hassasiyetli sensörler elde edilebilir. Nanolif sensörlerin çalışma prensibi, hedeflenen materyalle sensör materyali arasında fiziksel ve kimyasal reaksiyonlardan yararlanılarak elektriksel verilere dönüştürmektir. Ancak polimer olarak piezoelektrik etkiye sahip polimerler kullanılmalıdır (Huang vd.; Üstündağ).

1.2.2.2. Elektriksel ve optik uygulamalar

İletken nanolifler, küçük elektronik cihazların veya makinelerin imalatında kullanılabilir. Nanoliflerin yüksek gözenekli yapıda olması sayesinde iyonların membran boyunca iletimini kolaylaştırmaktadır. Elektrokimyasal reaksiyonların oranı elektrodun yüzey alanı ile doğru orantılıdır ve nanoliflerin yüksek yüzey alanına sahip

olmaları sayesinde oldukça verim alınması mümkündür. Bunun yanı sıra iletken nanolifler; korozyon koruması, elektromanyetik girişim koruyucu, fotovoltaiik cihaz ve elektrostatik yayılım gibi uygulamalarda da kullanılması mümkündür (Huang vd.).

1.2.2.3. Filtrasyon uygulamaları

Filtrasyon, suda çözünmeyen katı maddeleri fiziksel olarak arıtma işlemidir. Hemen hemen birçok mühendislik alanında filtreleme gereklidir. Filtre performansını etkileyen en önemli özellik lif inceliğidir ve filtre verimliliği ile ilişkilidir. Filtre ortamında kullanılan nanolifli malzemeler, çok küçük boyutlarda gözeneklere sahip olması, yüksek filtrasyon verimliliği ve düşük hava direnci gibi avantajlar sağlamaktadır. Filtredeki liflerin çapları ile filtrasyon verimliliği ve filtre malzemesinin tutunma kapasitesi ters orantılıdır. Nanoliflerin yüksek yüzey alanı ve yüksek yüzey kohezyonları sayesinde küçük partikülleri bile tutabilmektedirler (Subbiah vd.).

1.2.2.4. Koruyucu giysiler

Koruyucu giysilere, ısı yalıtım davranışını optimize etmek, savaş sırasında biyolojik tehlikelere karşı korumak, su buharı geçirgenliğini düzenlemek veya giysilere belli bir işlevsellik kazandırmak için birçok yöntem denenmiştir. Bu yöntemler arasında nanoliflerde yer almaktadır. Nanoliflerin gözenekli yapıya sahip olması, koruyucu giysilerde tercih sebeplerinden bir tanesidir.

Örneğin, ordudaki koruyucu giysilerde hava koşullarına, biyolojik savaşlarda hayatta kalma ve savaş etkinliğini en üst düzeye çıkarması veya kimyasal savaşlarda cildin solunması ve emilimine karşı koruyucu özellik göstermesi beklenilmektedir. Bunun içinde hava ve su buharı geçirmeyen, ölümcül kimyasal maddelere karşı koruyucu olan, hafif bir kumaş tercih edilmektedir. Nanolifli kumaşlar ise yüzey alanlarından dolayı, kimyasal ajanlara, hava ve su buharı geçirgenliğine karşı dirençli olmasını sağlar.

Nanoliflerin bu özelliklerinden dolayı son derece etkili olduğu ve ideal koruyucu giysi olarak yeniliklere ışık tutmaktadır (Greiner ve Wendorff; Huang vd.).

1.2.2.5. Tarım uygulamaları

Bitkiler gelişirken kimyasallara ve böceklerle karşı korunması gerekmektedir. Şu an bu durumlar ilaç yardımıyla önlenmektedir. Araştırmacılar bitkiyi ilaçlamak yerine yeni yöntemler geliştirmeye çalışmaktadırlar. Örneğin nanoliflerin bu araştırmalara ışık tutabileceği söylenmektedir. Nanoliflerin esnek ve lif formunda olmaları sayesinde bitkiyi sararak bitkiyi zararlı kimyasallardan ve böceklerden korumaktadır. Bununla birlikte lif içerisine konulan maddeler sayesinde bitkinin gübre veya ilaç ihtiyaçları sağlanmaktadır (Mercante vd.).

1.2.2.6. Yara örtüleri

Yara örtüleri, yanık ve cilt yaraları gibi büyük yaraları örtmek için bitki lifleri ve hayvansal yağlar gibi doğal malzemelerden üretilmektedir. Yara sargısının amacı hızlı bir şekilde işlev görmesini sağlamaktır. Çevresel kaynaklı enfeksiyonları önlemek için antibakteriyel özelliğe de sahip olmalıdır. Nanolifler ise biyouyumlu polimerden elde edilebilmektedir. Liflerin yüzey alanının büyük olması sayesinde ortamdaki sıvıların değişimini sağlayabilmekte ve gözenek boyutları ise bakterilerin girmesini de önleyebilmektedir. Nanolifler yaraya püskürtülerek tedavi edilebilmekte ve içerisine bir ilaç etken maddesi eklenerek kontrollü salınımı gerçekleştirilebilmektedir (Greiner ve Wendorff ; Liu vd.).

1.2.2.7. Kozmetik ürünler

Cilt bakım maskeleri, krem, losyon veya merhemlerden oluşmaktadır. Toz veya sprey formlarındaki maskeler uygulandığı zaman cilt temizliğini gerçekleştirir ve cildi iyileştirir. Nanolifler ise cildi iyileştirmek ve temizlemek için son yıllarda bilim adamları tarafından tercih edilmektedir. Gözenek yapısı ve yüksek yüzey alanına sahip olmasından dolayı kullanımı kolaylaşabilir ve cilde katkı oranını hızlandırabilir. Ağrısız bir şekilde olması ise avantajları arasında yer almaktadır (Huang vd.).

1.2.2.8. Doku mühendisliği uygulamaları

Organ yetmezliği veya doku hasarı kişinin sağlık kalitesi üzerinde önemli bir etkiye sahiptir. Geleneksel tedavisi genellikle diğer donörlerden nakledilen doku veya organ naklidir ancak bu yöntemin bazı sınırlamaları vardır. Doku mühendisliği ise tüm bunlara umut vermiştir. Hasarlı dokuları eski haline getiren, koruyan veya iyileştiren biyolojik yedekleri inşa etmek için mühendislik ve biyobilimin bir araya gelerek oluşturdukları alana doku mühendisliği denmektedir. Üç temel unsur göz önünde bulundurulmalıdır; hücrelerin tohumlanması ve eklenmesi, biyomateryal yapı iskelesi ve hücre sinyal faktörlerinin dahil edilmesi. Biyomateryal yapı iskelesi, en temel ve önemli unsurdur ve birçok yöntemle elde edilebilir.

Nanolifler, bunlardan bir tanesidir. Lif yapılarının iyi mekanik özellik göstermesi, yüksek yüzey alana sahip olması ve ayarlanabilir gözeneklilik sağlaması doku mühendisliği için oldukça avantajlıdır. Bu zamana kadar yapılan çalışmalarla da nanolifler deri, kemik, damar, sinir ve kıkırdak gibi doku mühendisliği alanlarında kullanılmıştır (Liu vd.).

1.2.2.9. Kompozitler

Kompozitler de genellikle geleneksel boyut olan mikro boyutlu lifler kullanılmaktadır ancak mikro boyut yeterli değildir. Özellikle yüksek elastiklik modülü ve mukavemet/ağırlık oranı gibi özellikleri sayesinde takviye olarak nanolifler tercih edilmektedir. Küçük ve hafif ürünler oluşturulması da diğer bir avantajdır. Nanoliflerin mikro boyuttaki liflere göre çok fazla artı yönü vardır ve bu yüzden daha fazla tercih edilmektedir (Huang vd.).

1.2.2.10. İlaç salınımı uygulamaları

İlaç salınımindaki temel amaç, ilaçların vücuttaki hedef bölgelere güvenli bir şekilde taşımak, ilaç miktarını ve tedavi süresini kontrol ederek salınımı ayarlamaktır. Nanolifler, kullanılan biyo-uyumlu polimerlerle etkinliklerin korunmasına yardımcı olurlar ve ilacın liflerin içerisine kolayca yüklenmesini sağlarlar (Liu vd.).

1.2.2.11. Tıbbi protezler

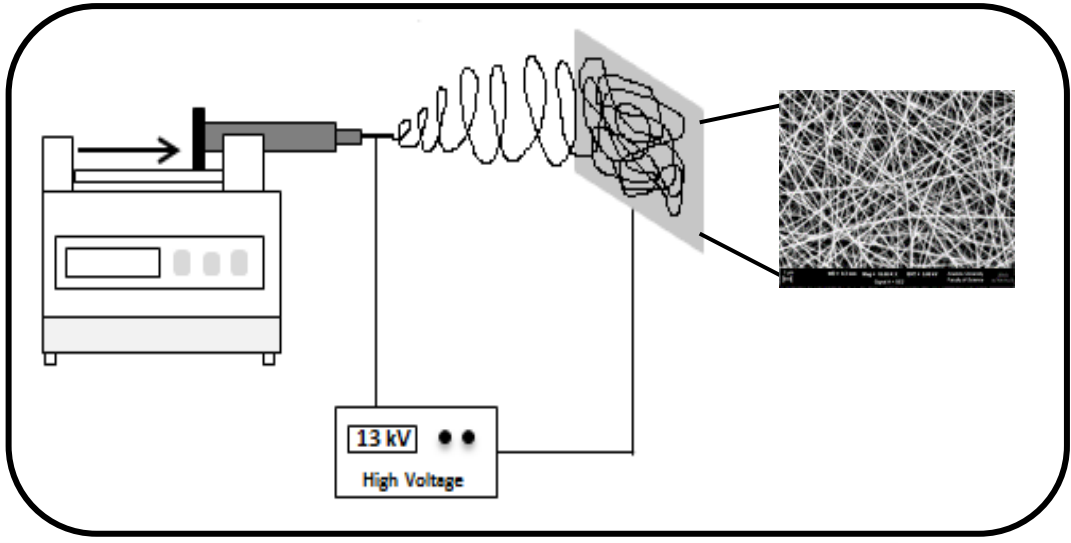
Nanolifler, kan damarı, göğüs gibi birçok yumuşak doku protez uygulamalarında kullanılmaktadır. Biyo-uyumlu polimerlerden elde edilen nanolifler, sert doku protezi üzerine yerleştirilerek insan vücudu içine implante edilmektedir. Lifli yapıya sahip kaplama filmi, cihaz ve insan dokusu arasında ara faz olarak görev alır ve cihaz-doku arasında katılık uyumunu azaltarak cihaz arızasını önlemektedir (Huang vd.).

1.3. Elektro Çekim Cihazı

Elektro çekim cihazının ilk temelleri 1745 yılında Bose'nin yüksek elektrik potansiyellerinin sıvı damlalarına uygulanmasıyla ortaya çıkmıştır. 1902 yılında Cooley ve Morton, bir elektrik yükünün uygulanmasıyla sıvıları püskürtmeye yönelik cihazın patentini almışlardır. 1929 yılında Hagiwaba ve arkadaşları, elektrik yükünün kullanımıyla ipek üretimini gerçekleştirmişlerdir. İlk kez elektro çekim cihazıyla plastiklerin üretildiği patent 1934 yılında Anton Formhals ile ortaya çıkmıştır. 1970 yılında Simm ve arkadaşları küçük çaplı liflerin üretimini patentlemişlerdir. Ancak tüm bu patentler fark edilmemiştir. 1990'lı yıllarda Reneker ve arkadaşları elektro çekim cihazıyla çalışmalar yapmış ve akademik anlamda önemli yol kat etmişlerdir (Subbiah vd.).

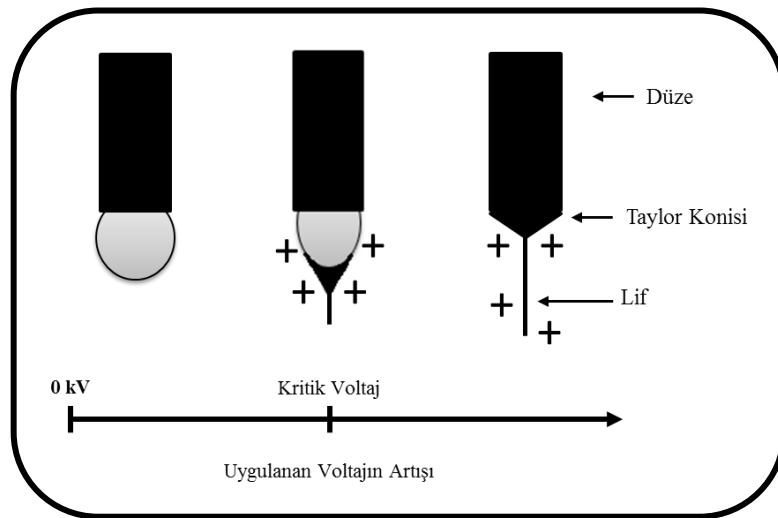
Elektro çekim cihazı, elektrostatik kuvvetleri kullanarak nano boyutta lif üretmek için kullanılan bir yöntemdir. Yapılan araştırmalar sonucunda elektro çekim yöntemiyle elde edilen liflerin ortalama lif çapları 100-500 nm arasındadır ve nano boyutta oldukları için de nanolif olarak adlandırılmaktadır. Nanolifler, küçük gözenek büyüklüğüne ve yüksek yüzey alanına sahiptir. En önemli avantajı cihazın basit bir prosese sahip olması ve maliyetinin ucuz olmasıdır. Bunun yanı sıra hemen hemen tüm polimerlere uygulanabilmesi ve kısa süre de liflerin elde edilebilmesi gibi avantajları da vardır (Greiner ve Wendorff).

Cihaz, yüksek voltajlı elektrik kaynağı, beslenme ünitesi ve iletken toplayıcıdan oluşmaktadır. Polimer çözelti veya eriyik, yaklaşık olarak 25-30 mm'lik çapa sahip bir iğneden şırınga pompası yardımıyla pompalanır (Şekil 1.10).



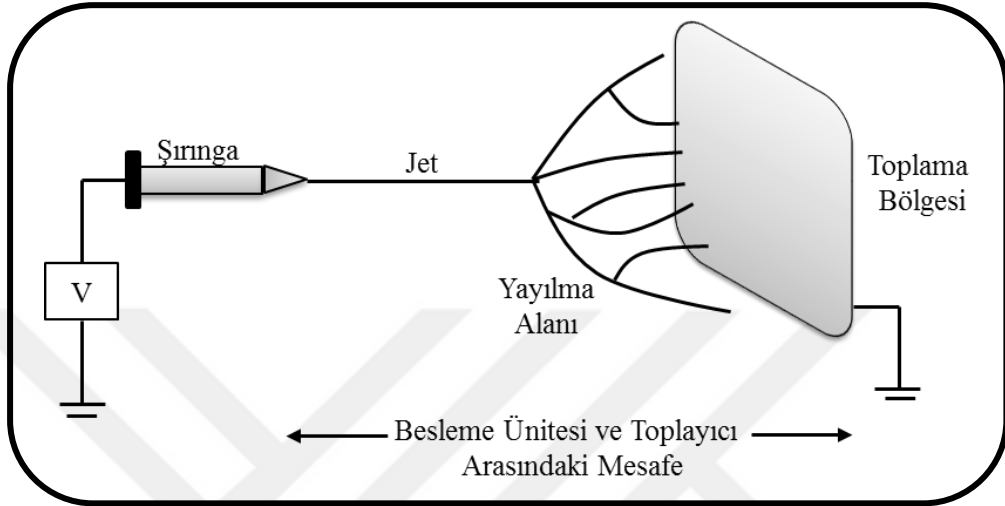
Şekil 1.10. Elektro çekim cihazının prosesinin şematik gösterimi

Polimer çözeltisi veya eriğinin olduğu iğne ve toplayıcı levha arasında 50 kV'a kadar gerilim uygulanır. İğnenin ucunda asılı halde bulunan polimer damlası ortamdaki yüzey geriliminin uyguladığı kuvvetlerden dolayı küresel biçimde bulunur. Uygulanan potansiyel fark eşik değerine ulaştığında elektrostatik kuvvet ve yüzey gerilimi kuvvetleri birbirlerine eşitlenir. Küresel şekildeki polimer damlası koni şeklini alır ve bu koniye “Taylor Konisi” denir (Şekil 1.11) (Li ve Xia).



Şekil 1.11. Taylor koni formunun şematik gösterimi

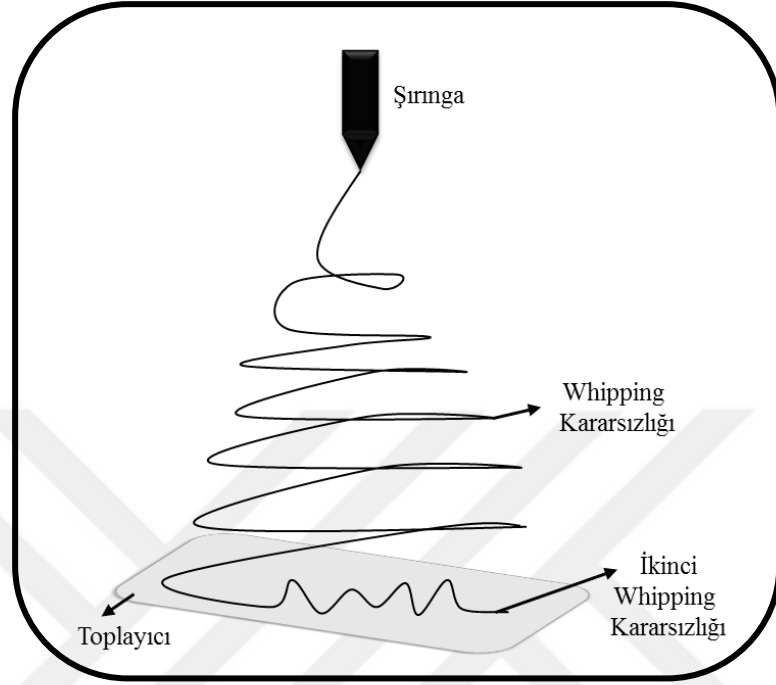
Taylor konisi halinde ki polimer damlasına çok az bir voltaj uygulandığında koni ucundan jet halinde fışkırma olur. Jetin ortaya çıktığı ana bölge, devam ettiği bölge, liflere ayrıldığı bölge ve toplandığı alan olarak jetin dört bölgesi bulunmaktadır (Şekil 1.12).



Şekil 1.12. Elektro çekim cihazının diyagramı

Ortamdaki elektrik alan kuvveti artırıldığında Taylor konisinin ucundan ince lif püskürtüp toplayıcıya ulaşana kadar şeklini bozar. Başlangıçta kısa bir süreliğine kararlı olsa da toplayıcıda kararsızlık bölgesi oluşturmaktadır. Bunun nedeni ise farklı çözücüler ile çalışılmasından kaynaklanmaktadır. Kararsızlıklar ise lifin boyutunu ve geometrisini etkilemektedir. Üç tip kararsızlık vardır. İlk kararsızlık Rayleigh kararsızlığıdır ve simetriktir. Elektrik alan kuvveti veya çözeltinin viskozitesi optimum değer altına düştüğünde oluşur. Düşük viskozite çözeltilerle çalışıldığında jette ayrılmalar ve lif morfolojisinde boncuklanmalar oluşur. Bu kararsızlık yüksek elektrik alan uygulanarak veya daha yüksek derişimde polimer çözeltileri kullanarak giderilebilmektedir. İkinci kararsızlık eksenel simetrik kararsızlıktır. Üçüncü kararsızlık ise Elektro çekim yönteminde en çok görünen, eksenel simetrik olmayan bir kararsızlıktır ve Whipping kararsızlığı olarak adlandırılır. Whipping kararsızlığı, jetin yüzeyindeki yüklerin karşılıklı olarak birbirini itmesiyle meydana gelir. Yükler bir arada olamazlar ve bu yüzden jette merkezden radyal bir şekilde tork oluşur, bu durumda kararsızlığa yol açmaktadır. Radyal yüklerin birbirini itmesi sonucu ana jetten ayrıldığında küçük jetler oluşmasına neden olur. Viskoelastik kuvvetler yok olduğunda ve jet yeterince

inceldiğinde yeni whipping kararsızlık gözlenir ve bu kararsızlıklar ikinci whipping kararsızlığıdır (Şekil 1.13) (Subbiah vd.).



Şekil 1.13. Whippin kararsızlığı

1.3.1. Elektro çekim yöntemine etki eden parametreler

Elektro çekim yöntemi basit bir proses olmasına rağmen nanolifleri etkileyen ve kontrol altında tutulması gereken birçok parametre vardır. Bu parametreler liflerin morfolojileri değiştirmekte ve özellikle liflerin çaplarını etkilemektedir. Etkileyen parametreler Tablo 1.1 de verilmiştir.

Tablo 1.1. Elektro çekim yöntemini etkileyen parametreler

Çözelti Parametreleri	• Konsantrasyon • Molekül Ağırlığı • Viskozite • Yüzey Gerilimi • Çözeltinin İletkenliği
Proses Parametreleri	• Uygulanan Voltaj • Akış Hızı • Toplayıcı Tipi • Toplayıcı ve Beslenme Ünitesi Arasındaki Mesafe
Ortam Parametreleri	• Sıcaklık • Nem

1.3.1.1. Çözelti parametreleri

1.3.1.1.1. Çözelti konsantrasyonu

Çözeltinin konsantrasyonu, çözeltinin hem viskozitesi hem de yüzey gerilimini etkilemektedir. Bu iki etki ise elektro çekim işlemini etkiler. Çözelti konsantrasyonu çok yüksek ise, iğne ucundaki akışı engelleyerek ve elektro çekim işlemini yavaşlatacaktır. Optimum çözelti konsantrasyonu farklı polimer-çözücü sistemleri için değişmektedir. Genellikle konsantrasyon arttıkça lif çapı da artmaktadır (Li ve Bou-Akl).

1.3.1.1.2. Molekül ağırlığı

Polimerlerin molekül ağırlığı çözeltinin viskozite özellikleri üzerinde büyük bir etkiye sahiptir ve lif morfolojisini etkilemektedir. Yüksek molekül ağırlığına sahip polimerler, çözelti içerisinde polimer zincirlerinin birbirine dolanma sayısını arttırırlar ve bu durum çözelti viskozitesini etkilemektedir. Polimer zincirleri birbirine geçerek elektro çekim sırasında jetin oluşmasını sağlayan yeterlikte çözelti viskozitesini sağlar ve lifteki boncuklanmada önemli bir rol oynar. Yüksek molekül ağırlıklı çözeltiler büyük çapta

lifler, düşük moleköl ağırlığına sahip çözeltilerde lif yerine boncuklar üretmektedir (Mercante vd.).

1.3.1.1.3. Viskozite

Çözeltinin viskozitesi, elektro çekim işlemi sırasında liflerin morfolojilerini ve çaplarını belirlemede önemli bir yol oynar. Çözeltinin konsantrasyonu tarafından viskozite belirlenir ve jetin davranışını etkilemektedir. Düşük viskoziteye sahip çözeltilerde lif oluşumunun devamlı olmadığı ve boncuklu yapıda liflerin olduğu, yüksek viskoziteye sahip çözeltilerde ise jet akışının zor olduğu belirlenmiştir. Optimum viskozite ise polimer-çözücüye göre ayarlanmalıdır. Çözeltinin viskozitesi arttığında lifin çapı artar ve daha düzgün yapıda lifler elde edilir (Bakter, İş, ve Pamuklu).

1.3.1.1.4. Yüzey gerilimi

Elektro çekim işlemini zorlaştıran bir diğer etki ise yüzey gerilimidir. İşlemin başlayabilmesi için, elektriksel olarak yüklenen çözeltinin, yüzey geriliminin üstesinden gelmesi gerekir. Yüzey gerilimi, sıvının birim kütlesindeki yüzey alanının azalmasıyla oluşmaktadır. Yüzey gerilimi, polimer konsantrasyonu yüksek olduğunda, iğneden çıkan jet toplayıcıya doğru giderken jet boyunca boncuklar oluşmasına neden olabilir. Elektro çekim yöntemiyle düzgün yapıda nanoliflerin eldesi için, düşük yüzey gerilimine sahip çözücüler eklenebilir veya polimer çözeltisi içerisine yüzey aktif madde ekleyerek yüzey gerilimi azaltılabilir (Bakter vd.).

1.3.1.1.5. Çözeltinin iletkenliği

Çözeltinin iletkenliği, lif morfolojilerini etkilemekle beraber, damlacığın uzamasını kolaylaştırır ve bir veya birden fazla jetin oluşmasını sağlayan önemli bir parametredir. Çözeltinin iletkenliği, polimerlerin ve çözücülerin iletkenliğine bağlıdır ve polimerler genellikle iletkendirler. Çözeltinin iletkenliği yükseldiği zaman liflerin çapı küçülmektedir. İletkenlik düşük olduğunda ise lifler düzgün bir yapıya sahip olmazlar ve boncuklanmaların olabileceği gözlenmiştir (Mercante vd.; Subbiah vd.).

1.3.1.2. Proses parametreleri

1.3.1.2.1. Uygulanan voltaj

Elektro çekim yönteminde önemli parametrelerden biri uygulanan voltajdır. İğneden toplayıcıya doğru jet halinde ilerleyen lifleri elektrostatik kuvvet sağlamaktadır. Belirli bir voltajda etki eden elektrostatik kuvvetler, yüzey gerilimi kaynaklı kuvvetlerden daha fazla olarak damlacık gerilmesine neden olacaktır. Bu nedenle, voltajın doğru bir şekilde uygulanması liflerin düzgün bir morfolojiye sahip olmasını sağlamaktadır. Düşük bir gerilim uygulandığında polimer jeti dengeli bir şekilde toplayıcıya birikemez ve toplayıcıda, lifsiz formasyon, eşit olmayan bir morfoloji ve boncuklu bir yapıda liflerin olmasına yol açar. Yüksek gerilim uygulandığında ise, liflerin daha kalın yapıda olabilmesi mümkündür (Li ve Bou-Akl; Mercante vd).

1.3.1.2.2. Akış hızı

Akış hızı, jetin hızını belirleyen önemli bir parametredir. Çözeltilerin buharlaşması için yeterli zaman bulabilmesi için akış hızının düşük olması istenmektedir. Akış hızıyla liflerin çapı ve gözenek çapı değişmektedir. Yüksek akış hızı uygulandığında büyük çaplı lifler üretilirken, düşük akış hızında daha küçük çaplar elde edilmektedir (Mercante vd.).

1.3.1.2.3. Toplayıcı tipi

Elektro çekim yönteminde elektrik alandan yararlanılarak lifler elde edilmektedir. Bu elektrik alanı sağlayabilmek içinde toplayıcının iletken bir materyal olması gerekmektedir. Genellikle alüminyum folyo kullanılmaktadır ancak alüminyum dışında iletken kağıt, iletken kumaş gibi materyallerde kullanılabilir (Bakter vd.).

Toplayıcı tipi olarak da birkaç farklı toplayıcı vardır. En çok kullanılan düz bir zemine sahip olan bir toplayıcıdır. Bir diğeri döner silindir toplayıcılarıdır. Lifle dönen toplayıcı üzerinde biriktiği zaman, oluşturulan merkez kaç kuvveti nanoliflerin düzenli olarak toplanmasına neden olabilir. Diğer toplayıcı ise döner yapıda olup, silindir yerine tekerlek kullanılarak gerçekleştirilmiştir (Li ve Bou-Akl).

1.3.1.2.4. Toplayıcı ve beslenme ünitesi arasındaki mesafe

Elektro çekim yöntemiyle elde edilen liflerin yapısı ve morfolojisi, toplayıcıda birikme süresine, buharlaşma oranına ve kararsızlık aralığına bağlı olmalarından dolayı, toplayıcı ve beslenme ünitesi arasındaki mesafe oldukça etkilidir. Yapılan araştırmalarda, kısa mesafe kullanıldığında liflerin ıslak ve boncuklu yapıda olduğu gözlenmiştir (Subbiah vd.). Polimer çözeltileri içerisinde uçucu çözücüler kullanıldığında daha kısa mesafelerin kullanılabilen ancak çözücüler uçucu olmadığında mesafenin artması gerekmektedir (Mercante vd.).

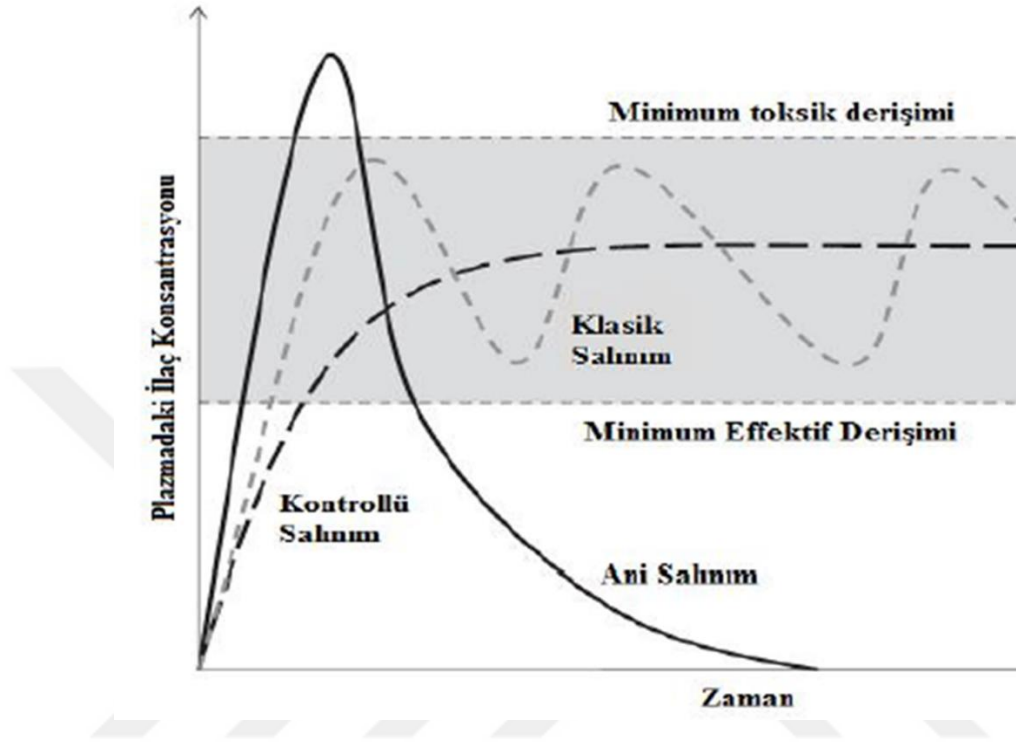
1.3.1.3. Ortam parametreleri

Çözelti ve proses parametrelerinin yanı sıra Elektro çekim yöntemine ortam parametreleri de etki etmektedir. Ortamdaki sıcaklık ve nemim etkisiyle liflerin morfolojileri değişmektedir. Çoğu çözelti viskozitesi sıcaklıkla ters orantılı olarak değişmektedir. Yüksek sıcaklıklarda daha ince lifler elde edilmektedir. Liflerdeki gözeneklerin ortaya çıkmasına yüksek nem oranının neden olduğu ortaya çıkmıştır. Nem düşük olduğunda, çözücü hızla kuruyarak iğne ucunun tıkmamasına yol açabilmektedir (Li ve Bou-Akl).

1.4. Kontrollü İlaç Salınımı

Kontrollü ilaç salınım sistemleri, insan sağlığına katkıda bulunan ve en hızlı gelişmekte olan bilim alanlarından bir tanesidir. İlk klinik kontrollü salınım sistemleri 25 yıldan kısa bir süre önce ortaya çıkmıştır ve gelişmekte olan bir alandır. Bu salınım sistemlerinin toksisite miktarını azaltmak, ilacın etkinliğini ve hasta-ilaç uyumunu iyileştirmek gibi bir çok avantajı vardır. Bu iyileşmeler, yan etkilerin yoğunluğuna kıyasla terapötik aktiviteyi arttırabilir, gereken ilaç miktarını azaltabilir ve özel ilaç ihtiyacını ortadan kaldırabilir. İlaç salınım üzerinde zamansal kontrol ve salınım kontrolü olmak üzere iki tip kontrol sağlanabilmektedir. Zamansal kontrolde amaç, ilacı uzun bir süre boyunca veya tedavi sırasında belirli bir zamanda vermektir. Şekil 1.14'te kandaki ilaç derişiminin zamanla değişimi verilmiştir. Klasik salınımında yani gün içerisinde ilacı 3 kere aldığımızı düşünürsek ilacı aldığımız anda etkisi artmakta ve diğer alıma kadar etki düşmektedir. Ani salınımında, ilaç vücuda alındığında etkisi hızla artmakta hatta toksik

etki sağlamak ve zamanla düşmektedir. Kontrollü salınım ise, ilaç vücuda alındığı anda artmaktadır ve belli bir zaman zarfında da etkisini göstermeye devam etmektedir. Böylelikle ilacın maksimum yararda bulunması sağlanmaktadır (Uhrich vd.).



Şekil 1.14. Kandaki ilaç derişiminin zamanla değişimi

Salınım kontrolünde ise, ilacın vücuttaki hedef bölgeye iletilmesi ve o bölgede faaliyet göstermesi amaçlanmıştır. Örneğin, vücutta kanserli bir hücre varsa ilacın o bölgeye etki etmesi istenir aksi takdirde ilaç tüm vücuda yayılarak sağlıklı hücrelere de olumsuz yönde etki edebilmektedir. Salınım kontrolünün faydalı olabileceği durumlardan bir tanesi de, normal salınımlarda ilaç moleküllerinin moleküler etki alanlarına erişmesine izin vermemesidir. Beyindeki bir reseptör üzerinde etki eden bir ilaç molekülü hastanın kan sistemi tarafından dağıtıldığı ancak kan-beyin bariyerini geçemediği takdirde aktif olmaması bu duruma örnek verilebilmektedir. Eğer ki kontrollü ilaç salınımı kullanılırsa bu durumun önüne geçilebilmektedir. Birçok ilaç kontrollü salınım sisteminde kullanılabilir. Hatta farmasötik uygulamaların yanı sıra, tarım ve kozmetik endüstrilerinde de kontrollü salınım sistemleri kullanılmaktadır (Uhrich vd.).

Kontrollü ilaç salınımı için kullanılan yöntemlerden biride nanoliflerdir. Özellikle Elektro çekim yöntemiyle elde edilen nanolifler son zamanlarda oldukça tercih

edilmektedir. Nanoliflerin yüksek yüzey-hacim oranına sahip olması ve gözenekli bir yapıda olmasından kaynaklı içerisine ilaç yüklemek mümkündür. Özellikle yüksek yüzey-hacim oranına sahip olma özelliği sayesinde ilaçların patlama yapmasına neden olmaktadır (Hu vd.; Ju vd.). İlaçların türüne göre, ilacın nanolif içerisine yüklenmesi için farklı yöntemler vardır. Polimer çözeltisi içerisine ilaç yüklenerek nanolif haline getirilebilir, fiziksel veya kimyasal olarak nanolif yüzeyine yükleme yapılabilir (Ju vd.).

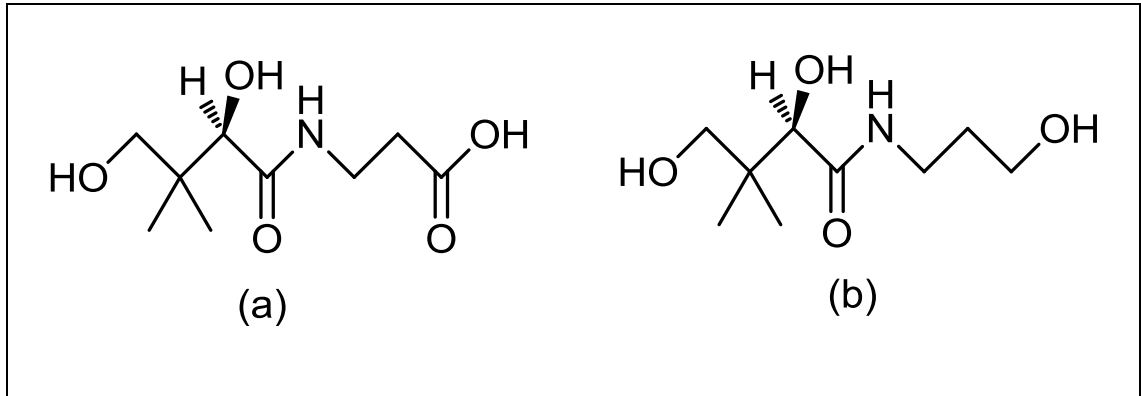
Nanolif içerisindeki polimer maddeleri ise ilaç etken maddesine göre farklılıklar göstermektedir. Kullanılan polimerlerinse tek bir ortak noktası vardır oda biyo-uyumlu polimerler olmasıdır. Biyo-uyumlu polimerler kullanılarak vücuttan böbrekler yardımıyla kolaylıkla atılabilir veya daha sonradan atılan küçük moleküllere biyolojik olarak ayrılarak atılabilirler (Uhrich vd.).

1.5. Dekspantenol

Pantotenik asit, 1931 yılında Roger J. Williams tarafından mikrobik büyüme faktörleri üzerine çalışmaları sırasında keşfedilmiştir. Pantotenik asidin, mayada hücre çoğalması üzerine derin bir uyarıcı etkisi olduğu gözlenmiş ve bunun sonunda Dekspantenol'un gelişmesine yol açmıştır. Dekspantenol, pantotenik asidin dengeli alkolik bir analogudur ve B vitaminlerinin (B5 vitamini) bir üyesidir. Enzimatik olarak koenzim A'nın bir bileşeni olan pantotenik aside oksitlenir. Dekspantenol, pantotenik aside göre daha hızlı ve daha çok absorbe olur, topikal uygulamalarında oldukça önemlidir (Şekil 1.15) (Proksch vd.).

Dekspantenol'un nemlendirici ve cilt bariyerini güçlendirici etkisi vardır. Cilt tahrişini önler, cildin yenilenmesini uyarır ve yara iyileşmesini hızlandırır. Ancak cilt tedavilerinin yanı sıra, gözün kornea veya konjonktival lezyonlarında, burun mukozal lezyonlarında yardımcı madde olarak, yanık tedavilerinde ve vitamin preparatların da kullanımı da vardır (Ebner vd. y.y.).

Dekspantenol oral ve topikal olarak uygulanabilir. Oral olarak alındığında absorbe olduktan sonra karaciğere gelerek pantotenik asite dönüşür ve vitamin depolarına katılır. Topikal olarak ise pomat, losyon gibi farmasötik şekillerde bulunur. Uygulandığında ise deriden hızla absorbe olur (Ebner vd. y.y.).



Şekil 1.15. (a) Pantotenik asit, (b) Dekspantenol yapılarının gösterimi

2. MATERYAL ve METOT

2.1. Materyal

Bu çalışma kapsamında yapılan deneysel çalışmaları şu başlıklarda toplayabiliriz:

- Polikaprolakton/Gelatin/Dekspantenol (PCL/Gel/DexpH) ilaç yüklü nanoliflerinin ilaç salınımını incelemek ve karakterizasyonları,
- Polivinilalkol/Kitosan/ Dekspantenol (PVA/Chi/DexpH) ilaç yüklü nanoliflerinin ilaç salınımını incelemek ve karakterizasyonları,
- Gelatin metakrilamid (GelMA) sentezlemek ve sentezlenen GelMA ile Gelatin metakrilamid/Polikaprolakton/Dekspantenol (GelMA/PCL/DexpH) ilaç yüklü nanoliflerinin ilaç salınımını incelemek ve karakterizasyonlarını değerlendirmek.

2.1.1. Kullanılan kimyasal maddeler

Polikaprolakton (PCL) Mw: 80.000 (United Kingdom), Polivinilalkol (PVA) Mw: 85.000-124.000 (USA), Metakrilik Anhidrit (MA) (Germany), 2,2,2-Trifloroetanol %99 D atom (TFE) (Germany) Aldrich firmasından temin edilmiştir. Kitosan (Chi) from shrimps sheels Sigma (Iceland) firmasından, Jelatin (Gel) type B Chem Cruz (Dallas) firmasından, Asetik asit (AcOH) Labkim firmasından ve Formik asit (FA) Merck (Finland) firmasından temin edilmiştir.

İlaç etken maddesi olarak Dekspantenol kullanılmıştır ve Bepanthen Ampül (Bayer) ilacından temin edilmiştir.

Karakterizasyon çalışmaları için Asetonitril kullanılmıştır ve Aldrich (Germany) temin edilmiştir.

Çapraz bağlama ajanları olarak Glutaraldehit %25 H₂O (GA) Sigma (USA) firmasından, N-Hidroksisüksinimid (NHS) Merck (Germany) firmasından, N-(3-dimetilaminopropil)-N'-etilkarbodiimid (EDC) Fluka (Slovakia) firmasından ve 2-Hidroksi-4'-(2-hidroksietoksi)-2-metilpropiofenon (Irgacure) Aldrich firmasından temin edilmiştir. Çözücü olarak Etanol (EtOH) Sigma (Germany) firmasından temin edilmiştir.

Saf su Thermo Scientific Barnstead™ Smart2Pure™ saf su cihazından temin edilmiş olup iletkenliği 18 megaohmcm⁻¹'dir.

2.1.2. Kullanılan cihazlar

Polimer çözeltisini nanolif haline getirmek için, Elektro çekim cihazı (Plus Electronic) kullanılmıştır. pH ölçümleri Seven Excellence model Mettler Toledo marka pH metre ile yapılmıştır. Yüzey morfolojileri Zeiss Ultra Plus Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) ile incelenmiştir. Nanoliflerin karakterizasyonları için; XRD Difraktogramı D8 Advance X-Işını Kırınımı (XRD) cihazı, FTIR spektrumları Perkin Elmer Spectrum 100 Zayıflatılmış Toplam Yansıma-Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektrometre (ATR-FTIR) cihazı, Kontakt açısı Attension, Biolin Scientific cihazı kullanılmıştır. İlaç salınımının kontrolü için Agilent 1100 Series Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC) kullanılmıştır. Kurutma işlemini yapmak için Labconco, Freezone Liyofilizatör cihazı kullanılmıştır. Nükleer Manyetik Rezonans (NMR) analizi için Jeol marka ecz500R model cihaz kullanılmıştır.

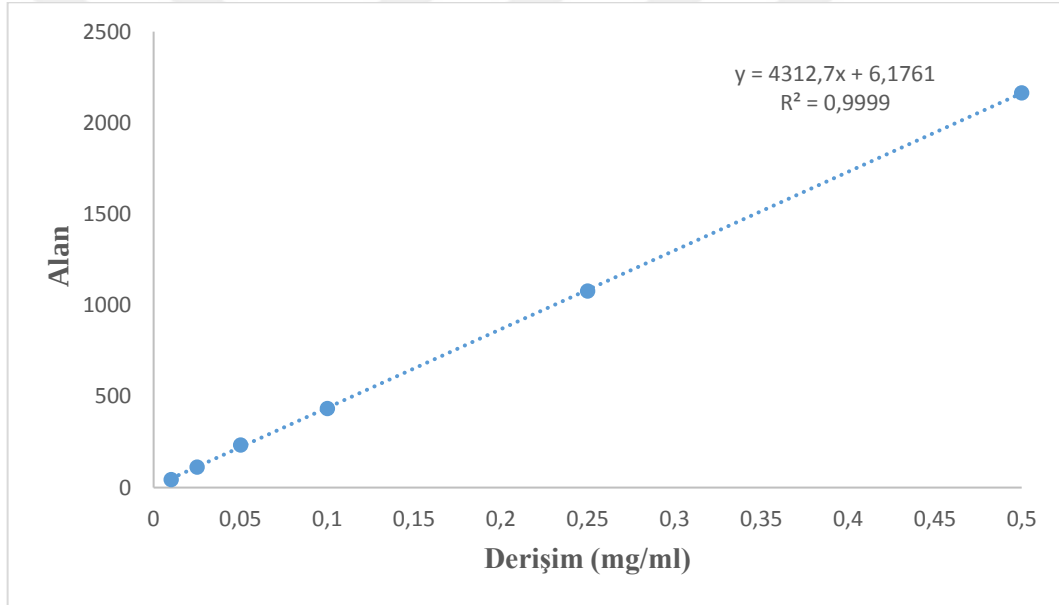
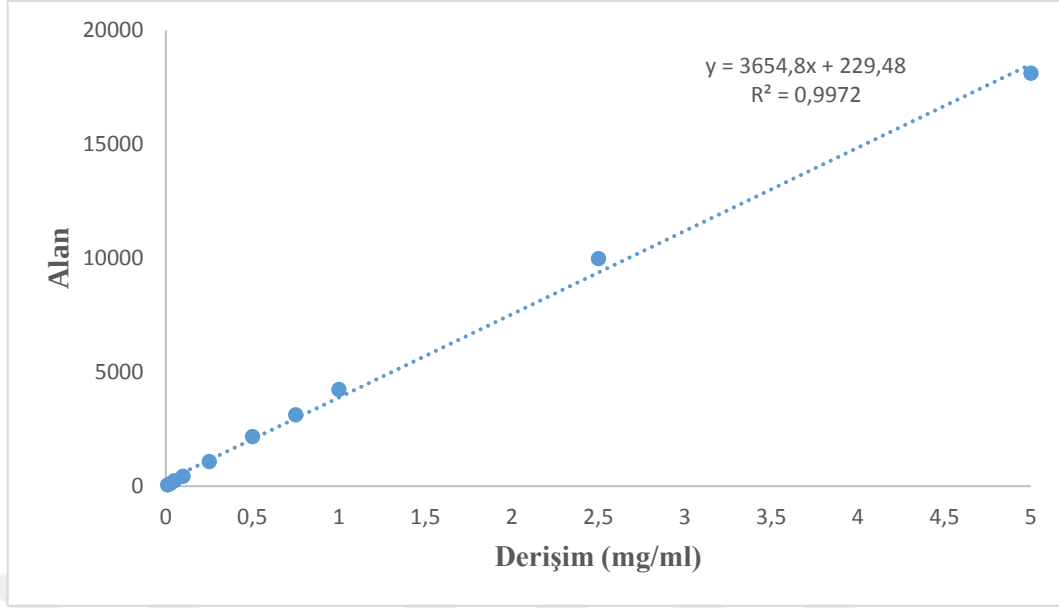
2.2. Metot

2.2.1. Dekspantenolün kalibrasyonunun oluşturulması

Dekspantenol ilaç etken maddesinin HPLC cihazında kalibrasyon grafiği oluşturulmuştur. Cihazda dedektör olarak Diodearray detectors (DAD) ve Inertsil® ODS-3 markalı 5µm x 4,6 x 150 mm ölçüsünde kolon kullanılmıştır. pH:2,8 Fosfat Tampon Çözeltisi (PBS), 0,064 g NaH₂PO₄ 100 ml H₂O içerisinde çözölmüş ve pH'ı fosforik asitle ayarlanarak hazırlanmıştır. Hareketli faz olarak pH:2,8 PBS ve Asetonitril (9:1, v/v) karışımı kullanılmıştır. Her bir numuneden 5 µl enjekte edilmiştir. Numuneler 0,6 ml/dak akış hızında ve 210 nm dalga boyunda ölçölmüştür.

Dekspantenol, Bepanthen ampöl içerisinde sulu çözeltisi halinde alınmış ve pH:7,4 PBS (pH:7,4, 0,775 g NaH₂PO₄.H₂O ve 2,73 g Na₂HPO₄ 250 ml H₂O) içerisinde çözölmüştür. 0,01 ile 5 mg/ml derişimlerin de numuneler hazırlanmış ve HPLC cihazında ölçömleri yapılmıştır. Analiz sonuçlarına göre Şekil 2.1'de kalibrasyon grafiği verilmiştir.

0,01 ile 0,5 mg/ml arasındaki derişim değeri kullanılmıştır. Bu aralık ilaç salınımında ki miktara göre belirlenmiş ve grafiğe geçirildiğinde ise R²=0,9999 olarak çıkmıştır.



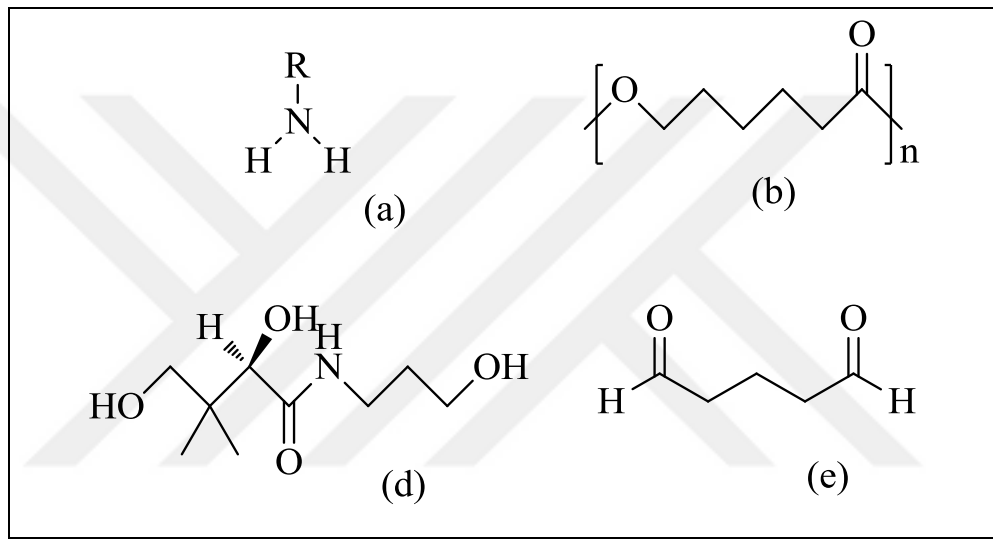
Şekil 2. 1. DexphH kalibrasyon grafiği (A) 0,01-5 mg/ml derişimleri arası, (B) 0,1-0,5 mg/ml derişimleri arası

2.2.2. PCL/Gel/DexpH çözeltisinin hazırlanması, nanolif haline getirilmesi ve çapraz bağlanması

PCL/Gel/DexpH çözeltisini hazırlamak için, %10 derişimde PCL polimeri deiyonize su içerisinde ve %10 derişimde Gel polimeri AcOH:FA (9:1, v/v) çözeltisi içerisinde çözülmüştür. Ayrı ayrı hazırlanan PCL ve Gel çözeltileri PCL/Gel (7:3, v/v) olacak şekilde karıştırılmıştır. PCL/Gel çözeltisi, Elektro çekim cihazında farklı akış hızında, farklı kV de ve farklı uzaklıklarda denenerek nanolif haline getirilmiştir.

Denemelerden sonra ilaç etken maddesi olarak Dexph hazırlanan çözelti içerisinde %10'luk olacak şekilde ilave edilmiş ve 2 saat karıştırılmıştır. PCL/Gel/Dexph çözeltisi, Elektro çekim cihazında toplayıcı ve şırınga arasındaki uzaklık 10 cm, akış hızı 1 ml/s, voltaj 10 kV olarak ayarlanarak nanolif haline getirilmiştir.

Elde edilen nanoliflere çapraz bağlama yapılmış ve çapraz bağlama ajanı olarak GA buharı kullanılmıştır. GA bir petri kabına konulmuş ve yüzeyi nanolif kaplı folyo petri kabının üzerine kapatılarak 24 saat boyunca vakum desikatöründe bekletilmiştir (Şekil 2.2).

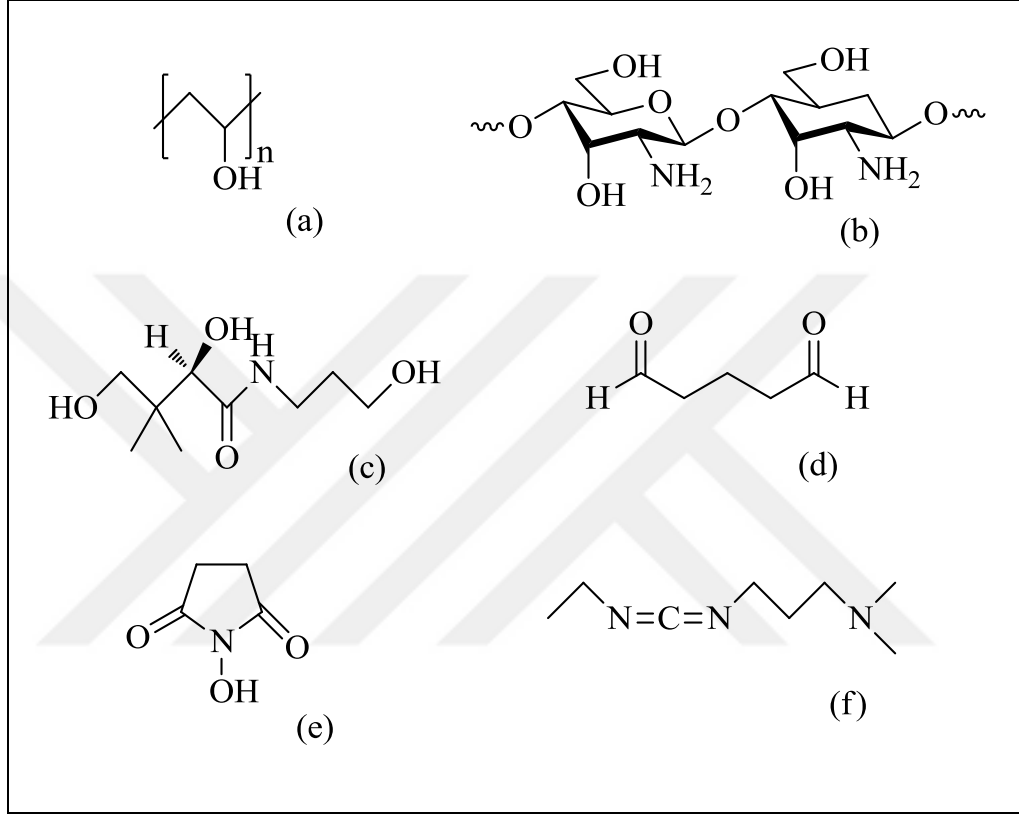


Şekil 2. 2. Kullanılan kimyasalların yapıları; (a) Gelatin, (b) PCL, (c) Dexph, (d) GA

2.2.3. PVA/Chi/Dexph çözeltisinin hazırlanması, nanolif haline getirilmesi ve çapraz bağlanması

PVA/Chi/Dexph çözeltisini hazırlamak için %10 derişimde PVA polimeri deiyonize su içerisinde 60 °C de 3 saat boyunca ve %2,5 derişimde Chi polimeri %2 derişimde AcOH çözeltisi içerisinde çözülmüştür. PVA/Chi (1:1, v/v) olacak şekilde karıştırılmıştır. İlaç etken maddesi olarak Dexph hazırlanan çözelti içerisinde %10 derişimde olacak şekilde ilave edilmiş ve 2 saat boyunca karıştırılmıştır. Hazırlanan PVA/Chi/Dexph çözeltisi, Elektro çekim cihazında toplayıcı ve şırınga arasındaki uzaklık 10 cm, akış hızı 0,7 ml/s, voltajı 13 kV olarak ayarlanmış ve nanolif haline getirilmiştir.

Elde edilen nanoliflere iki farklı çapraz bağlanma yöntemi kullanılmıştır. Birincisinde yine GA buharı yöntemi kullanılmıştır. İkinci olarak NHS-EDC çapraz bağlama ajanları kullanılmıştır. 75 mM EDC ve 25 mM NHS, çözücü olarak EtOH:Su (9:1 v/v) içerisinde çözölmüş ve PVA/Chi/DexpH nanolifi yüklü folyo üzerine damlatılmıştır. +4°C de 12 saat boyunca bekletilmiştir (Şekil 2.3).



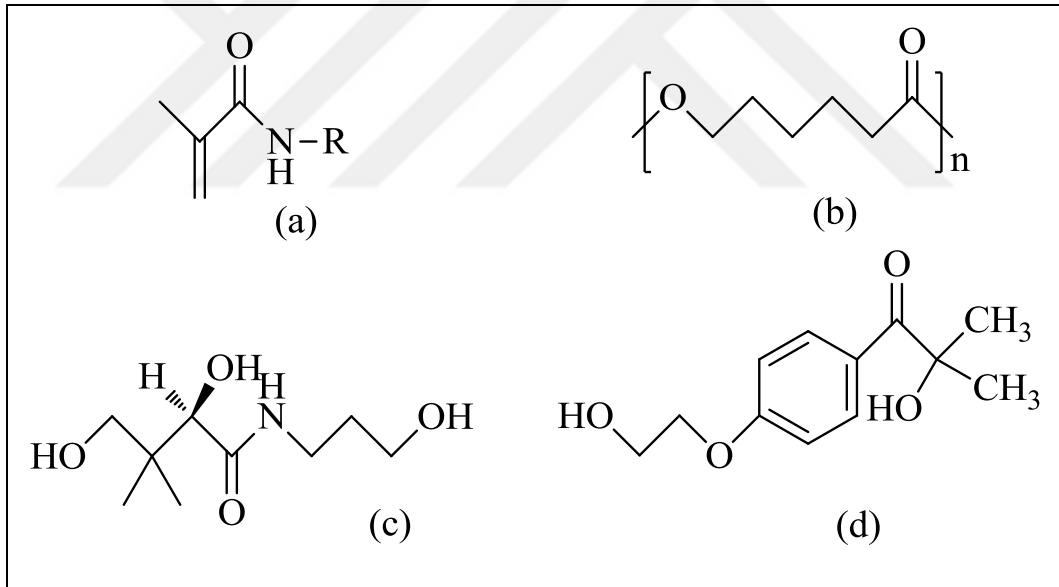
Şekil 2. 3. Kullanılan kimyasalların yapıları; (a) PVA, (b) Chi, (c) DexpH, (d) GA, (e) NHS, (f) EDC

2.2.4. GelMA sentezi, GelMA/PCL/DexpH çözeltisinin hazırlanması, nanolif haline getirilmesi ve çapraz bağlanması

Gelatin metakrilamid (GelMA) sentezi için öncelikle PBS (pH:7,4) çözeltisi hazırlanmıştır. %10 derişimde Gel polimeri pH:7,4 PBS içerisinde 60 °C çözölmüş ve çözöldükten sonra içerisine 1,6 ml Metakrilik Anhidrit yavaş yavaş eklenmiştir. 3 saat boyunca reaksiyon devam etmiştir. 3 saat sonunda 1:5 (v/v) PBS eklenilerek reaksiyon durdurulmuştur. GelMA polimeri SnakeSkin® Dialysis Tubing (3,5K MWCO, 16 mm, USA) ile 1 hafta boyunca gün aşırı su değıştirilerek diyaliz edilmiştir. 1 hafta sonunda -80°C de dondurularak Liyafilizatör de vakum altında kurutma yapılmıştır

Sentezlenen GelMA polimeri %10 derişimde olacak şekil de TFE:AcOH (4:1, v/v) çöztisi içerisinde ve PCL polimeri %10 derişimde olacak şekilde çözülmüştür. GelMA/PCL (1:1, v/v) olacak şekilde karışırılmıştır. İlaç etken maddesi olarak DexpH hazırlanan çözteli içerisinde %10 derişimde olacak şekilde ilave edilmiş ve 2 saat boyunca karışırılmıştır. Hazırlanan GelMA/PCL/DexpH çöztisi Elektro çekim cihazıyla toplayıcı ve şınga arasındaki uzaklık 10 cm, akış hızı 1 ml/h ve voltajı 13 kV olarak ayarlanmış ve nanolif haline getirilmiştir.

Çapraz bağlanma ajanı olarak Irgacure kullanılmış ve 280 nm dalga boyundaki UV lambasıyla çapraz bağlama yapılmıştır. %0,5 ve %1 derişimde Irgacure EtOH içerisinde çözülmüş ve çapraz bağlama denemeleri yapılmıştır. Irgacure içerisinde ve UV lambası altında farklı zaman aralıklarında denemeler yapılmış ve optimum değerleri %1 derişimde Irgacure içerisinde 10 dakika ve UV lambasında 10 dakika tutularak belirlenmiştir (Şekil 2.4).



Şekil 2. 4. Kullanılan kimyasalların yapıları; (a) GelMA, (b) PCL, (c) DexpH, (d) Irgacure

2.2.5. Karakterizasyon ve salınım çalışmaları

Nanoliflerin karakterizasyonları için SEM, ATR-FTIR, XRD, Kontakt açısı ölçümü analizleri yapılmıştır. Salınım incelemeleri için de HPLC cihazı kullanılmıştır.

- Nanoliflerin çapraz bağlama öncesi ve sonrasının morfolojilerini incelemek için SEM cihazı kullanılmıştır. Nanolifler karbon bantlar yardımıyla stublarına

yerleştirilmiş ve üzerleri vakum altında 60 saniye altın kaplanmıştır. SEM cihazında 3 kV hızlandırma geriliminde ve farklı büyütmelerde görüntüleri alınmıştır. Nanoliflerin çapları görüntülerde ölçülmüş ve ortalama çap dağılım grafiği çizilmiştir.

- Polimerler ve çapraz bağlanma öncesi ve sonrası nanoliflerin yapılarını belirlemek için ATR-FTIR cihazı kullanılmıştır. 4000-600 cm⁻¹ dalga boyu aralığında Zayıflatılmış Toplam Yansıma (ATR) kullanılarak FTIR cihazında analizleri yapılmıştır.
- Polimerlerin ve nanoliflerin kristal yapılarını belirlemek için XRD cihazı kullanılmıştır. Tüp Cu 40 kV-40 mA olarak ayarlanmış ve 0,4 °/dk tarama hızında analizler yapılmıştır.
- Çapraz bağlama öncesi ve sonrası nanoliflerin temas açısı ölçümleri yapılmıştır. Analiz edilen her örnek üzerine sıvı damlacık bir mikrometre pipeti ile yerleştirilmiş ve damla kamera yardımıyla görüntüleri alınmıştır. 10 saniyede 120 görüntü alarak One Attention yazılımına kaydedilmiştir.
- Çapraz bağlama öncesi ve sonrası ilaç yüklü nanoliflerin şişme testi gerçekleştirilmiştir. pH:7,4 içerisinde sabit bir ağırlığa ulaşana kadar her gün oda sıcaklığında gerçekleştirilmiştir. Ölçümler aşağıdaki denkleme göre hesaplanmış ve grafiğe geçirilmiştir. Denklemden, W₀ başlangıçtaki fiberin ağırlığını ve W filtre kağıdı ile kurutulmuş fiberin ağırlığıdır.

$$\text{Şişme testi (\%)} = \left(\frac{W - W_0}{W_0} \right) \times 100$$

- İlaç salınımını incelemek için HPLC cihazı kullanılmıştır. Öncelikle ilaç etken maddesi DexPH'nin kalibrasyon grafiği çizilmiştir. 0,01 g çapraz bağlanmış ilaç yüklü nanolif 20 ml pH:7,4 PBS çözeltisine konularak oda sıcaklığında salınımı incelenmiştir. Belirli zaman aralıklarında kontrolü için numune alınmış ve yeni PBS çözeltisi ilave edilmiştir. Kalibrasyon grafiği ve kontrollü ilaç salınımını incelemek için dedektör olarak Diode-array detectors (DAD) ve kolon olarak Inertsil® ODS-3, 5µm x 4,6 x 150 mm kullanılmıştır. Hareketli faz olarak pH:2,8 PBS ve Asetonitril (9:1, v/v) karışımı kullanılmış ve akış hızı 0,6 ml/dak olarak belirlenmiştir. Her bir numuneden 5 µl enjekte edilerek 210 nm dalga boyunda

ölçümleri alınmıştır. Yapılan ölçümler sonucunda aşağıdaki denklem kullanılarak kümülatif miktarı hesaplanmış ve kümülatif grafikleri çizilmiştir.

Ölçülen her dakikadaki salınım için;

$$\text{Kümülatif salınım} = \frac{\text{İlaç yüklü lif miktarı}(g) \times \text{Salınan ilaç miktarı}(g)}{\text{Salınımdaki çözelti miktarı}(ml)}$$

Yukarıdaki kümülatif salınım miktarı her dakika için hesaplanır ve ikinci sıradaki miktara ilk dakikadaki miktar eklenir, böylelikle ikinci sıradaki toplam miktar bulunmuş olur. Aynı şekilde üçüncü sıradaki miktara ikinci sıradaki toplam miktar eklenir. Her dakikada ölçülen miktarlar hesaplanır ve aynı şekilde toplanarak hesaplamalar yapılır. Salınım kontrolü sırasındaki toplam salınan ilaç miktarı bulunur.

3. BULGULAR

3.1. PCL/Gel/DexpH Nanolifin Karakterizasyonu ve Salınımının İncelenmesi

Öncelikli olarak PCL ve Gel polimerleri ile çözelti hazırlanarak farklı parametreler kullanılarak nanolif haline getirilmiş ve yüzey morfolojileri incelenmiştir. Optimum parametreler belirlenerek polimer çözeltisi içerisine ilaç yüklenilerek nanolif haline getirilmiştir. Polimerleri çapraz bağlayarak ilaç salınımı daha kontrol altında tutmak için nanolifler çapraz bağlanılmıştır. GA sulu çözeltilerinin polimerler üzerinde kısa sürede etkin bir çapraz bağlama gösterdiğinden ve yaygın olarak kullanıldığından dolayı çapraz bağlama ajanı olarak GA buharı seçilmiştir. Çapraz bağlama öncesi ve sonrası nanoliflerin karakterizasyonları yapılmış ve ilaç salınımı incelenmiştir.

3.1.1. Taramalı elektron mikroskobu (SEM) analizi

PCL ve Gel polimerleri ile Elektro çekim cihazında farklı parametrelerle nanolifler elde edilmiştir. Şırınga ve toplayıcı arasındaki mesafe, akış hızı ve voltaj parametreleri değiştirilerek elde edilen nanoliflerin SEM görüntüleri Şekil 3.1 de verilmiştir. Tablo 3.1 de nanoliflerin parametre değerleri ve liflerin ortalama çap değerleri verilmiştir. Toplayıcı ve şırınga arasındaki mesafe arttıkça lif çapının azaldığı ve akış hızı arttırıldığında lif çaplarının yakın değerlerde olduğu gözlenmiştir. A nanolifinin daha homojen bir şekilde dağıldığı gözlenmiş ve optimum değerler olarak belirlenmiştir.

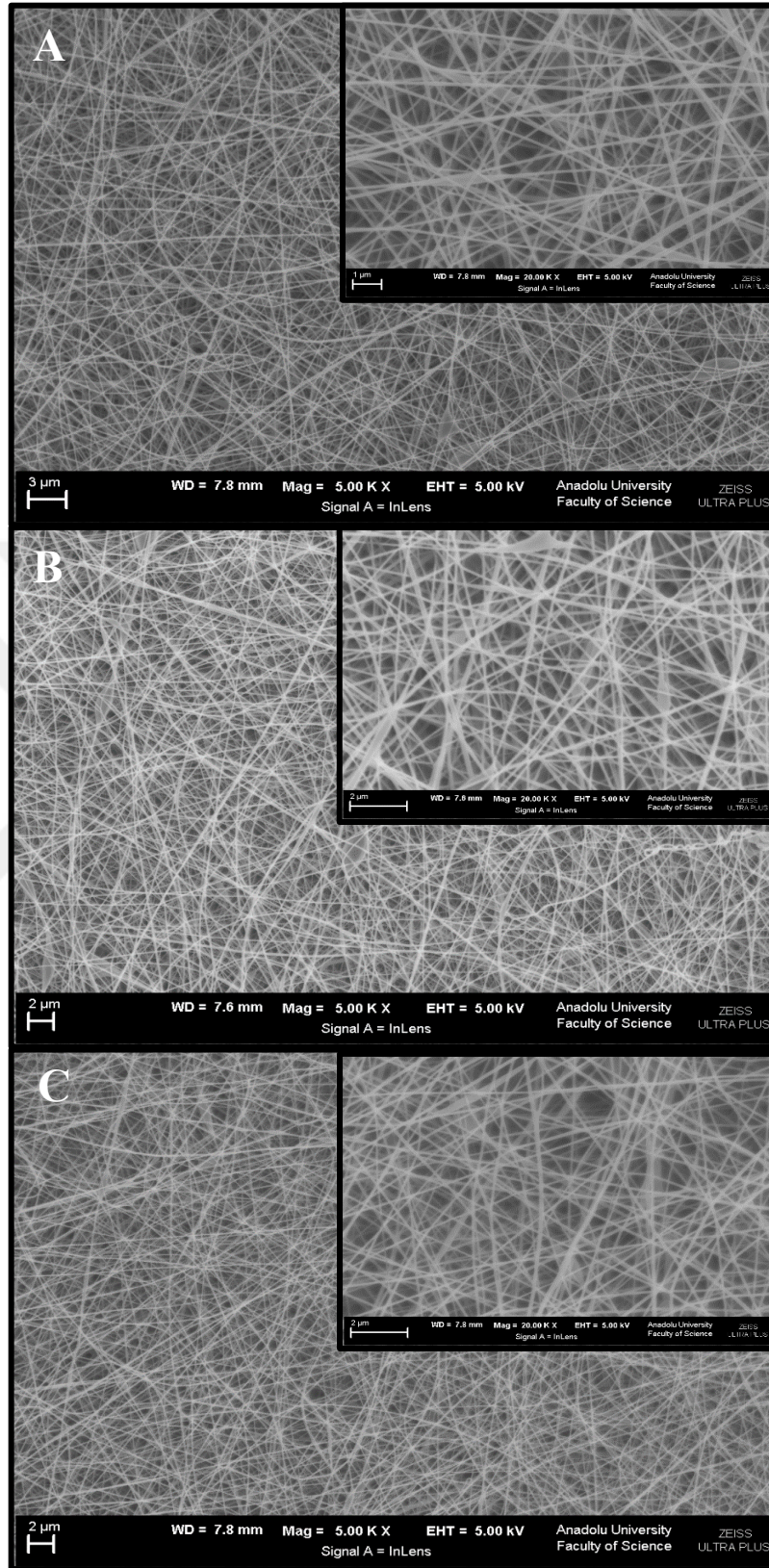
Tablo 3.1. Nanolif parametre değerleri ve ortalama lif çapları

	<i>A Nanolifi</i>	<i>B Nanolifi</i>	<i>C Nanolifi</i>
<i>Uzaklık</i>	10 cm	12 cm	12 cm
<i>Akış hızı</i>	14 kV	14 kV	14 kV
<i>Voltaj</i>	0,5 ml/s	0,5 ml/s	1 ml/s
<i>Ortalama lif çapı</i>	117,8 nm	90,4 nm	90,6 nm

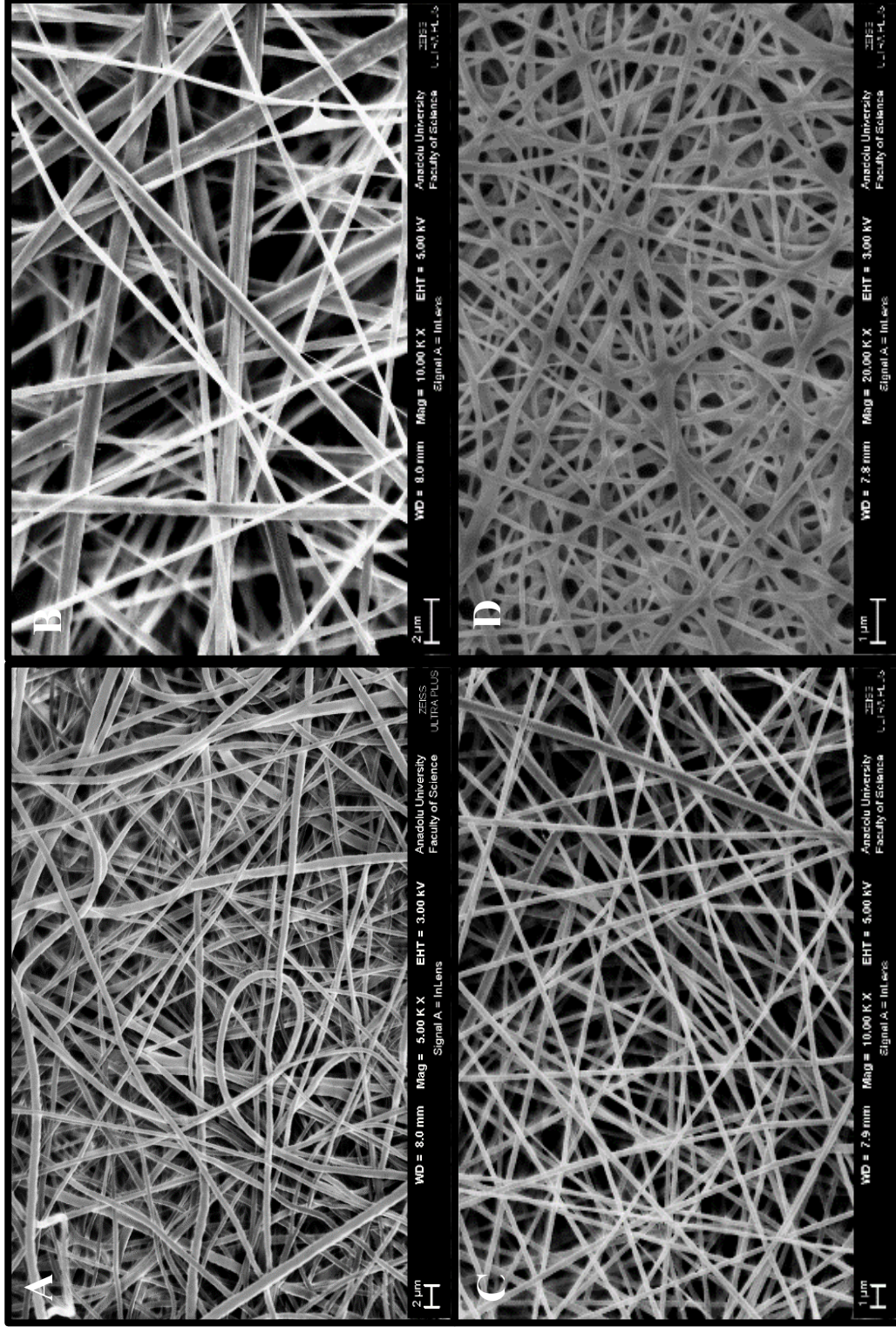
Aradaki farklılıkları gözlemleyebilmek için PCL nanolif haline getirilmiş ve görüntüsü kaydedilmiştir. Optimum şartlar belirlendikten sonra PCL/Gel polimer çözeltisinin içerisine ilaç etken maddesi olan DexpH eklenilerek karıştırılmıştır.

PCL/Gel/DexpH çözeltisi toplayıcı ve şırınga arasındaki uzaklık 10 cm, akış hızı 1 ml/s ve voltaj 15 kV olarak ayarlanmış ve Elektro çekim cihazıyla nanolif haline getirilmiştir. Nanolifler GA buharı ile çapraz bağlanarak, SEM görüntüleri Şekil 3.2 de verilmiştir. PCL/Gel çözeltisinin içerisine ilaç etken maddesi eklenildiğinde ve lif haline getirildiğinde lif çaplarının incelendiği, pürüzsüz bir yüzey morfolojisine sahip oldukları ve çapların homojen bir şekilde dağıldığı gözlenmiştir. GA buharı ile çapraz bağlanan liflerin ise birbiri içerisine geçerek çapraz bağlandığı gözlenmiştir.





Şekil 3.1. Tablo 3.1 de verilen A, B, C nanoliflerinin SEM görüntüleri



Şekil 3.2. *PCL/Gel Nanoliflerin SEM görüntüleri; (A) PCL nanolifi, (B) PCL/Gel nanolifi, (C) PCL/Gel/Dexph nanolifi, (D) PCL/Gel/Dexph GA ile $\text{çapraz bağlanmış nanolifi}$*

3.1.2. Fourier dönüşümlü kızılötesi spektrometre (FTIR) analizi

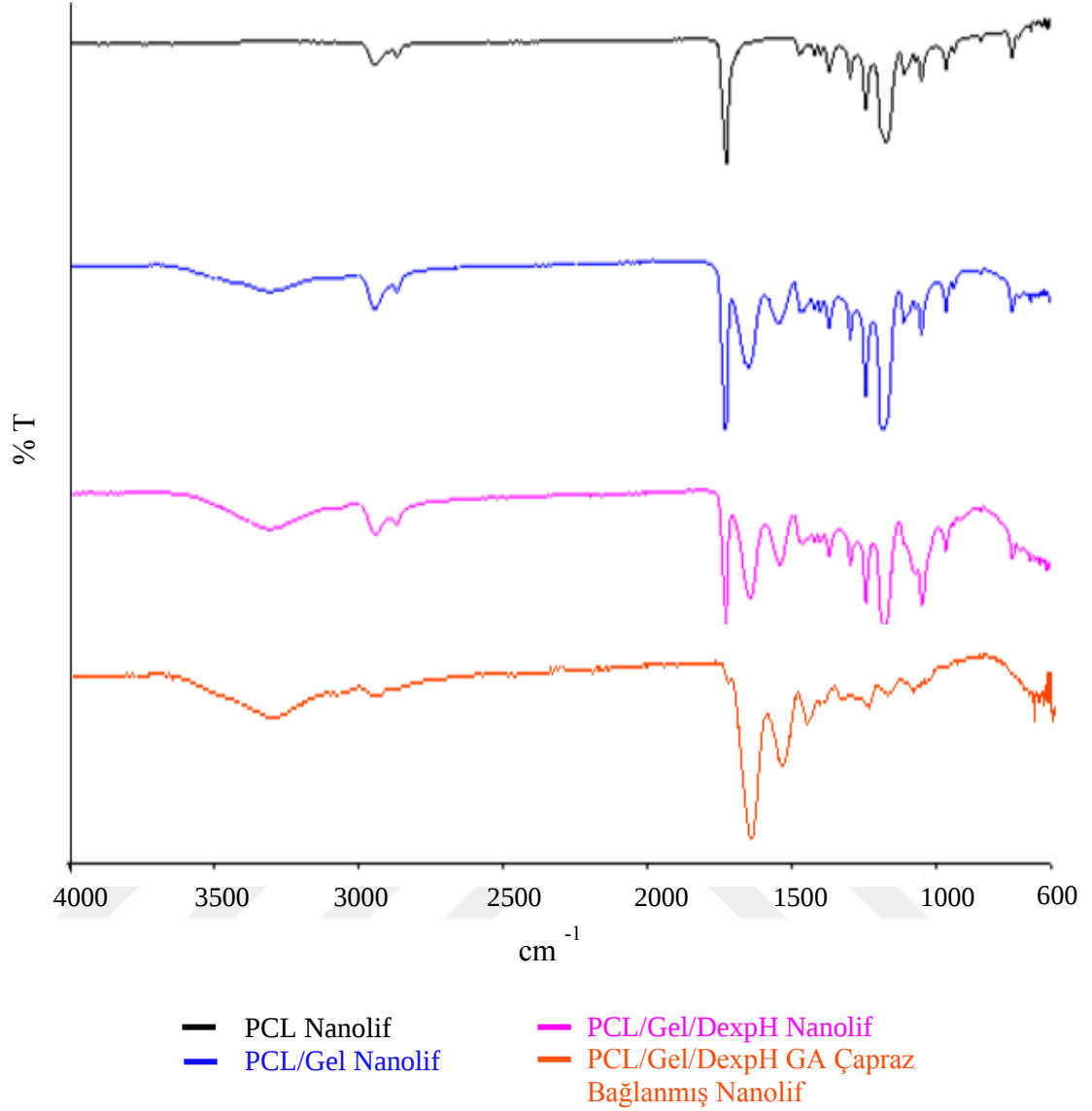
Liflerin karakterizasyonu ve harmanlanmış liflerin her bileşeninin varlığını belirlemek için FTIR analizi yapılmıştır. Nanoliflerin spektrumları Şekil 3.3 de verilmiştir.

PCL nanolifin de 2865 cm^{-1} de C-H gerilmesi, 1723 cm^{-1} de güçlü bir karbonil grubu bağı vardır. 1167 cm^{-1} de ise PCL'nin karakteristik bir band olan C-O-C bağ gerilmesi vardır.

Jelatin karışımında bulunan peptid ve proteinlerden birincil ve ikincil aminlerden N-H eğilmesi sinyali vermiştir. PCL/Gel nanolifin de 1647 ve 1548 cm^{-1} N-H eğilmeleri sırasıyla amid I ve amid II gruplarına ait bantlar gözlenmiştir. N-H gerilmesi ise 3308 cm^{-1} de görülmüştür.

İlaç etken maddesi polimer çözeltisi içerisinde oldukça az miktardadır ve Dekspantenol yapısında -CO, -NH ve -OH yapılarını içermektedir. Bu iki sebepten dolayı PCL/Gel ve PCL/Gel/DexpH nanoliflerinin IR spektrumları birbirlerine benzer şekildedir.

Çapraz bağlama ajanı olan GA buharı lifler arası çekimi arttırmış ve polimerler arası bağlar oluşmuştur. GA buharı ile çapraz bağlı liflerin spektrumun da ise özellikle 1646 ve 1543 cm^{-1} de gelen piklerin şiddeti artmış ve 1700 cm^{-1} civarı gelen pik yok olmuştur.

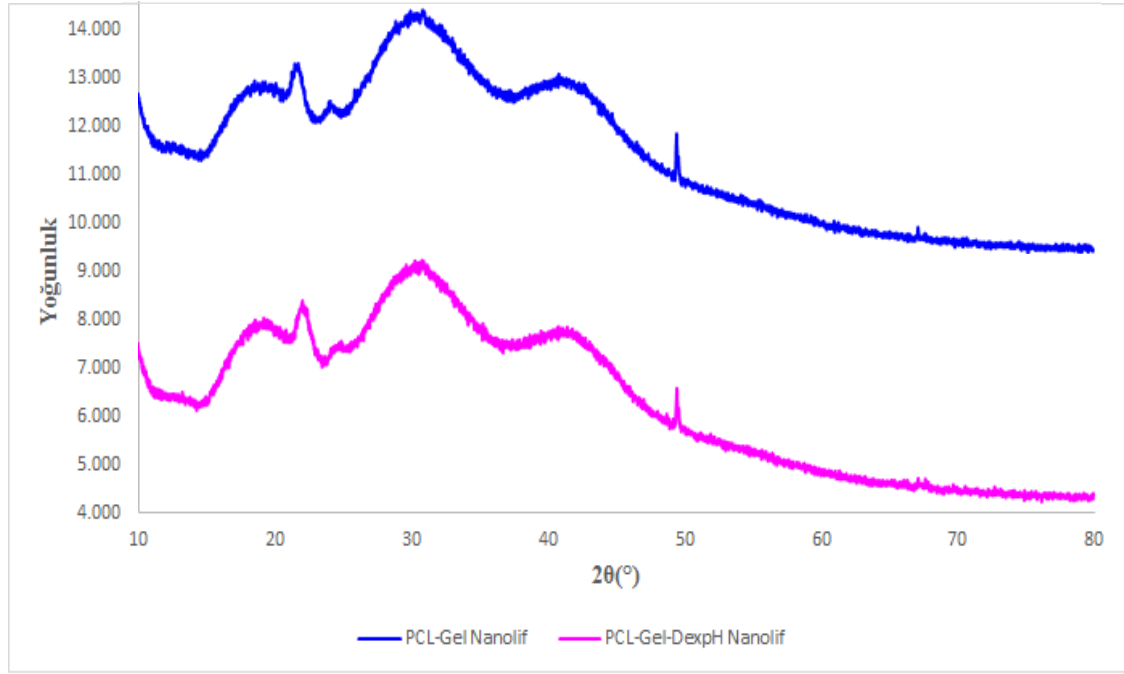


Şekil 3.3. PCL/Gel Nanoliflerin IR spektrumları

3.1.3. X-ışını kırınımı (XRD) analizi

Şekil 3.4 de nanoliflerin XRD modellerini göstermektedir. PCL/Gel ve PCL/Gel/DexpH nanoliflerinin yapı bakımından benzer olmasından kaynaklı olarak XRD modellerinde birbirine yakın sonuçlar alınmıştır. PCL/Gel nanolifin de 4 tane pik görülmüştür. Bunlar sırasıyla $2\theta=21,7^\circ$, $2\theta=24,4^\circ$, $2\theta=31,4^\circ$ ve $2\theta=40,9^\circ$ de pikleridir. Yapılan araştırmalar sonucunda $2\theta=21,7^\circ$ gelen keskin pik ve $2\theta=24,4^\circ$ daha düşük şiddetli gelen pik PCL'nin kristal yapısından kaynaklandığı belirtilmiştir. $2\theta=24,4^\circ$ ve $2\theta=31,4^\circ$ de daha şiddetli gelen pik ise Gelatinin yapısından kaynaklıdır.

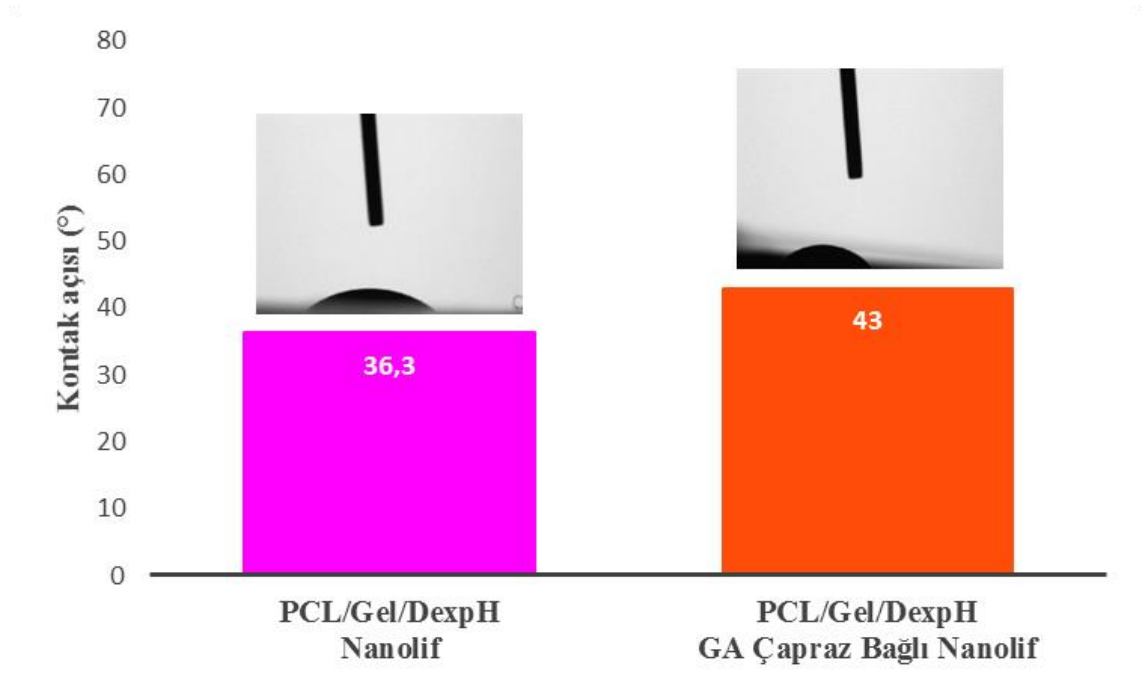
PCL/Gel/DexpH nanolifin de ise yine aynı kırınımalar görülmüştür. $2\theta=22,1^\circ$ ve $2\theta=40,9^\circ$ daha orta şiddetli, $2\theta=30,8^\circ$ daha şiddetli keskin bir pik görülmüştür.



Şekil 3.4. PCL/Gel Nanoliflerin XRD sonuçları

3.1.4. Temas açısı analizi

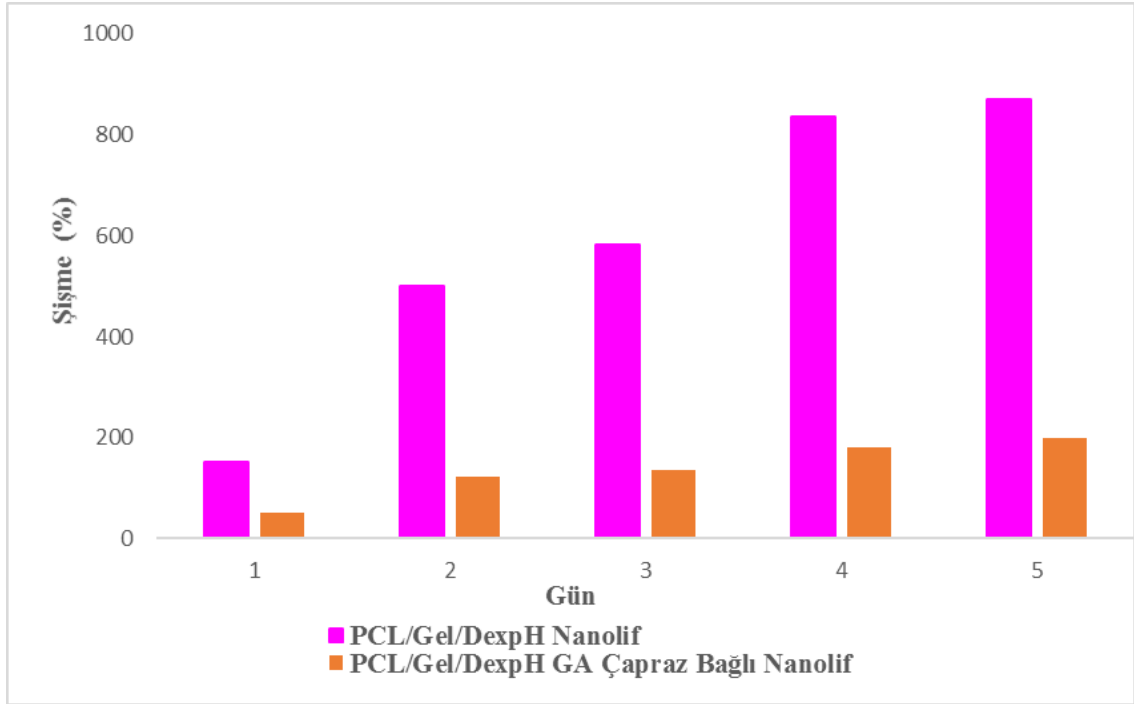
Şekil 3.5’de çapraz bağlanmış ve bağlanmamış liflerin temas açısı ölçümlerinin sonuçlarını vermektedir. Temas açısı ölçümü yüzeyin hidrofilisitesini belirlemektedir. Gelatin, amino, karboksil, hidroksil gibi fonksiyonel grupları içerdiği için hidrofilik bir polimerdir. PCL de Gel gibi hidrofilik bir polimerdir. Suya duyarlılığı nedeniyle uygulama alanları kısıtlıdır. Bu yüzden polimerlerin hidrofobizasyona yani su itme özelliğinde olması sağlanmalıdır. Özellikle nanoliflerin çapraz bağlanmasıyla aşılmıştır. PCL/Gel/DexpH nanolifinin hidrofilik gruplar nedeniyle temas açısı $36,3^\circ$ ’dir. GA ajanıyla çapraz bağlama yaparak polimerler arası bağlar kuvvetlenerek hidrofobisitesi artmıştır. GA buharıyla çapraz bağlanmış nanoliflerin temas açısı 43° ’dir. Çapraz bağlanarak nanoliflerin hidrofobik hale geldiği ve suya karşı dirençlerinin arttığı yapılan analiz sonucunda görülmüştür.



Şekil 3.5. PCL/Gel Nanoliflerin temas açısı ölçüm sonuçları

3.1.5. Şişme testi analizi

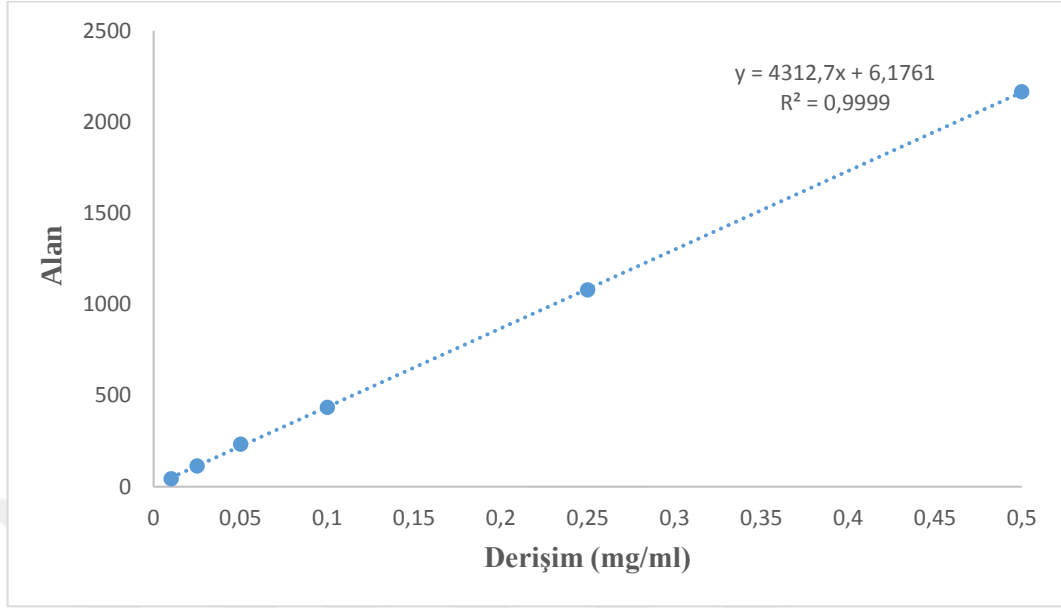
Şişme derecesi ilaç salınımına katkıda bulunan önemli bir faktördür. Şekil 3.6 da PCL/Gel/DexpH liflerinin şişme testi sonuçları verilmiştir. Analiz 5 gün boyunca oda sıcaklığında gerçekleşmiş, çapraz bağlama öncesi ve sonrası liflerin analizleri yapılmıştır. Salınımı daha kontrollü bir hale getirebilmek için nanolifler çapraz bağlanmıştır. Çapraz bağlama ajanları ile polimer zincirleri arasındaki bağlar daha kuvvetli hale getirilmiştir. Bu durumda polimerlerin hareketliliğini azaltmış, daha az şişme oranına yol açmıştır ve liflerin hidrofilisitesi daha düşük çıkmıştır. Çapraz bağlanmamış PCL/Gel/DexpH liflerinin hidrofilisitesi daha yüksektir. 5. Gün sonunda %152'den %870'e kadar çıkmıştır. GA buharı ile çapraz bağlanmış lifler ise %50'den %199'a çıkmıştır. Çapraz bağlanmış liflerin şişme yüzdeleri daha yavaş artmıştır. Bunun nedeni ise çapraz bağlanmış liflerin hidrofilisitesinin daha düşük olduğunu göstermektedir.



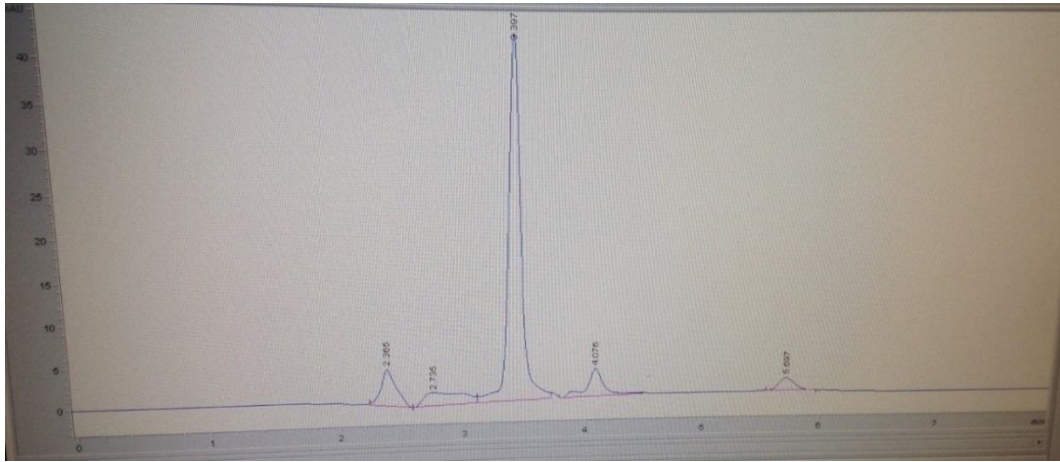
Şekil 3.6. PCL/Gel Nanoliflerin şişme testi sonuçları

3.1.6. Kontrollü ilaç salınımı analizi

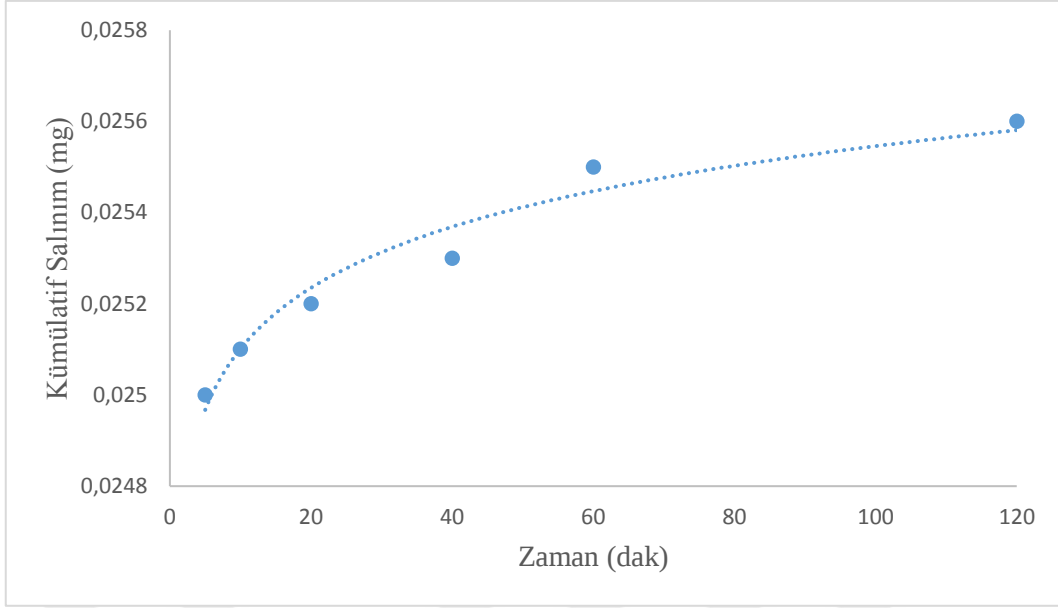
DexpH ilaç etken maddesinin HPLC cihazında kalibrasyonu çizilmiştir. Kalibrasyon grafiği Şekil 3.7’de verilmiştir. Polimer çözeltisi içerisine ilaç etken maddesi DexpH yüklenerek nanolif haline getirildi. İlaç yüklü nanoliflerin in vitro salınımı HPLC cihazında incelenmiştir. Şekil 3.8’de ilaç yüklü nanolifin 120. dakikada ki salınımının analizi yapılmış ve HPLC kromatogramı verilmiştir. Belirlenen dakikalarda analizler yapılmış ve kümülatif hesaplaması yapılmıştır. Yapılan hesaplamalar sonucunda Şekil 3.9’da kümülatif salınım grafiği verilmiştir. İlaç yüklü nanolifler salınımı daha kontrollü hale getirebilmek için çapraz bağlanmıştır. Çapraz bağlama ajanı olarak GA buharı tercih edilmiştir. GA buharıyla çapraz bağlanmış PCL/Gel/DexpH nanolifinin pH=7,4 PBS içerisinde salınımı incelenmiştir. Nanolifler sıvı bir ortama maruz bırakılarak şişmeye başlamıştır. 2 saat içerisinde nanoliflerin moleküler zincirleri çözülmüş ve ilacın salınımına neden olmuştur. HPLC cihazıyla yapılan analiz sonuçlarıyla kümülatif hesaplama yapılmıştır.



Şekil 3.7. *DexpH* kalibrasyon grafiği



Şekil 3.8. *PCL/Gel/DexpH* nanolifinin 120. dak ilaç salınım kromatogramı



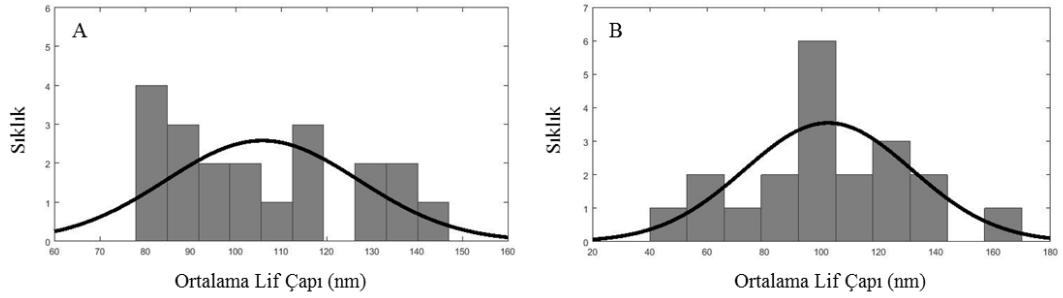
Şekil 3.9. *PCL/Gel/DexpH nanolifinin kümülatif salınım grafiği*

3.2. PVA/Chi/DexpH Nanolifin Karakterizasyonu ve Salınımının İncelenmesi

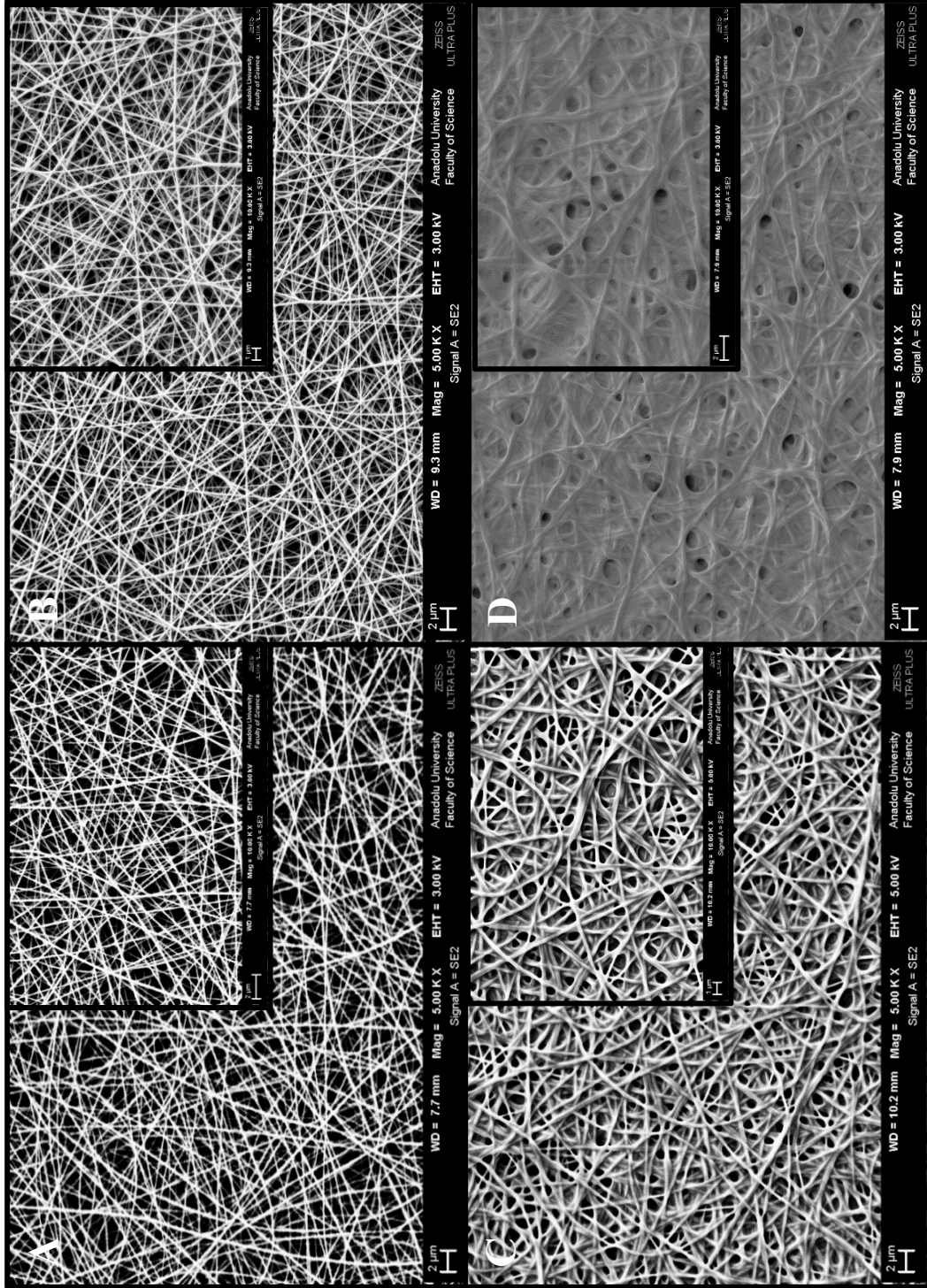
3.2.1. Taramalı elektron mikroskobu (SEM) analizi

Şekil 3.11 de taramalı elektron mikroskobunda ilaçsız, ilaç yüklü ve farklı çapraz bağlama ajanları ile çapraz bağlanmış PVA/Chi ve PVA/Chi/DexpH liflerin morfolojilerinin görüntülerini göstermektedir. Genellikle numunelerde pürüzsüz bir yüzey morfolojisi gözlemlenmiştir. Boncuklu yapıların gözlenmemesi ilacın nanoliflere yüklendiğini ve ilaç ile polimer çözeltisinin uyumlu olduğunu göstermiştir. PVA/Chi ile PVA/Chi/DexpH nanolif morfolojilerinin birbirine benzer yapıda olduklarını ve ultra ince liflere sahip olduğu belirlenmiştir. PVA/Chi ve PVA/Chi/DexpH liflerin SEM cihazıyla kaydedilen görüntülerde 20 farklı nanoliflerin çapları ölçülmüş ve ortalama lif dağılım grafiği çizilmiştir. Ölçümler tüm liflerin nano boyutta olduklarını göstermektedir. İlaçsız liflerin ortalama lif çapının 106 nm ve homojen şekilde dağıldığını, ilaç yüklü liflerin ortalama lif çapı ise 102 nm olarak belirlenmiş ve ortalama lif çapından biraz daha ince, biraz daha kalın lifler de gözlenmiş ancak genel olarak lif çapları 100 nm civarındadır. İlaç etken maddesinin azda olsa lif çapını incelttiği gözlenmiştir. PVA/Chi ve PVA/Chi/DexpH lif çaplarının dağılım grafiği Şekil 3.10 da verilmiştir. Çapraz bağlama ajanı olarak GA ve NHS-EDC kullanılmıştır. GA buharı ve NHS-EDC ile maruz kaldıktan sonra yüzey morfolojilerindeki farklılık SEM cihazında net bir şekilde

gözlenmiştir. Çapraz bağlama sonrası lifler, öncesi liflere göre daha genişlemiş ve birbiri ile birleştiği gözlenmiştir. Ancak lifli form hala ayırt edilebilmektedir.



Şekil 3.10. PVA/Chi Nanolifinin ortalama lif çapı dağılım grafiği; (A) PVA/Chi nanolifi, (B) PVA/Chi/DexpH nanolifi



Şekil 3.11. *PVA/Chi Nanoliflerin SEM görüntüleri; (A) PVA/Chi nanolif, (B) PVA/Chi/DexpH nanolifi, (C) PVA/Chi/DexpH GA çapraz bağlı nanolifi, (D) PVA/Chi/DexpH NHS-EDC çapraz bağlı nanolif*

3.2.2. Fourier dönüşümlü kızılötesi spektrometre (FTIR) analizi

Ham maddeleri ve nanoliflerin kimyasal gruplarını değerlendirmek ve çapraz bağlanmış nanoliflerin ağ oluşumunu araştırmak için ATR FTIR spektroskopisi kullanılmıştır. Şekil 3.12 ve Şekil 3.13 Chi polimeri, PVA polimeri, PVA/Chi, PVA/Chi/DexpH ve iki farklı yolla çapraz bağlanmış nanoliflerin spektrumlarını vermektedir.

Kitosan sakkarit yapısında bir polimerdir ve 800 ve 1100 cm^{-1} civarında gelen pikler sakkarit yapısını belli etmektedir. 1500 cm^{-1} civarında daha zayıf pik gelmesine rağmen 1651 ve 1375 cm^{-1} de gelen güçlü emilim pikleri Kitosanın karakteristik pikleri olan amin pikleridir. 1023 cm^{-1} de gelen keskin ve tepe noktası ise C-O gerilme şiddetini vermektedir. 2374 cm^{-1} de gelen pik C-H gerdirmelerinden kaynaklanmaktadır. 3287 cm^{-1} de gelen geniş pik ise kitosanın yapısındaki N-H simetrik titreşiminden kaynaklanmaktadır.

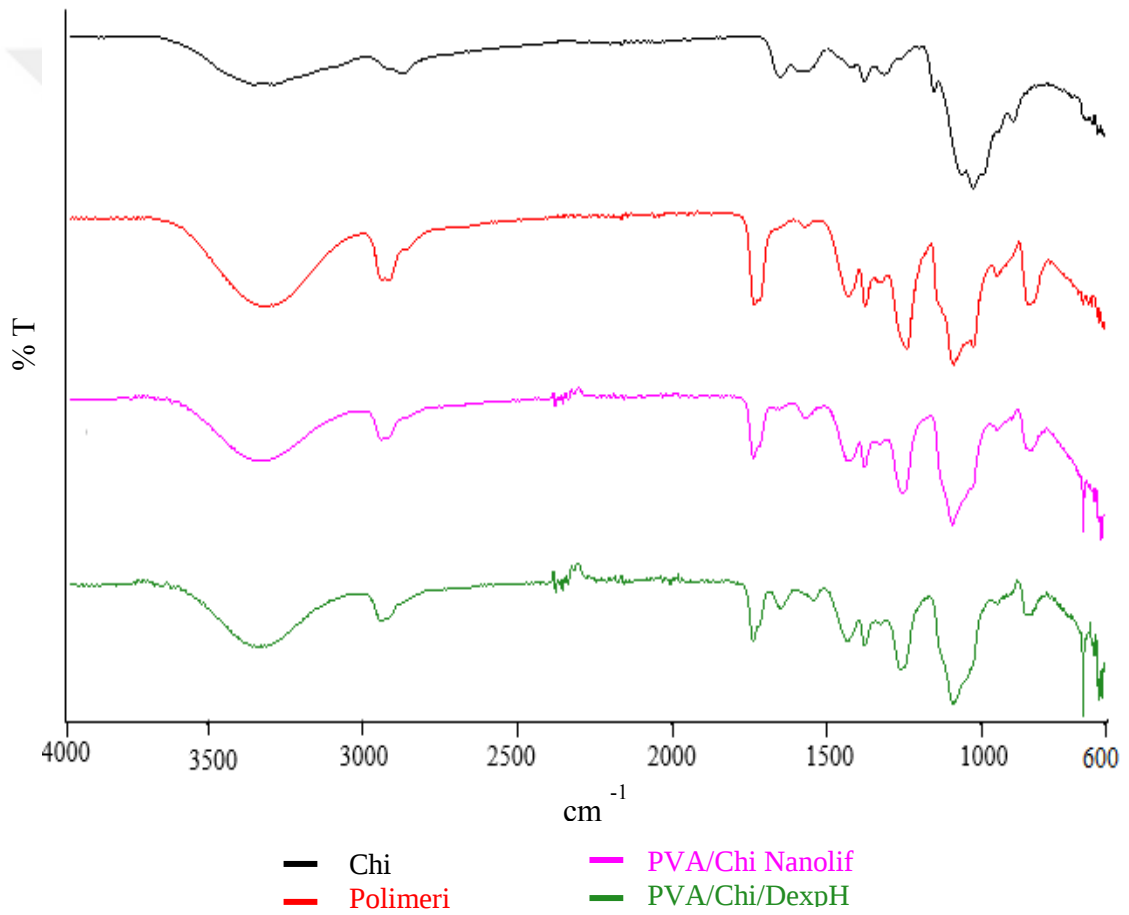
Moleküler arası ve moleküler arası hidrojen bağlarından gelen O-H gerilmesi 3308 cm^{-1} de gelen geniş bant spektrumu vermiştir. 2915 cm^{-1} de gözlenen spektrum C-H gerilmesini vermektedir. C=O gerilmeleri ise 1733 cm^{-1} de gelen pikle gözlenmektedir. CH_2 eğilmesi ise 1428 cm^{-1} de gelen pikte ve 1373 ve 1238 cm^{-1} de gelen pikler ise C-O gerilmelerinden kaynaklanmaktadır.

Kitosanın çözülmesi için asetik asit kullanılmaktadır ve bu durumda karboksilik asit oluşturmaktadır. PVA/Chi nanolifin de 1700 cm^{-1} civarında gelen pik ise karboksilik asit varlığını göstermektedir. PVA/Chi nanoliflerin de amin grubunun içerdiğini 1600 cm^{-1} civarında gelen pik göstermektedir.

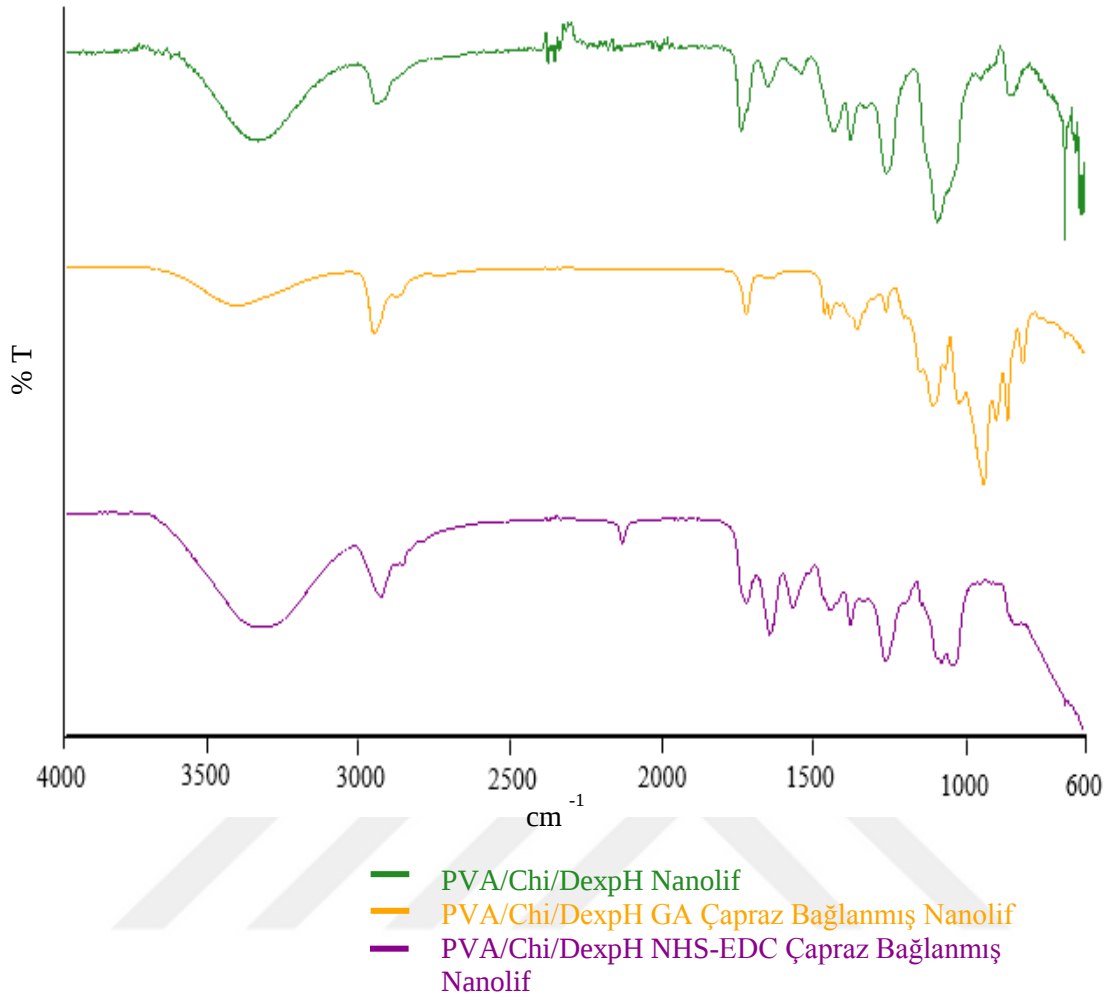
DexpH yapısında -NH ve fazlasıyla -OH içermektedir. PVA/Chi/DexpH spektrumuna baktığımızda ise 3000 cm^{-1} civarında gelen pikin ve 1600 cm^{-1} civarında gelen amin pikinin şiddetlerinin arttığı gözlenmektedir. Bağlanmalar arttığı içinde PVA/Chi/DexpH spektrumunda 2900 cm^{-1} civarında gelen C-H pikinin şiddeti de azalmıştır.

Çapraz bağlanma ajanıyla lifler arası çekim artmış ve birbirleriyle bağlar oluşturmuştur bu yüzden piklerin şiddeti azalmış veya artmıştır. GA ile çapraz bağlanmış liflerde özellikle O-H, C=O ve amin piklerinde sırasıyla 3000 cm^{-1} , 1700 cm^{-1} civarı ve 1600-1300 cm^{-1} arasında fazlasıyla düşüş görülmüştür. 2900 cm^{-1} civarı gelen C-H

pikinde ise bir artış görülmüştür. NHS-EDC çapraz bağlayıcısı iki basamakta gerçekleşir. Önce EDC karboksilli gruplardan saldırır ve daha sonra NHS ile çapraz bağlama işlemi gerçekleşmiş olur. NHS-EDC ile çapraz bağlanmış liflerin yapısında imid grupları içermektedir. Spektrumunda ise 1600 ve 1300 cm^{-1} imid gruplarından kaynaklı olarak bir artış gözlenmiştir. NHS'in yapısında bulunan C=O ise 1700 cm^{-1} civarında gelen pikle açıklanabilir. NHS ve EDC'nin çözücüsü Su ve Etanoldür bu yüzden yapılarında fazlasıyla -OH grubu içermektedir. Spektrumuna bakıldığında ise 3000-3500 cm^{-1} arasında gelen yayvan ve geniş pik ise -OH varlığını göstermektedir.



Şekil 3.12. PVA/Chi Nanoliflerinin çapraz bağlama öncesi IR spektrumları

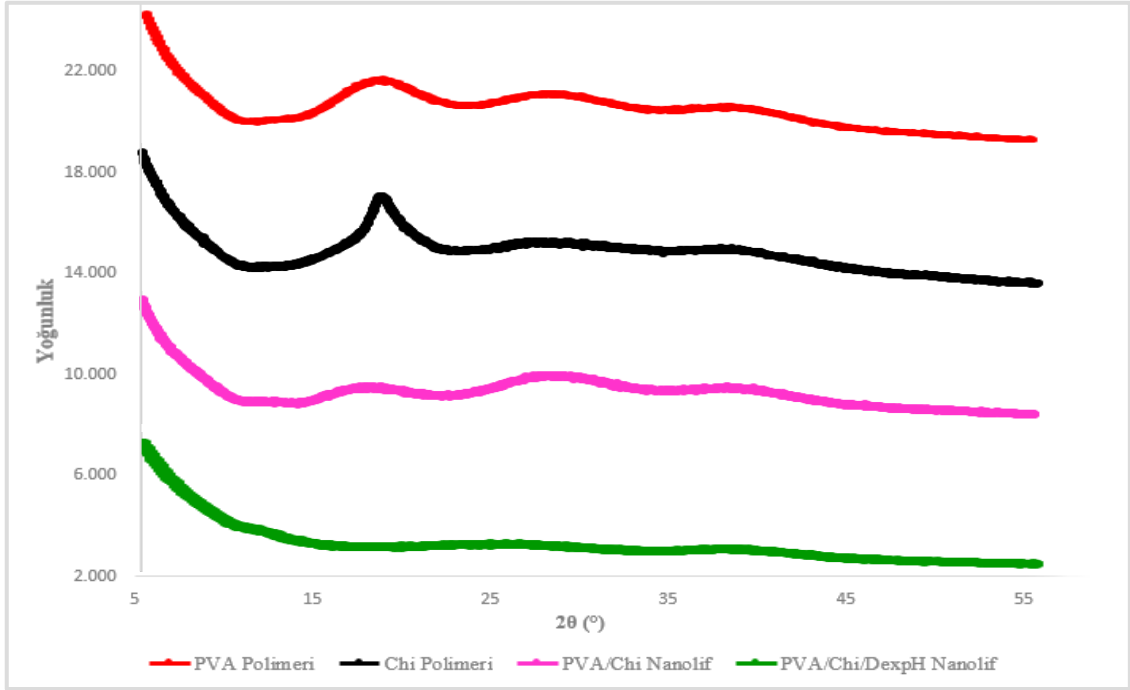


Şekil 3.13. PVA/Chi Nanoliflerinin çapraz bağlama sonrası IR spektrumları

3.2.3. X-ışını kırınımı (XRD) analizi

Şekil 3.14 Chi polimeri, PVA, PVA/Chi ve PVA/Chi/DexpH liflerin XRD modellerini göstermektedir. Chi polimer numunesinde 3 tane pik gösterdi. $2\theta=19.75$ piki daha keskin daha net bir zirve gösterirken, $2\theta=30$ ve $2\theta=40,44$ de daha yayvan bir pik göstermiştir. PVA nanolifin de ise kitosana benzer ancak daha birbirlerine yakın pikler halinde kırınım göstermiştir. PVA nanolifin de $2\theta=19.72$ de biraz daha şiddetli, $2\theta=29,75$ ve $2\theta=40,63$ de daha orta şiddetli pikler vardır. PVA ve Chi karışımıyla elde edilen nanoliflerin XRD modeli ise $2\theta=30,08$ de daha şiddetli bir pik gösterirken, $2\theta=19,76$ ve $2\theta=40$ civarında daha düşük şiddetli pikler göstermiştir. Bunun nedeni ise PVA ve Chi karışımında aralarında hidrojen bağının oluşmasıyla PVA, kitosandaki kristallliği azalmıştır. PVA/Chi karışımına bir de ilaç etken maddesi olan DexpH eklendiğinde aralarındaki hidrojen bağı artmış ve kristallliği daha da düşürmüştür. PVA/Chi/DexpH

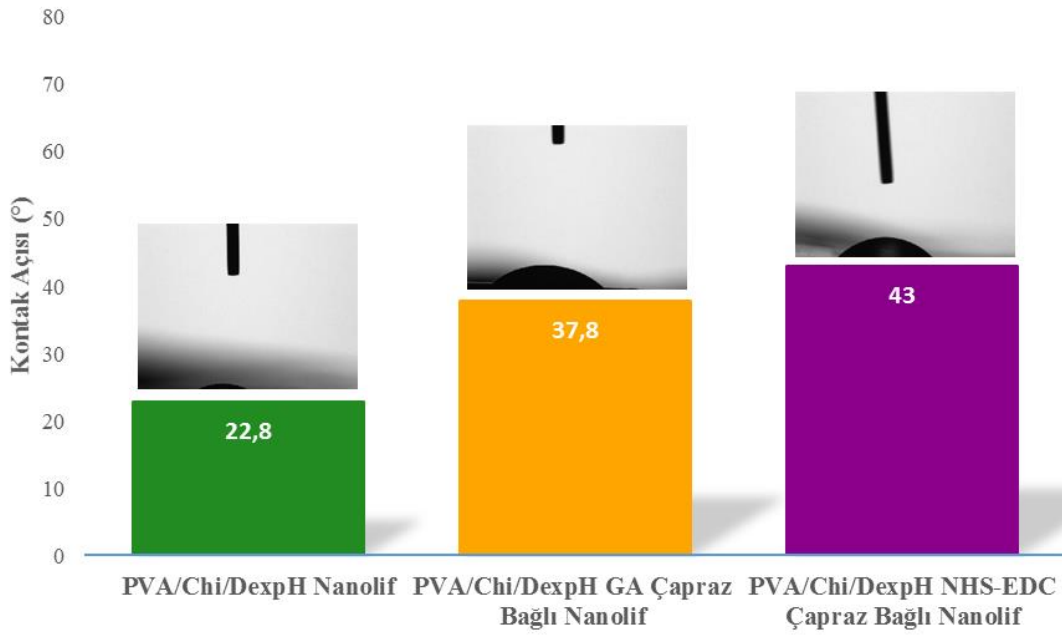
nanoliflerin de $2\theta=27,39$ daha yayvan ve $2\theta=41,14$ de daha düşük şiddetli bir pik göstermiştir. Kristallığın azalmasının nedeni ise Elektro çekim ile hazırlanan liflerin molekül zincirlerinin gerilmesinden kaynaklı olabilmektedir.



Şekil 3.14. PVA/Chi Nanoliflerinin XRD sonuçları

3.2.4. Temas açısı analizi

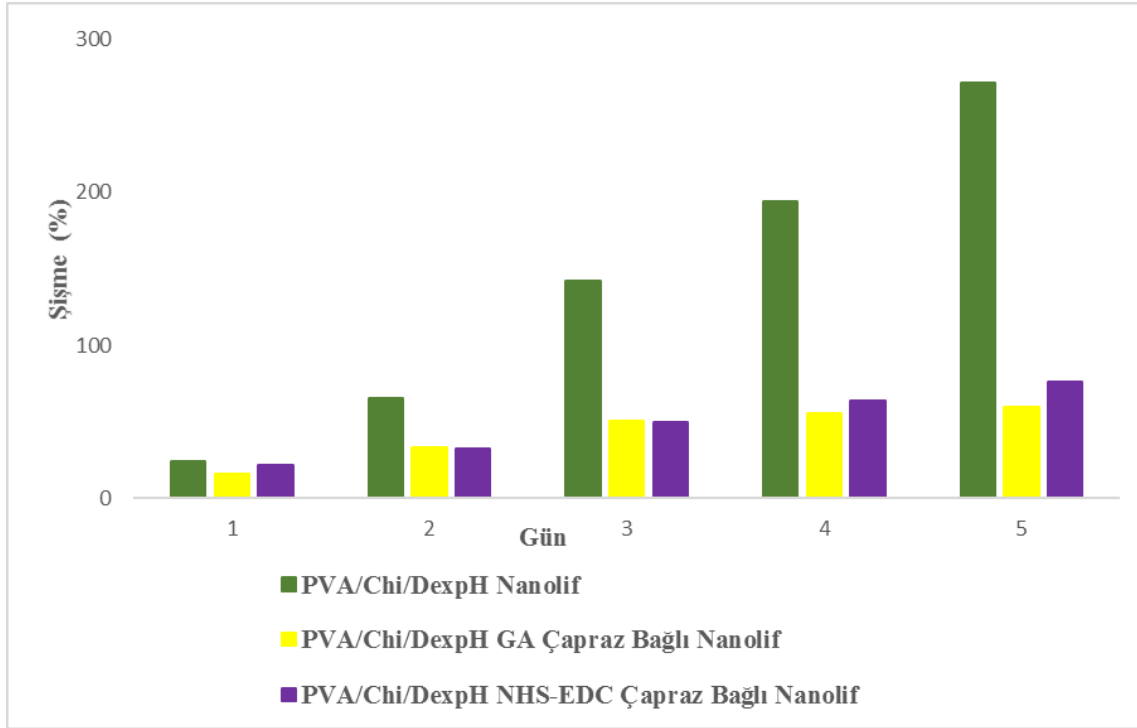
Temas açısı yüzeyin hidrofilisitesini vermektedir. Şekil 3.15 yüzey analiz cihazı ile ölçülen çapraz bağlanmış ve bağlanmamış liflerin temas açısı verilerini vermektedir. PVA ve Chi sulu ortamlarda çözülebilen hidrofilik polimerlerdendir. Bu yüzden çapraz bağlama öncesi PVA/Chi/DexpH lifinin temas açısı $22,8^\circ$ 'dir ve hidrofiliktir. Çapraz bağlama ajanlarıyla aralarındaki bağlar kuvvetlenerek hidrofobisitesi daha da artmıştır. GA ile çapraz bağlanmış liflerin temas açısı $37,8^\circ$ ve NHS-EDC ile çapraz bağlanmış liflerin temas açısı ise 43° 'tür. Çapraz bağlama öncesine göre temas açısı oldukça artmıştır. Çapraz bağlama ajanlarının liflerin su dirençleri üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğunu göstermiştir.



Şekil 3.15. PVA/Chi Nanoliflerinin temas açısı ölçüm sonuçları

3.2.5. Şişme testi analizi

Şekil 3.16 5 gün içinde her gün boyunca oda sıcaklığında salınım ortamında ki PVA/Chi/DexpH ve iki farklı yöntemle çapraz bağlanmış liflerin şişme derecelerini göstermektedir. Çapraz bağlanmamış PVA/Chi lifi hidrofilik yapıdadır. Her gün şişme oranının artarak 5. Gün sonunda %24'ten %270'e kadar çıkmış ve bu artış nanoliflerin hidrofilik yapıda olduğunu göstermektedir. Ancak GA ile çapraz bağlanmış fiberler %17'den %60'a kadar, NHS-EDC ile çapraz bağlanmış liflerin ise %22'den %76'ya kadar çıkmıştır. Çapraz bağlanmış liflerin şişme oranları çapraz bağlanma öncesine göre daha yavaş bir şekilde artmıştır. Bu durum ise çapraz bağlanmış liflerin hidrofobisitelerinin arttığını göstermektedir.



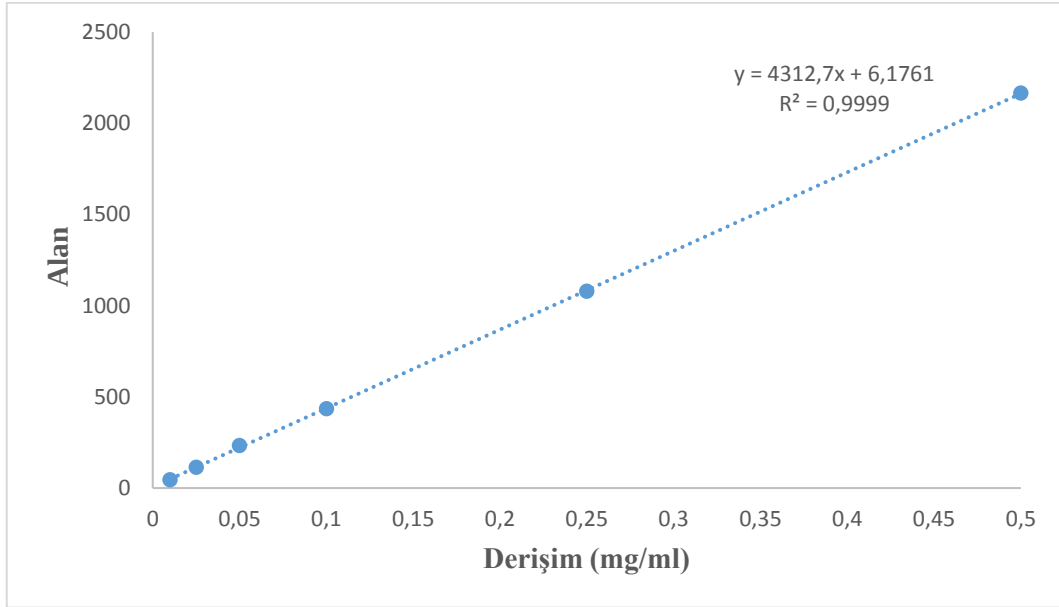
Şekil 3.16. PVA/Chi Nanoliflerinin şişme testi sonuçları

3.2.6. Kontrollü ilaç salınımı analizi

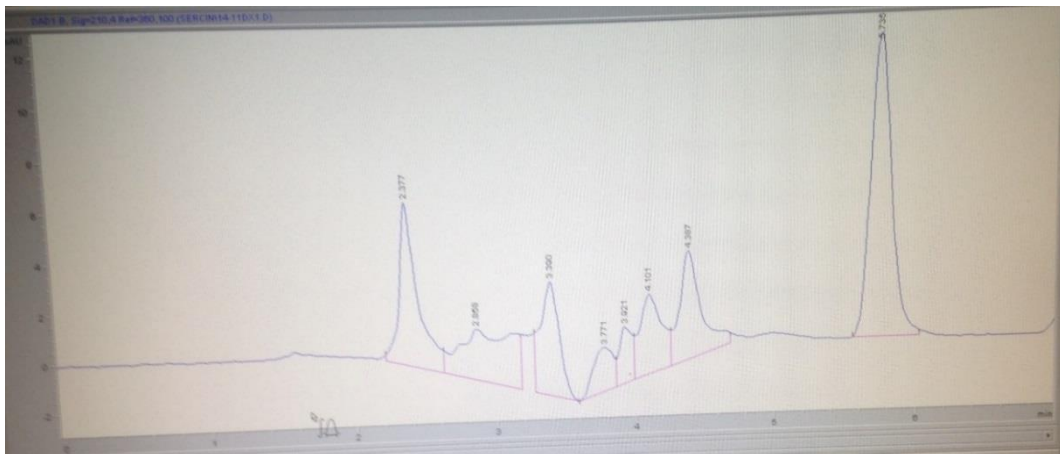
Öncelikli olarak ilaç etken maddesi olan DexpH'nin kalibrasyon grafiği HPLC cihazında oluşturulmuş ve grafik Şekil 3.17 de verilmiştir. DexpH nanoliflere yüklenerek in vitro salınımı incelenmiştir. PVA/Chi çözeltisi içerisine DexpH gömülmüş ve nanolif haline getirilmiştir. İlaç yüklü PVA/Chi nanolifi sıvı bir ortama (pH=7,4 PBS) maruz kaldığında şişmeye başlamaktadır. Şişme devam ettikçe moleküler zincirler çözülürler ve ilacın salınmasına neden olmaktadır.

Şekil 3.18 de kontrollü ilaç salınımı analizinde ilaç yüklü PVA/Chi nanolifinin 5. dakikadaki kromatogramı verilmiştir. Şekil 3.19 da iki farklı yöntemle çapraz bağlanmış nanoliflerin kümülatif salınım grafikleri verilmiştir. Çapraz bağlama işlemi, PVA/Chi/DexpH liflerini hidrofilikten hidrofobikliğe geçirerek salınımın daha kontrollü ve yavaş bir şekilde gerçekleşmesini sağlamıştır. GA ve NHS-EDC ile çapraz bağlanmasıyla elde edilen liflerin ilaç salınımları incelenmiş ve kümülatif salınım miktarları hesaplanmıştır. DexpH her iki çapraz bağlama yöntemiyle de ilk 500 dakikada (yaklaşık 8 saat) patlama yaptığı ve 1800 dakikaya (30 saat) kadar salınımın arttığı

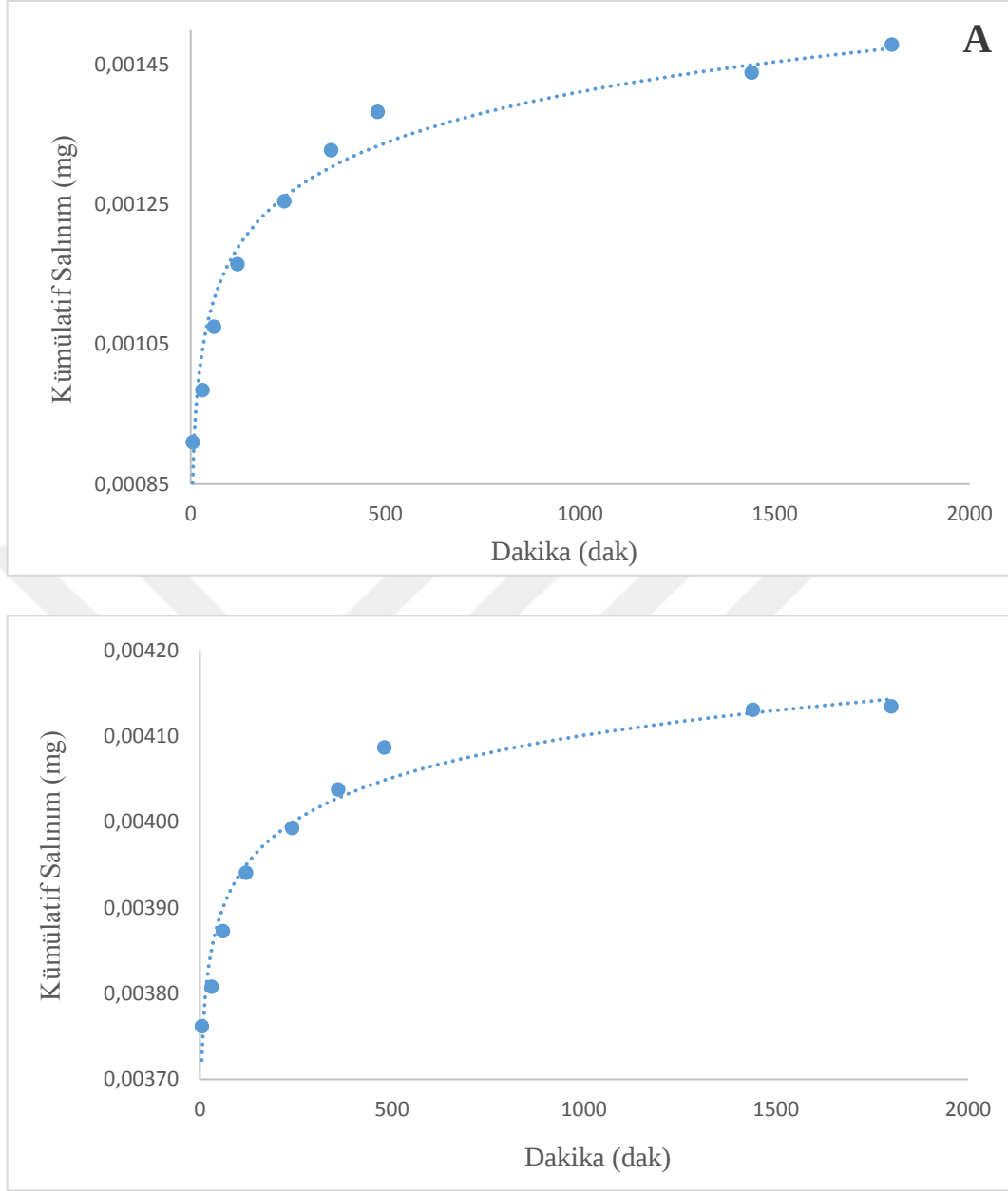
gözenmiştir. NHS-EDC ile çapraz bağlanmış nanoliflerin salınım miktarı GA nanoliflerine göre daha fazla miktardadır.



Şekil 3.17. DexpH kalibrasyon grafiği



Şekil 3.18. PVA/Chi/DexpH nanolifinin 5. dak ilaç salınım kromatogramı



Şekil 3.19. PVA/Chi/DexpH nanolifinin kümülatif salınım grafikleri; (A) GA buharıyla çapraz bağlı, (B) NHS-EDC çapraz bağlı

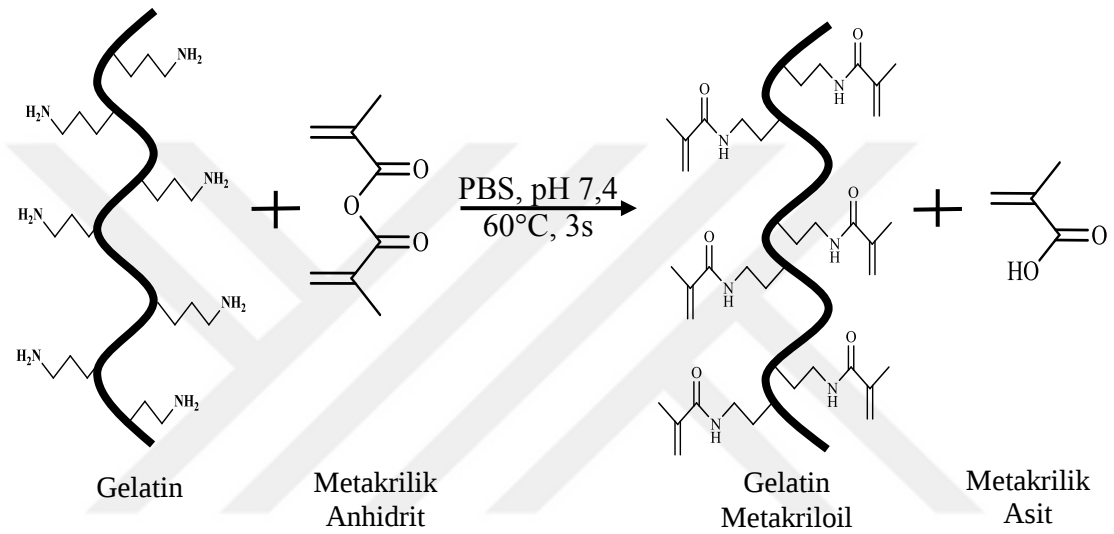
3.3. GelMA/PCL/DexpH Nanolifin Karakterizasyonu ve Salınımının İncelenmesi

3.3.1. Nükleer manyetik rezonans (NMR) analizi

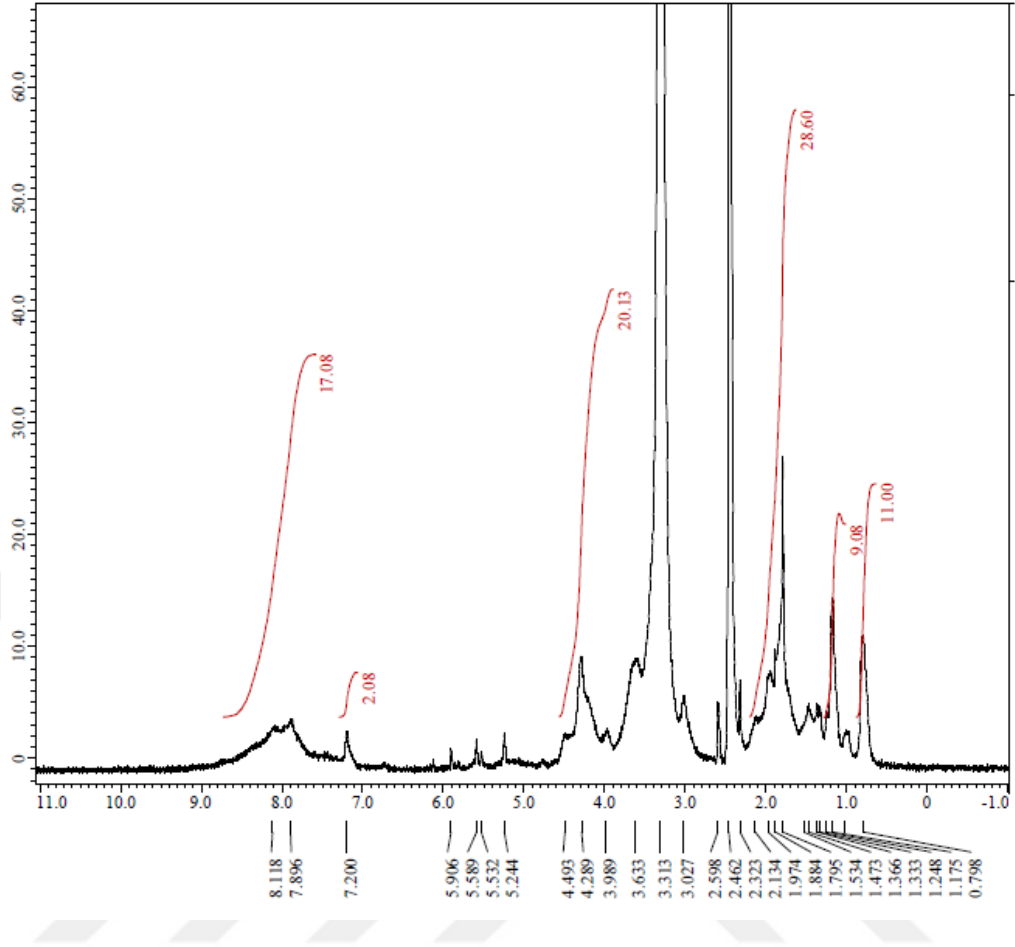
Jelatin normal şartlar altında birçok kimyasal ajanlarla çapraz bağlanabilmektedir. Jelatinin bu özelliğinden yola çıkarak GelMA sentezlenmiştir (Şekil 3.20). GelMA, jelatin ve metakrilik anhidritin fonksiyonel primer amin gruplarının bir araya gelmesiyle oluşmaktadır. İki maddenin bir araya gelmesiyle yapısında birçok

metakriloil sübstitüent grup bulundurur. Metakriloil grupları bir foto başlatıcı ajan sayesinde UV ışığı altında çapraz bağlanmaktadır.

GelMA'nın ^1H NMR spektrumuna bakıldığında, gelatinin karakteristik pikleri olan 7,1-7,4 ppm de görülen proton pik noktası fenilalanine, 2,8-3,0 ppm de görülen pik lizin metilen aittir. Metakrilat gruplarının jelatine bağlandığının göstergesi ise 5,4 ve 5,6 ppm de gelen piklerdir. Bu pikler metakrilat gruplarını göstermektedir (Şekil 3.21).



Şekil 3.20. GelMA sentezinin şematik gösterimi



Şekil 3.21. GelMA'nın ¹H NMR spekturumu

3.3.2. Taramalı elektron mikroskobu (SEM) analizi

Şekil 3.22 de GelMA'nın ve nanoliflerin SEM görüntüleri verilmiştir. Sentezlenen GelMA'nın liyafilizatörden sonra ki hali Şekil 3.22 A'da gösterilmektedir. GelMA düz bir yüzeye ve makro gözenekli bir yapıya sahiptir. GelMA ve PCL polimerlerinden elde edilen nanolifli yapılar, boncuklu bir yapı göstermeyen rastgele yönlendirilmiş liflerden oluşmaktadır. Şekil 3.22 C'de GelMA/PCL nanolifinin ortalama lif çapı değeri 126,7 nm'dir. İçerisine DexPH ilacı eklenerek nanolif haline getirildiğinde ise ortalama lif çapı değeri 121,8 nm'dir. İlaç etken maddesinin az da olsa lif çapını azalttığı görülmüştür. Her iki nanolifin de düzgün bir morfolojiye sahip olduğu SEM cihazıyla alınan görüntülerde gözlenmektedir.

Yapılan araştırmalarda GelMA birçok farklı yöntemle çapraz bağlanmıştır. Bu tez kapsamında ise UV çapraz bağlama kullanılmıştır. Çapraz bağlama ajanı olarak Irgacure

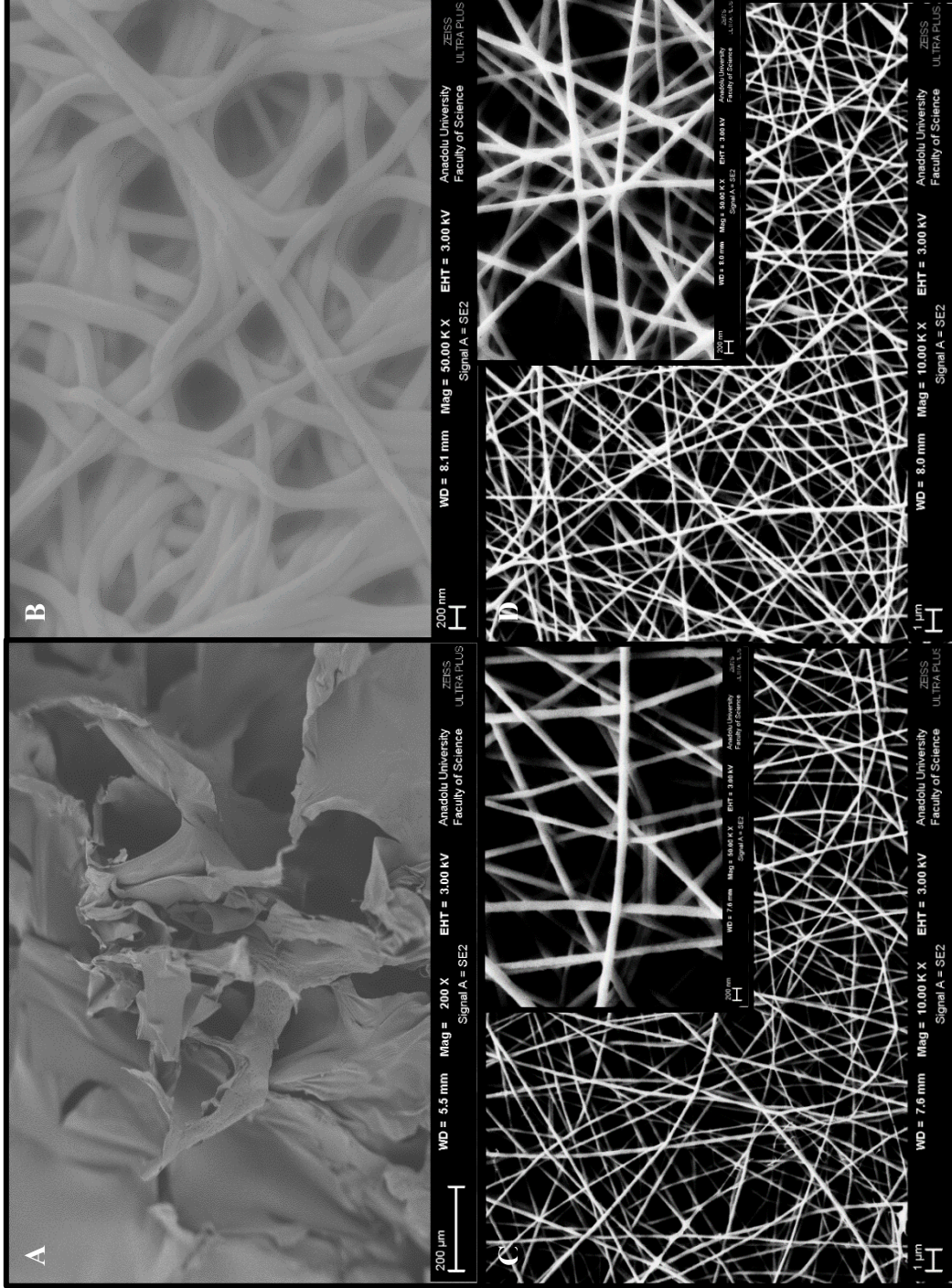
kullanılarak UV ışığı altında çapraz bağlanmıştır. Metakriloil grupları sayesinde kolaylıkla çapraz bağlama işlemi yapılmıştır. Şekil 3.22 B’de optimum şartlar belirlenerek UV çapraz bağlanmış nanoliflerin görüntüsü vardır. Çapraz bağlanmış liflerin çaplarının arttığı ve birbirleri içerisine geçtiği görülmektedir.

Çapraz bağlama işleminde optimum şartları belirlenirken birkaç deneme yapılmıştır. Bu denemeler Irgacure derişimi, Irgacure çözeltisi içerisindeki reaksiyon süresinde ve UV ışığı altında kaldığı süre zarfında ayarlamalar yapılarak belirlenmiştir. Uygulanan bu değerler Tablo 3.2 de ve yapılan denemelerin SEM görüntüleri Şekil 3.23 de verilmiştir. A nanolifin de fazla çapraz bağlama gözlenmiştir. B ve C nanoliflerin de ise çapraz bağlanma daha normaldir ancak homojen bir şekilde dağılmamıştır bazı bölgelerde fazla bağlanma görülmüştür. Bu nedenlerden dolayı optimum olarak D nanolifi belirlenmiştir.

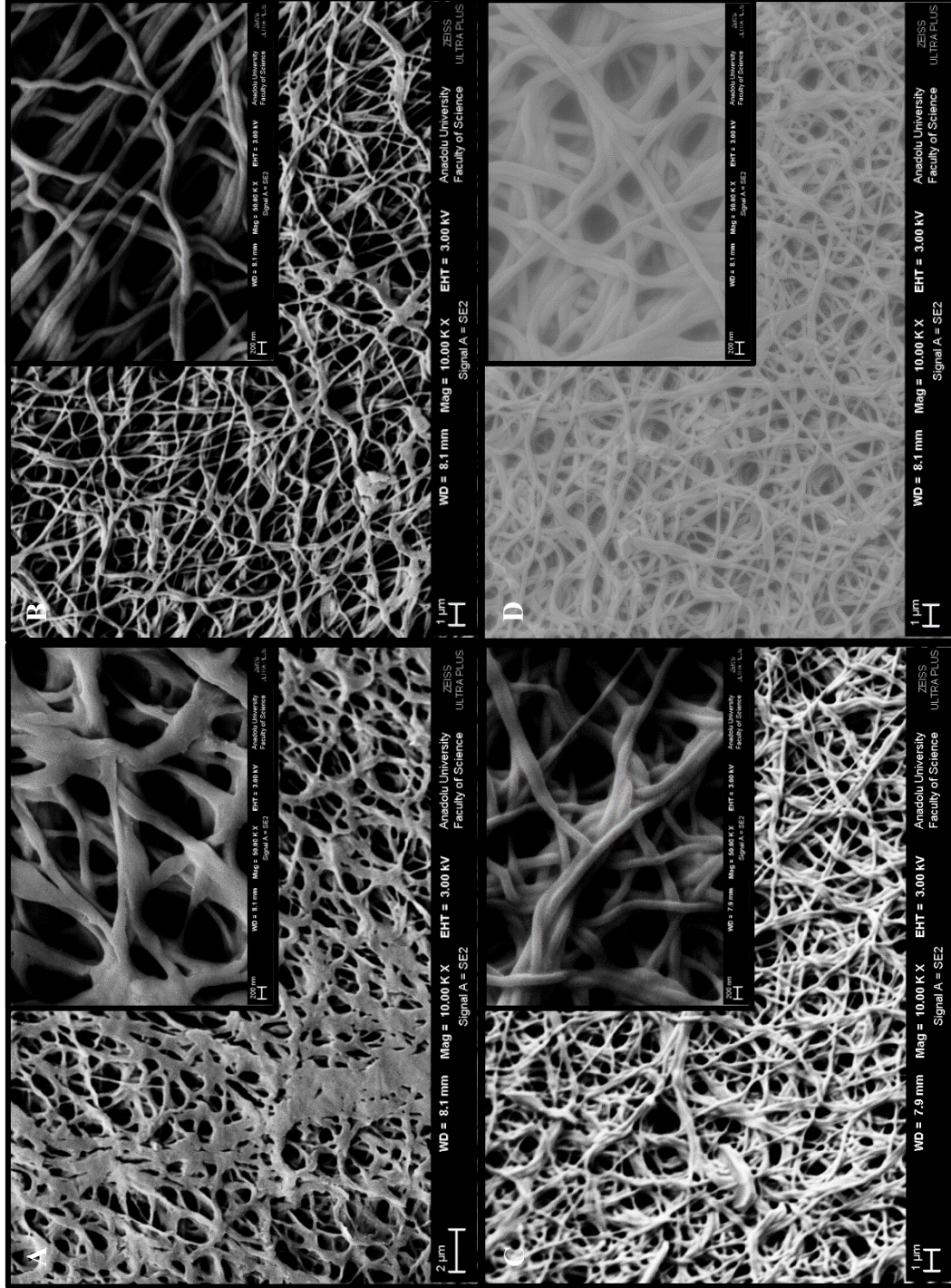
Nanoliflerin çapraz bağlanması uygulama aralığını genişletir ve sulu ortamlarda ki malzemelerin stabilitesini artırır. GelMA/PCL/DexpH nanolifi bir foto başlatıcının sulu çözeltisi içerisinde 10 dk ve UV ışığı altında 10 dk tutularak metakrilik grupları sayesinde çapraz bağlanmıştır. Çapraz bağlanmış nanolifler daha düzensiz ve yoğun bir yapıya sahiptirler. Çapları ise çapraz bağlama öncesi liflerine göre daha da artmış ve aradaki gözeneklilik azalmıştır.

Tablo 3.2. Nanoliflerin çapraz bağlanması için uygulanan parametreler

	A Nanolifi	B Nanolifi	C Nanolifi	D Nanolifi
Irgacure Derişimi	%0,5	%0,5	%1	%1
Irgacure Süresi	5 dk	10 dk	5 dk	10 dk
UV Süresi	10 dk	10 dk	10 dk	10 dk



Şekil 3.22. *GelMA/PCL nanoliflerin SEM görüntüleri; (A) GelMA, (B) GelMA/PCL/DexpH UV çapraz bağı, (C) GelMA/PCL nanolif, (D) GelMA/PCL/DexpH nanolifi*



Şekil 3.23. Tablo 3.2 deki nanoliflerin SEM görüntüleri

3.3.3. Fourier dönüşümlü kızılötesi spektrometre (FTIR) analizi

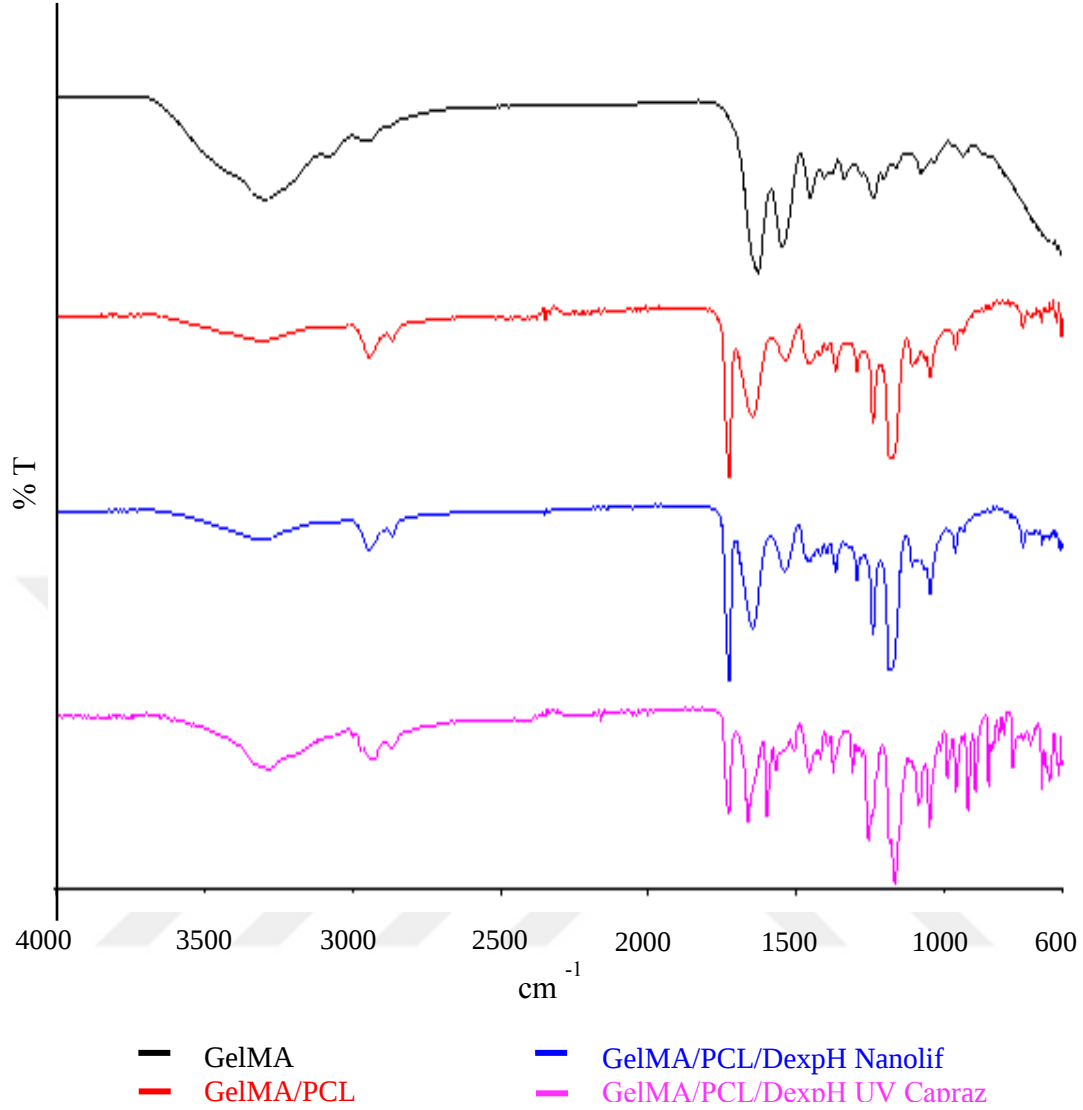
Dondurularak kurutulmuş GelMA'nın ve GelMA/PCL nanoliflerinin FTIR spektrumları Şekil 3.24 de verilmiştir.

Gelatinin MA ile bileşimini belirlemek için NMR analizi ile birlikte FTIR analizi de önemlidir. GelMA, Gelatin esaslı bir hidrojelidir. Bu yüzden Gelatin spektrumuna benzer emilim bantları elde edilmiştir. 3302 cm^{-1} de N-H gerilmesi görülmüştür. GelMA polimerinde 1630, 1547 ve 1238 cm^{-1} de N-H eğilmeleri sırasıyla amid I, amid II ve amid III gruplarına ait bantlar gözlenmiştir.

GelMA/PCL nanolifinin spektrumunda, GelMA ve PCL polimerlerinin karakteristik bantlarını gözlemek mümkündür. GelMA polimerinden gelen 3318 cm^{-1} de N-H gerilmesi, 1648 cm^{-1} de N-H eğilmesi (amid I) ve 1239 cm^{-1} de N-H eğilmesi (amid II) ve PCL polimerinden gelen 2946 cm^{-1} de C-H gerilmeleri ve 1726 cm^{-1} de C=O gerilme titreşimleri görülmüştür.

İlaç etken maddesi olan DexpH içeren GelMA/PCL nanolifin de GelMA/PCL nanolifine göre bariz bir farklılık gözlenmemiştir. Çünkü DexpH yapısında -NH, -CO ve -OH içerdiği için gelen spektrumlar birbirlerine benzerdir.

GelMA/PCL/DexpH nanolifi çapraz bağlama ajanının sulu çözeltisinde bekletilmiş ve UV ışığında çapraz bağlama yapılmıştır. Çapraz bağlanmış nanoliflerin FTIR spektrumunda amid gruplarının şiddetinin azaldığı gözlenmiştir. C=O gruplarından bağlanma yapıldığı içinde C=O gerilme şiddetinin azaldığı görülmüştür.

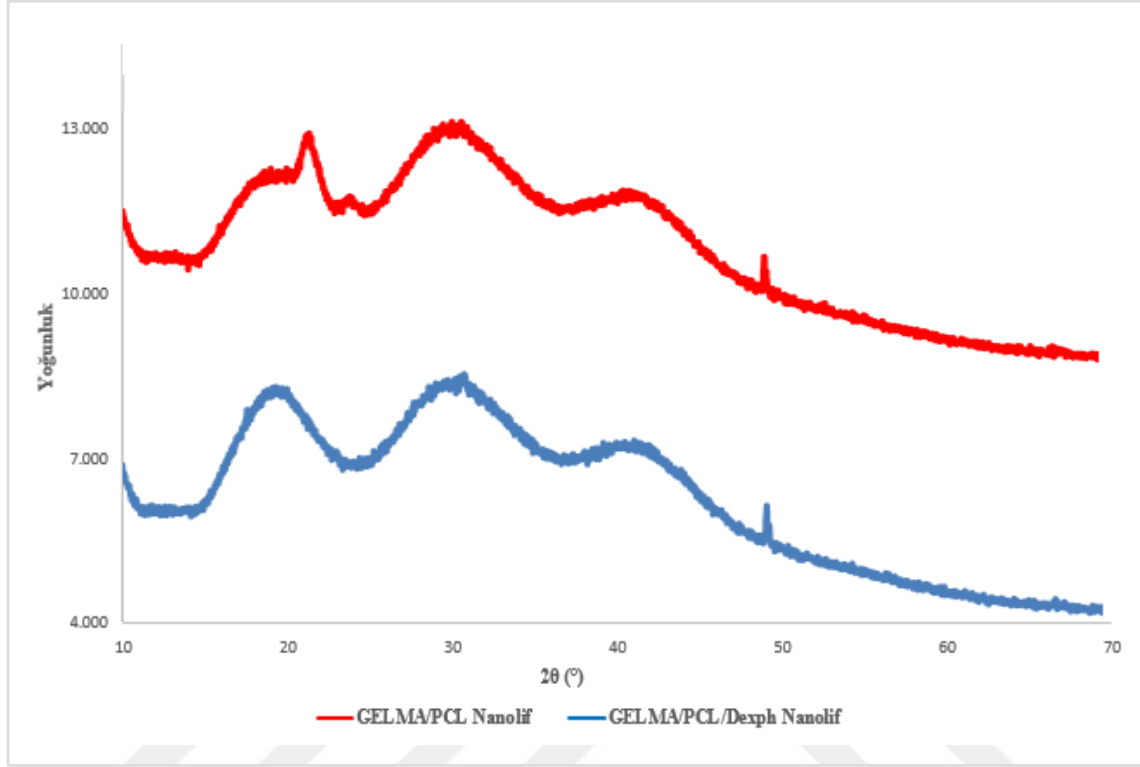


Şekil 3.24. GelMA/PCL Nanoliflerinin IR spektrumları

3.3.4. X-ışını kırınımı (XRD) analizi

Şekil 3.25 de GelMA/PCL ve GelMA/PCL/DexpH nanoliflerinin XRD analiz sonuçları verilmiştir. Yapılan araştırmalar göre $2\theta=20^\circ$, $2\theta=30^\circ$ ve $2\theta=40^\circ$ civarında gelen kırınımalar Gel polimerinden kaynaklıdır. PCL polimerine ait kırınımalar ise $2\theta=21^\circ$ ve $2\theta=24^\circ$ de gelen keskin piklerle belirlenmektedir. GelMA, Gel ağırlıklı sentezlenen bir polimerdir bu yüzden yapılarının birbirine benzer gelmesi beklenmektedir. GelMA/PCL nanolifinde, $2\theta=21,5^\circ$ de keskin bir pik, $2\theta=30,9^\circ$ ve $2\theta=40,8^\circ$ de ise iki tane daha orta şiddetli pik gelmiştir. Bu üç pikte Gelatinin yapısından gelmektedir. $2\theta=21,5^\circ$ ve $2\theta=24^\circ$ de gelen orta şiddetli pikler ise PCL'den kaynaklıdır. GelMA/PCL/DexpH nanolifine bakıldığında ise, polimerler ile ilaç birbiriyle bağlandığından dolayı $2\theta=21,5^\circ$ ve $2\theta=24^\circ$

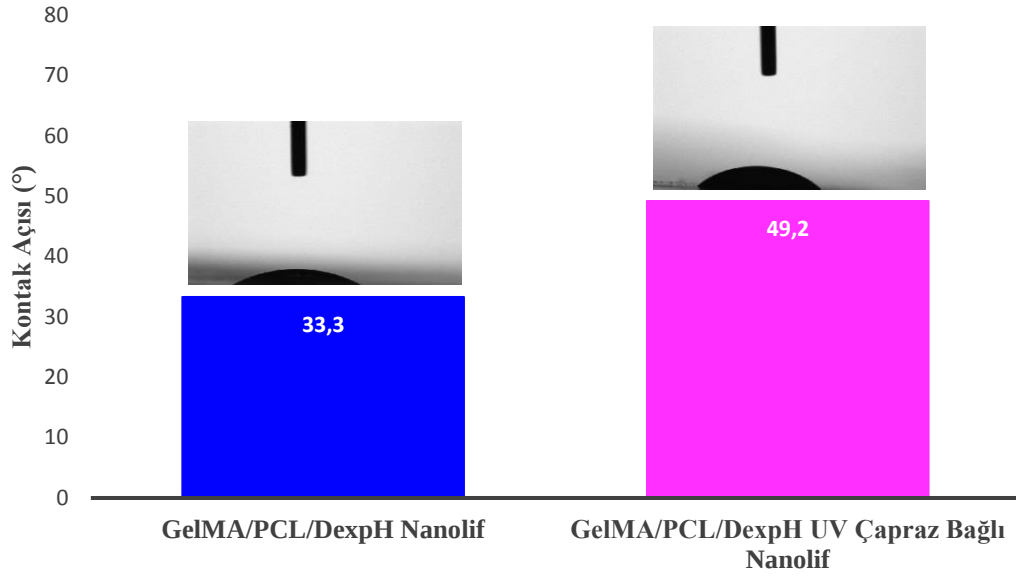
pikler yerini $2\theta=20,1^\circ$ de gelen pike bırakmıştır. $2\theta=31,0^\circ$ ve $2\theta=40,3^\circ$ de gelen piklerin ise iki nanolifin benzer yapıda olduklarını göstermektedir.



Şekil 3.25. *GelMA/PCL Nanoliflerinin XRD sonuçları*

3.3.5. Temas açısı analizi

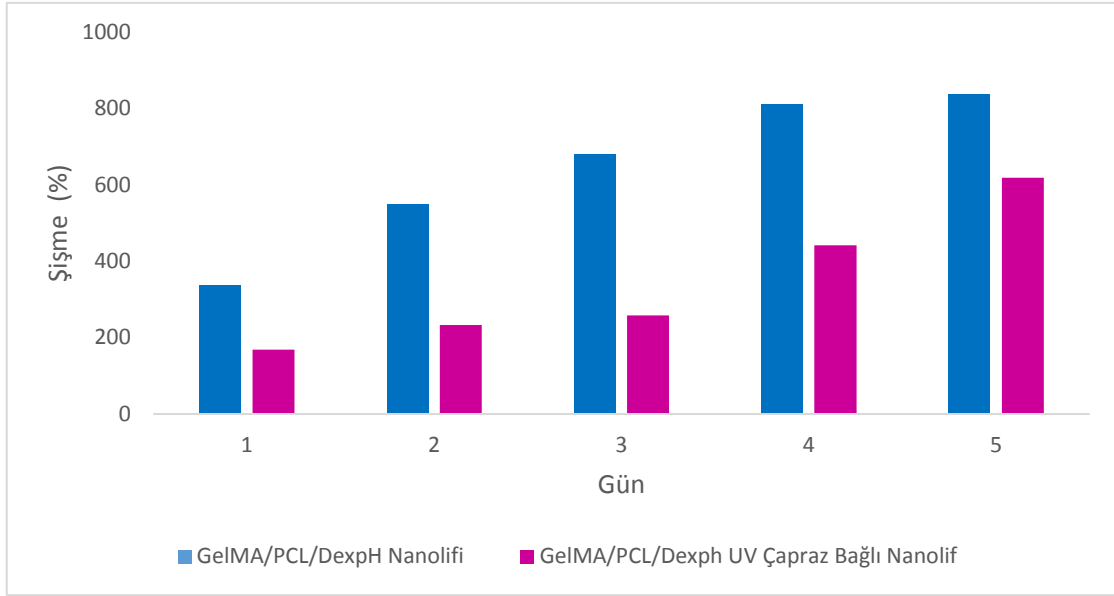
İlaç salınımı için yüzeyin hidrofilisitesi önemli bir parametredir çünkü salınım yüzeyler arası kurulan etkileşimler üzerinde doğrudan etkilidir. Foto çapraz bağlı nanoliflerin hidrofilisitesinin belirlenmesi için yöntemlerden biride temas açısı analizidir. Temas açısı analizinde çapraz bağlama öncesi ve sonrası nanolifler üzerine bir miktar su damlatılır ve suyun yayılmasına göre bir ölçüm yapılır. Ölçümlerin bir kamera yardımıyla görüntüleri kaydedilir. Şekil 3.26 da temas ölçüm sonuçları verilmiştir. Çapraz bağlama öncesi nanoliflerin temas açısı ölçümü $33,3^\circ$ dir. Bu değer damlatılan suyun nanolif yüzeyinde yayıldığını ve nanolifin hidrofilik olduğu gözlenmiştir. Çapraz bağlama sonrasında ise temas açısı ölçümü $49,2^\circ$ dir. UV çapraz bağlı nanolifin suyu yüzeyinde tuttuğu ve hidrofobik olduğu gözlenmiştir.



Şekil 3.26. GelMA/PCL Nanoliflerin temas açısı ölçüm sonuçları

3.3.6. Şişme testi analizi

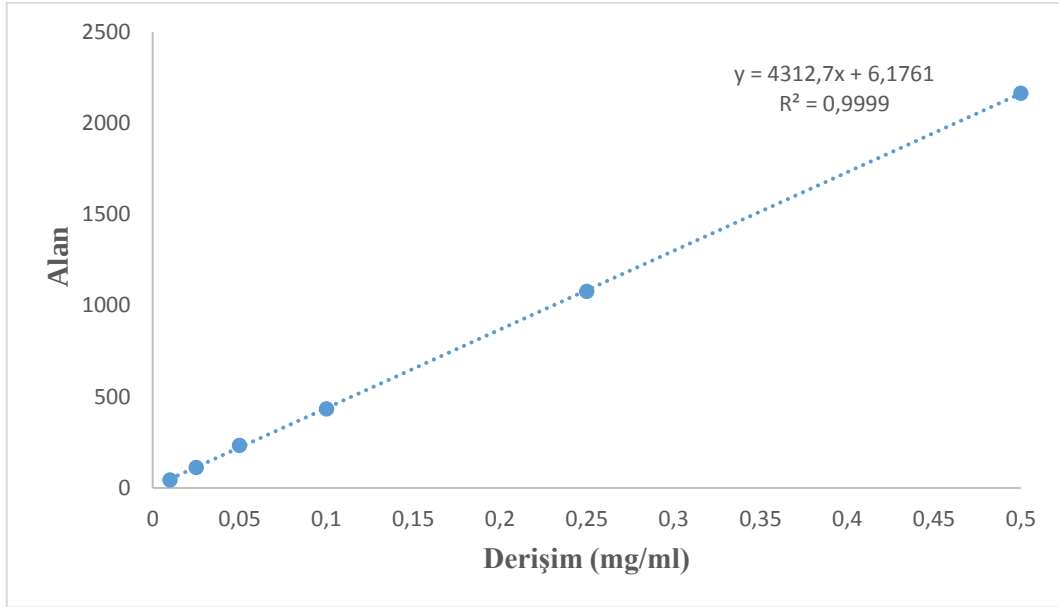
5 gün boyunca her gün oda sıcaklığında salınım ortamında ki nanoliflerin şişme yüzdeleri ölçülmüş ve sonuçları Şekil 3.27 de verilmiştir. Şişme testi analizi de nanoliflerin hidrofilisitesini belirlemenin bir diğer yoludur. Çapraz bağlama öncesi nanolifler hidrofilik oldukları ve lifler arası gözenekler fazla oldukları için suyu emerek şişerler. 5 gün boyunca yapılan ölçümler sonucunda son gün şişme yüzdesi %836 olarak hesaplanmıştır. UV çapraz bağlı nanolifler de ise, 5 gün sonunda şişme yüzdesi %618'dir. Çapraz bağlı nanolifin daha az oranda artmasının nedeni, nanoliflerin çapraz bağlandığında aralarındaki gözeneklerin azalmasıdır. Bu nanoliflerin çapraz bağlama öncesine göre hidrofilisitesi azalmıştır.



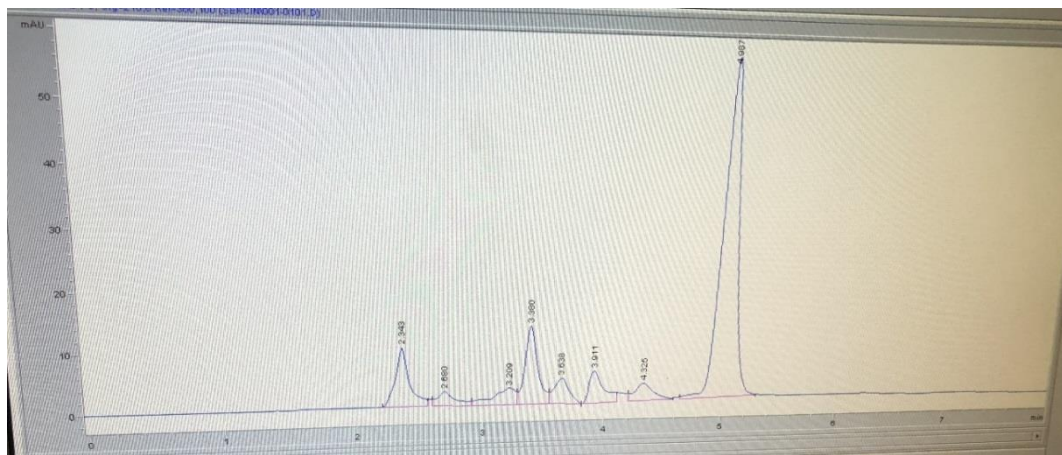
Şekil 3.27. GelMA/PCL Nanoliflerinin şişme testi sonuçları

3.3.7. Kontrollü ilaç salınımı analizi

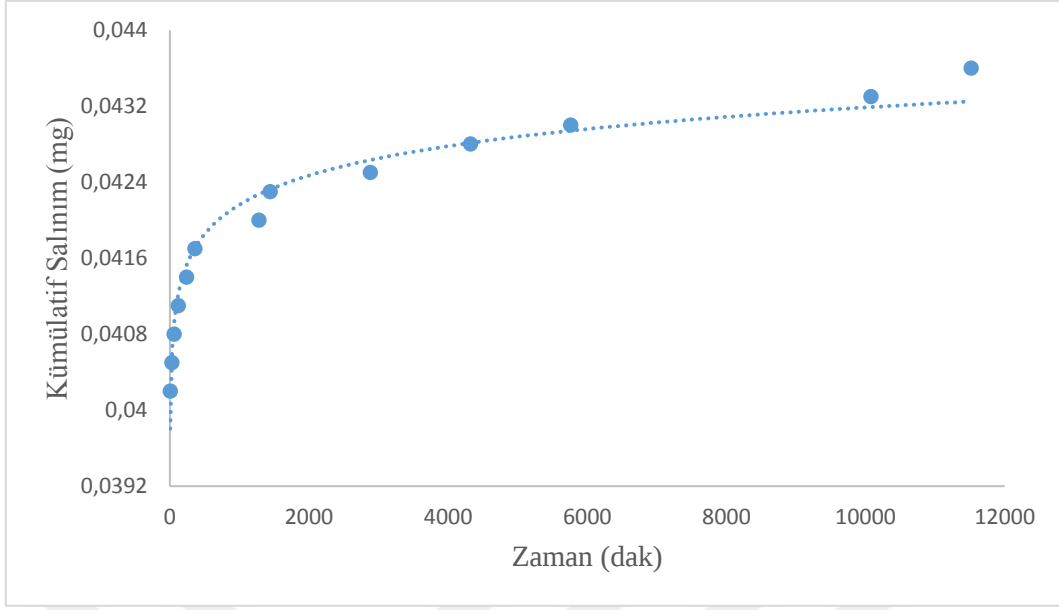
İlaç etken maddesinin HPLC cihazında kalibrasyonu oluşturulmuş ve 3.28 de kalibrasyon grafiği verilmiştir. GelMA/PCL polimer çözeltisi içerisine ilaç etken maddesi olan DexPH yüklenilmiş ve nanolif haline getirilmiştir. Elde edilen nanolifler bir çapraz bağlama ajanı ve UV lambası sayesinde çapraz bağlanmıştır. Böylelikle nanolifler hidrofobik hale getirilmiştir. Bu sayede ise ilaçla birlikte polimer maddelerinin salınması engellenmiştir ve salınım daha kontrollü bir şekilde gerçekleşmiştir. İlaç yüklü nanolifler pH=7,4 olan sıvı bir ortama maruz kalmış ve zamanla şişmeye başlamıştır. Şişme oldukça moleküler arası zincirler gevşemiş ve ilaç salınımı gerçekleşmiştir. 12000 dakika yani 8,5 gün boyunca HPLC cihazında salınım kontrolleri yapılmıştır. Şekil 3.29 da 7. gündeki salınımın HPLC kromatogramı verilmiştir. Elde edilen değerlerle kümülatif salınım hesabı yapılmış ve Şekil 3.30 da ki zamana karşı kümülatif salınım grafiği çizilmiştir. Salınım 1440 dakika (1gün) içerisinde patlama yapmış ve daha sonraki günlerde az bir artış görülmüştür.



Şekil 3.28. DexpH kalibrasyon grafiğı



Şekil 3.29. GelMA/PCL/DexpH nanolipfinin 7. gün ilaç salınım kromatogramı



Şekil 3.30. *GelMA/PCL/DexpH Nanolipfinin kümülatif salınım grafiği*

4. SONUÇ

Bu tez çalışmasında ilaç etken maddesi olan DexpH'n salınımı incelenmiştir. İlaç etken maddesi farklı polimer çözeltileri içerisine gömülüp nanolif haline getirilmiştir. Elde edilen nanoliflerin çapları nm boyutundadır. İlaç salınımı gerçekleşirken polimer maddelerinin salınımı engellemesi ve salınımı daha kontrollü hale getirebilmesi için nanolifler çapraz bağlanmıştır. Her polimer madde için farklı çapraz bağlama yöntemleri geliştirilmiştir. Hepsinde nanoliflerin düzgün bir şekilde çapraz bağlandığı yapılan SEM ve FTIR analizinde görülmüştür. Morfolojilerinde gözle görülür bir şekilde değişim olmuş ve yapılarına bakıldığında ise polimerlerin birbirlerine bağlandığı pik şiddetlerinin azalmasıyla görülmüştür. İlaç salınımindaki önemli parametrelerden bir tanesi de hidrofilisitesidir. Hidrofilisitesini belirlemek için temas açısı ve şişme testi analizi yapılmıştır. Çapraz bağlama öncesi ve sonrası nanoliflerin su tutma kapasiteleri bu iki analizle belirlenmiştir. Çapraz bağlı nanoliflerin hidrofobik oldukları kanıtlanmıştır. İlaç salınımı kontrolü için öncelikle ilaç etken maddesinin belirli derişimler de kalibrasyon grafiği HPLC cihazı analiziyle çizilmiştir.

Tablo 3.3. Nanoliflerin salınımlarının kıyaslanması

Nanolifler	Patlama Süresi	Salınım Süresi
PCL/Gel/DexpH	-	2 saat
PVA/Chi/DexpH (GA)	8 saat	30 saat
PVA/Chi/DexpH (NHS-EDC)	8 saat	30 saat
GelMA/PCL/DexpH	1 gün	8,5 gün

Salınımları incelemek için üç farklı yöntem ele alınmıştır. PCL/Gel/DexpH, PVA/Chi/DexpH ve GelMA/PCL/DexpH nanolifleri elde edilmiş ve çapraz bağlanarak salınımları incelenmiştir. Genel olarak nanoliflerin zamanla salınımın olduğu görülmüştür. Ancak salınan ilaç miktarı azdır. Bunun sebebi ise nanolif içerisine yüklenen ilaç miktarının oldukça az olmasıdır. PCL/Gel/DexpH nanolifinde salınım

süresi kısadır bunun nedeni çapraz bağlamanın az olmasından kaynaklı olabilir. PVA/Chi/DexpH nanolifinde iki farklı çapraz bağlama yöntemi kullanılmıştır ve NHS-EDC ile çapraz bağlanan nanolifin salınımının daha iyi olduğu görülmüştür. Bunun nedeni NHS-EDC ile yapılan çapraz bağlamanın GA göre daha verimli olmasıdır. Yapılan yöntemler arasında en çok salınım GelMA/PCL/DexpH nanolifinde olmuştur. Bu yöntemin, kullanılan polimerlerin, çözücülerin ve çapraz bağlama yönteminin Dekspantenol ilacı için optimum olduğunu göstermektedir.

Literatürde Dekspantenol'ün nanolif halindeki kontrollü ilaç salınımı çalışmaları oldukça azdır. Yapılan çalışmada farklı polimer maddeleri, çözücüler ve çapraz bağlama ajanları kullanılarak yeni yöntemler geliştirilmiştir. Yeni yöntemler sayesinde, Dekspantenol'ün kontrollü ilaç salınımının gerçekleştiği gözlenmiştir.

KAYNAKÇA

- Bozeman, B. Laredo, P. ve Mangematin, V. (2007). Understanding the emergence and deployment of “nano” S&T. *Research Policy* 36, 807-812.
- Colangelo, L.M. ve Baeumner, A.J. (2012) Recent progress in the design of nanofiber-based biosensing devices. *Lab on a Chip*. 12, 2612-2620.
- Dinç, H. (2013) Polivinil borat sentezi; elektrospin yöntemiyle nanofiber hazırlanması ve karakterizasyonu. Konya: Selçuk Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Ebner, F. Heller, A. Rippke, F. Ve Tausch, I. (2002) Topikal use of dexpanthenol in skin disorders. *American Journal of Clinical Dermatology*. 3 (6), 427-433.
- Greiner, A. Ve Wendorff J.H. (2007) Electrospinning: A fascinating method for the preparation of ultrathin fibers. *Angewandte Chemie International Edition*. 46, 5670-5703.
- He, L. Zhang, Y. Zeng, X. Quan, D. Liao, S. Zeng, Y. Lu, J ve Ramakrishna, S. (2009) Fabrication and characterization of poly(l-lactic acid) 3D nanofibrous scaffolds with controlled architecture by liquid-liquid phase separation from a ternary polymer-solvent system. *Polymer*. 4128-4138.
- Honggang, C. Matthew, J.W. Samuel, I.S. (2010) Self-assembly of peptide amphiphiles: from molecules to nanostructures to biomaterials. *Biopolymers*.
- Hu, X. Liu, S. Zhou, G. Huand, Y. Xie, Z. Ve Jing, X. (2014) Electrospinning of polymeric nano fibers drug delivery applications. *Journal of Controlled Release*. 185, 12-21.
- Huang, Z.M. Zhang, Y.Z. Kotaki, M. ve Ramakrishna, S. (2003) A review on polymer nanofibers by electrospinning and their applications in nanocomposites. *Composites Science and Technology*. 63, 2223–2253.
- Kamble, P. Sadarani, B. Majumdar, A. ve Bhullar, S. (2017). Nanofiber based drug delivery systems for skin: A promising therapeutic approach. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*. 41, 124-133.
- Kozanoğlu, G.S. (2006) Elektrospinning yöntemiyle nanolif üretim teknolojisi. Yüksek Lisans Tezi. İstanbul: İstanbul Teknik Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Li, D. ve Xia, Y. (2004) Electrospinning of Nanofibers : Reinventing the Wheel ?**. *Advanced Materials*. 14, 1151-1170.

- Li, Y. ve Akl, T.B. (2016) Electrospinning in Tissue Engineering. *Electrospinning - Material, Techniques, and Biomedical Applications*.
- Liu, M. Duan, X.P. Li, Y.M. Yang, D.P. ve Long, Y.Z. (2017) Electrospun nanofibers for wound healing. *Materials Science and Engineering C*. 76, 1413-1423.
- Mercante, L.A. Scagion, V.P. Migliorini, F.L. Mattoso, L.H.C. ve Correa, D.S. (2017) Electrospinning-based (bio)sensors for food and agricultural applications: A review. *Trends in Analytical Chemistry*. 91, 91-103.
- Mitarai, T. (2013) An Introduction to electrospinning and nanofibres. *Journal of cardiothoracic and vascular anesthesia*. 27.
- Parlak, R. (2011). Elektro çekim yöntemi işlem parametrelerinin polivinilalkol (PVA) nanoliflerin yapısal özelliklerine etkileri. İstanbul: Marmara Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Proksch, E. Bony, R. Trapp, S. ve Boudon, S. (2017) Topical use of dexpanthenol: a 70th anniversary article. *Journal of Dermatological Treatment*. 8, 766-773.
- Son, Y.J. Kim, W.J. ve Yoo, H.S. (2014) Therapeutic applications of electrospun nanofibers for drug delivery systems. *Archives of Pharmacal Research*. 39,69-78.
- Subbiah, T. Bhat, G.S. Tock, R.W. Parameswaran, S. ve Ramkumar, S. (2005) Electrospinning of nanofibers". *Journal of Applied Polymer Science*. 96, 557-569.
- Tao, S.L ve Desai, T.A. (2007) Aligned arrays of biodegradable poly(ϵ -caprolactone) nanowires and nanofibers by template synthesis. *Nano Letters*.7, 1463-1468.
- Thenmozhi, S. Dharmaraj, N. Kadirvelu, K. ve Kim, H.Y. (2017) Electrospun nanofibers: New generation materials for advanced applications. *Materials Science and Engineering B*. 217, 36-48.
- Uhrich, K.E. Cannizzaro, S.M. Langer, R.S. ve Shakesheff, K.M. (1999) Polymeric Systems for Controlled Drug Release. *Chemical Reviews*. 99, 3181-3198.
- Üstündağ, G.C. (2009) Elektrospinning yöntemi ile biyomedikal kullanıma yönelik nanolif yüzey üretimi ve uygulaması. Yüksek Lisans Tezi. Bursa: Uludağ Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Xing, X. Wang, Y ve Li, B. (2008) Nanofiber drawing and nanodevice assembly in poly(trimethylene terephthalate). *Optical Society of America*. 16, 1513-1520.