NEFES FİGÜRÜ YAKLAŞIMI İLE SENTEZLENMİŞ GÖZENEKLİ POLİÜRETAN FİLMLERİN HAZIRLANMASI, KARAKTERİZASYONU VE BİYOUYUMLULUKLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ

PREPARATION, CHARACTERIZATION AND BIOCOMPATIBILITY EVALUATION OF POROUS POLYURETHANE FILMS SYNTHESIZED BY BREATH FIGURE APPROACH

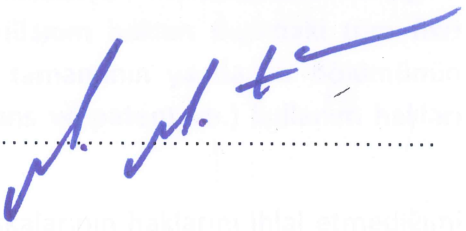
GİZEM DABAN

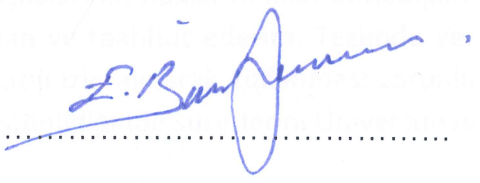
PROF. DR. EMİR BAKİ DENKBAŞ
Tez Danışmanı

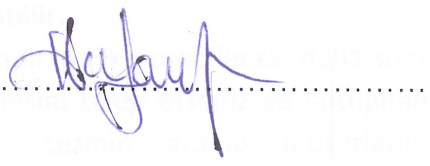
Hacettepe Üniversitesi
Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin
Biyomühendislik Anabilim Dalı için öngördüğü
YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak hazırlanmıştır.

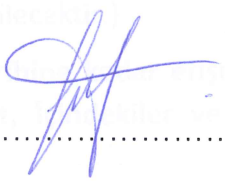
2017

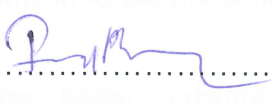
GİZEM DABAN'nın hazırladığı "**Nefes Figürü ile Sentezlenmiş Gözenekli Poliüretan Filmlerin Hazırlanması, Karakterizasyonu ve Biyouyumluluklarının Değerlendirilmesi**" adlı bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından **BİYOMÜHENDİSLİK ANABİLİM DALI**' nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Mehmet Mutlu
Başkan ..... 

Prof. Dr. Emir Baki Denkbaş
Danışman ..... 

Prof. Dr. Handan Yavuz Alagöz
Üye ..... 

Doç. Dr. Fatih Büyükserin
Üye ..... 

Yrd. Doç. Dr. Feray Bakan
Üye ..... 

Bu tez Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tarafından **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak onaylanmıştır.

Prof. Dr. Menemşe GÜMÜŞDERELİOĞLU

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

YAYINLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI

Enstitü tarafından onaylanan lisansüstü tezimin/raporumun tamamını veya herhangi bir kısmını, basılı (kağıt) ve elektronik formatta arşivleme ve aşağıda verilen koşullarla kullanıma açma iznini Hacettepe üniversitesine verdiğimi bildiririm. Bu izinle Üniversiteye verilen kullanım hakları dışındaki tüm fikri mülkiyet haklarım bende kalacak, tezimin tamamının ya da bir bölümünün gelecekteki çalışmalarda (makale, kitap, lisans ve patent vb.) kullanım hakları bana ait olacaktır.

Tezin kendi orijinal çalışmam olduğunu, başkalarının haklarını ihlal etmediğimi ve tezimin tek yetkili sahibi olduğumu beyan ve taahhüt ederim. Tezimde yer alan telif hakkı bulunan ve sahiplerinden yazılı izin alınarak kullanması zorunlu metinlerin yazılı izin alarak kullandığımı ve istenildiğinde suretlerini Üniversiteye teslim etmeyi taahhüt ederim.

☐ **Tezimin/Raporumun tamamı dünya çapında erişime açılabilir ve bir kısmı veya tamamının fotokopisi alınabilir.**
(Bu seçenekle teziniz arama motorlarında indekslenebilecek, daha sonra tezinizin erişim statüsünün değiştirilmesini talep etseniz ve kütüphane bu talebinizi yerine getirse bile, tezinin arama motorlarının önbelleklerinde kalmaya devam edebilecektir.)

☒ **Tezimin/Raporumun 08/01/2021 tarihine kadar erişime açılmasını ve fotokopi alınmasını (İç Kapak, Özet, İçindekiler ve Kaynakça hariç) istemiyorum.**
(Bu sürenin sonunda uzatma için başvuruda bulunmadığım taktirde, tezimin/raporumun tamamı her yerden erişime açılabilir, kaynak gösterilmek şartıyla bir kısmı ve ya tamamının fotokopisi alınabilir)

☐ **Tezimin/Raporumun ..... tarihine kadar erişime açılmasını istemiyorum, ancak kaynak gösterilmek şartıyla bir kısmı veya tamamının fotokopisinin alınmasını onaylıyorum.**

☐ **Serbest Seçenek/Yazarın Seçimi**

28 /12 /2017

Gizem DABAN

ETİK

Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmasında,

- tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- ve bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı

beyan ederim.

28/12/2017

Gizem DABAN

ÖZET

NEFES FİGÜRÜ YAKLAŞIMI İLE SENTEZLENMİŞ GÖZENEKLİ POLİÜRETAN FİLMLERİ HAZIRLANMASI, KARAKTERİZASYONU VE BİYOUYUMLULUKLARININ DEĞERLENDİRİLMESİ

GİZEM DABAN

Yüksek Lisans, Biyomühendislik Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Emir Baki DENKBAŞ

Aralık 2017, 99 Sayfa

Günümüzde kullanılan çoğu biyomalzeme doğadan esinlenilerek yani biyomimik tekniğiyle geliştirilmiştir. Biyolojik sistemlere entegre edilecek malzemeler uygulamanın yapılacağı dokunun sahip olduğu morfolojik ve kimyasal özelliklerine uyum sağlamalıdır. Gözenekli yapıya sahip olmak hücre proliferasyonun sağlanması için en önemli özelliklerden biri olmuştur. Gözenekli yapı oluşumu için birçok farklı metot olmasına rağmen çoğu karmaşık ve pahalıdır. Çevre dostu, daha ucuz ve karmaşık olmayan gözenekli yapı üretim tekniklerinden birisi Nefes Figürü (Breath Figure-BF) metodudur. Biomimik tekniğiyle geliştirilen biyomalzemelerden geliştirilen ürünlerin çoğunluğunun ana malzemesini polimerler oluşturmaktadır. 60'larda biyomalzeme olarak ilk kez kullanılan poliüretan (PU)

kardiyo vasküler sistemlerde kullanılan vazgeçilmesi zor biyomalzeme ham maddelerinden birisidir.

Tez kapsamında kardiyo vasküler sistemler için ilaç taşıyıcı sistem geliştirilmesi amacıyla PU kullanılarak BF yaklaşımıyla gözenekli film sentezlenmiştir ve literatürde ilk defa böyle bir çalışma yapılmıştır. Yapılan karakterizasyonlar sonucu polimer derişimi 5 $mg.ml^{-1}$ olduğunda elde etmek istediğimiz gözenek diziliminin üretimi daha verimli hale gelmiştir. Aynı zamanda BF metoduyla film sentezi sırasında bir diğer önemli parametre bağıl nem (RH) yüzdesidir ve polimerin türüne göre farklılık göstermektedir. PU'la düzenli dağılıma sahip gözenekli film en iyi %75 RH'de elde edilmiştir ve 5,10 ve 20 dk neme maruz bırakma süreleriyle morfolojik etkileri incelenmiştir. Gözenek dizilimini etkileyen bir diğer parametre olan neme maruz bırakma süresi (uygulama zamanı) PU için 10 dk olarak saptanmıştır ve %55, %60, %65, %70, %75 ve %80 RH değerlerinde morfolojik etkileri incelenerek PU için en optimum koşullar belirlenmeye çalışılmıştır. Morfolojik karakterizasyon sonucu incelenen parametreler arasında en optimum koşul polimer derişimi 5 $mg.ml^{-1}$, sistem atmosferi %75 RH'de ve uygulama zamanı 10 dk olduğu koşullar olarak belirlenmiştir.

Üretilen gözenekli filmlerin kardiyo vasküler sistemler için uygunluğu insan umbilikal damar endotel hücre hattı (HUVEC) üzerinde test edilmiş ve toksik etki göstermediği kanıtlanmıştır. Statinlerden biri olan atorvastatin yüklenerek ilaç salım deneyleri gerçekleştirilmiş ve ilaç salım ajanı olarak kullanımına yönelik ümit vaad eden sonuçlar alınmıştır. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar temel alınarak BF yaklaşımıyla üretilmiş olan PU filmler biyomalzemeler alanında gelecek vaad eden bir konumdadır.

Anahtar Kelimeler: Poliüretan, nefes figürü metodu, biyomalzeme, gözenekli biyomalzeme, göznekli kaplama, polimer bilimi, kendiliğinden düzenlenme, ilaç taşıyıcı sistem.

ABSTRACT

PREPARATION, CHARACTERIZATION AND BIOCOMPATIBILITY EVALUATION OF POROUS POLYURETHANE FILM SYNTHESIZED BY BREATH FIGURE APPROACH

GİZEM DABAN

Master of Science, Bioengineering Division

Supervisor: Prof. Dr. Emir Baki DENKBAŞ

December 2017, 99 Pages

Most of the biomaterials used nowadays are inspired by nature, so enhanced through biomimicing. Materials entegrated to biological systems should be provide morphological and chemical properties of them. Having porous structure is one of the most important property to increase proliferation of cells. Even there are several techniques to produce porous structures, most of them are technologically complicated and expensive. There is a technique, environmental friendly and not technologically complicated, called as Breath Figure (BF) method. Source of the most biomaterials explored by biomimicing is a polymer. Polyurethane (PU) firstly used in 60's as biomaterial and it is one of the indespensable source of biomaterial in cardio vascular systems.

In the thesis, porous PU film was synthesized by BF approach to develop drug delivery system for cardio vascular system. As far known it is the first time porous PU film synthesized with the use of BF approach. As a result of characterization process the best polimer concentration is 5 $mg.ml^{-1}$ to get the desired pore array.

In addition, another essential parameter for the production of porous film by BF approach is relative humidity (RH) and the appropriate RH percentage depends on the type of polymer. Porous PU film with homegenous pore dispersion was best obtained at 75% RH and its morphological effects was examined at 5,10 and 20 min of humid atmosphere. The other parameter affects pore dispersion is time of humid atmosphere (exposure time) and the best value for production of porous PU film by BF approach was identified as 10 min. Morphological effect of exposure time examined at 55, 60, 65, 70, 75 and 80% RH respectively to determine the optimal curcimstance. As a result of morphological characterization the optimal curcimstances amoung the examined parameters were determined as 5 $mg.ml^{-1}$ of polimer concentration, 75% RH of system atmosphere and 10 min of exposure time.

Compatibility of produced PU BF films to cardio vascular systems was tested through no toxic effects on human umblical vein cell line (HUVEC). Drug release experiments done with loading atorvastatin, one of the statins, to the films and gotten successful results. On the bases of results taken from the study PU films produced by BF approach is a promissing era to biomaterials.

Keywords: Polyurethane, Breath Figure Method, biomaterial, porous biomaterial, porous coating, polymer science, self assembly system, drug carrier systems.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim süresince bana tecrübeleriyle destek vererek, bana karşı her zaman hoşgörülü ve anlayışlı olan değerli hocam Prof. Dr. Emir Baki Denkbaş'a ve her zaman yanımızda olan sevgili eşi Ayşe Denkbaş'a;

Tez çalışmam süresince bilgi ve birikimlerini benimle hiç esirgemeden paylaşan ve aynı zamanda bana güvenip inanarak ağabeylik yapan Dr. Cem Bayram'a;

İyi ve kötü günlerimde maddi manevi her zaman yanımda olan ve birlikte zaman geçirmekten çok keyif aldığım deneysel çalışmalarım ile tez yazım aşamasında da desteklerini benden esirgemeyen arkadaşlarım Betül Bozdoğan, Öznur Akbal, Caner Tükel, Soheil Malekghasemi ve Tayfun Vural'a;

Birlikte çalıştığımız için mutlu olduğum ve çalışma ortamımızı eğlenceli hale getiren sevgili çalışma arkadaşlarım Biyopolimerik Sistemler Araştırma Grubu (BSRG)'ndan Dr. Ebru Erdal, Dr. Zeynep Karahaliloğlu, Göknur Kara, Eda Yalçın, Ekin Çelik, Serhat Öztürk, ve Shukran Alpdemir'e;

Hacettepe Üniversitesi İleri Teknolojiler Uygulama ve Araştırma Merkezi (HÜNİTEK) çalışanları Doç. Dr. Murat Demirbilek, Dr. Esra Elif Aydın Dede, Neval Dicle Sungur, Esin Yılmaz ve Ömer Arslan'a;

Karşılıksız sevgileri, emekleri, destekleri ve ilk günden bugüne gelene kadar sonsuz güvenleri için birtanecik annem Hamide ve babam Ali İhsan Daban'a; hangi koşulda olursa olsun her zaman yanımda olan ve her zaman olacak canım kardeşim Furkan Daban'a;

Müteşekkirim…

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET I
ABSTRACT III
TEŞEKKÜR V
İÇİNDEKİLER 6
ŞEKİLLER DİZİNİ 9
TABLOLAR DİZİNİ 12
SİMGELER VE KISALTMALAR 13
1. GİRİŞ 16
2. GENEL BİLGİLER 18
2.1. Nefes Figürü (Breath Figure) Metodu ile Gözenekli Yapı Sentezi 18
2.2. Nefes Figürü (BF) Metodunda Kullanılabilecek Malzemeler 22
2.3. Filmlerin Morfolojik Yapısının Kontrolü 29
2.3.1. Çözücü Etkisi 30
2.3.2. Substrat Etkisi 31
2.3.2.1. Substratların Yapımında Kullanılan Malzemeler 31
2.3.2.2. Substratın Şekli 33
2.3.3. Polimer Derişimi 33
2.3.4. Sistem Atmosferinin Etkisi 34
2.3.4.1. Su Buharı 34
2.3.4.2. Su Dışındaki Buharlar 34
2.3.5. Su Tanecikleri ile Polimer Çözeltisi Arasındaki Arayüzey Gerilimi 35
2.4. Uygulama Alanları 35

2.4.1. Kalıplar 36
2.4.2. Optik, İletken ve Magnetik Uygulamaları 36
2.4.3. Membranlar 37
2.4.4. Sensör ve Katalitik Sistemler 37
2.4.5. Biyolojik Uygulamaları 37
2.4.5.1. İlaç Salım Sistemleri 38
2.4.5.1.1 Degrade olmayan sistemlerden ilaç salımı 38
2.5. Hiperlipidemi 39
2.5.1. Statinler 40
2.5.1.1. Atorvastatin 40
2.5.1.1.1 Atorvastatinin Farmakodinamik ve Farmakokinetik Özellikleri 42
3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR 44
3.1. Kimyasallar 44
3.2. Nefes Figürü Yaklaşımıyla Gözenekli Poliüretan Filmlerin Sentezi ve Karakterizasyonu 44
3.2.1. Nefes Figürü Yaklaşımıyla Gözenekli Poliüretan Filmlerin Sentezi 44
3.2.2. Nefes Figürü Yaklaşımıyla Gözenekli Poliüretan Filmlerin Karakterizasyonu 45
3.2.2.1. Morfolojik Karakterizasyon 45
3.2.2.1.1 Optik Mikroskop Analizleri 45
3.2.2.1.2 Taramalı Elektron Mikroskopi (SEM) Analizleri 45
3.2.3. Hidrofobisite Analizleri 45
3.2.4. In-Vıtro Sitotoksisite Analizleri 46
3.2.5. PU Filmlerin Su Hapsetme Davranışı 46
3.3. Nefes Figürü Yaklaşımıyla Hazılanan Gözenekli Poliüretan Filmlerin İlaç yükleme ve In-Vitro İlaç Salım Çalışması 47
3.3.1. İlaç Yükleme Verimi ve Kapasitesinin Hesaplanması 48

4. BULGULAR VE TARTIŞMA 49
4.1. Nefes Figürü Yaklaşımıyla Gözenekli Poliüretan Filmlerin Sentezi ve Karakterizasyonu 49
4.1.1. Çözücünün Film Oluşumuna Etkisi 50
4.1.2. Polimer Derişiminin Film Oluşumuna Etkisi 50
4.1.2.1. Morfolojik Karakterizasyonu 51
4.1.2.2. Hidrofobisite Analizleri 54
4.1.3. Uygulama Zamanının ve Sistem Atmosferinin Etkisi 55
4.1.3.1. Morfolojik Karakterizasyonu 59
4.1.3.1.1 Bağıl Nem Yüzdesinin Yüzey Morfolojisine Etkisi 59
4.1.3.1.2 Uygulama Zamanının Yüzey Morfolojisine Etkisi 61
4.1.3.2. Hidrofobisite Analizleri 64
4.1.3.2.1 Bağıl Nem Yüzdesinin Yüzeyin Hidrofobisitesine Etkisi 64
4.1.3.2.2 Uygulama Zamanının Yüzeyin Hidrofobisitesine Etkisi 65
4.2. Filmlerin In-Vitro Sitotoksisite Analizleri 67
4.3. PU Filmlerin Su Hapsetme Davranışı 68
4.4. İlaç Yükleme ve In-vitro İlaç Salım Çalışmaları 70
4.4.1. İlaç Yükleme Verimliliği 71
4.4.2. In-vitro ilaç Salım Çalışmaları 72
5. SONUÇLAR 76
6. KAYNAKLAR 80

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2-1: BF yaklaşımıyla gözenek deseni oluşumunun şematik gösterimi. Tipik olarak uçucu çözücü içinde çözünmüş polimerin soğuk yüzeye hava akımı altında uygulanması (A). Üretim sürecinin başlangıcında su buharının yüzey üzerinde hetorojen damlacık oluşumu (B). Çözücü buharlaşması devam ederken su damlacıklarının düzenli dizilim oluşturması (C). Bu noktadan sonra su damlacıkları büyümeye devam ederken birleşmeye başlarlar dolayısıyla hetorojen düzenli dizilimli gözenekli film oluşumuna sebep olurlar (D) ve (E). Bu basamakta çözücü buharlaşması damlacık birleşmesi başalamdan biterse tek katlı düzenli gözenekli film oluşumu gerçekleşir (F). Ek olarak eğer polmer çözeltisi damlacıkları birleşme gerçekleşmeden stabilize edebilirse oluşan damlacıklar çözelti içerisine batarlar (G). Sonuç olarak yüzey düz polimer çözeltisi şeklinde olunca bir kez daha aynı basamaklar tekrarlanabilir (H) [6]. 20

Şekil 2-2: (a)Dinamik konvensiyonel BF metodu. (b) Statik konvensiyonel BF metodu. (c) Döndürmeli kaplama ile BF film hazırlama. (d) Daldırmalı kaplama ile BF film hazırlama [12]. 21

Şekil 2-3: (a) rGO BF dizilimli film üretiminin ematik gösterimi. rGO BF dizilimli fimlerin(b) SEM ve (c) TEM fotoğrafları. (d) İyonik etkileşimle altın NP ile dekore edilmiş N-doped rGO BF dizilimli filmlerin SEM fotoğrafı. (e) GO, rGO ve N-doped rGO BF dizilimli filmlerin elektriksel davranışları [109] 31

Şekil 2-4: Farklı çözücüler ve farklı substratların üzerinde hazırlanan gözenekli PS BF dizilimli filmlerin SEM fotoğrafları (RH= %75, 23°C, scalr bar 100μm) [9]. 32

Şekil 2-5: yıldız PDMS'den düzlemsel olmayan yüzeyde hazırlanan BF dizilimli gözenekli yapıların SEM fotoğrafları (a) küresel kaolin partikülü, (b) "donu" şekilli kaolin partikülü, ve (c) silis kromatografi partikülü [116]. 33

Şekil 2-6: Su ve alkol atmsferinde hazırlanmış farklı BF filmlerinin SEM fotoğrafları [123]–[126] 35

Şekil 2-7: Atorvastatin'in yapısal formülü. 41

Şekil 3-1: Uygulama Mekanizması (a) ve Gözenekli Film Oluşum Mekanizması . 45

Şekil 4-1: Bağıl nem (a) %50, (b) %55 (c) %60, (d) %65, (e) %70, (f) %75, (g) %80, (h) %85, (i) %99 (Bar= 50 μm) 49

Şekil 4-2: CS_2 (a) ve Chloroform (b) 50

Şekil 4-3: SEM fotoğrafları: bağıl nem yüzdesi %75, Hacim 20 μl, Derişim (a) 0,5 w/V (b) 1 w/V (c) 2 w/V (Bar: 20 μm) 51

Şekil 4-4: Optik mikroskop görüntüleri: V_{PU}= 20 μl, RH= %75, t_{exp}= 1'30'', $C_{PU\ sol.}$= (a) 0.5 $mg.ml^{-1}$ (b) 1 $mg.ml^{-1}$ (c) 2 $mg.ml^{-1}$ (Bar= 10 μm) 52

Şekil 4-5: ImageJ ile şekil 4-3'ün gözenek çapı hesaplamaları 53

Şekil 4-6: Optik mikroskop görüntüleri RH= %75 $V_{PU\ sol.}$= 100 μl t_{exp}= 3 dk (a) C_{PU}= 1 $mg.ml^{-1}$ (b) C_{PU}= 2 $mg.ml^{-1}$ (c) C_{PU}= 5 $mg.ml^{-1}$ (Bar= 10μm) 54

Şekil 4-7: Polimer Derişimi vs. Temas açısı grafiği 55

Şekil 4-8: Tablo 4-1'deki örneklerin optik mikroskop görüntüleri 57

Şekil 4-9: Gözenekli yapının şematik kesit gösterimi (a) gözeneklerin ekvator çizgilerinden birbirleri ile temas noktası (b) film yüzeyinden görünen filmlerin birbirlerine uzaklıkları 58

Şekil 4-10: RH ve uygulama zamanının morfoloji üzerine etkisinin şematik gösterimi 59

Şekil 4-11: Bağıl Nem (RH) vs. Gözenek Çapı grafikleri 5 dk (A), 10 dk (B) ve 20 dk (C) 60

Şekil 4-12: Bağıl nem yüzdesinin yüzey morfolojisine etkisi 10 dk ve 25°C'de (a) %55 RH, (b) %60 RH, (c) %65 RH, (d) %70 RH, (e) %75 RH ve (f) %80 RH (Bar= 100 μm) 61

Şekil 4-13: Uygulama zamanının vs. gözenek çapı grafikleri 25°C'de (A) %55 RH, (B) %60 RH, (C) %65 RH, (D) %70 RH, (E) %75 RH ve (F) %80 RH 62

Şekil 4-14: Uygulama zamanının yüzey morfolojisine etkisi %75 RH ve 25°C'de (a) 5 dk, (b) 10 dk, (c) 20 dk (Bar= 10 μm) 64

Şekil 4-15: RH % vs. Temas Açısı Grafikleri 5 dk (A), 10 dk (B) ve 20 dk (C) 64

Şekil 4-16: Uygulama zamanının vs. temas açısı grafikleri 25°C'de %55 RH (A), %60 RH (B), %65 RH (C), %70 RH (D), %75 RH (E) ve %80 RH (F) 66

Şekil 4-17: %75 RH'de hazırlanan örneklerin yüzde yaşayabilirlik grafiği 68

Şekil 4-18: Farklı uygulama zamanı (A) ve farklı bağıl nem (B) ortamlarında üretilen filmlerin şişme davranışları (n=3)..... 69

Şekil 4-19: Farklı derişimlerde atorvastatin kalsiyumun UV-VIS spektrometresi ile ölçülen absorbans değerine karşı kalibrasyon grafiği. 71

Şekil 4-20: Farklı nem oranına sahip ortamlarda (A) ve farklı uygulama sürelerinde (B) sentezlenmiş filmlerin zamana karşı toplam ilaç salım profilleri (n=3). Ekli küçük resimler 0-10 saat arasındaki salım profillerinin genişletilmiş gösterimidir. 73

Şekil 4-21: Farklı nem oranına sahip ortamlarda (A) ve farklı uygulama sürelerinde (B) sentezlenmiş filmlerin zamana karşı % toplam ilaç salım profilleri (n=3)..... 75

TABLOLAR DİZİNİ

Tablo 4-1: Bağıl nem yüzdesi vs. Uygulama zamanı için hazırlanan örnek tablosu 55

Tablo 4-2: BF uygulama süresinin filmlerin ilaç %YV ve %YK üzerine etkisi (n=3). Değerler Ortalama ± Standart sapma şeklinde sunulmuştur. 72

Tablo 4-3: Ortam bağıl nem oranının filmlerin %YV ve %YK üzerine etkisi (n=3). Değerler Ortalama ± Standart Sapma şeklinde sunulmuştur. 72

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

ε^2	Yüzey Yayın Alanı
T_g	Camlaşma Sıcaklığı
t_{max}	Maksimum Plazma Derişimi
C_{ma}	AT'nin Maksimum Plazma Derişimi
θ	Temas Açısı

Kısaltmalar

AK	Atorvastatin Kalsiyumun
ATRP	Atom Transfer Radikal Polimerizasyonu
BCP	Blok Kopolimer
BF	Nefes Figürü
C	Kolestrol
CCS	Çekirdek Çapraz Bağlı
CNT	Karbon Nanotüp
CS_2	Karbondisülfit
D	Boyut
DMEM	Dulbecco's Modified Eagle's Medium
E	Young's Modulus
ECM	Hücre Dışı Matris
FOMA-SH	Fluorooktil Metakrilat Tiol
G	Cam
GW	Yıkanmış Cam
GWF	Florinlenmiş Cam
GWG	3-Glisidoksipropiltrimetoksisilan İle Silanlanmış Cam
GWO	Oktiltrietoksisilan İle Silanlanmış Cam
HCl	Hidroklorik Asit
HDL	Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein
HMG-CoA	3-Hidroksi-3-Metil Glutaril Koenzim
HRP	Yabanturpu Peroksidaz
HUVEC	İnsan Umblikal Damar Endotel Hücre Hattı

IDL	Orta Yoğunluklu Lipoprotein
LDL	Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
MTT	3-[4,5-Dimetiltiazol-2-İl]-2,5-Difeniltetrazolm Bromid
NP	Nanopartikül
PBS	Fosfat Tamponlama Tuzu
PC	Polikarbonat
PCL	Poli(ε-Kaprolakton)
PDMS	Polidimetilsiloksan
PE	Propilen
PEG	Poli(Etilen Glikol)
PEO	Poli(Etilen Oksit)
PESF	Poli(Eter Sülfon)
PET	Poli(Etilen Terafitalat)
PG	Poli(Glikolit)
PHB	Poli(3-Hidroksibütürat)
PI	Poliimid
PLA	Poli(Laktik Asit)
PLGA	Poli(Laktik-ko-Glikolik Asit)
PM-b-PS	Polimetilen-b-Polistren
PMMA	Poli(Metil Metakrilat)
PPO	Poli(Fenilin Oksit)
PPPOH	Poli(P-Fenilin)
PS	Polistren
PS-b-P2VP	Polistren-b-Poli(2-Vinilpiridin)
PS-b-P4VP	Polistren-b-Poli(4-Vinilpiridin)
PS-b-PAA	Polistren-b-Poli(Akrilik Asit)
PS-b-PDMS	Polistren-b-Poli(Dimetilsiloksan)
PS-b-PDVB	Polistren-b-Polivinilbenzen
PS-b-PEEA	Poli(Etoksietil Akrilat)
PS-b-PEG	Polistren-b-Poli(Etilen Glikol)
PS-b-PEO	Polistren-b-Poli(Etilen Oksit)
PS-b-PPP	Polistren-b-Poliparafenilin

PSF	Polisülfon
PU	Poliüretan
PVC	Polivinil Klorit
PVQ	Poli(Vinildifenilkuinolin)
QDs	Kuantum Noktacıkları
RAFT	Geri Döndürülebilir Fragmentasyon Eklemeli Zincir Transferi
RED	Bağıl Enerji Farkı
RH	Bağıl Nem
SAN	Poli(Stren-ko-Akrilonitril)
SEM	Taramalı Elektron Mikroskobu
VLDL	Çok Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
WSi	Silikon Wafer

1. GİRİŞ

Gözenekli yapıların kullanılması bilim insanlarının doğadan esinlenmesi (biomimicking) ile gerçekleşmiştir. Doğa her zaman işini kolaylaştıracak alternatifleri kendi içinde barındırmaktadır. Örneğin, bambuların -kendilerini hafif ve suyu biriktirmek için- içi boş bir boru şekinde olması, ya da arıların balmumundan üretmiş olduğu -kışlık besin saklama amaçlı- bal peteği, ya da alveollerimizin -oksijenin daha iyi emiliminin sağlanması için- çeşitli boyutlarda gözenekliliğe sahip olması sayılabilir. Teknolojinin de gelişmesiyle birlikte gelişen görüntüleme sistemleri sayesinde gözenekli yapılar bilim insanlarının dikkatini çekmiş ve kendi hayal güçleri ile bilgilerinin harmanlanmasıyla gözenekliliğin kullanılabileceği birçok çeşitli alan ortaya çıkmıştır.

Gözenekli yapılar yüksek miktarda yüzey alanına sahiptirler, bu özellikleri elektronik, optik veya biyoteknoloji gibi çok çeşitli alanlarda farklı uygulamalara olanak sağlamaktadır. Çeşitli gözenek boyutları (mikro ya da makro boyutlarda), gözenek dağılımı ve üretimde kullanılan madde, seçici geçirgenlik ve yalıtkanlık gibi özelliklerini etkilemektedir. Mikrometre boyutlarında gözeneğe sahip olan gözenekli yapılar ise katalizör, sensör, membran ya da doku iskelesi olarak kullanılabilir. Günümüzde kullanılan çoğu gözenekli yapıda polimerler kullanılmaktadır. Gözenekli polimerlerin tercih edilmesinin birçok nedeni vardır. Bunlardan birincisi, bütün gözenekli yapıların sahip olduğu gibi, yüksek yüzey alanına sahip olmalarıdır. Bir diğeri polimerlerin diğer kullanılması muhtemel mazemelere oranda daha kolay işlenebilmesidir hem kalıp formunda hem de ince film olarak uygulanabilirler. Hatta bazı polimerler direkt olarak bir çözücünün içerisinde çözünerek çok daha kolay uygulanabilirlik gösterirler. Uygulama kolaylığı gözenekli karbon, zeolit ve silika uygulamaları için geçerli değildir. Tasarlama ve yapı çeşitliği gözenekli polimerlerin bir diğer avantajıdır, bu çeşitlilik gözenekli yüzeyin kimyasal etkileşimleriden kaynaklandığı kadar üretim aşamasında da eklenebilecek fonksiyonlardan gelmektedir. Polimerlerin sahip olduğu bu tasarlama ve yapı çeşitliliği bilim insanlarını birer sanatçıya dönüştürmüştür ve açılıp kapanabilen gözenekler ya da anahtar özelliği gösteren ürünler ortaya çıkarmışlardır. Gözenekli polimer yapıların emsallerine karşı bir diğer avantajı ise hafiflikleridir, uygulama alanlarının çoğunda gözenekli

polimerlerin sağlamış olduğu ağırlık üstünlüğü bu yapıların en önemli tercih sebeplerindendir.

Kardiyo vasküler hastalıklar dünyada ölüme sebebiyet veren hastalıkların başında yer almaktadır ve en belirgin hastalık türü koroner arter hastalığıdır. Hipolipidemi, koroner arter hastalığının en bilinen risk faktörlerinden birisidir. Tedavisinde sıklıkla kullanılan ilaçlar statin grubu ilaçlardır. Günümüzde de en sık kullanılan statinler atorvastatin, pravastatin fluvastatin ve simvastatindir.

Sunulan tez çalışmasında nefes figürü (BF) yaklaşımıyla poliüretandan (PU) sentezlenmesi ve sentezlenen gözenekli filmlerin kardiyo vasküler hastalıklar için ilaç taşıyıcı sistem olarak kullanılması araştırılmıştır. BF yaklaşımıyla gözenekli PU film sentezi başarı ile gerçekleştirilmiş ve düzenli gözenek dizilimi için en iyi bağıl nem, neme maruz bırakma süresi, polimer derişimi gibi parametreler belirlenmiştir. Belirlenen parametreler ışığında hazırlanan gözenekli filmler in-vitro ilaç salım deneyleri ile etkinliği araştırılmış ve başarılı sonuçlar alınmıştır. Bu çalışma sonucunda BF yaklaşımıyla gözenekli PU filmlerin kardiyo vasküler sistemler için ilaç taşıyı olarak kullanılabileceği gösterilmiştir.

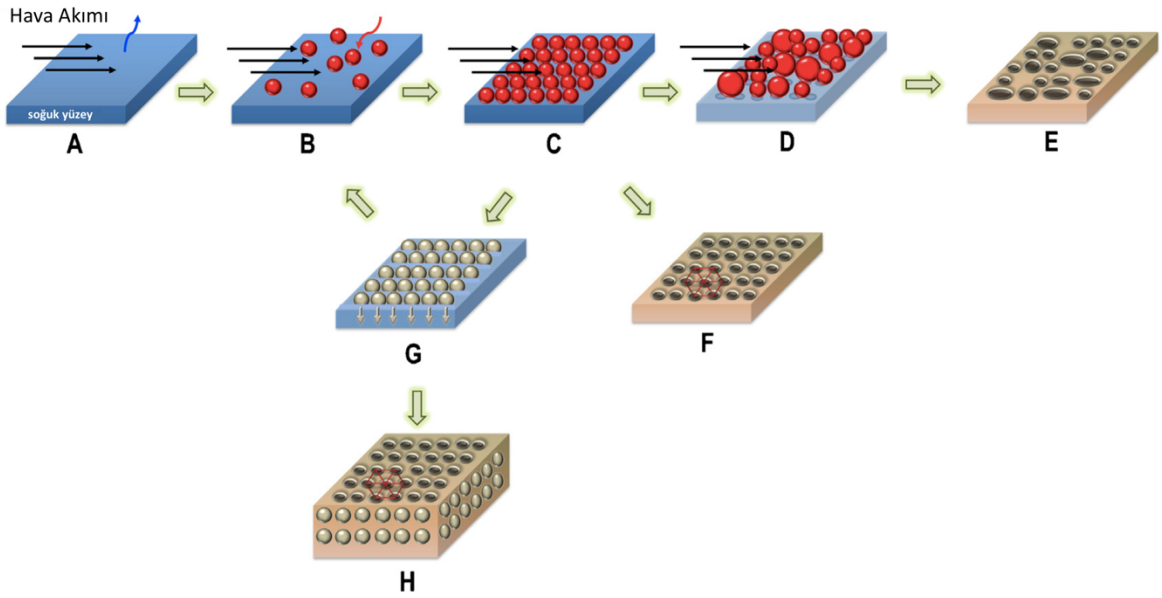
2. GENEL BİLGİLER

2.1. Nefes Figürü (Breath Figure) Metodu ile Gözenekli Yapı Sentezi

Gözenekli yapı sentezi için kullanılan çoğu teknolojik olarak karmaşık ve kullanımı maliyetli metotların aksine doğadan esinlenilerek keşfedilmiş olan Nefes Figürü (Breath Figure-BF) metodu 1994 yılında François ve ark. tarafından yıldız polistren (PS) kullanılarak gözenekli membran üretiminde kullanılmıştır [1]. Diğer gözenekli yapı üretim metodlarının aksine bütün kendiliğinden düzenlenen diğer yapılarında sahip olduğu aşağıdan yukarıya (bottom-up) yaklaşımıyla gözenekli yapı oluşumu söz konusudur.

BF dizileri, su taneciklerinin soğuk yüzey üzerinde yoğunlaşarak dizi ya da desen oluşturması olarak tanımlanmıştır. Bu yüzden BF metodu uygun koşullar altında yoğunlaşan su taneciklerinin kalıp olarak kullanılması ile düzenli gözenekli film hazırlanmasıdır. 1994 yılında polimer üzerinde BF metodunun François ve ark. tarafından kullanılmasıyla insanlara yeni bir çalışma alanının başlangıcı olmuştur ve son on yıllık süre zarfında yapılan çalışmalar sonucunda BF tekniği gelişmiş ve günümüzde ki halini almıştır. BF metodun Şekil 2-1 de basamaklar halinde özetlenmiştir: ilk basamakta (A), yüzeye uygulanan polimer çözeltisinin çözücüsünün endotermik olarak yüzeyden buharlaşmaya başlamasıyla yüzey sıcaklığının düşmesine sebep olur ve sistem atmosferinde gaz fazında bulunan su taneciklerinin yoğunlaşmasını tetikler. Şekil 2-1 B'de heterojen düzende izole su tanecikleri yüzeyde çekirdekleşmeye başlar ve büyür. Çekirdeklenme küçük sıvı damlacıkların termodinamiksel olarak stabilize olmalarını kapsar, bu yüzden su tanecikleri bu aşamada buharlaşmaz. Bu adım boyunca yüzey yayın alanı (surface coverage-ε^2) -damlacık alanının yüzey alanına oranı- düşüktür. Bir su taneciği yüzeyde bir kere çekirdeklenmeye başladığında sistem atmosferindeki buhara bağlı olarak büyür. Film ortam sıcaklığına geldiğinde yüzeydeki çözücü ve su tanecikleri buharlaşmaya başlayarak bal peteği yapısının oluşumuna olanak verir. Yüzeyin sıcaklığının düşüşü, çözücü buhar basıncının ve yüzey boyunca hava hızının artmasıyla artar. Bal peteği -altıgen- biçimine sahip desen oluşumu (Şekil 2-1 C) buharlaşma süresi su taneciklerinin büyümesinin uyarılmasıyla ve yüzey yayın alanının tamamlanmasıyla mümkündür. Buharlaşma süresinin kısalığı rastgele gözenek dağılımıyla sonuçlanır. Bu konu morfolojik değişimleri etkileyen

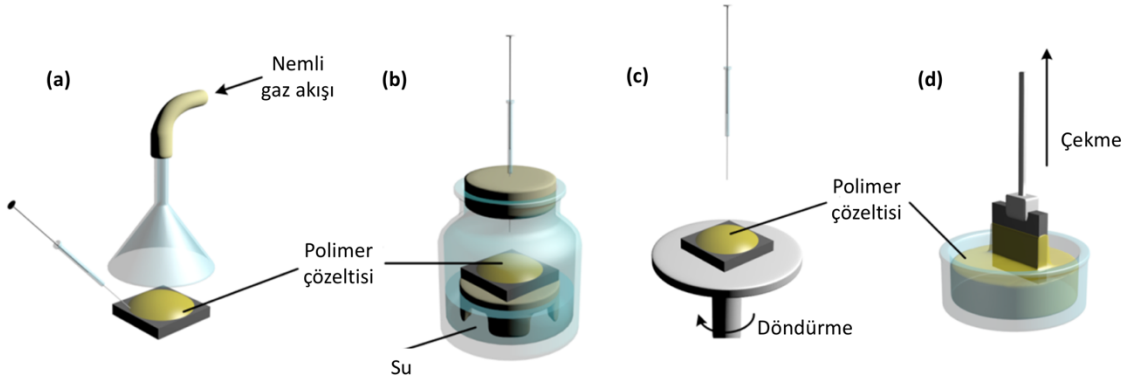
faktörleri anlatılırken detaylandırılacaktır. Bu aşamadan sonra seçilen yola göre farklı sonuçlar elde edilebilir. Çözücü buharlaşması su tanecikleri birleşmeye başlamadan önce bitmiş olursa, üretilen film tek kat halinde düzenli ve benzer boyutlarda gözeneklere sahip olur (Şekil 2-1 F). Çözücü buharlaşmaya devam ediyorsa ve su tanecikleri yüzeyde henüz koale olmamışsa, su tanecikleri polimer çözeltisi içerisine gömülür (Şekil 2-1 G). Katman oluşumu için temel etkilerden biri çözücünün yoğunluğunun suya göre yoğunluğunun değişimidir -daha çok yoğun (örn. karbondisülfit (CS_2)) ise tek katman ya da daha az yoğun (örn. benzen, tolüen) ise çoklu katman oluşumuna izin verir. Sonuç olarak çözücü kaplı yüzey tekrar yoğunlaşmaya izin verir ve bu sürecin tekrarı çoklu katman oluşumunu sağlar (Şekil 2-1 H). Kullanılan polimer çeşitinin, polimer katmanının aniden çökme yolu ile, birleşme sürecinde etkili olduğu morfolojik kontrol bölümünde detaylı olarak anlatılacaktır. Eğer çözücü buharlaşması devam ediyorsa ve polimer su taneciklerinin stabilizasyonunu tamamlayamazsa iki veya daha fazla su taneciği çeperlerinden etkileşir ve koale olurlar. Diğer su taneciklerinin birleşmesi tamamlandıktan sonra su taneciklerinin birleşmesi dolayısıyla açığa çıkan yüzey enerjisi eksikliğini tamamlamak için yüzeyde yeni su damlaları yoğunlaşır (Şekil 2-1 D). Su damlalarının koale olmasının sonucu olarak hem su taneciklerinin hem de polimer çözücüsünün tamamen buharlaşmasından sonra düzensiz gözenekli yapı oluşur (Şekil 2-1 E) [2]. BF metodu sistem içerisinde bulunan su taneciklerinin hem ortam koşulları hem de kendiliğinden düzenlenen sistemlerde etkili olan faktörler ile morfolojik yapıları oluşur. Kendiliğinden düzenlenen sistemlerde termodinamik dengeler ile moleküler düzeydeki etkileşimler dolayısıyla düzenli tekrarlanan desenler ortaya çıkmaktadır. Biyolojik sistemler içerisinde gerçekleşen çoğu mekanizmalarda kendiliğinden düzenlenme çok karşılaşılan bir olgudur. Örneğin, bakteriyofajların oluşumunda protein ile genetik malzemelerin bir araya gelmesi [3]. Kendiliğinden düzenlenmede moleküller arası bağlar -hidrojen bağları, iyon-dipol etkileşimleri, dipol-dipol etkileşimleri, Van der Waals bağları ve dispersiyon kuvvetleri- etkili olmaktadır [4]. Kendiliğinden düzenlenme yöntemlerinin en önemli avantajlarından biri ürünün yapısı; moleküllerin kimyasal özellikleri, düzenleme kinetikleri ve çevresel etkenler -pH, çözücüler, sıcaklık vb.- değiştirilerek ayarlanabilmektedir [5].



Şekil 2-1: BF yaklaşımıyla gözenek deseni oluşumunun şematik gösterimi. Tipik olarak uçucu çözücü içinde çözünmüş polimerin soğuk yüzeye hava akımı altında uygulanması (A). Üretim sürecinin başlangıcında su buharının yüzey üzerinde hetorojen damlacık oluşumu (B). Çözücü buharlaşması devam ederken su damlacıklarının düzenli dizilim oluşturması (C). Bu noktadan sonra su damlacıkları büyümeye devam ederken birleşmeye başlarlar dolayısıyla hetorojen düzenli dizilimli gözenekli film oluşumuna sebep olurlar (D) ve (E). Bu basamakta çözücü buharlaşması damlacık birleşmesi başalamdan biterse tek katlı düzenli gözenekli film oluşumu gerçekleşir (F). Ek olarak eğer polmer çözeltisi damlacıkları birleşme gerçekleşmeden stabilize edebilirse oluşan damlacıklar çözelti içerisine batarlar (G). Sonuç olarak yüzey düz polimer çözeltisi şeklinde olunca bir kez daha aynı basamaklar tekrarlanabilir (H) [6].

BF metodunun değişik uygulama yolları vardır. Bunlar nem kaynağının sisteme dahil olma durumuna göre iki gruba ayrılırlar, dinamik BF metodu ve statik BF metodu (Şekil 2-2a ve b). Dinamik metotda nem ortama bir akış ile sisteme atmosferine sağlanır, bu metot 1994 yılında François ve ark. tarafından da kullanılan metotdur [1]. Bu modda akış hızı ve nem yüzdesi kontrolü daha sıkı yapılabildiğinden çözücünün buharlaşma oranı ve filmlerin morfolojisi statik moda göre daha kolay değiştirilebilir [7], [8]. Statik BF metodunda çözücü buharlaşması bir hava akışı olmaksızın tamamlanmaktadır. Klasik olarak ortam nem oranı bu metotda kapalı bir sistem içerisine bir miktar su konularak ve istenilen düzeye nemin çıkması beklenerek sağlanır. Sıklıkla dinamik ve statik BF metodunda alınan sonuçlar, aynı nem yüzdesi kullanılmış dahi olsa, farklı çıkmaktadır. Örneğin; dinamik BF metodunda düz PS ile hazırlanan yüzeylerde düzgün

gözenekli sonuç almak sadece belirli şartlar altın mümkün olmaktadır ve BF diziliminin oluşturulması polar bitişli gruplara, moleküler ağırlığa ve kullanılan çözücüye karşı çok hassastır [9], [10]. Ancak statik BF metodunda lineer olan ve polar bitişli grupları olmayan PS ile çok çeşitli koşullarda -geniş aralıkta sistem sıcaklığı, çözücü derişimi ve polimer moleküler ağırlığı- düzenli BF dizilimleri oluşturulabilmektedir [11]. Genellikle hem dinamik hem de statik BF süreçleri düzenli desen oluşturmak için uygun metotdur; gaz akışının bozması ve buharlaşma oranının dengesizliği gibi bazı durumlarda zorluklar çıkardığı görülmektedir.



Şekil 2-2: (a)Dinamik konvensiyonel BF metodu. (b) Statik konvensiyonel BF metodu. (c) Döndürmeli kaplama ile BF film hazırlama. (d) Daldırmalı kaplama ile BF film hazırlama [12].

Yukarıda açıklanan BF metodlarına ek olarak polimer solüsyonunun substrat üzerine nasıl uygulandığına bağlı olarakda iki gruba ayrılır. Bunlar, spin kaplama ve daldırma kaplamadır. Spin kaplama kullanıldığında su damlacıklarının çekirdeklenme ve su damlacıklarının çözelti içine doğru akışı düzenli dizilime sahip olmasını önemli ölçüde etkiler çünkü substrat üzerine uygulanan polimer çözeltisinin önemli bir miktarı spin kaplamanın başında yüzeyden ayrılır ve polimer çözeltisi hızlı bir biçimde kurur. Spin kaplama süresince oluşan 100-300 nm çapında küçük gözenekler gözlemlenmiştir. Bu tip metotda, diğer metotlara göre daha küçük gözenekler elde edilmiştir çünkü buharlaşma süresi daha kısadır [13], [14]. Daldırma kaplama metodu polimer çözeltisini substrat üzerine kaplamanın basit bir metodudur, özellikle substrat yüzey şekli karmaşık olduğu durumlarda [15], [16]. Şekil 2-2d'de görüldüğü üzere, daldırma kaplamada substrat ilk olarak polimer çözeltisine batırılır ve sonra belli bir hızla çözelti içerisinden çıkarılır.

Çözeltinin ince bir katmanı substrat yüzeyinde kalır ve bu kaplama kuruduktan sonra düzenli polimer filmleri oluşur ve substrat yüzeyini kaplamış olur. Polimer solüsyonunda tutulma ve çıkarılma zamanı filmin morfolojik oluşumu üzerinde önemli etkiye sahiptir [17].

2.2. Nefes Figürü (BF) Metodunda Kullanılabilecek Malzemeler

Polimerler BF metodu için en ideal malzeme olarak düşünülmektedir çünkü moleküler ağırlıkları yeteri kadar ağır olduğu takdirde güçlü ince filmler üretilebilir [18] ve ayrıca çoğu polimerler su ile karışmadığından su damlacıklarını verimli biçimde stabilize edebilirler. BF metodunun çalışılmaya başlandığı günden bugüne kadar çok geniş bir skalada polimerik malzemeler ile farklı topoğrafik morfolojilerde BF dizileri oluşturulmuştur. BF metodunun keşfinden bu yana suyu stabilize edebilecek hemen hemen bütün çözünenlerle tekrarlanabilir polimerden ya da polimerik olmaya BF filmleri üretilmiştir. Şimdiye kadar sıklıkla kullanılan malzemelerden bazıları lineer blok kopolimerler (block copolymers-BCP), yıldız ve dallı polimerler, lineer homopolimerler, biyobozunur polimerler, mikrojeller ve polimerik olmayan malzemelerdir.

Lineer BCPlerin lineer homopolimerlere kıyasla kendilerine özgü çözelti ve arayüzlerin içerisinde kendiliğinden düzenlenme davranışından ötürü düzenli BF desenli filmler kolayca oluşur. BCPlerin kendiliğinden düzenlenme yetenekleri ve teorileri üzerinde yapılan araştırmalar BF metodunun gelişiminde önemli rol oynamıştır [19], [20]. Aynı zamanda radikal polimerizasyon tekniklerinin hızlıca gelişmesiyle, BCPlerin sentezi süresince hacim fraksiyonları ve zincir mimarileri kesin olarak ayarlanabilmesi zorluk olmaktan çıkmıştır. Böylece benzersiz özelliklerde ve yapılarda sayısız BCPler BF metodunda kullanılmatadır. Bu polimerlerin bazıları düzenli dizi oluşturur ve bazı BCPler tasarlanmış yapılarıyla moleküler yapıların BF metodu üzerine etkisinin incelenmesi için değerli birer araçtır. BF metodunda kullanılabilecek BCPler amfilik ve amfilik olmayan olmak üzere iki gruba ayrılır. Amfilik olmayan BCPler su taneciklerinin etrafında katı bir film oluşturmak ve su damlacıklarını stabilize etmek için çökerler. Fakat amfilik BCPler yüzey aktiviteleri yüzünden su damlacıklarını arayüz içerisinde belirli adsorpsiyonda stabilize edebilirler. Literatürde PS bazlı BCPler en sık kullanımış olan polimer bazıdır çünkü stren farklı metotlarla kolayca polimerize olur ve PS çeşitli organik çözücülerde iyi derecede çözünürlüğe sahiptir. İlk BF filmi polistren-

b-poliparafenilin (PS-b-PPP) amfilik olmayan diblok kopolimerinden üretilmiştir [1]. O çalışmada CS_2 çözücü olarak kullanılmıştır ve bildiği üzere PS çözünebilirken PPP CS_2 içerisinde çözünemez. Bu yüzdende CS_2 içerisinde PS-b-PPP zinciri kuasi-küresel miseller oluşturur. Miselin iç (çekirdek) kısmında PPPler bulunurken PS kolları dış tarafını oluşturur. Amfilik olmayan BCP ile yapılan BF filmlere literatürden başaka örneklerde verilebilir (polistren-b-poli(dimetilsiloksan) (PS-b-PDMS) [21], polistren-b-poli(etoksietil akrilat) (PS-b-PEEA) [22], polimetilen-b-polistren (PM-b-PS) [23] vb.). Amfilik PS bazlı BCPler de BF metoduyla yapılan çalışmaların büyük çoğunluğunda kullanılmıştır. Polistren-b-poli(akrilik asit) (PS-b-PAA) BF metodunda kullanılan tipik amfilik BCPdir çünkü su damlacıklarını BF işlemi boyunca etkili biçimde stabilize edebilirler sonuç olarakta yüksek oranda düzenli BF dizileri oluştururlar [24]–[26]. Amfilik PS bazlı BCPlere verilen örnekler (polistren-b-poli(4-vinilpiridin) (PS-b-P4VP) [27]–[29], polistren-b-poli(2-vinilpiridin) (PS-b-P2VP) [30], polistren-b-poli(etilen oksit) (PS-b-PEO) [14], [31] vb.) arttırılabilir. Elbette BF metodunda kullanılan ve PS bazlı olmayan BCPlerde bulunmaktadır. Bunların başında hidrofilik özelliklerinden dolayı poli(etilen oksit) (PEO) ve poli(etilen glikol) (PEG) zincirleri amfilik BCP sentezlerinde kullanılmaktadır. Stenzel ve ark. bromlu PEG zincirini makro-başlatıcı olarak kullanarak atom transfer radikal polimerizasyonu (atom transfer radical polymerization (ATRP)) ile polistren-b-poli(etilen glikol) (PS-b-PEG) sentezini gerçekleştirmişlerdir ve daha sonra PS bloğunu poli(vinildifenilkuinolin)ne (PVQ) dönüştürmüşlerdir [32], [33]. Bu yeni sentezledikleri PVQ-b-PEG amfilik polimeri ile floresan özelliğe sahip düzenli BF diziliminde filmler üretmişlerdir. Lineer BCPlerin çok sayıda çeşitlendirilebilmesi mümkün olduğundan spesifik özellikler yüklenebilir ve istenildiği gibi yapı tasarlanabilir, bu yüzden BF metodu ile fonksiyonel film üretimi için en önemli malzeme kaynaklarından birisidir.

Yıldız veya dallı polimerler, yüksek segment yoğunluğu-su tanecikleri etrafında kolay çökmesini desteklediğinden dolayı stabilizasyonu sağlar-ndan dolayı BF metodu için iyi birer malzeme adayı olarak düşünülmektedir. Yıldız şekilli 5, 8 ve 18 kollu (glukoz, sukroz ve α-siklodekstrin bazlı) PS polimerleri ile başarılı biçimde düzenli gözenekli filmler üretilmiştir. Fonksiyonelleştirilme özelliği ile yukarıda bahsetmiş olduğumuz BCPler ile yarışabilirler. Polimerin moleküler ağırlığına bağlı olarak üretilen gözenekli yapıların gözenek çapları 0.4-3 μm arasında

değişmektedir (bu özellik üretim aşamasındaki nem, neme maruz kalma süresi gibi birçok başka parametreyede bağlıdır, ileride açıklanacaktır). Lineer polimerlerle yıldız polimerlerin karıştırılarak kullanılması üretilen filmlerin mekanik özelliklerini olumlu yönde etkiler. Ağırlıkça %20 lineer PS, yıldız PS ile karıştırılarak film üretiminde kullanıldığında daha az kırılgan ve daha az kusurlu gözenekli filmler üretilmiştir [34].

BF metodunun ilk keşfedildiği zamanlarda gözenekli yapının BF metodu ile sadece yıldız şekilli polimerlerden elde edilebileceği düşünülmüştür ancak lineer homopolimerlerle de BF tekniği kullanılarak düzensiz gözenekli yapı üretilebilmektedir. Lineer homopolimerlerin kolay sentezlenmesi ve düşük maliyet gibi avantajları bulunmaktadır. Bu yüzden lineer homopolimerlerle BF uygulamaları üzerine çokça çalışma yapılmıştır ve birçok çalışmada teorik bilginin aksine BF uygulamasının başarılı olduğu rapor edilmiştir. Diğer polimer türlerinde de dominant bir yere sahip olan PS (hidrofobik uçları oluşum aşamalarını ve üretilen filmin morfolojik özelliklerini etkilemektedir) bu BF uygulanabilir polimerler kısmınıda domine etmektedir [35]–[39]; ek olarak geleneksel homopolimerlerle (polistrensülfonat [40], PMMA [41], [42], PVC [43], poli(1,2-butadien) [44], [45], PDMS [46] vb.) de BF metoduyla gözenekli film üretilmiştir. Çeşitli mühendislik plastikleri olarak adlandırılan polimerler ile de BF uygulamaları söz konusudur. Bunlar başlıca polikarbonat (PC) [47]–[49], poli(eter eter keton) kardo ile (PEK-C) [50], [51], poliimid (PI) [52], [53], poli(fenilin oksit) (PPO) [54], [55], polisülfon (PSF) [56] ve poli(eter sülfon) (PESF) [57]. Bu mühendislik plastiklerinin sahip oldukları mekanik özelliklerinden dolayı farklı kullanım alanları vardır. PClar sahip oldukları yüksek termal ve oksidatif stabiliteleri ve yüksek kırılma indisleri ($n \approx 1.6$) dolayısıyla fotonik bant aralığı yapıları için uygun bir aday haline gelmektedir. Ayrıca PC BF gözenekli filmler 2D fotonik kristallerin tipik optik özelliklerine sahiptirler [48]. PIlar termal ve kimyasal stabiliteleri ile bilinen polimerlerdendir. Genellikle mikroelektronikler, solar hücreler, ileri komposit malzemeler ve yüksek performanslı fiberlerde kullanılırlar. Ancak organik çözücülerde çözünmediğinden dolayı BF metodunda kullanımı sınırlı kalmaktadır, bu yüzden çeşitli metodolojik eklemelerle mümkün kılınmaktadır [58]. PPOlar yüksek performanslı bir başka thermoplastik polimerdir. Sahip olduğu arzu edilen suya ve ısıya karşı rezistans gibi özelliklerinden dolayı membran uygulamaları için kullanılır. Çeşitli organik

çözücüler ile farklı derişimler denenerek BF metoduyla özel yapıda (büyük gözeneklerin etrafında küçük boyutta gözenekler olacak şekilde) filmler elde edilmiştir [54], [55]. PSF ve PESF ısı, asit ve baza karşı yüksek rezistansa sahip yüksek performanslı termoplastiklerdendir ve hazırlanan filmlerin morfolojik özellikleri çözücü olarak kloroform kullanıldığında kolaylıkla kontrol edilebilmektedir [56], [59]. Ek olarak konjuge polimerlerden BF metodu ile film üretmek çok araştırılmış bir konudur. Çünkü bu konjüge polimerler optiksel ve elekrokimyasal cihazlarda çok kullanılmaktadır [60]–[63]. Örneğin, Valiyaveettil ve ark. Suzuki polimerizasyonu ile amfilik poli(p-fenilin) (PPPOH) sentezlemiş ve BF metodu ile film üretmişlerdir. Polimer ana zincir üzerindeki alkoksi grupları uzunluğu düzenli desen oluşumu üzerinde önemli ölçüde etkilidir [64].

Gözenekli yüzeylerin biyolojik uygulamalar için çok önemli bir yere sahip olduğu bilinmektedir, nedenleri BF metodunun biyomühendislik uygulamaları kısmında anlatılacaktır. Bu nedenle biyo-uyumlu ve biyo-bozunur polimerler ile BF uygulamaları üzerinde çalışmalar yapılmıştır. Bunların biyomühendislik çalışmalarında en popülerleri poli(laktik asit) (PLA), poli(ε-kaprolakton) (PCL), poli(laktik-ko-glikolik asit) (PLGA), poli(3-hidroksibütürat) (PHB) ve bunların kopolimerleri ile türevleridir. Ancak hidrofobik ester grupları su taneciklerini etkin biçimde stabilize edemediğinden bu polimerlerle çalışmak çok zordur. BF metodu ile gözenekli yapı üretilmek istendiğinde birkaç tane farklı çözüm yolu izlenebilir. Birincisi BF yapısının eldesi için çözelti içerisine amfilik kopolimerler ya da yüzey aktif madde eklenebilir. Shimomura ve ark. PLA ve PCL yi kullanarak gözenekli filmler üretmişlerdir [65], [66]. Bir diğer çözüm yolu ise polar ve hidrofilik grupların BF uygulama süreci içerisine dahil edilmesidir. Örneğin, Chen ve Ellis GA nın farklı miktarlarda PLGA sentezine ekleyerek oluşan PLGAnın hidrofilisitesi kontrol edilebilen kopolimer olmasını amaçlamışlar ve başarmışlardır. LAnın GA ya olan molar oranın 1:1 kadar yüksek olduğunda düzenli gözenekli filmler elde etmişlerdir [55], [67]–[71]. Li ve ark. THF içinde çözünmüş PLA ile yüzey aktif madde ya da değiştirici eklenmeksizin yapılan çalışmalar da deney parametreleri (moleküler ağırlık, çözelti derişimi ve nem de dahil olmak üzere) sıkıca kontrol edildiğinde düzenli gözenekli film elde edebilmişlerdir [72]. PLA ile buna benzer başka çalışmalarda yapılmıştır; çalışmaların birinde fizikokimyasal etkiler incelenmiş bir diğerinde ise yeni eklemelerle iki farklı çözücü (kloroform ve metanol) kullanılarak

iki basamaklı uygulama geliştirilmiş ve düzenli gözenekli film üretiminde başarılı olmuşlardır [73], [74]. Selüloz dünyada bolca bulunan ve çok verimli doğal biyo-bozunur polimerlerden biridir. Biyo-aktif moleküllere tutunmayla biyo-aktif membranların –örneğin; bakterinin tanınması ve deaktivasyonu- üretimi için bir platform sağlamaktadır [75]. BF metodu kullanılarak selüloz ve türevleriyle gözenekli yapı üretimi metodun keşfinden beri çok dikkat çeken bir araştırma konusu olmuştur. Ancak en büyük zorluklardan birisi selülozun organik çözücülerin çoğunda çözünmemesidir. Bu sorun Kondo, Yu ve ark. tarafından selüloz triasetatın, organik çözücülerde çözünür, kullanılması ve daha sonra deasetilasyonu ile çözülmüştür [76], [77]. Ayrıca selüloz bazlı graft kopolimerlerde ham madde olarak selüloz kullanılmak istenildiğinde BF uygulamaları için alternatif kullanım malzemesi olmuştur. Liu ve ark. 3 farklı selüloz graft kopolimer sentezlemişlerdir, EC-g-PS, EC-g-PtBA ve EC-g-P(PEGMA). Ancak sadece EC-g-PS ile BF uygulaması başarılı olmuştur çünkü PtBA ve P(PEGMA) zincirleri su tanecikleri etrafında düşük agregasyona sahiptir [78].

Mikrojeller intramoleküler şekilde çapraz bağlanmış ve çözelti içerisinde disperse olmuş yapılardır. Çapraz bağlanma derecesine ve çözücünün doğasına göre çok ya da az şişerler [79]. Çeşitli mikrojeller BF metodu ile film üretimin de kullanılırlar [80]. Davis ve ark. mikrojelden BF metoduyla gözenekli film üretmek için iki basamaklı bir metot kullanmışlardır. İlk olarak geri döndürülebilir fragmentasyon eklemeli zincir transferi (reversible addition-fragmentation chain transfer – RAFT) polimerizasyonuyla lineer prearm, polistren-b-polivinilbenzen (PS-b-PDVB), sentezlemişlerdir. Daha sonra bu zincirler serbest radikal polimerizasyonuyla polivinilbenzen bloğuyla kalıcı çift bağ kurarak eşlenenerek çapraz bağlanmışlar ve sonuç olarak çekirdek çapraz bağlı (core-cross-linked (CCS)) yıldız mikrojeller hazırlanmıştır. BF gözenekli filmin morfolojik özelliklerinde çapraz bağlanma süresi önemli rol oynamaktadır çünkü ana yapıya bağlanan ek zincir sayısını değiştirmektedir ve sahip olunan lineer kol sayısı ve oranı gözenek boyutuna ve düzeni üzerinde etkilidir [81]. Bu çalışmanın haricinde CCS polimerleri ile BF düzenli film üretilmesi üzerine başka çalışmalarda yapılmıştır. Örneğin; PMMA kolları olan ve CCSsi PDMS olan gözenekli mikrojel gibi [82].

Nanomalzemeler -nanopartiküller (NP), karbon nanotüpler (CNT) ve grafen- çeşitli kendilerine has katalitik, fotik (photic) ve elektriksel özellikler sergilerler. Bu

malzemelerin düzenli gözenekli yapılar haline getirilmeleri bu spesifik özelliklerini vurgular, geliştirir ve yeni fonksiyonlar kazanmalarına yarar. Ek olarak inorganik malzemeler yüksek ısı ve çözücü rezistansı gibi muhteşem özelliklere sahiptirler. Bilindiği gibi BF metodu sadece polimerler üzerinde uygulanabilir bir metod değildir ve bu bahsedilen polimerik olmayan malzemeler gün geçtikçe sahip oldukları mekanik ve kimyasal özelliklerinden dolayı daha çok dikkat çekmekte ve BF uygulamaları derin bir biçimde araştırılmaktadır. Nanopartiküllerin düzenli yapılanmaları sahip oldukları eşsiz fotonik, elektronik ve katalitik özelliklerden dolayı araştırmacıların dikkatini çekmektedir [83], [84]. Çeşitli NPler, metal, metal oksit ve kuantum noktacıkları (quantum dots (QDs), BF ile film hazırlanmasında kullanılmaktadırlar [85]. Genellikle NPler organik çözücülerde iyi dağılabilirlik sağlaması için organik ligandlarla [86] ya da polimerler [87], [88] ile dekore edilmektedirler ve buharlaşma sırasında su taneciklerinin koale olmasını engellemek için su/çözücü arayüzünde NPlerin yeterli adsorpsiyonu için dekore edilmektedirler. NPlerle ilgili çoğu BF araştırmaları altın NPler üzerinedir. Korgel ve ark. altın nanokristallerini fluorooktil metakrilat tiol (FOMA-SH) ile dekore ettikden sonra BF yaklaşımı ile film üretiminde kullanmıştır [87]. Elbette BF metoduyla film üretiminde kullanılan tek NP altına ait değildir. Çeşitli metal oksit NPler (örn. Mn_{12} tek-moleküllü mıknatıs[89], [90], PS modifiyeli kil [91] ve yabanturpu peroksidaz (horseradish peroxide –HRP) NPleri [92]) de kullanılır [93]. NPler sıfır-boyutlu (dimension-D) nanomalzemeler olarak literatürde yer almaktadır. Aslında 1D veya 2D nanomalzemelerden de BF yaklaşımı ile film üretimi yapılabilmektedir. CNTler ve grafenler tipik 1D ve 2D karbon nanomalzemelerdendir. Düzenli gözenekli grafen film yapımı nanoelektronik, enerji depolama/çevirme ve kataliz alanlarında potansiyel uygulamaları yüzünden çok dikkat çekici bir konudur. BF yaklaşımıyla CNT veya grafenden film üretiminin en kritik basamağı uygun organik çözücü seçimidir. Tek duvarlı CNTlerin kloroform içinde çözünmesi için lipidler kullanılmış ve substrat olarak cam ve poli(etilen terafitalat) (PET) kullanılarak BF filmleri oluşturulmuştur [94], [95]. Literatürede uygun organik çözücü seçimi problemine değişik yöntemlerle by passlar yapılmıştır. CNTler iletken ve biyouyumlu bir malzeme olduğundan BF yaklaşımıyla üretilmiş olan filmlerin potansiyel uygulama alanlarının başında elektrokimya ve doku mühendisliği gelmektedir. Bazı özel durumların haricinde kuruma sürecinde kristalize olmaları sebebiyle küçük organik

moleküller BF tekniği için uygun olmadığına inanılmaktadır. Bu özel durumlarda moleküllerin kristalizasyonları bastırılabilmekte ve BF yaklaşımı ile küçük organik molekül bazlı gözenekli film hazırlanabilmektedir. Karthaus ve ark. ilk kez küçük organik moleküllerden BF metoduyla film hazırlanabildiğini rapor etmişlerdir [96]. Filmi hazırlamak için kullandıkları solüsyona katyonik ve anyonik yüzey aktif madde ve metal kompleks eklemişlerdir. Kristalizasyonu engellemek için yüzey aktif maddeler ve metal kompleksi arasındaki etkileşimleri spaküle etmişlerdir. Bundan başka monomerler ve küçük organik moleküller BF metodu uygulanması sırasında polimerizasyon veya çözülmeyen malzemeye dönüşerek direk film oluşumu sağlanabilir. Alkilsiyanoakrilatın kloroform içerisinde çözülmesiyle BF yaklaşımıyla film üretimi başarılmıştır [97]. Yüzeyde yoğunlaşan su damlacıkları sadece kalıp olarak değil aynı zamanda polimerizasyonu başlatan tetikleyici olarakta davranmaktadırlar.

Bu çalışmanın ana malzemesi olan poliüretan (PU) endüstride çeşitli uygulamaları olan sentetik bir polimer sınıfıdır. Başlıca uygulamaları esnek veya esnek olmayan köpükeler, termoplastik elastomerler, yapıştırıcılar ve yüzey kaplamalarıdır [98]. Poliüretanların endüstriyel uygulamaları için 1930larda kullanılmaya başlanmıştır ve 1960lara kadar potansiyel biyomedikal uygulamaları fark edilememiştir. Biomer® kardiyo vasküler uygulama olarak ilk tanıtılan üründür, çok iyi mekanik özelliklere sahiptir ve biyo-uyumludur. Pellethane® kalp pililerinde kurşun izolasyon malzemesi olarak kullanılan bir başka poliüretan elastomeridir. 1980lerde uzun süreli kullanım için implante edilen cihazlarda yüzey mikro-çatlakları gibi bozunmalar dolayısıyla cihazlarda bozulmalar görünmüştür [99]. Altında yatan sebebin poliüretanın kimyasal yapısında ki ana segmentlerinden biri olan polieter yumuşak segmentinin oksidatif degradasyonu olduğu düşünülmüştür. Oksidatif degradasyon, monositlerin implantların yüzeyini istila etmeleri sonucunda başlatılan makrofajlara ve yabancı cisim dev hücrelere ayırdıkları çeşitli biyolojik olaylar tarafından tetiklenir. Aktif makrofajlar tarafından süperoksitler gibi aktif biyolojik moleküllerin salınımı poliüretanın polieter segmentindeki metilin-eter bağlarının oksidatif degredasyonu ile başlar [100]. 80ler ve 90lar boyunca yapılan çalışmalar oksidatif stabilitenin geliştirilmesi ve geniş aralıkta bulunan biyomedikal uygulamalarda kullanılacak medikal cihazların -özellikle kardiyo vasküler uygulamaları- gereksinimlerini karşılayacak mekanik özelliklere sahip çok farklı

poliüretan aileleri geliştirilmiştir. Oksidatif stabilitedeki gelişme polieter soft segmentinin oksidatif ve hidrolitik bozunmaya karşı daha az hassas kimyasal fonksiyonel gruplarla (örn. karbonat, hidrokarbon ve yumuşak segmentdeki siloksan işlevselliği) değiştirilmesi sonucunda ulaşılmıştır [101]–[104]. Biyobozunur polimerler -PLA, PLGA, PCL, poli(glikolit) (PG), bu polimerlerin kopolimerleri vb.- üzerinde yapılmış olan öncü çalışmalarda doku mühendisliği için optimal özelliklere sahip olmadıkları halde uzun yıllardır kliniklerde kullanılmaktadırlar. Bu malzemeler bilindiği gibi sadece biyo-uyumlu veya biyo-bozunur değil ayrıca yüzey karakteristikleri hücre büyümesini ve yayılmasını destekleyici özelliklere sahiptir. İdeal bir doku iskelesi mekanik özelliklerinin haricinde biyolojik dokularla uyumlu olmalı, degredasyon kinetiklerini karşılamalı ve uygun boyutta gözenek çapı ve geometrisine sahip gözenekli yapı şeklinde üretilebilinmelidir. Diğer sentetik polimerler arasında poliüretanlar yukarıda bahsedilen özellikleri karşılayan malzeme tasarlanması açısından avantajlar sağlamaktadır çünkü poliüretan sentezinin veya formülasyonunun kullanılacak yumuşak ve sert segmentlerin çeşitliliğiyle ve diğer polimerlere kıyasla daha kolay olmasından dolayı mekanik ve bozunma gereksinimleri karşılaması anahtar avantajlarından bazılarıdır [99]. Ek olarak poliüretanların çeşitli metotlarla işlenmeleri mümkündür ancak araştırdığımız kadarıyla gözenekli yapı üretimi için kullanılan metotlar arasında hem biyo-uyumlu olan hem de bazı çeşitleri biyo bozunur olan poliüretan kullanılarak BF metoduyla gözenekli yapı üretildiğine rastlanmamıştır.

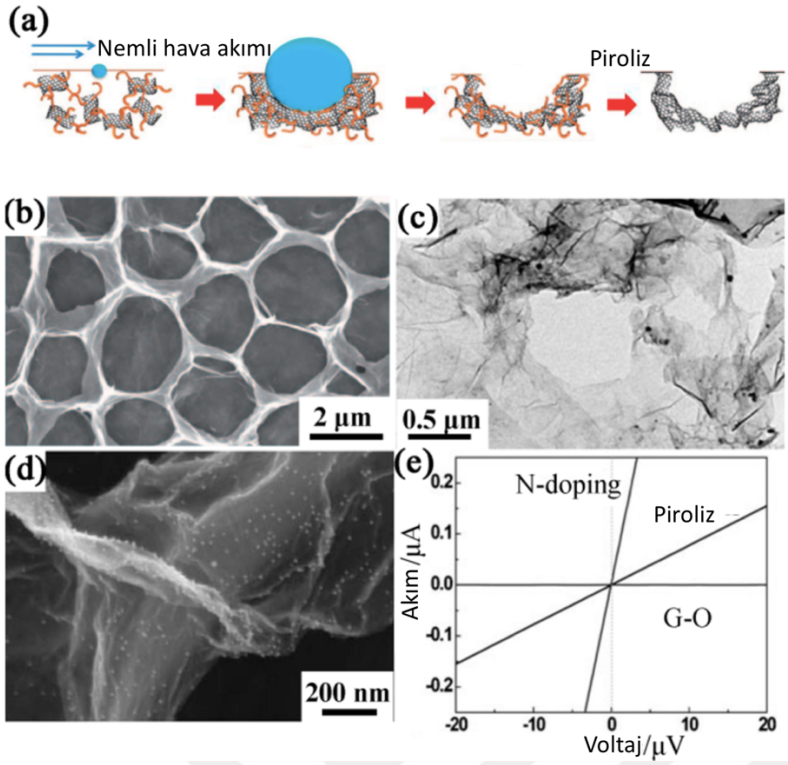
2.3. Filmlerin Morfolojik Yapısının Kontrolü

Pratik BF dizilimli filmlerin uygulamaları yüzey morfolojileriyle alakalıdır. Kullanılabilecek malzemelerden bahsederken de değinildiği gibi deney parametrelerine karşı çok hassas bir süreçtir, bu nedenle morfolojik kontrolü sağlamak için çok uğraşılmıştır. Birçok deneysel değişken -çözücü, polimer-çözücü etkileşimleri, substrat, polimer çözeltisinin derişimi, nem, gaz akış hızı, atmosferik durumlar ve çözücü-damlacık etkileşimleri- önemli ölçüde BF yaklaşımıyla hazırlan filmlerin morfolojilerini ve özelliklerini belirleyen faktörler olarak tanımlanmıştır. Bu özellikleri kontrol ederek düzen, gözenek boyutu, şekli, gözenekler arası mesafe ve filmlerin kalınlığı ayarlanabilir, optimize edilebilir. Hatta mekanik ve optiksel BF uygulama sonrası müdahelelerle kullanılan malzeme

türüne bağlı olarak morfolojik kontrole devam edilebilir. Çoğu benzersiz ve kullanışlı BF filmleri bu stratejilere dayanarak hazırlanılmaktadır.

2.3.1. Çözücü Etkisi

Polimerin çözmek için kullanılan çözücü BF dizilerinin oluşumunda en önemli faktörlerden biri olarak tanımlanmaktadır [105]–[107]. BF oluşum mekanizması düşünüldüğünde seçilecek çözücü düşük kaynama noktasına, yüksek buhar basıncına sahip olmalı ve su ile karışmamalıdır. Çözücülerin kimyasal niteliklerine ek olarak çözücü ve su damlacıkları arasındaki arayüzey geriliminin de dahil olduğu etkileşimler [73] ve polimer ile çözücü arasındaki termodinamik ilişkinin [54], [55] de belirgin bir biçimde gözeneklerin düzenini ve şeklini etkiler. BF tekniğinde en sık kullanılan çözücüler CS_2 ve kloroformdur; diklorometan, benzen, tolüen, THF, diklorometan, ksilen ve freongibi diğer çözücülerde BF metodunda kullanılabilir [60]. PS üzerinde çok daha detaylı şekilde araştırma yapıldığından örnek polimer olarak alacak olursak daha çözücü etkisini detaylı biçimde açıklayabiliriz. Ferrari ve ark. Çözücünün kaynama noktasının, yoğunluğunun, karışırlığının, arayüzey geriliminin BF ile gözenekli film oluşumu sürecine etkisinin araştırmak için bir dizi çözücü seçmişlerdir. Sonuçları göstermektedir ki aseton, etil asetat, THF ve tolüenle ya hiç ya da yetersiz BF filmleri oluşturulabilmiştir. Şekil 2.3 de görüldüğü gibi kloroform, CS_2 ve diklorometan çözücüleri BF dizilerinin oluşumuna olanak sağlamaktadırlar [9]. Billon ve Tian tarafından yapılmış diğer çalışmalarda bu sonuçları desteklemektedir [55], [108].



Şekil 2-3: (a) rGO BF dizilimli film üretiminin ematik gösterimi. rGO BF dizilimli fimlerin(b) SEM ve (c) TEM fotoğrafları. (d) İyonik etkileşimle altın NP ile dekore edilmiş N-doped rGO BF dizilimli filmlerin SEM fotoğrafı. (e) GO, rGO ve N-doped rGO BF dizilimli filmlerin elektriksel davranışları [109]

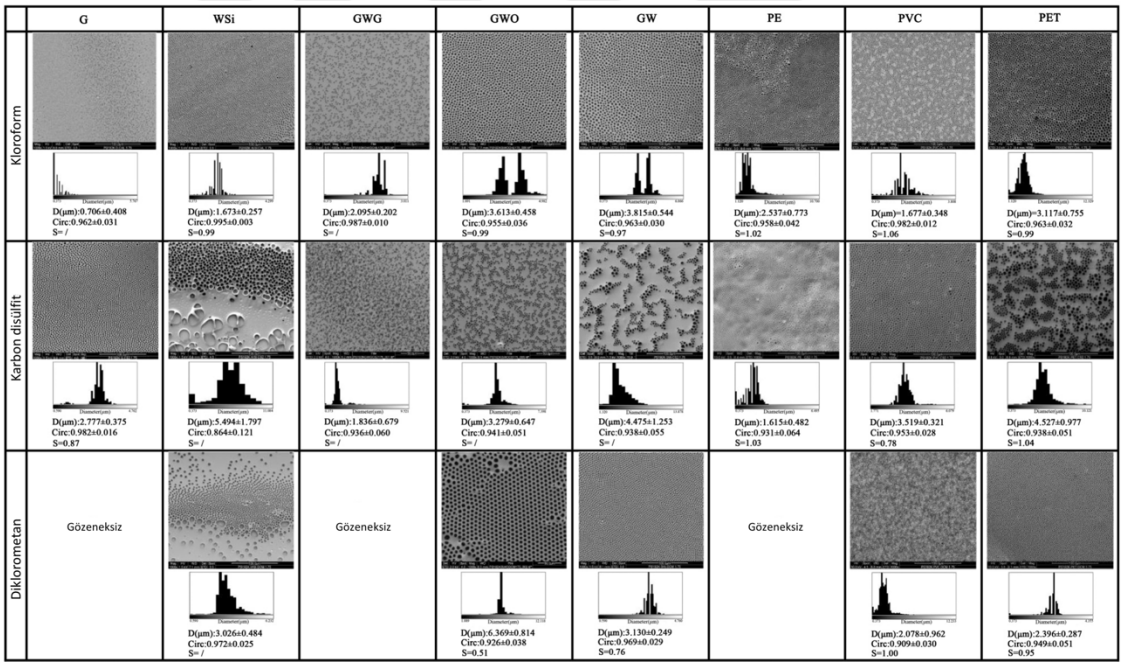
Hansen'nin çözünebilirlik parametreleri nicel olarak PS ile çözücüler arasındaki termodinamik afinite değerlendirilmiştir. Bağıl enerji fark (relative enegy differance-RED) değeri 1'den küçük olan çözücülerin BF metodu uygulamalarında kullanılabilir olduğunu göstermiştir. En önemli kriterin hangisi olduğuna dair bir açıklama yapılamasa da çözücünün kaynama noktası, su ile karışabilirliği, su ile arayüzey gerilimi, polimerin termodinamik afinitesi çözücü seçiminde büyük rol oynamaktadır. Ayrıca nemin statik modda değil de akış halinde olması çözücünün buharlaşma sürecini kolaylaştırır ve hatta bağıl olarak yüksek kaynama noktasına sahip çözücülerle bile düzenli gözenekli yapının oluşmasını destekler [39].

2.3.2. Substrat Etkisi

2.3.2.1. Substratların Yapımında Kullanılan Malzemeler

Polimer solüsyonunun uygulandığı substrat ya da yüzey BF metodu uygulanması sırasında gözeneklerin düzenlenmesinde önemli rol oynar [108], [110], [111]. Ancak nasıl ve niçin BF dizilerinin oluşmasına etkisi olduğu açıklanabilir değildir. Xi

ve ark. [112] ve Hu ve ark. [113] katı substratın polimer tarafından iyi ıslanabilirliğinin gözeneklerin tekrarlanabilirliğinde ve düzenlenmesinde yararı olduğunu iddia etmiştir. Çalışmada mika, cam ve silikon yüzeyler üzerinde PDMA-b-PEO ve PS-b-PAA amfilik kopolimerlerini kullanmıştır. Yapılan bazı araştırmalarda substratın yüzey enerjisinin BF film üzerindeki gözenek morfolojisi üzerinde önemli olabileceği söylenmektedir. Bu yüzden çeşitli yüzey enerjilerine sahip farklı inorganik ve organik substratlarla (örn. cam (G), pirana solüsyonuyla yıkanmış cam (GW), silikon wafer (WSi), 3-glisidoksipropiltrimetoksisilan ile silanlanmış cam (GWG), oktiltrietoksisilan ile silanlanmış cam (GWO), florinlenmiş cam (GWF), propilen (PE), PVC ve PET vb.) BF yaklaşımıyla film hazırlamaya çalışmışlardır. Şekil 2-4'de de görüldüğü gibi yüksek yüzey enerjili substratlar kloroform ve PS ikilisi kullanıldığında geniş alanlı düzenli gözenekli film oluşumunu kolaylaştırmaktadır ama CS_2 ve PS ikilisi kullanıldığında tam zıttı bir davranışla karşılaşılmıştır. En iyi sonuçlar PVC substrat olarak kullanıldığında alınmıştır [9].



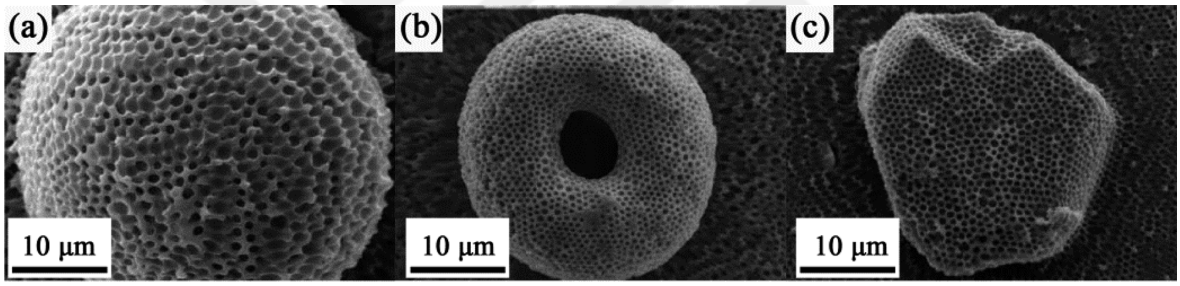
Şekil 2-4: Farklı çözücüler ve farklı substratların üzerinde hazırlanan gözenekli PS BF dizilimli filmlerin SEM fotoğrafları (RH= %75, 23°C, scalr bar 100μm) [9].

Aslında substratın kalınlığı, ağırlığı ve spesifik ısısı BF diziliminin oluşumunda etkilidir [82]. Likit substratlar da BF tekniği ile birlikte kullanılabilirler. Yüksek yüzey enerjisine sahip birçok organik çözücü bu amaçla kullanılmaktadır. Son zamanlarda Ma ve ark. da göstermiş olduğu gibi yüksek yüzey gerilimine ve daha

düşük akışkanlığa sahip sıvı substratlarla daha küçük gözenekleri olan filmlerin üretilmesi mümkündür [114], [115].

2.3.2.2. Substratın Şekli

Düzlemsel olmayan yüzeyler üzerine desen/biçim vermek diğer litografik metotlarla zordur ancak katalizör, doku iskelesi, fotonik bant farkı materyalleri ve optiksel durdurucu bant olarak kullanılabileceği için çok dikkat çekmektedir. Hem teorik hem deneysel olarak BF tekniğinin substrat şekli ile bir bağıntısı bulunmamaktadır, yani düzlemsel olmayan yüzeyler için gelecek vaat eden bir metotdur. Düzlemsel olmayan yüzeyler üzerinde ilk kez Qiao ve ark. başarılı bir gözenekli kaplama elde etmişlerdir. PDMS kolları olan bir CCS polimer kullanmışlardır, bu polimer çok düşük bir T_g (-125 °C) değerine sahiptir bu nedenle yumuşak ve hareketlidir aynı zamanda substratın dönüşlü ve kompleks kenarlarına uyum sağlayabilir [116], [117].



Şekil 2-5: yıldız PDMS'den düzlemsel olmayan yüzeyde hazırlanan BF dizilimli gözenekli yapıların SEM fotoğrafları (a) küresel kaolin partikülü, (b) "donu" şekilli kaolin partikülü, ve (c) silis kromatografi partikülü [116].

Düzlemsel olmayan yüzeylerde BF tekniğinin uygulanmalarında yamuk yüzeyin yarattığı stress nedeniyle kaplama yüzeyinde görülen çatlamalar ve kırılmalar en büyük sorunlardan birisidir. Çözüm olarak polimerin T_g ve Young's modulusun (E) etkili olduğu görülmüştür. E değeri çok etkili değilken T_g değeri 48 °C altında olduğunda düzlemsel olmayan yüzeylerde homojen düzenli gözenekli yapı üretilebilindiği görülmüştür.

2.3.3. Polimer Derişimi

Üretilen filmlerin gözenek boyutları ve düzeni kullanılacak olan polimer solüsyonunun derişimine bağlıdır. Solüsyon derişimi çok düşük olduğunda düzenli gözenek dizilimi gözlenmez çünkü az miktardaki çözünen su taneciklerinin

stabilizasyonunu sağlayamaz ya da koale olmalarını engelleyemez [112]. Ayrıca solüsyon derişiminin çok düşük olduğu bazı durumlarda üretilen filmin devamlılığı çözünen azlığından bozulabilir [53], [110]. Ancak çözelti derişiminin çok yüksek olduğu durumlarda polimer çözeltilerinde sıklıkla akışkanlığın (viscosity) artışına sebep olur ve bu durum damlacıkların kendiliğinden düzenlenmeleri için olumsuz bir koşul oluşturduğundan düzensiz dizilimli film üretimine yol açar [72].

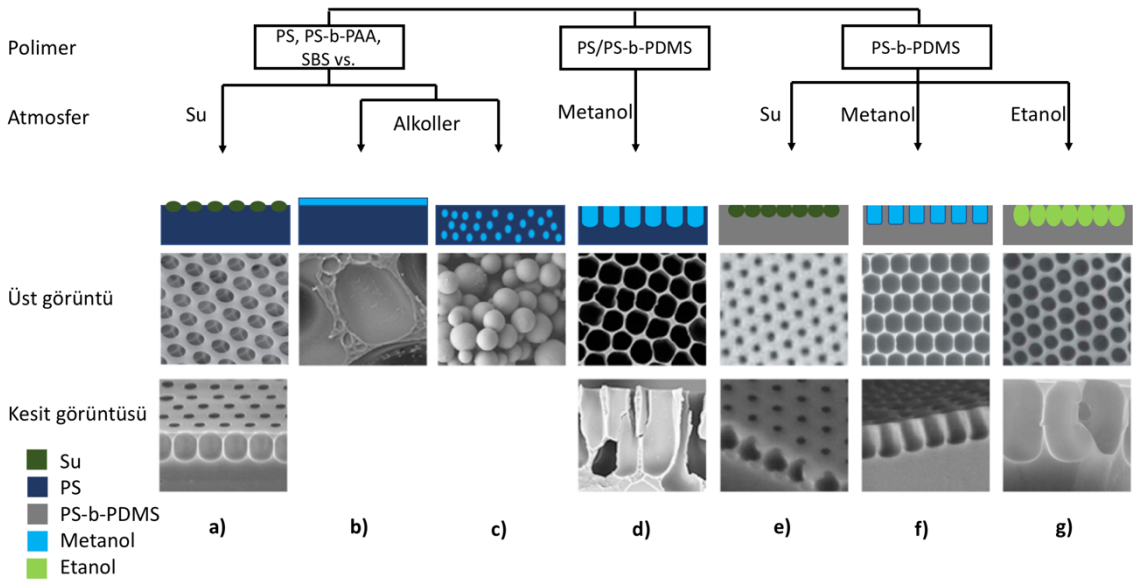
2.3.4. Sistem Atmosferinin Etkisi

2.3.4.1. Su Buharı

Su buharı kullanıldığı durumda bağıl nem (relative humidity-RH) yüzdesi olarak adlandırılan oranın yüksek değerlere sahip olmasının düzenli dizilimli gözenekli film oluşumu için yararlı olduğu bilinmektedir [87], [118]–[120]. Film hazırlanabilecek en düşük RH değeri -eşik değeri- polimerin özelliklerine ve polimer katkı maddelerine bağlıdır. Su tanecikleri yüzey üzerinde ne kadar stabil ise eşik değeri de o kadar düşük olur. THF çözücüsü kullanıldığında PVC için eşik değeri % 75 RH bulunmuştur, ancak PS-b-PAA amfilik kopolimerleri ve poli(stren-co-akrilonitril) (SAN) için % 48 RH'dir [121]. Katkı maddeleri (örn. NPler [122], koruyucular vb.) eklendiğinde bu değer değişmektedir.

2.3.4.2. Su Dışındaki Buharlar

Genellikle BF süreci atmosferinde su buharının bulunduğu sistemler kullanılarak uygulanır. Uzun yıllar boyunca nem kaynağının etkisi göz ardı edilmiş olsa da daha sonraki yıllarda bu etki araştırılmış ve doğru koşular altında sudan başka kaynaklarla da BF tekniği kullanılarak gözenekli film hazırlanabileceği görülmüştür. Detaylı incelemesi şekil 2. 6 da görülebilir [123]–[126].



Şekil 2-6: Su ve alkol atmosferinde hazırlanmış farklı BF filmlerinin SEM fotoğrafları [123]–[126]

2.3.5. Su Tanecikleri ile Polimer Çözeltisi Arasındaki Arayüzey Gerilimi

Geleneksel BF metodu su taneciklerini gözenek oluşturmak için kalıp olarak kullanmaktadır, bu yüzden su tanecikleri ile polimer solüsyonu arasındaki arayüzey etkileşimleri filmin gözenek morfolojisinde önemli ölçüde etkilidir [73]. Su damlacıkları ile polimer solüsyonu arasındaki arayüzey gerilimi hem çözücü hem de çözünen tarafından etkilenir. Polimerin hidrofobiklik derecesini değiştirmek ve polimer çözeltisine yüzey aktif madde eklenmesi arayüzey gerilimini ayarlamaya yardım edebilir [127]. Küçük yüzey aktif maddeler ya da hidrofobik polimerlerin katkı maddesi olarak kullanılmasıyla morfolojik kontrol sağlamak amacıyla su damlacıkları ile polimer solüsyonu arasındaki gerilimi düşürmek çok kulanılan bir metotdur [128].

2.4. Uygulama Alanları

BF metodu uygulamaları keşfinden bugüne kendine has altıgen yapılı gözenekli düzeni ile çok dikkat çeken bir konu olmuştur. Karakteristik gözenekli morfolojisinden yarar sağlamak için uygulamalar geliştirilmektedir. Uygulamaların genellikle yoğunlaştıkları alanlar kalıp uygulamaları, optik, iletken ve magnetik uygulamaları, membranlar ve ayırma, sensör ve katalitik ayırma ve biyolojik uygulamalarıdır.

2.4.1. Kalıplar

BF metodu daha önce de bahsettiğimiz gibi düzenli gözenekli yapı üretimi için ucuz ve yeterli bir tekniktir. Ancak BF metodu uygulamalarında kullanılacak malzemeler çözünebilen polimerler ile sınırlı olduğundan ve bu polimerler de küçük bir gruba karşılık geldiğinden dolayı birçok değerli gözenekli malzeme üretimi için kalıp olarak kullanılmaları söz konusudur. Bu yüzden polimerik BF filmleri diğer malzemelerin düzenli yapılı direkt sentezi için kalıp olarak kullanılırlar [129]–[131]. Genellikle, BF filmleri kalıp olarak, yumuşak litografi teknikleri için damga olarak ve aşındırma teknikleri için maske olarak kullanılırlar. Dikkat çekici uygulamalarından birisi ZnO [132], CdS kuantum parçacıkları (quantum dots-QDs) [133] ve TiO_2 [134] gibi inorganik malzemelerin yüzey üzerinde direkt üretilmesidir. Bu uygulamanın yapılabilmesi için inorganik malzeme parçacıklarının ya da öncü parçacıklarının BF tekniğinin uygulanması sırasında polimer solüsyonu içerisinde bulunması gerekir. BF metodu uygulamalarında genellikle organik solventler kullanıldığından bu parçacıklar ya çok iyi disperse olmalı ya da çözücü ile çözünmelidir. Bu öncü organik/inorganik parçacıklar katalizör ya da nükleer uç olarak kullanılabilirler [135], [136].

2.4.2. Optik, İletken ve Magnetik Uygulamaları

Görünür (ya da yakın görünebilen) aralıkta dalga boyuna sahip 3D düzenli gözenekli film yapıları -opallerin tersi (inverse opal) filmler olarak adlandırılan- yapılar son yıllarda büyük önem kazanmıştır. Bu filmler, fotonik bant aralığı malzemeleri uygulamaları için potansiyel malzeme haline gelmiştir. Fotonik davranışları tekrarlanan yapılarına ve kırılma indeksine bağlıdır. Litografik süreçlerin sınırları dolayısıyla sadece infrared ve mikrodalga bölgelerinde difraktiftirler. BF gibi çok çeşitli gözenek boyutuna sahip yapılarda malzemeler infrared, görünür, ultra-violet ve X-ray dalga boylarında kullanılabilirler [137]. Çoğu optik uygulama BF yapılarının 3D latis yapısına dayanmaktadır ve anti-reflektif BF filmleri gibi uygulamalarda kullanılmaktadır. Bu geniş bantdaki uygulamalra QDlar [138] ya da zeolit [139] yapılar da eklendiğinde optoelektronik veya ışık salan filmler üretilmiş olur [140].

2.4.3. Membranlar

Boyuta bağlı ayırma, gözenekli polimerik membranların önemli uygulamalarından biridir ve genellikle mikroelekler (microsieves) olarak adlandırılırlar. Mikroelekler ileri filtrasyon membranları olarak kullanılırlar çünkü eşit dağılıma sahip gözenek boyutları, yüksek gözenek yoğunluğu ve gözenek çapından daha ince kalınlığa sahiptirler. Bu özellikler yüksek seçicilik, yüksek akış ve tekrar kullanım olanağı sağlar. Bu özelliklere sahip olmaları için BF metodunun modifikasyonlara ihtiyacı vardır; örneğin, buz substrat kullanma, likit substrat kullanma, daldırma kaplama ya da fazla solüsyonun hızlı uzaklaştırılması gibi. Su/yağ ayırma membranı olarak yakıt hücrelerinde kullanımları çok yaygın bir uygulama örneğidir [16].

2.4.4. Sensör ve Katalitik Sistemler

BF filmleri üretim aşamasındaki modifikasyonlar ile veya üretimde kullanılan malzemeler ile yüksek hassaslıkta sensör olarak kullanılabilirler. Örneğin, bir biyosensör örneği olan Wang ve ark. cam karbon elektrodun üzerine PS-b-PAA BF film ile kaplayarak kandan ürik asit teşhisi için kullanmışlar ve başarılı sonuçlar almışlardır [141]. Biyosensörlerin haricinde Sun ve ark. tarafından patlayıcıların teşhisi için PS ve florofor piren karışımından floresans özellikli sensör üretilmiştir [142]. Bu örneklendirme çoğaltılabilir.

BF filmleri katalizör olarak da kullanılmaktadırlar. Wan ve ark. tek basamaklı yaptıkları enzim içerkli filmler [92] gibi veya Karthaus ve ark. bulmuş olduğu yüzeye öncelikle fotokatalitik TiO_2 nanokristallerinin absorbe edererek yüzeyi fonksiyonelleştirmiş oluyorlar ve kalsifikasyon işlemi sonucu TiO_2 nanokristalleri elde ediliyor [143].

2.4.5. Biyolojik Uygulamaları

BF filmlerinin biyolojik uygulamalarında hem çok çeşitlilik hemde farklı alt alanları vardır. Bu kullanım alanlarının en öne çıkanları daha önce ele aldığımız biyosensörler, biyokatalizler, biyolojik moleküllerin mikrodesenlenmesi, hücre kültürü ve inhibasyonu, biyomedikal cihazlar, doku mühendisliği ve ilaç salım sistemleri vb. BF filmleri mikro desenleme için sahip olduğu düzenli ve boyutları ayarlanabilir olmasından dolayı ümit vadeden bir substrattır. Örneğin Zhang ve ark. PS ve amino-bitişli PS'nin karıştırılmasıyla üretilmiş amino gruplarıyla dekore edilmiş gözeneklere sahip filmler üretmişlerdir ve çalışmalarında gluteraldehitler bu

amino gruplarına başarılı şekilde çapraz bağlanmıştır [144]. Mikrodesenlemeye bir başka örnek ise PS-b-PAA kullanılarak üretilen protein desenlemesidir, bu filmlerin gözenek içlerinde hidrofilik oluşu hücre penetrasyonunu destekleyen bir film olmuştur [145]. BF filmlerinin yoğunlukla kullanıldığı bir diğer alan ise hücre kültürü ve inhibisyonudur. Bilindiği gibi hücre davranışları, hücre tutunması, yayılması, çoğalması, farklılaşması ve gen ekspresyonu da dahil olmak üzere tamamen hücreler arası etkileşim ve hücrelerin mikroçevrelerine bağlıdır. BF metoduyla tasarlanarak üretilen filmler hücrelerin ihtiyaç duyabileceği topoğrafik ve kimyasal koşulları kolaylıkla sağlamaları bakımından bu alanda önemli rol oynarlar [146]–[148].

2.4.5.1. İlaç Salım Sistemleri

İlaç salımı ilacın içinde bulunduğu polimerik sistemden polimerin dışına doğru difüze olarak ortama salım sürecini tabir eden bir terimdir ve ilaç taşıma alanındaki en önemli başlıktır. Malzeme mühendisliğindeki ilerlemelerle birlikte üstün özelliklere sahip yeni malzemeler ilaç taşıma ve salım sistemlerinde kullanılmaya başlanmıştır. Gerek doğal gerekse sentetik makromoleküller ilaçların etkinliğini ve biyoyararlanımını artırmak ve klinik uygulanabilirliğini kolaylaştırmak, yani hastaların yaşam kalitesini artırmak için kontrollü ilaç salımı araştırmalarında kullanılmaktadır. İlaç salım sistemlerinde kullanılan ilacın fizikokimyasal özellikleri, sistemin yapısal karakteristikleri, salım ortamı ve bunlar arasındaki mümkün olabilecek etkileşimler yöntemin başarısını etkileyen temel faktörlerdir. İlacın polimer matriksten salımı 3 farklı süreçle gerçekleşir;

- ilacın degrade olmayan polimerden difüzyonu (difüzyon kontrollü sistemler),
- ilacın polimer matriksin şişmesi ile difüzyonu (şişme kontrollü sistemler)ve
- ilacın polimer matriksin degradasyonu ve erozyonu ile salımı (erozyon kontrollü sistemler) [149].

2.4.5.1.1 Degrade olmayan sistemlerden ilaç salımı

Degrade olmayan polimerler genellikle ağızdan alınan dozaj formlarında, transdermal filmlerde ve implantlarda kullanılmaktadır [150]. İlaç taşımada kullanılan degrade olmayan polimerler doku ve kan uyumluluğu, mekanik olarak dayanıklı ve güçlü olması ve uzun süreli kullanım olanaklarıyla karakterizedir. Bu malzemeler su itici özelliklerinden dolayı degredasyon ve erozyon süreçlerine çok

fazla maruz kalmazlar, uzun süreli kullanıma imkan verirler. Bu sistemlerden ilaç salımı çoğunlukla difüzyon kontrollüdür. Degrade olmayan polimerlerle çoğunlukla "rezervuar tip" veya "matriks tip" ilaç salım sistemleri tasarlanmaktadır. Rezervuar tip sistemlerde ilaç degrade olmayan bir kaplama polimeri ile kaplanarak salım hızı kontrol edilirken, matriks tip sistemlerde ilaç molekülleri polimerin içine hapsedilmektedir. İlaç salım sistemi tasarımlarında en sık kullanılan degrade olmayan polimerler poliüretanlar, silikon kauçuklar ve polietilen vinil asetatlardır [151].

.2.4.5.1.1.1 Poliüretanlar

PUlar, polimer omurga üzerindeki üretan bağlarıyla karakterizedirler. İlaç taşıyıcı ajanlar olarak poliüretanlar tamamen degrade olabilmesi için gereken zaman bütün salım süreci bazında ihmal edilebildiği için degrade olmayan polimerler olarak değerlendirilirler. PUlar biyouyumlu, in-vivo koşullarda stabil, sterilize edilebilir, kimyasallara karşı dirençli, yırtınmaya ve aşınmaya karşı üstün derecede dirençli, yüksek mukavemetli ve elastik özellikli oldukları için biyomedikal uygulamalarda kullanım imkânı sunmaktadır. Poliüretan bazlı sistemlere ilaç yükleme işlemi ya polimerizasyon sırasında ya da polimerizasyon gerçekleştikten sonra absorpsiyon tekniğiyle yapılabilir. İlaç moleküllerinin varlığında polimerizasyon koşulları ilaç stabilitesine zarar vermemelidir. Yüklenen ilacın salım profili genellikle ilk hızlı salımdan sonra doğrusala yakın bir eğilim göstermektedir ve salım difüzyon kontrollüdür. Bu özelliklerinden dolayı poliüretanlar kalp pilleri, ventriküler yardımcı cihazlar, vasküler protezler, ilaç taşıyıcı implantlar, doku yapıştırıcıları ve yara-yanık örtü malzemeleri gibi medikal ürünlerin üretiminde ve kaplanmasında tek başına, başka bir malzemeyle kompozit oluşturularak, başka bir polimerle kopolimer olarak veya içerisine ilaç yüklenerek kullanılmaktadırlar [152]–[158].

2.5. Hiperlipidemi

Kardiyovasküler hastalıklar tüm dünyada hastalıklara bağlı ölüm sebeplerinin başında gelmektedir ve koroner arter hastalığı erkeklerde ve de kadınlarda ölüme sebebiyet veren hastalıklar arasında ilk sıradadır. Aterosklerotik damar hastalığına yol açan bağımsız risk faktörleri başında hiperlipidemi gelmektedir [159]. Yapılan deneysel çalışmalar doğru tedavi ile aterosklerotik sürecin geri dönüşüm

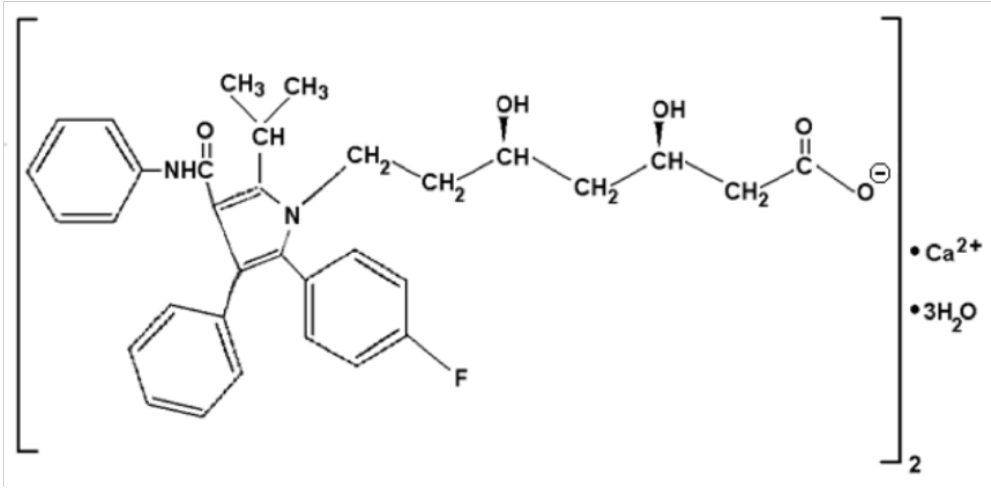
gösterdiğini ortaya koymaktadır. Bu sonuç tedaviyi çok önemli bir konuma oturtmaktadır. Kolesterol düzeyi ile koroner arter hastalığı mortalitesi arasındaki lineer bir ilişki vardır. Total kolesterolde her 20 mg/dl'lik yükseliş koroner kalp hastalığı mortalitesinde %12'lik bir artma ile sonuçlanır [160], [161]. Diyet hiperlipidemi tedavisinde temeli oluşturmakla birlikte lipid düşürücü ilaçların kullanımı çoğu olguda gerekli hale gelmektedir. Hiperlipidemi tedavisinde kullanılabilecek başlıca ilaç grupları; safra asidi bağlayan ilaçlar, fibrik asit türevleri, HMG – CoA Redüktaz inhibitörleri (statinler) ve nikotinik asittir. Statinler bu gruplar arasında öne çıkmaktadır. Günümüzde en sık kullanılan statinler atorvastatin, pravastatin, fluvastatin ve simvastatindir.

2.5.1. Statinler

Vücuttaki kolesteroün 3/4'ü endojen kaynaklı olup, bunun 2/3'ü karaciğerde üretilir. Statinler kolesterol biyosentezinde önemli rolü olan 3-hidroksi-3-metil glutaril koenzim A(HMG-CoA) redüktazı geri dönüşümlü inhibe ederek, plazmada kolesterol, lipoprotein ve trigliseritlerin düzeyini düşürürler. Mevastatin, lovastatin, simvastatin ve pravastatin doğal yolla elde edilen; cerivastatin, fluvastatin, atorvastatin, rosuvastatin ise sentetik yollarla elde edilen statinlerdir [162], [163].

2.5.1.1. Atorvastatin

Atorvastatin oral yolla ilaç olarak aktif hidroksi asitin kalsiyum tuzu şeklinde alınır. Asit form bir lipofilik ve bir hidrofilik kısım içeren yüzey aktif bir moleküldür ve yüzey aktif olması onun biyolojik membrandan difüze olabilmesi, sudaki çözünürlüğünün artması gibi çok önemli özellikler kazandırmaktadır. Atorvastatin kalsiyumun (AK) kimyasal adı [R-(R*, R*)]-2-(4-florofenil)-ß, δ-dihidroksi-5-(1-metiletil)-3-fenil-4-[(fenilamino)karbonil]-1H-pirrol-1-heptanoik asit, kalsiyum tuzu (2:1) trihidrat'dır. Atorvastatin kalsiyumun ampirik formülü $(C_{33}H_{34}FN_2O_5)_2Ca•3H_2O$'dür ve moleküler ağırlığı 1209.42 g/mol'dür. Yapısal formülü şekil 2-7'de verilmiştir. AK pH 4'ün altındaki sulu çözeltilerde çözünmezken; distile su, fosfat tamponu (pH 7,4) ve asetonitrilde çok az çözünmekte; methanol ve kloroformda ise kolayca çözünebilmektedir.



Şekil 2-7: Atorvastatin'in yapısal formülü.

Atorvastatin sentetik lipit azaltıcı bir ajandır. 3-hidroksi-3-metilglutaril-koenzim A (HMG-CoA) redüktaz enzim inhibitörüdür. Bu enzim karaciğerde üretilir, HMG-CoA'nun mevalonata dönüşme reaksiyonunu katalizler ve kolesterol biyosentezinin hız belirleyici basamağını oluşturur. Mevalonat kolesterolü de içine alan sterollerin öncül maddesidir. Kolesterol ve trigliseritler lipoprotein komplekslerin bir parçası olarak kan dolaşımında bulunurlar. Lipoproteinlerin asıl görevi lipitlerin kanda taşınmasını sağlamaktır ve uzun zincirli yağ asidi esterlerinden oluşan bir lipid ve spesifik proteinlerden (apolipoproteinler) oluşurlar. Yüksek yoğunluklu lipoprotein (HDL, ing: high-density lipoprotein), orta yoğunluklu lipoprotein (IDL, ing: intermediate-density lipoprotein), düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL, ing: low-density lipoprotein), ve çok düşük yoğunluklu lipoprotein (VLDL, ing: very-low-density lipoprotein) alt kısımlarından oluşur. Karaciğerdeki trigliseritler ve kolesterol VLDL'in içinde çevresel dokulara taşınmak için kana salınırlar. LDL VLDL'den kökenlenmektedir. Klinik ve patolojik araştırmalar, toplam kolesterol (total-C), LDL-kolesterol (LDL-C) ve apolipoprotein B (apo B)'nin yüksek plazma düzeyleri ile aterosklerotik plak oluşumu ve kardiyovasküler hastalıkların gelişimi arasında sıkı bir ilişki olduğunu ortaya koymaktadır. Diğer taraftan, HDL-C'nin plazma düzeyinin artması ise kardiyovasküler hastalıkların oluşum riskini azaltmaktadır [164], [165].

2.5.1.1.1 Atorvastatinin Farmakodinamik ve Farmakokinetik Özellikleri

Atorvastatin kalsiyum (AK) kolesterol, LDL-C ve trigliseritlerin plazma düzeyini düşürerek ve HDL'nin plazma düzeyini artırarak aterosklerotik plak oluşumunu önlemek için kullanılan bir ilaçtır. Atorvastatin ordo- ve para-hidroksillenmiş türevlerine ve değişik beta-oksidasyon ürünlerine metabolize olur. Ordo- ve para-hidroksillenmiş aktif metabolitleri de atorvastatin kadar HMG-CoA redüktaz inhibisyonunda etkilidir. Atorvastatin ve metabolitleri hepatik metabolizmanın ardından ilk olarak safra kesesinde eliminasyona uğrar. Atorvastatinin insanlardaki ortalama kan eliminasyon yarı ömrü 15-30 saattir ve HMG-CoA redüktaz için inhibisyon aktivite yarı ömrü 20-30 saattir. AK oral alımdan hemen sonra hızlı bir şekilde kana karışmakta ve 1-2 saat içinde maksimum plazma derişimine ulaşmaktadır (t_{max}). AT'nin maksimum plazma derişimi (C_{max}) 10-80 mg doz alımında 5,4-23,7 ng/mL'dir [166].

İlacın absorpsiyonu alınan dozla orantılı olarak artmaktadır. Atorvastatin, yüksek oranda gastrointestinal mukozada ve hepatik ilk geçiş metabolizmasında eliminasyona uğrar. Bu yüzden, AC'nin mutlak biyoyararlanımı yaklaşık %14'tür ve sistemik olarak HMG-CoA redüktaz inhibasyon etkinliği %30 kadardır. Kana geçen atorvastatinin %98'inden fazlası plazma proteinlerine bağlı olarak bulunur. AK'nin bu düşük biyoyararlanımı ileride bahsedilecek birçok soruna temel teşkil etmektedir ve AK gibi birçok ilacın düşük biyoyararlanım sorununun üstesinden gelecek etkili stratejilein geliştirilmesi önem arzetmektedir [167].

Modern ilaç biliminde, geliştirilen ilaçların etken maddelerinin neredeyse %40'ı pratikte suda çözünmeyen kimyasallardır. Sudaki çözünürlükleri çok düşük olan ilaçlar Biyofarmasötik Sınıflandırma Sistemi (ing: Biopharmaceutical Classification System)'nde Sınıf II olarak sınıflandırılırlar. İlacın çözünürlüğündeki küçük bir artış biyoyararlanımında önemli bir iyileşmeye neden olabilmektedir [168]. İlaçların çözünürlüğünün yetersiz olması; düşük biyoyararlanım, yararlanımı artırmak için yapılan doz artırımı, üretim maaliyetlerinin artışı, in-vivo ve in-vitro geliştirilen dedeksiyon performanslarının geçersizliği ve yetersiz klinik sonuçlar gibi olumsuzlukların ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Bu olumsuzlukların üstesinden gelebilmek için kullanılan yöntemlerden bazıları liyofilizasyon, sprey kurutma, kosprey kurutma, mikronizasyon, komplekzasyon, lipit-bazlı formülasyonlar, ko-solventler, tuz oluşturma, siklodekstrinler ve katı

dispersiyonların geliştirilmesidir. Ancak bu yöntemlerin hiçbiri yeterli başarıya ulaşamamıştır [169]. AK'nın düşük çözünürlüğünün doğurduğu olumsuzlukların üstesinden gelebilmek için günümüz araştırmalarında ve teknolojisinde ilaç taşıyıcı ve ilaç salıcı nanosistemler geliştirilmektedir [163], [165], [170]–[175].

Çözünürlüğü çok düşük olan AK'nın oral yolla alınan dozunun ve kandaki derişiminin artmasıyla ilişkili olarak yan etkilerin ortaya çıktığı kaydedilmiştir. Atorvastatin sağlıklı deneklerde 80 mg/gün tek dozda alındığında tolere edilebilirken, 120 mg/gün tek doz uygulandığında uykusuzluk, huzursuzluk, öfori, mental sersemlik, mide bulantısı ve baş ağrısı gibi yan etkileri kaydedilmiştir. Miyopati ve myalgia en çok rastlanan statin intolerans belirtilerindendir [166]. Biyoyararlanımını artırmak için yüksek dozda statin alımına bağlı olarak rabdomyoliz (iskelet kası liflerinin akut nekrozu), akut böbrek hasarı, karaciğer hasarı ve trombositopeni (trombosit miktarının azalması) gibi yan etkilerin geliştiği birçok araştırma ile ortaya konmuştur [176]–[178]. Bu sayılan olumsuzlukların üstesinden gelinebilecek en işlevsel yöntem atorvastatinin kandaki etken derişimine ulaşabilmesi, etkisini uzun süreli gösterebilmesi ve yan etkilerinin önlenebilmesi için yeni stratejilerin geliştirilmesi önem arz etmektedir.

3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR

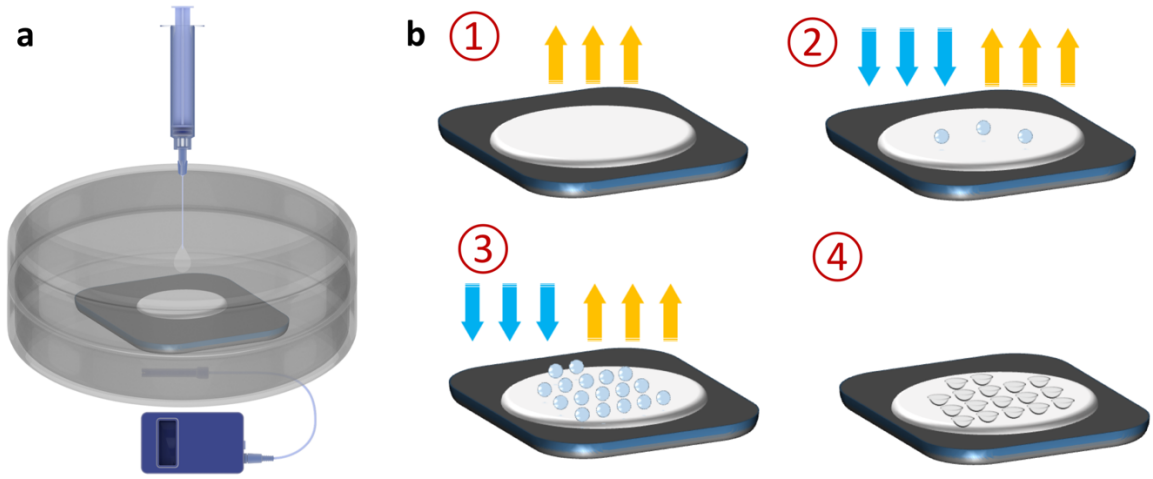
3.1. Kimyasallar

Medikal dereceli termoplastik PU Lubrizol (Amerika)'dan ve çözücü olarak kullanılan kloroform ve karbondisülfit Sigma-Aldrich (Amerika)'dan temin edilmiştir. Tüm deneylerde kullanılan ultra saf su aksi belirtilmedikçe 18,2 mΩ luk dirence sahiptir. Substrat olarak cam yüzey kullanılmıştır. İlaç salım deneylerinde kullanılan fosfat tamponlama tuzu (PBS) ve Atorvastatin Kalsiyum tri hidrat tuzu Sigma-Aldrich (Amerika)'dan temin edilmiştir.

3.2. Nefes Figürü Yaklaşımıyla Gözenekli Poliüretan Filmlerin Sentezi ve Karakterizasyonu

3.2.1. Nefes Figürü Yaklaşımıyla Gözenekli Poliüretan Filmlerin Sentezi

BF metodu ile gözenekli film üretme tekniklerinden biri olan statik mod bu çalışmada kullanılmıştır. Film sentezine başlamadan belirlenen yüzde derişiminde PU ve kullanılacak çözücü ile polimer çözeltisi hazırlanmıştır, yüzde derişimi ağırlıkça olacak şekilde hesaplanmıştır. Ticari olarak temin edilen termoplastik PU içerisindeki katkı maddelerinden arındırmak için polimer çözeltisi 10000 rpm'de 10 dk santrifüj edildikten sonra film üretimi için kullanılabilir duruma gelmiş olur. Sistemde nem kaynağı olarak ultra saf su (18 mΩ) kullanılmıştır. Sistem kapatılarak sistemin statik modun gerekliliği olarak istenilen RH değerine gelmesi beklenmiş ve hem nem hem de sıcaklığı kompakt olarak nem/sıcaklık ölçer ile takip edilmiştir. İstenilen RH değeri stabilize olduktan sonra paslanmaz çelik uçlu cam şırınga yardımıyla cam yüzey üzerine 100 μl polimer çözeltisi uygulanır ve değerlendirilmek istenilen uygulama zamanı boyunca sistem kapalı tutulur ve uygulama zamanın sonuna gelindiğinde sistem açılır (Şekil 3-1a). Şekil 3-1b-3'de görülen su damlacıklarının yüzden ayrılarak oluşmuş olan gözeneklerin ortaya çıkmasını sağlamak için su damlacıklarının buharlaşması beklenir.



Şekil 3-1: Uygulama Mekanizması (a) ve Gözenekli Film Oluşum Mekanizması

3.2.2. Nefes Figürü Yaklaşımıyla Gözenekli Poliüretan Filmlerin Karakterizasyonu

3.2.2.1. Morfolojik Karakterizasyon

3.2.2.1.1 Optik Mikroskop Analizleri

Cam substratlar üzerinde hazırlanan film örnekleri herhangi bir prosedüre maruz bırakılmaksızın görüntü alım işlemleri ters ışık mikroskobu (Nikon Eclipse Ti2, Japonya) ile gerçekleştirilir.

3.2.2.1.2 Taramalı Elektron Mikroskopi (SEM) Analizleri

Gözenekli filmlerin ikincil ve daha detaylı morfolojik kontrol amacıyla yapılan SEM analizlerinde NanoSEM FEI (USA) cihazı kullanılmıştır. 100 µl PU çözeltisi damlatılarak hazırlanmış olan filmler altın kaplanarak SEM analizleri için hazır hale getirilmiştir.

3.2.3. Hidrofobisite Analizleri

Filmlerin yüzey hidrofobisite analizleri hiçbir öncül hazırlık gerekmeksizin optik gönyemetre cihazı (Biolin Scientific, Attenson Theta, ABD) ile sesile drop yöntemi kullanılarak ile gerçekleştirilmiştir.

3.2.4. In-Vıtro Sitotoksisite Analizleri

BF metododuyla hazırlanan gözenekli filmlerin in-vitro sitotoksisite testinin gerçekleştirilmesi için MTT (3-[4,5-Dimetiltiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazolm bromid) testi insan umblikal damar endotel hücre hattı (human umblical vein endothelial cell line-HUVEC) üzerinde uygulanmıştır. In-vitro toksisite testinin yapılabilmesi için HUVEC hücre hattı %10 FBS ve %1 penisilin/streptomisin içeren Dunlecco's Modified Eagle's besiyeri (DMEM) içerisinde 37°C'de %5'lik CO_2 ye sahip inkübatörde çoğaltılmıştır. Hücreler yeterli sayıya ulaştığında ortamdaki tüm besiyer alınmış ve tripsinlenmiş %0,25'lik tripsin/EDTA çözeltisi ile hücreler kaldırılmıştır. Hücrelerin toplanması için 3 dk boyunca 3000 rpm'de santrifüj yapılmış ve FBS'li DMEM ile tripsinin etkileri askıya alınmıştır. $3x10^5$ hücre/kuyucuk olacak şekilde hücreler 24 kuyucuklu plakaya yerleştirilmiş ve 24 saat boyunca inkübe edilmiştir. Bu sırada örnek ekstraktı oluşturulması için filmler aseptik koşullar altında serumsuz DMEM içerisinde 37°C'de 72 saat boyunca inkübe edilmişitir. Hücrelerin plakaya tutunmalarından sonra kuyucuklar PBS ile iki kez yıkanmıştır ve taze besiyerle değiştirilmiştir. Örnek ekstraktları 24 saat boyunca hücreler ile etkileştirilmiş ve %5'lik CO_2 atmosferde 37°C'de inkübe edilmiştir. İnkübasyon sürecinden sonra ekstraktları içeren besiyer ortamdan alınarak $5mg.ml^{-1}$ derişimine sahip MTT çözeltisi eklenerek 4 saat boyunca 37°C'deki karanlık ortamda bekletilir. Bu süre sonunda medium ortamdan alınarak 0.04M izopropanol-HCl (hidroklorik asit) eklenerek oluşan formazan tuzlarının çözünmesi sağlanır. Renk yoğunluğu 570 nm'de mikroplaka okuyucu ile ölçülmüş ve yüzde yaşayabilirlik hesaplanmıştır.

3.2.5. PU Filmlerin Su Hapsetme Davranışı

Üretilen PU filmlerin gözenekli yapısı içerisine su hapsetme kapasitesini karakterize edebilmek için su hapsetme deneyi gerçekleştirilmiştir. Bunun için ağırlığı analitik terazi ile tartılarak belirlenmiş PU filmler PBS içerisinde 37°C'de 24 saat boyunca inkübe edilmiştir. Önceden belirlenmiş zaman aralıklarında filmler PBS çözeltisi içerisinden alınarak hafifçe kurulanmış ve ağırlıkları tekrar ölçülerek kaydedilmiştir. PU filmlerin % su hapsetme değerleri aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplanmış ve zamana karşı grafiğe geçirilmiştir. Sonuçlar üç deneyin ortalamasıdır.

-%SH = ((PU filmin ıslak ağırlığı-PUfilmin kuru ağırlığı)/PU filmin kuru ağırlı) x 100

3.3. Nefes Figürü Yaklaşımıyla Hazılanan Gözenekli Poliüretan Filmlerin İlaç yükleme ve In-Vitro İlaç Salım Çalışması

Bu çalışmada sunulan ve nefes figürü yaklaşımı ile literatürde ilk defa üretilmiş olan PU gözenekli filmlerin ilaç salım davranışını karakterize edebilmek için kloroformda çözünen bir hipolipidemik ajan olan atorvastatin kalsiyum kullanılmıştır. AK ilacı PU filmlere hapsetme metodu ile yüklenmiştir. Bunun için, AK 2 µg/mL derişimde olacak şekilde başlangıç PU-kloroform çözeltisinde çözülerek, bölüm 3.2.1'de anlatıldığı şekilde PU filmler üretilmiştir. Böylelikle, film oluşurken ilaç moleküllerinin yığın yapı içerisine hapsolması sağlanmıştır. AK yüklü PU filmlerin in-vitro ilaç salım davranışını karakterize etmek için zayıf tutunan veya yüzeyde bulunan ilaç molekülleri yıkanarak uzaklaştırılmış ve yıkama suları partikülün ilaç yükleme performansını değerlendirmek üzere toplanmıştır. Yıkanan eşit ağırlıktaki filmler içerisinde 5 mL PBS bulunan cam şişelere yerleştirilerek 37°C'de çalkalamalı su banyosunda (85 rpm) 14 gün boyunca inkübe edilmiştir. Önceden belirlenen zaman aralıklarında inkübasyon çözeltisinin 242 nm'deki absorbansı Shimadzu mini-1240 UV-Visible spektrometre (Japonya) ile ölçülerek kaydedilmiştir. Salım çalışmaları farklı zamanlarda üç kez tekrarlanmıştır.

Ölçülen absorbansların derişime dönüştürülebilmesi için kalibrasyon eğrisinin lineer regresyon analizi yapılarak doğru denklemi türetilmiştir. Kalibrasyon eğrisini elde edebilmek için AK son derişimi 5 µg/mL olacak şekilde PBS içerisinde stok çözelti olarak hazırlanmıştır ve UV-vis spektrometre ile 200-400 nm UV aralığında absorbansı taranmıştır. Yapılan taramayla maksimum absorbans yaptığı dalgaboyu (λ_{max}) 242 nm olarak tanımlanmıştır. Çalışmanın devamında AK derişimini belirlemek için 242 nm'deki absorbans dikkate alınmıştır. Stok AK çözeltisinin uygun seyreltmeleri yapılarak 0,04-5 µg/mL aralığında absorbansları kaydedilmiş ve bilinen derişime karşı absorbans değerleri grafiğe geçirilerek doğru denklemi oluşturulmuştur. Yöntemin doğrusallığı, tayin limiti (LOD) ve ölçüm limiti (LOQ) kalibrasyon grafiği üzerinden hesaplanmıştır [179]. LOD değeri analitin, bir "boş" örnektekinden istatistiksel olarak önemli ölçüde farklı olan en düşük analit derişimini ifade eder ve aşağıdaki şekilde hesaplanır.

-LOD= 3,3(kalibrasyon eğrisinin y eksenini kestiği noktanın standart sapması/eğimi)

LOQ ise kabul edilebilir kesinlik ve gerçeklikle ölçülen en düşük analit derişimini ifade eder ve aşağıdaki gibi hesaplanır.

-LOQ= 10(kalibrasyon eğrisinin y-eksenini kestiği noktanın standart sapması/eğimi)

3.3.1. İlaç Yükleme Verimi ve Kapasitesinin Hesaplanması

PU film içerisine yüklenen AK miktarının hesaplanması basit, hassas, seçici ve kesin sonuç veren yöntemlerden biri olan mor ötesi ve görünür bölge (ing: UV-Visible) spektroskopisi ile yapılmıştır. Bu amaçla AK yüklenmiş PU filmler 5 mL PBS tampon içerisinde 0,5 dk karıştırılarak zayıf tutulan veya yüzeyde bulunan ilaç moleküllerinin yıkanması sağlanmıştır. Yıkama sularının 242 nm'deki absorbansları UV-Vis spektrometre ile ölçülerek kaydedilmiştir. Elde edilen ilaç derişim değerleri kullanılarak PU filmlerin yüzde AK yükleme verimi (%YV) ve kapasitesi (%YK) aşağıdaki eşitliklerden yararlanılarak hesaplanmıştır.

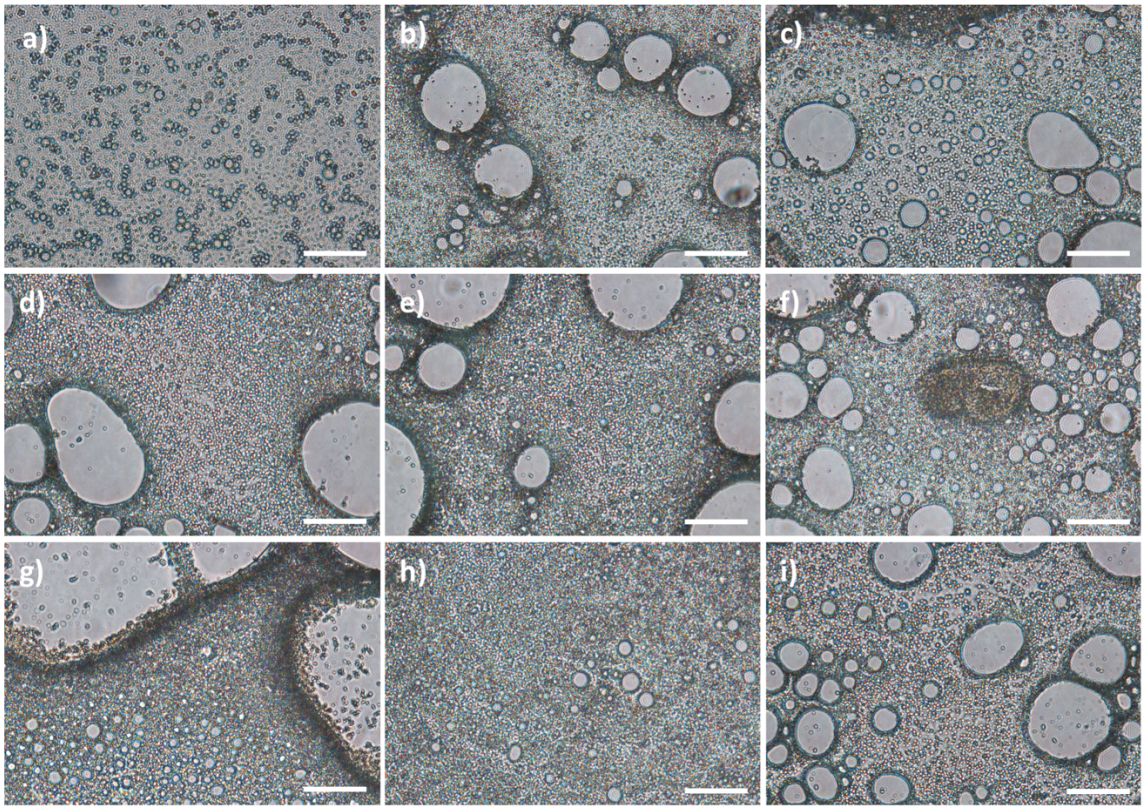
-%YV = ((toplam eklenen ilaç miktarı –yıkama suyundaki ilaç miktarı)/toplam eklenen ilaç miktarı)X100

-%YK = ((toplam eklenen ilaç miktarı –yıkama suyundaki ilaç miktarı)/toplam film ağırlığı)X100

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Nefes Figürü Yaklaşımıyla Gözenekli Poliüretan Filmlerin Sentezi ve Karakterizasyonu

Bu tez çalışmasında termoplastik poliüretan (PU) ile sistem atmosferinde bulunan belirli orandaki su buharı yardımıyla kendiliğinden düzenlenen düzenli gözenekli filmlerin üretimi sırasında morfolojik kontrolü çalışılmıştır. Poliüretan biyolojik uygulamalarda daha önce de bahsettiğimiz gibi çok kullanılan bir malzemedir. Biyo-uyumluluğu için gözenekli olması önemli bir artıdır. Yapılan bu çalışmada kullanılacağı alanda avantaj sağlaması için morfolojik özellikleri araştırılmıştır. Morfoloji üzerine etkili faktörleri çalışmaya başlamadan önce başarılı şekilde gözenekli film üretimi sabit polimer derişimi ($C_{PU\ sol.}$ = 1 mg.ml^{-1}), substrat üzerine uygulanan polimer çözeltisi sabit hacimde (V_{PU}= 6 μl) ve sabit uygulama süresinde ($t_{exp.}$= 1 dk) 50-99 bağıl nem yüzde aralığında denenmiştir.

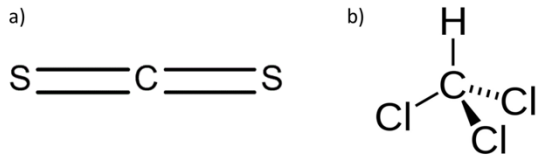


Şekil 4-1: Bağıl nem (a) %50, (b) %55 (c) %60, (d) %65, (e) %70, (f) %75, (g) %80, (h) %85, (i) %99 (Bar= 50 μm)

Optik mikroskop görüntüleri baz alındığında termoplastik PU kullanılarak BF metoduyla gözenekli film üretilebileceği görülmüştür ancak şekil 4-1 de göründüğü üzere bir düzen söz konusu değildir. Bu yüzden de morfolojik kontrol için çözücü türü, polimer derişimi, bağıl nem yüzdesi ve uygulama süresi gibi faktörler değerlendirilmiştir.

4.1.1. Çözücünün Film Oluşumuna Etkisi

Kloroform ve karbondisülfit (CS_2) kısım 2.3.1'de de bahsettiğimiz gibi BF metodunda en sık kullanılan çözücülerdir, şekil 4-2'de moleküler yapıları görülebilir. Her ikiside hem uçucu hemde sudan daha yoğun organik çözücülerdir ve su ile karışmazlar. Kloroformun kaynama noktası 62 °C iken karbon disülfitin ki 46 °C. PS ile yapılmış BF çalışmalarında bizim de bu çalışmada kullanacağımız substrat olan cam üzerinde sadece CS_2 ile düzenli gözenekli yapı gözlenmiştir [9]. Bu sebeplerle BF metodu ile film sentezi için bu iki çözücü seçilmiştir ancak yapılan ilk denemelerde temin edilmiş olan ve bu çalışmada kullanılan PU yapısının CS_2'de çözünmemesi üzerine deneylere kloroformla devam edilmiştir.



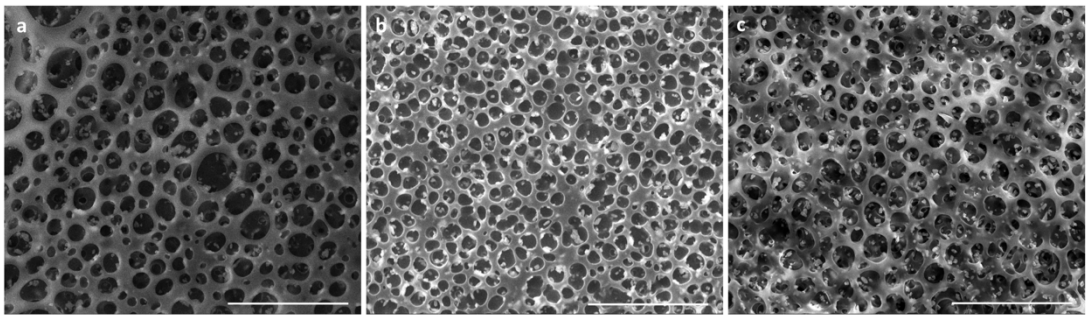
Şekil 4-2: CS_2 (a) ve Chloroform (b)

Her ikisi de polar çözücüler olan bu iki çözücüden biri olan kloroform poliüretanlarla dipol-dipol etkileşimleri sergilerken [180], CS_2 dipol-indirgenmiş dipol etkileşimleri sergiler [181]. Bu iki tip moleküller arası etkileşimde zayıf etkileşimler olsalar da dipol-dipol etkileşimleri dipol-indirgenmiş dipol etkileşimlerinden daha bir kuvvetli etkileşimdir. Kullanılan termopastik PUnın klorofromda çözünürken CS_2 da çözünmemesinin nedenlerinden birisi olduğu düşünülmektedir.

4.1.2. Polimer Derişiminin Film Oluşumuna Etkisi

Derişimin etkisinin araştırmak üzere sabit kalınlık (stabil BF metodunu kullandığımız için sabit hacimde) ve sabit uygulama süresinde hazırlanan

gözenekli filmlerin ilk kez SEM fotoğraflarında karşılaşılmış olan parçacıklar. Yani polimeri renklendirmek ve sertliğini arttırmak amaçlı eklenen katkı maddesi, şekil 4-3'de beyaz noktacıklar olarak görünen, içerdiğinden elde edilmek istenen düzenli gözenekli yapıya ulaşılamadığı düşülmüştür.



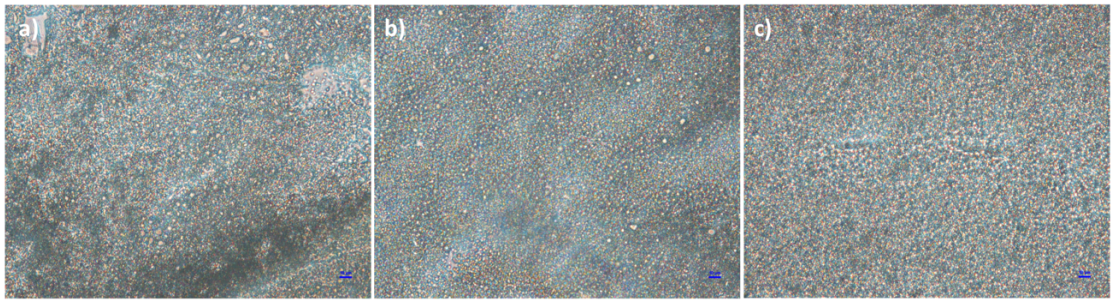
Şekil 4-3: SEM fotoğrafları: bağıl nem yüzdesi %75, Hacim 20 μl, Derişim (a) 0,5 w/V (b) 1 w/V (c) 2 w/V (Bar: 20 μm)

Literatürde öncü olarak polimer solüsyonlarının içine parçacıklar eklenerek üretilen bazı örnekler bulunmaktadır [135], [136]. Bu uygulamalarda bu parçacıkların su damlacıklarının stabilizasyonuna katkıda bulunarak düzenli gözenekli film oluşumuna yardımda bulunur ancak bu çalışmada bir lineer homopolimer olan termoplastik PU kullanılmıştır ve içinde bulunan katkı maddeleri kendiliğinden oluşan gözenekli yapıyı olumsuz etkilemiştir. Polimer çözeltisi içerisindeki katkı maddelerinden kurtulmak için 6000 rpm de 2 kez 10 dakika santrifüj işlemi uygulanarak içerisindeki katkı maddeleri uzaklaştırılmış olur. Elde edilen katkı maddesinden arındırılmış polimer solüsyonuyla derişimdeki değişimlerin gözenekli yapı morfolojisini nasıl etkilediği ile ilgili çalışmalara devam edilmiştir.

4.1.2.1. Morfolojik Karakterizasyonu

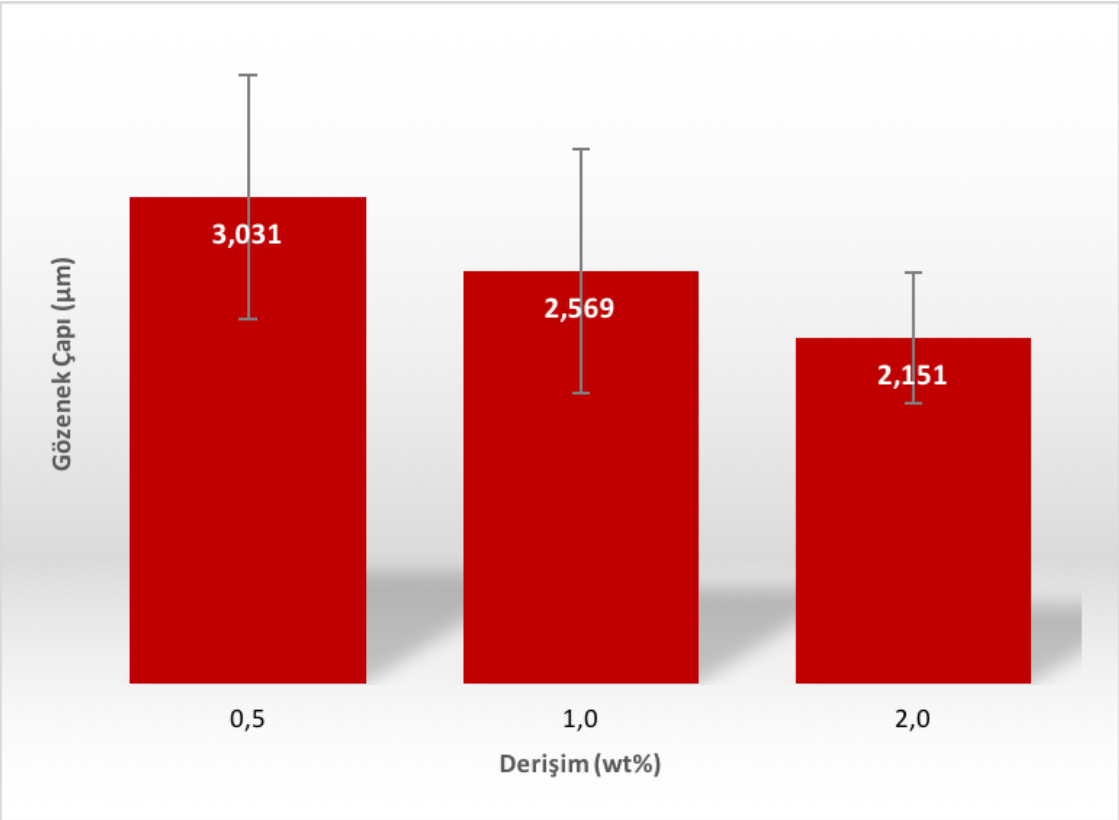
Şekil 4-1'de de görülen optik mikroskop görüntülerinde %50, 55, 60 bağıl nem değerleri bu aşamada yeterli gözenek oluşumu gözlenmediği ve literatürde diğer polimerler, özellikle de PU gibi homopolimer olan PS için, katkı maddesi ya da öncü molekül konulmadan bu kadar düşük bağıl nem yüzdelerinde düzenli gözenekli yapı gözlenmemiştir. Bu değerler ilk etapta denediğimiz polimer derişimleri ($C_{PU\ sol.}$ = 0.5, 1, 2 mg/ml) için elenmiştir. Ek olarak Ferrari ve ark. yapmış olduğu çalışmaya dayanarak bağıl nem yüzdesi 75 değerinde derişim çalışmaları için sabitlenmiştir [9]. Sabit hacimde (V_{PU}= 20 μl) ve sabit neme maruz

bırakma süresi ile hazırlanan optik mikroskop resimleri incelendiğinde (Şekil 4-4) en düzenli gözenek yapısı polimer derişimi 1 $mg.ml^{-1}$ olduğunda görülmüştür. Derişim 0.5 $mg.ml^{-1}$ ile hazırlanan gözenekli filmlerin bazı bölgelerinde kusurlara rastlanmıştır (Şekil 4-4a). Bu kusurların nedeninin az miktardaki çözünenin su damlacıklarını stabilize edememesi ve karışmayı engelleyememesi olarak yorumlanmıştır [112]. Ek olarak bazı durumlarda çözünen azlığından dolayı filmde devamsızlığa neden olabilmektedir [53], [110]. Derişimin artışıyla su damlacıklarını stabilize edilme oranı artar ve bu sayede oluşan gözenekler daha sıkı bir düzene sahip olurlar (Şekil 4-4b). Ancak derişimin yükselmesi yüzeyde çözücü buharlaşmasıyla oluşan ısı yayılımını zayıflatarak yüzeyde oluşan damlacıkların düzensiz olmasına neden olur (Şekil 4-4b) [72].



Şekil 4-4: Optik mikroskop görüntüleri: V_{PU}= 20 μl, RH= %75, t_{exp}= 1'30'', $C_{PU\ sol.}$= (a) 0.5 $mg.ml^{-1}$ (b) 1 $mg.ml^{-1}$ (c) 2 $mg.ml^{-1}$ (Bar= 10 μm)

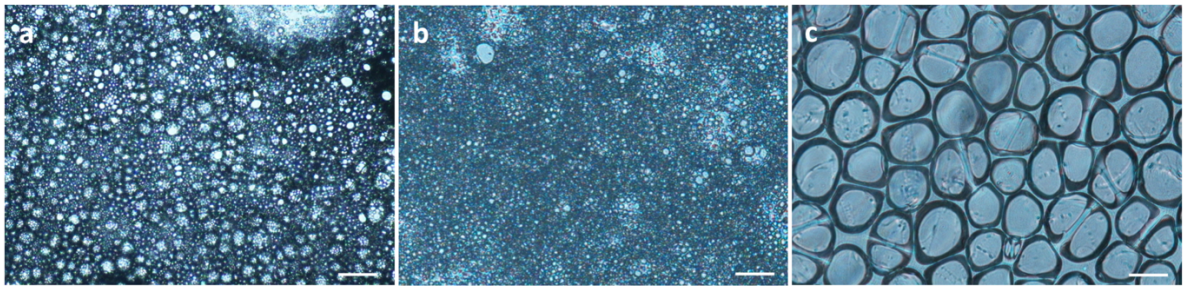
Polimer derişiminin arttırılmasının buharlaşma oranını azalttığı bilinmektedir. Düşük buharlaşma oranı iki sonuç doğurur; birincisi sistem atmosferiyle çözelti yüzeyi arasındaki sıcaklık farkı düşer ve ikincisi ise toplam buharlaşma süresi azalır. İlk başlarda bu iki sonuçtan dolayı oluşan gözeneklerin yüksek derişimlerde daha küçük çapa sahip olmasına neden olacağı bulunmuş olsa da ilerleyen süreçte farklı malzemelerle yapılan BF çalışmaları göstermiştir ki derişimin gözenek çapına etkisi tamamen kullanılan malzemeye göre etkilemektedir [113], [114], [182], [183]. Ancak genellikle derşimin arttırılması küçük çaplı gözenek oluşuna sebep olmaktadır. Şekil 4-5'te de görüldüğü üzere bizim örneklerimiz içinde en sık rastlanan durum ortaya çıkmıştır.



Şekil 4-5: ImageJ ile şekil 4-3'ün gözenek çapı hesaplamaları

Derişim 0,5 mg.ml^{-1} iken film üretiminde kusurlar bulunsa da genel gözenek çapı ortalaması 3 µm'dir. Derişim 2 mg.ml^{-1} iken gözenek düzenlenmesi düzenli olmayıp hetorojen şekilde dağılmış olsa da (1 mg.ml^{-1}'nin morfolojisine kıyasla) en küçük ortalama gözenek çapı 2 µm ölçülmüştür. Bu iki değer arasında bir ortalama gözenek çapına sahip olsa da düzenli yapısından dolayı en stabil, yani su damlacıklarını daha iyi stabilize eden, derişim 1 mg.ml^{-1}'dir.

Filmin yüzey alanını büyütmek amacıyla uygulanan polimer çözeltisi hacmi arttırıldığında seçilmiş olan derişimin düzenli yapı oluşuna yeterli olmadığı görülmüştür ve bunun üzerine polimer derişimi 5 mg.ml^{-1}'e yükseltilmiştir. Derişimdeki bu değişim aynı zamanda PUnın hangi derişim değerinin artmasının su damlacıklarının kendiliğinden düzenlenme ile düzenli gözenekli yapı oluşumuna etkisi görülecektir. Çünkü artan akışkanlık değeri ısıyayımını zayıflatır ve bu zayıflama su taneciklerinin kendiliğinden düzenlenme mekanizması için yararlı olmadığı bilinmektedir [72].

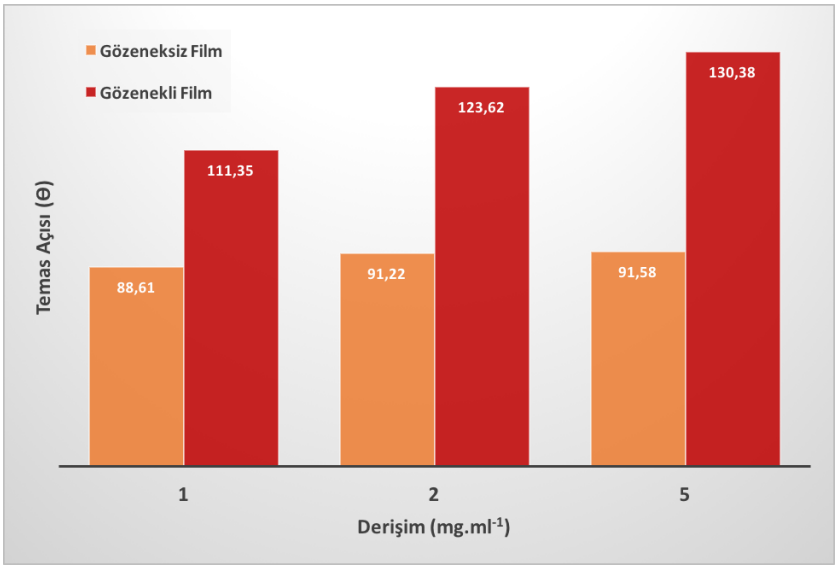


Şekil 4-6: Optik mikroskop görüntüleri RH= %75 $V_{PU\ sol.}$= 100 µl t_{exp}= 3 dk (a) C_{PU}= 1 mg.ml^{-1} (b) C_{PU}= 2 mg.ml^{-1} (c) C_{PU}= 5 mg.ml^{-1} (Bar= 10µm)

Artmış olan polimer derişimi daha düzenli bir gözenek dizilimine yol açmış olsa da şekil 4-6'da da görüldüğü üzere gözenek boyutlarında artışa sebep olmuştur. Ancak ulaşılmak istenen bal peteği yapısına en yakın görüntüye ve en kusursuz görüntüye sahip olan derişimin 5 mg.ml^{-1} olduğu saptanmış ve bundan sonraki deneylerde bu polimer derişimiyle araştırmalara devam edilmiştir. Polimer derişimi yani akışkanlığı artınca gözenek çapının büyüdüğü başka çalışmalarda da görülmüştür [183]. Sonuç olarak gözenek çapı polimerin moleküler yapısı ve özelliklerine bağlı olduğu belirlenmiştir.

4.1.2.2. Hidrofobisite Analizleri

PUların hidrofilik veya hidrofobik özelliğe sahip olması sentezleri sırasında sert ve yumuşak segmentlerinin ne olarak seçildiğiyle ilgilidir [184], [185]. Bu çalışmada kullanılan PU ticari olarak satın alındığından sert ve yumuşak segmentlerinin hangi bileşenlere sahip olduğu bilinmemektedir. Bu yüzden ilk olarak temas açısı analizlerine başlanmadan kullandığımız PUnın hidrofobik mi hidrofilik mi olduğunu anlamak için gözeneksiz biçimde hazırlanan filmin temas açısı analizi yapılmıştır. Değerlendirdiğimiz üç farklı derişimin temas açısı değerleride şekil 4-7'de görüldüğü üzere yaklaşık 90°dir ($\theta_{c=1mg.ml-1} \cong$ 88,61°, $\theta_{c=2mg.ml-1} \cong$ 91,22°, $\theta_{c=5mg.ml-1} \cong$ 91,58°).



Şekil 4-7: Polimer Derişimi vs. Temas açısı grafiği

Cho ve ark.da yapmış oldukları çalışmada aldıkları sonuçlarla ilişkili olarak mikron boyutunda düzenli gözenekli yapıya sahip olmasından kaynaklı yüzeyin pürüzlülüğünün artmasıyla yüzeyin hidrofobik özelliği artar [186]. Şekil 4-7'de de bu etkinin bizim örneklerimiz içinde geçerli olduğu görülmektedir ve hidrofobik özelliğin artması durumu polimer derişiminin arttırılmasıyla artmıştır.

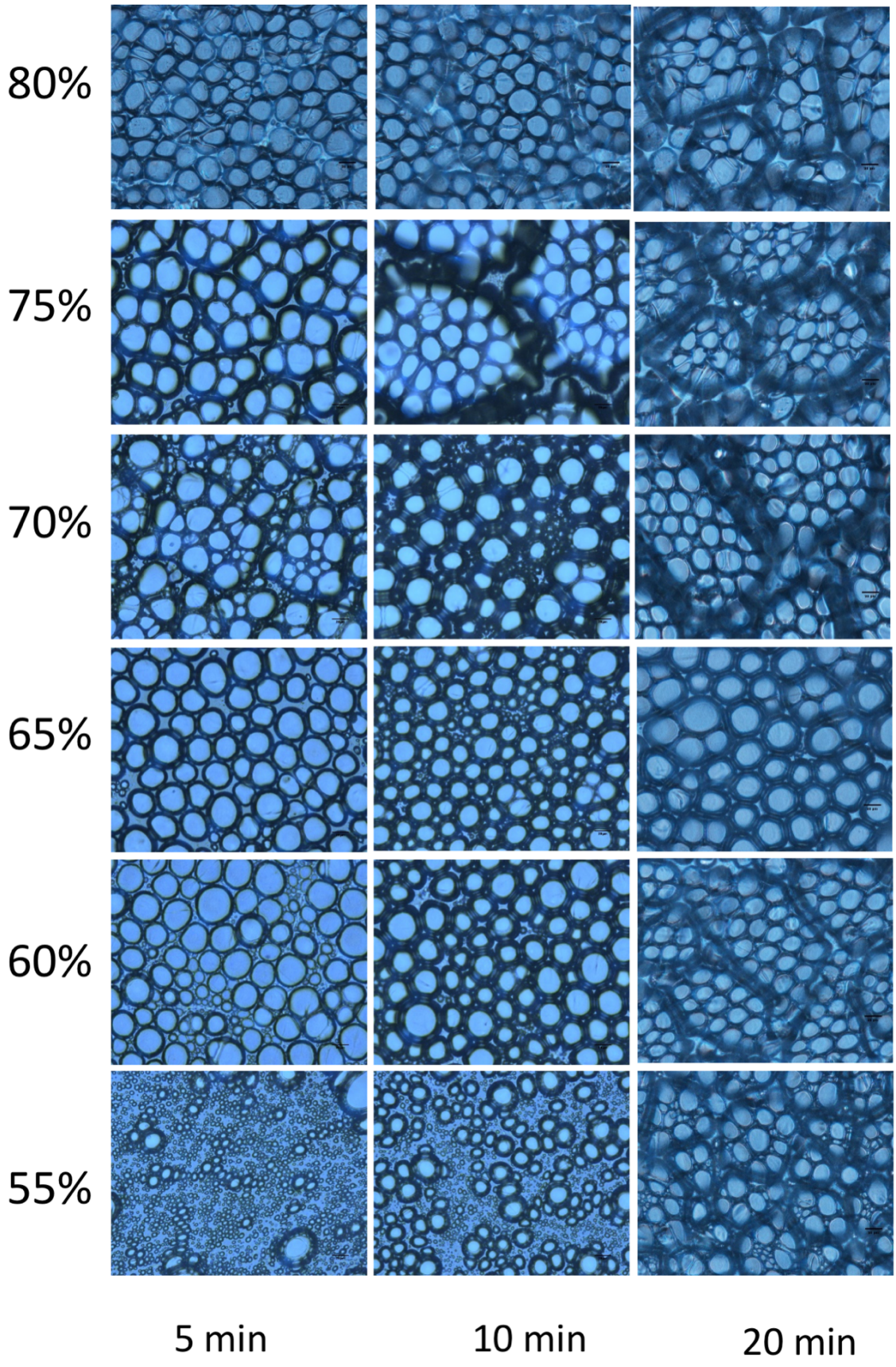
4.1.3. Uygulama Zamanının ve Sistem Atmosferinin Etkisi

Uygulama zamanının ve sistem atmosferinin etkilerinin ayrı ayrı PU ile BF yaklaşımıyla düzenli gözenekli film üretimini nasıl etkilediğini incelemek için kısım 4.1.2'deki sonuçlar göz önünde bulundurularak tablo 4-1'deki örnekler 3 tekrarlı hazırlanarak incelenmiştir. Uygulama zamanın ve sistem atmosferi etkileri tekrarlı olarak 100 µl hacimde 5 $mg.ml^{-1}$ derişimde olan PU çözeltisinin 25°C'de substrat yüzeyine uygulanmasıyla hazırlanan bu örnekler sayesinde karışılaştırmalı olarak incelenerek termoplastik PU için en optimum koşulları belirlenmesi amaçlanmıştır.

	Bağıl Nem Yüzdesi					
	55%	**60%**	**65%**	**70%**	**75%**	**80%**
Uygulama Zamanı	5 dk	5 dk	5 dk	5 dk	5 dk	5 dk
	10 dk	10 dk	10 dk	10 dk	10 dk	10 dk
	20 dk	20 dk	20 dk	20 dk	20 dk	20 dk

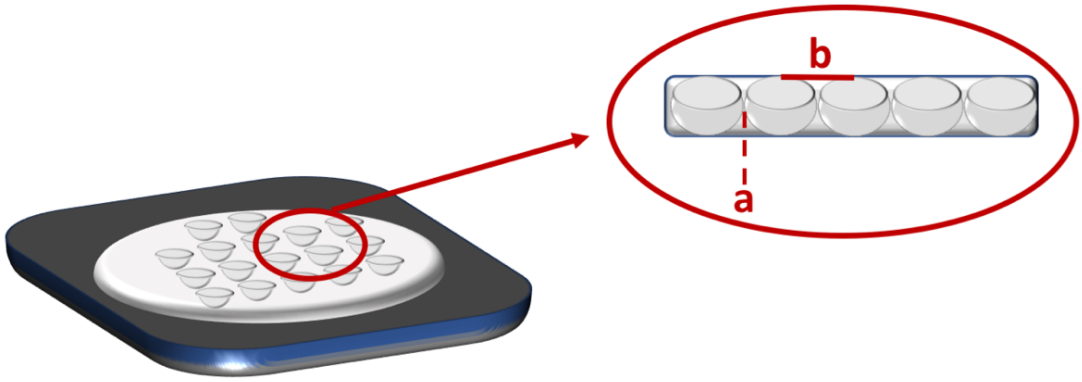
Tablo 4-1: Bağıl nem yüzdesi vs. Uygulama zamanı için hazırlanan örnek tablosu

Tablo 4-1'de görüldüğü üzere bağıl nem yüzdesi 55 ile 80 arasında seçilmiştir. Liu ve ark. polivinil klorit (PVC) üzerinde yaptıkları çalışmada % 58 RH'nin altında olan değerlerde düzenli dizilimli gözeneklilik elde edemediklerini iddia etmişlerdir [43]. Bu iddianın PU içinde geçerli olup olmadığı araştırılması için bu çalışmada alt RH değeri %55 olarak belirlenmiştir. Üst sınırın belirlenmesi bu çalışmada kullanılan statik BF metodundan dolayı ortam neminin daha yüksek değerlere ulaşılma zorluğu ve stabilite zorluğu nedeniyle %80 olarak belirlenmiştir. Kendiliğinden düzenlenme ile oluşan yapılarda en önemli etken parametrelerden bir diğeri ise uygulama zamanıdır ve bu neden uygulama zamanından çokça etkilendiği bilinen BF metodunun PU ile hazırlanan filmler üzerine etkilerinin ne olduğunun tespiti için ayrı ayrı RH değerlerinde 5, 10 ve 20 dk uygulama süreleri denenmiştir. Liu ve ark. tespit etmiş olduğu %58 RH değerinin altında düzenli gözenekliliğin sağlanamaması hazırladığımız %55 RH değerinin 5 ve 10 dk örnekleri için geçerliyken şekil 4-8'de de görüldüğü üzere %55 RH değerinin 20 dk örneğinde düzenli ve homojen çap dağılımına sahip film üretimi başarılmıştır. Kloroformun buharlaşma süresi dahilinde uygulama zamanı arttırıldığında sistem atmosferinde bulunan su damlacıklarının polimer çözeltisi yüzeyine yerleşmek için daha çok şans bulduğu sonucu çıkarılmıştır. Bu %55'lik örneklerde uygulama süresinin artmasıyla gözenek dizilimi düzenliliği artmasına rağmen filmlerin düzlemsel oluşunda bir bozunma olduğu görülmektedir. Bozunmanın nedeninin sistem atmosferindeki serbest dolaşan su molekülleri yüzeyde yoğunlaşma nedeniyle sıvı faza geçmiş olan su damlacıkları ile daha yoğun oranda etkileşime geçerek su damlacıklarının birleşmesine ve yüzey yapısının bozulmasına neden olmuştur. Ayrıca optik mikroskop görüntüleri uygulama zamanının artmasıyla polimer yüzeyinde yoğunlaşan su damlacıklarının hacimlerinin çözücü yüzeyden tam olarak ayrılmadan artması dolayısıyla su damlacıkları polimer çözeltisi içerisine battığı gözlemlenmiştir (Şekil 4-8 ve 4-9).



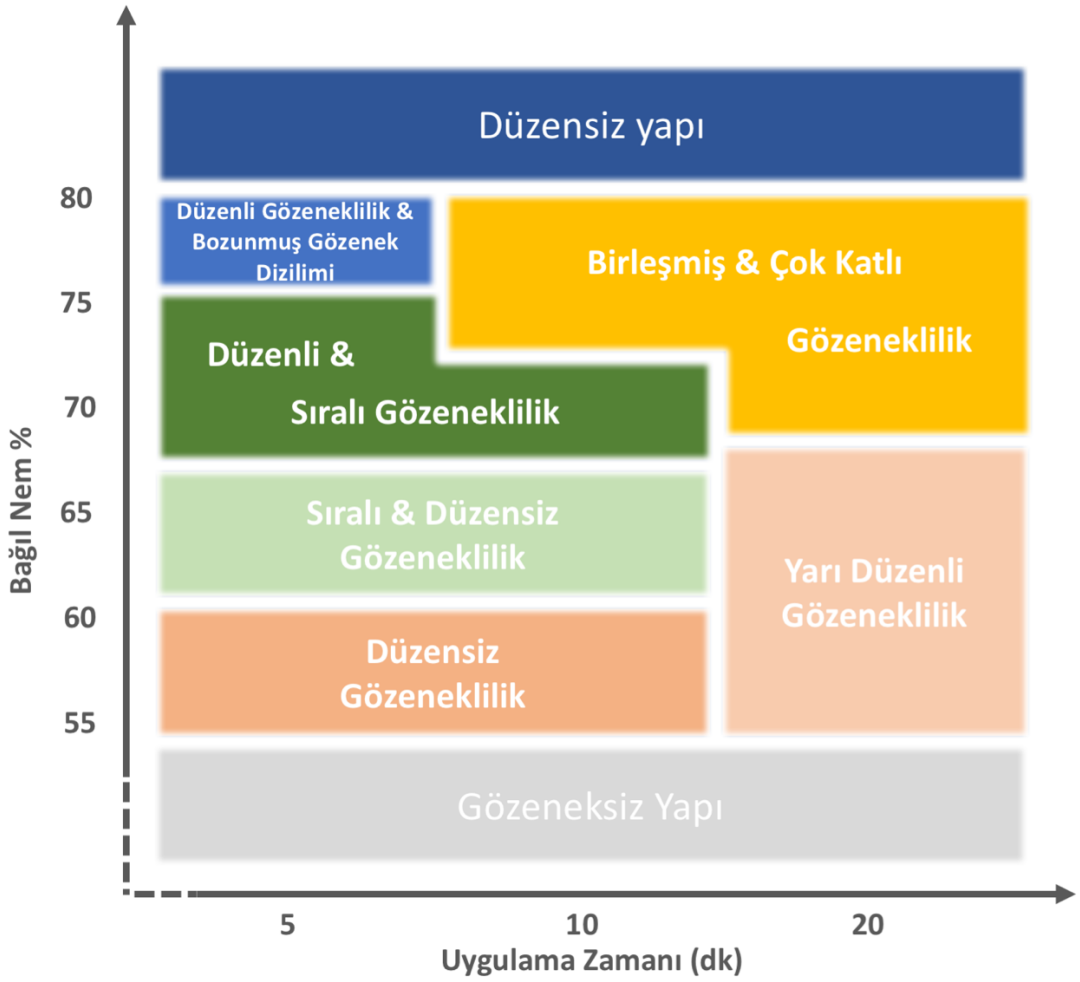
Şekil 4-8: Tablo 4-1'deki örneklerin optik mikroskop görüntüleri

Yüzeyden bütün çözücü ve su buharlaştıktan sonra alınan görüntülerde gözenekler arasındaki mesafenin artmış olduğu görülmektedir. Ancak bu mesafe damlacıkların batması sebebiyle oluştuğu düşünülmektedir (Şekil 4-9b). Daha önce de söylediğimiz gibi su damlacıklarının batmasının sebebi uygulama zamanının etkisiyle su damlacıklarının hacminin artmasıdır. Damlacıkların büyümesinin çok çeşitli nedenleri vardır, sistem atmosferindeki su buharı yoğunluğu, polimer yüzeyinin sıcaklığı, polimer yüzeyi sıcaklığı ile sistem sıcaklığı arasındaki fark vb. [187]. %55'lik RH serisi hariç bütün % RH değerlerinde en dar gözenek çapına sahip olan örnekler 10 dk'lık örneklerdir. Şekil 4-8'den elde edilen verilere göre en dar gözenek çapına ve düzeneli dizilime sahip film üretimi için en uygun parametreler %75 RH ve 10 dk'lık uygulama zamanıdır. İncelenmesi yapılan parametrelerin film morfolojisi üzerine etkilerinin detaylı incelenmesi için SEM analizleri ile belirlemiş olduğumuz bu parametreler çerçevesinde sürdürülmüştür.



Şekil 4-9: Gözenekli yapının şematik kesit gösterimi (a) gözeneklerin ekvator çizgilerinden birbirleri ile temas noktası (b) film yüzeyinden görünen filmlerin birbirlerine uzaklıkları

SEM ile morfolojik incelemeye geçmeden etkilerini incelediğimiz % RH ve uygulama zamanın (polimer derişimin derişimi ve sistem içi sıcaklık sabit tutulduğunda) morfoloji üzerine etkisinin şematik gösterimi şekil 4-10 da görülebilir. Bu şematik gösterim zamanı ve RH yüzdesinin morfoloji üzerindeki etkilerini iyice gözler önüne sermektedir. Ayrıca SEM ile yapılacak araştırmalar için rehberlik yapmaktadır.



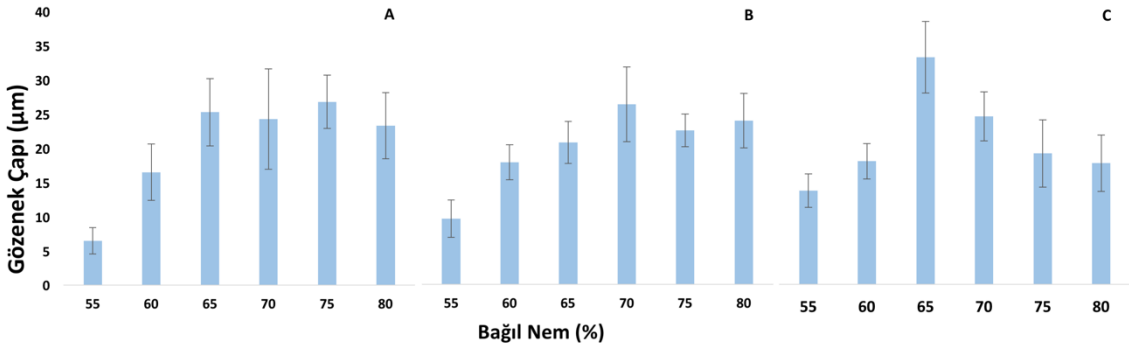
Şekil 4-10: RH ve uygulama zamanının morfoloji üzerine etkisinin şematik gösterimi

4.1.3.1. Morfolojik Karakterizasyonu

4.1.3.1.1 Bağıl Nem Yüzdesinin Yüzey Morfolojisine Etkisi

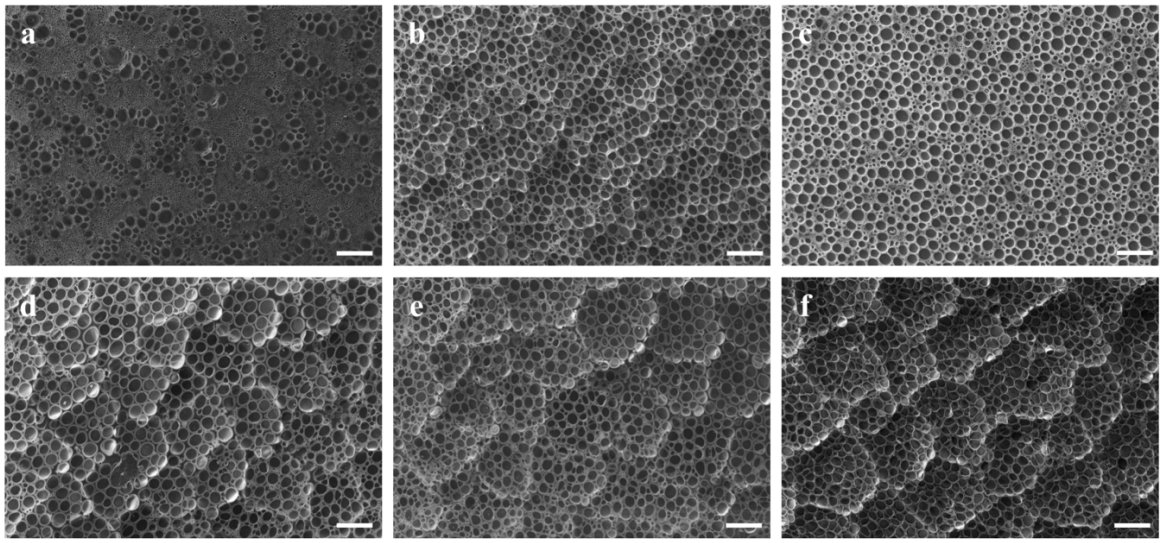
Daha önce aldığımız sonuçlar ışığında RH etkisinin incelenmesi için polimer derişimi (5mg.ml^{-1}) ve sistem atmosfer sıcaklığı (25°C ±1) ile birlikte sabit tutulmuş. Denenecek olan üç farklı uygulama zamanı (5, 10 ve 20 dk) ayrı ayrı değerlendirilmiştir ve her biri için %55'den 80'e kadar olan RH aralığı beşer beşer taranmıştır. Elde edilen SEM fotoğraflarından ImageJ programıyla (Ulusal Sağlık Enstitüsü -National Institutes of Health- tarafından sağlanmaktadır) gözenek çapları hesaplanmış ve ortalaması alınmıştır (Şekil 4-11). Şekil 4-11A'da uygulama zamanıda 5 dk ile sabit tutulan diğer değelere katılmıştır, bu sayede 5

dk için RH yüzdesi ile gözenek çapı arasındaki ilişki değerlendirilmiştir. Grafikte görüldüğü üzere gözenek çaplarının ortalaması artan RH yüzdesi ile artmaktadır ta ki %80 RH değerine kadar. %55'den %65'e kadar hızla yükselen bir trend olmasına rağmen gözenek çap artışının %65'den sonra çok fazla etkilenmediği görülmüştür. %65'den sonra gözenek çapları 23 ile 26 μm arasında değişmektedir, bu yüzden %65 RH değerinden sonra gözenek çapı değişiminin stabilize olduğu söylenebilir. %55'deki gözenek çapı ile %60'daki değer karşılaştırıldığında çok ciddi bir fark göze çarpmaktadır bu farkın nedeni %55 RH'de 5 dk içerisinde düzenli gözenek oluşumu gözlemlenmez. Şekil 4-11B'de ise uygulama zamanı 10 dk'da sabit tutularak diğer sabit tutulan değerlerle birlikte RH'nin etkisi incelenmeye başlanmıştır. %70 RH'ye kadar nerdeyse doğrusal olarak gözenek çapı artmıştır ve gözenek çapı yaklaşık olarak 26 μm'dır. Bu değer ayrıca 10 dk'da hazırlanan örnekler arasında hesaplanmış en yüksek gözenek çapına sahiptir. Grafiktede göründüğü üzere %70 RH değerinden sonra azalan bir trende sahiptir. Ancak %75 ve %80 RH örnekleri hemen hemen aynı ortalama gözenek çapına sahiptir. Sırasıyla 23 μm ve 24 μm. 20 dk'nın sabit tutulduğu örneklerin ortalama gözenek çapı hesaplandığında 5 ve 10 dk'lardan aldığımızdan daha farklı sonuçlar alınmıştır. Şekil 4-11'de görüldüğü üzere en stabil sonuçlar şekil 4-11C'de alınmıştır, yani 20 dk'lık uygulama zamanınında RH incelemesi yapılırken. %65 RH değerine kadar devamlı bir artış varken en üst noktaya burada ulaşır ve bu noktadan sonra gözenek çapında azalma başlar. Grafikden görüleceği gibi %60 ile %65 RH değerleri arasında ciddi bir fark vardır, sırasıyla 18 μm ve 33 μmdır, ancak %65 RH'den sonra azalma aynı hızda olmaz. Hem gözenek çapı artması hem de azalması exponansiyel oranda gerçekleşmektedir.



Şekil 4-11: Bağıl Nem (RH) vs. Gözenek Çapı grafikleri 5 dk (A), 10 dk (B) ve 20 dk (C)

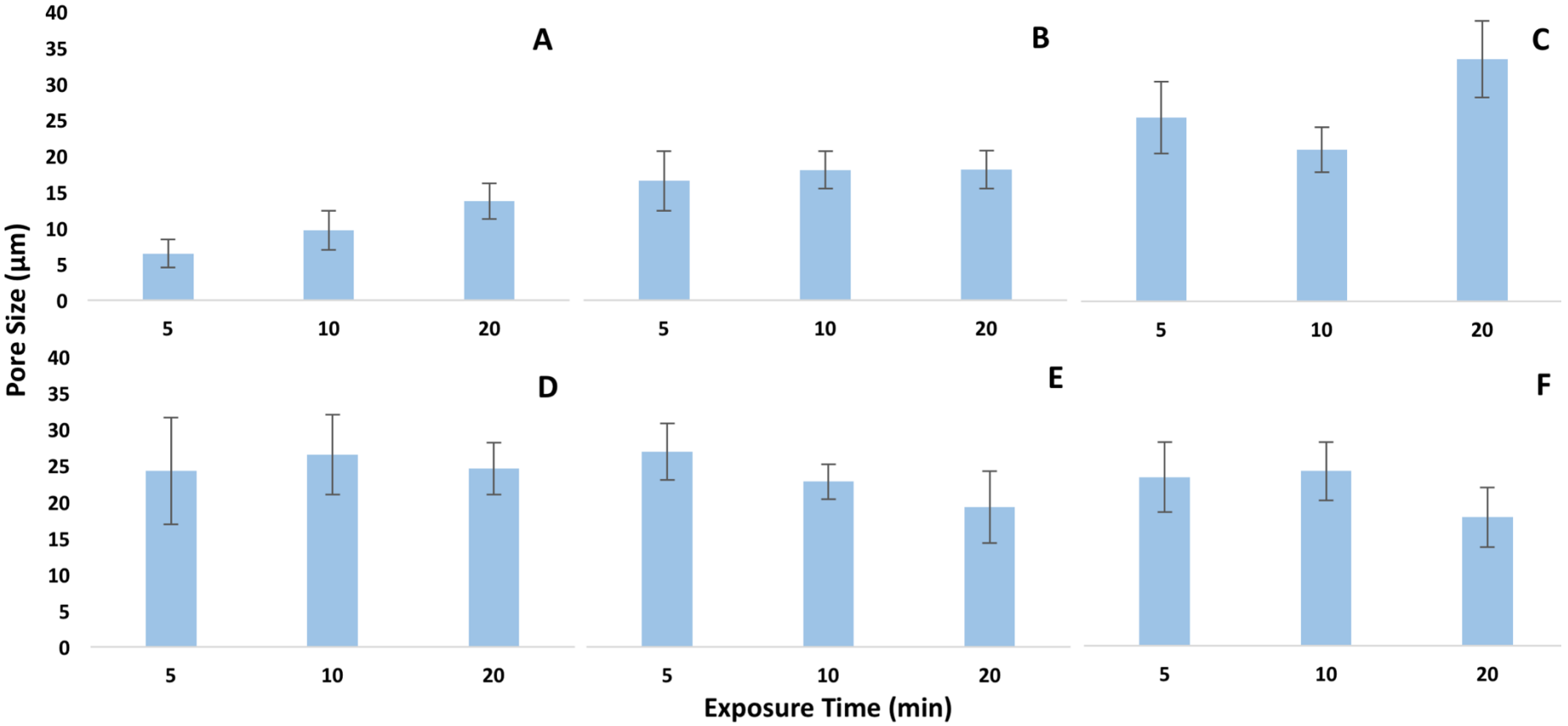
Şekil 4-11'den almış olduğumuz sonuçları genel olarak değerlendirmek gerekirse bağıl nemdeki artış enteresan bir sonuç doğurmuştur. Gözeneklerin düzenli dizilimi korunduğu halde hali hazırda oluşmuş olan gözeneklerin üzerinde daha büyük gözenek benzeri oluşumlar olduğu gözlemlenmiştir. Ancak bu üst gözenek katmanı oluşurken düzenli dizilime sahip biçimde oluşmuş olan gözeneklerde bir bozunmaya sebep olmamaktadır ve bu etki RH % artmasıyla şiddetini arttırmaktadır (Şekil 4-12). Sistem atmosferindeki su baharı yüzeyde yoğunlaşırken iki farklı şekilde yoğunlaşma görülebilir, biri damlacık şeklinde iken diğeri film şeklinde olabilir. Bu iki farklı tip yoğunlaşmanın sebebi yüzey ile su molekülleri arasındaki kendiliğinden de düzenlenmeyi destekleyen moleküller arası etkileşimlerin farklılaşmasıyla olur. Örneklerimizde karşılaştığımız bu etkinin nedeninin bu iki farklı yoğunlaşma olayının birlikte görülmesi olduğu düşünülmektedir. Karşılaştığımız olgu hem RH %'nin hem de uygulama zamanının artmasıyla artmaktadır. Çünkü sistem atmosferinde gaz fazında bulunan su molekülleri miktar olarak daha fazladır.



Şekil 4-12: Bağıl nem yüzdesinin yüzey morfolojisine etkisi 10 dk ve 25°C'de (a) %55 RH, (b) %60 RH, (c) %65 RH, (d) %70 RH, (e) %75 RH ve (f) %80 RH (Bar= 100 μm)

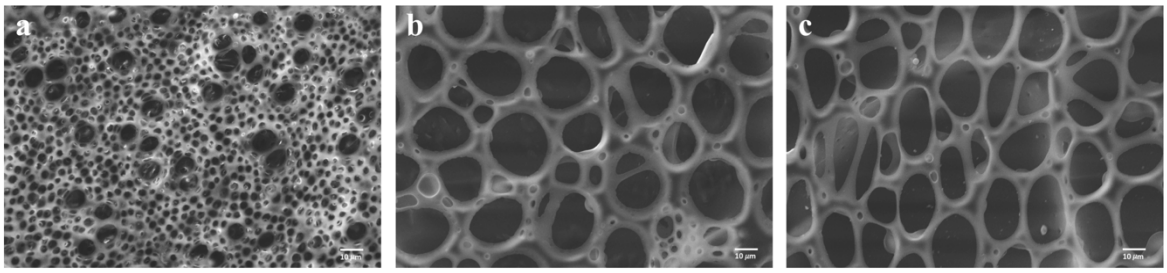
4.1.3.1.2 Uygulama Zamanının Yüzey Morfolojisine Etkisi

Uygulama zamanının film morfolojisi üzerine etkisinin incelenmesi için her bir RH değeri için uygulama zamanı vs. gözenek çapı grafikleri çizilmiştir (Şekil 4-13).



Şekil 4-13: Uygulama zamanının vs. gözenek çapı grafikleri 25°C'de (A) %55 RH, (B) %60 RH, (C) %65 RH, (D) %70 RH, (E) %75 RH ve (F) %80 RH

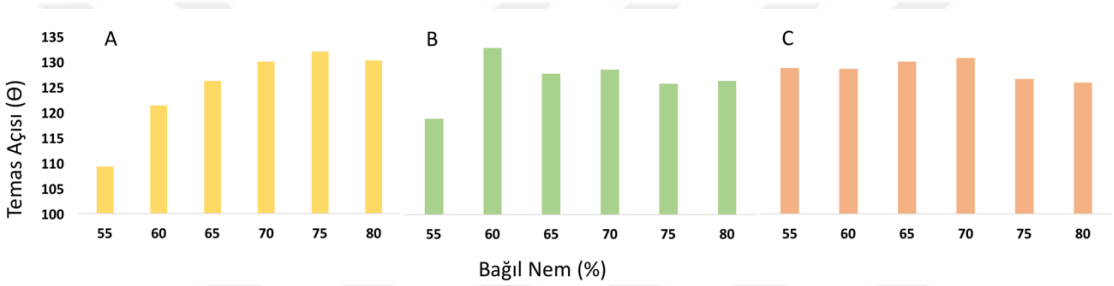
Şekil 4-13A'da uygulama zamanının artmasıyla gözenek boyutunda doğrusal artış olduğu görülmektedir. Ancak daha önce de bahsettiğimiz gibi %55 RH'de 5 ve 10 dk'lık örneklerde devamlı gözeneklilik elde edilememiştir. Şekil 4-13B'de %60 RH değerinin 5 dk'dan 20 dk'ya kadar küçükde olsa bir gözenek çapı artışı hesaplanmıştır, fakat düzenli gözenek yerleşimi gözlemlenmemiştir yani mükemmel bal peteği yapısı yakalanamamıştır. Şekil 4-13C'de %65 RH değerinin öreneklerinin gözenek çapları hesaplanmıştır ve diğer örnekler arasında en yüksek ortalama çap boyutu bu RH değerinde görülmüştür. Diğer RH değerlerinin sahip olduğu uygulama zamanının artmasıyla artan gözenek boyutu eğilimi ile karşılaştırıldığında tam tersi eğilim gözlemlenmiştir. Ek olarak şekil 4-13C ve 4-13D'de gözenek boyutunda uygulama zamanının değişimiyle dalgalanan bir trende sahiptir, ancak şekil 4-13E ve 4-13F'de azalan veya stabilize bir trend söz konusudur. Alınan bu sonuçlar daha önce RH'nin değişken parametre olarak aldığımız grafiklerde alınmış sonuçlarla uyuşmaktadır. Gözenek boyutunun uygulama zamanının değişimiyle en az değiştiği görülen şekil 4-13D'de %70 RH değeri incelenmiştir ve neredeyse gözenek çapında bir değişim olmadığı söylenebilir. En stabil değere sahip gözenek çapı değişim grafiğine sahip bu grafik (Şekil 4-13D) olsa da gözenek boyutları ortalaması farklılık göstermektedir; 5 dk için 24.21 μm, 10 dk için 26.51 μm ve 20 dk için 24.61 μm. Gözenek boyutları ortalamaları stabil sonuçlar vermiş olsa bile yüzeyde homojen düzenli gözeneklilik saptanamamıştır. %75 RH örneklerinde ortalama gözenek çapı hesaplandığı zaman uygulama zamanının artmasıyla gözenek çapı azalıyor dahi olsa (Şekil 4-13E) gözenek şeklindeki bozunma etkisi şekil 4-14'de bariz bir şekilde görülmektedir. Şekil 4-13F'de 20 dk'lık uygulama zamanının ortalama gözenek çapı 18 μm'dir ve bu değer %80 RH'de elde edimiş en küçük ortalama gözenek çapıdır. Grafiktede görüldüğü üzere 5 ve 10 dk'ların gözenek boyutu değerleri birbirlerine çok yakın olmakla birlikte 20 dk'lık uygulama zamanına sahip örneklerin gözenek boyutuyla aralarında yaklaşık olarak 10 μm'lik fark bulunmaktadır.



Şekil 4-14: Uygulama zamanının yüzey morfolojisine etkisi %75 RH ve 25°C'de (a) 5 dk, (b) 10 dk, (c) 20 dk (Bar= 10 μm)

4.1.3.2. Hidrofobisite Analizleri

4.1.3.2.1 Bağıl Nem Yüzdesinin Yüzeyin Hidrofobisitesine Etkisi



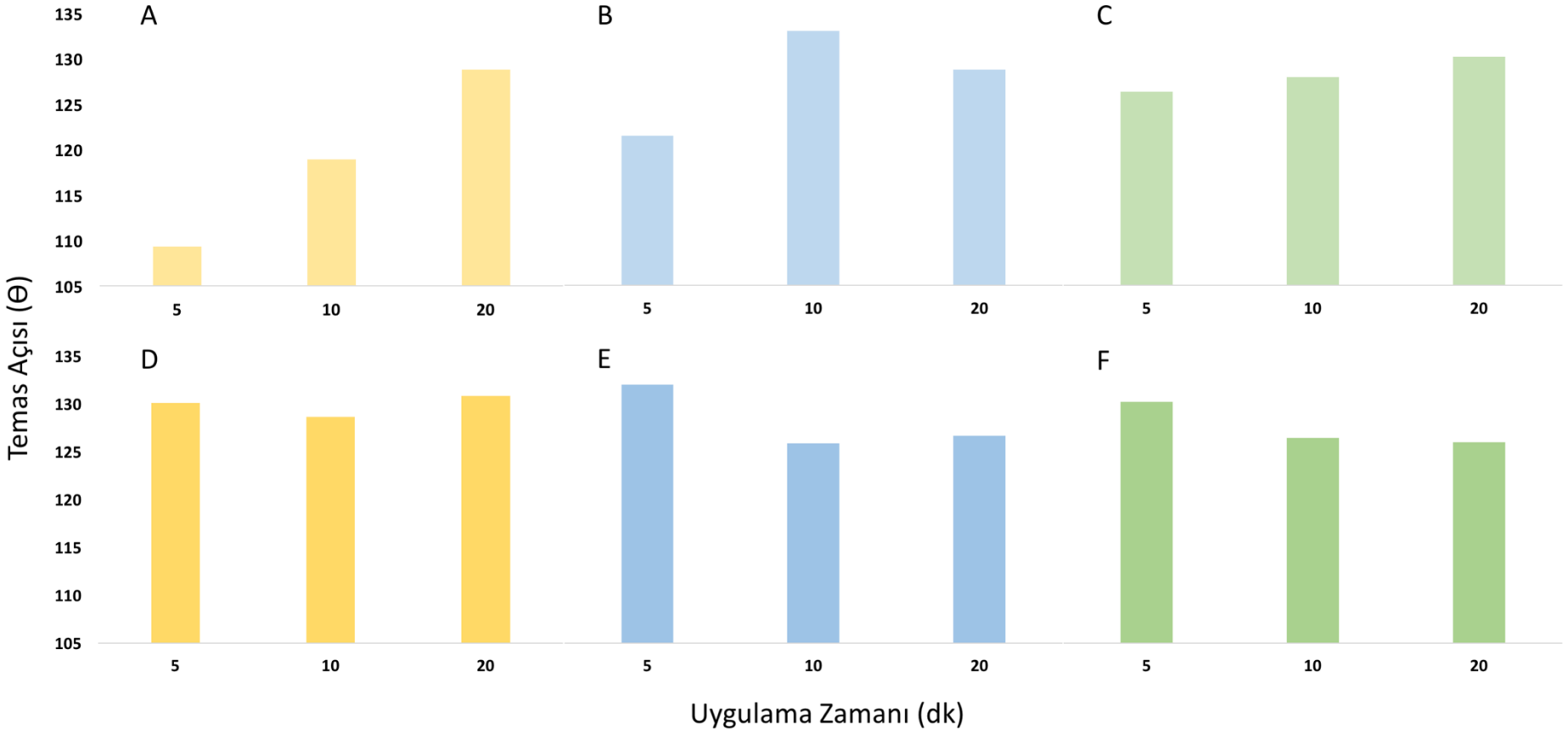
Şekil 4-15: RH % vs. Temas Açısı Grafikleri 5 dk (A), 10 dk (B) ve 20 dk (C)

Sabit tutulan polimer derişimi (5 mg.ml^{-1}) ve sistem atmosferi sıcaklığına (25°C) uygulama zamanında (5, 10 ve 20 dk) eklenmesiyle RH % etkileri değerlendirilmiştir. Şekil 4-15A'da görüldüğü üzere temas açısı değeri düzenli gözeneklilik sağlanamamasına rağmen %55 RH değerinde dahi hiç gözeneklilik olmadığı bilinen ve şekil 4-7'de de görülen verilere göre yükseliş göstermiştir. %75 RH değerine kadar temas açısı yaklaşık 109°'den 132°'ye kadar artmıştır. Bu değerlere kadar gözenekliliğin ve gözeneklerin düzenliliğinin de artmış olduğu bilindiğinden, gözeneklilik artışının PU yüzeyler için hidrofobiklik özelliğini arttırdığı sonucu çıkarılmıştır. Şekil 4-15B'de %55 RH değeri bilindiği gibi düzenli ve homojen gözenekliliğe sahip olmadığından diğer değerlere göre düşük temas açısı değerine sahiptir. %60 RH değerinde görülen enteresan artışa bir açıklama bulunamamıştır. Ancak %55 ve %60 RH göz ardı edildiğinde neredeyse stabilize olmuş sonuçlar elde edilmiştir ve 127° ile 128° arasında değişmektedir. Uygulama zamanı 20 dk'ya çıkarıldığında %55 ile %70 arasındaki RH değerlerinde yaklaşık

olarak aynı değerler alınmaya başlanmıştır (Şekil 4-15C), 129° ile 130° arasında değişen sonuçlar görülmüştür. Ancak %75 RH değerinden sonra şekil 4-12'de de görüldüğü üzere büyük gözenek içinde gözeneklenme yapısı yüzünden temas açısının azaldığı düşünülmektedir, çünkü yüzey üzerindeki suyun içlerine doğru dolabileceği film şeklinde yoğunlaşmadan dolayı büyük çaplı gözenekler bulunmaktadır.

4.1.3.2.2 Uygulama Zamanının Yüzeyin Hidrofobisitesine Etkisi

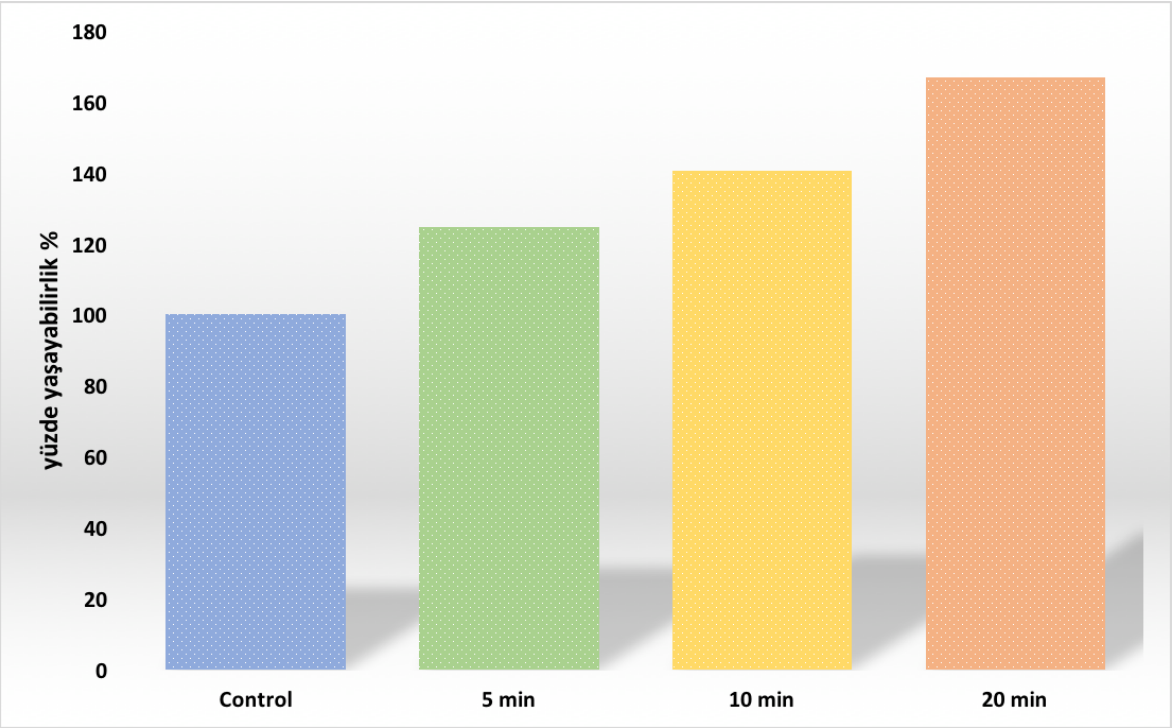
Uygulama zamanının incelenmesi için RH değerlerini ayrı ayrı sabit tutup hazırlanan örneklerin temas açılarını ölçtüğümüz zaman şekil 4-16'daki gibi grafikler elde ettik. Grafikler arasında en belirgin farklılığa sahip olan şekil 4-16A'da %55 RH değerinin ölçümleri değerlendirilmiştir. Daha önce bahsettiğimiz gibi düzensiz gözenekliliğe rağmen 5 ve 10 dk'lık örneklerde dahi temas açısı artış göstermiştir. Ancak en belirgin artış yarı düzenli gözenekliliğe sahip olan 20 dk örneklere aittir. Bu durum gözenekliliğin hidrofobik özelliğin artışıyla etkili oluşunu desteklediği görülmüştür. Çünkü yüzey serbest enerjisinin düşüsüyle ki bu düşüş düzenligözenekliliğin artmasıyla sağlanırmıştır [188]. Şekil 4-16B'de görnekte olduğumuz 10 dk'lık örneğin sahip olduğu 133° temas açısı. Bir açıklama getiremediğimiz bu çalışmanın diğer bulgularıyla ters düşen bir sonuç alınmıştır. Bu değer göz ardı edildiğinde temas açısı sonuçlarının %60 RH'de de uygulama zamanının artışıyla artmakta olduğu söylenebilir. Şekil 4-16C'de düzenli gözenekliliğin uygulama zamanının 5 dk'dan 20 dk'ya arttırıldığında arttığı bilinmekte ve bu artış ile birlikte temas açısınında arttığı görülmektedir. Görsel olarak düzenliliğin sağlanamadığı SEM fotoğrafları ile belirlenmiş olmasına rağmen bir kez daha hesaplanan datalarda en stabil değerlere sahip olan %70 RH sonuçlarıdır ve uygulama zamanın artmasına rağmen temas açısı ölçümlerinde önemli bir değişim görülmemiştir (Şekil 4-16D). %75 ve %80 RH değerlerinde uygulama zamanının artmasıyla temas açılarında ayrı ayrı düşüş olduğu görülmektedir (Şekil 4-16E ve F). Bu düşüşün sebebi RH'nin temas açısına etkisinin anlatıldığı kısımda tartışıldığı gibi yüzey morfolojisinde rastlanan değişiklikten olduğu düşünülmüştür.



Şekil 4-16: Uygulama zamanının vs. temas açısı grafikleri 25°C'de %55 RH (A), %60 RH (B), %65 RH (C), %70 RH (D), %75 RH (E) ve %80 RH (F)

4.2. Filmlerin In-Vitro Sitotoksisite Analizleri

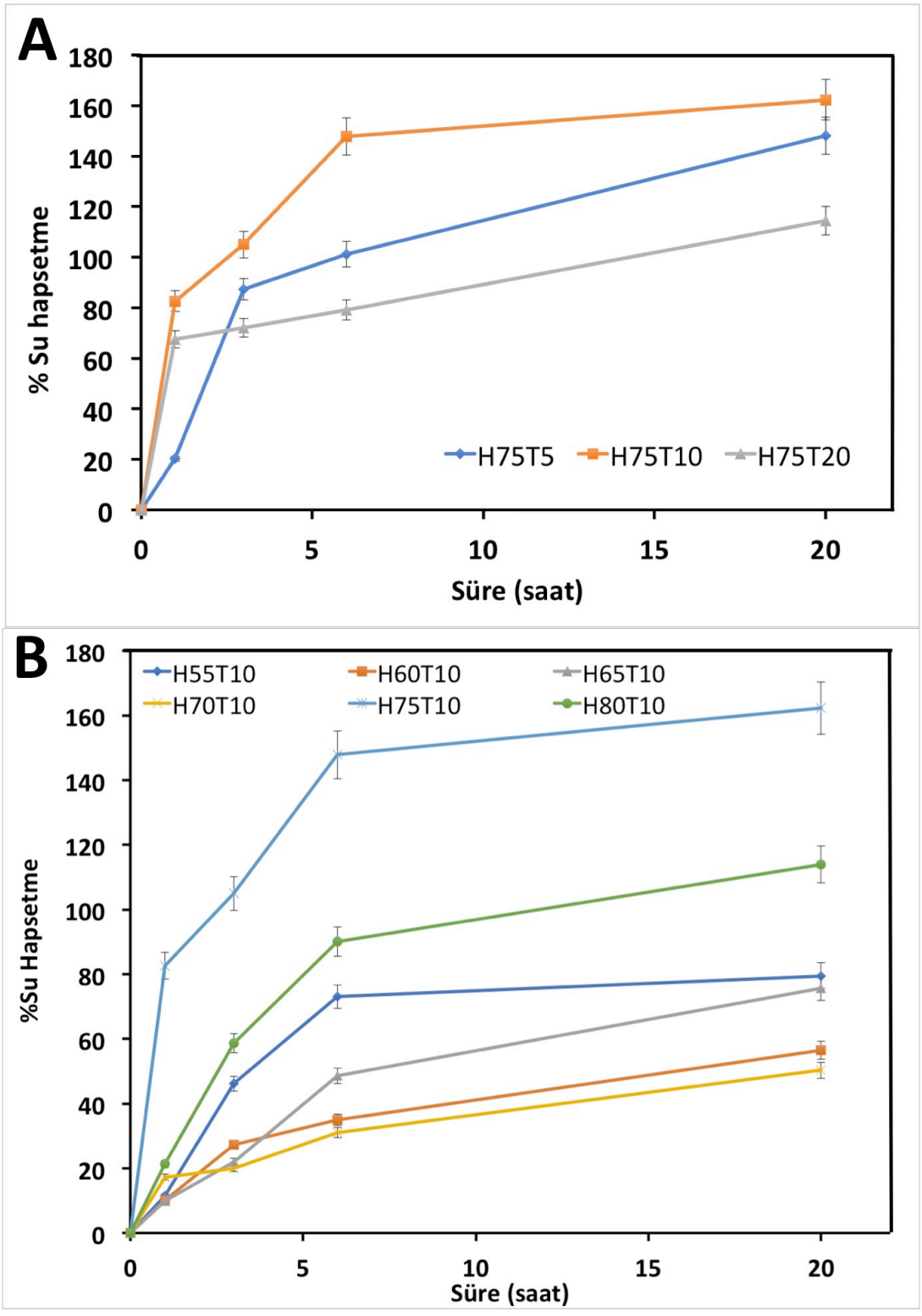
Bilindiği üzere hücre dışı matriks (extra cellular matrix-ECM) gözeneklerden oluşmaktadır ve bu gözeneklerin çapları 10 ile 100 μm arasında değişmektedir. Hücre uyumluluğu bütün biyomalzemeler için zorunlu bir özellik olmasının yanında bütün biyomalzemelerin kullanılacağı amaca yönelik olarak başka özellikleride sağlaması gerekir. Bu yüzden biyo-uyumlu malzemelerin gözenekli olmaları hücrelerin tutunmaları, hücreye besin geçişi ve hücresel taşıma için önemli rol oynar. Çeşitli hücreler BF metodu ile farklı biyo-uyumlu polimerler kullanılan çalışmlarda denenmiş. Genel sonuç uygun gözenek boyutu sağlanırsa hücrelerin daha kolay tutunduğu ve çoğaldığı gözlemlenmiştir. Aynı etki insan endotel, fibroblast ve kondrosit benzeri hücre hatlarında da gözlemlenmiştir [189]. Bilindiği üzere hücre büyümesi sırasında morfolojik kontrol bulundukları yüzeyin dış çeperlerini takip ederek bir desene sahip olurlar aynı durum BF yaklaşımıyla üretilen kaplamalar içinde geçerlidir. Kardiyo vasküler sistemler için uygunluğunun araştırılması için bu çalışmada kullanılan HUVEC hücre hattı kullanılabilecek muhtemelen en iyi hücre hattıdır. Bu hatla yapılan in-vitro toksisite çalışmaları en iyi stabil ve en iyi düzenliliğe sahip olduğu için optimal koşul olarak belirlediğimiz %75 RH, 5mg.ml^{-1} PU derişimi ve 25°C oda sıcaklığında hazırladığımız örnekler üzerinde yapılmıştır. Şekil 4-17'de görüldüğü üzere 5 dk neme maruz bırakarak ürettiğimiz BF filmleri kontrol grubuna kıyasla %20 daha fazla hücrenin üremesine olanak tanımıştır. 10 dk neme maruz bırakarak ürettiğimiz BF filmleri kontrol grubuna kıyasla %40 daha fazla hücre beslemiştir. Buna ek olarak 20 dk neme maruz bırakarak ürettiğimiz gözenekli filmler yine kontrol grubuna kıyasla yaklaşık olarak %60 daha fazla hücrenin üremesine sebep olmuştur. Bu sonuçlardan yola çıkarak ürettiğimiz tüm BF filmlerinin hücre üzerinde toksik etkilerinin olmadığı aynı zamanda kolay yayılmasını sağladığından besleyici etki gösterdiği tespit edilmiştir.



Şekil 4-17: %75 RH'de hazırlanan örneklerin yüzde yaşayabilirlik grafiği

4.3. PU Filmlerin Su Hapsetme Davranışı

Yapıların su hapsedebilme davranışı ile bünyelerindeki ilaçları salma oranları arasındaki ilişkiyi konu alan teori, polimer matriksin su hapsetme oranı ile bu polimer matriksten ilaç difüzyonu arasında doğrusal bir ilişki olduğunu ortaya koymaktadır. Gerçekleştirilen su hapsetme deneyinin sonuçlarına göre, %75 bağıl nem oranındaki ortamlarda 5 dk uygulama süresiyle üretilen H75T5 örneği 20 saatin sonunda bünyesine kuru ağılığının %148'i kadar su hapsedebilirken, 10 dk uygulama süresiyle üretilen H75T10 örneği %162 ve 20 dk uygulama süresiyle üretilen H75T20 %114,4 su hapsetmiştir (Şekil 4-18(A)). Aynı şekilde, farklı bağıl nem ortamlarında üretilen film örneklerinin su hapsedebilme yüzdeleri şekil 4-18(B)'de verilmiştir. Buna göre, %55 bağıl nem ortamında 10dk'lık uygulama süresiyle üretilen H55T10 örneği bünyesine kuru ağırlığının %70'i kadar su hapsedebilirken; %60 nem oranında 10dk'da üretilen H60T10 %56, %65 nem oranında 10dk'da üretilen H65T10 %75, %70 nem oranında 10dk'da üretilen H70T10 %50, %75 nem oranında 10dk'da üretilen H75T10 %162 ve %80 nem oranında 10dk'da üretilen H80T10 %114 oranında suyu hapsedebilmektedirler.

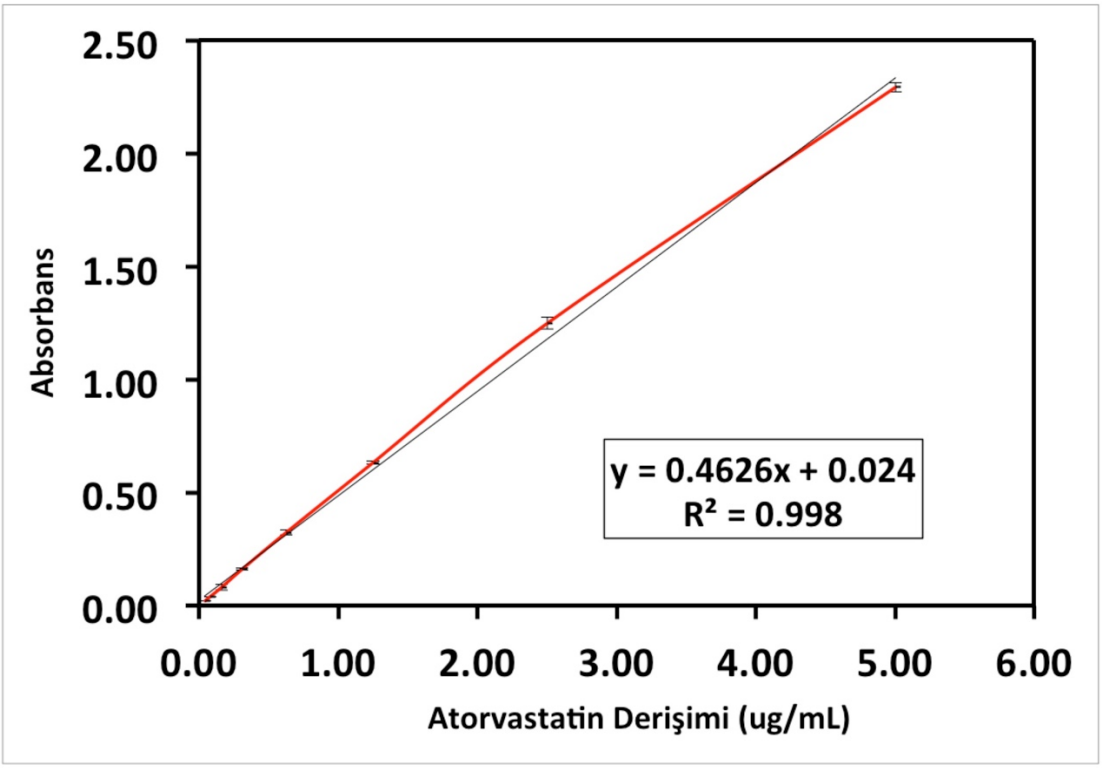


Şekil 4-18: Farklı uygulama zamanı (A) ve farklı bağıl nem (B) ortamlarında üretilen filmlerin şişme davranışları (n=3).

Filmlerin gösterdikleri % su hapsetme oranlarının polimer matriks içerisindeki gözeneklerin toplam hacmi ve gözeneklerin toplam yüzey alanı ile doğru orantılı olduğu düşünülmektedir. %75 nem oranında farklı sürelerde üretilen filmlerin gözenek yapıları arasında dikkate değer ölçüde bir fark olmadığı su hapsetme oranlarının birbirine yakın olmasıyla açıklanabilmektedir. Farklı bağıl nem oranında 10 dk'da üretilen filmlerin su hapsetme yetenekleri H65T10>H55T10>H60T10>H70T10 şeklinde sıralanabilmektedir. Bu filmlerin gözenek yapıları incelendiğinde (Bölüm 4.1.3, Şekil 4-8), bu doğrultuda gözenek sayısının, düzenliliğinin ve gözenek çapının arttığı dikkat çekmektedir. Buradan, gözenek sayısı ve çapı arttıkça polimer matriksin içerisindeki suyun nüfus edebileceği hacmin artmakta olduğu sonucu çıkarılabilmektedir. H75T10 ve H80T10'un diğerlerinden yüksek su hapsedebilme davranışı ise, çok katlı yapılarının onlara daha fazla gözenek hacmi kazandırmasına atfedilebilmektedir.

4.4. İlaç Yükleme ve In-vitro İlaç Salım Çalışmaları

Ölçülen UV absorbans değerlerini derişim değerlerine dönüştürebilmek için kalibrasyon grafiği kullanılmıştır (Şekil 4-19). Bu grafik üzerinde doğrusal regresyon analizi yapılarak korelasyon katsayısı R^2=0,998 olarak hesaplanmıştır. Bu değer, çözeltideki AK derişimi ile çözeltinin ölçülen UV absorbans değeri arasındaki ilişkinin tam doğrusallık gösterdiği sonucunu vermektedir. Ayrıca, kalibrasyon grafiği 0-5 µg/mL arasında doğrusallık göstermektedir. Kullanılan yöntemin tayin limiti (LOD) 105,8 ng/mL ve ölçüm limiti (LOQ) 320,6 ng/mL olarak hesaplanmıştır.



Şekil 4-18: Farklı derişimlerde atorvastatin kalsiyumun UV-VIS spektrometresi ile ölçülen absorbans değerine karşı kalibrasyon grafiği.

4.4.1. İlaç Yükleme Verimliliği

Farklı BF uygulama süresinde hazırlanan filmlerin ilaç yükleme verimi (%YV) ve ilaç yükleme kapasiteleri (%YK) üzerine etkisinin değerlendirildiği çalışmanın sonucu Tablo 4-2'de verilmiştir. Buna göre, uygulama süreleri ile ilaç yükleme performansları arasında kayda değer bir ilişki saptanmamıştır. Tüm deney grupları %93- 97 arasında yüksek ilaç yükleme verimine sahiptir. Diğer taraftan yaklaşık 66 µg ağırlığındaki farklı BF uygulama sürelerine maruz bırakılmış film tabakaları ağırlığının ortalama %16' sı kadar ilacı bünyesine hapsedebilmektedir.

Örnek Adı	%YV	%YK
H75T5	94,4±4,0	15,9±0,8
H75T10	95,4±0,9	16,0±0,2
H75T20	93,4±0,4	15,7±0,1

Tablo 4-2: BF uygulama süresinin filmlerin ilaç %YV ve %YK üzerine etkisi (n=3). Değerler Ortalama ± Standart sapma şeklinde sunulmuştur.

Farklı bağıl nem oranlarındaki ortamlarda hazırlanan filmlerin ilaç yükleme verimi ve kapasitelerinin değerlendirildiği çalışmanın sonucu Tablo 4-3'de verilmiştir. Buna göre, farklı nem ortamlarında sentezlenen filmlerin ilaç yükleme verimleri %96-99 arasında yüksek değerlere sahiptir ve nem oranlarının filmin ilaç hapsetme verimi üzerine belirgin bir etkisi yoktur. Deney grubundaki 66 µg ağırlığındaki filmler ağırlıklarının yaklaşık %16'sı kadar ilacı bünyelerine hapsedebilmektedirler. Bu sonuçlar üretilen PU filmlerin ilaç taşıyıcı ajan olarak güçlü bir aday olduğu hipotezini doğrulamaktadır.

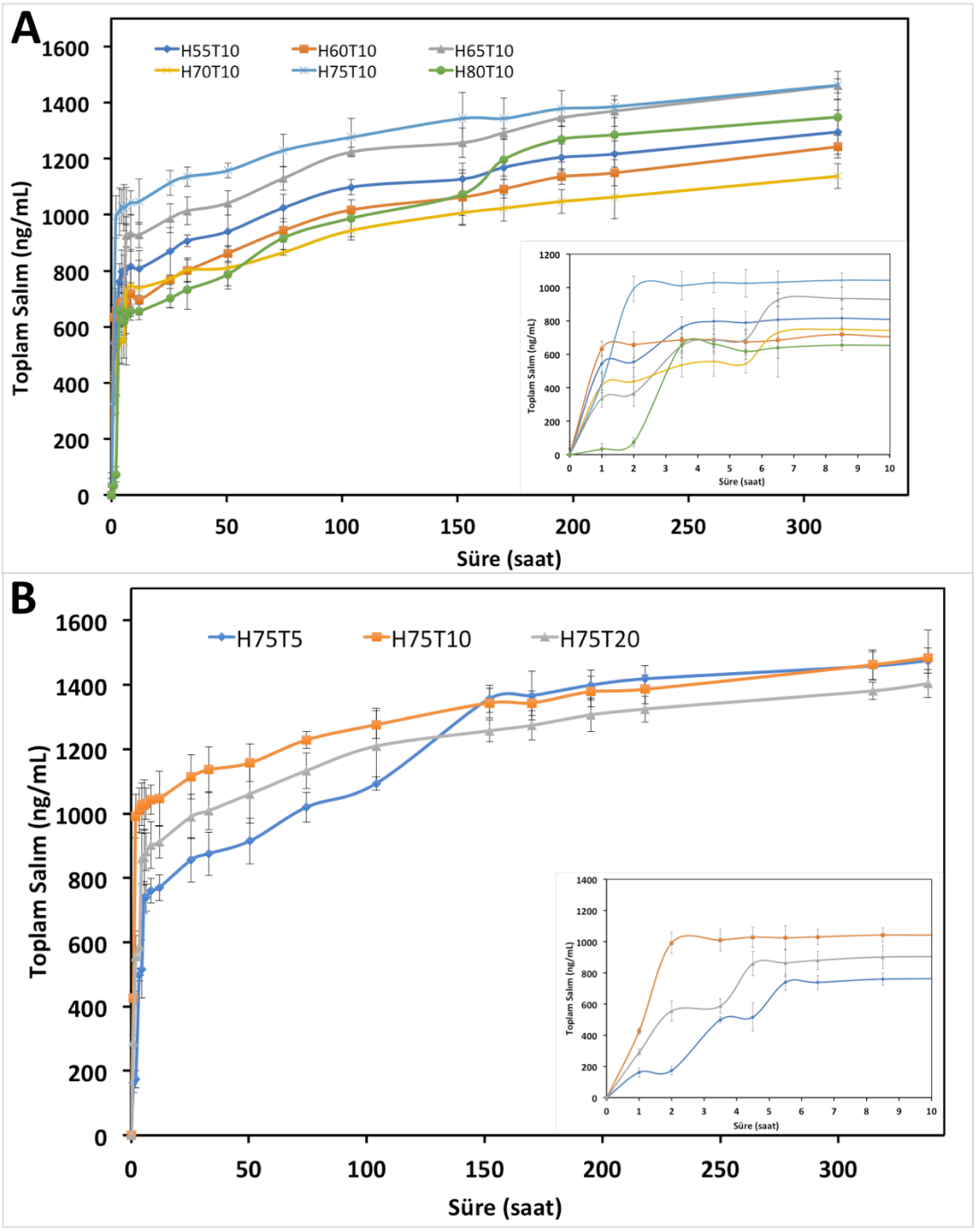
Örnek Adı	%YV	%YK
H55T10	97,0±0,8	16,2±0,2
H60T10	98,7±2,0	16,5±0,4
H65T10	96,4±1,9	16,2±0,4
H70T10	97,2±0,8	16,3±0,2
H75T10	95,4±0,9	16,0±0,2
H80T10	99,1±2,6	16,5±0,5

Tablo 4-3: Ortam bağıl nem oranının filmlerin %YV ve %YK üzerine etkisi (n=3). Değerler Ortalama ± Standart Sapma şeklinde sunulmuştur.

4.4.2. In-vitro ilaç Salım Çalışmaları

Farklı bağıl nem oranlarına sahip ortamlarda ve farklı uygulama sürelerinde üretilmiş AK yüklü PU filmlerin fizyolojik koşulların simüle edildiği 37°C ve pH

7.4'te 14 gün boyunca kaydedilen ilaç salım davranışları sırasıyla Şekil 4-20A ve B'de verilmiştir. Buna göre, sudaki çözünürlüğü çok düşük hidrofobik bir ilaç olan AK'nın PU filmlerden salımı haftalarca devam etmektedir. İlaç PU filmlerden iki aşamalı olarak salınmaktadır. İlk aşama yaklaşık 5-6 saat süren ani ve hızlı salım (ing: burst effect), ikinci aşama haftalarca devam eden yavaş salım aşamasıdır.

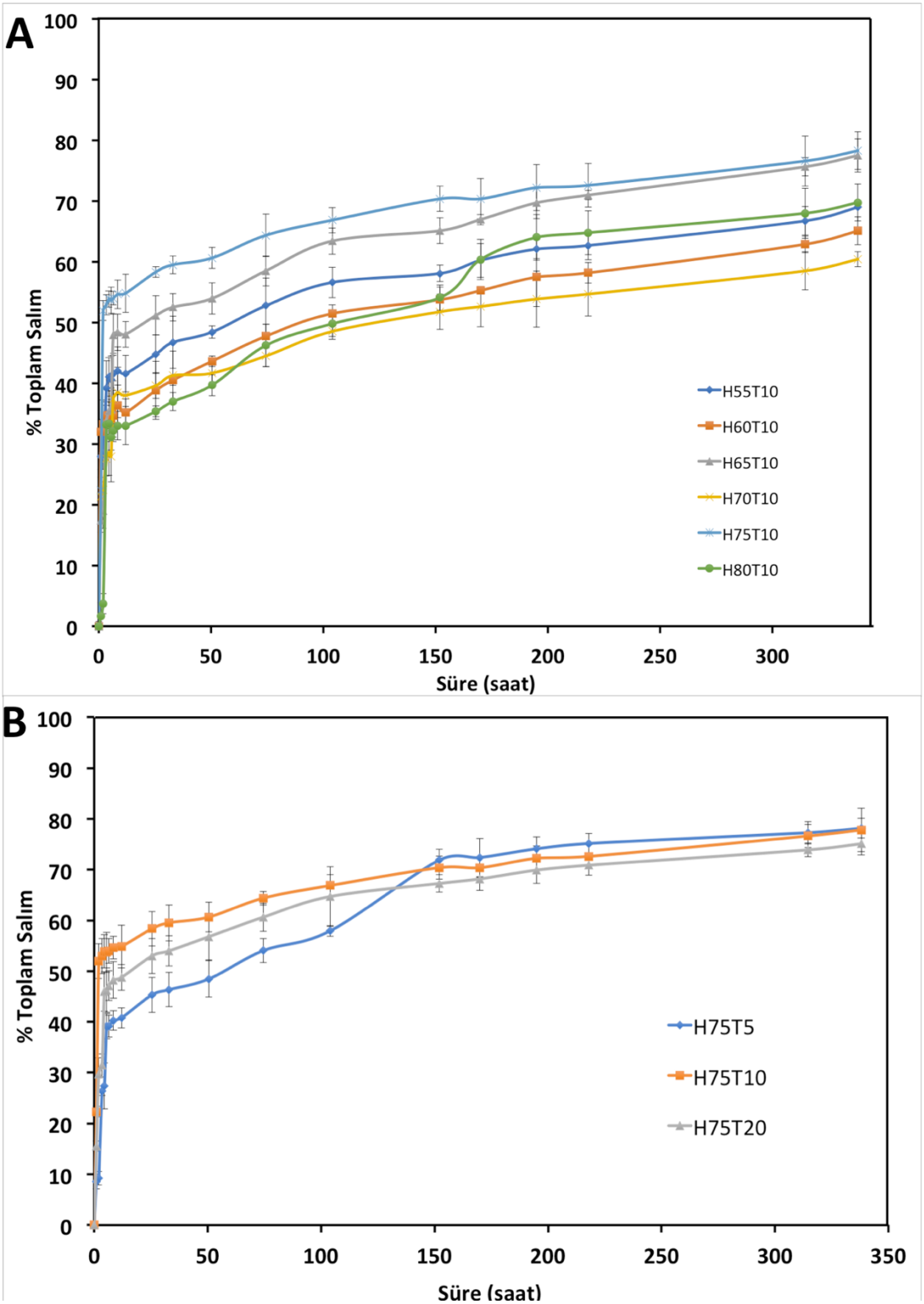


Şekil 4-19: Farklı nem oranına sahip ortamlarda (A) ve farklı uygulama sürelerinde (B) sentezlenmiş filmlerin zamana karşı toplam ilaç salım profilleri (n=3). Ekli küçük resimler 0-10 saat arasındaki salım profillerinin genişletilmiş gösterimidir.

Toplam salınan ilaç miktarının başlangıçta yüklenen ilaç miktarına yüzdece oranı "% ilaç salımı" olarak adlandırılmaktadır. PU filmlerden %AK salımı Şekil 4-21'de verilmiştir.

Farklı bağıl neme sahip ortamlarda 10 dk uygulama süresinde üretilen filmler incelendiğinde (Şekil 4-21A), 14 gün boyunca H55T10 film bünyesindeki ilacın %69'unu (1,34±0,08 µg), H60T10 %65'ini (1,28±0,04 µg), H65T10 %77,5'ini (1,5±0,02 µg), H70T10 %60,4'ünü (1,17±0,05 µg), H75T10 %78,3'ünü (1,5±0,06 µg) ve H80T10 %69,7'sini (1,38±0,07 µg) saldığı dikkat çekmektedir. Bu sonuç filmlerdeki gözenek sayısına, çapına ve katlı doğasına bağlı suyun nüfus edebileceği hacmin ve ilaç salımının gerçekleşeceği yüzey alanının artması ile açıklanabilmektedir. %75 bağıl nem ortamında farklı uygulama süreleriyle üretilen filmlerin % ilaç salım davranışı (Şekil 4-21B) incelendiğinde ilk 5 saatlik ani salım evresinde yüklenen AK'nın %40-50'si salınmaktadır. Bu süreçten sonra yavaş salım evresi devam etmektedir. Toplamda 14 gün boyunca ilaç yüklü H75T5 film bünyesindeki ilacın %78'ini (1,47 µg), H75T10 %77,8'ini (1,48 µg) ve H75T20 ise %76,7'sini (1,43 µg) salmıştır. Film örneklerinin ilaç salım hızları su hapsedebilme oranları ile doğru orantılıdır.

Çalışmada sunulan PU filmlerin ilaç salım profilleri "uzatılmış ilaç salımı" (ing: sustained drug release) olarak nitelendirilir ve ilaç salım sistemlerinde aranan temel özelliklerin başında gelmektedir. Polimer-ilaç, ilaç-ilaç, su-polimer ve su-ilaç etkileşimleri ilaç salım trendlerini belirleyen faktörlerdir [190]. Tespit edilen yavaş salım profili PU filmin biyobozunur olmayan doğasına ve suyun film içerisine penetre olmasını, ilacı çözmesini ve polimer matriksi degrade etmesini önleyen ilacın ve de PU filmin hidrofobik doğasına atfedilebilmektedir. Bu tarz yüksek ilaç yükleme kapasitesi ve yavaş salım profili ile ilgili çalışmalar literatürde sıkça rapor edilmiştir [155], [191]. AK'nın PU filmlerden günlük salım miktarları 31,8-47,1 ng/mL olarak hesaplanmıştır ve AK'nın etken plazma derişimi 5,4-23,7 ng/mL olarak belirtilmiştir [166]. Çalışma konusu AK yüklü PU filmlerin günlük ilaç salım performansları AK'nın etken plazma derişimini karşılar niteliktedir.



Şekil 4-20: Farklı nem oranına sahip ortamlarda (A) ve farklı uygulama sürelerinde (B) sentezlenmiş filmlerin zamana karşı % toplam ilaç salım profilleri (n=3).

5. SONUÇLAR

- BF yaklaşımıyla farklı PU derişiminde (0.5, 1 ve 2 $mg.ml^{-1}$) film üretilebilmiş ancak istenilen düzenli gözenek dizilimi 1 $mg.ml^{-1}$ PU derişimi ile hazırlanan gözenekli filmlerde elde edilmiştir.
- Filmin boyutnu artırmak amacıyla uygulanan polimer hacmi arttırıldığında kullanılan PU derişimin yeterli olmadığından PU derişimi 5 $mg.ml^{-1}$'ye çıkartılmış ve böylece su damlacıklarının polimer çözeltisi yüzeyinde kendiliğinden düzenlenmesi ve stabilizasyonu kolaylaşmıştır.
- Film üretiminde PU derişimini arttırarak (1, 2 ve 5 $mg.ml^{-1}$) üretilen filmlerin temas açıları değerlendirildiğinde gözeneksiz olarak üretilen filmlere kıyasla artış görülmüştür ve bu artış derişimin artmasıyla artmıştır.
- Optik mikroskop ile yapılan değerlendirme sonucunda %55 RH değerinde de yeteri kadar (20 dk) neme maruz bırakılırsa gözenekli yapı üretilmesi mümkündür.
- Uygulama zamanı 20 dk ya çıkarıldığında ayrı ayrı değerlendirilen bütün RH %'lerinde (%55-80) polimer yüzeyinde oluşan su damlacıklarının hacim artışı sebebiyle polimer çözeltisi içerisine battıkları ve gözenek oluşumunu batık şekilde tamamladıkları görülmüştür.
- En düzenli ve eşit boyutlarda gözenekli BF yaklaşımyla PU film %75 RH ve 10 dk uygulama zamanında üretilmiştir.
- Uygulama zamanı 5 dk da sabitlenerek RH % etkisinin incelendiğinde %55'den %65'e RH kadar gözenek çapında ciddi artış hesaplanmışken, sırasıyla 23 ten 26 μm'ye. %65 RH değerinden sonra gözenek çapı neredeyse stabil olarak hesaplanmıştır. Bu artış %80 değerine kadar sürmüş ancak %80 RH'de düşüşe geçmiştir.
- Uygulama alanı 10 dk'da sabitlendiğinde gözenek çapındaki değişim bu sefer %70 RH'den sonra azalan trend göstermiştir. Ancak %75 ve %80 RH değerleri ile birbirine çok yakın gözenek (sırasıyla 23 ve24 μm) çapına sahip filmler üretilebildiği halde morfolojik özellikleri ciddi farklılık göstermektedir.
- Uygulama zamanı 20 dk'da sabitlendiği durumda %65 RH'ye kadar gözenek çapında hızlı artış hesaplanmış. %60 ile %65 RH arasında en

ciddi fark hesaplanmıştır (18 den 33 μm ye). %65 RH değerinden sonra gözenek çapındaki azalma artış kadar keskin değildir.

- Hazırlanan filmlerin genel morfolojik değerlendirmesi yapıldığında RH'nin artması enteresan bir sonuç ortaya çıkarmıştır. Küçük gözenek oluşumunu bozmaksızın üzerinde ikinci bir katman gibi gözenek oluşumu gözlemlenmiştir.
- RH %55'de sabitleyerek uygulama zamanının etkisi incelenirken düzenli ve ancak homojen olmayan gözenekli film üretimi sadece 20 dk'lık filmlerde görülmüştür.
- RH %60'da sabitlendiğinde filmlerin gözenek çapında küçük bir artış olmuştur.
- RH %65'de sabitlendiğinde yapılan gözenek çapı hesaplamaları en büyük gözeneklere (34 μm) bu RH değerinde rastlanmış ve diğer RH değerlerinin uygulama zamanına karşı göstermiş olduğu etkiden farklı bir etki göstererek önce azalmış daha sonra artmıştır.
- RH %70'de sabitlendiğinde uygulama zamanı artışıyla dahi gözenek çaplarında stabilizasyon hesaplanmıştır (sırasıyla 24, 26 ve 25 μm). Ancak morfolojik olarak düzensizlik göstermektedir.
- RH %75'de sabitlendiğinde gözenek çapından zamanın artmasıyla küçülme saptanmıştır ancak 20 dk'lık filmlerde ikincil kat oluşumu nedeniyle morfolojik değişim söz konusudur. 20 dk'lık filmlerin yaklaşık gözenek boyutu 18 μm'dir.
- RH %80'e sabitlendiğinde 5 ve 10 dk'lık filmlerin gözenek çapları birbirine çok yakındır. Ancak 20 dk'lık örnekle aralarında 10 μm'lik fark bulunmaktadır ve bariz şekilde morfolojik bozunma saptanmıştır.
- Üretilen bütün filmlerin morfolojik yapıları bozuk olanlarda dahil olmak üzere temas açısı sonuçları gözeneksiz PU filmlerine kıyasla daha yüksek sonuçlar vermiştir.
- Belirlenen optimal koşullar altında hazırlanan gözenekli PU filmlerin sitotoksisite sonuçları kontrol grubuna kıyasla hücre üremesinde artışa sebep olmuştur. Bu da üretilen filmlerin hücreler üzerinde toksik etkisinin olmadığını göstermiştir.

- Farklı bağıl neme sahip ortamlarda ve farklı sürelerde üretilen filmlerin su hapsedebilme oranları filmlerin gözenek çapı, sayısı ve katlı doğasına bağlı olarak arttığı belirlenmiştir.
- %75 bağıl nem oranındaki ortamlarda 5 dk uygulama süresiyle üretilen H75T5 örneği 20 saatin sonunda bünyesine kuru ağılığının %148'i kadar su hapsedebilirken, 10 dk uygulama süresiyle üretilen H75T10 örneği %162 ve 20 dk uygulama süresiyle üretilen H75T20 %114,4 su hapsetmiştir.
- %55 bağıl nem ortamında 10dk'lık uygulama süresiyle üretilen H55T10 örneği bünyesine kuru ağırlığının %70'i kadar su hapsedebilirken; %60 nem oranında 10dk'da üretilen H60T10 %56, %65 nem oranında 10dk'da üretilen H65T10 %75, %70 nem oranında 10dk'da üretilen H70T10 %50, %75 nem oranında 10dk'da üretilen H75T10 %162 ve %80 nem oranında 10dk'da üretilen H80T10 %114 oranında suyu hapsedebilmektedirler.
- 5, 10 ve 20 dk'lık uygulama süresinde hazırlanan BF filmlerin %93- 97 arasında yüksek ilaç yükleme verimine sahiptir. Diğer taraftan yaklaşık 66 µg ağırlığındaki farklı BF uygulama sürelerine maruz bırakılmış film tabakaları ağırlığının ortalama %16' sı kadar ilacı bünyesine hapsedebilmektedir.
- %55-80 RH oranlarındaki ortamlarda hazırlanan filmlerin ilaç yükleme verimleri %96-99 arasında yüksek değerlere sahiptir ve nem oranlarının filmin ilaç hapsetme verimi üzerine belirgin bir etkisi yoktur. Deney grubundaki 66 µg ağırlığındaki filmler ağırlıklarının yaklaşık %16'sı kadar ilacı bünyelerine hapsedebilmektedirler. Bu sonuçlar üretilen PU filmlerin ilaç taşıyıcı ajan olarak güçlü bir aday olduğu hipotezini doğrulamaktadır.
- Sudaki çözünürlüğü çok düşük hidrofobik bir ilaç olan AK'nın PU filmlerden salımı haftalarca devam etmektedir. İlaç PU filmlerden iki aşamalı olarak salınmaktadır. İlk aşama yaklaşık 5-6 saat süren AK'nın %40-50'si salındığı ani ve hızlı salım (ing: burst effect), ikinci aşama haftalarca devam eden yavaş salım aşamasıdır.
- Toplamda 14 gün boyunca ilaç yüklü H75T5 film bünyesindeki ilacın % 78'ini (1,47 µg), H75T10 % 77,8'ini (1,48 µg) ve H75T20 ise % 76,7'sini (1,43 µg) salmıştır. Farklı bağıl neme sahip ortamlarda 10 dk uygulama süresinde üretilen filmler 14 gün boyunca H55T10 film bünyesindeki ilacın

% 69'unu (1,34±0,08 µg), H60T10 % 65'ini (1,28±0,04 µg), H65T10 %77,5'ini (1,5±0,02 µg), H70T10 %60,4'ünü (1,17±0,05 µg), H75T10 %78,3'ünü (1,5±0,06 µg) ve H80T10 %69,7'sini (1,38±0,07 µg) salmıştır. Bu değerlerin gözenek çapına bağlı artan yüzey alanı ve suyun gözenek çapına bağlı olarak hidrofobik PU filmlere nüfus edebilmesinin ortak etkisi olduğu düşünülmektedir.

- Tespit edilen yavaş salım profili PU filmin biyobozunur olmayan doğasına ve suyun film içerisine penetre olmasını, ilacı çözmesini ve polimer matriksi degrade etmesini önleyen ilacın ve de PU filmin hidrofobik doğasına atfedilebilmektedir

6. KAYNAKLAR

[1] G. Widawski, M. Rawiso, and B. François, “Self-organized honeycomb morphology of star-polymer polystyrene films,” *Nature*, vol. 369, no. 6479, pp. 387–389, 1994.

[2] C.-T. Kuo *et al.*, “Dynamics of single-layer polymer breath figures.,” *Opt. Express*, vol. 18, no. 17, pp. 18464–70, 2010.

[3] P. Hyman, “Chapter 3 - Bacteriophages and Nanostructured Materials,” in *Advances in Applied Microbiology*, vol. Volume 78, S. S. Allen I. Laskin and M. G. Geoffrey, Eds. Academic Press, 2012, pp. 55–73.

[4] B. Bozdoğan, Ö. Akbal, E. Çelik, M. Türk, and E. B. Denkbaş, “Novel layer-by-layer self-assembled peptide nanocarriers for siRNA delivery,” *RSC Adv.*, vol. 7, no. 75, pp. 47592–47601, 2017.

[5] J.-W. Yoo, D. J. Irvine, D. E. Discher, and S. Mitragotri, “Bio-inspired, bioengineered and biomimetic drug delivery carriers,” *Nat. Rev. Drug Discov.*, vol. 10, no. 7, pp. 521–535, 2011.

[6] A. Muñoz-Bonilla, M. Fernández-García, and J. Rodríguez-Hernández, “Towards hierarchically ordered functional porous polymeric surfaces prepared by the breath figures approach,” *Prog. Polym. Sci.*, vol. 39, no. 3, pp. 510–554, 2014.

[7] E. Munch, M. E. Launey, D. H. Alsem, E. Saiz, A. P. Tomsia, and R. O. Ritchie, “Tough, Bio-Inspired Hybrid Materials,” *Science (80-.).*, vol. 322, no. 5907, pp. 1516–1520, 2008.

[8] Y. Ou *et al.*, “Nonlithographic fabrication of nanostructured micropatterns via breath figures and solution growth,” *J. Phys. Chem. C*, vol. 118, no. 8, pp. 4403–4409, 2014.

[9] E. Ferrari, P. Fabbri, and F. Pilati, “Solvent and substrate contributions to the formation of breath figure patterns in polystyrene films,” *Langmuir*, vol. 27, no. 5, pp. 1874–1881, 2011.

[10] L. Zhu, Y. Ou, L. Wan, and Z. Xu, “Polystyrenes with Hydrophilic End Groups: Synthesis, Characterization, and E ff ects on the Self-Assembly of

Breath Figure Arrays," 2014.

[11] L. Li *et al.*, "Thermally stable and solvent resistant honeycomb structured polystyrene films via photochemical cross-linking," *J. Mater. Chem.*, vol. 19, no. 39, p. 7222, 2009.

[12] A. Zhang, H. Bai, and L. Li, "Breath Figure: A Nature-Inspired Preparation Method for Ordered Porous Films," *Chem. Rev.*, vol. 115, no. 18, pp. 9801–9868, 2015.

[13] M. S. Park and J. K. Kim, "Breath figure patterns prepared by spin coating in a dry environment," *Langmuir*, vol. 20, no. 13, pp. 5347–5352, 2004.

[14] M. S. Park, W. Joo, and J. K. Kim, "Porous structures of polymer films prepared by spin coating with mixed solvents under humid condition," *Langmuir*, vol. 22, no. 10, pp. 4594–4598, 2006.

[15] H. T. Ham, I. J. Chung, Y. S. Choi, S. H. Lee, and S. O. Kim, "Macroporous polymer thin film prepared from temporarily stabilized water-in-oil emulsion," *J. Phys. Chem. B*, vol. 110, no. 28, pp. 13959–13964, 2006.

[16] E. Bormashenko, S. Balter, Y. Bormashenko, and D. Aurbach, "Honeycomb structures obtained with breath figures self-assembly allow water/oil separation," *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.*, vol. 415, pp. 394–398, 2012.

[17] J. Mansouri, E. Yapit, and V. Chen, "Polysulfone filtration membranes with isoporous structures prepared by a combination of dip-coating and breath figure approach," *J. Memb. Sci.*, vol. 444, pp. 237–251, 2013.

[18] T. Cosgrove, *Colloid Science: Principles, Methods and Applications*. 2009.

[19] W. H. Suck, M. Byun, and Z. Lin, "Robust self-assembly of highly ordered complex structures by controlled evaporation of confined microfluids," *Angew. Chemie - Int. Ed.*, vol. 48, no. 3, pp. 512–516, 2009.

[20] M. Byun, W. Han, B. Li, X. Xin, and Z. Lin, "An unconventional route to hierarchically ordered block copolymers on a gradient patterned surface through controlled evaporative self-assembly," *Angew. Chemie - Int. Ed.*, vol. 52, no. 4, pp. 1122–1127, 2013.

[21] L. Ding, A. Zhang, W. Li, H. Bai, and L. Li, “Multi-length scale porous polymer films from hypercrosslinked breath figure arrays,” *J. Colloid Interface Sci.*, vol. 461, pp. 179–184, 2016.

[22] P. Escalé, W. Van Camp, F. Du Prez, L. Rubatat, L. Billon, and M. Save, “Highly structured pH-responsive honeycomb films by a combination of a breath figure process and in situ thermolysis of a polystyrene-block-poly(ethoxy ethyl acrylate) precursor,” *Polym. Chem.*, pp. 4710–4717, 2013.

[23] J. Li *et al.*, “Highly ordered microporous films containing a polyolefin segment fabricated by the breath-figure method using well-defined polymethylene-b-polystyrenecopolymers,” *Polym. Chem.*, vol. 1, no. 2, pp. 164–167, 2010.

[24] B. J. Briscoe and K. P. Galvin, “The evolution of a 2D constrained growth system of droplets-breath figures,” *J. Phys. D Appl. Phys.*, vol. 23, no. 4, pp. 422–428, 1990.

[25] M. H. Stenzel and T. P. Davis, “Biomimetic Honeycomb-Structured Surfaces Formed from Block Copolymers Incorporating Acryloyl Phosphorylcholine,” in *Australian Journal of Chemistry*, 2003, vol. 56, no. 10, pp. 1035–1038.

[26] P. C. Chen, L. S. Wan, B. B. Ke, and Z. K. Xu, “Honeycomb-patterned film segregated with phenylboronic acid for glucose sensing,” *Langmuir*, vol. 27, no. 20, pp. 12597–12605, 2011.

[27] J. Li, J. Cheng, Y. Zhang, and P. Gopalakrishnakone, “Influence of vacuum on the formation of porous polymer films via water droplets templating,” *Colloid Polym. Sci.*, vol. 287, no. 1, pp. 29–36, 2009.

[28] P. Escalé, L. Rubatat, C. Derail, M. Save, and L. Billon, “PH sensitive hierarchically self-organized bioinspired films,” *Macromol. Rapid Commun.*, vol. 32, no. 14, pp. 1072–1076, 2011.

[29] K. H. Wong, T. P. Davis, C. Barner-Kowollik, and M. H. Stenzel, “Gold-loaded organic/inorganic nanocomposite honeycomb membranes,” in *Australian Journal of Chemistry*, 2006, vol. 59, no. 8, pp. 539–543.

[30] J. Kim, B. Lew, and W. S. Kim, “Facile fabrication of super-hydrophobic nano-needle arrays via breath figures method,” *Nanoscale Res. Lett.*, vol. 6,

no. 1, p. 616, 2011.

[31] R. Takekoh and T. P. Russell, “Multi-length scale porous polymers,” *Adv. Funct. Mater.*, vol. 24, no. 10, pp. 1483–1489, 2014.

[32] C. Barner-Kowollik, H. Dalton, T. P. Davis, and M. H. Stenzel, “Nano- and micro-engineering of ordered porous blue-light-emitting films by templating well-defined organic polymers around condensing water droplets,” *Angew. Chemie - Int. Ed.*, vol. 42, no. 31, pp. 3664–3668, 2003.

[33] L. Lu and S. A. Jenekhe, “Poly(vinyl diphenylquinoline): A new pH-tunable light-emitting and charge-transport polymer synthesized by a simple modification of polystyrene,” *Macromolecules*, vol. 34, no. 18, pp. 6249–6254, 2001.

[34] M. H. Stenzel, “Formation of regular honeycomb-patterned porous film by self-organization,” *Aust. J. Chem.*, vol. 55, no. 4, pp. 239–243, 2002.

[35] B. He, J. Li, X. Zhang, Z. Li, Y. Hou, and C. Shi, “Honeycomb-Structured Porous Films Controlled by the Temperature of Water Bath,” *Polym. J.*, vol. 40, no. 12, pp. 1180–1184, 2008.

[36] J. P. Gao *et al.*, “Well-defined monocarboxyl-terminated polystyrene with low molecular weight: A candidate for the fabrication of highly ordered microporous films and microspheres via a static breath-figure process,” *Eur. Polym. J.*, vol. 59, pp. 171–179, 2014.

[37] Y. Zheng, Y. Kubowaki, M. Kashiwagi, and K. Miyazaki, “Process optimization of preparing honeycomb-patterned polystyrene films by breath figure method,” *J. Mech. Sci. Technol.*, vol. 25, no. 1, pp. 33–36, 2011.

[38] a. Limaye, R. Narhe, a. Dhote, and S. Ogale, “Evidence for Convective Effects in Breath Figure Formation on Volatile Fluid Surfaces,” *Phys. Rev. Lett.*, vol. 76, no. 20, pp. 3762–3765, 1996.

[39] M. Srinivasarao, “Three-Dimensionally Ordered Array of Air Bubbles in a Polymer Film,” *Science (80-.).*, vol. 292, no. 5514, pp. 79–83, 2001.

[40] O. Karthaus, N. Maruyama, X. Cieren, M. Shimomura, H. Hasegawa, and T. Hashimoto, “Water-assisted formation of micrometer-size honeycomb patterns of polymers,” *Langmuir*, vol. 16, no. 15, pp. 6071–6076, 2000.

[41] A. Z. Samuel, S. Umapathy, and S. Ramakrishnan, “Functionalized and postfunctionalizable porous polymeric films through evaporation-induced phase separation using mixed solvents,” *ACS Appl. Mater. Interfaces*, vol. 3, no. 9, pp. 3293–3299, 2011.

[42] J. Peng, Y. Han, J. Fu, Y. Yang, and B. Li, “Formation of regular hole pattern in polymer films,” *Macromol. Chem. Phys.*, vol. 204, no. 1, pp. 125–130, 2003.

[43] C. X. Liu, W. Z. Lang, B. Bin Shi, and Y. J. Guo, “Fabrication of ordered honeycomb porous polyvinyl chloride (PVC) films by breath figures method,” *Mater. Lett.*, vol. 107, pp. 53–55, 2013.

[44] H. Yabu *et al.*, “Preparation of highly oriented nano-pit arrays by thermal shrinking of honeycomb-patterned polymer films,” *Adv. Mater.*, vol. 20, no. 21, pp. 4200–4204, 2008.

[45] P. S. Brown, E. L. Talbot, T. J. Wood, C. D. Bain, and J. P. S. Badyal, “Superhydrophobic hierarchical honeycomb surfaces,” *Langmuir*, vol. 28, no. 38, pp. 13712–13719, 2012.

[46] S. Shojaei-Zadeh, S. R. Swanson, and S. L. Anna, “Highly uniform micro-cavity arrays in flexible elastomer film,” *Soft Matter*, vol. 5, no. 4, p. 743, 2009.

[47] E. Bormashenko, R. Pogreb, Y. Bormashenko, R. Grynyov, and O. Gendelman, “Low voltage reversible electrowetting exploiting lubricated polymer honeycomb substrates,” *Appl. Phys. Lett.*, vol. 104, no. 17, 2014.

[48] B. Zhao, J. Zhang, H. Wu, X. Wang, and C. Li, “Fabrication of honeycomb ordered polycarbonate films using water droplets as template,” *Thin Solid Films*, vol. 515, no. 7–8, pp. 3629–3634, 2007.

[49] E. Bormashenko, R. Pogreb, O. Stanevsky, Y. Bormashenko, Y. Socol, and O. Gendelman, “Self-assembled honeycomb polycarbonate films deposited on polymer piezoelectric substrates and their applications,” *Polym. Adv. Technol.*, vol. 16, no. 4, pp. 299–304, 2005.

[50] Y. Tian, S. Liu, H. Ding, L. Wang, B. Liu, and Y. Shi, “Formation of honeycomb-patterned polyetherketone cardo (PEK-C) films in a highly

humid atmosphere," *Macromol. Chem. Phys.*, vol. 207, no. 21, pp. 1998–2005, 2006.

[51] A. Gugliuzza, M. C. Aceto, F. Macedonio, and E. Drioli, "Water droplets as template for next-generation self-assembled poly-(etheretherketone) with cardo membranes," *J. Phys. Chem. B*, vol. 112, no. 34, pp. 10483–10496, 2008.

[52] X. Jiang, J. Gu, Y. Shen, S. Wang, and X. Tian, "Formation of honeycomb-patterned microporous films based on a fluorinated poly(siloxane imide) segmented copolymer," *J. Appl. Polym. Sci.*, vol. 119, no. 6, pp. 3329–3337, 2011.

[53] L. Wang, Y. Tian, H. Ding, and B. Liu, "Formation of ordered macroporous films from fluorinated polyimide by water droplets templating," *Eur. Polym. J.*, vol. 43, no. 3, pp. 862–869, 2007.

[54] Y. Tian, Q. Jiao, H. Ding, Y. Shi, and B. Liu, "The formation of honeycomb structure in polyphenylene oxide films," *Polymer (Guildf).*, vol. 47, no. 11, pp. 3866–3873, 2006.

[55] Y. Tian, H. Ding, Q. Jiao, and Y. Shi, "Influence of solvents on the formation of honeycomb films by water droplets templating," *Macromol. Chem. Phys.*, vol. 207, no. 5, pp. 545–553, 2006.

[56] Y. Xu, B. Zhu, and Y. Xu, "A study on formation of regular honeycomb pattern in polysulfone film," *Polymer (Guildf).*, vol. 46, no. 3, pp. 713–717, 2005.

[57] Y. Liu, H. Ma, Y. Tian, F. Xie, and X. Wang, "Fabrication of durable honeycomb-patterned films of poly(ether sulfone)s via breath figures," *Macromol. Chem. Phys.*, vol. 215, no. 15, pp. 1446–1455, 2014.

[58] H. Yabu, M. Tanaka, K. Ijiro, and M. Shimomura, "Preparation of honeycomb-patterned polyimide films by self-organization," *Langmuir*, vol. 19, no. 15, pp. 6297–6300, 2003.

[59] Y. Zhang, Y. Tian, and L. Wang, "Porous honeycomb films prepared from poly (phthalazionone ether sulfone ketone) (PPESK) by self-organization method," *J. Appl. Polym. Sci.*, vol. 109, no. 3, pp. 1524–1528, 2008.

[60] U. H. F. Bunz, “Breath figures as a dynamic templating method for polymers and nanomaterials,” *Advanced Materials*, vol. 18, no. 8. pp. 973–989, 2006.

[61] N. Maruyama *et al.*, “Mesoscopic pattern formation of nanostructured polymer assemblies,” *Supramol. Sci.*, vol. 5, no. 3–4, pp. 331–336, 1998.

[62] J. P. Hill, M. V. Lee, X. Y. Yu, K. Okamoto, M. R. Linford, and K. Ariga, “Macroporous poly(aromatic amine): Synthesis and film fabrication,” *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.*, vol. 354, no. 1–3, pp. 156–161, 2010.

[63] H. Yabu, K. Akagi, and M. Shimomura, “Micropatterning of liquid crystalline polyacetylene derivative by using self-organization processes,” *Synth. Met.*, vol. 159, no. 9–10, pp. 762–764, 2009.

[64] M. H. Nurmawati *et al.*, “Amphiphilic poly(p-phenylene)s for self-organized porous blue-light-emitting thin films,” *Adv. Funct. Mater.*, vol. 16, no. 18, pp. 2340–2345, 2006.

[65] Y. Fukuhira, H. Yabu, K. Ijiro, and M. Shimomura, “Interfacial tension governs the formation of self-organized honeycomb-patterned polymer films,” *Soft Matter*, vol. 5, no. 10, p. 2037, 2009.

[66] T. Nishikawa *et al.*, “Micropatterns based on deformation of a viscoelastic honeycomb mesh,” *Langmuir*, vol. 19, no. 15, pp. 6193–6201, 2003.

[67] X. Zhao, Q. Cai, G. Shi, Y. Shi, and G. Chen, “Formation of ordered microporous films with water as templates from poly(D,L-lactic-co-glycolic acid) solution,” *J. Appl. Polym. Sci.*, vol. 90, no. 7, pp. 1846–1850, 2003.

[68] V. Sharma, L. Song, R. L. Jones, M. S. Barrow, P. R. Williams, and M. Srinivasarao, “Effect of solvent choice on breath-figure-templated assembly of ‘holey’ polymer films,” *EPL (Europhysics Lett.*, vol. 91, no. 3, p. 38001, 2010.

[69] J. Blaschke, T. Lapp, B. Hof, and J. Vollmer, “Breath figures: Nucleation, growth, coalescence, and the size distribution of droplets,” *Phys. Rev. Lett.*, vol. 109, no. 6, 2012.

[70] M. Mei, B. Yu, M. Zou, and L. Luo, “A numerical study on growth mechanism of dropwise condensation,” *Int. J. Heat Mass Transf.*, vol. 54, no. 9–10, pp. 2004–2013, 2011.

[71] X. Wu, M. D. Jones, M. G. Davidson, J. B. Chaudhuri, and M. J. Ellis, “Surfactant-free poly(lactide-co-glycolide) honeycomb films for tissue engineering: Relating solvent, monomer ratio and humidity to scaffold structure,” *Biotechnol. Lett.*, vol. 33, no. 2, pp. 423–430, 2011.

[72] B. Zhao, J. Zhang, X. Wang, and C. Li, “Water-assisted fabrication of honeycomb structure porous film from poly(<scp>l</scp> -lactide),” *J. Mater. Chem.*, vol. 16, no. 5, pp. 509–513, 2006.

[73] E. Servoli, G. A. Ruffo, and C. Migliaresi, “Interplay of kinetics and interfacial interactions in breath figure templating - A phenomenological interpretation,” *Polymer (Guildf).*, vol. 51, no. 11, pp. 2337–2344, 2010.

[74] V.-T. Bui, S. H. Ko, and H.-S. Choi, “A surfactant-free bio-compatible film with a highly ordered honeycomb pattern fabricated via an improved phase separation method,” *Chem. Commun.*, vol. 50, no. 29, p. 3817, 2014.

[75] M. Yamamura, S. Eikai, Y. Mawatari, and H. Kage, “Drying-Induced Hierarchical Dimple Patterns on Partially Miscible Polymeric Films Under Ordered Convections,” *Dry. Technol.*, vol. 31, no. 11, pp. 1212–1218, 2013.

[76] W. Kasai and T. Kondo, “Fabrication of Honeycomb-Patterned Cellulose Films,” *Macromol. Biosci.*, vol. 4, no. 1, pp. 17–21, 2004.

[77] B. Yu *et al.*, “Fabrication of highly ordered porous membranes of cellulose triacetate on ice substrates using breath figure method,” *J. Polym. Sci. Part B Polym. Phys.*, vol. 53, no. 8, pp. 552–558, 2015.

[78] W. Liu *et al.*, “Self-organized ordered microporous thin films from grafting copolymers,” *Polymer (Guildf).*, vol. 50, no. 12, pp. 2716–2726, 2009.

[79] W. Funke, “Microgels-Intramolecularly Crosslinked Macromolecules with a Globular Structure,” *Adv. Polym. Sci.*, vol. 136, pp. 139–234, 1998.

[80] L.-W. Zhu, W. Yang, L.-S. Wan, and Z.-K. Xu, “Synthesis of core cross-linked star polystyrene with functional end groups and self-assemblies templated by breath figures,” *Polym. Chem.*, vol. 5, no. 17, p. 5175, 2014.

[81] H. T. Lord, J. F. Quinn, S. D. Angus, M. R. Whittaker, M. H. Stenzel, and T. P. Davis, “Microgel stars viaReversible Addition Fragmentation Chain Transfer (RAFT) polymerisation — a facile route to macroporous

membranes, honeycomb patterned thin films and inverse opal substrates," *J. Mater. Chem.*, vol. 13, no. 11, pp. 2819–2824, 2003.

[82] H. Battenbo, R. J. Cobley, and S. P. Wilks, "A quantitative study of the formation of breath figure templated polymer materials," *Soft Matter*, vol. 7, no. 22, p. 10864, 2011.

[83] W. Han, B. Li, and Z. Lin, "Drying-mediated assembly of colloidal nanoparticles into large-scale microchannels," *ACS Nano*, vol. 7, no. 7, pp. 6079–6085, 2013.

[84] J. Xu, J. Xia, and Z. Lin, "Evaporation-induced self-assembly of nanoparticles from a sphere-on-flat geometry," *Angew. Chemie - Int. Ed.*, vol. 46, no. 11, pp. 1860–1863, 2007.

[85] Y. Sakatanì, C. Boissière, D. Grosso, L. Nicole, G. J. A. A. Soler-Illia, and C. Sanchez, "Coupling nanobuilding block and breath figures approaches for the designed construction of hierarchically templated porous materials and membranes," *Chem. Mater.*, vol. 20, no. 3, pp. 1049–1056, 2008.

[86] W. K. Chan *et al.*, "Porous metallic films fabricated by self-assembly of gold nanoparticles," *Thin Solid Films*, vol. 491, no. 1–2, pp. 66–70, Nov. 2005.

[87] A. E. Saunders *et al.*, "Inverse opal nanocrystal superlattice films," *Nano Lett.*, vol. 4, no. 10, pp. 1943–1948, 2004.

[88] C. Deleuze, C. Derail, M. H. Delville, and L. Billon, "Hierarchically structured hybrid honeycomb films via micro to nanosized building blocks," *Soft Matter*, vol. 8, no. 33, p. 8559, 2012.

[89] J. Gómez-Segura, O. Kazakova, J. Davies, P. Josephs-Franks, J. Veciana, and D. Ruiz-Molina, "Self-organization of Mn12 single-molecule magnets into ring structures induced by breath-figures as templates.," *Chem. Commun. (Camb).*, no. 45, pp. 5615–5617, 2005.

[90] H. Sun *et al.*, "Self-organized honeycomb structures of Mn12 single-molecule magnets," *J. Phys. Chem. B*, vol. 113, no. 44, pp. 14674–14680, 2009.

[91] B. P. Nair and C. Pavithran, "Micropatterned surfaces through moisture-induced phase-separation of polystyrene-clay nanocomposite particles,"

Langmuir, vol. 26, no. 15, pp. 12948–12952, 2010.

[92] L.-S. Wan, Q.-L. Li, P.-C. Chen, and Z.-K. Xu, “Patterned biocatalytic films via one-step self-assembly,” *Chem. Commun.*, vol. 48, no. 37, p. 4417, 2012.

[93] Y. Saito, M. Shimomura, and H. Yabu, “Breath figures of nanoscale bricks: A universal method for creating hierarchic porous materials from inorganic nanoparticles stabilized with mussel-inspired copolymers,” *Macromol. Rapid Commun.*, vol. 35, no. 20, pp. 1763–1769, 2014.

[94] H. Takamori, T. Fujigaya, Y. Yamaguchi, and N. Nakashima, “Simple preparation of self-organized single-walled carbon nanotubes with honeycomb structures,” *Adv. Mater.*, vol. 19, no. 18, pp. 2535–2539, 2007.

[95] N. Wakamatsu, H. Takamori, T. Fujigaya, and N. Nakashima, “Self-organized single-walled carbon nanotube conducting thin films with honeycomb structures on flexible plastic films,” *Adv. Funct. Mater.*, vol. 19, no. 2, pp. 311–316, 2009.

[96] O. Karthaus, X. Cieren, N. Maruyama, and M. Shimomura, “Mesoscopic 2-D ordering of inorganic/organic hybrid materials,” *Mater. Sci. Eng. C*, vol. 10, no. 1–2, pp. 103–106, 1999.

[97] X. Li *et al.*, “Fabrication of honeycomb-patterned polyalkylcyanoacrylate films from monomer solution by breath figures method,” *J. Colloid Interface Sci.*, vol. 350, no. 1, pp. 253–259, 2010.

[98] D. Randal and S. Lee, *The polyurethanes book*. John Wiley & Sons, Ltd., 2002.

[99] P. Vermette, H. J. Griesser, G. Laroche, and R. Guidoin, *Tissue engineering intelligence unit 6.* 2001.

[100] L. A. Matheson, J. P. Santerre, and R. S. Labow, “Changes in Macrophage Function and Morphology due to Biomedical Polyurethane Surfaces Undergoing Biodegradation,” *J. Cell. Physiol.*, vol. 199, no. 1, pp. 8–19, 2004.

[101] S. A. Guelcher, “Biodegradable Polyurethanes: Synthesis and Applications in Regenerative Medicine,” *Tissue Eng. Part B Rev.*, vol. 14, no. 1, pp. 3–17,

2008.

[102] K. Stokes, R. McVenes, and J. M. Anderson, “Polyurethane Elastomer Biostability,” *J. Biomater. Appl.*, vol. 9, no. 4, pp. 321–354, 1995.

[103] P. a Gunatillake, G. F. Meijs, S. J. McCarthy, and R. Adhikari, “Poly(dimethylsiloxane)/poly(hexamethylene oxide) mixed macrodiol based polyurethane elastomers. I. Synthesis and properties,” *J. Appl. Polym. Sci.*, vol. 76, no. 14, pp. 2026–2040, 2000.

[104] R. Adhikari, P. A. Gunatillake, S. J. McCarthy, and G. F. Meijs, “Low-modulus siloxane-based polyurethanes. I. Effect of the chain extender 1,3-bis(4-hydroxybutyl)1,1,3,3-tetramethyldisiloxane (BHTD) on properties and morphology,” *J. Appl. Polym. Sci.*, vol. 83, no. 4, pp. 736–746, 2001.

[105] E. Bormashenko *et al.*, “Mesoscopic and submicroscopic patterning in thin polymer films: Impact of the solvent,” *Mater. Lett.*, vol. 59, no. 19–20, pp. 2461–2464, 2005.

[106] R. Daly, J. E. Sader, and J. J. Boland, “The dominant role of the solvent-water interface in water droplet templating of polymers,” *Soft Matter*, vol. 9, no. 33, pp. 7960–7965, 2013.

[107] F. Galeotti, E. Kozma, W. Mroz, and B. Kutrzeba-Kotowska, “Single-step shaping of fluorescent polymer beads by a reverse breath figure approach,” *RSC Adv.*, vol. 5, no. 46, pp. 36315–36319, 2015.

[108] L. Ghannam, M. Manguian, J. François, and L. Billon, “A versatile route to functional biomimetic coatings: ionomers for honeycomb-like structures,” *Soft Matter*, vol. 3, no. 12, p. 1492, 2007.

[109] S. H. Lee *et al.*, “Three-dimensional self-assembly of graphene oxide platelets into mechanically flexible macroporous carbon films,” *Angew. Chemie - Int. Ed.*, vol. 49, no. 52, pp. 10084–10088, 2010.

[110] N. B. M. Hanafiah, M. Vetrichelvan, and S. Valiyaveettil, “Morphological investigations of self-assembled films from a pyridine -incorporated poly (p-phenylene),” *J. Porous Mater.*, vol. 13, no. 3, pp. 315–317, 2006.

[111] C. C. Chang *et al.*, “Using a breath-figure method to self-organize honeycomb-like polymeric films from dendritic side-chain polymers,” *Mater.*

Chem. Phys., vol. 128, no. 1–2, pp. 157–165, 2011.

[112] C. X. Cheng, Y. Tian, Y. Q. Shi, R. P. Tang, and F. Xi, “Porous polymer films and honeycomb structures based on amphiphilic dendronized block copolymers.,” *Langmuir*, vol. 21, no. 14, pp. 6576–81, 2005.

[113] C. Wang, Y. Mao, D. Wang, Q. Qu, G. Yang, and X. Hu, “Fabrication of highly ordered microporous thin films by PS-b-PAA self-assembly and investigation of their tunable surface properties,” *J. Mater. Chem.*, vol. 18, no. 6, p. 683, 2008.

[114] Z. Li *et al.*, “Morphology and wettability control of honeycomb porous films of amphiphilic fluorinated pentablock copolymers via breath figure method,” *RSC Adv.*, vol. 4, no. 91, pp. 49655–49662, 2014.

[115] Z. Li, X. Ma, D. Zang, Q. Hong, and X. Guan, “Honeycomb porous films of pentablock copolymer on liquid substrates via breath figure method and their hydrophobic properties with static and dynamic behaviour,” *RSC Adv.*, vol. 5, no. 27, pp. 21084–21089, 2015.

[116] L. A. Connal and G. G. Qiao, “Honeycomb coated particles: porous doughnuts, golf balls and hollow porous pockets,” *Soft Matter*, vol. 3, no. 7, pp. 837–839, 2007.

[117] J. E. Mark, “Some interesting things about polysiloxanes,” *Acc. Chem. Res.*, vol. 37, no. 12, pp. 946–953, 2004.

[118] Y. A. Su *et al.*, “Honeycomb-like polymeric films from dendritic polymers presenting reactive pendent moieties,” *Polym. (United Kingdom)*, vol. 55, no. 6, pp. 1481–1490, 2014.

[119] Y. Xu, Z. Tong, J. Xia, B. Hu, and J. Lin, “Urushiol-formaldehyde polymer microporous films with acid-alkali resistance property: Effects of formation conditions on surface morphologies,” *Prog. Org. Coatings*, vol. 72, no. 3, pp. 586–591, 2011.

[120] G. Vamvounis, D. Nyström, P. Antoni, M. Lindgren, S. Holdcroft, and A. Hult, “Self-assembly of poly(9,9’-dihexylfluorene) to form highly ordered isoporous films via blending,” *Langmuir*, vol. 22, no. 9, pp. 3959–3961, 2006.

[121] L. Li *et al.*, “Constructing robust 3-dimensionally conformal micropatterns:

vulcanization of honeycomb structured polymeric films," *Soft Matter*, vol. 7, no. 2, pp. 546–552, 2011.

[122] X. Jiang, X. Zhou, Y. Zhang, T. Zhang, Z. Guo, and N. Gu, "Interfacial effects of in situ-synthesized ag nanoparticles on breath figures," *Langmuir*, vol. 26, no. 4, pp. 2477–2483, 2010.

[123] A. Zhang, C. Du, H. Bai, Y. Wang, J. Wang, and L. Li, "Formation of breath figure arrays in methanol vapor assisted by surface active agents," *ACS Appl. Mater. Interfaces*, vol. 6, no. 11, pp. 8921–8927, 2014.

[124] J. Ding, A. Zhang, H. Bai, L. Li, J. Li, and Z. Ma, "Breath figure in non-aqueous vapor," *Soft Matter*, vol. 9, no. 2, pp. 506–514, 2013.

[125] L. Li *et al.*, "Breath figure lithography: A facile and versatile method for micropatterning," *J. Colloid Interface Sci.*, vol. 342, no. 1, pp. 192–197, 2010.

[126] W. Bai, X. Xiao, L. Cai, Y. Xu, and J. Lin, "Fabrication of morphology-controlled nano/microstructural polyfluorene in mixed nonsolvent vapor atmospheres," *React. Funct. Polym.*, vol. 76, no. 1, pp. 13–18, 2014.

[127] L. A. Connal, R. Vestberg, C. J. Hawker, and G. G. Qiao, "Dramatic morphology control in the fabrication of porous polymer films," *Adv. Funct. Mater.*, vol. 18, no. 22, pp. 3706–3714, 2008.

[128] A. S. De Leon *et al.*, "Dendritic amphiphiles as additives for honeycomb-like patterned surfaces by breath figures: Role of the molecular characteristics on the pore morphology," *J. Colloid Interface Sci.*, vol. 440, pp. 263–271, 2015.

[129] Y. Uraki *et al.*, "Honeycomb-like architecture produced by living bacteria, Gluconacetobacter xylinus," *Carbohydr. Polym.*, vol. 69, no. 1, pp. 1–6, 2007.

[130] D. Ishii, H. Yabu, and M. Shimomura, "Selective metal deposition in hydrophobic porous cavities of self-organized honeycomb-patterned polymer films by all-wet electroless plating," *Colloids Surfaces A Physicochem. Eng. Asp.*, vol. 313–314, pp. 590–594, 2008.

[131] I. A. Bashmakov, L. V. Govor, L. V. Solovieva, and J. Parisi, "Preparation of

self-assembled carbon network structures with magnetic nanoparticles," *Macromol. Chem. Phys.*, vol. 203, no. 3, pp. 544–549, 2002.

[132] K. Kon, C. N. Brauer, K. Hidaka, H. G. Löhmannsŕoben, and O. Karthaus, "Preparation of patterned zinc oxide films by breath figure templating," *Langmuir*, vol. 26, no. 14, pp. 12173–12176, 2010.

[133] J. Wang, C.-F. Wang, H.-X. Shen, and S. Chen, "Quantum-dot-embedded ionomer-derived films with ordered honeycomb structures via breath figures.," *Chem. Commun. (Camb).*, vol. 46, no. 39, pp. 7376–8, 2010.

[134] H. Zhao, Y. Shen, S. Zhang, and H. Zhang, "A vapor phase hydrothermal modification method converting a honeycomb structured hybrid film into photoactive TiO2 film," *Langmuir*, vol. 25, no. 18, pp. 11032–11037, 2009.

[135] L. Li *et al.*, "Honeycomb-patterned hybrid films and their template applications via a tunable amphiphilic block polymer/inorganic precursor system," *Chem. Mater.*, vol. 21, no. 20, pp. 4977–4983, 2009.

[136] C. Y. Ma *et al.*, "Patterned carbon nanotubes with adjustable array: A functional breath figure approach," *Chem. Mater.*, vol. 22, no. 7, pp. 2367–2374, 2010.

[137] M. S. Park and J. K. Kim, "Broad-band antireflection coating at near-infrared wavelengths by a breath figure," *Langmuir*, vol. 21, no. 24, pp. 11404–11408, 2005.

[138] S. Samanta, D. P. Chatterjee, R. K. Layek, and A. K. Nandi, "Multifunctional porous poly(vinylidene fluoride)-graft-poly(butyl methacrylate) with good Li+ ion conductivity," *Macromol. Chem. Phys.*, vol. 212, no. 2, pp. 134–149, 2011.

[139] V. Vohra, A. Bolognesi, G. Calzaferri, and C. Botta, "Multilevel organization in hybrid thin films for optoelectronic applications," *Langmuir*, vol. 25, no. 20, pp. 12019–12023, 2009.

[140] L. Heng, J. Zhai, Y. Zhao, J. Xu, X. Sheng, and L. Jiang, "Enhancement of photocurrent generation by honeycomb structures in organic thin films," *ChemPhysChem*, vol. 7, no. 12, pp. 2520–2525, 2006.

[141] C. Wang, Q. Liu, X. Shao, G. Yang, H. Xue, and X. Hu, "One step fabrication

of nanoelectrode ensembles formed via amphiphilic block copolymers self-assembly and selective voltammetric detection of uric acid in the presence of high ascorbic acid content," *Talanta*, vol. 71, no. 1, pp. 178–185, 2007.

[142] X. Sun, C. Brückner, M.-P. Nieh, and Y. Lei, "A fluorescent polymer film with self-assembled three-dimensionally ordered nanopores: preparation, characterization and its application for explosives detection," *J. Mater. Chem. A*, vol. 2, no. 35, pp. 14613–14621, 2014.

[143] K. Kon, K. Nakajima, and O. Karthaus, "Polymer Honeycomb Templated Microporous TiO2 Films with Enhanced Photocatalytic Activity," *e-Journal Surf. Sci. Nanotechnol.*, vol. 6, pp. 161–163, 2008.

[144] Y. Zhang and C. Wang, "Micropatterning of proteins on 3D porous polymer films fabricated by using the breath-figure method," *Adv. Mater.*, vol. 19, no. 7, pp. 913–916, 2007.

[145] A. S. de León, J. Rodríguez-Hernández, and A. L. Cortajarena, "Honeycomb patterned surfaces functionalized with polypeptide sequences for recognition and selective bacterial adhesion," *Biomaterials*, vol. 34, no. 5, pp. 1453–1460, 2013.

[146] S. Chen, X. Lu, Z. Huang, and Q. Lu, "In situ growth of a polyphosphazene nanoparticle coating on a honeycomb surface : facile formation of hierarchical structures for bioapplication †," *Chem. Commun.*, vol. 51, pp. 5698–5701, 2015.

[147] S. Chen, X. Lu, Y. Hu, and Q. Lu, "Biomimetic honeycomb-patterned surface as the tunable cell adhesion scaffold," *Biomater. Sci.*, vol. 3, no. 1, pp. 85–93, 2015.

[148] S. Mongkhontreerat, M. V Walter, Y. Cai, H. Brismar, A. Hult, and M. Malkoch, "Functional porous membranes from amorphous linear dendritic polyester hybrids," *Polym. Chem.*, vol. 6, no. 13, pp. 2390–2395, 2015.

[149] Y. Fu and W. J. Kao, "Drug release kinetics and transport mechanisms of non-degradable and degradable polymeric delivery systems," *Expert Opin. Drug Deliv.*, vol. 7, no. 4, pp. 429–444, 2010.

[150] O. Pillai and R. Panchagnula, "Polymers in drug delivery," *Curr. Opin. Chem.*

Biol., vol. 5, pp. 447–451, 2001.

[151] R. O. Ebewele, “Polymer Science and Technology,” *Polym. Sci. Technol.*, p. 483, 2000.

[152] A. Simmons, A. D. Padsalgikar, L. M. Ferris, and L. A. Poole-Warren, “Biostability and biological performance of a PDMS-based polyurethane for controlled drug release,” *Biomaterials*, vol. 29, no. 20, pp. 2987–2995, 2008.

[153] E. Seo and K. Na, “Polyurethane membrane with porous surface for controlled drug release in drug eluting stent,” *Biomater. Res.*, vol. 18, no. 1, p. 15, 2014.

[154] M. Mândru, C. Ciobanu, S. Vlad, M. Butnaru, L. Lebrun, and M. Popa, “Characteristics of polyurethane-based sustained release membranes for drug delivery,” *Cent. Eur. J. Chem.*, vol. 11, no. 4, pp. 542–553, 2013.

[155] S. G. Kang *et al.*, “Paclitaxel-polyurethane film for anti-cancer drug delivery: Film characterization and preliminary in vivo study,” *Macromol. Res.*, vol. 18, no. 7, pp. 680–685, 2010.

[156] D. K. Lee *et al.*, “The effect on porcine bile duct of a metallic stent covered with a paclitaxel-incorporated membrane,” *Gastrointest. Endosc.*, vol. 61, no. 2, pp. 296–301, 2005.

[157] G. Verreck *et al.*, “Incorporation of drugs in an amorphous state into electrospun nanofibers composed of a water-insoluble, nonbiodegradable polymer,” *J. Control. Release*, vol. 92, no. 3, pp. 349–360, 2003.

[158] Y. Hong *et al.*, “Generating elastic, biodegradable polyurethane/poly(lactide-co-glycolide) fibrous sheets with controlled antibiotic release via two-stream electrospinning,” *Biomacromolecules*, vol. 9, no. 4, pp. 1200–1207, 2008.

[159] D. Levy, P. W. Wilson, K. M. Anderson, and W. P. Castelli, “Stratifying the patient at risk from coronary disease: new insights from the Framingham Heart Study.,” *Am. Heart J.*, vol. 119, no. 3 Pt 2, p. 712–7; discussion 717, 1990.

[160] L. Bathum, R. Depont Christensen, L. Engers Pedersen, P. Lyngsie Pedersen, J. Larsen, and J. Nexøe, “Association of lipoprotein levels with mortality in subjects aged 50 + without previous diabetes or cardiovascular

disease: A population-based register study," *Scand. J. Prim. Health Care*, vol. 31, no. 3, pp. 172–180, 2013.

[161] J. D. Neaton *et al.*, "Serum cholesterol level and mortality findings for men screened in the Multiple Risk Factor Intervention Trial. Multiple Risk Factor Intervention Trial Research Group.," *Arch. Intern. Med.*, vol. 152, no. 7, pp. 1490–500, 1992.

[162] J. W. Nawrocki *et al.*, "Reduction of LDL Cholesterol by 25% to 60% in Patients With Primary Hypercholesterolemia by Atorvastatin, a New HMG-CoA Reductase Inhibitor," *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, vol. 15, no. 5, pp. 678–682, 1995.

[163] N. Kumar, S. Chaurasia, R. R. Patel, G. Khan, V. Kumar, and B. Mishra, "Atorvastatin calcium encapsulated eudragit nanoparticles with enhanced oral bioavailability, safety and efficacy profile.," *Pharm. Dev. Technol.*, vol. 22, no. 2, pp. 156–167, 2017.

[164] T. M. Heinonen *et al.*, "The lipid-lowering effects of atorvastatin, a new HMG-CoA reductase inhibitor: Results of a randomized, double-masked study," *Clin. Ther.*, vol. 18, no. 5, pp. 853–863, 1996.

[165] Z. Li *et al.*, "The studies of PLGA nanoparticles loading atorvastatin calcium for oral administration in vitro and in vivo," *Asian J. Pharm. Sci.*, vol. 12, no. 3, pp. 285–291, 2017.

[166] Y. C. Chou, Y. K. Wang, M. J. Charng, and Y. F. Ueng, "Determination of serum atorvastatin concentrations in lipid-controlling patients with and without myalgia syndrome," *J. Food Drug Anal.*, vol. 21, no. 2, pp. 147–153, 2013.

[167] H. Lennernäs, "Clinical Pharmacokinetics of Atorvastatin," *Clinical Pharmacokinetics*, vol. 42, no. 13. pp. 1141–1160, 2003.

[168] Y. Kawabata, K. Wada, M. Nakatani, S. Yamada, and S. Onoue, "Formulation design for poorly water-soluble drugs based on biopharmaceutics classification system: Basic approaches and practical applications," *International Journal of Pharmaceutics*, vol. 420, no. 1. pp. 1–10, 2011.

[169] C. Leuner and J. Dressman, “Improving drug solubility for oral delivery using solid dispersions.,” *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, vol. 50, no. 1, pp. 47–60, 2000.

[170] M. Anwar *et al.*, “Enhanced bioavailability of nano-sized chitosan-atorvastatin conjugate after oral administration to rats,” *Eur. J. Pharm. Sci.*, vol. 44, no. 3, pp. 241–249, 2011.

[171] M. S. Kim *et al.*, “Preparation, characterization and in vivo evaluation of amorphous atorvastatin calcium nanoparticles using supercritical antisolvent (SAS) process,” *Eur. J. Pharm. Biopharm.*, vol. 69, no. 2, pp. 454–465, 2008.

[172] K. Sharma, S. S. Hallan, B. Lal, A. Bhardwaj, and N. Mishra, “Development and characterization of floating spheroids of atorvastatin calcium loaded NLC for enhancement of oral bioavailability,” *Artif. Cells, Nanomedicine, Biotechnol.*, pp. 1–9, 2015.

[173] F. Khan, M. S. Islam, M. A. Roni, and R. U. Jalil, “Systematic development of self-emulsifying drug delivery systems of atorvastatin with improved bioavailability potential,” *Sci. Pharm.*, vol. 80, no. 4, pp. 1027–1043, 2012.

[174] Q. Tian, F. Ding, L. Guo, J. Wang, F. Wu, and Y. Yu, “Targeted solid lipid nanoparticles with peptide ligand for oral delivery of atorvastatin calcium,” *RSC Adv.*, vol. 6, no. 42, pp. 35901–35909, 2016.

[175] S. Sripriyalakshmi, C. H. Anjali, C. George Priya Doss, B. Rajith, and A. Ravindran, “BSA nanoparticle loaded atorvastatin calcium - A new facet for an old drug,” *PLoS One*, vol. 9, no. 2, 2014.

[176] B. A. Golomb and M. A. Evans, “Statin adverse effects : a review of the literature and evidence for a mitochondrial mechanism.,” *Am. J. Cardiovasc. Drugs*, vol. 8, no. 6, pp. 373–418, 2008.

[177] A. Kidney, D. Dragos, D. Pruteanu, and R. Constantin, “SM Gr up SM Journal of Nephrology and Kidney Diseases High-Dose Statin Associated with Thrombocytopenia,” *SM J. Nephrol. Kidney Dis.*, vol. 1, no. 1, pp. 1–7, 2017.

[178] P. Ahn *et al.*, “Rhabdomyolysis and acute kidney injury associated with

hypothyroidism and statin therapy.," *Endocrinol. Metab. (Seoul, Korea)*, vol. 28, no. 4, pp. 331–4, 2013.

[179] Ich, "ICH Topic Q2 (R1) Validation of Analytical Procedures : Text and Methodology," *Int. Conf. Harmon.*, vol. 1994, no. November 1996, p. 17, 2005.

[180] E. Scholten, L. Bromberg, G. C. Rutledge, and T. A. Hatton, "Electrospun polyurethane fibers for absorption of volatile organic compounds from air," *ACS Appl. Mater. Interfaces*, vol. 3, no. 10, pp. 3902–3909, 2011.

[181] C. M. Hansen, "The Three Dimensional Solubility Parameter and Solvent Diffusion Coefficient. Their Importance in Surface Coating Formulation," *J. Paint Technol.*, p. 104, 1967.

[182] R. Dong, H. Ma, J. Yan, Y. Fang, and J. Hao, "Tunable morphology of 2D honeycomb-patterned films and the hydrophobicity of a ferrocenyl-based oligomer," *Chem. - A Eur. J.*, vol. 17, no. 27, pp. 7674–7684, 2011.

[183] M. H. Stenzel, T. P. Davis, and A. G. Fane, "Honeycomb structured porous films prepared from carbohydrate based polymers synthesized via the RAFT process," *J. Mater. Chem.*, vol. 13, no. 9, p. 2090, 2003.

[184] K. Gorna and S. Gogolewski, "In vitro degradation of novel medical biodegradable aliphatic polyurethanes based on ε-caprolactone and Pluronics® with various hydrophilicities," *Polym. Degrad. Stab.*, vol. 75, no. 1, pp. 113–122, 2002.

[185] S. Gogolewski and K. Gorna, "Biodegradable polyurethane cancellous bone graft substitutes in the treatment of iliac crest defects," *J. Biomed. Mater. Res. - Part A*, vol. 80, no. 1, pp. 94–101, 2007.

[186] K.-H. Hwangbo, M. R. Kim, C.-S. Lee, and K. Y. Cho, "Facile fabrication of uniform golf-ball-shaped microparticles from various polymers," *Soft Matter*, vol. 7, no. 22, p. 10874, 2011.

[187] S. Anand, K. Rykaczewski, S. B. Subramanyam, D. Beysens, and K. K. Varanasi, "How droplets nucleate and grow on liquids and liquid impregnated surfaces," *Soft Matter*, vol. 11, no. 1, pp. 69–80, 2015.

[188] M. Pulat and C. Senvar, "Structural and surface properties of polyurethane

membranes of different porosities," *Polym. Test.*, vol. 14, no. 2, pp. 115–120, 1995.

[189] K. D. Kavlock, T. W. Pechar, J. O. Hollinger, S. A. Guelcher, and A. S. Goldstein, "Synthesis and characterization of segmented poly(esterurethane urea) elastomers for bone tissue engineering," *Acta Biomater.*, vol. 3, no. 4, pp. 475–484, 2007.

[190] S. Fredenberg, M. Wahlgren, M. Reslow, and A. Axelsson, "The mechanisms of drug release in poly(lactic-co-glycolic acid)-based drug delivery systems - A review," *Int. J. Pharm.*, vol. 415, no. 1–2, pp. 34–52, 2011.

[191] K. Elkharraz *et al.*, "Paclitaxel-loaded microparticles and implants for the treatment of brain cancer: Preparation and physicochemical characterization," *Int. J. Pharm.*, vol. 314, no. 2, pp. 127–136, 2006.

ÖZGEÇMİŞ

Kimlik Bilgileri

Adı Soyadı	Gizem Daban
Doğum Yeri	Ankara
Medeni Hali	Bekar
E-posta	dabangizem@gmail.com
Adresi	Hacettepe Üniversitesi, Biyomühendislik Anabilim Dalı, Beytepe, Çankaya, Ankara

Eğitim

Lisans	Bilkent Üniversitesi Fen Fakültesi Kimya Bölümü
Yüksek Lisans	Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyomühendislik Anabilim Dalı

Yabancı Dil ve Düzeyi İngilizce/iyi

İş Deneyimi

Deneyim Alanları Yüzey kaplama teknikleri, Nefes Figürü Metodu, kendiliğinden düzenlenme, biyomalzemeler, poliüretan.

Tezden Üretilmiş Projeler ve Bütçesi

Tezden Üretilmiş Yayınlar

Tezden Üretilmiş Tebliğ ve/veya Poster Sunumu ile Katıldığı Toplantılar

- Macro 2016 Poster Sunumu,
- 19. UKUBK Poster Sunumu ve birincilik ödülü

HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
YÜKSEK LİSANS/DOKTORA TEZ ÇALIŞMASI ORJİNALLİK RAPORU

HACETTEPE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLER ENSTİTÜSÜ
BİYOMÜHENDİSLİK ANABİLİM DALI BAŞKANLIĞI'NA

Tarih: 28/12/2017

Tez Başlığı / Konusu: Nefes Figürü Yaklaşımı İle Sentezlenmiş Gözenekli Poliüretan Filmlerin Hazırlanması, Karakterizasyonu ve Biyouyumluluklarının Değerlendirilmesi

Yukarıda başlığı/konusu gösterilen tez çalışmamın a) Kapak sayfası, b) Giriş, c) Ana bölümler d) Sonuç kısımlarından oluşan toplam 65 sayfalık kısmına ilişkin, 21/12/2017 tarihinde ~~şahsım~~/tez danışmanım tarafından *Turnitin* adlı intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan orijinallik raporuna göre, tezimin benzerlik oranı % 3 'tür.

Uygulanan filtrelemeler:

1- Kaynakça hariç
2- Alıntılar hariç/~~dâhil~~
3- 5 kelimeden daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç

Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Çalışması Orjinallik Raporu Alınması ve Kullanılması Uygulama Esasları'nı inceledim ve bu Uygulama Esasları'nda belirtilen azami benzerlik oranlarına göre tez çalışmamın herhangi bir intihal içermediğini; aksinin tespit edileceği muhtemel durumda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve yukarıda vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.

Gereğini saygılarımla arz ederim.

Tarih ve İmza
28/12/2017

Adı Soyadı:	Gizem Daban
Öğrenci No:	N15229869
Anabilim Dalı:	Biyomühendislik
Programı:	Yüksek Lisans
Statüsü:	☒ Y.Lisans ☐ Doktora ☐ Bütünleşik Dr.

DANIŞMAN ONAYI

UYGUNDUR.

Prof. Dr. Emir Baki Denkbaş