



**T.C.
GÜMÜŞHANE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**



**MİKROSİSTEMLERDE ALJİNAT ve KİTOSAN MİKROPARTİKÜL
ÜRETİMİ ve KARAKTERİZASYONU**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Hasret ÖZDİLEK

HAZİRAN 2020

GÜMÜŞHANE

T.C.
GÜMÜŞHANE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

**MİKROSİSTEMLERDE ALJİNAT ve KİTOSAN MİKROPARTİKÜL
ÜRETİMİ ve KARAKTERİZASYONU**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HASRET ÖZDİLEK

Gümüşhane Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
“Biyoteknoloji Anabilim Dalı”
Yüksek Lisans Programında Kabul Edilen Tezdir.

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih : 29/06/2020

Tezin Sözlü Savunma Tarihi : 16/07/2020

HAZİRAN 2020

TEZ BEYANNAMESİ

Gümüşhane Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoteknoloji Anabilim Dalı'nda, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlamış olduğum **“Mikrosistemlerde Aljinat ve Kitosan Mikropartikül Üretimi ve Karakterizasyonu”** isimli tez çalışmada; bütün bilgi ve belgeleri genel akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, görsel ve yazılı bütün bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak hazırlayıp sunduğumu, başka kaynaklardan yararlandığım bilgileri metin ve kaynaklarda eksiksiz olarak gösterdiğimi, çalışma süresince bilimsel araştırma ve etik kurallara uygun olarak davrandığımı ve aksi durumda her türlü yasal sonucu kabul ettiğimi beyan ederim.

29/06/2020

Hasret ÖZDİLEK
İmza

ÖZET
YÜKSEK LİSANS TEZİ

**MİKROSİSTEMLERDE ALJİNAT ve KİTOSAN MİKROPARTİKÜL
ÜRETİMİ ve KARAKTERİZASYONU**

Hasret ÖZDİLEK

Gümüşhane Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyoteknoloji Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Şeref AKAY

2020, 84 Sayfa

Son yıllarda araştırmalar tedavi süreçlerinin daha etkili olması için yeni ilaç geliştirme ve geliştirilen ilaçların etkili bir şekilde hedef bölgeye iletilmesi stratejileri üzerine yoğunlaşmıştır. Bu stratejiler ilacın biyoyararlanımını iyileştirmeyi ve sitotoksik etkilerini azaltarak hastanın konforunu arttırmayı hedeflemektedir. Çalışmaların önemli bir kısmı ilaç veya gen taşıyıcı sistemlerini kapsamaktadır. İlaçların kontrollü salınımını sağlayan biyopolimerlerin geliştirilmesinden hedef bölgenin tanınmasını sağlayan protein ya da antikorların keşfedilmesine kadar birçok çalışma bu kapsamda yer almaktadır. Dolayısıyla aktif bileşenlerin mikropartiküller şeklinde enkapsülasyon çalışmaları, ilaç endüstrisi için, düşük çözünürlüğe sahip ilaçların dağılım hızını iyileştirmek ve biyoyararlanımlarını arttırmak açısından önemli bir yer teşkil etmektedir. Biyoyararlanımı arttırmaya yönelik geleneksel yöntemlerden bağımsız olarak, çok farklı partikül ve nanopartikül işleme yöntemleri geliştirilmektedir.

Çok miktarda su içeren hidrofilik polimerik ağ yapısına sahip hidrojeller, ilaç moleküllerinin salımında yaygın olarak kullanılan biyomalzemelerdir. Polimerik ağ yapısı kovalent ve iyonik bağlar ya da fiziksel bağları bulunduran çapraz bağlanma ile elde edilir. Polimerik mikro/nanopartiküllerin biyoaktif ajanların vücut içindeki düşük emilim ve biyoyararlanımlarını arttırabileceği düşünülmektedir. Mikroteknoloji ve mikroakışkanlarda meydana gelen ilerlemeler ilaç keşfi, biyoloji, tanı ve doku mühendisliği gibi birçok alanda derin etkilere yol açmıştır. Bu sistemler karmaşık ilaç taşıyıcılarının istenen boyutta ve ilaç içeriğine sahip bir şekilde üretilebilmesini mümkün kılmış ve salım profillerinin daha kesin bir şekilde tahmin edilmesini kolaylaştırmıştır.

Bu çalışma kapsamında ilaç moleküllerin terapötik aktivitelerini arttırmak için mikro/nanopartiküller şeklinde enkapsülasyonu için bir yöntem geliştirilmiştir. Bu doğrultuda aljinat ve kitosan doğal polimerler kullanılarak, 3B yazıcı yardımıyla mikrofabriksiyonu yapılan farklı geometrilere sahip mikroakışkan aygıtlarında mikro/nano ölçekli partiküller sentezi ve bu partiküllerin karakterizasyonu gerçekleştirilmiştir. Sentez basamağında mikropartiküllerin istenen boyutta elde edilebilmesi için mikroakışkan aygıtlarının kanal genişlikleri ve kanallarda fazların akış hızları ve polimer konsantrasyonları optimize edilmiştir. Yapılan deneyler sonunda en düşük boyuta sahip mikropartiküller %0.25 kitosan ve %0.25 TPP'nin akış hızı oranı 1:20 olduğu koşullarda (yaklaşık 400 nm) elde edilmiştir. Bu koşullardaki mikropartiküllere yükleme için Ampisilin model biyoaktif molekül olarak kullanılmış ve hem gram pozitif hem de gram negatif bakteriler temsilen farklı bakteriler üzerindeki aktiviteleri test edilmiştir. Biyoaktivite testleri antibiyotik yüklü mikropartiküllerin her iki grup bakteriye karşı yüksek inhibisyon aktivitesi gösterdiğini belirlemiştir. Bu sonuçlar polimerik mikro/nanopartiküllerin ilaçların enkapsülasyonunda başarılı bir şekilde kullanılabileceğini göstermiştir.

Bu çalışma Gümüşhane Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'nce desteklenmiştir. Proje No: 19.F5119.0101

Anahtar Kelimeler: Aljinat, Biyopolimer, Emkapsülasyon, Hidrojel, İlaç, Kitosan, Mikroakışkan, Mikropartikül

ABSTRACT

MS THESIS

PRODUCTION AND CHARACTERIZATION OF ALGINATE AND CHITOSAN MICROPARTICLES IN MICROSYSTEMS

Hasret ÖZDİLEK

Gümüşhane University
The Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biotechnology

Supervisor: Assistant Prof. Şeref AKAY

2020, 84 pages

In recent years, research has focused on developing novel drugs and effectively strategies for delivering drugs to the target area in order to make treatment processes more effective. These strategies aim to increase the comfort of the patients by improving the bioavailability of the drug and reducing its cytotoxic effects. Significant part of the studies includes drug or gene delivery systems. Many studies, from the development of biopolymers that provide controlled release of drugs to the discovery of proteins or antibodies that provide recognition of the target region, are within this context. Therefore, encapsulation of active ingredients in the form of microparticles is important for the pharmaceutical industry to improve the rate of distribution and increase bioavailability of drugs with low solubility. Regardless of traditional methods to increase bioavailability, lots of different particle and nanoparticle processing methods have been developed.

Hydrogels with hydrophilic polymeric network structure containing large amounts of water are commonly used biomaterials in the release of drug molecules. The polymeric network structure is accomplished by covalent and ionic bonds or cross-linking that includes physical bonds. It is assumed that polymeric micro / nanoparticles can increase the low absorption and bioavailability of bioactive agents in the body.

Progresses in microtechnology and microfluidics have had profound effects in many areas such as drug discovery, biology, diagnosis, and tissue engineering. These systems made it possible to produce complex drug carriers with the desired size and drug content and facilitated more precise estimation of release profiles.

The scope of this study is to develop a method for encapsulation of drug molecules in the form of micro / nanoparticles to increase the therapeutic activities. Accordingly, synthesis and characterization of micro / nanoscale particles using alginate and chitosan natural polymers were carried out in 3D microfabricated microfluidic devices with different geometries. The channel widths of the microfluidic devices, the flow rates of the phases in the channels and polymer concentrations were optimized in order to obtain the microparticles in the desired size during the synthesis. At the end of the conducted experiments, the lowest microparticles size was achieved under conditions for the flow rate ratio of 1:20 of 0.25% chitosan and 0.25% TPP (approximately 400 nm). Ampicillin have been used as model bioactive molecule for loading into microparticles under these conditions and its activities on different bacteria representing both gram positive and gram negative bacteria have been tested. Bioactivity tests concluded that antibiotic loaded microparticles show high inhibition activity against both groups of bacteria. These results showed that polymeric micro / nanoparticles can be applied successfully in encapsulation of drugs. This study has been supported by GümüşhaneUniversity, Scientific Research Projects Coordination Department. Project Number: 19.F5119.0101

Keywords: Alginate, Biopolymer, Emcapsulation, Hydrogel, Pharmaceutical, Chitosan, Microfluidic, Microparticle

TEŞEKKÜR

Bu çalışma, Gümüşhane Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoteknoloji Anabilim Dalı'nda Yüksek Lisans Tezi olarak hazırlanmıştır. Çalışmaya maddi destek sağlayan Gümüşhane Üniversitesi Rektörlüğü'ne ve BAP Koordinatörlüğü'ne teşekkür ederim.

Çalışmalarım sırasında bilgi ve tecrübelerinden faydalandığım Sayın Danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Şeref AKAY' a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Yardımlarından ve katkılarından dolayı Dr. Öğr. Üyesi Azer ÖZAD DÜZGÜN'e ve Dr. Öğr. Üyesi Oğuz Yunus SARIBIYIK'a teşekkürlerimi sunarım.

Hem maddi hem manevi her daim yanımda olan Aileme, sevgisini ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen Öztürk Kaan ÇAKIR'a, hem lisans hem yüksek lisans eğitim öğretim sürecinde her zaman yanımda olan değerli arkadaşım Melike SEFAOĞLU'na, ve bu tez çalışması sürecinde dünyaya yeni gelen ve bana umut ışığı olan sevgili yeğenim Rumet BESİ'ye de ayrıca sonsuz teşekkür ederim.

Hasret ÖZDİLEK

Gümüşhane, 2020

İÇİNDEKİLER

Safya No

ÖZET	IV
ABSTRACT	VI
TEŞEKKÜR	VIII
İÇİNDEKİLER.....	IX
ŞEKİLLER DİZİNİ	XI
TABLolar DİZİNİ.....	XIII
SEMBOLLER ve KISALTAMALAR DİZİNİ	XIV
1. GİRİŞ.....	1
2. İLAÇ SALIM (İLETİM) SİSTEMLERİ	5
2.1. Transdermal İlaç Salım Sistemleri.....	6
2.2. Oral Salım Sistemleri.....	7
2.3. Parenteral Salım Sistemleri.....	8
2.4. Hedefe Yönelik İlaç Salımı	10
3. İLAÇ SALIM SİSTEMLERİNİN ÜRETİLMESİ.....	12
3.1. Salım Sistemleri Tipleri	13
3.1.1. Nano/MikroPartiküller.....	14
3.1.2. Lipozomlar.....	16
3.1.3. Kolloidosomlar	18
3.1.4. Polimerik Nanopartiküller	18
3.2. Salım Sistemlerinde Kullanılan Malzemeler	21
3.2.1. Doğal / Sentetik Polimerler.....	22
3.2.1.1. Aljinat	24
3.2.1.2. Kitosan	28
3.2.2. Emülsiyonlar	30
3.2.3. Üretim Yöntemleri	32

3.2.4.	Çapraz Bağlama	35
4.	MİKROSİSTEMLER.....	37
4.1.	Mikrosistemlerde Mikro/Nanopartikül Üretimi.....	40
4.1.1.	Damlacık Oluşturma	41
4.1.2.	Akış Odaklama.....	43
5.	MATERYAL VE YÖNTEMLER	46
5.1.	Kimyasallar ve Materyaller.....	46
5.2.	Mikroakışkan Platformların Tasarımı	46
5.3.	Mikroakışkan Platformların Üretimi.....	48
5.4.	Mikroakışkan Platformların Kullanılması İçin Housing Geliştirilmesi	48
5.5.	Ev yapımı Akış Odaklayıcı Tasarımı	49
5.6.	Mikropartiküllerin Sentezi	50
5.7.	Mikropartiküllerin Boyut Dağılım Analizi	52
5.8.	Mikropartiküllerin Yapısal Karakterizasyonu.....	53
5.9.	Antibiyotik yüklü mikropartiküllerin Antimikrobiyal aktivite testleri	53
6.	BULGULAR VE TARTIŞMA	54
6.1.	Mikroakışkan Platformların Tasarımı, Üretimi ve Test Edilmesi.....	54
6.2.	Mikroplatformlarda Mikropartiküllerin Sentezi ve Boyut Analizi	56
6.3.	Ev yapımı Akış Odaklayıcı Sistemde Mikropartiküllerin Sentezi ve Boyut Analiz	63
6.4.	Mikropartiküllerin Yapısal Karakterizasyonu.....	70
6.5.	Mikropartiküllerin Antimikrobiyal Aktivitesi	71
7.	SONUÇ VE ÖNERİLER	73
8.	KAYNAKLAR	76

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa No

Şekil 3. 1. Nanopartikül boyut dağılımları ve diğer biyolojik molekülleri ile karşılaştırma	15
Şekil 3. 2. Kontrollü salım aracı olarak kullanılan nanopartikül çeşitleri	16
Şekil 3. 3. Lipid bazlı partiküllerin şematik gösterimi	17
Şekil 3. 4. İlaç taşıyıcı nanopartikül çeşitleri.....	20
Şekil 3. 5. Yüzeyleri farklı fonksiyonel gruplar taşıyan polimerik nanopartiküller.....	21
Şekil 3. 6. Biyoparçalanabilir polimerlerin sınıflandırılması	23
Şekil 3. 7. Aljinatların genelleştirilmiş ekstraksiyon stratejileri	25
Şekil 3. 8. Aljinatın Kimyasal Yapısı	27
Şekil 3. 9. Aljinatların idealize edilmiş yapısı.....	27
Şekil 3. 10. Kitin ve Kitosanın kimyasal yapıları.....	28
Şekil 3. 11. Emülsiyonların türü: Su içinde yağ (O / W), yağ içinde su (W / O), su içinde- yağ (W / O / W) ve su içinde yağ yağ (O / W / O) emülsiyonları.....	31
Şekil 3. 12. Hidrojel oluşumunun şematik gösterimi	36
Şekil 4. 1. Sürekli (a), damlacık temelli (b) ve (c) dijital mikroakışkan sistemlere ait şematik çizimler	38
Şekil 4. 2. Gen veya ilaç taşıyıcı üretimi için mikroakışkan platformların genel tasarımı	39
Şekil 4. 3. Mikroakışkan mikropartikül sentez yöntemleri	44
Şekil 5. 1. Mikroplatformların CAD tasarımı; A; 2 giriş ve 1 çıkışlı Mikroplatform; B; 3 giriş ve 1 çıkıştan oluşan T ; C; 3 giriş ve 1 çıkıştan oluşan Y; ; D; 3 giriş ve 1 çıkıştan oluşan L	47
Şekil 5. 2. Pleksiglass levhaları ile sıkıştırılarak çalıştırılan mikroplatform	49
Şekil 5. 3. Ev yapımı akış odaklayıcı	50
Şekil 6. 1. Geçici olarak yapıştırılan mikroplatformların test edilmesi.....	55
Şekil 6. 2. Elde edilen mikrokanallarda akış odaklaması, A; boya, B; aljinat	56
Şekil 6. 3. Y3 % 0.1 aljinat, 1 mM CaCl ₂ , akış oranı 1;10 boyut dağılım analizi.....	57
Şekil 6. 4. Y4 % 0.1 aljinat, 1 mM CaCl ₂ , akış oranı 1;5 boyut dağılım analizi.....	58
Şekil 6. 5. Y5; % 0.1 aljinat, 1 mM CaCl ₂ , akış oranı 1;2.5 boyut dağılım analizi.....	58

Şekil 6. 6. Y6; % 1.5 aljinat, 2.5 mM CaCl ₂ , akış oranı 1;4 boyut dağılım analizi.....	59
Şekil 6. 7. Y7; % 1.5 aljinat+ % 1 CaCO ₃ , yağ (% 0.5 Asetik asit), akış oranı 1;4 boyut dağılım analizi	60
Şekil 6. 8. Y10; % 0.5 TPP, % 0.5 Kitosan (% 1 Asetik asit), akış oranı 1;3 boyut dağılım analizi.....	61
Şekil 6. 9. Y29; % 0.5 TPP, % 0.5 Kitosan (%1 Asetik asit), akış oranı 1;5 boyut dağılım analizi.....	62
Şekil 6. 10. Y30; % 0.5 TPP, % 0.5 Kitosan (%1 Asetik asit), akış oranı 1;10 boyut dağılım analizi.....	62
Şekil 6. 11. IS20; 0.5mg/ml Aljinat, 1 mM CaCl ₂ Akış hızı oranı 1:5 boyut dağılım analizi	64
Şekil 6. 12. IS21; 0.5mg/ml Aljinat, 1 mM CaCl ₂ Akış hızı oranı 1:10 boyut dağılım analizi	65
Şekil 6. 13. IS22; 1 mg/ml Aljinat, 1mM CaCl ₂ Akış oranı 1:10 boyut dağılım analizi.....	66
Şekil 6. 14. IS23; 1 mg/ml Aljinat, 1 mM CaCl ₂ Akış hızı oranı 1:20 boyut dağılım analizi	66
Şekil 6. 15. IS24; %0.25 kitosan, % 0.25 TPP Akış hızı oranı 1:20 düşük hız, boyut dağılım analizi	67
Şekil 6. 16. IS25; %0.25 kitosan, % 0.25 TPP Akış hızı oranı 1:20 yüksek hız, boyut dağılım analizi	68
Şekil 6. 17. IS25; %0.5 TPP, % 0.25 kitosan Akış hızı oranı 1:20 yüksek hız, boyut dağılım analizi.....	69
Şekil 6. 18. 3B destekli mikroplatformlarda elde edilen mikropartiküllerin boyut dağılımı	69
Şekil 6. 20. Kitosan nanopartiküllerin SEM görüntüleri	71
Şekil 6. 21. Ampisilin yüklü kitosan nanopartiküllerin antimikrobiyal aktivitesi. A; S. Aureus, B; P.aeruginosa, C; E.coli, D; B.subtilis	72

TABLÖLAR DİZİNİ

	<u>Sayfa No</u>
Tablo 3. 1. Polimerek nanopartiküllerin hazırlanmasında kullanılan polimerler	20
Tablo 5. 1. 3B ile üretilen mikroplatformlarda yapılan deneme koşulları	51
Tablo 5. 2. Ev yapımı akış odaklayıcı ile gerçekleştirilen deneme koşulları.....	52
Tablo 6. 1. Ampisilin yüklü kitosan nanopartiküllerin oluşturduğu inhibisyon çapları...	72

SEMBOLLER ve KISALTAMALAR DİZİNİ

3B	: Üç boyutlu
AMP	: Ampisilin
BUMER	: Bayburt Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarı Uygulama ve Araştırma Merkezi
$C_3H_6O_3$	: Laktik asit
Ca	: Kalsiyum
Ca_2CO_3	: Kalsiyum karbonat
CaCl	: Kalsiyum Klorür
CH_2O_2	: Formik asit
CH_3COOH	: Asetik asit
DAYTAM	: Doğu Anadolu Yüksek Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi
DMF	: Dijital mikrokakışkanlar
DNA	: Deoksiribo Nükleik Asit
ECM	: Ekstraselüler matriks
FDA	: Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi
G	: Gluronat
GelMA	: Jelatin metakloril
GUV	: Dev unilameller Veziküller
H_2SO_4	: Sülfürik asit
H_3PO_4	: Fosforik asit
HCl	: Hidrokolorik asit
HG	: Hidrojel
ITK	: İzotermal titrasyon kalorimetresi
ITS	: İlaç taşıyıcı sistemler
IV	: İntravenüz
LUV	: Büyük tek katmanlı veziküller
M	: Mannuronat
MEMS	: Mikro elektronik mekanik sistemler
MLV	: Çok lamelli veziküller
MVV	: Multiveziküller
M_w	: Moleküler ağırlık
Na	: Sodyum
Na_2CO_3	: Sodyum karbonat
OLV	: Oligolomeller
PCA	: Polikaprolakton
PCR	: Polimeraz Zincir Reaksiyonu
PDMS	: Polidimetilsiloksan
PEG	: Polietilen glikol
PGA	: Poliglikolik Asit
PLA	: Polilaktik Asit
PLGA	: Polilaktik glikolik Asit
PMBV	: Fenil boronik asit grubu
PVA	: Polivinil alkol

QD	: Quantum Dot
RNA	: Ribo Nükleik Asit
SEM	: Elektron mikroskobu
SUV	: Küçük tek katmanlı veziküller
T _g	: Cam geçiş sıcaklığı
T _m	: Erime sıcaklığı
TPP	: Tri-sodyum asetat



1. GİRİŞ

Son yıllarda araştırmacılar tedavi sürecinin sonucunu iyileştirmek için yeni ilaçların yanı sıra hedef bölgelere etkili ilaç iletimleri için yeni stratejiler geliştirmeye odaklandılar. Bu stratejiler ilacın biyoyararlanımını ve özgünlüğünü arttırmayı, sitotoksite azaltmayı hastaların rahatlığını attırmayı amaçlamaktadır. Çözünme, dağılım ve gastrointestinal geçirgenlik gibi özelliklerin ilaç emilim ve yararlanımını belirleyen temel parametre olduğu bilinmektedir. Ağız yoluyla alınan ilacın sudaki çözünürlüğü emiliminde önemli bir rol oynamaktadır. Bu, ilacın parenteral olarak uygulanabilmesine imkân sağlarken ilacın tasarımı ve geliştirilmesi aşamalarında özelliklerinin değiştirilebilmesi ve test edilmesi açısından da avantaj sağlamaktadır. İlaç çözünürlüğü bir denge ölçüsü olmakla beraber katı ilaçtan ya da dozajdan ilacın solüsyona geçmesini sağlayan dağılım hızı, özellikle dağılım zamanının kısıtlı olduğu durumlarda kritik öneme sahiptir (Khadka vd., 2014). Pazar potansiyeli, ilaç şirketleri arasındaki rekabet ve yeni ilaç adaylarının gelişimine yönelik kıtlık, ilaç keşif ve geliştirme çalışmalarını hızlandırmış ve bunun sonucu olarak da biyofarmasötik özellikleri bakımından zayıf birçok ilaç onay almıştır. Tahmini olarak onaylanan ilaçların %40'ı ve geliştirme aşamasındaki ilaçların yaklaşık %90'ı düşük çözünürlüğe sahip moleküllerden oluşmaktadır. Piyasadaki birçok ilaç için de düşük çözünürlük, düşük geçirgenlik, hızlı metabolize edilmesi ve vücuttan atılması gibi sorunlar mevcuttur (Kalepu ve Nekkanti, 2015). Ayrıca antibiyotik direnci gibi mevcut ilaçları etkisiz kılan diğer faktörler de araştırmacıları farklı yöntemler geliştirmeye teşvik etmektedir. Bunun yanı sıra ilaç aktif moleküllerinin gerek raf ömürleri gerekse vücut içerisinde maruz kaldığı koşullar bakımından dayanıklılığının artırılması ve istenmeyen dış etkilere korunması için bu ilaç moleküllerinin partiküller içerisinde enkapsülasyonu gerçekleştirilmektedir. Geçtiğimiz on yılda ilaç araştırmaları ilaçların terapötik indeksini geliştirmeye, özellikle hedef bölgede daha etkili salımına, yönelmiştir. Bu yönelim polimerik terapötikler alanında yeni ilaç salım sistemlerinin tasarlanmasına yol açmıştır. İlaç salım sistemleri için temel önkoşul taşınan molekülün kontrollü bir şekilde serbest bırakma yeteneğine sahip olmasıdır. Polimerik ilaç taşıyıcıları genellikle iki gruba ayrılır: (i) taşıma özelliklerini dış koşullara göre değiştirebilen (salımı açmak ve kapamak şeklinde) “dinamik sistemler” ve (ii) taşınan molekülün fiziksel ya da kimyasal olarak hidrofobik bir bölmeye hapseden ve yalnızca bozunma durumunda salımı gerçekleştiren “statik sistemler”dir. (Schramm vd., 2009). Enkapsülasyonda elde edilecek partiküllerin

büyüklüğü tasarım ve sentez aşamalarında büyük önem taşımaktadır. Mikro/Nanopartiküller çözünmüş, hapsedilmiş veya adsorbe olan etkin maddeyi kontrollü olarak salan katı kolloidal partiküller olup doğal ya da sentetik yapıdaki polimerlerle hazırlanan polimerik partiküler sistemlerden oluşmaktadırlar. Aktif madde taşıyıcı sistem olarak hazırlanan ve kullanılan polimerik mikropartiküller pek çok avantajı ile diğer kolloidal yapıli taşıyıcı sistemlerden ayrılmaktadır. Mikropartiküllerin ilacı kontrollü olarak salması, hücre membranından geçmesi, etki etmesi istenen bölgede toplanması, stabilite sorunlarının olmaması, sterilize edilebilmesi, taşıyıcının fizyolojik ortamda parçalanması ve parçalanma ürünlerinin toksik olmaması istenmektedir (Gürsoy, 2002).

Nanopartiküllerin daha küçük boyutları nedeniyle immün sistem hücrelerinden kaçabildikleri için kanda kalış süreleri uzun olur ve ince kapilerlere kadar derin dokulara penetre olabilirler. Vücutta çeşitli hücreler tarafından alınabilir ve bağ dokuya kadar penetrasyon gösterirler. Böylece karaciğer, dalak, akciğer, lenf gibi birçok organa hedefleme yapılabilir (Garcia vd., 2005; Kaur vd., 2008). Nanopartiküllerin polimerik yapıları, aktif maddenin hedeflendirilmesini, salımının kontrolünü ve sürdürülmesini sağlar. Hedeflenen bölgede enjeksiyonlarını takiben, günler hatta haftalar süren bir aktif madde salınımına olanak verirler (Mohanraj ve Chen, 2007) ve biyolojik olarak parçalanabilme, biyogeçirgenlik, toksik olmama, mukoadesiflik gibi avantajlı biyolojik özelliklere sahiptirler (Garcia vd., 2005). Yüzey özelliklerinde ve parçacık boyutunda değişiklikler yapılabilirdi için parenteral uygulama sonrasında pasif ve aktif ilaç hedeflendirilmesine olanak sağlamaktadırlar. Bunun sonucunda nanopartiküllerin makrofajlar tarafından tanınması da engellenmektedir. Öte yandan tekrarlanabilir bir salınım profili, geleneksel yöntemlerle elde edilemeyen monodispers ilaç taşıyıcılarının üretimini gerekli kılmaktadır. Geleneksel yöntemlerden kaynaklı diğer bir zorluk farklı salım profillerine sahip birden fazla ilaç ya da büyüme faktörünü içeren taşıyıcıların üretiminde hem taşıyıcı içeriklerinde hem de salım değerlerinde çok hassas bir kontrolün gerekiyor olmasıdır. Bununla birlikte geleneksel yöntemlerle üretilen bu taşıyıcılarda istenen terapötik etkinin gösterilebilmesi için pahalı ilaçlardan yüksek miktarda ihtiyaç duyulabilmektedir (Riahi vd., 2015). Nanotıp olarak adlandırılan nanoteknolojinin tıp alanındaki uygulamaları nano boyutta terapötik ve tanı sistemleri geliştirme açısından oldukça ilgi görmektedir. Bu alandaki en ilginç uygulamalardan biri de farmasötik bileşiğin taşınımı, hedeflenmesi ve kontrollü bir şekilde salınmasını amaçlayan ilaç salım sistemleridir.

Nanosistemler içerisinde polimerik nanopartiküller oldukça umut verici özelliklere sahiptir (Bazban-Shotorbani vd., 2016). Nanoterapotiklerin klinik uygulamalarda yerini alması ve nanoteknoloji tabanlı ürünlerin üretimi ve kullanımındaki artış, nanopartiküllerin vücut içerisindeki davranışları ve hangi hücre tipleri tarafından alınacağı ile ilgili araştırmaların gerekliliğini ortaya koymuştur. Ayrıca, nanopartiküllerin hücresel mikroçevredeki dayanıklılığı ve farklı hücre ve organlardaki hareketleri de incelenmesi gereken bir konu haline gelmiştir (Marquis vd., 2015). Mikroakışkan sistemler analitik kimya, ilaç araştırmaları, tanı, kimyasal sentez, biyo algılama gibi farmasötik ve tıp endüstrisinin birçok alanında geniş bir kullanıma sahiptir. Buna ek olarak ilaç, genomik, proteomik ve laboratuvar otomasyonu alanlarındaki ilerlemeler mikroakışkan sistemlerin de gelişmesine öncülük etmiştir (Matosevic vd., 2011). Mikroakışkan sistemler kullanılarak üretilen hidrojeller son zamanlarda hem endüstriyel alanda hem de araştırma amaçlı çalışmalarda sahip oldukları özellikler (hidrofiliklik, biyouyumluluk ve geçirgenlik) ve küçük boyutların sağladığı işlenebilirlik, düşük maliyet gibi özellikler bakımında ilgi odağı olmuşlardır. Biyomedikal alanda hidrojeller çoğunlukla terapötik ajanların taşınım ve salınım amacıyla geliştirilmiştir. Ayrıca doku mühendisliği uygulamalarında hücreleri enkapsüle etmek için doku iskelesi (scaffold) olarak kullanılmaktadır (Kim vd., 2016). Su içeriği yüksek hidrofilik polimerik ağ yapısına sahip hidrojeller proteinlerin salımında yaygın olarak kullanılan biyomalzemelerdir. Bu polimerik yapılar, şişen hidrojelin %1 ile %10 arasında ağırlığını oluştururken, geriye kalan kısım çoğunlukla sudan oluşmaktadır. Çoğunlukla kimyasal çapraz bağlanma (serbest radikal polimerizasyonu gibi) ya da iyonik çapraz bağlanma (aljinatın divalent katyonlarla bağlanması) başvurulan yöntemlerdir. Çapraz bağlanma yoğunluğu üzerindeki ayarlamalar hidrojel özelliklerinin belirlenmesinde önemlidir. Yüksek çapraz bağlanma yoğunluğu esneklik katsayısını artırırken por çapını azaltmaktadır. Bu iki özellik polimerin ağırlıkça yüzdesi ile de değiştirilebilmektedir. Enkapsüle edilen bileşiğin diffüzivitesini ayarlamak için de çok sayıda çalışma yapılmıştır. Hidrojellerin hücreye bağlanabilen peptid ve proteinlerle işlevselleştirilebilme yeteneği aynı zamanda hidrojellerin bulunduğu çevre ile etkileşiminin de ayarlanabilmesine olanak tanımaktadır (Liu vd., 2016).

Bu çalışmada da biyoyararlanımı düşük biyoaktif moleküllerin bu özelliklerini iyileştirmek için, hidrojel mikropartikülleri içine enkapsüle etmek ve elde edilen

mikropartiküllerin biyoaktiviteleri incelenmektedir. Bu çalışma kapsamında uygun mikroakışkan aygıtların tasarımı ve fabrikasyonu gerçekleştirilerek, hidrojel mikroopartiküllerin en uygun koşullarda üretilebilmesi için optimizasyon çalışmaları yapılmıştır. Mikropartiküllerin karakterizasyonun yanısıra, antibiyotik yüklü nanopartiküllerin biyoaktivitesi incelenmiştir.



2. İLAÇ SALIM (İLETİM) SİSTEMLERİ

Biyoteknolojik ve farmokoloji gibi alanlarda ilacın ulaşması gereken yapıya taşınması temel sorunlardan biridir. Bu nedenle ilaç taşıyıcı sistemler araştırmacıların ilgi odağı haline gelmiştir. Biyoteknoloji de elde edilen çalışmalar doğrultusunda bu alanla ilgili, yeni ilaçların keşfine ve tasarımına yardımcı olmaktadır. Yaklaşık 60 yıldır ilaç kullanımında ortaya çıkan sorunları, yan etkileri, organlara ve dokulara verdiği zararı en aza indirmek için yeni ve durmadan gelişen teknolojilerden faydalanılır. Yapılan çalışmalar sayesinde hedefe odaklandırılan ilaç salım sistemleri elde edilir. Bu salım sistemler, biyoaktif bileşenlerin kimyasal tepkimede belirli hızda ve belirli bir yapıya özgül olacak şekilde serbestlenmesi sonucu oluşur. Hedeflendirilmiş ilaç salım sistemleri ilaçları daha pratik ve daha etkili bir şekilde hedefe taşınmasını sağlar (Girgin, 2017).

Nanopartiküller son 10 yıldan fazla bir süredir ilaç dağıtım alanındaki en popüler konu olmuştur. İlacın çoğunu hedef bölgeye iletme umuduyla doğrudan kana uygulanabilen nanoparçacıkların özelliklerinin manipüle edilmesinde önemli ilerlemeler kaydedilmiştir. Böylece, tümör tedavisi ve gen terapisinin başarısı, diğerleri arasında, tamamen ilaç verme sistemlerinin amaçlanan hedeflerine ulaşma yeteneğine bağlıdır. Tüm nanoparçacık ilaç dağıtım sistemleri, küçük hayvan modellerinde tümör büyüklüğünün küçültülmesinde kontrol üzerinde daha iyi etkinlik gösterse de nanoparçacık formülasyonlarının hiçbirisi başarıyla klinik uygulamalara dönüştürülmemiştir. İlaç dağıtım araştırmasının nihai amacı klinik olarak faydalı olmak ve çeşitli hastalıkların tedavisinde hastalara yardımcı olabilecek formülasyonlar üretmektir (Tiwari vd., 2012).

Günümüzde en yaygın olarak kullanılan ilaç salım sistemleri kontrollü salım tabletleridir. Bu kontrollü salım tabletlerine bağırsak (enterik) kaplı tabletler ve kapsüller en iyi örnektir. Bu kapsül ve tabletler asidik mide ortamında (pH: 1-3,5 HCl) çözünmezken nötral olan bağırsak ortamında (pH:7) ilacı salarlar; böylece ilacın mide asidinden korunmasını sağlayarak ilaç emilimini arttırmak amacıyla kullanılır. Ayrıca ilacın alındığı ilk andan itibaren bir kısmının salınıp geri kalanının da daha uzun süreyle ve daha yavaş bırakan sürekli salım tabletleri de kullanılmaktadır (Kumar vd., 2002).

İlaçların uygulama yolları; Transdermal, Oral, Parenteral ve Hedefe yönelik İlaç salım sistemleri olarak sıralanabilir.

2.1. Transdermal İlaç Salım Sistemleri

Dozajın ayarlanması hemen hemen her ilacın insan vücudu üzerindeki yan etkilerini önleyemez. Öte yandan, çoğu ilaç, uygulama yöntemiyle ilişkili olmayan olumsuz etkiler gösterebilir. Geleneksel ilaç dağıtım sistemlerinde karşılaşılan yan etkileri önlemek için transdermal ilaç dağıtım sistemleri geliştirilmiş, oral ilaç uygulaması yüzlerce yıldır denenmiştir ve şimdi tablet ve kapsül olarak kullanılmaktadır (Ranade ve Hollinger, 2004; Özcan, 2008). Topikal uygulama, özellikle lokal cilt hastalıklarında, yüzyıllardır kullanılmaktadır.

Transdermal salım sistemleri 1950'lerden beri kullanılmaktadır ve sistemik kan seviyelerine ulaşmak için tasarlanmıştır. Rezervuar sistemi, vücuda yerleştirip cilde takılarak başarılı bir şekilde kullanılabilir. Bu sistem, ilacın cilt boyunca salındığı ve dolaşım sistemine girdiği "transdermal sistem" olarak adlandırılır. Transdermal penetrasyon veya deri emilimi, ilaçlar gibi moleküllerin cildin dışından, deri tabakasından ve kan dolaşımına nüfuz etmesi olarak tanımlanabilir. Sistem, ilaca verildiğinde olumsuz yan etkiler veya toksik etkiler verebilir (Pathan ve Setty, 2009). Transdermal ilaç verilmesi, sistemik etki için sağlam bir ciltten terapötik bir maddenin uygulanmasıdır. Transdermal ilaç dağıtımı, kontrollü ilaç dağıtımı için oral yoldan aşağıdaki avantajları sunar (Kanikkannan vd., 2012).

- Karaciğer ilk geçiş metabolizmasından kaçınır.
- Sistemi kaldırarak uygulamayı durdurabilir.
- İlaç dozajını, oral dozaj formunun olağan gastrointestinal geçişinden daha uzun süre kontrol etme yeteneği.
- Absorpsiyona karşı biyolojik bariyerin özelliklerini değiştirme yeteneği.
- Oral yoldan kaynaklanabilecek fiziksel kontrendikasyonlar engellenir.
- Emilimi sağlanan ilaçlar ile hasta uyumu artırılmış olur.
- Toksik etki oluşması engellenir ve aşırı etkili ilaçların plazma seviyelerinin kontrol edilmesini sağlar

Transdermal ilaç salım sistemlerinin avantajlarının yanında dezavantajları da bulunmaktadır. Bunlar:

- Yüksek kan seviyesine ihtiyaç duyulan ilaçlar uygulanamaz

- Her deriye farklı şekilde uygulanabilirlik gösterebilir
- İlaçlar hassaslığa ve deride tahrişe sebep olabilirEkonomik açıdan bazı hastalar için uygun olmayabilir (Brown vd., 2006).

2.2. Oral Salım Sistemleri

Oral ilaç uygulaması, tarihsel olarak ilaç verme için baskın yol olmuştur. Gastrointestinal fizyolojinin dozaj formu tasarımında diğer yollardan daha fazla avantaj ve esneklik sunduğu için en popüler ilaç uygulama yolu olarak bilinmektedir. İlaç geliştirmede, ilaç endüstrisinde karşılaşılan en büyük zorluk, güvenli ve etkili ilaçlar üretmektir. Bu nedenle ilaçların özellikleri ve uygulama şekilleri en iyi şekilde optimize edilmelidir (Ensign vd., 2012). Kontrollü salımlı bir ilaç salım sistemi, ilacı belirli bir süre boyunca lokal veya sistemik olarak önceden belirlenmiş bir oranda verir. Bu kontrollü salım sistemlerinin amacı, terapötik plazma seviyelerine ulaşabilen arzu edilen iletim profilleri sağlamaktır. İlaç salımı polimer özelliklerine bağlıdır, bu nedenle bu özelliklerin uygulanması, iyi karakterize edilmiş ve tekrarlanabilir dozaj formları üretebilir (Park, 2014).

Oral salım sistemlerinin avantajları;

- Yüksek plazma ilaç konsantrasyonları veya 'doz dökümü' nedeniyle yan etkilerin azaltılması veya önlenmesi.
- Klasik tabletlerin aksine ilacın daha uzun bir süre boyunca salınması nedeniyle dozlama sıklığı azalır. Bu, atılım semptomlarını önlemek için bir ilacın plazma konsantrasyonlarının terapötik aralıkta olmasını gerektiren kronik hastalıkları olan hastalar için son derece değerlidir, örneğin, ölümcül hastalardaki gecede ağrının tedavisi (Sunna, 2012; Girgin, 2017).
- Terapötik ilaç konsantrasyonunun daha iyi kontrolü
- Hasta başına, ihtiyaç duyulan kadar tablet miktarı olarak uygun maliyetli üretim, geleneksel formuna kıyasla azalacaktır (Maderuelo vd., 2011).
- Azaltılan doza bağlı olarak hasta uyumunda iyileşme (Maderuelo vd., 2011).

Oral salım sistemlerinin dezavantajları;

- Bazı kontrollü salım formülasyonları için pahalı özel ekipman ve âtıl bileşenler gerekebilir.

- İlaç salım hızı, gıda ve mide geçiş süresi ile değiştirilebilir; sonuç olarak dozlar arasındaki salım hızında farklılıklar ortaya çıkabilir.
- Kontrollü salım ürünleri ezilmemeli veya çiğnenmemelidir, çünkü 'yavaş salınım' özelliklerinin yanı sıra toksisite kaybına neden olabilir.

Sürekli salım dozaj formları avantaj ve dezavantajlı durumların yanı sıra, farmasötik teknoloji uzmanları için birçok zorluk yaratmıştır. Bu tür formülasyonlar tasarlanırken ilaç salımının manipüle edilmesi ve elde edilen ürünün yukarıda belirtilen özelliklere sahip olması için, dikkate alınması gereken birçok faktör vardır (Ketul vd., 2011). Bunlardan bazıları şöyledir:

- Çözünürlüğü yüksek olan ilaçlar uygulamadan hemen sonra çözüleceğinden farklı ilaç çözünürlüğünün dikkate alınması gerekir. Çözünürlüğü azalması, tablette partikülün yer değiştirmesine bağlı olarak aşınma eğilimini artırır.
- İlacın yarı ömrü kısa olmalıdır. Yarı ömrü uzun olan ilaçlar da emilimine göre daha yavaş bir oranda ortadan kaldırılacağı için birikme riski vardır.
- İn vitro olarak test edilen bir ilacın bir kez uygulandığında benzer salım karakteristikleri sağlayabilmesi gerekir. Dikkatli ve kapsamlı bir analiz yapılmadan in-vivo salım ile in-vitro verilerin doğrudan korelasyonu mümkün değildir. Örneğin, gastrointestinal sistemin farklı kısımlarında suyun varlığında bir fark vardır ve uzun süren salınım için tabletler tasarlanırken bu faktörlerin dikkate alınması gerekir (Bhattarai ve Gupta, 2015).
- Çözünme karakteristikleri, ilacın kontrollü bir şekilde salınmasına izin vermeli ve fiziksel, farmakokinetik ve mekanik özelliklerine göre polimer seçiminin doğru olması önemini vurgulamalıdır (Plapied vd., 2011).

2.3. Parenteral Salım Sistemleri

Parenteral uygulama yolu, diğer fizikokimyasal sınırlamanın yüksek ilk geçiş metabolizması etkisiyle sınırlı biyoyararlanımı ve dar terapötik endeksi olan ilaçlar için metabolik biyoyararlanım ilacı olan aktif ilaç maddeleri için en etkili ve yaygın uygulama şeklidir. Bu nedenle, ilaç tedavisi süresi boyunca toplam enjeksiyon sayısını azaltabilen herhangi bir ilaç dağıtım teknolojisi sadece uyum açısından değil, aynı zamanda tedavinin

kalitesini artırma potansiyeli açısından da gerçekten avantajlı olacaktır (Gulati ve Gupta, 2011). İlaç dozlama sıklığında bu tür bir azalma, pratikte, aktif ilaç maddesinin salımının yavaş ve öngörülebilir bir şekilde gerçekleşmesini garanti eden spesifik formülasyon teknolojilerinin kullanılmasıyla elde edilir. Parenteral kontrollü ilaç dağıtım sisteminde kullanılan polimerler genellikle, biyolojik olarak parçalanabilen polimerlerdir. Vücutta parçalandığından ve dolayısıyla vücuttan çıkarılması gerekmediği için parenteral salım sisteminin hazırlanması için kullanılır (Agrawal vd., 2012).

Birkaç ilaç için, doza bağlı olarak, enjeksiyon sıklığını günde bir veya iki kez veya daha az sıklıkta azaltmak mümkün olabilir. Bu şekilde kandaki ilaç konsantrasyonunun maksimum ve minimum arasında olmasında farklı olarak istenen sabit bir düzeyde tutulabilir. Plazmadaki ilaç profillerinin bu şekilde kontrol edilebilmesi, sadece terapötik faydayı arttırmaz, aynı zamanda yan etkileri ve zamanla oluşan istenmeyen yan etkileri de azaltır (Malik vd., 2010). Parenteral salım sistemlerinin birçok avantajı bulunmaktadır (Girgin, 2017). Bunlardan bazıları şöyledir;

- Kolay işlenebilirliği, esneklik sağlaması, kontrollü salım için uyum potansiyeli yüksektir,
- dozlama sıklığı azaltılabilir ve buna bağlı olarak, toksisite riskinin az olması,
- biyoyararlanımın iyileştirilebilir olması,
- hasta için konforlu olması, bilinci kapalı olan hastaya da uygulanabilir olması.

Parenteral salım sistemlerinin avantajlarının yanı sıra dezavantajları da bulunmaktadır. Bunlar;

- Aygıt arıza tehlikesinin olması,
- invaziv olması,
- ticari dezavantajlarının olması
- güçlü doz ilaçla sınırlı olmasıdır (Gulati ve Gupta, 2011).

2.4. Hedefe Yönelik İlaç Salımı

Hedefli nano-mikro taşıyıcıların tıbbi kullanımı nanoteknolojinin önemli alanlarından biridir. Bu taşıyıcılar, çeşitli ilaçları ve görüntüleme maddelerini taşıyabilen nano ölçekli malzemelerdir. İn vivo ilaçlar tıpta çeşitli tam nanomalzemelerin kullanımı ileri bir aşamaya gelmiştir (Wagner vd., 2006). Tıbbi nanopartiküllerin 1-100 nm aralığında olması beklenir ve bu boyuttaki partiküllere nanopartiküller denir. Nanoparçacıklar genellikle "yukarıdan aşağıya" ve "aşağıdan yukarıya" olmak üzere iki farklı yöntemle hazırlanır. Yukarıdan aşağıya yaklaşım, büyük ölçekli, mikron ölçekli malzemelerin öğütme, homojenleştirme ve ultrasonik işleme yoluyla nano ölçeğe taşınması ilkesine dayanmaktadır. Aşağıdan yukarıya yönteminde, moleküler düzeydeki madde kimyasal sentez yöntemiyle nano ölçeğe çekilir (Aslan ve Aslan, 2018).

Geleneksel ilaçların aksine, hedeflenen nanoparçacıkların spesifik tedaviler sağlamaları beklenir. Klasik ilaçlar sıklıkla tekrar kullanılabilir, bu nedenle terapötik miktarlarda aktif madde dokulara verilebilir. Doz veya toksisite seviyesinin altında çakışmaya bağlı olarak, istenmeyen tablolar görünebilir ve aktif madde miktarını azaltır ve uygulama aralığını uzatır. Toksik etkileri ortadan kaldıran ve hedef bölgelere aktif maddeler sağlayan nano taşıma sistemleri güvenli bir alternatiftir (Hrkach vd., 2012). Bu şekilde plazma aktif madde konsantrasyonu terapötik düzeyde uzun süreli kalış ve aktif bileşenlerin ortadan kaldırılmasını azaltır. Bu nedenle aktif maddenin daha etkili kullanımı sağlanır (Tüylek, 2017). Bu noktada, implant sistemi çok önemli hale gelir. Bir implant hazırlanırken, salınan su miktarını kontrol edebilen bir polimer malzeme seçilmesi çok önemlidir. Polimer sistemine yerleştirilen aktif madde implantasyon yoluyla belirli organlara ve dokulara verilir. Bu şekilde, etki yerine ulaşmadan önce, yan etkiler metabolik dönüşüm yoluyla en aza indirilir, etkili terapötik doz azaltılır ve gelişen negatif reaksiyonlar ortadan kaldırılır (Wagner vd., 2006).

İlacın etki süresi tamamlandığında, implant sistemini dokudan çıkarmak için polimer parçalanmalıdır. Biyouyumlu polimerlerden yapılmış implante edilmiş sistemleri kullanarak, vücutta parçalanmalarını ve toksik ürünler üretmemelerini sağlayabilirsiniz. İmplant sistemleri biyoteknoloji ve genetik ilaçları organların, dokuların ve hücrelerin belirli alanlarına iletir. Bu süreçte, aktif maddeleri hedef hücrelere vermek için aktif ve pasif hedefleme stratejilerini kullanır. Aktif hedefleme, hücre yüzeyine artan taşıma, kan

ve diğ er biyolojik sıvılarda ilaç konsantrasyonunun optimize salınımı, d    k dozlarda etkili ve güvenli tedavi sağlar, ilaç stabilitesini artırır ve hedef alanda elde edilir. Gerekli farmakolojik yanıt en aza indiril,        yan etkiler bu süreçte en aza indirilmiştir (Boholm ve Arvidsson, 2016). Tüm bu nedenlerden dolayı, nanoparçacıkların ilaç dağıtım sistemlerinde kullanılmasının birçok avantajı vardır. İlaç toksisitesini birçok kez azaltan ilaç direncini önlemenin bu avantajları sayılabilir.

Gu vd., (2013) nanoparçacıkların kemik kanseri vakalarında kemik dokusu rejenerasyonu için destekleyici elementler olarak kullanılabileceğini, nanoparçacıkların ise gen terapisinde DNA ve RNA'yı belirli bölgelere transfer etmek için kullanılabileceğini  ne sürmüşlerdir (Gu vd., 2013).



3. İLAÇ SALIM SİSTEMLERİNİN ÜRETİLMESİ

Geleneksel ilaç verme sistemleri genellikle düzensiz sistemik ilaç dağılımına yol açan birden fazla uygulama gerektirir. Bu dezavantajların üstesinden gelmek için, önceden belirlenmiş sürelerde ilacın önceden belirlenmiş oranlarda salınmasına izin veren kontrollü uygulama sistemleri geliştirilmiştir (Grassi ve Grassi, 2018). Kontrollü sistemler ilaç etkinliğini artırır, toksisitesini azaltır ve hasta uyumunu iyileştirir. Diğer özellikler ilacın bozulmaya karşı korunması, farmakokinetik ve biyodağılımındaki değişiklikler ve yan etkilerin azaltılmasıdır (Wang vd., 2003). Molekül salımını içeren bir terapinin başarısı, çoğunlukla bu amaç için geliştirilen sistemin özelliklerine bağlıdır. Son birkaç yılda, biyoaktif ve biyolojik olarak uyumlu polimerik parçacıklar, biyoaktif maddelerin kontrollü taşınması için taşıyıcılar olarak önerilmiştir. Bu sistemler ayrıca moleküllerin oral, nazal, enjekte edilebilir veya transdermal gibi çoklu yollardan kolay uygulanmasına izin vermektedir (Langer, 1993). Bu faktörü göz önünde bulundurarak, sonraki yenilikler, sağlık hizmetlerinde, yani farmasötikler ve nutrasötikler, kozmetik, veterinerlik, tarım ve gıda endüstrisinde mikro / nanosfer veya mikro / nanokapsül uygulamalarının incelenmesini kapsamaktadır. Parçacık şekli ve boyutu, formülasyonların önemli özelliklerini oluşturur. Örneğin, farklı katı formülasyonlar taşıyıcıları, burun yolu (aerosoller) veya oral alım (kapsüller ve tabletler) yoluyla üretilebilir ve uygulanabilir. Ek olarak, mikrometre altı katı boyutlu sistemler de kan dolaşımına enjekte edilebilmektedir. Düşük ve yüksek moleküler kütleli terapötikleri, antijenler veya DNA gibi biyoaktif bileşikler daha sonra bu gibi küresel desteklere dâhil edilebilir ve vücut içinde sürekli bir şekilde salınabilir.

Parçacıkları üretmek etmek için kullanılan yöntem, şekillerini, boyut dağılımlarını, gözenekliliklerini, yüzey topografyalarını ve ilaç tutma kapasitelerini belirler. Üretim yönteminin seçimi, polimerin ve ilacın doğası, uygulama (terapinin doğası ve uygulama lokali) ve terapinin süresi gibi faktörlere bağlı olacaktır. Bu yöntemler belirlenirken, dikkat edilmesi gereken noktalar vardır: i) enkapsülasyon işlemi sırasında, ilaç stabilitesini ve biyolojik aktivitesini korumalıdır; ii) boyutlar ve elde edilen taşıyıcıların anizotropisi mümkün olduğunca küçük olmalıdır; iii) ilaç yükleme verimliliği yüksek olmalıdır; iv) ilaç salım profili belirli sınırlar dâhilinde ayarlanabilir olmalıdır; v) parçacıklar düşük ölçüde toplanma ya da yapışma göstermelidir ve vi) parçacıkların matrisini oluşturan polimer,

uygulama yeri ve terapötik uygulama tipi ile yeterli bir bozunma profili sergilemeli ve olumsuz ya da sistemik tepkilere sebep olmamalıdır. (Lima vd., 2012).

3.1. Salım Sistemleri Tipleri

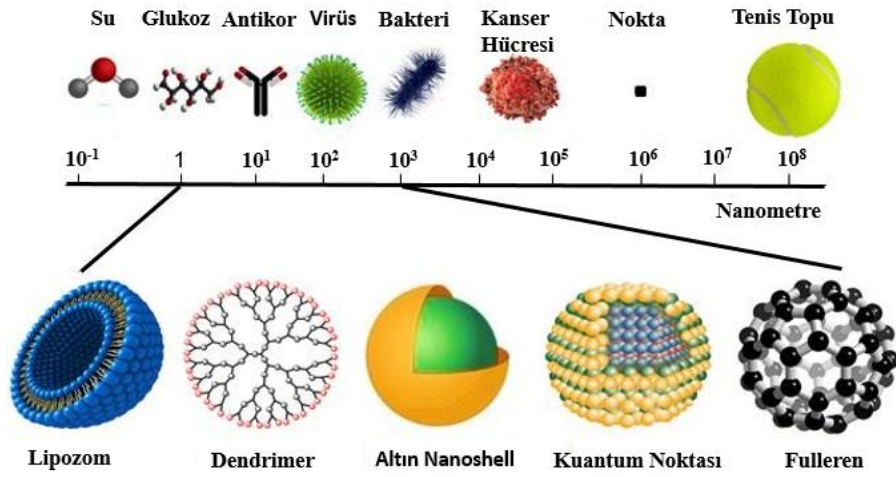
İlaç salım sistemi, teşhis, görüntüleme ve / veya terapötik maddelerin hedef organa veya dokuya kontrollü ve etkili bir şekilde güvenli bir şekilde ulaşmasını sağlamak için ilaçlar veya radyo kontrast maddeleri içerir. Son yıllarda, biyofarmasötikler alanındaki en önemli araştırma, yarı katı ve katı formlarda bulunan kolloidal ilaç dağıtım sistemleridir. Bir kolloidal taşıyıcı sistem kullanıldığında, tedavi için gerekli ilaç miktarı serbest ilacınkinden daha düşüktür. Bu nedenle, ilacın yan etkileri ve toksik etkileri azalır. Kolloidal taşıyıcı sistemleri hazırlama teknolojisi pahalı olmasına rağmen, yan reaksiyonları ve toksik etkileri azaltmak maliyetleri azaltır. Nanopartikül sistemi bir taşıyıcı parça ve üzerine yüklenmiş bir ilaçtan oluşur. Taşıyıcı kısım sentetik polimerler veya doğal makromoleküllerden (proteinler, selüloz, vb.) yapılmıştır. Sistem yalnızca teşhis amaçlı kullanılırsa, fizyolojik koşullar altında çökmez. Bununla birlikte, terapötik amaçlar için kullanılanların parçalanması gerekir. Fagositozdan giren hücrelerin kontrollü salım sağlamak ve etkilerini göstermek için lizozomal enzimler tarafından parçalanması beklenir (Uçmak Vural ve Özer, 2015).

Nanopartiküller, nanosferlerin, nanokapsüllerin, ilaç iletim sistemlerinin, lipozomların, niosomların, polimer sistemlerinin, dendrimerlerin, kolloidal altın, nanokristalin yarı iletken yapıların (QD kuantum noktaları), miseller, fosfomlar, mikro-kabarcıklar, mikroküreler ve bazı süpermanyetik parçacıkların atalarıdır. Farklı taşıyıcı sistemler arasında lipozomlar tanı ve tedavi için en önemli ve uygun sistemlerdir (Silindir vd., 2012). Aktif madde, ilaç verme sistemi tarafından seçici olarak istenen alana yönlendirilir. İlaç verme sistemleri arasında nanopartiküller, nanoemülsiyonlar, nano-süspansiyonlar, nanolipozomlar, lipozomlar, dendrimerler, fullerenler, karbon nanotüpler, nanojeller, polimer miseller, katı lipit nanopartiküller bulunur (Sayiner ve Çomoğlu, 2017).

3.1.1. Nano/MikroPartiküller

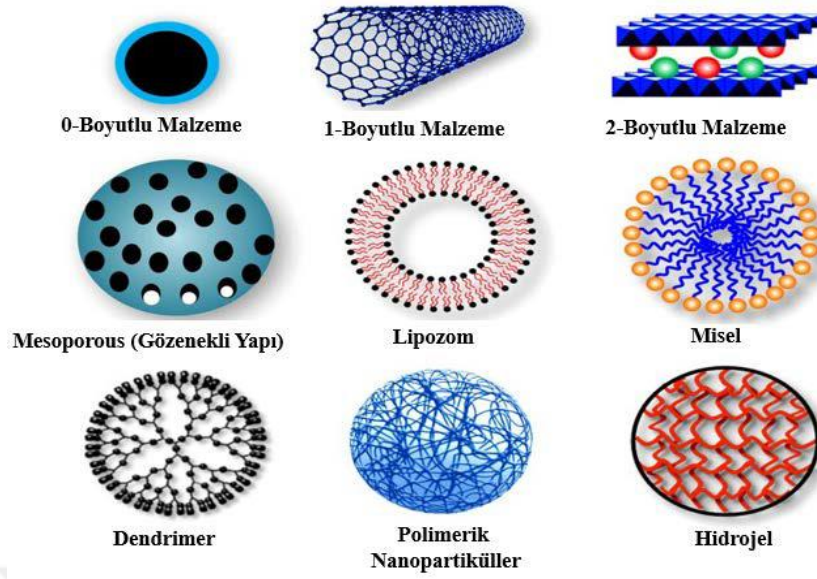
Nanopartiküller, 10-1000 nm aralığında bir büyüklüğe sahip partikül dispersiyonları veya katı partiküller olarak tanımlanır. Nanopartiküller (nanosferler ve 10-200 nm büyüklüğündeki nanokapsüller dâhil) katı haldedir ve şekilsiz ya da kristallidir. Polimerik malzemeler nanopartiküllerin hazırlanması için yaygın olarak kullanılmaktadır. Hazırlama yöntemine bağlı olarak nanopartiküller, nanoküreler veya nanokapsüller elde edilebilir. Nanokapsüller, ilacın benzersiz bir polimer membran ile çevrili bir boşlukla sınırlı olan sistemlerdir, nanosferler ise ilacın fiziksel ve eşit olarak dağıldığı matris sistemleridir (Kadam vd., 2014).

Mikropartiküller, mikroküreler ve mikrokapsüller, yapısal ve fonksiyonel yeteneklerine göre çok sayıda avantaj sunan çok partikülatlı ilaç iletim sistemlerinin ortak bileşenleridir ve bunların uygulanması, çeşitli yollardan uygun ve tolere edilebilir ilaç uygulamaları için uygundur. Formülasyona bağlı olarak, katılar (kapsüller, tabletler, keseler), yarı katı (jeller, kremler, macunlar) veya sıvılar (çözeltiler, süspansiyonlar ve hatta parenteraller) gibi farklı farmasötik dozaj formlarına dâhil edilebilirler. Mikro taşıyıcıların nanopartiküllere göre bir avantajı, lenf tarafından taşınan 100 nm büyüklüğünde interstisyuma geçmemeleri ve böylece lokal olarak hareket etmeleridir. Muhtemelen toksik maddeler kapsül içine alınabilir ve sıvılar, kurutulmuş mikropartiküller biçiminde katı madde olarak kullanılabilir. Çok partikülatlar durumunda, doz, dozun bir kısmını taşıyan ve serbest bırakan birçok küçük ayrı parçacığa dağıtılır, bu nedenle tek bir alt birimin işlememesi, tüm dozajın başarısız olmasına neden olmaz. Mikropartiküllerin boyutları 1 ila 1000 µm arasında değişir ve içinde bulundukları iyi bilinen matris veya rezervuar yapısı çeşitli farklı yapılara sahiptir (Şekil 3.1). Kullanılan yardımcı maddelerin ötesinde, yapı ve şekil de işlevi belirler. Çok parçalı ilaç dağıtım sistemleri (mikropelletler, mikrogranüller, mikroküreler, mikrokapsüller, mikrosponlar, lipozomal hazırlıklar) çok çeşitli elverişli teknolojik özellikleri nedeniyle dikkat çekmektedir (Lengyel vd., 2019).



Şekil 3. 1. Nanopartikül boyut dağılımları ve diğer biyolojik molekülleri ile karşılaştırma (Uddin, 2019).

Nanopartiküller, en yaygın metaller, metal oksitler, silikatlar, oksit olmayan seramikler, polimerler, organikler, karbon türevleri ve biyomoleküller olmak üzere çeşitli yapıların malzemelerinden sentezlenebilir (Shah vd., 2016). Nanoparçacıklar küresel, silindirik, kübik, tübüler, spiral, üçgen, çubuk şeklinde vb. birçok farklı formda bulunabilir. Genel olarak, nanoparçacıklar belirli uygulamaların ihtiyaçlarına uygun yüzey modifikasyonlarıyla tasarlanmıştır. Büyük kimyasal özellikler, şekil ve morfoloji, parçacıkların ortamı, parçacıkların dağılımı ve en önemlisi, nanoparçacıkların gerçekleştirebileceği çeşitli yüzey modifikasyonları nedeniyle, nanopartiküllerin büyük çeşitliliği günümüzün nanoteknolojisinde önemli bir rol oynamaktadır (Şekil 3.2). Cazip özellikleri nedeniyle, nanoparçacıkların enerji, fizik, kimya, biyoloji, biyoteknoloji, tıp, sanayi, teknoloji ve sanayi gibi geniş bir kullanım alanı vardır (Huang vd., 2007; Nair vd., 2010; Tiwari vd., 2011).



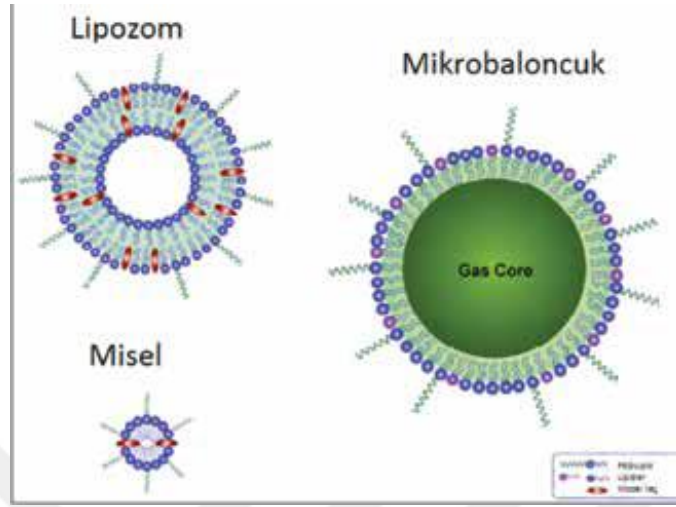
Şekil 3. 2. Kontrollü salım aracı olarak kullanılan nanopartikül çeşitleri (Senapati vd., 2018).

Nanopartiküller genellikle organik nanoparçacıklara ve karbon nanoparçacıklar içeren inorganik nanoparçacıklara ayrılır. İnorganik nanopartiküller arasında manyetik nanopartiküller, değerli metal nanopartiküller (altın, platin, paladyum, gümüş, vb.) ve yarı iletken nanoparçacıklar (titanyum oksit ve çinko oksit gibi) bulunur (Tiwari vd., 2012; Atabae, 2016). İnorganik nanopartiküller, değerli metal nanopartiküller (altın, platin, paladyum, gümüş, vb.) ilgi çekicidir, çünkü mükemmel işlevsellik ve çok yönlülük sağlayan malzemeler sağlarlar.

3.1.2. Lipozomlar

Lipozomlar, sulu bölmeleri içine alan bir veya daha fazla eş merkezli lipit çift katmanından oluşan kolloidal yapılardır. Lipozomlar, temelde fosfolipid yapılar, hücreler membranları, polar ve polar olmayan, esnek vezikül oluşumu, iki tabakalı lipit tabakası, toksik olmayan ve biyolojik olarak inert malzemelerdir (Şekil 3.3). Lipozomlar ilaç salım sistemleri için bir ilaç taşıyıcı olarak giderek daha fazla ilgi çekmektedir. Çünkü hem hidrofilik bileşikler (karboksifloresan ve sodyum floresein) hem de hidrofobik bileşikler (retinoik asit ve tretinoin) tutma özelliğine sahiptir. Lipozomlar ilk kez 1961'de İngiltere'de

fosfolipidler sulu çözelti içinde hidratlandığında ortaya çıkan, rastgele olarak kapalı yapılar olarak üretilmiştir (Karami vd., 2018).



Şekil 3. 3. Lipid bazlı partiküllerin şematik gösterimi (Uçmak Vural ve Özer, 2015).

Klinik olarak onaylananların çoğunun çapı 50-300 nm'dir. Birkaç yetenekli yeni ilaç dağıtım sistemi arasında lipozomlar, aktif molekülleri etki alanına iletmek ve in vitro ve in vivo aktivitesini iyileştirmek, ayrıca ilacın toksisitesini azaltmak ve etkinliğini arttırmak için istenmeyen yan etkileri azaltmak için kullanılan ileri bir teknolojidir. Yapıları şu şekildedir; küçük tek katmanlı veziküller (SUV: 20-100 nm), büyük tek katmanlı veziküller (LUV:> 100 nm), çok lamelli veziküller (MLV:> 500 nm), oligolameller (OLV >: 0.1-1 µm), dev unilamellar lipozomlar (GUV:> 1 µm) ve multiveziküler veziküller (MUV:> 1 µm) (Lengyel vd., 2019).

Genellikle, lipozomlar kolesterol ve fosfolipidlerden oluşur. Lipozomların bu özel yapısı, sulu ortamlarda kendiliğinden sızdırmazlık gibi benzersiz özellikler yaratır ve bunları tıp, kozmetik, ekoloji, temizlik ve gıda endüstrisi gibi farklı alanlardaki uygulamalarla ideal taşıyıcı sistemler haline getirmektedir. Lipozomların özellikleri, lipid bileşimi, yüzey yükü, boyutu ve yöntemi gibi çeşitli faktörlerden etkilenir (Lengyel vd., 2019). Oftalmik (göze ait) uygulamalar için, hücre zarı benzeri bir yapı tasarlanarak hem hidrofilik hem de hidrofobik aktif farmasötik bileşenler için ideal ilaç salım sistemlerin üretilmiştir. Yüzeydeki yük dağılımının biyoyararlanıma katkıda bulunabildiği belirtilmiştir. Örneğin katyonik lipozomlar, kornea yüzeyinde negatif bir yük ile daha iyi etkinlik gösterdiği bildirilmiştir. Lipozomlar, çeşitli mekanizmalarla hücrelerle etkileşime girebilir, hücre yüzeyi bileşenleri ile etkileşim, membran ile füzyon, fagositik hücreler

yoluyla endositoz veya iki tabakalı bileşenler tarafından etkileşime girebilir. Hazırlama yöntemleri de çok yönlüdür: çözücü buharlaştırması, çift emülsiyon buharlaştırması veya ters faz buharlaştırmasıdır (Karami vd., 2018).

3.1.3. Kolloidosomlar

Seçici geçirgenliğe sahip kolloidosom mikrokapsüller, kontrollü salım sistemlerinde kullanabilir özelliklere sahiptirler. Kolloidosomlar normal şablonlar olarak emülsiyon damlacıkları kullanılarak hazırlanırlar. Kolloid partikülleri, emülsifikasyon sırasında yağ / su arayüzünde adsorbe ederek ve sürekli bir zar oluşturmak için düzenli bir dizi halinde kendiliğinden organize ederek etkili bir şekilde stabilizatörler olarak işlev görürler. (Dinsmore vd., 2002). Pickering emülsiyonları olarak da adlandırılan bu gibi parçacık stabilize emülsiyonlarda, parçacığın adsorpsiyon enerjisi normalde küçük yüzey aktif madde moleküllerinin birkaç bin katıdır, bu nedenle kolloidal parçacık kalıcı olarak adsorbe olma eğilimindedir. Bu parçacıklar daha sonra farklı mekanizmalar kullanılarak yüzeyde sabitleştirilebilir ve kalıcı membran kabukları oluştururlar. Parçacık dizisi, farklı boyut ve şekillerde kolloid parçacıklarının, kullanılmasıyla ayarlanabilir, gözeneklilik sağlayabilir ve immobilizasyon yöntemi, zar kabuğunun gözenekliliğinin ve geçirgenliğinin manipülasyonuna da izin vermektedir (Yuan vd., 2010).

Kolloidosom hazırlama prosedürleri genellikle yağ çekirdeğinin çıkarılmasını ya da kapsüllerin farklı bir sürekli faza aktarılmasını içerir. Bu tür işlem adımları genellikle zordur ve çok düşük verim sağlayabilir ayrıca sadece akademik araştırmalar için uygun olabilir. Büyük ölçekte kolloidosomlar üretmek için, kullanılan parçacığın tek stabilizör olarak iyi stabilizasyon sağlayabilmesi ve nispeten basit bir işlem ortamında boyut stabil damlacıkların oluşumunu kolaylaştırabilmesi gerekir. Parçacık immobilizasyonu daha sonraki üretim, depolama ve yüksek verimlerde kullanım aşamalarına dayanması için mekanik olarak güçlü bir kolloidosom membran oluşturmak üzere daha yüksek konsantrasyonlarda gerçekleştirilebilir (Yuan vd., 2010).

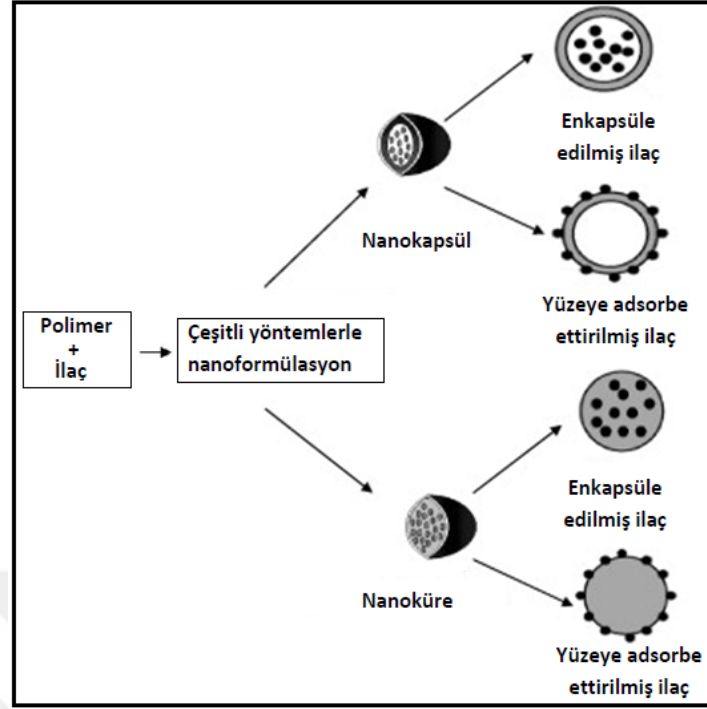
3.1.4. Polimerik Nanopartiküller

Hazırlama yöntemine göre, boyutu 10-1000 nm arasında değişen, nanoküreler veya nanokapsüller olarak adlandırılan polimer nanoparçacıklarının hazırlanması için doğal

veya sentetik polimerler kullanılır. Yüzeye çözünen, hapseden ve adsorbe eden veya bağlayan malzemelerdir (Özcan, 2008). Biyobozunur ve biyouyumlu polimerlerden (polilaktik asit (PLA), poliglikolik asit (PGA) veya bunların kopolimerlerinden, poli (d, l-laktik-ko-glikolik asit) (PLGA) üretilir (Kumari vd., 2010). Polimer tipleri ve isimleri Tablo 3.1’de gösterilmiştir. Nanopartiküller ilaç dağıtım sistemlerinde en çok çalışılan sistemdir. Son yıllarda tıpta ve biyoteknolojide nanosistemlerle ilgili nanoteknoloji araştırma ve uygulama ile ilgili çalışmaların sayısı büyük ölçüde artmıştır. Tıbbi uygulama; ilaçlar, genler ve antijenler için bir taşıyıcı olarak kullanılması, in vitro / in vivo teşhislerin yönetimi, diyet takviyeleri ve iyileştirilmiş biyouyumlu materyallerin üretimi gibi aşağıdaki konuları kapsar (Kreuter, 2004).

Hazırlama yöntemine bağlı olarak, kapsüllenmiş terapötik ajanın farklı özellikler sergilediği ve farklı salım karakteristikleri gösterdiği nanoküreler veya nanokapsüller elde edilir. Nanokapsüller, ilaçların boşlukta hapsedildiği ve polimer zarlarla çevrildiği kese benzeri sistemlerdir. Nanoküreler, ilaçların fiziksel ve eşit olarak dağıldığı matris sistemleridir (Derman vd., 2013). Nanopartiküller, nanoyapıları nedeniyle mikropartikül sistemlerinden daha fazla hücrelere girebilir. Desai vd., (1997) tarafından yapılan bir çalışmada, PLGA ile hazırlanan ve BSA içeren 0.1, 1 ve 10 µm boyutlu partiküllerin hücre girişleri incelenmiş ve 0.1 µm boyutuna sahip nanopartiküllerin 1 µm’de 2.5 kat; 10 µm’den ise 6 kat daha fazla hücre içine girme kapasitesi olduğu gösterilmiştir (Desai vd., 1997).

Polimerik nanopartiküller avantajları olarak, doğal veya sentetik polimerler kullanılarak elde edilir; ilaçlara ek olarak, proteinler nanopartiküllerin peptitleri ve genleri ilgili dokulara hedeflemedeki avantajları iki temel özellikten gelir. Bu özelliklerin ilki, nanoparçacıkların daha küçük bir parçacık boyutuna sahip olmasıdır. Bu nedenle, hücrelere küçük kılcal damarlardan girerler ve hedef alanda etkin maddeler biriktirirler; ardından nanoparçacıkların hazırlanmasında biyolojik olarak bozunur maddelerin kullanımı izler (Kunzmann vd., 2011). Hazırlama yöntemine bağlı olarak kapsüllenmiş terapötik ajanın farklı özellikleri ve farklı emisyon özelliklerine sahip nanoküreler veya nanokapsüller üretilir. Nanokapsüller alveolar sistemlerdir, ilaç bir boşlukta hapsolür ve bir polimer zar ile çevrelenir, nanoküreler ilacın fiziksel ve eşit olarak dağıldığı matris sistemleridir (Şekil 3.4).

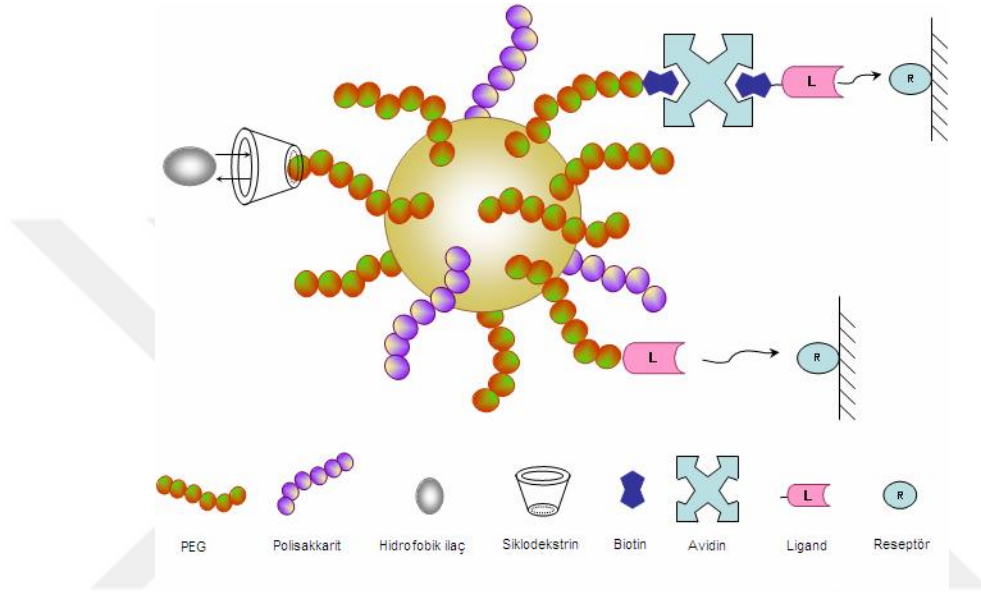


Şekil 3. 4. İlaç taşıyıcı nanopartikül çeşitleri (Kumari vd., 2010).

Tablo 3. 1. Polimer nanopartiküllerin hazırlanmasında kullanılan polimerler (Derman vd., 2013).

Polimer Tipleri	Polimer İsimleri
Sentetik Polimerler	Poli(laktid) Poi(laktid-ko-glikolid) Poli(epsilon-kaprolakton) Poli(izobütillsiyanoakrilat) Poli(izoheksilsiyonaakrilat) Poli(n-bütillsiyanoakrilat) Poli(akrilat) Poli(metakrilat)
Doğal Polimerler	Kitosan Aljinat Jelatin Albümin
Blok Kopolimerler	PLA-PEG Poli(epsilon-kaprolakton)-poli(etilen glikol) (PCL-PEG) Poli(heksadesilsiyonaakrilat)-ko-poli(etilen glikol) (PHDCA-PEG)
Kolloidal Stabilizanlar	Dekstran Poli(vinil alkol) Tween*20 veya Tween*80

Son yıllarda, izotermal titrasyon kalorimetresi (ITK) yöntemi, protein bağlama yeteneklerini azaltmak için tasarlanmış nanopartiküllerin yüzeyinde PEG varlığını belirlemek için kullanılabilir. ITK, yüzeydeki farklı fonksiyonel gruplara sahip polimer nanopartiküllerini karakterize etmek için de kullanılabilir. Şekil 3.5'te polimerik bir nanopartikülün yüzeylerinde bulunan farklı fonksiyonel gruplar gösterilmektedir (Özcan, 2008).



Şekil 3. 5. Yüzeyleri farklı fonksiyonel gruplar taşıyan polimerik nanopartiküller (Özcan, 2008).

3.2. Salım Sistemlerinde Kullanılan Malzemeler

Son yıllarda polimer bazlı biyomalzemelerden ilaç salım sistemlerine olan ilgi oldukça artmıştır. Zaman veya hız kontrollü oral preparatların geliştirilmesi ile ilgili çok sayıda araştırma yapılmaktadır. Dozajdan doğru ilaç salınımı, terapatik etkiyi arttırmak açısından büyük önem arz etmektedir. Hedef bölgeye belirli bir zaman içerisinde gereksinim duyulan miktarda ilacın hedefe götürülebilmesi için taşıyıcı malzemeler geliştirilmektedir (Hirayama ve Uekama, 1999). İlaç salım sistemlerinin amacı, ilacın istenilen bölgeye sürekli veya aralıklı olarak sorunsuz ve etkili bir şekilde hedefe ulaşmasını sağlamaktır. Bu görevi en iyi şekilde, kimyasal, fiziksel ve mekanik özellikleri sayesinde yerine getiren yapılar polimerlerdir. Polimerler sentetik veya doğal olabilirler. Doğal olarak elde edilen polimerler, biyopolimerler olarak adlandırılırlar. Aljinat, jelatin,

nişasta, kollajen, kitin ve kitosan gibi biyobozunur doğal polimerlerdir. Polikaprolakton, polilaktik-ko-glikolik asit, polietilenglikol, polivinilalkol ve poliüretan gibi biyobozunur sentetik polimerlerdir (Nair ve Laurencin, 2007).

İlaç salım sistemlerinde kullanılan biyopolimerlerle ilgili yayınlar ilk olarak 1980'lerde ortaya çıkmıştır. 2000 yılından bu yana bu yayınlar güncel hale gelmiş ve 2005 yılından sonra daha da artmaya başlamıştır. İlaç salım sistemlerinde kullanılan biyopolimerlerin kullanımı yayınlanan bu verilerle ne kadar büyük bir pazar olduğunu kanıtlamaktadır. Bu pazarın en büyük payı %36'lık dilimle kabuklu deniz canlılarının kabuklarından elde edilen kitosanolardır. Kitosandan sonra %17'lik oranla dekstran %14'lük oranla aljinat ve %12'lik oranla jelatin kullanılmaktadır (Kalia ve Avérous, 2011).

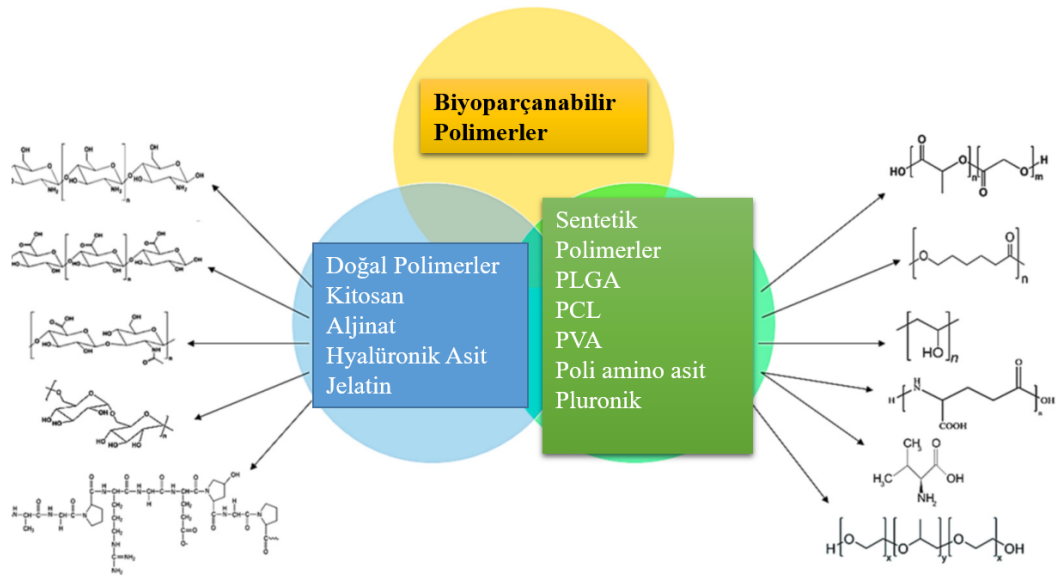
3.2.1. Doğal / Sentetik Polimerler

Bir polimer, kimyasal bağlarla düzenli veya düzensiz bir şekilde bağlanmış çok sayıda benzer veya farklı atomdan oluşan uzun zincirli bir bileşiktir. Molekül ağırlığı (Mw), erime sıcaklığı (Tm), cam geçiş sıcaklığı (Tg) ve çözünürlük gibi fiziksel ve kimyasal özellikler incelenmiş ve genel özellikleri belirlenmiştir. Polimer, kristalli, yarı kristalli veya amorf formda olabilir (Yapar, 2012). Tıbbi ve farmasötik alanlarda yaygın olarak kullanılan polimerler temelde biyolojik olarak bozunur ve biyolojik olarak bozunmayan polimerler olarak iki kategoride sınıflandırılır. Biyobozunur olmayan polimerler hidrofilik veya hidrofobik, doğal veya sentetiktir. Biyolojik olarak bozunmayan polimerler suda çözünmezken, hidrofilik olanlar sulu ortamlarda şişme özelliğine sahiptir. En yaygın olarak kullanılan örnekler poli (hidroksietil metakrilat) ve metakrilattır; sentetik, amorf ve hidrofilik, polietilen-vinil asetat kopolimerleri ve diğer poliolefinler; sentetik, yarı kristalli olabilmektedir (Gürsoy, 2002). Biyolojik olarak bozunabilir polimerler de doğal veya sentetik olabilir ve bu polimerler suda çözünmez. Biyolojik olarak bozunabilir polimerler, enzimler tarafından sadece biyolojik sıvılarla temas halinde bozunabilen veya hidrolize edilebilen bileşikler olarak tanımlanır (Ju vd., 2009).

Biyodegradasyon iki aşamada gerçekleşebilir. İlk aşama moleküler bağların rastgele kırılmasıdır. Bu kırılma sonucu değişen moleküler ağırlık polimerin mekanik özelliklerinin ve morfolojisinin değişmesine neden olur; ikinci aşama zincir kırılması sırasında ölçülebilir ağırlık kaybıdır. Bu aşamada, polimerin molekül ağırlığı en aza indirilir ve

yapıdan çözünen en küçük birim olan bir oligomer yapısı oluşturulur. Bu oligomerler en yakın dokulara yayılacağından, biyouyumlu olmaları gerekir. Polimerlerin ayrışma ürünleri vücuttan temizlenmeli veya emilmelidir. Oral formülasyonlarda eliminasyon doğal bir yoldur, ancak polimerin parenteral veya diğer formülasyonlarda tamamen ayrışmasını sağlamak için çoklu formülasyonlar gereklidir (Hines ve Kaplan, 2013).

Tıp alanında da yaygın olarak kullanılan biyobozunur polimerler, örneğin suda çözünür polimer bazlı cerrahi dikişlerdir. Doku mühendisliğinde kullanılan ilk biyomateryal, laktik asit (PLA, polilaktik asit) ve glikolik asit (PGA, poliglikolit) gibi organik asitlerden üretilen biyobozunur sentetik polimerlerdir. Organik asit matrisi organlar ve dokular (cilt, kemikler, kıkırdak, tendonlar, kaslar (şerit, düz ve kalp), ince bağırsak gibi) için temel oluşturur. Kollajen, kitosan ve aljinat biyolojik matris malzemeleridir. Aljinat, deniz yosunundan türetilmiş bir polisakkarittir. Kitosan, kabuklu ve yumuşakça kabuklarından türetilen azot içeren bir polisakkarittir (Mansoor vd., 2019). Biyoparçalanabilir polimerler Şekil 3.6'da kimyasal yapıları gösterilerek sınıflandırılmıştır.



Şekil 3. 6. Biyoparçalanabilir polimerlerin sınıflandırılması (Mansoor vd., 2019).

Biyomalzemelerin temel kaynağı doğal polimerlerdir. Biyolojik ortamdaki makromoleküllere benzer veya aynı olduklarından, canlı organizmalarla temas ettiklerinde toksik etkiler ve iltihaplanma gibi olumsuz reaksiyonlar üretmezler. Doğal polimerler

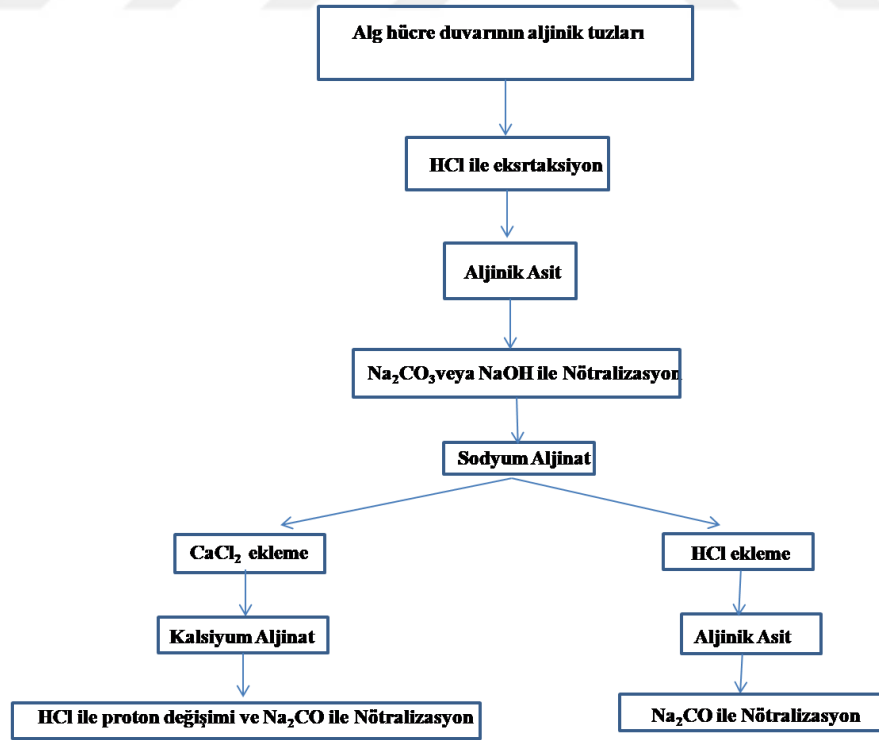
olarak sınıflandırılan kontrollü salım sistemlerinin hazırlanması için sistem; albümin, jelatin, kollajen, gluten, kazein, fibrinojen, fibronektin, protein yapılı antikorlar; şeker yapılı aljinat dekstran, kitin, kitosan, nişasta, selüloz, pektin; lipit yapısı stearik asit, etil stearat, gliseril tristearat, hidrojene bitkisel yağ, fosfolipidler (soya fasulyesi veya yumurtadaki lesitin) ve bunların türevleri, örneğin posfatidil kolin (fosfatidiletanolamin); nükleotid yapısına sahip plazmid DNA örnek olarak kullanılabilir (Bond, 1980).

3.2.1.1. Aljinat

Aljinat, 1–4 bağlantılı a-L-guluronik ve β -D-mannuronik asit kalıntılarından oluşan kahverengi deniz yosunlarından ekstrakte edilen doğrusal bir polisakkarittir. Aljinatın jelleşmesi ve çapraz bağlanması, guluronik asitten sodyum iyonlarının Ca^{2+} gibi iki değerlikli katyonlarla değiştirilmesiyle elde edilir. Ancak tek değerlikli katyonlar ve Mg^{2+} iyonları jelleşmeye neden olmaz. Aljinat, kontrollü ilaç salım sistemlerinde; pH-duyarlılığı, biyouyumluluk, biyo-yapışkanlık ve hafif jelasyon özellikleri sayesinde kullanıma uygun hale getirmiştir (Bazban-Shotorbani vd., 2016). Peptitlerin ve proteinlerin oral yoldan verilmesi aljinatın ana uygulamalarından biridir. Bunların oral yoldan verilmesindeki ana zorluk, midedeki sert asidik ortamından dolayı kararsız olmalarıdır. Gastrointestinal sistemin pH ortamı, mide içindeki asidikten bağırsak ve kolondaki alkaline doğrudur. Bu nedenle, aljinat gibi pH duyarlı polimerin kullanılması, proteinlerin başarılı oral yoldan verilmesi pH uyarıcı matrisler için molekül ağırlığının hesaplanması diğerlerinden daha karmaşıktır (Shi vd., 2014). Aljinat gıda endüstrisinde yoğunlaştırıcı, emülgatör ve dengeleyici olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Aljinatlar, FDA (gıda ve ilaç idaresi) tarafından genellikle güvenli (GRAS) olarak kabul edilen bir bileşiktir. Aljinatın oral yoldan verilmesinin, IV terapi (intravenöz) olarak uygulanan formlardan farklı olarak çok fazla bağışıklığı baskılayıcı olduğu gösterilmemiştir ve oral yoldan verildiğinde aljinatın toksik olmadığı, biyolojik olarak parçalanabilir olduğu bildirilmektedir (George ve Abraham, 2006).

Mukoadezif ilaç salım sistemleri, aktivite ya da emilim yerinde ilacın kalma süresini arttırarak çalışır. Aljinatın muko-yapışkan özelliği, gastrointestinal yolu gibi mukozal dokulara ilaçlar için potansiyel bir dağıtım aracı olarak kullanımında yardımcı olabilir. Çalışmalar, yük yoğunluğu olan polimerlerin iyi mukoadezif ajanlar olarak kullanılabileceğini ön görmüştür. Artan yük yoğunluğu daha iyi yapışma sağlar. Ayrıca

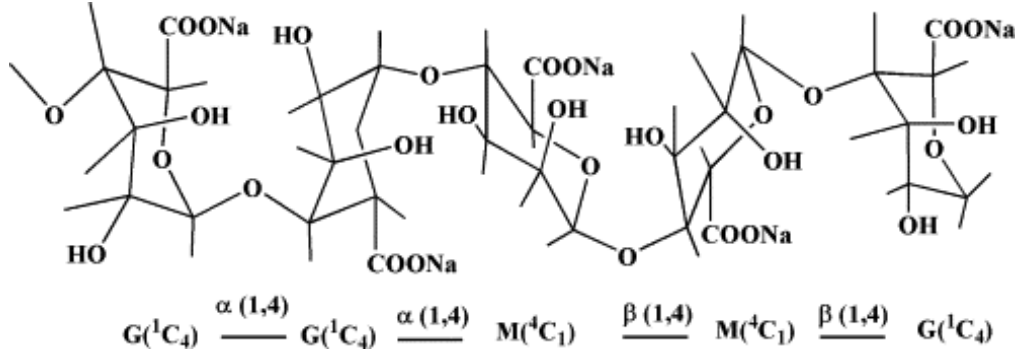
polianyon (eksi yüklü polimer) polimerlerinin, polikasyon (artı yüklü polimer) polimerlerinden veya noniyonik (yüksüz polimer) polimerlerden biyo-yapışkan olarak daha etkili olduğu bildirilmiştir. Aljinat, karboksil uç gruplarına sahip anyonik bir polimer olan iyi bir mukoadezif ajandır. Araştırmalar sonucunda aljinatın polistiren, kitosan, karboksimetilselüloz ve poli (laktik asit) gibi polimerlere kıyasla en yüksek muko yapışma gücüne sahip olduğu belirlenmiştir. Aljinat nanoparçacıklarının mukozal dokulara yapışması nedeniyle, protein geçiş süresi gecikir ve ilaç biyoyararlanımını ve etkinliğini artırır (George ve Abraham, 2006). Kalsiyum (Ca) aljinat tanecikleri basit ve hafif prosedürlerle hazırlanabilsede, bu yöntemin önemli bir sınırlaması vardır ve bu da tanelerin hazırlanması sırasında taneciklerdeki gözeneklerden sızarak ilaç kaybına sebep olmasıdır. Bu nedenle, aljinatın birçok modifikasyonu ilaç salım sistemi amaçları için test edilmiştir. Aljinatların aldehytler ile çapraz bağlanması başarıyla gerçekleştirilmiştir. Sodyum (Na) aljinat tek başına ya da ovalbümin veya jelatin ile birlikte aldehytlerle çapraz bağlanmıştır. Aljinatların mikropartikülleri ve boncukları çeşitli uygulamalarda kullanılmak için hazırlanmıştır. Çapraz bağlı aljinat, ilaçları tutma kapasitesine daha fazla sahiptir. Böylece yakalanan ilaçlar daha kontrollü bir salım profilini gösterir (Chan ve Heng, 2002).



Şekil 3. 7. Aljinatların genelleştirilmiş ekstraksiyon stratejileri (Draget, 2009).

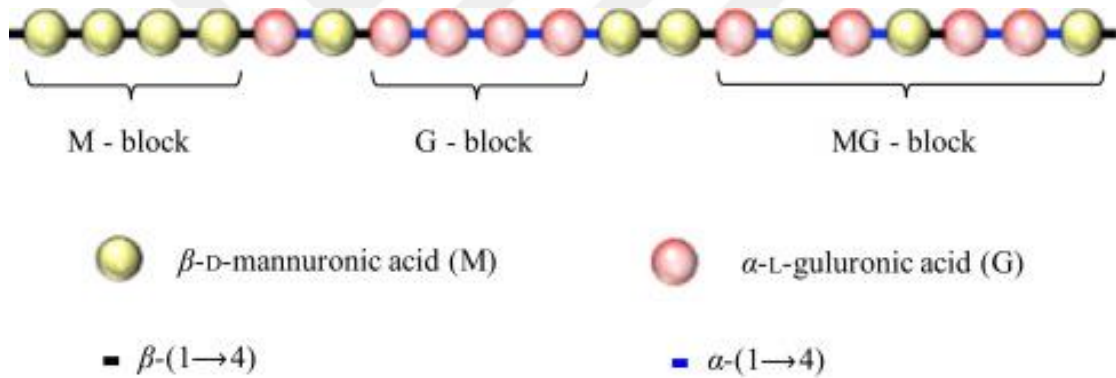
Ticari olarak temin edilebilen aljinat temel olarak *Laminaria hyperborea*, *Laminaria digitata*, *Laminaria japonica*, *Ascophyllum nodosum* ve *Macrocystis pyrifera* dahil olmak üzere kahverengi alglerden (Phaeophyceae), elde edilir ve olarak NaOH ile işlenerek ekstrakte edilir. Ekstrakt filtrelendir ve aljinatı çöktürmek için içerisinde sodyum veya kalsiyum klorür eklenir. Bu çözelti, seyreltik hidroklorik asit (HCl) ile işlenerek aljinik aside dönüştürülebilir (Şekil 3.7). Saflaştırma ve dönüştürme işleminden sonra suda çözünür sodyum aljinat tozu elde edilir. Kuru ağırlık bazında aljinat, *A. nodosum* için %22-30, ve *L. digitata* için %25-44 içermektedir (Draget, 2009).

Fischer ve Dörfel, L-guluronat kalıntısını açıklayan kadar, D-mannuronat, aljinatın ana bileşeni olarak bilinirdi. Manganez ve kalsiyum tuzları ile fraksiyonel çöktürme daha sonra aljinatların aslında blok kopolimerler olduğunu ve guluronatın mannuronata oranının doğal kaynağa bağlı olarak değiştiğini ön görmüştür. Aljinatın artık (1,4) -d-mannuronat (M) ve -Lguluronat (G) tortularını içeren bütün bir doğrusal kopolimerler ailesi olduğu bilinmektedir. Bloklar ardışık G kalıntıları (GGGGGG), ardışık M kalıntıları (MMMMMM) ve alternatif M ve G kalıntılarından (GMGMGM) oluşur (Şekil 3.8). *L. hyperborean* gövdelerinin G-bloğu içeriği %60'tır ve piyasada bulunan diğer aljinatlar için %14.0-31.0 aralığındadır. Sadece aljinatın G-bloklarının, hidrojel oluşturmak için iki değerlikli katyonlarla (örn., Ca^{2+}) moleküller arası çapraz bağlanmaya katıldığı bilinmektedir. Bileşim (yani, M / G oranı), dizi, G-blok uzunluğu ve moleküler ağırlık, aljinat ve bunun sonucu olan hidrojellerin fiziksel özelliklerini etkileyen kritik faktörlerdir. Aljinat jellerinin mekanik özellikleri tipik olarak G-bloğunun uzunluğu ve moleküler ağırlığı artırılarak geliştirilir. Farklı aljinat kaynaklarının polimerlere bir dizi kimyasal yapı sağladığını belirtmek önemlidir. Örneğin, bakteriyel aljinat yüksek bir G-blok konsantrasyonuna sahiptir ve jellerinin sertliği nispeten yüksektir. Fiziksel özellikler, jellerden ilaç salım hızını, jellerin stabilitesini, ve aljinat jellerine kapsüllenmiş hücrelerin fenotipini ve fonksiyonunu önemli ölçüde kontrol eder (Lee ve Mooney, 2012).



Şekil 3. 8. Aljinatın Kimyasal Yapısı (Draget, 2009).

Mannuronik asidin guluronik aside oranı, monomer dizisi, bloğun uzunluğu ve zincirin moleküler ağırlığı kaynaktan kaynağa değişir, böylece aljinatın fiziksel özelliklerini etkiler (Şekil 3.9) (Penman ve Sanderson, 1972).



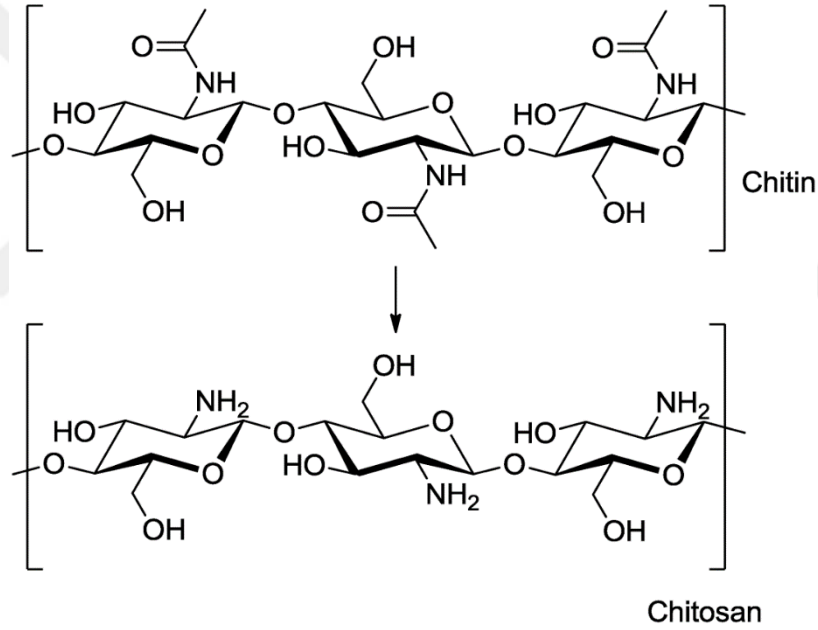
Şekil 3. 9. Aljinatların idealize edilmiş yapısı (Penman ve Sanderson, 1972).

Aljinatın kullanım alanları şu şekilde sıralanabilir;

- Tıpta, farmasötikte tıbbi bileşenleri kaplama ve destekleme materyali olarak, dişçilikte dolgu malzemesi ve kalıplarda,
- Kozmetik alanında yoğunlaştırıcı ve nem tutucu özellikleri ile birçok alanda,
- Tekstilde baskı sürecinde yapılan desen uygulamasında renk pastası alt tabakasında,
- Gıda ve besin alanında koyulaştırma ve jelleştirme ajanı olarak, emülgatör, stabilizatör gibi işlevleri ile çeşitli alanlarda kullanılabilir (Girgin, 2017).

3.2.1.2. Kitosan

Kitosan, deasetile kitin olarak bilinir, kitinin kısmi deasetilasyonundan türetilen doğal bir polikasyonik lineer polisakkarittir. Kitin, kabuklu deniz canlılarının, (çoğunlukla karidesler ve yengeçler) dış iskeletinde ve mantarların hücre duvarlarında ve selülozdan sonra en bol bulunan ikinci doğal polisakkaritin yapısal polimeridir. Kitosan, polimer içinde rastgele dağılmış β - (1-4) bağlı D- glukozamin ve N- asetil- D- glukozaminden oluşur (Şekil 3.10). Kitosanın kasyonik doğası oldukça özel bir yapıya sahiptir, çünkü polisakkaritlerin çoğunun yükü genellikle nötr veya asidik bir ortamda negatiftir. Bu özellik, diğer negatif yüklü sentetik veya doğal polimerlerle elektrostatik kompleksler veya çok katmanlı yapılar oluşturmaya zemin hazırlar (Akkurt, 2012).



Şekil 3. 10. Kitin ve Kitosanın kimyasal yapıları (Heckel vd., 2013).

Kitosanın biyouyumluluk, toksik olmama, düşük alerjenite ve biyobozunurluk gibi önemli özellikleri, çeşitli uygulamalarda kullanılmasına izin verir. Ayrıca, kitosanın antitümör, antimikrobiyal ve antioksidan aktiviteleri gibi başka biyolojik özelliklere sahip olduğu araştırmalar sonucunda bildirilmektedir. Deasetile edilmiş birimlerin molar fraksiyonu veya deasetilasyon yüzdesi ve kitosanın moleküler ağırlığının tanımladığı deasetilasyon derecesinin bu özellikleri etkilediği bulunmuştur (Aranaz vd., 2012). Kitosan, benzersiz özellikleri nedeniyle son zamanlarda biyoteknoloji alanında

uygulamalar için yaygın olarak kullanılmaktadır. Örneğin su arıtma, yara iyileştirici malzemeler, farmasötik madde veya ilaç salım sistemlerinde, obezite tedavisi ve doku mühendisliği için bir scaffold olarak kullanılabilir. Kitosan ve türevlerinin farmasötik ve biyomedikal uygulamalarına hızla artan bir ilgi vardır ve çalışmalar neticesinde önemli gelişmeler sağlanmıştır.

Kitosan sadece zayıf asitlerde çözünür, çözeltinin pH değeri 7'den yüksek olduğunda, kitosan çöker. Kitosan düşük pH değerlerinde çözünürlüğe sahip olduğundan, kolona özgü bir ilaç verme sisteminde enterik bir kaplama ile birlikte kullanılması etkili bir uygulama olarak kabul edilir. Salım sisteminde, ilaç enterik kaplama ile mide asidinden korunur, kolona ulaştığında tabaka çözülecek ve kitosan ilacı çevreye salacaktır. Son adımda, kitosan bağırsakta yavaş yavaş çözünür ve ilacı çevreye bırakır (Sunna, 2012). Kitosan asetik asit (CH_3COOH), formik asit (CH_2O_2) ve laktik asit ($\text{C}_3\text{H}_6\text{O}_3$) gibi organik asit çözeltileri ile de çözünür. Ancak genellikle çözücü olarak %1 asetik asit çözeltisi kullanılır. Aynı zamanda, kitosan hidroklorik asit (HCl) çözeltisi içinde de çözünür, fakat sülfürik asit (H_2SO_4) ve fosforik asit (H_3PO_4) çözeltileri içinde çözünmez. Alkali pH değerlerinde oluşan çökme ve jelleşme özellikleri nedeniyle, çözünürlük bu pH değerlerinde azalır. Kitosan çözeltisi, bir poliyonik kompleks oluşturmak için anyonik kolloid ile bir jel oluşturur (Sunna, 2012). Karides ve diğer kabukluların dış kabuklarında bulunan bir polisakkarit olan kitosan, ucuz olduğu için, kolayca değiştirilebilen fonksiyonel gruplara sahip olduğu ve kitosan nanopartiküllerinin boyutu ve şekli hassas bir şekilde kontrol edilebileceği için ilaç salım sistemlerinde nanopartiküllerin üretimi için umut verici bir malzemedir. Kitosanın hidrofilik yapısından dolayı normalde çoğu hidrofobik antikanser ilacının yüklenmesine izin vermemesine rağmen, N-palmitoil grupları yoluyla kitosan modifikasyonunun bu yüklemeyi mümkün kıldığı yapılan araştırmalar sonucu gösterilmiştir (Chiu vd., 2010). Bu modifikasyon aynı zamanda, nano partiküllerin, kitosan nanoparçacık sentezi için standart teknik olan kimyasal çapraz bağlama yerine iyonik jelasyon yoluyla paketlenmesine olanak sağlar. Çalışmalarda kimyasal çapraz bağlama maddelerinin monte edilmiş nano parçacıklardan uzaklaştırılması ile ilgili sıkça karşılaşılan problemler olduğundan kimyasal çapraz bağlama yöntemi tercih edilmez. Basit yığın karıştırma ile nano parçacık kendi kendine montaj, çok çeşitli mekanik ve kimyasal özellikler sergileyen son derece çok yönlü kitosan nanopartikülleri üretir. Bununla birlikte, hidrodinamik akış odaklaması yöntemiyle tanımlanmış bir karıştırma biçimi oluşturarak mikro akışkan sentez ile küçük ve monodispers (tek dağılımlı) nano partiküller

oluşturabilmektedir. İyi kontrol edilen bu karıştırma biçimi, mikro-akışkan platform (esas olarak akış oranı ve hızı yoluyla) ile hassas bir şekilde ilaç kapsülleme etkinliği ile salım hızı dâhil ayarlanabilir özelliklere sahip monodispers nano partiküller oluşturmada çok önemli bir yere sahiptir (Majedi vd., 2014).

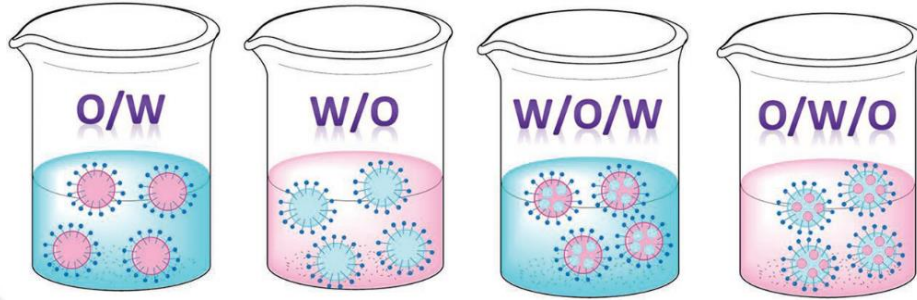
Kitosanın Kullanım Alanları şu şekilde sıralanabilir;

- Biyoteknoloji ve Tıp; İlaç salım sistemlerinde ilaç kapsüllenme, diş implantı, yapay deri, kornea kontakt lensleri, kemiğin yeniden inşası,
- Biyofarmasötikler; İmmünolojik, antitümör hemostatik, antikoagülant iyileşme, bakteri dayanımı,
- Tarım; bitki savunma mekanizmalarında bitki büyümesini teşvik eder, tohum kaplama, zamana göre toprağa antifriz salma besinleri ve gübreler,
- Sağlık; insan vücudunda sindirilebilir diyet lifi, lipit bağlayıcı olarak düşük kolesterol, kıvamlaştırıcı ve baharat soslarının stabilizörü, antibakteriyel, antifungal, meyvelerin koruyucu kaplaması,
- Su kirliliği ve temizliği; kokuyu azaltmak için metal iyonu biyopolimerlerini (sentetik polimerlerin uzaklaştırılması) gidermek için su arıtmada (içme suyu ve havuzlarda) kullanılan flokülantlar,
- Kozmetik ve temizlik malzemeleri; cildi nemlendirmek, akneyi korumak, saç esnekliğini tedavi etmek, saçtaki statik cilt tonunu azaltmak, ağız sağlığı (diş macunu, diş etleri) ve diğer kitosan genellikle bölgedeki ilk tercihtir (Akkurt, 2012; Özdemir, 2014).

3.2.2. Emülsiyonlar

İçinde bir veya daha fazla sıvının başka bir sıvı içinde dağıldığı iki ya da daha fazla birbiri içinde karışmayan sıvıların oluşturdukları karışımlara emülsiyon denir. Sıvı damlacıkları (dağılma fazı) bir sıvı ortamda (sürekli faz) dağıtılır. Birkaç ayrı sınıf olarak ayırt edilebilirler (Şekil 3.11): Yağ içinde su (W / O), su içinde yağ (O / W), yağ içinde su içinde yağ (O / W / O) veya su içinde su içinde yağ gibi emülsiyonlar (W / O / W) farmakolojik uygulamalar yaygın olarak kullanılmaktadır (Tadros, 2013). Emülsiyonlar genellikle termodinamik olarak kararsız yapıdadırlar ve sistemin Gibbs serbest enerjisini en aza indirmek için damlacıkların birleşmesi meydana gelir. Bu nedenle, emülsiyon

damlacıklarını stabilize etmek için yüzey aktif maddeler ve stabilizatörler gereklidir. Bazı süreçler, özellikle çift / çoklu emülsiyon veya mini emülsiyon teknikleri olmak üzere yüklerin çok yüksek kapsülleme verimliliği sağlar. Tipik bir örnek olarak, uçucu yağlar %90'dan fazla kapsülleme verimliliği ile mini emülsiyon işlemi ile hazırlanan silika kaplı nano partiküllerine kapsüllenebilir (Jenjob vd., 2019).



Şekil 3. 11. Emülsiyonların türü: Su içinde yağ (O / W), yağ içinde su (W / O), su içinde-yag (W / O / W) ve su içinde yağ yağ (O / W / O) emülsiyonları (Jenjob vd., 2019).

Heterofaz polimerizasyon süreçleri polimer nano parçacıkları üretmek için endüstriyel olarak en yaygın kullanılan tekniklerdir. Emülsiyon polimerizasyonu bunlar arasında başlıca heterojen polimerizasyon işlemidir. Doğrudan bir işlemde, yani su içinde yağ emülsiyonlarında, hidrofobik monomerler sulu bir sürekli fazda emülsifiye edilir, ardından bunu polimerizasyon takip eder. Elektrostatik, sterik veya elektrosterik stabilizasyon sağlayan yüzey aktif maddeler koloidal sistemi stabilize eder ve polimerizasyon işlemi sırasında pıhtılaşma önlenir. Emülsiyon polimerizasyonu, tipik olarak ortalama 50 ile 500 nm boyutları arasında olan mikron altı polimer partikülleri oluşumunu sağlar. Yapıştırıcılar, boyalar, kaplamalar ve film malzemeleri gibi polimerlerin üretimi için emülsiyon polimerizasyonu önemli bir yere sahiptir. Bu yöntem diğer polimerizasyon yöntemlerine göre daha yüksek oranlarda yüksek moleküler ağırlıklı polimerlere ulaşır. Emülsiyon polimerizasyonu çok miktarda uçucu organik bileşik kullanmadan reaksiyon ortamı olarak su kullandığı için çevre dostu olarak kabul edilir (Kurozuka vd., 2017).

Emülsiyon polimerizasyonu sırasında elde edilen partiküllerin çekirdeklenmesinde ve stabilize edilmesinde yüzey aktif maddeler önemli bir rol oynamasına rağmen, çevre kirliliğinden sorumludur ve emülsiyondan suya direnç göstermeyen zayıf filmler meydana

getirmektedir. Bu nedenden dolayı, emülsiyon polimerizasyonu sırasında kullanılan yüzey aktif madde miktarının azaltılması gerekmektedir. Sabun içermeyen emülsiyon polimerizasyonu, çevre dostu alternatif yöntemlerden biridir. Çünkü yüzey aktif madde eklenmeden yüksek oranda monodispers parçacıklar elde edilir. Bununla birlikte, sabunsuz emülsiyon polimerizasyonunun, düşük oranda emülsiyon polimerizasyonu ve stabilitesi zayıf olduğu için endüstride uygulanması oldukça zordur. Ayrıca, geleneksel emülsiyon polimerizasyonuna kıyasla kararlı emülsiyon elde etmek için daha düşük katı içerikler gereklidir (Lee vd., 2014).

3.2.3. Üretim Yöntemleri

Mikro veya nanopartikül ilaç salım sistemlerini farmasötik amaçlı hazırlamak için polimerlerin ve aktif maddelerin fizikokimyasal özellikleri için uygun bir yöntem seçilmesi önemlidir. Bu amaçla, polimer partiküllerini hazırlamak için çeşitli sentetik veya doğal polimerler kullanılabilir. Genellikle, sentetik polimer uygun bir çözücü içinde çözülür. Daha sonra, çözücünün çözünme gücü farklı yöntemlerle azaltılmış ve nanoparçacıklar oluşturabilen bir çökeltme işlemi uygulanır. Taneciklere yüklenen aktif maddenin, çözündürüldüğünde veya çöktürüldüğünde genellikle kapsüllenmesi beklenir. (Nagarwal vd., 2009). Hazırlama yöntemi başarılı formülasyonda önemli bir rol oynar. Ana polimer parçacık hazırlama teknolojisi, önceden oluşturulmuş polimerin dağılıbilirliğine veya monomer polimerizasyonuna dayanmaktadır (Kumari vd., 2010; Pal vd., 2011). Doğal polimerlerle üretilen bazı mikro veya nanopartikül üretim yöntemleri;

- i. **Emülsiyon Çözücü Buharlaştırma Yöntemi:** Emülsiyon çözücü buharlaştırma yöntemi, nanopartikül hazırlama teknolojisinde geliştirilen ilk yöntemdir. Bu yöntem iki ana adım içerir. Önce organik sulu faz ile emülsiyon oluşturan bir çözücü (organik faz) içinde bir polimer çözeltisi hazırlanır. Bu nedenle, geçmişte solventler (kloroform ve diklorometan gibi) kullanılmasına rağmen, bunların yerine etil asetat kullanılmıştır ve toksisiteleri daha kabul edilebilirdir (Müderrisoğlu ve Çomoğlu, 2010). İkinci aşamada, polimer, çözücünün buharlaştırılmasıyla emülsiyonun sürekli fazında dağılan bir nanopartikül çökeltisi oluşturur. Oluşan nanopartiküller ultrasantrifüj yoluyla toplandıktan sonra, stabilizatör kalıntıları,

serbest aktif maddeler gibi safsızlıkları gidermek için saf su ile yıkanır ve dondurulup saklanır (Reis vd., 2006; Pal vd., 2011).

- ii. **Çoklu Emülsiyon Çözücü Buharlaştırma Yöntemi:** Emülsiyon çözücü buharlaşması hidrofilik aktif maddeler için kullanılamaz olması çeşitli emülsiyon yöntemlerinin geliştirilmesine yol açmıştır. Bu şekilde hidrofilik aktif maddeler mikro ve nanopartiküller hazırlanabilir. Bu yöntemin temeli, kuvvetli karıştırma altında bir organik polimer çözeltisine sulu bir aktif faz ilave edilerek bir W / O (su/yağ) emülsiyonu oluşturmaktır. Elde edilen W / O emülsiyonu ikinci sulu faza ilave edilir ve W / O / W (su/yağ/su) emülsiyonu oluşturmak için karıştırmaya devam edilir. Çözücü, polimeri çöktürmek için emülsiyonlardan buharlaştırılır ve daha sonra nanoparçacıklar yüksek hızlı santrifüj ile ayrılır. Son olarak yıkanır ve dondurularak kurutulur (Couvreur vd., 2002; Pal vd., 2011). Hidrofilik aktif maddenin ilave miktarı kullanılan stabilizatörlerin ve polimerlerin konsantrasyonu, sulu fazın hacminde oluşan nanoparçacıkların özelliklerini etkileyebilir (Ubrich vd., 2004).
- iii. **Emülsiyon Çözücü Difüzyon Yöntemi:** Bu yöntem, çözücü buharlaştırma yönteminin modifiye edilmesiyle oluşturulmuştur. Kapsülleme için kullanılan polimer, suda çözünür çözücülerde (propilen karbonat, benzil alkol gibi) çözündürülür ve ortam, termodinamik dengeye ulaşana kadar suyla doyurulur. Su ile doymuş çözücü-polimer fazı daha sonra yağ / polimer oranına göre nano ölçekli veya nanokapsüller üreten ve çözücünün dış faza yayılmasına izin veren bir dengeleyici içeren sulu bir çözelti ile emülsifiye edilir. Son olarak, çözücü kaynama noktasına göre buharlaştırma ya da filtrasyon ile uzaklaştırılmaktadır (Pal vd., 2011). Bu teknik, kapsüllenmiş lipofilik ilaçlar için de kullanılabilir. Ancak, emülsifikasyon sırasında, süspansiyondan büyük miktarlarda suyun uzaklaştırılması ve doymuş suyun dış fazından sızan suda çözünen ilaçlar verimliliği azaltır (Reis vd., 2006; Pal vd., 2011).
- iv. **Tuzla Çöktürme Yöntemi:** Bu yöntemde, sulu bir çözeltide su ile karıştırmak için tuz sedimantasyonundan yararlanılarak çözücü fazının ayrılmasına dayanmaktadır (Reis vd., 2006). İlk olarak, polivinilpirolidon veya polimer ve ilaç molekülleri aseton gibi bir çözücü içinde çözülür ve sonra hidroksietil selüloz gibi bir koloidal stabilizatör ve magnezyum klorür, kalsiyum klorür veya sükroz gibi bir tuz çöktürme maddesi içeren bir hidrojel içine emülsifiye edilir. Asetonun sulu faza

difüzyonunu arttırmak için yağ / su emülsiyonunu yeterli miktarda su veya sulu çözelti ile seyreltilir. Bu seyreltme, emülsiyon damlacıklarında çözülmüş polimerin çökmesine yol açar. Bu nedenle, nanokürelerin oluşumu indüklenir. Çözücüler ve tuz çökeltici maddeler, çapraz akış filtrasyonu ile uzaklaştırılır (Reis vd., 2006; Pal vd., 2011; Rao ve Geckeler, 2011).

- v. **Nanoçöktürme Yöntemi:** Bu yöntem, polimerin bir organik çözücünden hazırlanan bir polimer çözeltisinden çökertilmesini içerir. Standart, yüzey aktif maddelerin varlığında veya yokluğunda organik solventlerin sulu ortamdan difüzyonunu kapsar. Polimer, aktif madde ve / veya lipofilik yüzey aktif cismi, su (örn. Aseton, etanol) ile karıştırılabilen ve nanosferlerin çökmesine neden olan yarı polar bir çözücü içerisinde çözündürülür. Bu çözelti, manyetik bir karıştırıcı altında bir dengeleyici içeren sulu bir çözeltiye ilave edilir. Polimerin sulu çözelti ile organik faz arasındaki arayüzde birikmesi, çözücünün hızla yayılmasına ve kolloidal bir süspansiyon oluşturmaya neden olur. Kolloidal polimer parçacıklarının oluşumu ile faz ayrılması, polimeri çözmeyen, ancak karışabilir bir formda bir çözücü ile gerçekleştirilir. Daha sonra, çözücü düşük basınç altında süspansiyondan uzaklaştırılmaktadır (Pal vd., 2011).
- vi. **Diyaliz:** Diyaliz, vücut boyunca küçük kılcal damarlara dağılabilen polimer nanopartiküllerinin üretilmesi için etkili ve basit bir yöntemdir. Polimer organik bir çözücü içinde çözündürülür ve uygun bir molekül ağırlığı elde etmek için bir diyaliz tüpüne yerleştirilir. Bu yöntem, membrandaki çözücüü düşük çözünürlükle değiştirdikten sonra nanopartiküllerin düzgün bir süspansiyonunu oluşturmaktır ve polimerlerin agregasyonuna dayanır. Diyaliz yöntemiyle nanoparçacık oluşum mekanizması tam olarak anlaşılmassa da, nanometoda benzer bir mekanizmaya sahip olduğu düşünülmektedir (Rao ve Geckeler, 2011).
- vii. **Faz Ayrımı/Koaservasyon Yöntemi:** Koaservasyon, sıvı-sıvı faz ayrılması yoluyla mikron ölçeğinde parçalanabilir polimer kapsülleme tekniğidir (Makadia ve Siegel, 2011). Sıvı, iki faza sahiptir, polimer fazı ve süpernatant sıvı fazı, yoğunlaştırılmış faz dâhil. Sıcaklık değişimleri nedeniyle, pıhtılaşma, anti-çözücülerin veya tuzların veya polimer-polimer etkileşimlerinin eklenmesinden kaynaklanır. Polimerin organik fazdaki çözünürlüğü azaldıkça, bu yöntemin ana prensibi koaservat denilen polimer açısından zengin bir faz oluşmasıdır. Koaservasyon süreci üç adıma ayrılmıştır (Makadia ve Siegel, 2011). İlki polimer

çözeltilerinde faz ayrımı, ikincisi aktif maddenin yoğunlaştırılmış tabaka tarafından adsorpsiyonu ve üçüncüsü mikroküreleri sıvıya daldırılarak sertleştirilmesidir.

- viii. **Süper Kritik Akışkan Teknolojisi:** Polimer nanoparçacıklarını hazırlamak için kullanılan süperkritik akışkan teknoloji yönteminin en büyük avantajı, çöken ürünün çözücü içermemesidir (Sun vd., 2005). Süperkritik sıvılar genellikle basınçtaki değişikliklere rağmen faz değiştirmeyen süperkritik sıvılar olarak tanımlanır. Süperkritik karbondioksit, en sık kullanılan süperkritik sıvıdır, çünkü uyumlu olduğu zaman ($T_c = 31.1^{\circ}\text{C}$, $P_c = 73.8$ bar), toksik etki yaratmaz, yanıcı ve ucuzdur (Derman vd., 2013).

3.2.4. Çapraz Bağlama

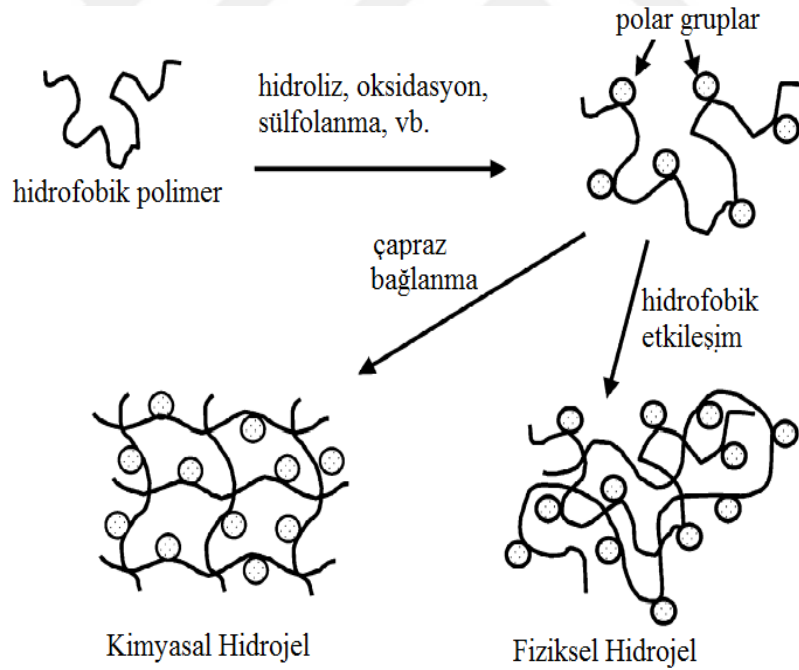
Çapraz bağlama reaksiyonu esas olarak polimerin boyutu, tipi ve fonksiyonel gruplarından etkilenir. Çapraz bağlama maddesinin moleküler boyutu ne kadar küçük olursa, difüzyon o kadar kolay olur ve çapraz bağlama reaksiyonu o kadar hızlı olur. Çapraz bağlama maddesinin doğasına bağlı olarak, matriksi oluşturan ana etkileşimler kovalent veya iyonik bağlardır. Çapraz bağlanma derecesi kovalent olarak çapraz bağlanmış hidrojenlerin önemli özellikleri (mekanik mukavemet, şişme ve ilaç salımı gibi) etkileyen ana parametredir. Bu tip jel genellikle pH'a duyarlı şişlik ve difüzyon yoluyla gözenekli yapısından ilaç salımı gösterir. Bu nedenle, kovalent ve iyonik olarak çapraz bağlı polimerlere dayanan hidrojenler, oral ilaçlar için iyi adaylar olarak kabul edilebilir.

Kitosan mikropartiküllerinin bozunmasına ilişkin endişe, kontrollü ilaç salımı araştırması için çekirdek malzeme olarak kullanılacak çapraz bağlama modifikasyonu yoluyla sert bir polimerin oluşumuna yol açmıştır. Bu amaçla, kitosan amin grupları içeren reaktiflerle çapraz bağlanma üzerine birçok çalışma yapılmıştır (Jang vd., 2004). Çapraz bağlı yapı temel olarak iki şekilde yapılabilir: (1) sonsuz lineer moleküllerin sonsuz bir ağ yapısı oluşturmak için birbirine bağlanması; (2) daha yüksek moleküler ağırlıklı dallar üretmek için düşük moleküler ağırlıklı çok fonksiyonlu moleküller oluşturmak Yapısı ve sonunda sürekli çapraz bağlı bir yapı oluşturur. Birinci kategorinin örnekleri kauçuğun vulkanizasyonudur ve bazı tri- veya tetra-fonksiyonel moleküller içeren polikondensasyon ikinci kategorinin bir örneğidir (Nielsen, 2008).

Çapraz bağlı ağlar birden fazla yapıya sahip olabileceğinden, bu yapısal parametreleri karakterize etmek için çapraz bağlı zincirler arasındaki çapraz bağlantı

yoğunluğu veya moleküler ağırlık, çapraz bağlı zincirler arasındaki uzunluk, ağ bütünlüğü ve ağ dışı polimerizasyon tekniklerine sahip olmak önemlidir. Ağ, düzenli, oldukça düzensiz, sıkıca çapraz bağlı, gevşek çapraz bağlı, moleküller arası halkalara ve birçok serbest uçta ve moleküldeki yüksek derecede kusurlara veya yukarıdaki moleküllerin bir kombinasyonuna sahiptir.

Kombinasyon ağda yakalandı ancak ağa bağlı değil. Çapraz bağ ünitesi üç veya dört kat olabilir (Nielsen, 2008). Hidrojeller kimyasal olarak stabil veya parçalanabilir olabilir ya da ayrışabilir ve çözülebilirler. Jelin ağ yapısı iyonik, H bağları ve hidrofobik kuvvetlerden oluşuyorsa, bu jelle "tersinir" veya "fiziksel" bağlanmış jel denir. Hidrojeller kovalent bağlarla çapraz bağlanırsa, bu hidrojeller "değişmemiş" veya "kimyasal" olarak adlandırılır. Suda çözünür polimerleri çapraz bağlayarak veya hidrofobik polimerlerin hidrofilik polimerlere dönüştürülmesi ve daha sonra bunların çapraz bağlanmasıyla oluşturulabilirler (Şekil 3.12).



Şekil 3. 12. Hidrojel oluşumunun şematik gösterimi (Akar, 2012).

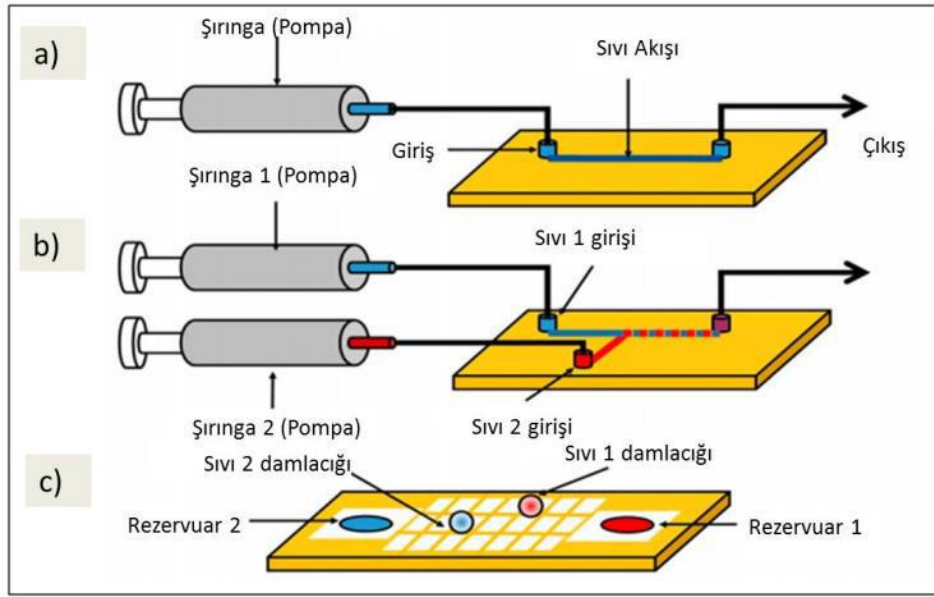
4. MİKROSİSTEMLER

Mikrosistemler genellikle mikro elektro mekanik sistemler (MEMS) olarak bilinirler. Mikrosistemler mikro işlem adı verilen teknikler kullanılarak üretilir. Otomotiv, tüketici elektroniği, endüstriyel ölçümler ve son zamanlarda biyomedikal gibi farklı uygulama alanlarında yaygın olan minyatür cihazlardır. Genel olarak bir mikrosistem, mikrometre sırasına göre en az 1/1000 mm boyutuna sahip herhangi bir cihaz olduğunu belirtir (Perdigones vd., 2011). Bilim dünyasında 30 yılı aşkın başarılı uygulamada MEMS, mikro-üretim, çip üzeri laboratuvarlar, mikro-sistemler ve mikro-toplam analiz sistemleri (MikroTAS) kullanılmaktadır. MEMS'in en temel özelliği, küçük, kusursuz, hareketli ve sabit parçalar içeren tekrarlanabilir yapılar olmalarıdır (Tadigadapa ve Mateti, 2009).

Tarihsel olarak, mikroelektronik dökümhanelerinde zaten mevcut olan işleme ekipmanı olarak silikon, 1950'lerde ve 60'larda elektroniklerin etkileyici gelişiminin mümkün kıldığı özelliklerin kapsamlı bir şekilde anlaşılması nedeniyle mikro sistemlerin üretimi için tercih edilen malzemeydi. Zamanla diğer cihazlar mikroelektronik çiplerle entegre edilmeye başlandı ve böylece ilk mikro sistemler ortaya çıkmıştır. Mikrosistemler ilk olarak, basınç sensörleri ve yazıcılarda mürekkep püskürtmek için püskürtme uçları olarak kullanılmıştır (Perdigones vd., 2011). MEMS teknolojisine dayanan aktif madde salım cihazlarının amacı, hormon, kemoterapi, analjezi, anestezi ve bazı spesifik tedavilerde (insülin gibi) aktif maddeleri başarılı bir şekilde salabilmektir. Vücutta uzun süreli uygulama için tasarlanan herhangi bir cihaz biyouyumluluk ve stabilite gereksinimlerini karşılamalıdır. Çevreleyen doku için toksik olmamalı veya uygulanacak mekanik zorlanma nedeniyle dokuya zarar vermemeli ve çevreleyen doku ilacın verme kabiliyetini bozmamalıdır. Özellikle implantlar, fizyolojik ortama ve uzun süreli maruz kalmaya ve ayrıca çevre dokuların basıncına dayanıklılık göstermelidir (Karataş ve Sonakin, 2007).

Farklı biyolojik ve kimyasal uygulamalar için birçok mikroakışkan cihaz geliştirilmiştir. Geleneksel mikroakışkan sistemler mikrometre kanallarındaki sürekli akış rejimlerine dayanmaktadır (Şekil 4.1-a). Bu mikrokanallar çoğunlukla yumuşak litografi kullanılarak üretilmektedir. Damlacıklara dayalı mikroakışkan sistemler numune tüketimini azaltmak ve ayrı reaksiyon bölgeleri oluşturmak için geliştirilmiştir. Birinci nesil damlacık esaslı mikroakışkan sistemler, esas olarak T-birleşme noktasında kesişen

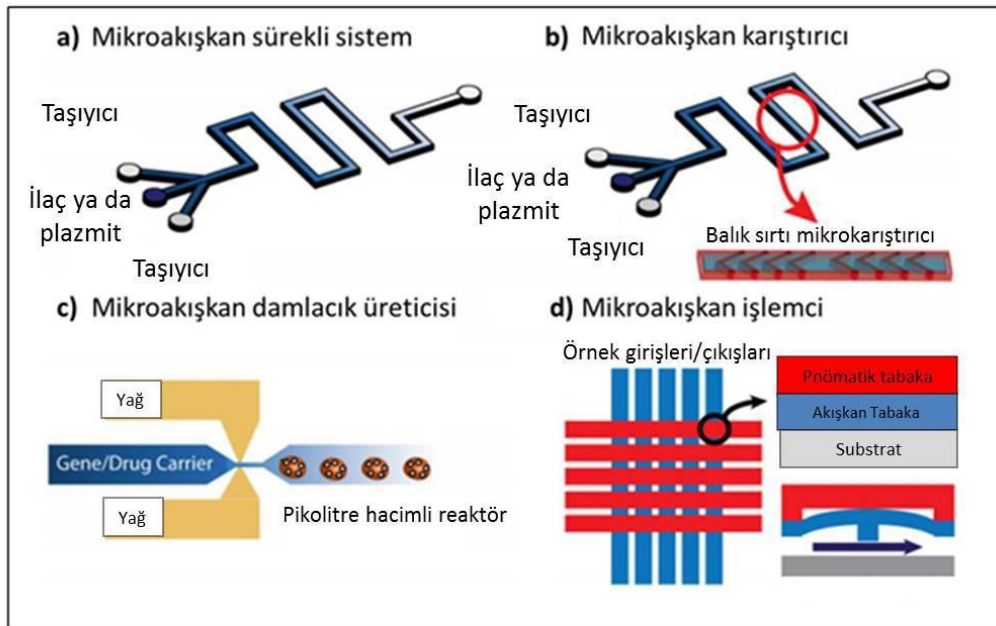
sıvılar kullanarak, birbirinden ayrılan damlacıklar üretmek için iki veya daha fazla sıvının sürekli akışı için kullanılmıştır (Şekil 4.1-b). Hacim tüketimini daha da azaltmak için, 2000'lerin başında, dijital mikroakışkanlar (DMF) adı verilen yeni nesil damlacık bazlı mikroakışkan sistemler ortaya atılmıştır (Pollack vd., 2002). DMF sistemi mikrokanalda sürekli bir damlacık akışı sağlamaz, ancak elektrostatik olarak çalışan bir elektrot dizisi üzerinde damlacıklar oluşturur (Şekil 4.1-c) (Luka vd., 2015).



Şekil 4. 1. Sürekli (a), damlacık temelli (b) ve (c) dijital mikroakışkan sistemlere ait şematik çizimler (Luka vd., 2015).

Mikroakışkan sentezleyiciler, genlerin ve ilaç taşıyıcı sistemlerinin (İTS) üretimi için hızlı ve güvenilir gen üretimi ve ilaç taşıyıcıları için geliştirilmiştir. İTS imalatında en yaygın olarak kullanılan yöntem, çoklu girişlere ve tek bir çıkışa sahip bir mikroçip tasarımı ile uygulanan ve böylece mikro moleküllerin ilaç molekülleri ve taşıyıcı materyalleri arasında difüzyon bazlı karıştırma sağlayan bir mikroakışkan sistemdir (Şekil 4.2-a). Kanalın uzunluğu ve akış hızı balıksırtı mikromikserinin mikrokanal sistemine entegre edilmesiyle, karıştırma işlemleri daha etkin hale getirilmiştir (Şekil 4.2-b). Bu nedenle, akan akımın difüzyon sınır yüzey alanı en az iki katına çıkarılır, böylece ilaç taşıyıcısının hızlı ve tekrarlanabilir formülasyonu teşvik edilir. Bununla birlikte, bu sistemlerde kullanılan karıştırma yöntemi, sürekli akış rejiminde akan farklı akışların esas

olarak sınır yüzey alanı üzerinde dağılmasına izin verir. Bu nedenle, bu durum belirli hedef moleküllerin ve taşıyıcı materyallerin reaksiyon olmadan sistemi terk etmesine neden olabilir. Bu durum nedeniyle geliştirilen formülasyonlarda yüksek sitotoksisite ve düşük ilaç salım hızı gibi ciddi sorunlar ortaya çıkabilir. Her damlacıktaki reaksiyon bağımsız olarak ilerleyebildiğinden damlacık üretim teknolojisinin kullanımı bu sorunların üstesinden gelebilir (Şekil 4.2-c). Damlacık teknolojisi sayesinde, taşıyıcı maddenin hedef ilaç moleküllerine oranı, toplam hacim, reaksiyon hızı ve ilaç taşıyıcının boyutu, herhangi bir kontaminasyon problemi olmadan güvenilir bir şekilde kontrol edilebilir (Tsui vd., 2013). Literatürde siDNA, siRNA, plazmidler, oligonükleotidler, küçük ilaç molekülleri ve İTS üretimi üretmek için difüzyon bazlı mikroakışkan sürekli sistemler, mikroakışkan karıştırıcılar, damlacık üreteçleri ve programlanabilir işlemci sistemleri kullanan birçok çalışma vardır. (Şekil 4.2-d) (Müderrişoğlu, 2016).



Şekil 4. 2. Gen veya ilaç taşıyıcı üretimi için mikroakışkan platformların genel tasarımı (Tsui vd., 2013).

Şekil 4.2’de verilen sistemde; Basit difüzyona dayanan sürekli akışlı mikroakışkan üreticileri (a), Taşıyıcı malzemeleri hızlı ve verimli bir şekilde karıştırabilen pasif karıştırıcı veya bölümlenmiş balıksırtı karıştırıcılarına (b), İlaç dağıtım sisteminin

boyutunu ve bileşimini güvenilir bir şekilde kontrol edebilen ve üreten sistemler (c) ve Mikroakışkan hareketinin kontrol edilmesiyle fonksiyonelleştirilebilen genel mikroakışkan platformlar (d) gösterilmektedir (Tsui vd., 2013).

Mikrosistemlerin en önemli faydaları ve kullanım tercihi sebepleri;

- Geleneksel sistemlerde elde edilemeyen hızlı ısı ve kütle aktarımının yanı sıra reaktif hacim miktarlarının minimize edilmiş olamasıdır.
- Mikrokanal sistemindeki çözelti akışı genellikle reaksiyon koşullarını ve süresini sıkı bir şekilde kontrol edebilen laminar akış bölgesindedir.
- Mikrokanal reaksiyon sistemleri, birçok kimyasal işlem için (katalitik reaksiyonlar gibi) değerli olan yüksek yüzey alanı/hacim oranı sağlar.
- Seri üretime uygunluk, düşük maliyet, düşük enerji, küçük ve hafif boyut, hızlı ve güvenilir sonuç verme ve yüksek verim sağlamasıdır (Yeşil Çeliktas, 2014).

4.1. Mikrosistemlerde Mikro/Nanopartikül Üretimi

Nanoparçacık biyosentezinin yüksek basınç, yüksek sıcaklık, enerji ve toksik kimyasallar kullanılmadan çevre dostu ve uygun maliyetli bir şekilde üretilmesi düşünülmektedir (Aygün, 2019). Şimdiye kadar, birkaç mikron ila yüzlerce mikronluk polimer parçacıkları, çözücü olmayan maddeler içinde, Bölüm 3.2.3'te detaylı olarak bahsedilen polimerizasyon işlemleri veya çökeltme yöntemleri kullanılmaktadır. Bununla birlikte, bu yöntemler, parçacık boyutunun ve homojenitesinin kontrol edilmesinde yeterli hassasiyeti gösterememektedir. Öte yandan, mikrofabrikasyon teknolojisindeki yeni gelişmeler, bir sıvıyı küçük kanallarda karışmayan başka bir sıvıya emülsifiye edebilen yüksek verimli emülsiyon mikro-yapıların üretimini mümkün kılmıştır. Her ne kadar damlacık temelli mikroakışkan teknoloji, laboratuvarı parçacık üretmek için kolayca kullanılsa da bunları akademik laboratuvarların dışında kullanmak hala mümkün değildir. Bu cihazlar, karmaşık geometrilere sahip olsalar bile gerektiği şekilde parçacıklar üretmek için hassas bir şekilde tasarlanabilir ve çoğaltılabilir. Bununla birlikte, parçacıkların veya diğer yapıların üretilmesinin maliyeti hala nispeten yüksektir. Diğer bir problem parçacıkların büyümesi ve seri üretimidir. Damlacık mikroakışkanları ve mikropartikülleri, geleneksel yöntemlerin verimliliğinden çok daha düşük olan damla damla üretilir. Tipik bir tek damlacık jeneratörü 0.1 ila 10 ml / h aralığında damlacıklar üretebilmesine rağmen,

endüstriyel ölçekli üretim genellikle l / h düzeyinde üretim yapmak mümkündür. Raporlara göre, bazı stratejiler ölçek büyütmede işe yarayabilir. Bunlar arasında, birçok damlacık jeneratörünün paralelleştirilmesi, ticari olarak uygun akış hızlarına ulaşmak için geliştirilmiştir (Amstad vd., 2014; Amstad vd., 2016).

Damlacık mikroakışkanlar tarafından üretilen mikropartiküller, ilaç dağıtımı, hücre biyolojisi ve biyosensör alanlarında büyük bir potansiyele sahiptir. Bu tür parçacıkları oluşturmak için iyi biyouyumluluk ve kontrollü biyo-bozunabilirliğe sahip malzemeler gereklidir. Şu anda, sentetik polimerlerden doğal makromoleküllere kadar, bu gereksinimi karşılamak için sadece birkaç tip malzeme kullanılmaktadır. Mikropartikül üretimi için uygun optimize edilmiş fonksiyonlara ve özelliklere sahip daha biyouyumlu malzemeler daha fazla araştırma gerektirir. Damlacık mikroakışkanları, birkaç mikrondan yüzlerce mikrona kadar değişen boyutlarda parçacıklar üretebilir. Bununla birlikte, ilaç yüklü parçacıkların ideal boyutu, kan damarı tıkanmasını önlemek için mikron altı olmalıdır. Mikro damlacıklar nano boyutlu parçacıklar üretmek için kullanılabilse de üretim hızını azaltan düşük konsantrasyonlu öncü çözeltiler kullanılır. Bu nedenle, nano ölçekli partiküller üretmek için etkili yöntemlerin geliştirilmesi, etkili ilaç dağıtımı için gereklidir (Kim vd., 2016; Liu vd., 2018). Damlacık mikroakışkanları tarafından üretilen hidrojel parçacıkları, 3B (3 Boyutlu) hücre kültürü için ideal ekstra selüler matriks (ECM) benzeri malzemeler olarak kullanılabilir. Hücre uyumlu malzemeler ve reaktanlar, verimli hücre kapsüllemesi ve uzun vadeli 3B hücre kültürü için mikropartiküller üretmek üzere geliştirilmiştir. Bununla birlikte, parçacık başına kontrol edilebilir sayıda hücre içeren kapsülleyici hücreler, özellikle tek hücreli işlemler için büyük bir zorluk olmaya devam etmektedir (Li vd., 2018).

4.1.1. Damlacık Oluşturma

Damlacık bazlı mikroakışkanlar, yüksek oranda tekrarlanabilir ve homojen ilaç yüklü parçacıklar, mikrokapsüller, mikro kabarcıklar ve mikrojel üretebilen en popüler taşıyıcı sentez yöntemidir. Karışmayan sıvılar arasındaki kayma gerilimi ve arayüzey gerilimi kombinasyonu, partikül büyüklüğünün akış hızını, çözelti viskozitesini ve yüzey gerilimini ayarlayarak kontrol edilebileceği damlacıkların üretilmesini mümkün kılar. Nanopartiküllerin üretilmesinde kullanılan kendi kendine montaj yöntemiyle kıyaslandığında, damlacık bazlı mikroakışkan sistemler tipik olarak daha büyük partiküller

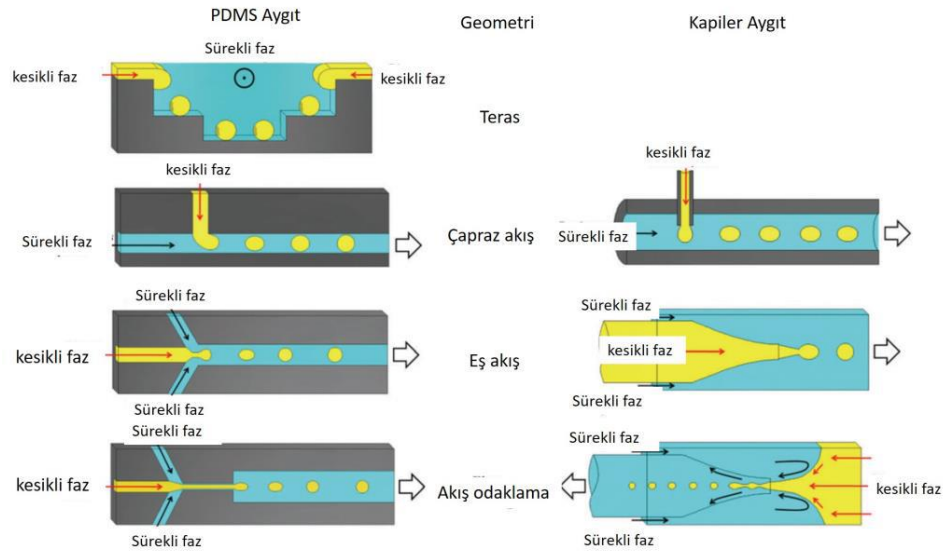
(yani, mikro ölçekli) üretir. Bu tür mikro taşıyıcılar, yüksek dozda ilaç yüklemesi veya ilaç kapsülleme sağlayabilir ve nispeten uzun bir süre boyunca sürekli ilaç salımını korunur hale getirebilir (Jang vd., 2004). Damlacık bazlı mikroakışkanların çoklu kullanımları vardır ve çeşitli polimerlerin PLGA, PLA, aljinat ve PEG'in kullanımında monodisper partikül üretimine izin verir. İlaç salımının modülasyonu, bu tür damlacıkların (örneğin, çift veya çoklu emülsiyonlar) içyapısının, birden fazla ilacın aynı anda uygulanmasına izin veren ayarlanmasıyla da gerçekleştirilebilir (Riahi vd., 2015).

Damlacık bazlı mikroakışkan yöntemler kullanılarak üretilen tekli ve çoklu emülsiyon esaslı taşıyıcılar, çapraz akış, akış odaklama ve birlikte akış konfigürasyonlarının bir kombinasyonu kullanılarak uygulanabilir. Çapraz akışlı bir geometride, damlacıklar X bağlantısı, Y bağlantısı veya T bağlantısı olan bir mikroakışkan sistem içinde damlama durumunda oluşur. Bununla birlikte, akış odaklama ve eşzamanlı damlacıklar oluşturmak için sprej ve damlama modlarını kullanır. Fabrikasyon taşıyıcının yüzey kimyasal özellikleri ilaç salım eğrisini ve bağışıklık sistemi tarafından tanınmasını önemli ölçüde etkileyebilir. Örneğin, taşıyıcının bir PEG tabakası ile kaplanması, sistemik dolaşımını uzatabilir ve hücrelerin alımını ve temizlenmesini geciktirebilir. Birden fazla emülsiyon yapmak için zıt ısılatma özelliklerine sahip çoklu akış konfigürasyonları kullanılabilir (Teh vd., 2011). Benzer şekilde, damlacık bazlı mikroakışkan yöntemler, katılaştırma yöntemleri (buharlaştırma, ekstraksiyon ve çok katmanlı çökeltme gibi) yoluyla mikrokapsüller (su çekirdekleri) ve mikro-kabarcıklar (gazlı çekirdekler) üretmek için kullanılabilir. Mikrojel bazlı taşıyıcılar, akış yönelimli mikroakışkan sistemler yoluyla da üretilmiştir (Chen vd., 2012).

Damlacık bazlı mikroakışkan teknolojisi, ayarlanabilir boyut ve serbest bırakma eğrisine sahip çok fonksiyonlu ilaç taşıyıcıları için kullanılabilen güçlü bir üretim yöntemidir. Bununla birlikte, bu teknolojinin ana dezavantajı, sıvı devresinin işlenmesi ve optimizasyonunun karmaşıklığı ve nano ölçekli ilaç taşıyıcılarının üretimidir (Miller vd., 2012). Geleneksel emülsiyon esaslı mikroakışkan sistemler, bir dizi T bağlantısı içeren bir sistem oluşturularak önemli ölçüde geliştirilebilen düşük verimli bir işlem sağlar. Ancak yine de endüstriyel ölçekte kullanılamazlar (Riahi vd., 2015). Damlacık mikroakışkanlarında, karışmaz sıvıların özellikleri, bir mikro ölçekte damlacıklar üretmek ve manipüle etmek için kullanılır. Biyomedikal uygulamaların karmaşık gereksinimlerini karşılayan damlacıklar üretmek için, akışkan elemanlarının küçük uzunluk ölçeklerinde hassas manipülasyonuna izin veren mikroakışkan çiplere ihtiyaç vardır.

4.1.2. Akış Odaklama

Akış odaklama tekniği daha küçük boyutlu partiküller oluşturma ve basit fabrikasyon aşamaları ile avantajlıdır. Çoğunlukla doku mühendisliği alanında hücre ve ilaç moleküllerini enkapsüle etmek amacıyla hidrojel damlacıklarının oluşturulmasında bu yöntem kullanılmaktadır (Samanipour vd., 2016). Akış odaklama kanal geometrisinde kesişen iki kanal mevcuttur (Şekil 4.3). Bir kanaldan gelen sıvı fazı (disperse faz), diğer kanaldan gelen ve karışmayan sıvı fazın (sürekli faz) oluşturduğu kayma geriliminin etkisiyle damlacıkları oluşturmaktadır. Oluşan damlacıkların boyutları iki fazın akışı ile kolaylıkla kontrol edilebilmektedir. Araştırmacılar manyetik hidrojel partikülleri, fenil PMBV, PVA, PEG, GelMA ve grafen oksit gibi birçok hidrojel türünü oluşturmak için akış odaklama yöntemini kullanmışlardır. Buna ek olarak Janus partikülleri ve çok katmanlı partiküller gibi daha karmaşık yapıların oluşturulması sıvı akışını manipüle edebilecek geometrilere sahip kanalların fabrikasyonu ile mümkündür (Samanipour vd., 2016; Kim vd., 2016). Mikroakışkan sentez teknikleri, her bir damlacığın teker teker üretildiği sürekli bir yöntemdir. Bu yöntem çoğunlukla polidimetilsiloksan (PDMS) kullanılarak litografik tekniklerle üretilen aygıtlarda gerçekleştirilmektedir. Hem emülsiyona dayalı hem de akış litografisine dayalı teknikler bu yöntemde kullanılabilir. Emülsiyona dayalı mikroakışkan yönteminde çoklu fazlar (su, yağ, çapraz bağlayıcı vb.) damlacıkların oluştuğu kesişme noktasında (T-bağlantı) karşılaşır. Damlacıklar oluştuktan sonra kimyasal ya da iyonik jelleşme sonucu çapraz bağlanma gerçekleşir. Çapraz bağlanmayı takiben mikrojeller genellikle santrifüjlenerek toplanan fazdan ayrılır. Enkapsüle edilecek protein, makromerleri içeren sulu çözeltilerle karıştırılarak yükleme gerçekleştirilebilir (Liu ve García, 2016). Hidrodinamik akış odaklama yönteminde sentezlenecek taşıyıcının büyüklüğü sıvı fazlarının karışma hızı ile kontrol edilebilirken, bu kontrolün sağlanmasında mikrokanal geometrisi, akış hızı, difüzyon katsayısı gibi parametreler de etkilidir. Bu yöntemle elde edilen partiküllerin boyutu çoğunlukla 1 mm'nin altındadır (Riahi vd., 2015).



Şekil 4. 3. Mikroakışkan mikropartikül sentez yöntemleri

Çoğunlukla suda çözünmeyen polisakkaritler olmak üzere çok çeşitli biyopolimerler enkapsülasyonda taşıyıcı materyal olarak kullanılmaktadır. Bu matrisler düşük konsantrasyonda bile oldukça dayanıklı ve inert jel yapıları oluştururlar. Dahası, kolayca aktiveleştirilebilen kimyasal yapılarından dolayı protein ya da enzimler tersinir veya tersinmez olarak bağlanabilecek şekilde hazırlanabilirler. Aynı şekilde fonksiyonel ajanlar yardımıyla ısı ve mekanik olarak daha dayanıklı bir yapı sağlayan çapraz bağlar da oluşturulabilir (Homaie vd., 2013). Bu özellikleri nedeniyle biyopolimerler hidrojellerin üretiminde sıklıkla kullanılmaktadır.

Mikroakışkan tabanlı sentez yöntemi, yapısal homojeniteye sahip aljinat mikrojellerin sentezinde kullanılmıştır. Ca-EDTA şelat kompleksleri mikroakışkan bölmesinde aljinat ile karıştırılmış, damlacık oluşumu sonrası çapraz bağlanma Ca iyonlarını serbest bırakan asetik asit verilmesiyle gerçekleşmiştir. RGD (Arjinin-glisin-asparagin)-bağlı aljinat mezenkimal hücrelerin enkapsüle edilmesinde kullanılmış ve 2 hafta boyunca canlılık %70 olarak gözlenmiştir. Hücrelere benzer şekilde proteinler de enkapsüle edilebilmektedir. Mikropartiküllerin yanı sıra değişik kimyasal içerikleri ve yapısal özellikleri olan aljinat tabanlı mikrofiberler de rapor edilmiştir (Utech vd., 2015).

Marquis vd., (2015) mikroakışkan akış odaklama tekniği ile iki bölmeli aljinat pektin mikrojelleri üretmiştir. Yarım küre şeklindeki iki bölmenin birbirinden ayrı olduğu

konfokal tarama lazer mikroskopisi ile belirlenmiş ve enkapsüle edilen proteinin salımının bulunduğu bölmeye bağlı olduğu tespit edilmiştir (Marquis vd., 2015).

Mikroakışkan teknolojisi, ilaç dağıtımında, doku mühendisliğinde, kozmetik ve gıda katkı maddelerinde ve biyoreaktörde yaygın olarak kullanılabilen mikrokürelerin ve liflerin üretimi için çok fonksiyonlu bir araç olarak kullanılır. Birlikte akış (Ko-akış) ve akış odaklama yöntemleri en yaygın olarak, boyutu kontrol ederken monodispers mikrosfer damlacıklarının üretilmesi için kullanılır. Bu teknolojiler arasında, akış odaklama yönteminin, daha küçük boyutlu damlacıkların üretilmesi ve basit imalat aşamaları gibi diğer sistemlere göre avantajları vardır. Birçok uygulamada, parçacıkların, hücrelerin ve ilaçların kapsüllenmesi için biyouyumlu prepolimer çözeltilerinin (hidrojeller) damlacıklarının üretilmesi için doku mühendisliği akış odaklama cihazları kullanılır. Hidrojel damlacıklarının ebadı ve tipi, kapsüllenmiş hücrelerin hücresel mikro çevresini belirler. Bu nedenle, mikroakışkan akış kontrol cihazında üretilen damlacıkların boyutunun kontrol edilmesi doku mühendisliği uygulamaları için önemlidir.

Mikroakışkan akış odaklama cihazında, iki karışık olmayan sıvı faz (dağılmış faz ve sürekli faz), farklı girişlerden çapraz bağlı kanala akar ve üç olası durumla sonuçlanır. (1) Boyut, gözenek kanalındaki kanalın genişliğinden daha büyüktür (sıkıştırılmış durum); (2) dağılmış fazın düğümlerinde (damla sulama alanı) kanaldan daha küçük damlacıklar oluşur; (3) ince dağılmış faz akışı her zaman fazla (püskürtülmüş durum) ile çevrelenir (Anna vd., 2003). Çeşitli deneyler ve sayısal çalışmalar, iki fazlı viskozitenin, yüzey geriliminin damlacık oluşumu üzerindeki etkileri, mikroakışkan kanal şekli ve farklı parametrelerin akış odaklı cihazlarda damlacık üretimi üzerindeki etkisini araştırmıştır (Samanipour vd., 2016). Deneysel çalışmalara ek olarak, akış yönlendirme sürecinin dinamiklerini açıklamak için teorik ve hesaplama çalışmaları yapılmıştır. Özellikle araştırmacılar, çeşitli parametrelerin (kılcal sayı, viskozite ve geometri gibi) damlacık verimi ve damlacık büyüklüğü üzerindeki etkilerini sayısal olarak incelemişlerdir (Humphry vd., 2009). Bu çalışmaların çoğu, yağ damlacıklarının oluşumunu ve sulu çözeltilerin yağ içinde dağılımını araştırmıştır. Bununla birlikte, biyouyumlu prepolimer çözeltilerinin hidrodinamiği sudan farklıdır, bu da optimize edilmiş su-yağ parametrelerini hidrojel damlacık üretimini manipüle etmede daha az kullanışlı hale getirir (Shi vd., 2014). Viskozite ve yüzey gerilimi, damlacıkların oluşumunu etkileyen en önemli parametrelerdir.

5. MATERİYAL VE YÖNTEMLER

5.1. Kimyasallar ve Materyaller

Bu çalışma kapsamında Sodyum Aljinat, Kalsiyum Klörür (CaCl_2), Isolab (Almanya), Kalsiyum Karbonat (CaCO_3), Chemsolute (Almanya) Kitosan (medium molecular weight), CDH (Hindistan) Tri-Sodyum asetat (TPP), Sodyum karbonat (Na_2CO_3), Sigma Aldrich (Almanya) firmalarından temin edilmiştir. Asetik Asit, Etanol, İsopropil alkol ve Aseton Merck (Almanya) firmasından temin edilmiştir. Polidimetilsiloksan (PDMS, SYLGARD™ 184 SILICONE ELASTOMER) ve onun çapraz bağlayıcısı (SYLGARD 184 CURING AGENT) Dow (ABD) firmasından temin edilmiştir.

Çalışma kapsamında Gümüşhane Üniversitesi Mühendislik ve Doğa bilimleri Fakültesi Genetik ve Biyomühendislik bölümü altyapısında bulunan aşağıdaki cihazlar kullanılmıştır.

Hassas terazi (Kern ABJ 220, Almanya)

Ultrasonik banyo (Wisd WUCD10H, Kore)

Manyetik karıştırıcı (İka RH Basic 2, Almanya)

Etüv (Daihan Scientific, Kore)

İnkübatör (Mettler UN55, Çekya)

Spektrofotometre (Multiskan Go Thermo Scientific, Finland)

Soğutmalı santrifüj (Beckman Coulter Allegra X- 30R, ABD)

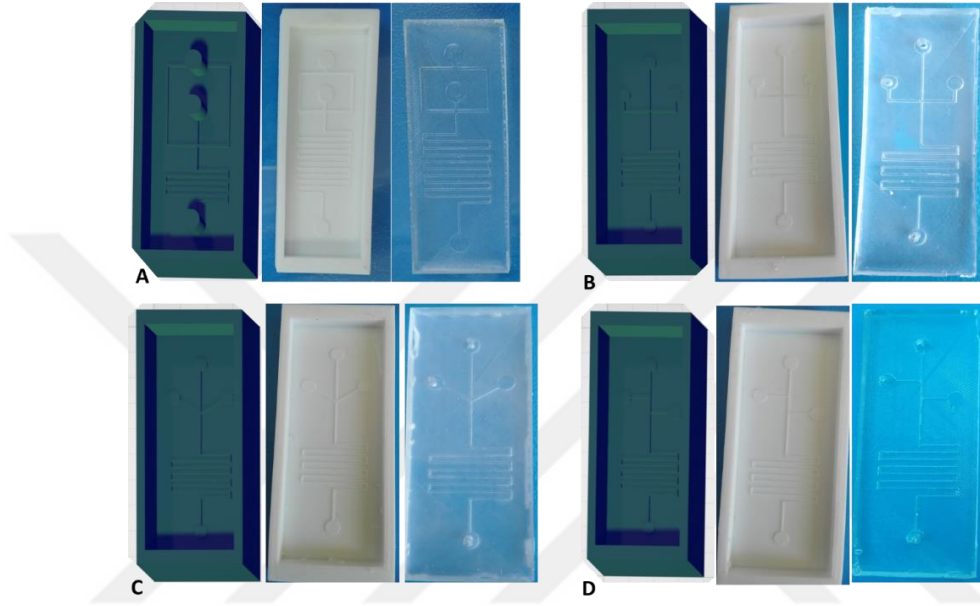
Şırınga Pompa (New Era Pump Systems NE300, ABD)

3B yazıcı, Gümüşhane Üniversitesi Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi Enerji Sistemleri Mühendisliği bölümü altyapısındaki Creality marka 3B yazıcı kullanılmıştır. 3B yazıcı filament olarak PLA filament kullanılmıştır.

5.2. Mikroakışkan Platformların Tasarımı

Mikroakışkan ekipmanlarının tasarımı üretimi amacıyla Bilgisayar Destekli Çizim (CAD) programları yardımıyla uygun görülen geometrilerin 3 boyutlu tasarımı ve çizimi gerçekleştirilmiştir. 2 giriş ve 1 çıkıştan oluşan geometrinin yanısıra 3 giriş ve 1 çıkıştan

oluşan T, Y ve L geometrilere sahip mikroplatformlarda tasarlanmıştır (Şekil 5.1). Bütün geometrilerde kanal boyutlar aynı olup, kanal genişlik ve derinlikleri 250 μm ve kanal uzunluğu yaklaşık 12 cm olarak belirlenmiştir. Mikroplatformların tasarımı kullanılan 3B yazıcının mümkün kıldığı ölçülerde (0.2 mm nozzle ucu ile maksimum ölçü 250 μm) gerçekleştirilmiştir.



Şekil 5. 1. Mikroplatformların CAD tasarımı; A; 2 giriş ve 1 çıkışlı Mikroplatform; B; 3 giriş ve 1 çıkıştan oluşan T; C; 3 giriş ve 1 çıkıştan oluşan Y; ; D; 3 giriş ve 1 çıkıştan oluşan L

5.3. Mikroakışkan Platformların Üretimi

Mikroplatformların bilgisayar destekli çizimi (Şekil 5.1) gerçekleştirildikten sonra bu çizimlerin 3B yazıcı ile kalıplarının üretimi gerçekleştirilmiştir. 3B baskılama 0.2 mm nozzle ucu ile 1.75 mm PLA filament kullanılarak yapılmıştır. Nozzle sıcaklığı 220 °C tabla sıcaklığı ise 50 °C olarak seçilmiştir. 3B yazıcıdan alınan baskı ürünü (Şekil 5.2) kalıp olarak kullanılarak Soft litografi tekniği ile PDMS mikroaygıtların üretimi gerçekleştirilmiştir. PDMS polimeri silikon elastomer viskoz sıvısı (SYLGARD™ 184 SILICONE ELASTOMER) ve onun çapraz bağlayıcısı (SYLGARD 184 CURING AGENT) ile sırasıyla 10:1 (w/w) oranında petri içerisinde karıştırılarak homojen hale getirilmiş ve polimer karışımındaki hava kabarcıkları, vakum yardımıyla uzaklaştırılmıştır. Ardından PDMS karışımı kalıba dökülüp tekrar desikatör içerisine yerleştirilir ve hava kabarcıkları uzaklaştırılmıştır. Kalıp içerisindeki PDMS karışımının katılaşması için 80 °C’de 1 saat 30 dk boyunca etüvde bekletilmesi gerekmektedir. Ancak 3B yazıcıdan elde edilen kalıbın 60 °C’nin üzerindeki sıcaklıklarda deforme olduğu ve dolayısıyla PDMS mikroplatformların istenen hassasiyette elde edilemediği tespit edilmiştir. Bu nedenle katılaşma işlemi 55 °C’de 1 gece olarak gerçekleştirilmiştir. Ardından katılaşan PDMS (negatif kalıp) kesilip kalıptan çıkartılır. Bu şekilde kanal yapılarına sahip bir yüzey elde edilir (Şekil 5.1). Bu yüzey daha sonra cam bir lam yüzeyine yapıştırılarak kapalı bir sistem elde edilmesi amaçlanmıştır.

5.4. Mikroakışkan Platformların Kullanılması İçin Housing Geliştirilmesi

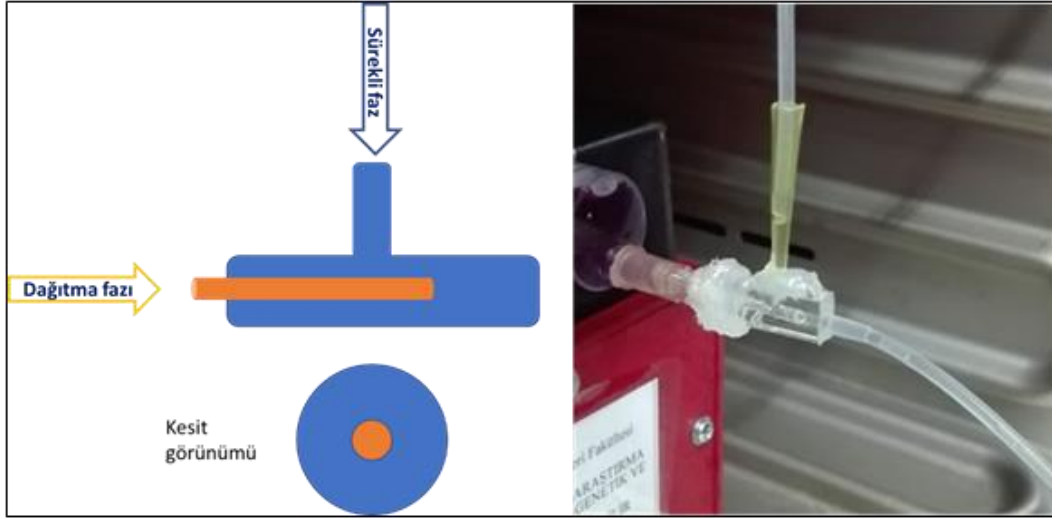
Elde edilen PDMS mikro aygıtların bir cam yüzey üzerine Plazma muamelesi ile yapıştırılarak kullanılması gerekmektedir. Plazma kaynağı olmadığından mikroplatformların pleksiglasss levhalar yardımıyla bir yuva oluşturması ve bu şekilde kullanılması uygun görülmüştür. Bu sebeple Şekil 5.2’ deki gibi bir sistem tasarlanmıştır.



Şekil 5. 2. Pleksiglass levhaları ile sıkıştırılarak çalıştırılan mikroplatform

5.5. Ev yapımı Akış Odaklayıcı Tasarımı

3B yazıcı ile tasarlanan ve üretilen mikroplatformların gerek ulaşılabilen boyutların büyük olması gerekse denemeler sırasında karşılaşılan akış, sızdırma ve basınç problemleri nedeniyle alternatif bir akış odaklama platformu tasarlanmıştır. Pleksiglass parça için 1.5 mm çapa sahip T şeklinde çapraz delikler açılmış ve yatay deliğin içine iç çapı 120 μm olan insülin şırıngası iğnesi monte edilmiştir (Şekil 5.3).



Şekil 5. 3. Ev yapımı akış odaklayıcı

5.6. Mikropartiküllerin Sentezi

Mikropartiküllerin sentezi için Aljinat ve Kitosan polimerlerin iyonik jelleşmesine dayalı yöntemlerin mikroplatformlarda test edilmesi amaçlanmıştır. Bu kapsamda, polimer konsantrasyonu, iyonik çapraz bağlayıcı konsantrasyonu, mikroplatform geometrisi ve akış hızı gibi parametreler denenerek mikro/nanopartikül üretimleri gerçekleştirilmiştir. Aljinat ile yapılan denemelerde farklı konsantrasyonlarda Aljinat çözeltileri kullanılmış ve hem iç jelleşme hem dış jelleşme prensiplerine uygun koşullarda mikropartikül üretimi eldesi amaçlanmıştır. İç jelleşme için çapraz bağlayıcı Kalsiyum Karbonat (CaCO_3) Aljinat çözeltisinin içine karıştırılarak Dağıtma fazı olarak kullanılırken, Sürekli faz olarak %0,5 Asetik asit içeren Ayçiçek yağı kullanılmıştır. Dıştan jelleşme için ise farklı oranlarda aljinat çözeltisi dağıtma fazını oluştururken yine farklı konsantrasyonlarda Kalsiyum Klorür çözeltisi sürekli faz olacak şekilde ayarlanmıştır. Çalışmalarda üretilen mikropartikülleri sürekli fazdan ayırmak için santrifüj edilmiş (14000 rpm, 30 dakika) ve saf su içerisinde süspanse hale getirilerek boyut dağılımı analizine gönderilmiştir. Yapılan deneme koşulları Tablo 5.1’de özetlenmiştir. Ev yapımı Akış odaklayıcı ile yapılan deneme ve koşulları da Tablo 5.2’de verilmiştir.

Tablo 5. 1. 3B ile üretilen mikroplatformlarda yapılan deneme koşulları

Örnek No	Platform	Dağıtma faz	Sürekli faz	Sürekli akış faz hızı µl/dak	Dağıtma faz hızı µl/dak	Akış hızları oranı
1	2 giriş	% 0.6 Aljinat	1 mM CaCl ₂	150	15	1;10
2	2 giriş	% 0.6 Aljinat	1 mM CaCl ₂	150	30	1;5
3	2 giriş	% 0.6 Aljinat	1 mM CaCl ₂	300	15	1;20
Y3	2 giriş	% 0.1 Aljinat	1 mM CaCl ₂	200	20	1;10
Y4	2 giriş	% 0.1 Aljinat	1 mM CaCl ₂	200	40	1;5
Y5	2 giriş	% 0.1 Aljinat	1 mM CaCl ₂	100	40	1;2,5
Y6	3 giriş	% 1.5 Aljinat	2.5 mM CaCl ₂	100+100	50	1;4
Y7	3 giriş T	% 1.5 Aljinat +% 1 CaCO ₃	Yağ (% 0.5 Asetik asit)	50+50	25	1;4
Y10	3 giriş Y	% 0.5 TPP	%0.5 Kitosan (%1 Asetik asit)	75	25	1;3
Y29	3 giriş Y	%0.5 TPP	%0.5 Kitosan (%1 Asetik asit)	100	20	1;5
Y30	3 giriş Y	%0.5 TPP	%0.5 Kitosan (%1 Asetik asit)	100	10	1;10

Tablo 5. 2. Ev yapımı akış odaklayıcı ile gerçekleştirilen deneme koşulları

Örnek No	Platform	dağıtma (Dispersed) faz	Sürekli (Continuous) faz	dağıtma faz akış hızı $\mu\text{l}/\text{dak}$	Sürekli faz akış hızı $\mu\text{l}/\text{dak}$	Akış hızları oranı
IS20	Ev yapımı Akış odaklayıcı	0.5 mg/ml Aljinat	1 mM CaCl_2	10	50	1;5
IS21	Ev yapımı Akış odaklayıcı	0.5 mg/ml Aljinat	1 mM CaCl_2	10	100	1;10
IS22	Ev yapımı Akış odaklayıcı	1 mg/ml Aljinat	1 mM CaCl_2	10	100	1;10
IS23	Ev yapımı Akış odaklayıcı	1 mg/ml Aljinat	1 mM CaCl_2	10	200	1;20
IS24	Ev yapımı Akış odaklayıcı	%0.5 TPP	%0.25 Kitosan	20	200	1;10
IS25	Ev yapımı Akış odaklayıcı	%0.5 TPP	%0.25 Kitosan	40	200	1;10
IS26	Ev yapımı Akış odaklayıcı	%0.5 Kitosan	%0.5 TPP	50	200	4;1

5.7. Mikropartiküllerin Boyut Dağılım Analizi

Çalışma kapsamında üretilen mikropartiküllerin boyut dağılım analizi Atatürk Üniversitesi Doğu Anadolu Yüksek Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi (DAYTAM) bünyesindeki Zetasizer ve Bayburt Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarı Uygulama ve Araştırma Merkezi (BUMER) bünyesindeki Mastersizer 3000 cihazları ile gerçekleştirilmiştir.

5.8. Mikropartiküllerin Yapısal Karakterizasyonu

Çalışma kapsamında üretilen mikropartiküllerin yüzey özelliklerini belirlemek amacıyla Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) görüntüleri alınmıştır. Bu analiz için Bayburt Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarı Uygulama ve Araştırma Merkezi bünyesinde gerçekleştirilmiştir.

5.9. Antibiyotik yüklü mikropartiküllerin Antimikrobiyal aktivite testleri

Antibiyotik yüklü kitosan mikropartiküllerin hazırlanması için, 10 ml % 0.25 kitosan ve %1 Tween 20 içeren polimer çözeltisine 80 mg Ampisilin antibiyotik olarak karıştırılmıştır. Bu karışım Şekil 6.12’de verilen sistem kullanılarak (IS24 koşulları altında) kitosan mikropartikülleri üretilmiştir. Üretilen paritkülleri santrifüj ile ortamdan ayrıldıktan sonra oda sıcaklığında kurumaya bırakılmıştır. Kuruyan örnekler (0.6 mg) 0.6 mL disitle suda süspanse edilerek aktivite testlerinde kullanılmıştır.

Hazırlanan Nanopartiküller, iki Gram negatif *Pseudomonas aeruginosa* ve *Escherichia coli* ve iki Gram pozitif *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* bakterilere karşı Antimikrobiyal aktiviteyi değerlendirmek için kullanıldı. Bu metotta, içinde 48 - 50 °C'ye kadar soğutulmuş Mueller-Hinton Agar petrilere dökülerek soğumaya bırakıldı. Daha sonra seçilen bakteriler yayma plaka yöntemiyle petrilere ekildi. Antimikrobiyal aktiviteyi değerlendirmek için agar kuyucuk yöntemi kullanıldı. Ekim yapılan petrilere her bir örnek için 6 mm çapında kuyucuklar açıldı. Kuyucuklara test edilecek örneklerden 80 uL eklendi. 37°C' de 24 saat inkübasyondan sonra, petriler gözlendi. Ampisilin (AMP), mikropartiküllerden elde edilen kontrol olarak kullanılmıştır.

6. BULGULAR VE TARTIŞMA

6.1. Mikroakışkan Platformların Tasarımı, Üretimi ve Test Edilmesi

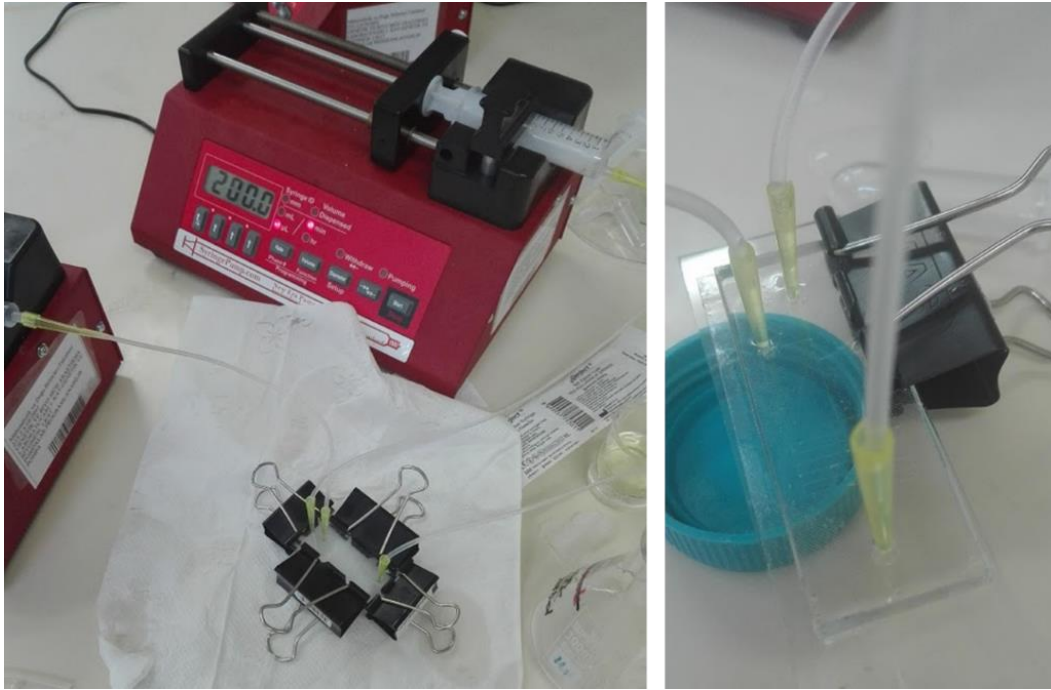
3B yazıcı yardımıyla üretilen kalıplardan elde edilen PDMS mikroplatformların üretimi, istenen desenlerin başarılı bir şekilde mikroplatformlara aktarılabilirdiği gösterilmiştir. Bununla birlikte PDMS için katılma sıcaklığı olan 80 °C’de 3B baskılama filamentlerinin dayanıksız olması ve deformasyona uğraması üretim işlemlerinin daha düşük sıcaklıklarda ve daha uzun sürede gerçekleştirilmesine yol açmıştır. Öte yandan üretilen 3B kalıpların yüzey özelliklerinin çok iyi olmadığı ve aşırı pürüzlü olduğu tespit edilmiştir. Bu yüzey pürüzlüğü (çözünürlük) sonraki aşamalarda PDMS mikroplatformların bu kalıplara dökülmesi ve kalıptan çıkarılması sırasında sorunlara yol açabileceği öngörülmüştür. Ayrıca bu kalıplardan elde edilen PDMS mikroçiplerin yapıştırılmasında yüzey pürüzlülüğünün problem oluşturduğu ve sızdırma sorunlarına yol açtığı görülmüştür. 3B yazıcının gerek donanımsal özellikleri gerekse Slicer programında ilgili ayarlar ile baskı çözünürlüğü arttırılmaya çalışılmış, bir noktaya kadar iyileşme görülürken; çözünürlüğün arttırılması baskı süresinin de uzamasına yol açmıştır.

Ng vd., (2019) 3B yazıcı ile PDMS mikrokanal üretimi için agar/poliakrilamid ve etilen glikolü şablon olarak kullanmışlardır. PDMS kalıbı yüksek sıcaklıklara dayanıklılık gösterip çevresindeki diğer malzemelere yapışma göstermemiştir, kalıptan kolayca deforme olmadan çıkarılmıştır. Böyle ürettikleri kanallarda sıvı sızdırılması gözlenmemiştir (Ng vd., 2019).

3B yazıcı kullanmanın avantajlarından biri, farklı yükseklikteki kanallara sahip mikroakışkan cihaz kalıpları üretebilmesidir. Bu noktayı açıklamak için Kamei vd., (2015) aynı uzunlukta (1,5 mm) ve genişlikte (200 µm) bir dizi mikroakışkan kanal yüksekliğine (yani 50, 100, 200, 500, 1000) sahip bir kalıp yazdırmışlardır. Araştırmada, kalıp yapısı teknik zorluklar olmaksızın PDMS’ye başarıyla aktarılmıştır. 3B yazıcı kalıbı yapmak için tek bir malzeme kullandığından, kalıp silikondaki fotorezist ile karşılaştırıldığında mükemmel mekanik stabiliteye sahiptir. 3B baskılı kalıp, taramalı elektron mikroskobu ile incelenmiş, 3B yazıcının çözünürlük sınırı nedeniyle kenarların istenen düzeyde olmadığı gözlenmiştir. Ayrıca, yüzey yüksekliği profilini ayrıntılı olarak incelendiğinde hatanın yaklaşık $\pm \%15$ olduğunu bildirmişlerdir (Kamei vd., 2015).

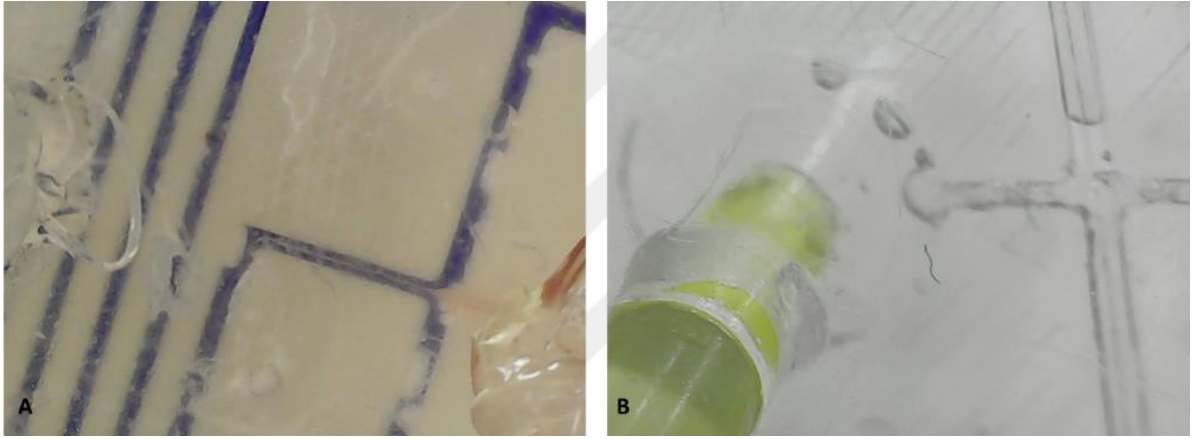
Mevcut 3B yazıcı ile edilen ilk kalıpların daha önce bahsedilen problemlerinin yanı sıra, kanal genişliklerinin minimum 250 μm 'ye kadar izin verilebilmesi, elde edilecek partikül boyutları üzerinde etkili olduğu düşünülmektedir. Yapılan benzer çalışmalarda kullanılan mikroplatformların kanal boyutlarının 100 μm civarında olduğu tespit edilmiştir (Marquis vd., 2015; Bazban-Shotorbani vd., 2016).

Özellikle PDMS platformların bir yüzeye kalıcı bir şekilde yapıştırma için Plazma imkânlarının olmaması çift taraflı bant gibi geçici uygulamaların kullanılmasını sağlamıştır (Şekil 6.1). Bu geçici yapıştırma uygulamaları özellikle vizkozitesi yüksek polimerlerin çalışılması sırasında basınç artışları nedeniyle sızdırmalara veya tıkanmalara yol açarak mikroplatformların uzun süreli kullanımını engellediği tespit edilmiştir. 2 giriş ve 1 çıkışlı Mikroplatform (Şekil 5.1- A) ile yapılan testlerde renkli çözeltiler kullanılarak akış odaklanması (Flow focusing) net bir şekilde görülmekle beraber (Şekil 6.2-A), aljinat ile yapılan denemelerde aynı etki edilmediği ve akışın sağlanamadığı görülmüştür. Bu mikroplatform özelinde sürekli fazın beslendiği girişte iki kola ayrılması gerekirken kanalların tıkandığı ve akışın tek koldan gerçekleştiği tespit edilmiştir. Bu nedenle girişlerin ayrılarak sürekli fazın iki ayrı girişten beslenmesi ve mikroplatformların buna göre tekrar tasarlanması kararlaştırılmıştır.



Şekil 6. 1. Geçici olarak yapıştırılan mikroplatformların test edilmesi

Olası sızdırma problemlerini en aza indirmek amacıyla pleksiglass levhalar yardımıyla Şekil 5.2’ deki gibi housing sistemi tasarlanarak mikroplatformların levhalar arasına sıkıştırılarak kullanılması öngörülmüştür. Ayrıca kalıpların yüksekliğinin artırılması ve giriş-çıkış deliklerinin kapalı olarak üretilmesinin PDMS mikroplatformların pleksiglass levhalar arasında daha iyi sıkıştırılabildiğini ve sızdırmazlığın daha iyi sağlandığını göstermiş ve kalıpların tasarımı bu doğrultuda da yenilenmiştir. Bu sisteme nispeten daha iyi sonuç vermekle beraber, sıkıştırmanın eşit yapılamaması ve yüzey pürüzlülükleri nedeniyle bir yerden sonra yine sızdırma ve tıkanmalar gözlenmiştir. Bu nedenle 3B temelli mikroplatformlara alternatif olarak ev yapımı akış odaklama sistemi tasarlanmış ve denemiştir.



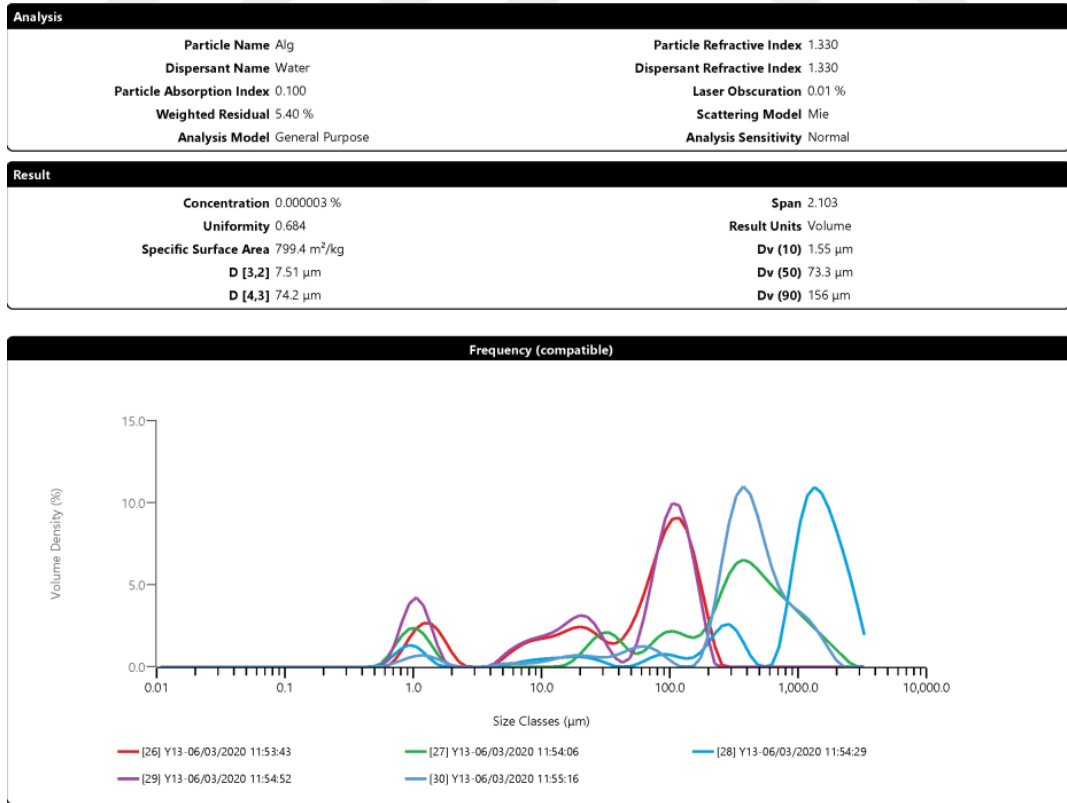
Şekil 6. 2. Elde edilen mikrokanallarda akış odaklaması, A; boya, B; aljinat

6.2. Mikroplatformlarda Mikropartiküllerin Sentezi ve Boyut Analizi

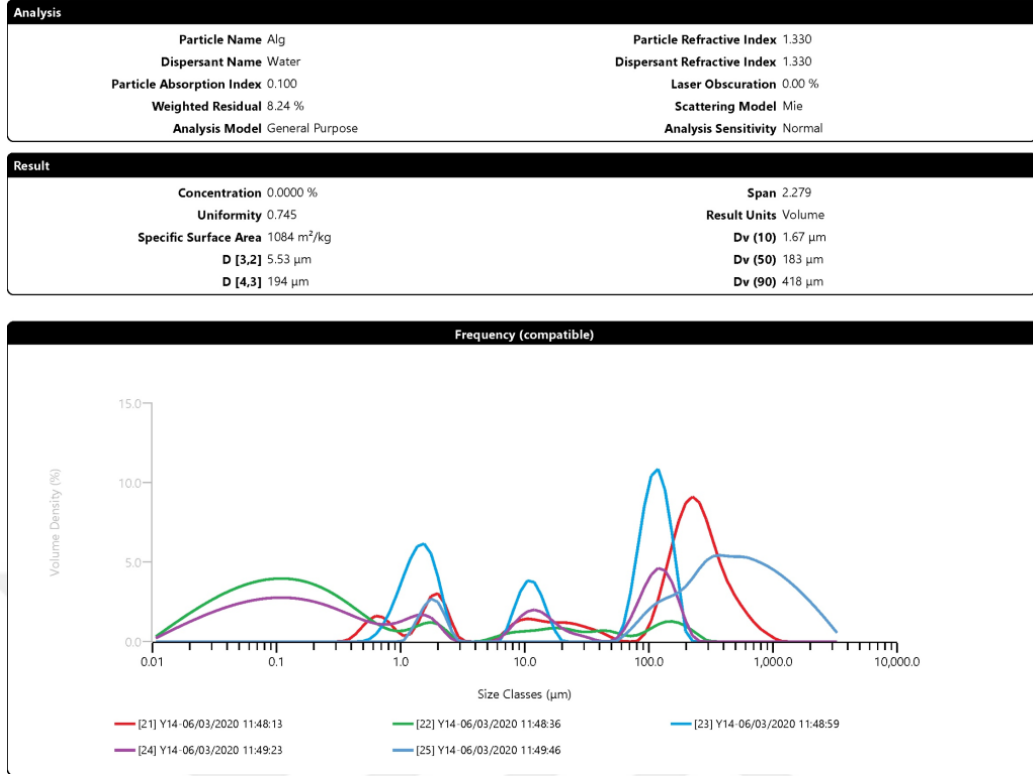
Yukarıda belirtilen mikroplatformlardaki akış problemlerine rağmen yapılan başarılı denemelerde elde edilen örnekler boyut analizine gönderilmiştir. Analizlerde 2 giriş ve 1 çıkışlı Mikroplatformlarda (Şekil 5.1- A) %0,6 Aljinat ile yapılan denemelerde (Tablo 5.2; 1,2,3) herhangi bir partikül oluşumu gözlenmemiştir. Bunun olası nedeni olarak akış kaynaklı problemler nedeniyle sürekli fazın yeterince akış odaklaması gerçekleştirememesi olarak düşünülmüştür. Bunun yanı sıra kanallar içinde yüksek basınç ve tıkanmalar sonucu sürekli fazın dağıtma fazının akışını engelleyebileceği öngörülmüştür. Özellikle aljinat konsantrasyonun yüksek olduğu denemelerde bu durum gözlenmiştir.

Öte yandan bu sistemin uzun süreli çalışmasının mümkün olmaması nedeniyle analizlerin gerçekleşmesine yetecek düzeyde partikül elde edilemediği için analiz sonuç vermemiş olması olarak gösterilebilir. Zira analizler Mastersizer 3000 Boyut analiz cihazı ile gerçekleştirilmiş ve bu cihazın doğru sonuç vermesi için oluşan partiküllerin ölçüm yapılan faz içerisinde belirli bir miktarın üzerinde olması gerekmektedir.

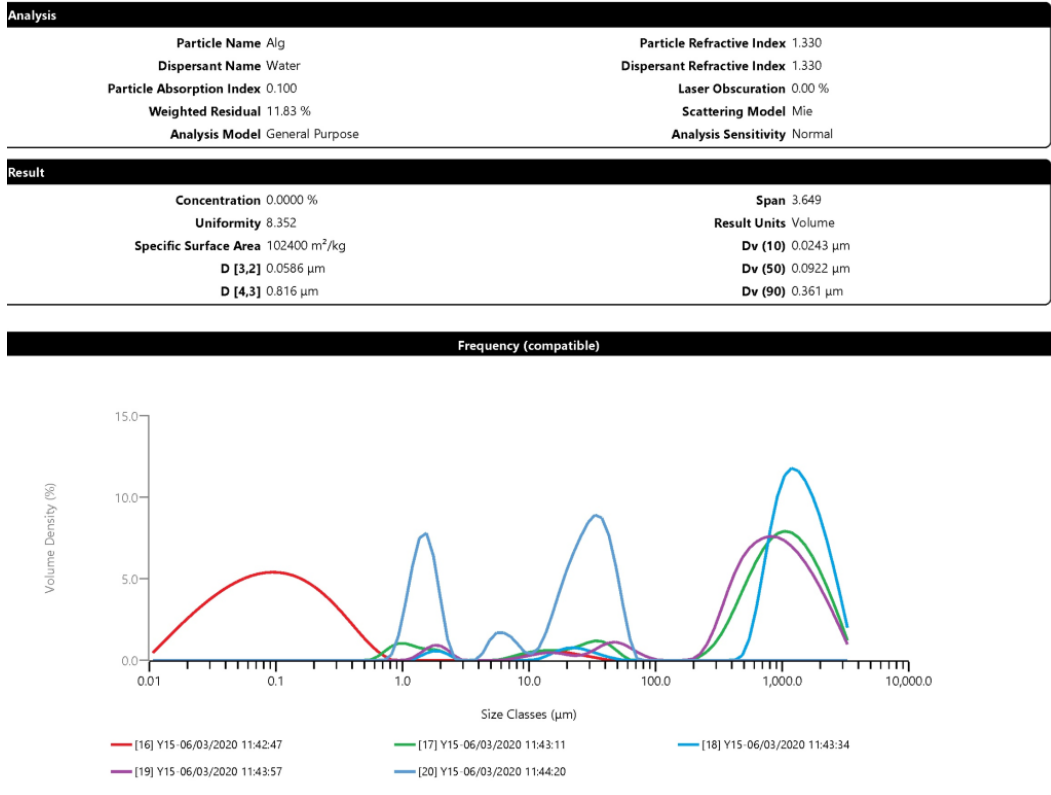
Aynı mikroplatformlarda (Şekil 5.1- A), Aljinat konsantrasyonun daha düşük (% 0.1) tutularak yapılan çalışmalarda (Tablo 5.1; Y3, Y4, Y5), mikropartikül oluşumu gözlenmiş olmakla beraber, oluşan mikropartiküllerin çok farklı boyut aralıklarına sahip olduğu (1-1000 μm) ve istenen monodispersiteye sahip olmadığı görülmüştür (Şekil 6.3, 6.4, 6.5). Bununla birlikte dağıtma fazı akış hızı; sürekli faz akış hızı oranları göz önünde bulundurulduğunda en düşük partikül boyutunun 1;2,5 oranı için elde edildiği görülmektedir. Ancak akış hızları oranı ile partikül boyutu arasında belirgin bir ilişkiden söz etmek elde edilen sonuçlara göre mümkün değildir. Elde edilen partiküllerin de hedeflenen boyutlarda olmadığı görülmektedir. Bunun nedeni olarak yine mikroplatform ve akış odaklama kaynaklı problemler gösterilebilir.



Şekil 6. 3. Y3 % 0.1 aljinat, 1 mM CaCl_2 , akış oranı 1;10 boyut dağılım analizi

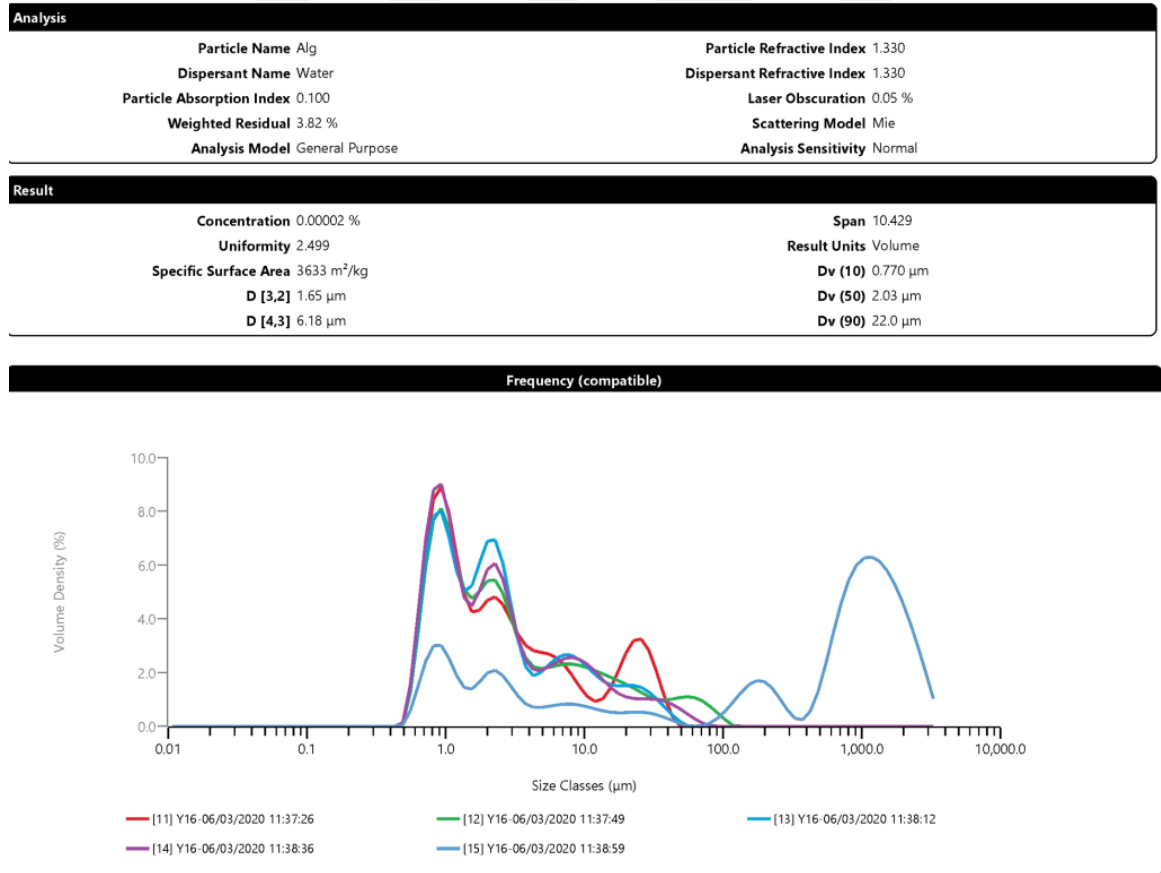


Şekil 6. 4. Y4 % 0.1 aljinat, 1 mM CaCl₂, akış oranı 1;5 boyut dağılım analizi

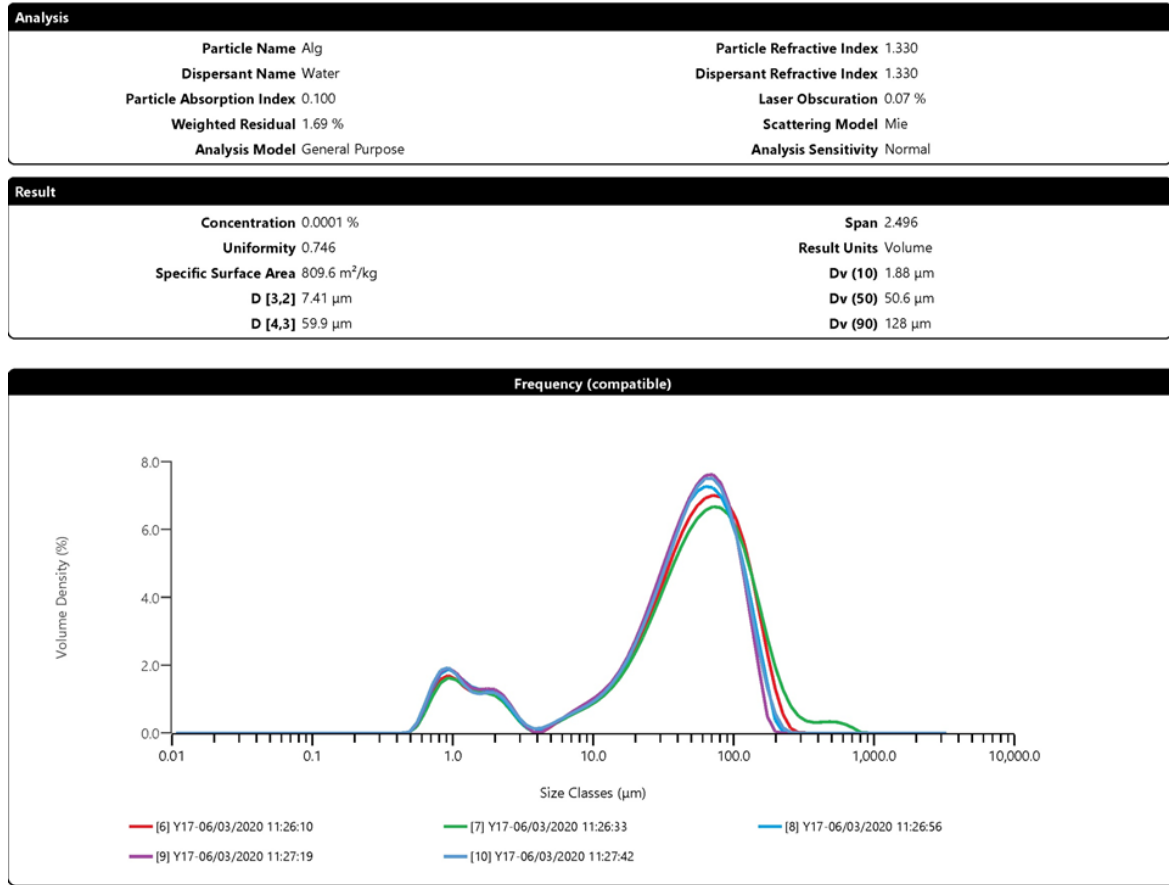


Şekil 6. 5. Y5; % 0.1 aljinat, 1 mM CaCl₂, akış oranı 1;2.5 boyut dağılım analizi

3 giriş ve 1 çıkıştan oluşan T geometriye sahip mikroplatformlar (Şekil 5.1-B) ve daha yüksek aljinat (%1.5) ile yapılan çalışmalarda (Tablo 5.1; Y6) ise nispeten daha düşük boyutta partiküller elde edilmesine karşın, partikül boyut dağılımının yine istenen profillerde olmadığı gözlenmiştir (Şekil 6.6). Aynı koşullarda dış jelleşme prensiplerine göre çalışmanın tekrar edilmesi için dağıtma fazı %1,5 aljinat ve %1 CaCO₃ ve sürekli faz olarak % 0.5 Asetik asit içeren Ayçiçek yağı kullanılarak denemiştir (Tablo 5.1; Y7). Bu koşullar altında elde edilen partiküllerin boyutlar 100 µm'nin üstünde olmasına rağmen boyut dağılımlarının nispeten daha homojen olduğu ve elde edilen partiküllerin daha monodispers olduğu gözlenmiştir (Şekil 6.7). Bununla birlikte sürekli fazın dağıtma fazı ile karışmadığı yağ gibi fazlardan oluştuğu ve mikropartikül oluşumundan önce mikroemülsiyonların oluştuğu denemelerde mikroplatformların daha çok zorlandığı ve sızdırma tıkanma gibi çeşitli akış problemlerinin gözlemlendiği belirlenmiştir. Bu nedenle daha iyi sonuç vermesine rağmen bu koşullarda çok fazla deneme yapılamamıştır.

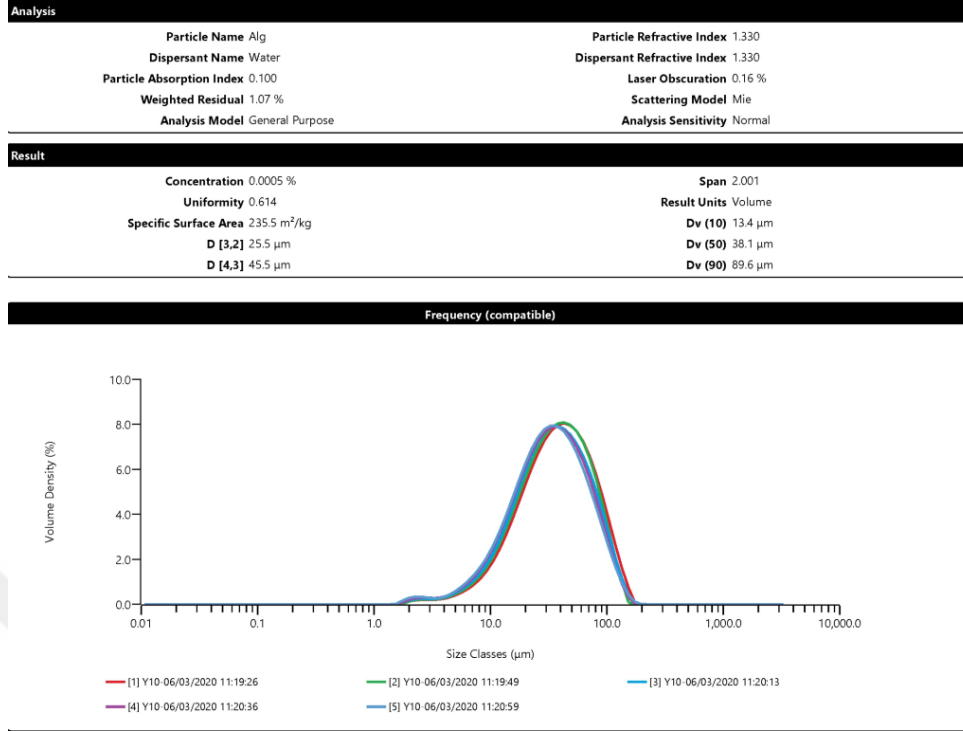


Şekil 6. 6. Y6; % 1.5 aljinat, 2.5 mM CaCl₂, akış oranı 1;4 boyut dağılım analizi



Şekil 6. 7. Y7; % 1.5 aljinat+ % 1 CaCO₃, yağ (% 0.5 Asetik asit), akış oranı 1;4 boyut dağılım analizi

3 giriş ve 1 çıkıştan oluşan Y geometriye sahip mikroplatformlar (Şekil 5.1-C) Kitosan ile yapılan denemelerde farklı konsantrasyonlarda kitosan çözeltileri %1 Asetik asit içerisinde hazırlanarak farklı iyonik çapraz bağlayıcı olarak Sodyum tripolifosfat (TPP) kullanılarak mikropartiküllerin üretilmesi hedeflenmiştir. Akış ve sızdırma problemleri nedeniyle yalnızca 3 deneme başarı ile gerçekleştirilmiştir. Denemede (Tablo 5.1; Y10, Y29, Y30) sürekli faz olarak %0.5 Kitosan çözeltisi ve dağıtma fazı olarak % 0.5 TPP kullanılmıştır. Elde edilen analiz sonuçlarına göre akış hızları oranının 1:3 (Tablo 5.1; Y10) olduğu koşullar altına üretilen kitosan mikropartiküllerin son derece homojen olduğu, ancak partikül boyutlarının 100 µm'nin altında olmakla beraber yine de istenen boyutlarda olmadığı belirlenmiştir (Şekil 6.8).

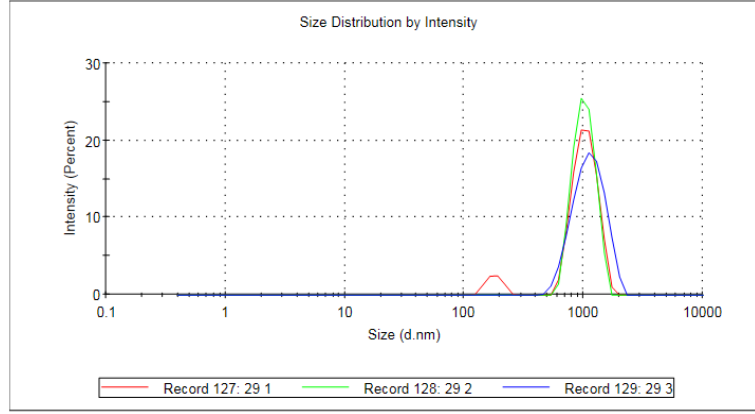


Şekil 6. 8. Y10; % 0.5 TPP, % 0.5 Kitosan (% 1 Asetik asit), akış oranı 1;3 boyut dağılım analizi

Sürekli faz; dağıtma fazı akış hızları oranının 1:5 ve 1:10 (Tablo 5.1; Y29, Y30) olduğu koşullar altında üretilen kitosan mikropartiküllerin partikül boyutlarının önemli derecede küçüldüğü (1 µm civarı), bununla birlikte homojenitenin ve partikül kararlılığının bozulduğu gözlenmiştir (Şekil 6.9 ve Şekil 6.10).

Results

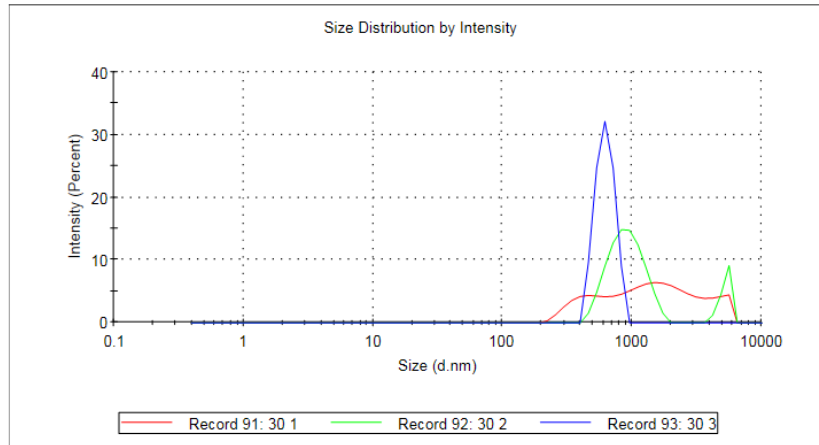
	Size (d.n...	% Intensity:	St Dev (d.n...
Z-Average (d.nm): 1603	Peak 1: 1043	92,3	233,2
Pdl: 0,696	Peak 2: 179,8	7,7	27,38
Intercept: 0,706	Peak 3: 0,000	0,0	0,000
Result quality Refer to quality report			



Şekil 6. 9. Y29; % 0.5 TPP, % 0.5 Kitosan (%1 Asetik asit), akış oranı 1;5 boyut dağılım analizi

Results

	Size (d.n...	% Intensity:	St Dev (d.n...
Z-Average (d.nm): 1091	Peak 1: 1681	61,8	842,8
Pdl: 0,470	Peak 2: 439,9	22,9	113,7
Intercept: 0,905	Peak 3: 4560	15,3	743,6
Result quality Refer to quality report			



Şekil 6. 10. Y30; % 0.5 TPP, % 0.5 Kitosan (%1 Asetik asit), akış oranı 1;10 boyut dağılım analizi

Bazban-Shotorbani ve arkadaşları, (2016) çalışmalarında 60 µm yükseklikte, 150 µm genişlikte T şeklinde mikrokannallarda aljinat (1mg/mL) ve CaCl₂'nin kullanarak mikropartikül üretimi gerçekleştirmişlerdir. Gözlemledikleri sonuçlarda akış hızı oranı arttıkça partikül boyutlarında da artış görülmüştür. Bu değerler sonucunda ürettikleri nanopartiküllerin boyutlarını 0.02-0.2 akış oranı için 68-138 nm aralığında oluşunu ölçmüşlerdir (Bazban-Shotorbani vd., 2016).

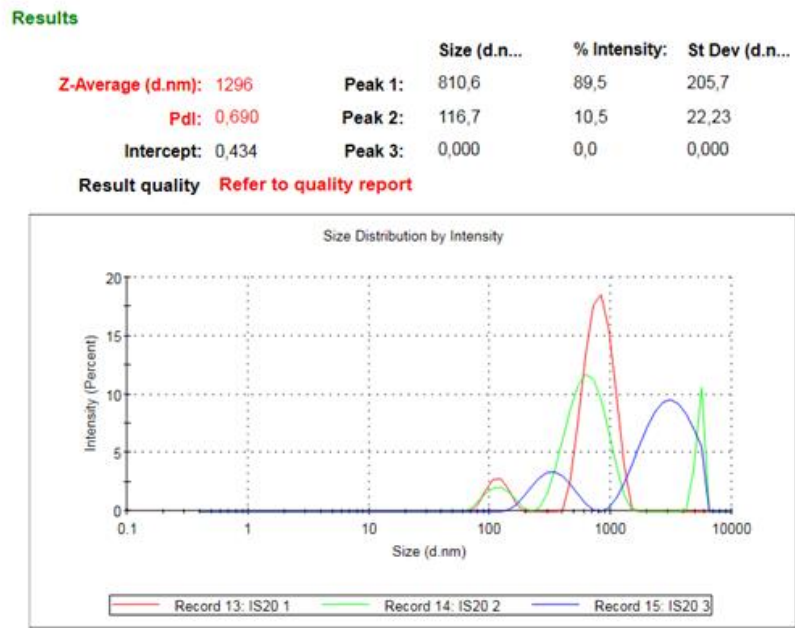
Pittermannova vd., (2016) yaptıkları çalışmada yağın sulu faza akış oranı ve hacim oranı 10-100 arasında değişen aralıklarda nanopartikül üretmeyi amaçlamışlardır. Akış hızları, dağılım fazı (Q_w) 5 ml/h, sürekli fazlar (Q_{yağ1}) 150 ml/h ve (Q_{yağ2}) 50 ml/h olacak şekilde ayarlamışlardır. 500 nanopartikülden oluşan bir numuneye dayanarak, partiküllerin ortalama çapı 10.5 - 0.5 µm olarak hesaplamışlardır. Aljinatın konsantrasyonunu değiştirerek partiküllerin çaplarını düşürmeyi hedeflemişlerdir. Aljinatın konsantrasyonunu %0.01 oranına düşürerek partikül çaplarını 5.1 - 0.3 µm'ye kadar düşürmeyi başarmışlardır (Pittermannova vd., 2016).

Aşık, (2017) formülasyonlarda ve hız deneylerinde kitosan miktarına göre TPP miktarının azalmasının olumlu bir etkisi olduğunu gözlemlemişlerdir. Gözlemledikleri bu sonuçlarla özellikle akış hızının azalmasının karışıma olumlu etki gösterdiği model çalışmalarıyla büyük bir paralellik gösterdiğini de açıklamışlardır. Böylece kanalda kalım süresinin artmasının tıkanmalara veya aggregasyona neden olması da beklenebileceğini öne sürmüşlerdir. Bunun önüne geçmek için akış hızının optimum sonuçlar verdiği 120ml/s ile 120 ml/s olarak belirlendiği formülasyon diğerlerine göre daha uzun süre kanal tıkanmadan kullanılabileceklerini de açıklamışlardır (Aşık, 2017).

6.3. Ev yapımı Akış Odaklayıcı Sistemde Mikropartiküllerin Sentezi ve Boyut Analizi

3B temelli mikroplatformlara alternatif olarak ev yapımı akış odaklama sistemi kullanılarak Tablo 5.2'de verilen koşullarda denemeler gerçekleştirilmiştir. Bu sistemde 1.5 mm çapa sahip girişten sürekli faz akışı sağlanırken, 120 µm iç çapa sahip insülin şırıngası iğnesi yardımıyla da dağıtma fazı verilmiştir. Bu aşamada yapılan çalışmalarda elde edilen örneklerin boyut analizi daha hassas olması nedeniyle Atatürk Üniversitesi Doğu Anadolu Yüksek Teknoloji Uygulama ve Araştırma Merkezi (DAYTAM) bünyesindeki Zetasizer cihazıyla gerçekleştirilmiştir.

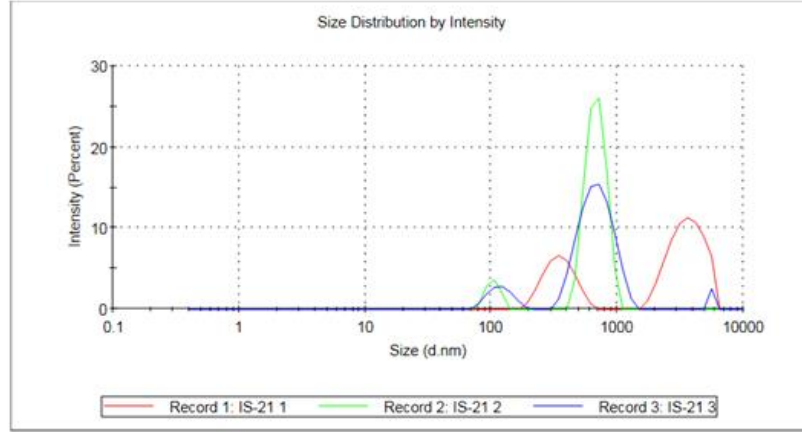
0.5 mg/ ml konsantrasyonuna sahip Aljinatın dağıtma fazı 1mM CaCl₂'nin sürekli faz olarak kullanıldığı dağıtma fazı akış hızı: Sürekli faz akış hızı oranı değiştirilerek denemeler yapılmıştır (Tablo 5.2; IS20, IS21). Her iki denemede de 3B temelli mikroplatformlarda elde edilen mikropartiküllere kıyasla boyutların belirgin bir şekilde küçüldüğü (1 µm civarında) ancak boyut dağılımlarının benzer şekilde homojen olmadığı gözlenmiştir. Akış hızları oranı 1:5 iken (IS20) elde edilen partiküllerin boyutlarının (Şekil 6.14) bu oran 1:10 olarak değiştirildiğinde, başka bir deyişle Aljinat akış hızı sabit tutulup CaCl₂'nin akış hızının 2 kat artırıldığı (IS21) durumda partikül boyutunun nispeten küçüldüğü tespit edilmiştir (Şekil 6.13). Herhangi bir partikül oluşumu gözlenmemiştir. Bunun olası nedeni olarak akış kaynaklı problemler nedeniyle sürekli fazın yeterince akış odaklaması gerçekleştirememesi olarak düşünülmüştür. Bunun yanı sıra kanallar içince yüksek basınç ve tıkanmalar sonucu sürekli fazın dağıtma fazının akışını engelleyebileceği öngörülmüştür. Özellikle aljinat konsantrasyonun yüksek olduğu denemelerde bu durumun gözlenmiştir.



Şekil 6. 11. IS20; 0.5mg/ml Aljinat, 1 mM CaCl₂ Akış hızı oranı 1:5 boyut dağılım analizi

Results

	Size (d.n...	% Intensity:	St Dev (d.n...
Z-Average (d.nm): 932,6	Peak 1: 3619	66,8	1047
Pdl: 0,761	Peak 2: 354,9	33,2	95,19
Intercept: 0,754	Peak 3: 0,000	0,0	0,000
Result quality	Refer to quality report		



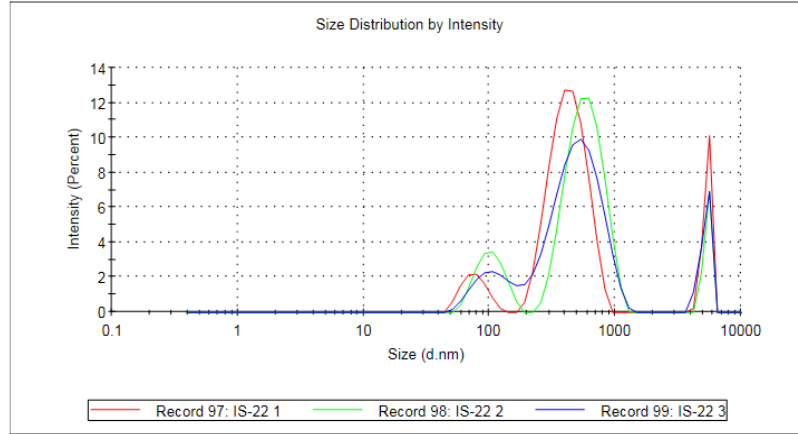
Şekil 6. 12. IS21; 0.5mg/ml Aljinat, 1 mM CaCl₂ Akış hızı oranı 1:10 boyut dağılım analizi

Aljinat konsantrasyonunun arttırılarak (1 mg/ ml) gerçekleştirilen denemelerde akış hızı oranı 1:10 iken (IS22) elde edilen örneklerin boyutunu 720 nm civarında olduğu ve nispeten daha homojen olduğu gözlenmiştir (Şekil 6.13). Akış hızı oranı 1:20’de elde edilen örneklerin boyutlarının önceki denemelere göre daha küçüldüğü (500 nm civarında) ancak boyut dağılımlarının benzer şekilde homojen olmadığı gözlenmiştir (Şekil 6.14).

Results

	Size (d.n...	% Intensity:	St Dev (d.n...
Z-Average (d.nm): 723,5	Peak 1: 437,3	76,7	138,3
Pdl: 0,600	Peak 2: 5334	14,1	369,3
Intercept: 0,482	Peak 3: 76,84	9,3	16,91

Result quality Refer to quality report

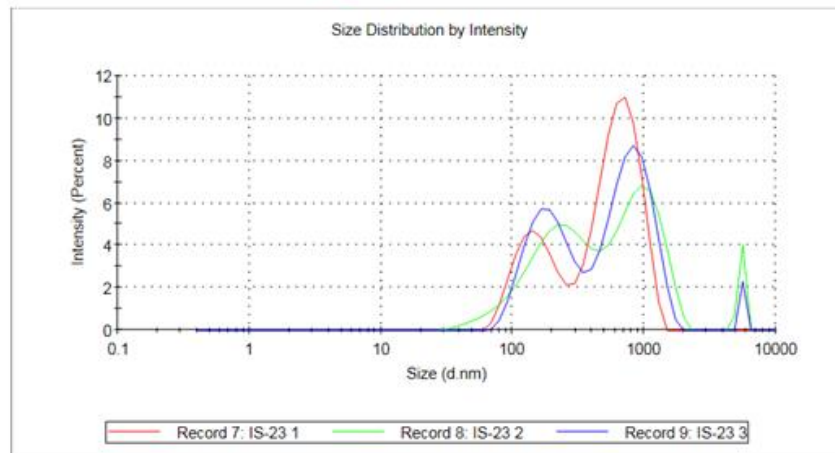


Şekil 6. 13. IS22; 1 mg/ml Aljinat, 1mM CaCl₂ Akış oranı 1:10 boyut dağılım analizi

Results

	Size (d.n...	% Intensity:	St Dev (d.n...
Z-Average (d.nm): 587,0	Peak 1: 659,9	71,0	235,4
Pdl: 0,590	Peak 2: 151,7	29,0	49,11
Intercept: 0,674	Peak 3: 0,000	0,0	0,000

Result quality Refer to quality report

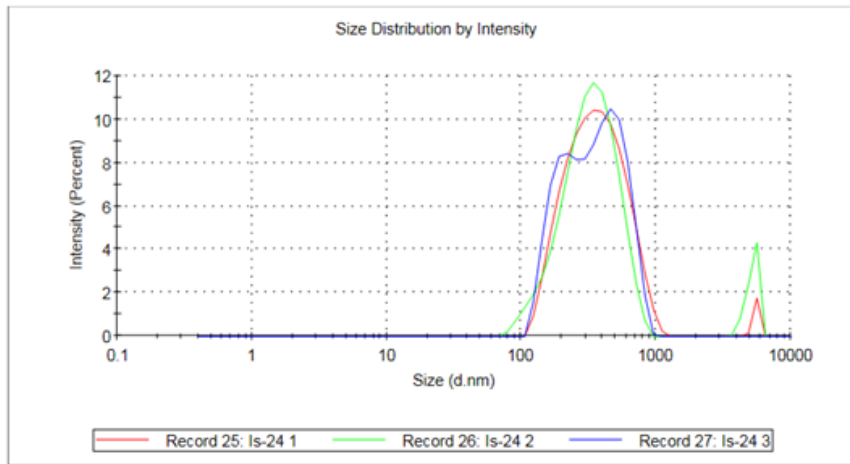


Şekil 6. 14. IS23; 1 mg/ml Aljinat, 1 mM CaCl₂ Akış hızı oranı 1:20 boyut dağılım analizi

Kitosan ile yapılan denemelerde kitosan hem dağıtma fazı hem de sürekli faz olarak sisteme beslendiği denemeler gerçekleştirilmiştir. %0.25 kitosanın sürekli faz, %0.5 TPP'nin dağıtma fazı olarak kullanıldığı denemelerde (Tablo 5.2; IS24, IS25) akış hızı oranı sabit tutulup akış hızları eşit oranda arttırılmıştır. Düşük akış hızlarında elde edilen mikropartikülleri (Tablo 5.2; IS24) 3B temelli mikroplatformlarda elde edilen mikropartiküllere ve akış odaklama sisteminde elde edilen aljinat mikropartiküllere kıyasla boyutların belirgin bir şekilde küçüldüğü (400 nm civarında) gözlenmiştir. Bunun yanı sıra kitosan mikropartiküllerin aljinat partiküllerine göre boyut dağılımlarının çok daha homojen olduğu gözlenmiştir (Şekil 6.15). Aynı denemenin daha yüksek akış hızları ile gerçekleştirildiği denemede (Tablo 5.2; IS25) ise mikropartikül boyutlarının belirgin bir şekilde arttığı (2.5 µm civarında), bununla birlikte elde edilen partiküllerin dağılımının neredeyse homojen olduğu belirlenmiştir (Şekil 6.16).

Results

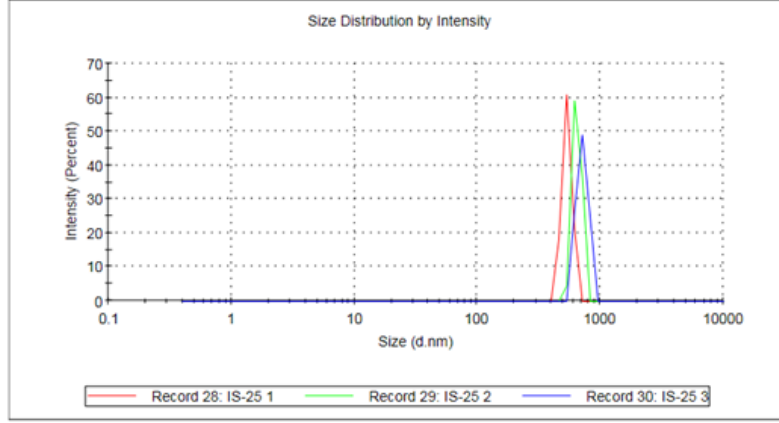
	Size (d.n...	% Intensity:	St Dev (d.n...
Z-Average (d.nm): 404,8	Peak 1: 388,3	98,1	186,7
Pdi: 0,395	Peak 2: 5505	1,9	196,7
Intercept: 0,930	Peak 3: 0,000	0,0	0,000
Result quality Good			



Şekil 6. 15. IS24; %0.25 kitosan, % 0.25 TPP Akış hızı oranı 1:20 düşük hız, boyut dağılım analizi

Results

	Size (d.n...	% Intensity:	St Dev (d.n...
Z-Average (d.nm): 2455	Peak 1: 535,8	100,0	49,25
PdI: 0,437	Peak 2: 0,000	0,0	0,000
Intercept: 0,771	Peak 3: 0,000	0,0	0,000
Result quality Refer to quality report			

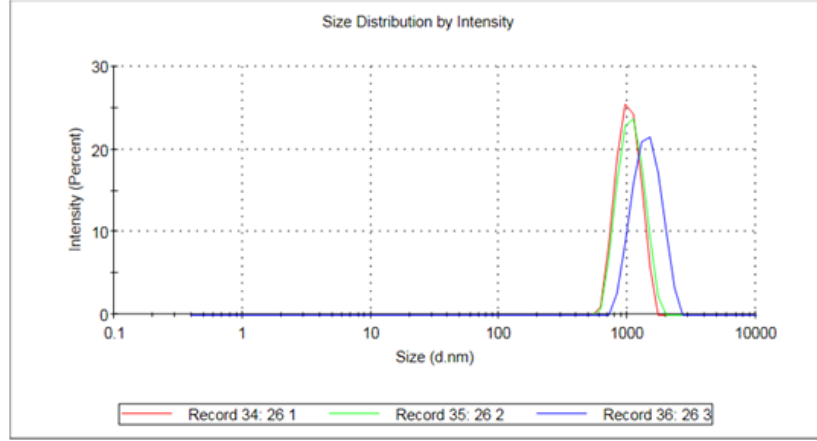


Şekil 6. 16. IS25; %0.25 kitosan, % 0.5 TPP Akış hızı oranı 1:20 yüksek hız, boyut dağılım analizi

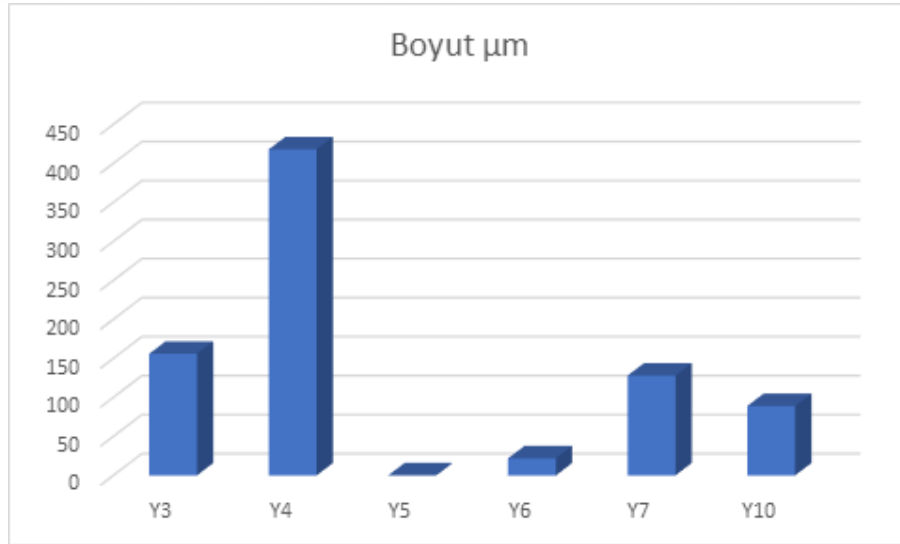
Kitosan ve çapraz bağlayıcısı TPP'nin yer değiştirildiği, başka bir deyişle kitosanın dağıtma fazı TPP'nin ise sürekli faz olduğu denemeler ise akış hızları oranı 1:4 olarak gerçekleştirilmiştir (Tablo 5.2; IS26). Bu denemede elde edilen mikropartiküllerin nispeten daha büyük boyutlara sahip olduğu ancak boyut dağılımının homojen olduğu tespit edilmiştir (Şekil 6.17).

Results

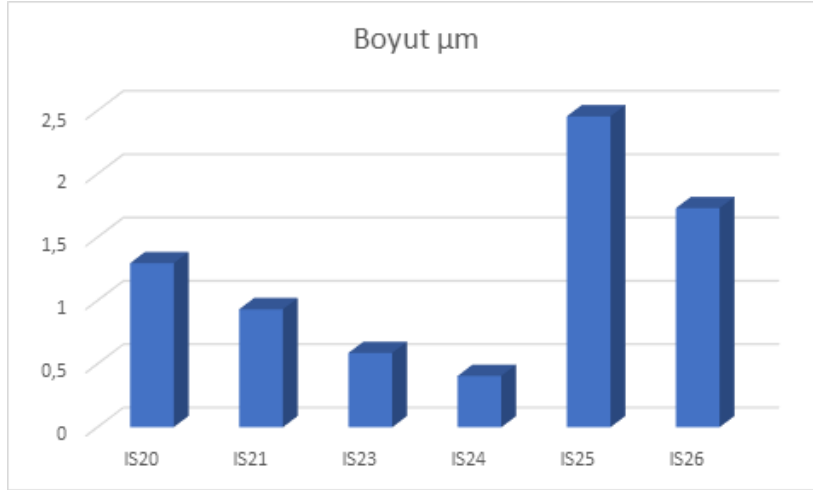
	Size (d.n...	% Intensity:	St Dev (d.n...
Z-Average (d.nm): 1730	Peak 1: 1026	100,0	208,1
Pdl: 0,582	Peak 2: 0,000	0,0	0,000
Intercept: 0,560	Peak 3: 0,000	0,0	0,000
Result quality Refer to quality report			



Şekil 6. 17. IS26; %0.5 TPP, % 0.25 kitosan Akış hızı oranı 1:20 yüksek hız, boyut dağılım analizi



Şekil 6. 18. 3B destekli mikroplatformlarda elde edilen mikropartiküllerin boyut dağılımı

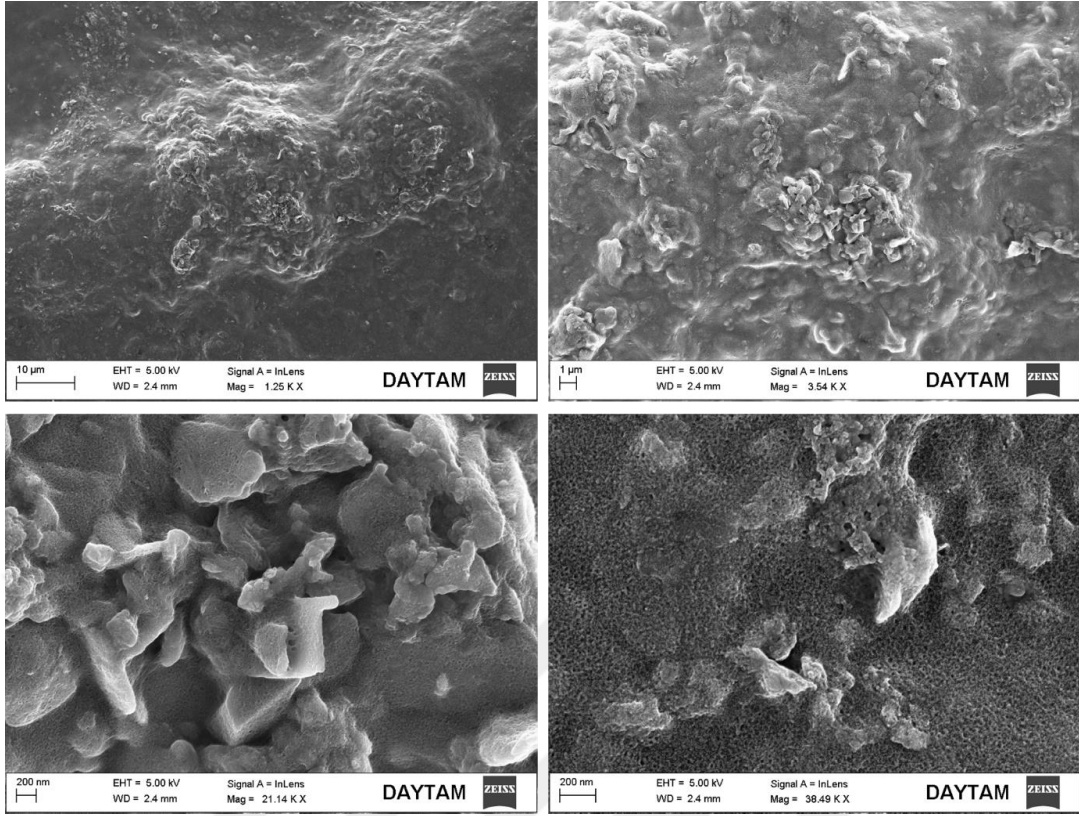


Şekil 6. 19. Ev yapımı akı odaklayıcı sistemde elde edilen mikropartiküllerin boyut dağılımı

6.4. Mikropartiküllerin Yapısal Karakterizasyonu

Şekil 6.20 'de sunulan ve IS24 koşullarında üretilen kitosan nanopartiküllerin SEM görüntülerinde partiküllerin yer yer homojen olduğu ancak bununla beraber agloremizasyon sonucu kitlesel yapıların da olduğu ve bu durumun partiküllerin hem boyutunu hem dehomojenitesini değiştirdiği gözlenmiştir.

Boyut analizi sonucu belirlenen boyutların SEM görüntülerinde elde edilen partiküllerin boyutlarından farklı olduğu tespit edilmiştir. Bununla birlikte, örnek miktarının az olması ve kurutma sonrası örneklerin süspanse edilmesinde karşılaşılan problemler nedeniyle yeterli ve daha ileri yapısal analizler gerçekleştirilememiştir.



Şekil 6. 20. Kitosan nanopartiküllerin SEM görüntüleri

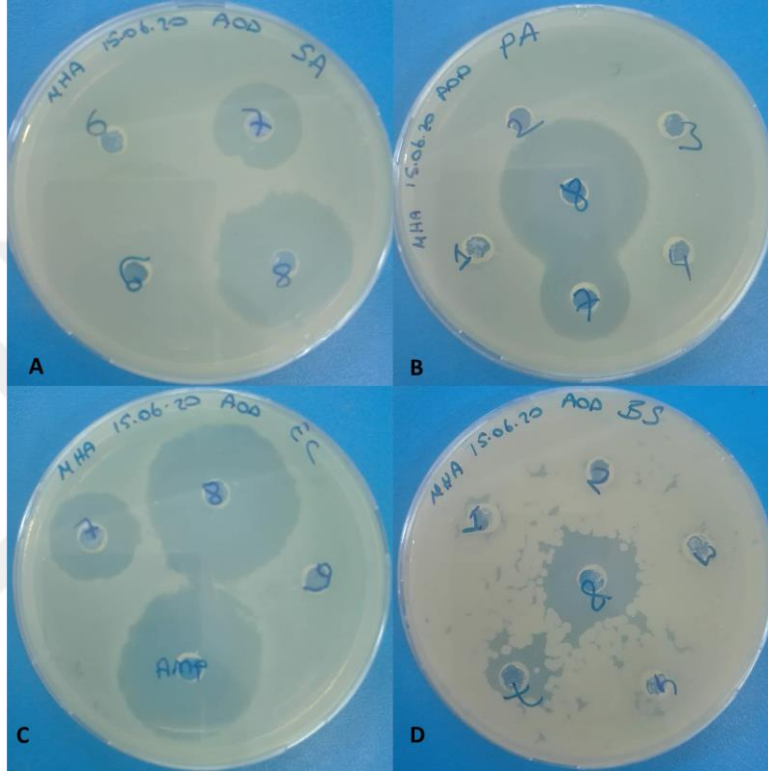
6.5. Mikropartiküllerin Antimikrobiyal Aktivitesi

Hazırlanan Nanopartiküller antimikrobiyal etkinlikleri, iki Gram negatif *P.aeruginosa* ve *E.coli* ve iki Gram pozitif *S. Aureus* ve *B. subtilis* bakterilerine karşı test edildi. Hem süpernatant hem de mikropartiküllerin her iki grup bakteriye karşı önemli derecede inhibisyon bölgeleri oluşturduğu gözlenmiştir (Şekil 6.21).

Sobhani vd., (2017)' nin yaptığı çalışmada kitosan nanopartikülleri içine antibiyotik olarak Ciprofloxacin yüklenmiş ve bu şekilde elde edilen nanopartiküllerin bakteriler üzerinde Minimum İnhibisyon konsantrasyonunun düşük konsantrasyon da bile önemli derecede düştüğünü gözlemlemişlerdir. Bu çalışmada da kontrol grubu (ampisilin ve süpernatant) ile kitosan örneklerinin oluşturduğu inhibisyon bölgeleri anlamlı olmaktadır (Tablo 6.1). Partiküllerden elde edilen ilk süpernatant çözeltisinde enkapsüle olmamış antibiyotiğin olması beklenen bir durumdur. Herhangi bir analitik çalışma yapmadığı için süpernatant antibiyotik konsantrasyonunu belirlemek zor olmakla beraber, kitosan

partikülerine enkapsüle edilmemiş antibiyotik miktarından fazla olduğu söylenebilir (Sobhani vd., 2017).

Saha vd., (2010) yine 2-5 mg/ml konsantrasyonunda ampisilin ile hazırlanan kitosan partiküllerinin *Staphylococcus aureus* suşuna karşı test edilmiş ve inhibisyon zonlarının olduğu bildirilmiştir (Saha vd., 2010). Kitosan mikropartiküllerin tek başına bakterilerde direnç gelişimini tetiklemeden aktivite gösterdiği de ayrıca rapor edilmiştir (Ma vd., 2016).



Şekil 6. 21. Ampisilin yüklü kitosan nanopartiküllerin antimikrobiyal aktivitesi. A; *S. Aureus*, B; *P.aeruginosa*, C; *E.coli*, D; *B. subtilis*

Tablo 6. 1. Ampisilin yüklü kitosan nanopartiküllerin oluşturduğu inhibisyon çapları

Örnek	İnhibisyon çapı mm			
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Bacillus subtilis</i>	<i>Escherichia coli</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
IS24 (7)	19	13	21	21
Süpernatant (8)	29	23	36	35

7. SONUÇ VE ÖNERİLER

Literatürde mikroakışkan sistemleri kullanarak emülsiyon tabanlı mikropartiküllerin üretimine yönelik çok sayıda çalışma bulunmasına rağmen biyopolimer tabanlı hidrojellerin üretimine ve optimizasyonuna yönelik çalışmaların sayısı nispeten daha azdır. Bu nedenle geleneksel enkapsülasyon yöntemlerinde sıklıkla kullanılan Aljinat ve Kitosan hidrojel nanopartikül şeklinde üretilmiştir. Hidrojel nanopartiküllerinin en uygun boyut ve özelliklerde üretilmesi için hem polimer oranı hem de kullanılacak çapraz bağlayıcının oranı optimize edilmiştir. Benzer şekilde istenen özelliklerde hidrojel üretilmesi için mikroakışkan aygıtlarının başta kanal boyutları olmak üzere farklı geometrilerde üretilmesi sağlanmıştır. Öte yandan hâlihazırda kullanılan partikül üretilme yöntemlerinde istenen boyut aralıklarında partiküller elde edilebilmekle beraber, bu partiküllerin homojenitesi istenen düzeyde değildir. Bu çalışma kapsamında, üretilen partiküllerin boyutunun yanı sıra boyut dağılımı da göz önünde bulundurularak üretim yöntemleri geliştirmiştir. Hali hazırda geliştirilen mikropartikül teknikleri daha çok hücre ve protein enkapsülasyonuna yönelik iken bu proje kapsamında, ilaç olarak tanımlanmış; ancak istenen terapötik etkiye ulaşamayan moleküllerin terapötik aktivitelerini arttırmak için hücre içine alımını kolaylaştıracak bir yöntem geliştirilmesi çalışmanın özgünlüğünü ortaya çıkarmaktadır.

Bu çalışmada 3B yazıcıların mikrosistemlerin üretilmesi için kullanabileceği doğrulanmış ve 250 μm 'ye kadar mikroyapıların tasarlanabileceği gösterilmiştir.

3B yazıcı yardımıyla üretilen ve soft liotografi amacıyla kullanılan kalıpların istenilen çözünürlüğe sahip olmakla beraber sızdırma ve yapıştırma gibi bazı problemleri de beraberinde getirdiği gözlenmiştir.

Karşılaşılan bu sorunlar mikroplatformların uzun süreli kullanımını engellediği yapılan deneyler sonucu gözlenmiştir. Mikroplatformlarda akış odaklama prensibine dayalı mikropartikül üretilmesi için farklı koşullar altında, akış hızları, polimer ve çapraz bağlayıcı konsantrasyonları gibi parametrelerin partikül boyutu ve dağılımı üzerindeki etkileri incelenmiştir. Elde edilen sonuçlar ışığında mikroplatformlarda mikropartikül oluşumu için kitosanın daha elverişli olduğu tespit edilmiştir. Boyut analizi sonuçlarına göre 3B olarak üretilen mikroplatformlarda %0.5 kitosan ve %0.5 TPP'nin akış hızı oranı 1:10 olarak uygulandığı deneme (Y30) en iyi sonucu vermiştir. Alternatif akış odaklayıcı sistemde

yapılan denemelerde ise %0.25 kitosan ve % 0.25 TPP'nin akış hızı oranı 1:20 ve akış hızlarının düşük olduğu deneme (IS24) en küçük partikül boyutunun elde edildiği belirlenmiştir. Bu koşullar altında (IS24) ampsilin yüklenmiş kitosan mikropartiküllerinin aktivitesine bakılmış ve elde edilen sonuçlar ışığında ampisilin yüklü mikropartiküllerin neredeyse serbest antibiyotik kadar aktivite gösterdiği gözlenmiştir. .

Bu çalışma kapsamında elde edilen sonuçlar doğrultusunda Kitosan mikropartiküllerin, aljinat partiküllerine göre boyut dağılımlarının daha çok homojen olduğu ve üretilmelerinin daha kolay olduğu varsayılabilir. Daha geniş konsantrasyon ve akış hızı aralıkları için daha fazla çalışma yapılarak bu olgunun doğruluğu gösterilebilir. Bu çalışmadan elde edilen diğer bir sonuç dağıtma faz / sürekli faz akış hızı oranının artırılmasını partikül boyut üzerinde olumlu bir etksinin olduğu ve daha yüksek akış hızı oranında elde edilen partiküllerin daha küçük olduğu tespit edilmiştir. Antimikrobiyal aktivite sonuçları göz önüne alındığında biyoaktif içeriğin başarılı bir şekilde mikropartiküllere yüklendiği ve ard arda 3 kere saf su ile santrifüj edilmesine rağmen antibiyotığın partikül tarafından alıkonulduğu gözlenmiştir. Santrifüjü takiben kurutma 3 gün boyunca oda sıcaklığında gerçekleştirilmiştir. Antibiyotik yüklü kitosan mikropartiküllerin bu koşullar altında aktivite göstermesi, enkapsülasyonun aynı zamanda antibiyotik stabilitesi üzerinde de olumlu bir etki gösterdiği sonucu çıkarılabilir. Öte yandan bakteri ortamına eklenen antibiyotik yüklü kitosan partiküllerin aktivite göstermesi, antibiyotığın mikropartiküllerden başarılı bir şekilde salındığını ya da yüklü partiküllerin ortamda diffüze olarak mikroorganizmalara penetre edebildiğini göstermektedir. Bu sonuçlar özellikle antibiyotik dirençli bakterilere karşı kullanılabilecek tedavilerin geliştirilmesi için umut verici bir yöntem olabilir.

Mikroakışkan aygıtlarının tasarımı ve üretiminde geleneksel litografi yöntemlerinden farklı olarak kullanılan kalıpların 3B yazıcı ile üretimi ve PDMS'in bu kalıplara dökülerek istenen mikroaygıtların üretimi de gerçekleştirilmiştir. Böylece çok hassas ve maliyetli bir işlem olan mikrofabrikasyon aşamasının da daha basit ve az maliyetle gerçekleştirilmesi sağlanmıştır. Bu çalışma yakın gelecekte büyük gelişmeler sağlaması beklenen mikroakışkanlar alanında önemli bir bilgi birikimi ve tecrübe kazanmıştır. Özellikle bu teknolojinin ilaç ve tıp alanına uygulanması yeni teşhis ve tedavi sistemlerinin geliştirilmesinde oldukça büyük potansiyele sahiptir. Bu çalışmada geliştirilen yöntemler sayesinde fiziksel koşullar nedeniyle ilaç endüstrisinde istenen terapötik etkiyi gösteremediği için onaylanmayan birçok ilacın yeniden değerlendirilmesine olanak

sağlayabilecektir. Geliştirilecek yöntemler sayesinde ilaçların hedeflenmesi ve salımı daha kontrollü bir şekilde gerçekleştirileceğinden daha az miktarda ilaç kullanılarak maliyetler de azaltılmış olacaktır.

3B baskının devrim niteliğindeki yönü üretim engellerini en aza indirmektir. Fiziksel modellerin birkaç saat içinde hızlı prototiplendirilmesini sağlamak, mikroakışkan mühendislerin fotomask aracına veya kalıp üretim sürecine yatırım yapmadan önce tasarımı test etmelerine izin vererek ürün tasarım sürecinde devrim yaratır. Biyotıp alanında, prototipten ürüne dönüşümü hızlandırmalı, kişiselleştirilmiş ekipman ve terapi sağlamalı, araştırma ve geliştirmeyi hızlandırmalı ve tıbbi bakımı daha uygun fiyatlı ve erişilebilir hale getirmelidir.



8. KAYNAKLAR

- Agrawal, M., Limbachiya, M., Sapariya, A. ve Patel, G., 2012. A Review on Parenteral Controlled Drug Delivery System, International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research, 3, 10, 3657-3669.
- Akar, E., 2012. Aktif Polimerlerin Hazırlanması ve Karakterizasyonu. Yüksek Lisans Tezi, Dokuz Eylül Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir, 65s.
- Akkurt, M.D., 2012. Kitin , Kitosan ve Diş Hekimliğindeki Kullanım Alanları. Klinik Bilimleri Dergisi, 6, 2, 1206-1211.
- Amstad, E., Chemama, M., Eggersdorfer, M., Arriaga, L.R., Brenner, M.P. ve Weitz, D.A., 2016. Robust Scalable High Throughput Production of Monodisperse Drops, Lab on a Chip, 16, 21, 4163–4172.
- Amstad, E., Datta, S.S. ve Weitz, D.A., 2014. The Microfluidic Post-Array Device: High Throughput Production of Single Emulsion Drops, Lab on a Chip, 14, 4, 705–709.
- Anna, S. L., Bontoux, N. ve Stone, H.A., 2003. Formation of Dispersions Using “Flow Focusing” in Microchannels, Applied Physics Letters, 82, 3, 364–366.
- Aranaz, I., Mengibar, M., Harris, R., Panos, I., Miralles, B., Acosta, N. ve Heras, A., 2012. Functional Characterization of Chitin and Chitosan, Current Chemical Biology, 3, 2, 203–230.
- Aslan, R. ve Aslan, H., 2018. Akıllı (Hedeflendirilmiş) İlaçlar, Göller Bölgesi Aylık Hakemli Ekonomi ve Kültür Dergisi, 6, 69, 6-11.
- Aşık, M.D., 2017. Biyopolimerik Nanopartiküllerin Sentezi İçin Yeni Bir Mikroakışkan Cihazın Tasarımı ve Üretimi. Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, 53s.
- Atabaev, T.S., 2016. Multimodal İnorganic Nanoparticles For Biomedical Applications. Nanobiomaterials in Medical Imaging, Elsevier, pp. 253-278.
- Aygün, A., 2019. Yeni Nesil Nano Kompozitlerin / Nanoilçaların Hazırlanması ve Antikanserojen - Antimikrobiyal İlaç Potansiyellerinin Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Kütahya Dumlupınar Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Kütahya, 81s.
- Bazban-Shotorbani, S., Dashtimoghadam, E., Karkhaneh, A., Hasani-Sadrabadi, M.M. ve Jacob, K.I., 2016. Microfluidic Directed Synthesis of Alginate Nanogels with Tunable Pore Size for Efficient Protein Delivery, Langmuir, 32, 19, 4996–5003.
- Bhattarai, M. ve Gupta, A.K., 2015. Fast Dissolving Oral Films : A Novel Trend to Oral Drug Delivery, Sunsari Technincal College Journal, 2, 1, 58–68.
- Boholm, M. ve Arvidsson, R., 2016. A Definition Framework for the Terms Nanomaterial and Nanoparticle, NanoEthics, 10, 1, 25–40.
- Bond, L., 1980. Polymer Photophysics, Luminescence, Energy Migration and Molecular Motion in Synthetic Polymers, Applied Psychological Measurement, New York, pp. 406-410.

- Brown, M.B., Martin, G.P., Jones, S.A. ve Akomeah, F.K., 2006. Dermal and Transdermal Drug Delivery Systems: Current and Future Prospects, Drug Delivery, Journal of Delivery and Targeting of Therapeutic Agents, 13, 3, 175–187.
- Chan, L.W. ve Heng, P.W.S., 2002. Effects of Aldehydes and Methods of Cross-Linking on Properties of Calcium Alginate Microspheres Prepared by Emulsification, Biomaterials, 23, 5, 1319–1326.
- Chen, P.W., Erb, R.M. ve Studart, A. R., 2012. Designer Polymer-Based Microcapsules Made Using Microfluidics. Langmuir, 28, 1, 144–152.
- Chiu, Y. L., Ho, Y. C., Chen, Y. M., Peng, S. F., Ke, C.J., Chen, K.J., Sung, H.W., 2010. The Characteristics, Cellular Uptake And Intracellular Trafficking of Nanoparticles Made Of Hydrophobically-Modified Chitosan, Journal of Controlled Release, 146, 1, 152–159.
- Couvreur, P., Barratt, G., Fattal E., Legrand P. ve Vauthier C., 2002. Nonacapsule Tecnology: A Review, Critical Review in Therapeutic Drug Carrier Systems, 19, 2, 99-134.
- Derman, S., Kizilbey, K. ve Akdeste, Z.M., 2013. Polimerik Nanopartiküller, Mühendislik ve Fen Bilimleri Dergisi, 31, 109-122.
- Desai, M.P., Labhasetwar, V., Walter, E., Levy, R.J. ve Amidon, G.L., 1997. The Mechanism of Uptake of Biodegradable Microparticles in Caco-2 Cells is Size Dependent, Pharmaceutical Research, 14, 11, 1568-1573.
- Dinsmore, A.D., Hsu, M.F., Nikolaidis, M.G., Marquez, M., Bausch, A.R. ve Weitz, D.A., 2002. Colloidosomes: Selectively Permeable Capsules Composed Of Colloidal Particles, Science, 298, 5595, 1006–1009.
- Özdemir, Z., 2014. Kitin; Kitosanın Fonksiyonel Özellikleri ve Kullanım Alanları, Türkiye Kimya Derneği, 44, 104-117.
- Draget, K.I., 2009. Alginates, Handbook of Hydrocolloids, Second Edition, ISBN 978-184-569-587-3, Norway. pp. 807–828.
- Ensign, L.M., Cone, R. ve Hanes, J., 2012. Oral Drug Delivery With Polymeric Nanoparticles: The Gastrointestinal Mucus Barriers, Advanced Drug Delivery Reviews, 64, 6, 557–570.
- Garcia-Garcia, E., Andrieux, K., Gil, S. ve Couvreur, P., 2005. Colloidal Carriers And Blood-Brain Barrier (BBB) Translocation: A Way to Deliver Drugs to The Brain, International Journal of Pharmaceutics, 298, 2, 274–292.
- George, M. ve Abraham, T.E., 2006. Polyionic Hydrocolloids For The İntestinal Delivery Of Protein Drugs: Alginate and Chitosan, Journal of Controlled Release, 114, 1, 1–14.
- Girgin, B., 2017. Melatonin yüklü aljinat/gam arabık kürelerin üretimi ve ilaç salım özelliklerinin araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimler Enstitüsü, Aydın, 86s.

- Grassi, M. ve Grassi, G., 2018. Mathematical Modelling and Controlled Drug Delivery : Matrix Systems, Current Drug Delivery, 2, 97–116.
- Gu, W., Wu, C., Chen, J. ve Xiao, Y., 2013. Nanotechnology in The Targeted Drug Delivery For Bone Diseases And Bone Regeneration, International Journal of Nanomedicine, 8, 2305–2317.
- Gulati, N. ve Gupta, H., 2011. Parenteral Drug Delivery: A Review, Recent Patents on Drug Delivery and Formulation, 5, 2, 133–145.
- Gürsoy, A.Z., 2002. Kontrollü Salım Sistemleri: İlaç taşıyıcı partiküler sistemler, Kontrollü Salım Sistemleri Derneği Yayını, 7, 3-102.
- Heckel, T., Konieczna, D.D. ve Wilhelm, R., 2013. An Ionic Liquid Solution of Chitosan as Organocatalyst, Catalysts, 3, 4, 914–921.
- Hines, D.J. ve Kaplan, D.L., 2013. Poly(Lactic-Co-Glycolic) Acid-Controlled-Release Systems: Experimental and Modeling Insights, Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems, 30, 3, 257–276.
- Hirayama, F. ve Uekama, K., 1999. Cyclodextrin-based controlled drug release system, Advanced Drug Delivery Reviews, 36, 125–141.
- Homaei, A.A., Sariri, R., Vianello, F. ve Stevanato, R. 2013. Enzyme Immobilization: An Update, Journal of Chemical Biology, 6, 4, 185–205.
- Hrkach, J., Von Hoff, D., Ali, M.M., Andrianova, E., Auer, J., Campbell, T. ve Zale, S., 2012. Preclinical Development and Clinical Translation of a PSMA-Targeted Docetaxel Nanoparticle With a Differentiated Pharmacological Profile, Science Translational Medicine, 4, 128, 39-128.
- Huang, J., Li, Q., Sun, D. ve Lu, Y., 2007. Biosynthesis of Silver and Gold Nanoparticles by Novel Sundried Cinnamomum Camphora Leaf, Nanotechnology, 18, 105104, 11.
- Humphry, K.J., Ajdari, A., Fernández-Nieves, A., Stone, H.A. ve Weitz, D.A., 2009. Suppression of Instabilities in Multiphase Flow by Geometric Confinement Physical Review E, Statistical, Nonlinear and Soft Matter Physics, 79, 5, 1–5.
- Jang, H.D., Hwang, D.W., Kim, D.P., Kim, H.C., Lee, B.Y. ve Jeong, I.B., 2004. Preparation of Cobalt Nanoparticles by Hydrogen Reduction of Cobalt Chloride in The Gas Phase, Materials Research Bulletin, 39, 1, 63–70.
- Jenjob, R., Phakkeeree, T., Seidi, F., Theerasilp, M. ve Crespy, D., 2019. Emulsion Techniques for the Production of Pharmacological Nanoparticles, Macromolecular Bioscience, 19, 6, 1–13.
- Ju, X.J., Xie, R., Yang, L. ve Chu, L.Y., 2009. Biodegradable “Intelligent” Materials in Response to Chemical Stimuli for Biomedical Applications, Expert Opinion on Therapeutic Patents, 19, 5, 683–696.
- Kadam, V.B., Dhanawade, V.A., Salunkhe, A.T. ve Uale, A.T., 2014. Nanoparticle- Novel Drug Delivery System, Journal of Current Pharma Research, 4, 4, 1318-1335.

- Kalepu, S. ve Nekkanti, V., 2015. Insoluble Drug Delivery Strategies: Review of Recent Advances and Business Prospects, Acta Pharmaceutica Sinica B, 5, 5, 442–453.
- Kalia, S. ve Avérous, L., 2011. Biopolymers: Biomedical and Environmental Applications, List of Contributors, ISBN 978-047-063-923-8, India, pp. 35-53.
- Kamei, K.İ., Mashimo, Y., Koyama, Y., Fockenber, C., Nakashima, M., Nakajima, M. ve Chen, Y., 2015. 3D Printing of Soft Lithography Mold for Rapid Production of Polydimethylsiloxane-Based Microfluidic Devices for Cell Stimulation with Concentration Gradients, Biomedical Microdevices, 17, 2, 36.
- Kanikkannan, N., Kandimalla, K., Lamba, S. ve Singh, M., 2012. Structure-activity Relationship of Chemical Penetration Enhancers in Transdermal Drug Delivery, Current Medicinal Chemistry, 7, 6, 593–608.
- Karami, N., Moghimipour, E. ve Salimi, A., 2018. Liposomes as a Novel Drug Delivery System: Fundamental And Pharmaceutical Application, Asian Journal of Pharmaceutics, 12, 1, 31–41.
- Karataş, A. ve Sonakin, Ö., 2007. Mikrofabrikasyon Teknolojisi ve İlaç Taşıyıcı Sistemler üzerinde Uygulamaları. Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi, 36, 1, 47–74.
- Kaur, I.P., Bhandari, R., Bhandari, S. ve Kakkar, V., 2008. Potential of Solid Lipid Nanoparticles in Brain Targeting, Journal of Controlled Release, 127, 2, 97–109.
- Ketul, P., Patel, K.R., Patel, M.R. ve Patel, N.M., 2011. Fast Dissolving Films: a Novel Approach To Oral Drug Delivery, International Research Journal of Pharmacy, 2, 12, 69–74.
- Khadka, P., Ro, J., Kim, H., Kim, I., Kim, J. T., Kim, H. ve Lee, J., 2014. Pharmaceutical Particle Technologies: An Approach to Improve Drug Solubility, Dissolution and Bioavailability, Asian Journal of Pharmaceutical Sciences, 9, 6, 304–316.
- Kim, S., Oh, J. ve Cha, C., 2016. Enhancing The Biocompatibility of Microfluidics-Assisted Fabrication of Cell-Laden Microgels With Channel Geometry, Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 147, 1–8.
- Kreuter, J., 2004. Influence of the Surface Properties on Nanoparticle-Mediated Transport of Drugs to the Brain, Journal of Nanoscience and Nanotechnology, 4, 5, 484–488.
- Kumar, M.N.V.R., Kumar, N., Domb, A.J. ve Arora, M., 2002. Pharmaceutical Polymeric Controlled Drug Delivery Systems, Advances in Polymer Science, 160, 45–117.
- Kumari, A., Yadav, S.K. ve Yadav, S.C., 2010. Biodegradable Polymeric Nanoparticles Based Drug Delivery Systems, Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, 75, 1, 1–18.
- Kunzmann, A., Andersson, B., Thurnherr, T., Krug, H., Scheynius, A. ve Fadeel, B., 2011. Toxicology of Engineered Nanomaterials: Focus on Biocompatibility, Biodistribution and Biodegradation, Biochimica et Biophysica Acta - General Subjects, 1810, 3, 361–373.
- Kurozuka, A., Onishi, S., Nagano, T., Yamaguchi, K., Suzuki, T. ve Minami, H., 2017. Emulsion Polymerization with a Biosurfactant, Langmuir, 33, 23, 5814–5818.

- Langer, R., 1993. Polymer-Controlled Drug Delivery Systems, Accounts of Chemical Research, 26, 1, 537–542.
- Lee, H., Xu, L. ve Oh, K. W., 2014. Droplet-Based Microfluidic Washing Module for Magnetic Particle-Based Assays, Biomicrofluidics, 8, 4, 044113.
- Lee, K.Y. ve Mooney, D.J., 2012. Alginate: Properties and biomedical applications, Progress in Polymer Science (Oxford), 37, 1, 106–126.
- Lengyel, M., Kállai-Szabó, N., Antal, V., Laki, A.J. ve Antal, I., 2019. Microparticles, Microspheres, and Microcapsules for Advanced Drug Delivery, Scientia Pharmaceutica, 87, 3, 20.
- Li, W., Zhang, L., Ge, X., Xu, B., Zhang, W., Qu, L. ve Weitz, D.A., 2018. Microfluidic Fabrication of Microparticles for Biomedical Applications, Chemical Society Reviews, 47, 15, 5646–5683.
- Lima, A.C., Sher, P. ve Mano, J.F., 2012. Production Methodologies of Polymeric and Hydrogel Particles for Drug Delivery Applications, Expert Opinion on Drug Delivery, 9, 2, 231–248.
- Liu, A. L. ve García, A.J., 2016. Methods for Generating Hydrogel Particles for Protein Delivery, Annals of Biomedical Engineering, 44, 6, 1946–1958.
- Liu, D., Zhang, H., Fontana, F., Hirvonen, J.T. ve Santos, H.A., 2018. Current Developments and Applications of Microfluidic Technology Toward Clinical Translation of Nanomedicines, Advanced Drug Delivery Reviews, 128, 54–83.
- Luka, G., Ahmadi, A., Najjaran, H., Alocilja, E., Derosa, M., Wolthers, K. ve Hoorfar, M., 2015. Microfluidics Integrated Biosensors: A Leading Technology Towards Lab-On-A-Chip and Sensing Applications, Sensors, 15, 12, 30011–30031.
- Ma, Z., Kim, D., Adesogan, A.T., Ko, S., Galvao, K. ve Jeong, K.C., 2016. Chitosan Microparticles Exert Broad-Spectrum Antimicrobial Activity against Antibiotic-Resistant Micro-organisms without Increasing Resistance, ACS Applied Materials and Interfaces, 8, 17, 10700–10709.
- Maderuelo, C., Zarzuelo, A. ve Lanao, J.M., 2011. Critical Factors in the Release of Drugs from Sustained Release Hydrophilic Matrices, Journal of Controlled Release, 154, 1, 2–19.
- Majedi, F.S., Hasani-Sadrabadi, M.M., Vandersarl, J.J., Mokarram, N., Hojjati-Emami, S., Dashtimoghadam, E. ve Renaud, P., 2014. On-Chip Fabrication of Paclitaxel-Loaded Chitosan Nanoparticles for Cancer Therapeutics, Advanced Functional Materials, 24, 4, 432–441.
- Makadia, H.K. ve Siegel, S. J., 2011. Poly Lactic-Co-Glycolic Acid (PLGA) as Biodegradable Controlled Drug Delivery Carrier, Polymers, 3, 3, 1377–1397.
- Malik, K., Singh, I. ve Nagpal, M., 2010. Atrigel: A Potential Parenteral Controlled Drug Delivery System, Pelagia Research Library, 1, 1, 74–81.

- Mansoor, S., Kondiah P.P.D., Choonara Y.E. ve Pillay V., 2019. Polymer-Based Nanoparticle Strategies for Insulin Delivery, Polymers, 11, 9, 1380.
- Marquis, M., Davy, J., Cathala, B., Fang, A. ve Renard, D., 2015. Microfluidics Assisted Generation of Innovative Polysaccharide Hydrogel Microparticles, Carbohydrate Polymers, 116, 189–199.
- Matosevic, S., Szita, N. ve Baganz, F., 2011. Fundamentals and Applications of Immobilized Microfluidic Enzymatic Reactors, Journal of Chemical Technology and Biotechnology, 86, 3, 325–334.
- Miller, O.J., El Harrak, A., Mangeat, T., Baret, J.C., Frenz, L., El Debs, B., Griffiths, A. D., 2012. High-Resolution Dose-Response Screening Using Droplet-Based Microfluidics, Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 109, 2, 378–383.
- Mohanraj, V.J., ve Chen, Y., 2007. Nanoparticles - A review, Tropical Journal of Pharmaceutical Research, 5, 1, 561–573.
- Müderrişoğlu, A. E. ve Çomoğlu, T., 2010. İlaç Taşıyıcı Polimerik Partiküler Sistem Formülasyonlarına Genel Bakış. Ankara University, Faculty of Pharmacy, Department of Pharmaceutical Technology, 39, 4, 343–368.
- Müderrişoğlu, C., 2016. Tanı Amaçlı Mikro-Sistemler, Ege Üniversitesi yayın evi, ISBN 987-605-338-195-2, İzmir, 143-174.
- Nagarwal, R.C., Kant, S., Singh, P.N., Maiti, P. ve Pandit, J.K., 2009. Polymeric Nanoparticulate System: A Potential Approach for Ocular Drug Delivery, Journal of Controlled Release, 136, 1, 2–13.
- Nair, L.S. ve Laurencin, C.T., 2007. Biodegradable Polymers as Biomaterials, Progress in Polymer Science, 32, 8–9, 762–798.
- Nair, R., Varghese, S.H., Nair, B.G., Maekawa, T., Yoshida, Y. ve Kumar, D.S., 2010. Nanoparticulate Material Delivery to Plants, Plant Science, 179, 3, 154–163.
- Ng, P.F., Lee, K.I., Yang, M., ve Fei, B., 2019. Fabrication of 3D PDMS Microchannels of Adjustable Cross-Sections via Versatile Gel Templates, Polymers, 11, 1, 64.
- Nielsen, L. E., 2008. Cross-Linking – Effect on Physical Properties of Polymers. Journal of Macromolecular Science, Part C: Polymer Reviews, 3, 1, 69–103.
- Özcan, İ., 2008. Kemiğe Hedeflemek İçin Sentezlenen Biyolojik Parçalanabilen Polimerler Kullanılarak Hazırlanan Nanopartiküler İlaç Taşıyıcı Sistemlerin Tasarımı ve İn Vitro - İn Vivo Değerlendirilmesi. Doktora Tezi, Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. İzmir, 185s.
- Pal, S.L., Jana, U., Manna, P.K., Mohanta, G.P. ve Manavalan, R., 2011. Nanoparticle: an Overview of Preparation and Characterization, Journal of Applied Pharmaceutical Science, 1, 6, 228–234.
- Park, K., 2014. Controlled Drug Delivery Systems: Past Forward and Future Back, Journal of Controlled Release, 190, 3–8.

- Pathan, I.B. ve Setty, C.M., 2009. Chemical Penetration Enhancers for Transdermal Drug Delivery Systems, Tropical Journal of Pharmaceutical Research, 8, 2, 173–179.
- Penman, A. ve Sanderson, G.R., 1972. A Method For The Determination Of Uronic Acid Sequence İn Alginates, Carbohydrate Research, 25, 2, 273–282.
- Perdigones, F., Miguel, J., Luque, A., Aracil, C. ve Quero, J., 2011. Microsystem Technologies for Biomedical Applications, Biomedical Engineering, Trends in Electronics, Communications and Software, 1998, 45-69.
- Pittermannova A., Ruberova Z., Zadrazil A., Bremond N., Bibette J. ve Stepanek F., 2016. Microfluidic Fabrication of Composite Hydrogel Microparticles in the Size Range of Blood Cells, RSC Advances, 6, 105, 103532-103540.
- Plapied, L., Duhem, N., Des Rieux, A. ve Pr  at, V., 2011. Fate Of Polymeric Nanocarriers For Oral Drug Delivery, Current Opinion in Colloid and Interface Science, 16, 3, 228–237.
- Pollack, M.G., Shenderov, A.D. ve Fair, R.B., 2002. Electrowetting-Based Actuation of Droplets for Integrated Microfluidics, Lab on a Chip, 2, 2, 96–101.
- Rao, J.P. ve Geckeler, K.E., 2011. Polymer Nanoparticles: Preparation Techniques and Size-Control Parameters, Progress in Polymer Science, 36, 7, 887–913.
- Reis, C.P., Neufeld, R.J., Ribeiro, A.J. ve Veiga, F., 2006. Nanoencapsulation I. Methods for Preparation of Drug-Loaded Polymeric Nanoparticles, Nanomedicine: Nanotechnology, Biology and Medicine, 2, 1, 8–21.
- Riahi, R., Tamayol, A., Shaegh, S.A.M., Ghaemmaghami, A.M., Dokmeci, M.R. ve Khademshosseini, A., 2015. Microfluidics for Advanced Drug Delivery Systems, Current Opinion in Chemical Engineering, 7, 101–112.
- Saha, P., Goyal, A.K. ve Rath, G., 2010. Formulation and Evaluation of Chitosan-Based Ampicillin Trihydrate Nanoparticles, Tropical Journal of Pharmaceutical Research, 9, 5, 483–488.
- Sayiner  . ve  omo lu T., 2017. Nanotaşıyıcı Sistemlerde Hedeflendirme, Ankara Eczacılar fak ltesi Dergisi, 40, 62-79.
- Samanipour, R., Wang, Z., Ahmadi, A. ve Kim, K., 2016. Experimental and Computational Study of Microfluidic Flow-Focusing Generation of Gelatin Methacrylate Hydrogel Droplets, Journal of Applied Polymer Science, 133, 29, 24–26.
- Schramm, O.G., Meier, M. A.R., Hoogenboom, R., Van Erp, H.P., Gohy, J.F. ve Schubert, U.S., 2009. Polymeric Nanocontainers With High Loading Capacity of Hydrophobic Drugs, Soft Matter, 5, 8, 1662–1668.
- Senapati, S., Mahanta, A.K., Kumar, S. ve Maiti, P., 2018. Controlled Drug Delivery Vehicles for Cancer Treatment and Their Performance, Signal Transduction and Targeted Therapy, 3, 1, 1–19.

- Shah, S.N., Ali, S. I., Ali, S.R., Naeem, M., Bibi, Y., Ali, S. R. ve Khan, S. 2016. Synthesis and Characterization of Zinc Oxide Nanoparticles for Antibacterial Applications, Journal of Basic & Applied Sciences, 12, 205–210.
- Shi, Y., Tang, G.H. ve Xia, H.H., 2014. Lattice Boltzmann Simulation of Droplet Formation in T-Junction And Flow Focusing Devices, Computers and Fluids, 90, 155–163.
- Silindir, M., Erdogan, S., Özer, A.,Y. ve Maia, S., 2012. Liposomes and Their Applications in Molecular Imaging, Journal Of Drug Targeting, 20, 5, 401–415.
- Sobhani, Z., Samani, S.M., Montaseri, H. ve Khezri, E., 2017. Nanoparticles of Chitosan Loaded Ciprofloxacin: Fabrication and Antimicrobial Activity, Advanced Pharmaceutical Bulletin, 7, 3, 427–432.
- Sun, Y.P., Meziani, M.J., Pathak, P. ve Qu, L., 2005. Polymeric Nanoparticles from Rapid Expansion of Supercritical Fluid Solution, Chemistry - A European Journal, 11, 5, 1366–1373.
- Sunna, Ç., 2012. Aljinat/Kitosan Nanopartiküllerin Tamoksifen Salımında Kullanılmasının Araştırılması. Yüksek lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Aydın, 82s.
- Tadigadapa, S. ve Mateti, K., 2009. Piezoelectric MEMS sensors: State-of-the-art and Perspectives, Measurement Science and Technology, 20, 9, 30.
- Tadros, T. F. 2013. Emulsion Formation, Stability, and Rheology. Emulsion Formation and Stability. ISBN 9783527319916, USA, pp. 1-75.
- Teh, S. Y., Khnouf, R., Fan, H. ve Lee, A.P., 2011. Stable, Biocompatible Lipid Vesicle Generation by Solvent Extraction-Based Droplet Microfluidics, Biomicrofluidics, 5, 4, 12.
- Thiele, J., 2011. Fabrication of Polymersomes using Microfluidic Devices. Doctoral Thesis, University of Bayreut Faculty of Biology, Chemistry and Earth Sciences, Bayreut, pp. 169.
- Tiwari, G., Tiwari, R., Bannerjee, S., Bhati, L., Pandey, S., Pandey, P. ve Sriwastawa, B., 2012. Drug Delivery Systems: an Updated Review, International Journal of Pharmaceutical Investigation, 2, 1, 1-15.
- Tsui, J. H., Lee, W., Pun, S.H., Kim, J. ve Kim, D.H., 2013. Microfluidics-Assisted in Vitro Drug Screening and Carrier Production, Advanced Drug Delivery Reviews, 65, 11–12, 1575–1588.
- Tüylek, Z., 2017. İlaç Taşıyıcı Sistemler ve Nanoteknolojik Etkileşim, Bozok Tıp Dergisi, 7, 3, 89–98.
- Ubrich, N., Bouillot, P., Pellerin, C., Hoffman, M. ve Maincent, P., 2004. Preparation and Characterization of Propranolol Hydrochloride Nanoparticles: A Comparative Study, Journal of Controlled Release, 97, 2, 291–300.

- Uçmak Vural, G. ve Özer, A.Y., 2015. Nükleer Tıpta İlaç Taşıyıcı Sistemler ve Teranostik Kullanımları, Nükleer Tıp Seminerleri, 1, 2, 109–119.
- Uddin, M.D.S., 2019. Nanoparticles as Nanopharmaceuticals: Smart Drug Delivery Systems, Nanoparticulate Drug Delivery Systems, ISBN: 9781771886956, Bangladesh, pp. 85–120.
- Utech, S., Prodanovic, R., Mao, A.S., Ostafe, R., Mooney, D.J. ve Weitz, D.A., 2015. Microfluidic Generation of Monodisperse, Structurally Homogeneous Alginate Microgels for Cell Encapsulation and 3D Cell Culture, Advanced Healthcare Materials 4, 11, 1628–1633.
- Wagner, V., Dullaart, A., Bock, A.K. ve Zweck, A., 2006. The Emerging Nanomedicine Landscape, Nature Biotechnology, 24, 10, 1211–1217.
- Wang, Z.H., Choi, C.J., Kim, J. C., Kim, B.K. ve Zhang, Z.D., 2003. Characterization of Fe-Co Alloyed Nanoparticles Synthesized by Chemical Vapor Condensation, Materials Letters, 57, 22–23, 3560–3564.
- Yapar, E., 2012. İmplant Edilebilen Polimerik İlaç Salım Sistemlerine Genel Bakış, Sağlık Bakanlığı Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu, 1, 2, 73–82.
- Yesil-Celiktas, O., 2014. Patenting trends in enzyme related microfluidic applications, Biochemical Engineering Journal, 92, 53–62.
- Yuan, Q., Cayre, O.J., Fujii, S., Armes, S.P., Williams, R.A. ve Biggs, S., 2010. Responsive Core-Shell Latex Particles As Colloidosome Microcapsule Membranes, Langmuir, 26, 23, 18408–18414.

ÖZGEÇMİŞ

Hasret ÖZDİLEK 5 Mart 1994 yılında Hakkari’de doğdu. İlköğretimini 2008 yılında Hakkari ilinde Gazi İlköğretim Okulu’nda tamamladı. Ortaöğretimini 2012 yılında Hakkari ilinde Cumhuriyet Lisesi’nde tamamladı. 2013 yılında Gümüşhane Üniversitesi Mühendislik ve Doğa Bilimleri Fakültesi Genetik ve Biyomühendis Bölümü’nde lisans eğitimine başlayıp 2017 yılında mezun oldu. Aynı yıl Gümüşhane Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoteknoloji Anabilim Dalı’nda Yüksek lisans öğrenimine başladı. Orta seviyede İngilizce bilmektedir.

Katıldığı Sempozyum;

Özdilek, H., Sefaoğlu, M. ve Akay, Ş., 2019. Microparticle Production with Combination of Microfluidics and 3D Printing Technology (Oral Presentation). World Conference on Sustainable Life Sciences (WOCOLS 2019), June 30- July 07, 2019, Budapest, Hungary.

