T. C.
CUMHURİYET ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

KONTROLLÜ İLAÇ SALIM SİSTEMLERİNDE KULLANILAN POLİMERİK MİKRO KÜRELERİN NANOMEKANİK ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Merve KÜÇÜKOFLAZ

(20169252001)

Nanoteknoloji Mühendisliği Ana Bilim Dalı

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Mustafa Oğuzhan ÇAĞLAYAN

SİVAS

MART 2018

Merve KÜÇÜKOFLAZ'ın hazırladığı ve **"KONTROLLÜ İLAÇ SALIM SİSTEMLERİNDE KULLANILAN POLİMERİK MİKRO KÜRELERİN NANOMEKANİK ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ"** adlı bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından **NANOTEKNOLOJİ MÜHENDİSLİĞİ ANA BİLİM DALI** 'nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Tez Danışmanı	**Doç. Dr. Mustafa Oğuzhan ÇAĞLAYAN** Cumhuriyet Üniversitesi	……
Jüri Üyesi	**Prof. Dr. Ünsal AÇIKEL** Cumhuriyet Üniversitesi	……..……
Jüri Üyesi	**Prof. Dr. Zafer ÜSTÜNDAĞ** Dumlupınar Üniversitesi	……..……..

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

Prof. Dr. İsmail ÇELİK

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MÜDÜRÜ

Bu tez, Cumhuriyet Üniversitesi Senatosu'nun 20.08.2014 tarihli ve 7 sayılı kararı ile kabul edilen Fen Bilimleri Enstitüsü Lisansüstü Tez Yazım Kılavuzu (Yönerge)'nda belirtilen kurallara uygun olarak hazırlanmıştır.

Bütün hakları saklıdır.

Kaynak göstermek koşuluyla alıntı ve gönderme yapılabilir.

© Merve KÜÇÜKOFLAZ, 2018

Çalışma sırasında bana destek olan aileme ve tüm arkadaşlarıma...

ETİK

Cumhuriyet Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tez Yazım Kılavuzu (Yönerge)'nda belirtilen kurallara uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmasında;

- ✓ 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 ve atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- ✓ Bütün bilgilerin doğru ve tam olduğunu, kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- ✓ Tezin herhangi bir bölümünü, Cumhuriyet Üniversitesi veya bir başka üniversitede, bir başka tez çalışması olarak sunmadığımı; beyan ederim.

01.02.2018

Merve KÜÇÜKOFLAZ

TEŞEKKÜR

Bu tez çalışması süresince her türlü maddi manevi yardımı esirgemeyen annem Aliye KÜÇÜKOFLAZ'a, babam Hüseyin KÜÇÜKOFLAZ'a ve abim Mehmet KÜÇÜKOFLAZ'a teşekkür ederim.

Bilgi ve deneyimlerinden sürekli yararlandığım, tezin her aşamasında yardımlarını esirgemeyen bazen bir baba bazen bir abi olan danışman hocam Doç. Dr. Mustafa Oğuzhan ÇAĞLAYAN 'ya çok teşekkür ederim.

ÖZET

KONTROLLÜ İLAÇ SALIM SİSTEMLERİNDE KULLANILAN POLİMERİK MİKRO KÜRELERİN NANOMEKANİK ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ

Merve KÜÇÜKOFLAZ

Yüksek Lisans Tezi

Nanoteknoloji Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. Mustafa Oğuzhan ÇAĞLAYAN

2018, 84+xi sayfa

Kontrollü ilaç salım sistemleri, ilacın uygun dozda hastaya uygulanması ve tercihen ilacın etkin olacağı bölgeye hedeflenmesini amaçlar. Bu amaçla, suda çözünen veya yağda çözünen ilaçlar için farklı yapılarda taşıyıcının sentezlenmesi gerekir. Taşıyıcılar genellikle gözenekli ve şişebilen çapraz bağlı polimerik yapılardan oluşur ve en uygun taşıyıcı şekli küre formudur. Bu çalışma, poli(vinil asetat-co-divinil benzen) mikro kürelerin farklı içeriklerde üretilmesi ve üretilen taşıyıcıların mikro mekanik özelliklerinin belirlenmesini hedeflemiştir. Mikro küre formunda üretilmiş olan taşıyıcıların mekanik özellikleri, özellikle topikal ve oral ilaç uygulamalarında önemlidir. İlaç yüklenmiş bir mikro küre taşıyıcının hedefe varmadan mekanik hasara uğraması, veya topikal uygulama sırasında parçalanması, taşıyıcı içerisinde hapsedilmiş ilacın erken ve yüksek dozlarda sisteme karışmasına neden olacaktır. Bu nedenle, ilaç yüklemesi yapılmadan önce bir taşıyıcının mekanik özelliklerinin belirlenmesi hayati önem taşımaktadır. Ancak 1-10 μm boyutlarındaki mikro kürelerin mekanik özelliklerinin belirlenmesi klasik mekanik testler ile oldukça zordur. Bu nedenle mikro veya nano mekanik test yöntemleri uygulanmalıdır. Bu çalışmada, atomik kuvvet mikroskobisi (AFM) ve kuvvet spektroskopisi (FS) kullanılarak bireysel mikro kürelerin mekanik özellikleri nanoindentasyon yöntemi ile belirlenmiştir. Sınırlı indentasyon derinliği kullanılarak, Hertz elastik deformasyon modeline uygun analizler gerçekleştirilmiş ve malzemenin sıkıştırma elastik modülü hesaplanarak, çoklu verilerin histogramı şeklinde sunulmuştur. Mikro kürelerin mekanik özelliklerinin, çıkış lateksine bağlı olduğu ve kopolimerdeki divinil benzen miktarının

elastik modülü 600 MPa’dan 1.2 GPa artırdığı gözlenmiştir. Nano ölçekte gözenekliliğin ölçüm sonuçlarına etkisinin sınırlı olduğu ve üretim yönteminin mekanik davranışa olan etkisinin bu yöntem ile belirlenebileceği görülmüştür.

Boyutları birkaç mikro metre olan bir malzemenin elastik ve plastik deformasyon özelliklerinin belirlenmesi amacıyla önerilen yöntem, malzemenin gözeneklilik ve pürüzülülük gibi özelliklerinin de belirlenmesi ile, ilaç taşıyıcı sistemler için 45 μm’den daha düşük çapta üretilen mikro kürelerin mekanik testlerinin yapılmasına uygundur.

Anahtar kelimeler: kontrollü ilaç salımı, ilaç taşıyıcı sistemler, polimerik mikro küre, nanoindentasyon, nano mekanik özellikler

ABSTRACT

DETERMINATION OF THE NANOMECHANICAL PROPERTIES OF POLYMERIC MICROSPHERES USED IN CONTROLLED DRUG DELIVERY SYSTEMS

Merve KÜÇÜKOFLAZ
Master of Science Thesis
Department of Nanotechnology Engineering
Supervisor: Doç. Dr. Mustafa Oğuzhan ÇAĞLAYAN
2018, 84+xi pages

Controlled drug delivery systems are intended to deliver the drug to the patient at the appropriate dose and preferably to the site where the drug will be most effective. For this purpose, different types of carriers must be synthesized either for water-soluble or oil-soluble drugs. Carriers usually consist of porous and swollen cross-linked polymeric structures and the most suitable carrier-shape is sphere form. This study aimed to produce poly (vinyl acetate-co-divinyl benzene) microspheres with different contents and to determine the micromechanical properties of the produced carriers. The mechanical properties of the carriers produced in the form of microspheres are particularly important in topical and oral drug applications. If a drug loaded microsphere carrier disintegrates before reaching the target or fails during a topical application due to mechanical damage, it will cause premature release resulting high doses for the patient. For this reason, it is vital to determine the mechanical properties of a carrier before drug loading. However, mechanical property determination of 1-10 μm sized microspheres is very difficult with conventional mechanical tests. For this reason, micro or nanomechanical test methods should be applied. In this study, mechanical properties of individual microspheres were determined by atomic force microscopy (AFM) and force spectroscopy (FS) by nanoindentation method. Using limited depth of indentation, analyzes suitable for Hertz elastic deformation model were performed and compression elastic modulus of material was calculated and presented as histogram of multiple data. It was observed that the mechanical properties

of the microspheres increased from 600 MPa to 1.2 GPa were dependent on the precrusor latex seed and the amount of divinyl benzene in the copolymer. It has been found that the effect of nanoscale porosity on measurement results is limited and the effect of the production method on mechanical behavior can be determined by this method. The proposed method for determining the elastic and plastic deformation properties of a material having a few micrometers in dimensions is suitable for performing mechanical tests of microspheres produced in diameters less than 45 μm for drug delivery systems by determining properties such as porosity and roughness of the material.

Key Words: controlled drug release, drug delivery systems, polymeric microsphere, nanoindentation, nanomechanical properties.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR vii
ÖZET viii
ABSTRACT x
ŞEKİLLER DİZİNİ 14
ÇİZELGELER DİZİNİ 17
KISALTMALAR DİZİNİ 18

1.GİRİŞ 19
1.1 Kontrollü İlaç Salım Sistemleri 19
1.2 Biyomalzemeler 21
1.3 Hidrojeller 22
1.4 Polimerik mikropartiküller ve mikroenkapsülasyon teknikleri 23
1.5 Mikro Küreler 25
1.6 Mikro Küreleri Hazırlama Yöntemleri 26
1.6.1 Çözücü buharlaştırma yöntemi 27
1.6.2 Protein jelleştirme yöntemleri 28
1.6.2.1 Isı ile denatürasyon 29
1.6.2.2 Kimyasal yolla çapraz bağ oluşturulması 29
1.6.2.2.1 Epiklorohidrin ile çapraz bağ oluşturulmuş nişasta mikro küreleri 31
1.6.2.2.2 Çapraz bağ oluşturulmuş polar mikro küreler 31
1.6.2.3 Desolvasyon 32
1.7 Polimerizasyon Yöntemleri 32
1.7.1 Dispersiyon polimerizasyonu 33
1.7.2 Çok basamaklı mikro süspansiyon polimerizasyonu ile monodispers gözenekli partikül sentezi 35
1.8 Küresel Kristalizasyon Tekniği 39
1.9 Kausi-Emülsiyon Çözücü Difüzyon Yöntemi 39
1.10 Sıcakta Eritme Yöntemi 40
1.11 Polimerik mikro partiküllerin karakteristikleri 41
1.12 Mikro küreler ve Mekanik Özelliklerin Belirlenmesi 42

2. MATERYAL VE METOD 44
2.1 Kontrollü İlaç Salım Materyallerinin Üretimi 44
2.1.1 PS çıkış lateksinin üretimi 44
2.1.2 Çok basamaklımikro süspansiyon polimerizasyonu yöntemi ile eşboyutlu-gözenekli poli(VAc-co-DVB) mikro kürelerin üretimi 46

2.1.3 Eş boyutlu-gözenekli poli(VAc-co-DVB) mikro kürelerin üretim yöntemi....48
2.1.4 Poli(VAc-co-DVB) Partiküllerin Hidrolizi....51
2.2 Atomik Kuvvet Mikroskobisi ve Nanomekanik Testler....52
2.2.1 Atomik kuvvet mikroskobisi (AFM)....52
2.2.2 Nanoindentasyon....54
3.SONUÇLAR....57
3.1 Parçacık Deformasyonunun Modellenmesi....57
3.2 PS 1……....59
3.2.1 PS çıkış lateksinin üretimi ve karakterizasyonu....59
3.2.2 PS1 - Elektron mikroskobisi sonuçları....59
3.2.3 PS1 AFM morfoloji analizleri....60
3.2.4 PS1 için kuvvet spektroskopisi analizleri....61
3.3 PS2……....65
3.3.1 PS2 - Elektron mikroskobisi sonuçları....65
3.3.2 PS2 AFM morfoloji analizleri....66
3.3.3 PS2 için kuvvet spektroskopisi analizleri....67
3.4 DVB 1…....69
3.4.1 DVB1 Elektron mikroskobisi sonuçları....69
3.4.2 DVB1 için kuvvet spektroskopisi analizleri....70
3.5 DVB 2 ……..72
3.5.1 DVB 2 - Elektron mikroskobisi sonuçları....72
3.5.2 DVB 2 AFM morfoloji analizleri....73
3.5.3 DVB2 için kuvvet spektroskopisi analizleri....74
3.6 DVB 31....76
3.6.1 DVB 31 - Elektron mikroskobisi sonuçları....76
3.6.2 DVB31 için kuvvet spektroskopisi analizleri....77
3.7 DVB 32....79
3.7.1 DVB 32 - Elektron mikroskobisi sonuçları....79
3.8 Genel Karşılaştırma ve Sonuç....82
KAYNAKLAR....84
ÖZGEÇMİŞ ……

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1 İlaç-plazma değişiminin zamanla değişimi (Gürsoy ve diğ.,1989). . 19

Şekil 1.2 İlacı akciğere taşımak için kullanılan partiküllerin mikroskobik görüntüsü (Arslan,2006). 20

Şekil 1.3 Çözücü buharlaştırma yöntemi şeması 27

Şekil 1.4 Isı ile denatürasyon işlemi ısıtma, yüksek basınç, asit gibi etkilerle proteinlerin yapısının bozulması sonucu mikro küre eldesi 29

Şekil 1.5 Dispersiyon polimerizasyonunun şematik gösterimi (Gokmen ve diğ., 2012). 33

Şekil 1.6 Çok basamaklı mikro süspansiyon polimerizasyonunun şematik gösterimi (Gokmen ve diğ., 2012). 36

Şekil 1.7 PM 1 (a,b), PM 2 (c,d) PM 3 (e,f) partiküllerinin SEM fotoğrafları (Srisopa ve diğ., 2011). 38

Şekil 1.8 DVB partiküllerin SEM görüntüleri (Omer-Mizrahi ve diğ., 2010). 39

Şekil 1.9 Mikro kürelerin Kausi-Emülsiyon çözücü difüzyon yöntemi ile hazırlanma işlemi ve mekanizması 40

Şekil 2.1 Eş boyutlu gözenekli poli (VAc-co-DVB) partiküllerin sentezi için kullanılan *"Çok Basamaklı Mikro süspansiyon Polimerizasyonu"* yöntemi 47

Şekil 2.2 Poli(VAc-co-DVB) mikro kürelerin sentezinde kullanılan monomer ve çapraz bağlayıcı monomer 48

Şekil 2.3 Eş boyutlu-gözenekli partiküllerin bazik hidrolizi 51

Şekil 2.4 Tipik bir AFM mikro yay ve sivri ucu b) AFM çalışma prensibi 52

Şekil 2.5 Yüzey ile etkileşen AFM ucunun karşılaştığı deformasyon şekilleri (Roa ve diğ., 2011). 53

Şekil 2.6 AFM cihazı ile nanoindentasyon 54

Şekil 3.1 AFM indentasyon işleminde ölçüler ve koordinatlar. 58

Şekil 3.2 Çıkış lateksi olan polistiren 59

Şekil 3.3 PS1 lateksine ait boyut dağılımı 60

Şekil 3.4 PS1 lateksine ait 3D AFM görüntüsü 60

Şekil 3.5 Bir numuneye ait kuvvet spektroskopi eğrisi 62

Şekil 3.6 Nanoindentasyon işlemi ve elde edilen F-d eğrileri (örnek) 62

Şekil 3.7 PS1 lateksine ait elastik modül değerleri (çok sayıda ölçümün dağılımı

olarak elde edilmiştir). 64

Şekil 3.8 PS1 çıkış lateksine ait hesaplanan gözeneklilik..... 64

Şekil 3.9 Çıkış lateksi olan polistiren (PS2) 65

Şekil 3.10 PS2 lateksine ait boyut dağılımı 66

Şekil 3.11 PS2 lateksine ait 3D AFM görüntüsü 66

Şekil 3.12 PS2 lateksine ait elastik modül değerleri (çok sayıda ölçümün dağılımı olarak elde edilmiştir)..... 68

Şekil 3.13 PS2 çıkış lateksine ait hesaplanan gözeneklilik..... 68

Şekil 3.14 Poli(VAc-co-DVB) partiküllerin (DVB) boy dağılımı ve yüzey morfolojisini gösteren SEM fotoğrafları 69

Şekil 3.15 Poli(VAc-co-DVB) partiküllerin (DVB) boy dağılımı..... 70

Şekil 3.16 DVB1 mikro küresine ait elastik modül değerleri (çok sayıda ölçümün dağılımı olarak elde edilmiştir)..... 71

Şekil 3.17 DVB1 mikro küresine ait hesaplanan gözeneklilik 71

Şekil 3.18 Poli(VAc-co-DVB) partiküllerin (DVB) boy dağılımı ve yüzey morfolojisini gösteren SEM fotoğrafları 72

Şekil 3.19 Poli(VAc-co-DVB) partiküllerin (DVB) boy dağılımı..... 73

Şekil 3.20 DVB2 lateksine ait 3D AFM görüntüsü 74

Şekil 3.21 DVB2 mikro küresine ait elastik modül değerleri (çok sayıda ölçümün dağılımı olarak elde edilmiştir)..... 75

Şekil 3.22 DVB2 mikro küresine ait hesaplanan gözeneklilik 76

Şekil 3.23 Poli(VAc-co-DVB) partiküllerin (DVB) boy dağılımı ve yüzey morfolojisini gösteren SEM fotoğrafları 76

Şekil 3.24 Poli(VAc-co-DVB) partiküllerin (DVB) boy dağılımı..... 77

Şekil 3.25 DVB31 mikro küresine ait elastik modül değerleri (çok sayıda ölçümün dağılımı olarak elde edilmiştir)..... 78

Şekil 3.26 DVB 31 mikro küresine ait hesaplanan gözeneklilik 78

Şekil 3.27 Poli(VAc-co-DVB) partiküllerin (DVB) boy dağılımı ve yüzey morfolojisini gösteren SEM fotoğrafları 79

Şekil 3.28 Poli(VAc-co-DVB) partiküllerin (DVB) boy dağılımı..... 80

Şekil 3.29 DVB32 mikro küresine ait elastik modül değerleri (çok sayıda ölçümün dağılımı olarak elde edilmiştir)..... 81

Şekil 3.30 DVB 32 mikro küresine ait hesaplanan gözeneklilik 82

Şekil 3.31 Tüm kürelerin ortalama karşılaştırması 83

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 1.1 Farklı oranlar ve çıkış latekslerıyle üretilen polimerler (Srisopa ve diğ., 2011). 37

Çizelge 2.1 Monodispers formda polistiren çıkış lateksi sentezi için dispersiyon polimerizasyonu koşulları 46

Çizelge 2.2 Sentezlenen poli(VAc-co-DVB) bazlı mikro küreler 47

Çizelge 2.3 Poli(VAc-co-DVB) bazlı mikro küre sentez koşulları 50

Çizelge 3.1 PS1 lateksine ait boyut dağılımı 61

Çizelge 3.2 PS2 lateksine ait boyut dağılımı 67

KISALTMALAR DİZİNİ

SAP : Süperabsorbent

SPH : Süpergözenekli hidrojel

SPHC : Süpergözenekli hidrojel kompozit

CMC : Karboksimetil selüloz

NaCMC : Karboksi metil selüloz-sodyum

PLGA : Poli(laktik-co-glikolik asit)

PHB : Poli(3-hidroksibütirat)

PCL : Poli(e-kaprolakton)

SH : Sülfidril grupları

AIBN :2-2'- azobisizobütironitril

BPO : Benzoil peroksit

AFM :Atomik Kuvvet Mikroskobisi

[poli(VAc-co-DVB)] : Poli(vinil asetat-co-divinilbenzen)

PS : Polistiren

THF : Tetrahidrofuran

PVA : Polivinilalkol

SEM : Taramalı Elektron Mikroskobu

VAc : Vinil asetat

DVB : Divinilbenzen

DBP : Dibütil ftalat

SDS : Sodyum dodesil sülfat

THF : Tetrahidrofuran

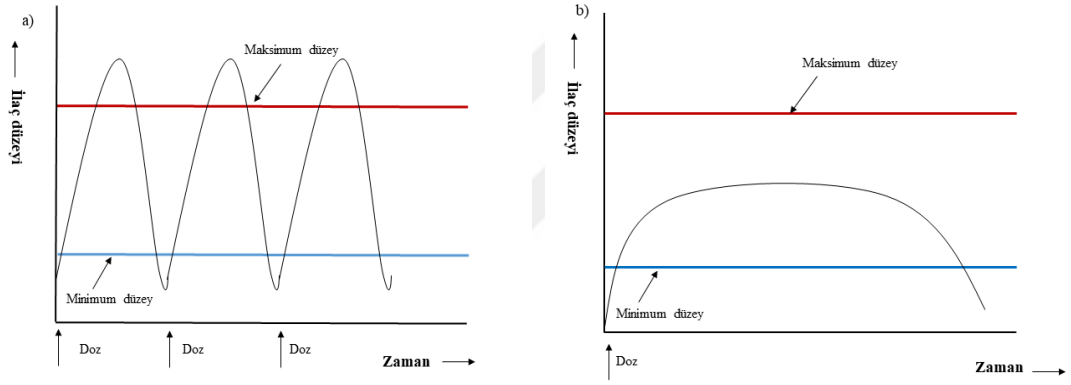
FS : Kuvvet spektroskopisinin

1.GİRİŞ

1.1. Kontrollü İlaç Salım Sistemleri

Yeni biyolojik etkilere sahip ilaçların keşfedilmesi ile birlikte bu ilaçların hastaya veriliş yöntemi daha çok önem kazanmıştır. İlacın veriliş şeklini değiştirmek için geliştirilen sistemlerin başında genellikle polimerlerin kullanıldığı kontrollü ilaç salım sistemleri gelir. Kontrollü salım sistemleri, ilaç taşıyan ve taşıdıkları ilacı istenilen hız ve sürede salacak şekilde hazırlanmış sistemlerdir.

Klasik ilaç kullanım şekillerinde ortaya çıkan sorunlar göz önüne alındığında, kontrollü salım yapan polimer sistemlerin popüleritesinin son yıllarda artmasının nedeni kolayca anlaşılabilir. Halen, etken maddelerin verilmesinde kullanılan klasik yöntemlerin çoğunda sık ve tekrarlanan dozlar gerekmektedir.



(a) Standart dozaj şekli. (b) Kontrollü salım yapan dozaj şekli

Şekil 1.1 İlaç-plazma değişiminin zamanla değişimi (Gürsoy ve diğ.,1989).

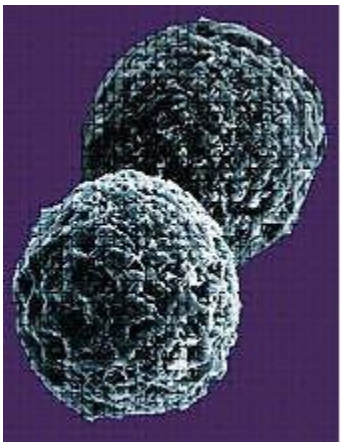
Etken maddenin sistemde çözünme hızı ilaç derişimini artırırken, etken maddenin metabolize edilme, parçalanma veya sistemden uzaklaşma hızına bağlı olarak ilaç derişimi azalmaktadır (Şekil 1.1).

Şekil 1.1'de görüldüğü gibi ilaç plazma derişimi etken düzeyin altında ve güvenilir düzeyin (toksik sınır) üstündeki bölgelerde salım göstermektedir ve etken maddenin boşa harcandığı anlamına gelir. Bu durum, canlı için istenmeyen durumlar ortaya çıkarabilir. Etken maddenin boşa harcanması durumunun ortadan kaldırılması ve ilacın salım hızının yavaşlatılması için yapılan çalışmalarda, etken maddenin selüloz gibi maddelerle kapsüllenmesi, ilaç çözünürlüğünü azaltan maddeler ile kompleks hale

getirilmiş tabletler, emülsiyon veya süspansiyonların kullanılması gibi yaklaşımlar mevcuttur (Gürsoy ve diğ.,1989).

Fakat, bu sistemlerde salınan ilaç miktarının canlıya göre değişiklik göstermesi ve salımın diğer ortam koşullarından (sıcaklık, pH gibi) önemli ölçüde etkilenmesi sebebiyle ilacın tekrarlanması ve bunun yarattığı sorunlar ortadan kaldırılamamıştır. Bu nedenle yeni ilaç salım teknikleri arayışına devam edilmiştir. Katı polimer taşıyıcılarla birlikte etken madde taşıma çalışmalarına 1950'lerde tarım ilaçları ile başlanmıştır. Etken madde taşıma yöntemi tıp alanına 1960'ların ortalarında girmiştir. Başlangıçta etken madde diyaliz tüpü veya silikon kauçuk tüp içine konmuş veya bir polietilen matriks içinde homojen dağıtılmıştır. 1970'lerden itibaren çalışmalar büyük moleküllü (M.A. > 600) ilaçların katı polimerlerden devamlı salınıma yönelmiştir. Etilen-vinil asetat kopolimeri ve farklı hidrojellerin kullanıldığı çalışmalar bazı mevcuttur (Gürsoy ve diğ.,1989).

Son on yılda polimerlerin taşıyıcı olarak kullanıldığı sistemlerde ilaçların, uzun süreler (bazı durumlarda bir yıldan fazla) devamlı olarak salınabileceği gösterilmektedir. Bu sistemlerde serbestleşme hızı polimerik taşıyıcı tarafından kontrol edildiği için ilaç kullanımında kişiler arasında görülen farklılıklar azalmıştır. Değişik polimer sistemler kullanılarak veya polimer-ilaç sistemini hazırlama yöntemi değiştirilerek, çok farklı serbestleşme hızları elde edilebilmiştir. Şekil 1.2'de Masschusetts Teknoloji Enstitüsü'nde yapılan bir çalışmada herhangi bir ilacı akciğerlere taşımak amacıyla kullanılan partiküllerin mikroskopik görüntüsü verilmiştir (Arslan,2006).



Şekil 1.2 İlacı akciğere taşımak için kullanılan partiküllerin mikroskobik görüntüsü (Arslan,2006).

İlaç verilmesini kontrol etme aracı olarak polimerlerin kullanıldığı salım sistemlerini içeren teknoloji dalına "Kontrollü Salım Teknolojisi" adı verilmiştir.
Devamlı etkili sistemlerde ilaç bir polimer yapıdan belli bir süre salınır. Kontrollü salım yapan sistemlerde ise, polimer taşıyıcı ilacın salım mekanizmasını ve hızını uzun bir süre kontrol eder. Polimerin yapısı değiştirilerek salım mekanizması ve hızı ayarlanabilir (Arslan,2006).

1.2. Biyomalzemeler

Biyomalzemeler vücudun herhangi bir fonksiyonunu, organı ve dokusunu iyileştirmek veya yenilemek için dizayn edilen tıbbi araç veya protezlerde kullanılan maddelere verilen addır (Levin, 1968).
Biyomalzemeleri, metalik, seramik, polimerik ve kompozitler olarak sınıflandırmak mümkündür. Biyomalzemelerin en önemli grubu polimerik biyomalzemelerdir (Bronzino ve diğ., 1995). Polimerik biyomalzemeler, hem tıbbi hem de farmasötik uygulamalarda yaygın olarak kullanılmaktadırlar. Polimerik biyomateryallerin en büyük avantajları çok değişik şekil, yapı ve farklı özelliklerde hazırlanabilmeleridir (Langer ve diğ.,1984).
İlaç taşıyıcı sistemlerin vücuda yerleştirilerek gerekli fonksiyonunu istenilen sürede yerine getirmesinin ardından hidroliz ile parçalanarak ve doğal metabolik yollarla vücut dışına atılabilen birçok polimerik biyomateryal geliştirilmiştir (Barrows, 1991). Vücuda yerleştirilen biyomateryallerin bir bölümünün vücutta belli sürelerde görev alması, görevini tamamladıktan sonra metabolize edilerek vücuttan kendiliğinden, ikinci bir cerrahi işleme gerek kalmadan uzaklaşması istenir. Bu durumda biyobozunur polimerler uygulanır (Chasin ve diğ.,1990).

Polimerik materyal ilacı taşıyan bir matriks olarak görev yapar. Vücuda yerleştirilen ilaç polimer içinde çözünmüş veya dağıtılmış ya da polimerden oluşan membranlar içine yerleştirilmiştir (Pişkin, 1994). İlaç salım sistem olarak mikro küre, mikrotüp, mikrokapsül, membran, nanokapsül, süngerimsi yapı formu ve daha farklı geometrik şekillerde hazırlanan biyomalzemeler vücudun uygun bölgelerine yerleştirilir (Boretos ve diğ., 1984). İlaç salım sistemlerinde polimerin miktarca az olmasına karşın, hacimce daha fazla ilaç yüklenebilmesi önemli bir üstünlüktür (Gürsoy ve diğ, 1989).

Polimerik sistemler, vücutta parçalanabilen ve parçalanmayan polimerlerden hazırlanabilir. Parçalanmayan polimerlerin kullanıldığı sistemlerin, içerdikleri ilaç tükendiği zaman cerrahi bir işlemle çıkarılma zorunluluğu vardır. Cerrahi müdahale ise vücuttan implantın çıkarılması esnasında enfeksiyon tehlikesi yaratacağından uygun değildir. Bu sebeple, biyolojik ortamda parçalanma özelliği gösteren polimerik matrikslerin uygulanması en azından cerrahi işlem dezavantajını ortadan kaldırmaktadır (Szycher ve diğ.,1991). Biyoparçalanır polimerlerde sözkonusu olabilecek tek ve en önemli dezavantaj, polimerin parçalanma ürünlerinin yol açabilecekleri toksisite, kanserojenik etki, allerjik reaksiyonlar gibi muhtemel yan etkilerdir. Bu etkiler ise, "biyouyumluluk" terimi ile tanımlanmaktadır (Pişkin ve diğ.,1986).

1.3. Hidrojeller

Hidrojeller, hidrofilik polimer zincirlerinin kimyasal veya fiziksel olarak çapraz bağlanması ile oluşan üç boyutlu ağsı yapılardır (Park&Yang 2004). Ana zincirler arasındaki hidrojen bağları veya van der Waals etkileşimleri gibi bağlanmaların varlığı hidrojelleri çözünmez hale getirir (Gümüşderelioğlu, 2002). Bir hidrojelin suyu seven (hidrofilik) karakteri, ana zincir ya da yan dallarında hidroksil, karboksil, karbonil, amin ve amid gibi hidrojen bağı oluşturabilme yeteneğine sahip hidrofilik grupların varlığı sonucudur (Üzüm, 2008).

Böylelikle bir hidrojel kendi ağırlığının en az %10'u kadar suyu bünyesine alabilir. Su içeriği toplam ağırlığın %95'ini aşarsa hidrojel süperabsorbent (SAP) olarak adlandırılır (Park&Yang 2004). Hidrojeller, biyouyumluluk, kolay formülasyon, çapraz bağlı çözünmez ağ yapıları sonucu yüksek oranda çözücü absorplayabilme, etkili ilaç yükleme ve kontrollü kütle aktarımı gibi özellikleriyle, protein yapıdaki ilaçların kontrollü salımı için etkin ve uygun bir sınıf oluşturmaktadır (Jeong ve diğ.,1999).

Hidrojeller, geliştirilebilir mekanik özellikleri, çevredeki değişkenlere (sıcaklık, pH, elektrik vb.) duyarlı yapıları ve biyoadeziv özellikleri ile ilaçların etki yerine hedeflendirilmesine (bölgeye özgü salım) en iyi yanıt verecek sistemlerdir. Poliakrilik asit ve türevleri, kollajen, aljinat ve kitosan gibi biyoadeziv özellik taşıyan hidrojeller, istenilen bölgede lokalize olmakta ve böylece bölgesel etkin madde absorpsiyonunu

iyileştirebilmektedirler. Ancak gözeneksiz bu hidrojeller etkin ilaç salımında kullanımlarını kısıtlayan, yavaş şişme ve düşük protein yükleme kapasitesi gibi dezavantajlara sahiptirler (Yin ve diğ., 2007).

Son on yılda süpergözenekli hidrojel (SPH) ve süpergözenekli hidrojel kompozit (SPHC) polimerlerden hazırlanan ve oral yolla peptid ve proteinlerin dağıtımının arttırılmasını hedefleyen ilaç dağıtım sistemleri geliştirilmiştir. Dorkoosh ve grubu tarafından (2002) geliştirilien akrilamid-bazlı peptid yüklü süpergözenekli hidrojeller, bağırsağa ulaştığı zaman, yapıda hapsedilen peptid ilacının salımına kadar olan süreçte, yüksek gözeneklilik oranına bağlı olarak bağırsaktaki luminal akışkanları emmekte ve hızlı bir şekilde şişmektedir. Böylelikle sistem belirli bir zaman periyodu boyunca bağırsak epiteline mekaniksel olarak tutunabilmekte ve mekanik başınç ile hücreler arası sıkı bağlantı bölgelerini açmaktadır. Bu sistemlerin birkaç protein temelli ilacın (buserelin, octreotid, insulin ve desmopressin) intestinal emilimini arttırdığı yapılan *in-vitro* ve *in-vivo* çalışmalarla gösterilmiştir (Dorkoosh ve diğ., 2001; 2002a). Ancak süpergözenekli hidrojeller ve süpergözenekli kompozit hidrojeller stres altında oldukça kırılgandır, bu nedenle protein ilaçların oral yollu salımında taşıyıcı sistem olarak kullanılabilmeleri için mekanik özellikleri geliştirilmelidir (Tang ve diğ., 2004).

Süpergözenekli hidrojel, ikinci bir polimerin yapıya dahil edilmesi ile iç içe geçmiş ağ yapıya dönüştürüldüğünde, polimerin mekanik dayanımı ve elastik özellikleri arttırılabildiğinden, iç içe geçmiş ağ yapıdaki süpergözenekli hidrojel temelli taşıyıcı sistemler geliştirilmiştir (Qui & Park, 2003).

1.4. Polimerik mikropartiküller ve mikroenkapsülasyon teknikleri

Polisakkartiler (nişasta, aljinat, pektin, dekstran vb.) ve proteinler (albümin, jelatin, kolajen, glüten vb.) gibi doğal polimerik mikropartiküllerin haricinde yarı sentetik ve sentetik mikropartiküller de bulunmaktadır (Jamekhorshid ve diğ., 2014; Prajapati ve diğ., 2015;Tonessen ve diğ., 2002; Yang ve diğ., 2015).

Karboksimetil selüloz (CMC), karboksi metil selüloz-sodyum (NaCMC) ve etil selüloz gibi selüloz türevleri ve kitosan türevleri, yarı sentetik polimerlere örnek olarak verilebilir (Huang ve diğ.,2006). Literatürde karşılaşılan sentetik biyobozunur mikroenkapsülasyon polimerleri arasında laktik ve glikolik asit içeren alifatik

poliesterler, poli(laktik-co-glikolik asit) (PLGA), poli(3-hidroksibütirat) (PHB), poli(e-kaprolakton) (PCL) bulunmaktadır (Prajapati ve diğ., 2015; Versypt ve diğ., 2013). Mikroenkapsülasyon, bir polimerik matris veya kabuk içerisinde katı, sıvı veya gazların hapsedilmesi için kullanılan bir tekniktir (Ghosh, 2006).

Arayüz ve *in situ* polimerizasyon teknikleri en çok karşılaşılan kimyasal mikroenkapsülasyon teknikleridir (Jyothi ve diğ., 2010). Arayüz polimerizasyonunda, her biri emülsiyonun bir fazında çözünen iki reaktif monomer kullanılır. Emülsiyon türüne bağlı olarak hidrofilik/hidrofobik aktif maddeler dahil olmak üzere çok sayıda malzemenin enkapsülasyonunu yapmak mümkündür (Vemmer ve Pantel, 2013).

In situ polimerizasyonda, arayüz polimerizasyonuna benzer şekilde iki reaktif monomer kullanılır. Ancak bu yöntemde monomerlerin her ikisi de emülsiyonun sürekli fazında çözünebilir durumdadır. Bu nedenle de polimerizasyon sürekli faz içerisinde devam eder. Çekirdeğin üzerinde biriken polimer ile sürekli fazda bulunan aktif bileşen enkapsüle edilir (Brown ve diğ., 2003).

Fizikokimyasal enkapsülasyon teknikleri, koaservat/faz ayırma, iyonik jelleştirme ve sol-jel teknikleridir. Homojen bir polimer çözeltisinin biri polimerce zengin (koaservat) ve diğeri sıvı (düşük polimer içerikli) iki faza ayrılması ile enkapsülasyon gerçekleştirildiği ilk teknik, endüstriyel uygulamada da kullanılmaktadır (Park&Yeo, 2007). İyonik jelleştirme, polielektrolitlerin zıt yüklerin varlığında çapraz bağlanarak hidrojel oluşturması prensibine dayanır (Lam&Gambari, 2014). Aljinat, kitosan, CMC gibi farklı polikatyon veya polianyona uygulanmaktadır (Prajapati, 2015).

Sol-jel tekniğinde, çapraz bağlayıcı iyonlarının çözünmeyen tuzu polimer çözeltisi içerisindeki ilacın çözeltisine/dispersiyonuna eklenerek disperse edilir. Ardından, su/yağ emülsiyonu oluşuncaya kadar liyofilik emülsiyon kararlılık artırıcı madde içeren uygun miktarda yağ fazı ilave edilerek emülsiyon oluşturulur. Ardından yağ fazında çözünebilen bir organik asit ilave edilerek jel oluşması sağlanır. Bu yöntem, endüstriyel uygulamalar için modifiye edilebilmektedir (Reis ve diğ., 2006).

Bir diğer mikroenkapsülasyon yöntemi fizikomekanik işlemlerdir. Sık karşılaşılan türleri spreyleme ile kurutma, akışkan yatak kaplama, çözücü buharlaştırma ve santrifüj teknikleridir (Jyothi ve diğ., 2010).

Ancak bu tür enkapsülasyon yöntemlerinde boyut kontrolü sınırlı olduğundan, endüstriyel uygulamalarda tercih edilse de, ileri ilaç salım teknikleri açısından uygun değildir.

1.5. Mikro Küreler

Bazı bilim adamları tarafından yaşamın kökeni için anahtar bir aşama olarak görülen küçük küresel birimler olarak mikro küreler veya protein esaslı proto hücreler bulunmaktadır. Mikro küre terimi çok çeşitli alanlarda kullanılmaktadır.

Aşırı olmayan ısıya tabi tutulduklarında kuru amino asit karışımlarının polimerize oldukları bilinmektedir. Uygun koşullar altında elde edilen polipeptitler veya proteinoitler sıcak suda çözdürülüp kurumaya bırakıldıktan sonra 2 μm çapında oluşan mikro küreler kendi yüzeylerinde yeni küreler oluşturmaktadır (Url-1).İlaç salım sistemleri açısından mikro küreler, çapları 1 μm ile bir kaç yüz mikrometre arasında değişen, etkin maddeleri vücut içinde belirli bölgelere taşıyabilme potansiyeline sahip olan, katı, küresel mikrotaşıyıcı sistemlerdir (Gürsoy, 2002).

İlaç salım mikro küre sistemlerinden beklenen özellikler; etkin maddeyi kontrollü olarak salması, biyouyumlu olması, düşük dozlarda etkin madde kullanımına olanak vermesi ve buna bağlı olarak toksisiteyi azaltması, biyoparçalanır olması ve parçalanma ürünlerinin toksik özellik göstermemesi, etkin maddenin özelliklerini olumsuz yönde etkilememesi ve etkin maddenin stabilitesini koruyabilmesidir (Gürsoy, 2002).

Mikro küreler içlerinde etken maddenin moleküler düzeyde ya da makroskopik partiküller halinde disperse edildiği, bir kaç μm'den mm boyutlarına kadar değişen çap dağılımına sahip, katı, küresel, partiküller şeklindeki kontrollü salım sağlayan ilaç taşıyıcı sistemlerdir. Kontrollü salım, etken maddenin salım hızının ve etken maddenin vücuttaki biyolojik dağılımının kontrol edilmesini ifade etmektedir (Robinson ve diğ.,1987). Dolayısıyla mikro küreler, hem oral hem parenteral yolla sürekli etki elde edilmesi, perkütan, intra-artiküler, oftalmik veya nazal yolla bölgesel kontrollü etken madde salımı, kan dolaşımına enjeksiyonla etken maddenin etki yerine hedeflendirilmesi için kullanılabilmektedir (Duncan & Seyrnour, 1989; Tomlinson, 1983).

Mikro kürelerin etki yerine hedeflendirilmesi iki farklı yolla sağlanabilmektedir. Birincisi, ilaç taşıyıcı sistemin yapısı ve bileşiminden bağımsız olarak damar içi (i.v.) enjeksiyondan sonra vücuttaki doğal dağılımı ile oluşan pasif hedeflemedir (Oppenhieim, 1986). İkinci yol ise, belirli hücre ve reseptörler özgü monoklonal antikorların mikro küre yüzeyine bağlanması ile sağlanan aktif hedeflemedir.

Mikro küre yüzeyine takılan, spesifik tanıma özelliğine sahip biyomoleküller ile vücudun istenilen bölgesine hatta spesifik hücrelere hedefleme yapmak mümkündür (Edman ve diğ.,1986).

Bunların dışında mikro küreleri manyetik partiküller ile yüklemek de dolaşım sistemine verdikten sonra vücut dışından yönlendirerek istenilen bölgeye hedeflemeyi mümkün kılmaktadır (Kas,1990).

Bu sistemlerin bilimsel araştırmalarda çoğunlukla uygulandığı alanlar şunlardır :

* Kanser kemoterapisi
* Kardiyovasküler uygulamalar
* İnsülin ve diğer peptid/protein salınım sistemleri
* Kontraseptif uygulama (özellikle hormon salınımı)
* Enfeksiyonların tedavisi
- Antiviral ajanlar
- Antibiyotikler
- Antifungal ajanlar
- Antiparaziter ajanlar
- Bağışıklık kazandırma (Duncan & Seyrnour, 1989; Tomlinson, 1983).

1.6. Mikro Küreleri Hazırlama Yöntemleri

Mikro kürelerin hazırlanmasında pek çok farklı maddenin kullanıldığı 3 çeşit yöntem vardır (Thies,1989) ;

1-)Çözücü buharlaştırma yöntemi

2-)Protein jelleştirme yöntemleri

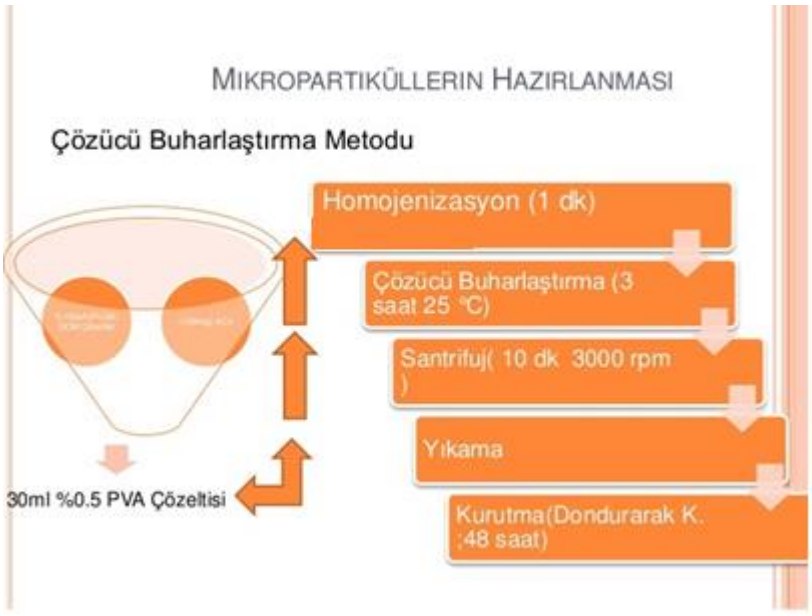
a) Isı ile denatürasyon
b) Kimyasal yolla çapraz bağ oluşturulması
c) Desolvasyon

3-)Emülsiyon polimerizasyonu yöntemleri

a) Epiklorohidrin ile çapraz bağ oluşturulmuş nişasta mikro küreleri
b) Çapraz bağlı poliakril mikro küreler (Spenlehauer ve diğ.,1988).

1.6.1. Çözücü buharlaştırma yöntemi

İşlemde ilk adım uçucu bir çözücüde etken maddeyi çevreleyecek olan polimer yapısındaki çeper materyalinin çözülmesidir. Etken madde yani çekirdek materyal bu çözeltide çözülmekte ya da dağıtılmaktadır. Bu organik faz yağ/su tipi bir dispersiyon oluşturmak üzere bir yüzey aktif madde içeren su fazı ile karıştırılmaktadır (Benedetti ve diğ., 1990). Bu ortamdan genellikle düşük basınç altında organik çözücünün uçurulmasıyla katı partiküller şeklinde mikro küreleri içeren bir süspansiyon elde edilmektedir (Şekil 1.3). Mikro küreler filtrasyonla ayrılmaktadır (Bodmeier ve diğ.,1988; Juhi ve diğ., 1986). Bu işlemde genel olarak kullanılan emülgatörler, jelatin, polivinilalkol ve metilsellüloz gibi hidrofilik kolloidlerdir. Anyonik ve noniyonik yüzey aktif maddeler ve yağ asidi tuzları (sabunlar), bu yöntemde kullanılabilecek diğer emülgatörlerdir (Fong ve diğ., 1986; Pongpaibul ve diğ., 1988). Bu yöntemle hazırlanan mikro kürelerin etken madde içeriği ve etken madde salım hızı üzerine etki eden faktörler polimer-etken madde oranı, mikro küre elde edilmesinde ortamın karıştırılma hızı, emülgatör tipi/konsantrasyonu ve çözücünün buharlaştırılma hızıdır (Benita ve diğ., 1984; Kishida ve diğ., 1984)



Şekil 1.3 Çözücü buharlaştırma yöntemi şeması

Çözücü buharlaştırma yöntemi ile polimetilmetakrilat mikro küreleri, teofilinin oral yolla uzun süreli salımı için hazırlanmış ve mikro kürelerden etken maddenin çıkışını yavaşlatmak için gerekli polimer miktarının az olması nedeniyle etken madde içeriğinin artmasına karşılık polimerleşme süresinin kısaldığı belirlenmiştir (Pongpaibul ve diğ., 1988).

Diğer bir çalışmada, Lomustin içeren poli(D, L-laktid) mikro küreler, çözücü buharlaştırma yöntemi ile hazırlanmıştır. Mikro kürelerin çapı ve etken madde içeriği üzerine karıştırma hızının etkisi incelendiğinde, karıştırma hızı artışının mikro kürelerin ortalama çapının küçülmesine neden olduğu ancak etken madde içeriği üzerine önemli derecede etkili olmadığı belirlenmiştir (Benita ve diğ., 1984). Bu yöntemde, çözücünün buharlaştırma hızının, mikro kürelerin şekil ve porozitesini etkilemesinden dolayı mikro kürelerden etken madde salınım hızı üzerinde önemli rol oynayabileceği belirtilmektedir (Kishida ve diğ.,1990).

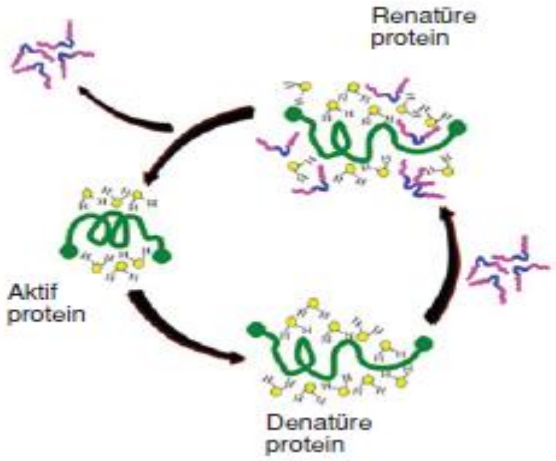
1.6.2. Protein jelleştirme yöntemleri

Bu yöntemle mikro kürelerin hazırlanması için jelatin ve albumin gibi proteinler kullanılmaktadır. Protein mikro kürelerin hazırlanmasında en fazla kullanılan ilaç taşıyıcı albümindir (Reddy ve diğ., 1990; Tabata ve diğ., 1989). Temel olarak uygun olan özellikleri yüksek etken madde içeriği ve yavaş etken madde salınım hızıdır. Ama çoğu sistemde bu özelliklerin etken maddenin *in-vivo* aktivitesini ne şekilde değiştirdiği açık değildir. Bu nedenle taşıyıcı matris olarak kullanılan bir diğer protein kazeindir (Willmott ve diğ.,1988; Burgess ve diğ.,1987).

Protein mikro kürelerin hazırlanmasında, etken madde ve protein distile suda çözüldükten sonra su fazı, bir yüzey aktif madde yardımı ile su/yağ tipi bir emülsiyon oluşturmak üzere yağ fazına ilave edilmektedir (Burgess& Davis, 1988). Yağ fazı olarak bitkisel yağlar (zeytinyağı, ayçiçek yağı, pamuk tohumu yağı, hint yağı) veya sıvı parafin kullanılmaktadır. Emülsiyon oluşumunun başlamasını takiben ortamın mikro küreleri içeren bir süspansiyon şekline dönüşmesi için ısı ile denatürasyon, kimyasal yolla çapraz bağ oluşturulması ve desolvasyon olmak üzere üç farklı yöntem kullanılmaktadır (Longo ve diğ., 1982; Jeyanthi & Panduranga, 1987).

1.6.2.1 Isı ile denatürasyon

Emülsiyonun, 110-190°C arasındaki bir sıcaklıkta belirli bir süre boyunca karıştırılarak ısıtılmasıdır. Bu işlemle, protein moleküllerinin arasında ve moleküllerin içinde serbest sülfidril grupları (SH) üzerinden disülfit bağları oluşturarak çapraz bağlanma sağlanmakta, ortamdaki su buharlaşarak katı partiküller formunda mikro küreler elde edilmektedir. (Şekil 1.4) Uygulanan sıcaklığın derecesi ve süresi, çapraz bağ yoğunluğunu etkilemektedir (Burgess & Davis,1988; Reddy ve diğ., 1990).



Şekil 1.4 Isı ile denatürasyon işlemi ısıtma, yüksek basınç, asit gibi etkilerle proteinlerin yapısının bozulması sonucu mikro küre eldesi

Isı ile denatürasyon işlemi sonucu prednisolonun uzun bir süre boyunca (hafta veya ay) uygun *in-vivo* salım profiline sahip albumin mikro küre üretimi örnek olarak gösterilebilir (Burgess & Davis, 1988).

Etken maddenin bozunmadığı sıcaklıkta gerçekleştirilen işlem sonucu elde edilen mikro kürelerden etken maddenin salım hızı, ısıtıma süresinin artışı ile azalmıştır (Reddy ve diğ., 1990).

1.6.2.2. Kimyasal yolla çapraz bağ oluşturulması

Bu yöntemde etken madde ve protein içeren su fazının bir yağ fazına katılmasıyla oluşan emülsiyona formaldehid, glutaraldehid gıbi bir çapraz bağlayıcı maddenin doygun çözeltisinin ilave edilmesi ile üretim gerçekleştirilir. Böylece emülsiyonun su fazındaki protein jelleşerek veya katılaşarak mikro küreler oluşmaktadır. Bu yöntemde

emülsiyonun dış fazı olarak bitkisel yağlar dışında kloroform ve toluen gibi organik çözücüler de kullanılabilmektedir. Kullanılan çapraz bağlayıcı maddenin konsantrasyonu ve reaksiyon zamanı, etken maddenin salınım hızı ve mikro kürelerin parçalanma hızını etkilemektedir (Barkai ve diğ., 1990).

İnterferonun makrofajlara hedeflendirilmesi için sürekli etkili bir taşıyıcı olarak glutaraldehid ile çapraz bağlanarak oluşturulmuş 2 μm'den küçük çapta jelatin mikro kürelerin hazırlandığı bir çalışmada, jelatinin çapraz bağ yoğunluğunun değiştirilmesi ile etken madde salım hızının kontrol edilebildiği belirlenmiştir (Long ve diğ., 1982).

Protein mikro küreler, ısı ile denatürasyonla ya da kimyasal olarak çapraz bağ oluşumu ile hazırlanırken su fazı içinde mikro kürelerin dağıtılması için kullanılan yüzey aktif maddelerden dolayı bir dereceye kadar hidrofobik özellik göstermektedirler. Bunun nedeni, oda sıcaklığında yağ-su arayüzeyinde hidrofobik bir film oluşmasıdır. Ayrıca denatürasyon esnasında partikül yüzeyine yağın absorpsiyonu da söz konusu olabilmektedir. Bu olumsuzluğu gidermek ve hidrofilik özellikte mikro küreleri hazırlamak amacıyla yüzey aktif maddelerin kullanılmadığı yöntemler de mevcuttur (Jeyanthi ve diğ.,1987)

Bu yöntemde dispersiyon ajanı olarak polimetilmetakrilat, polioksietilen polioksipropilen kopolimeri gibi polimer maddelerin hacimce % 30 oranında su ile karışmayan organik çözücülerdeki çözeltileri kullanılmaktadır. Etken madde, protein ile birlikte distile suda çözüldükten sonra polimer yapısındaki dispersiyon ajanının kloroform, toluen veya kloroform/toluen karışımı içindeki çözeltisine ilave edilmekte ve istenen partikül çapına bağlı olarak belirli hızda ve sürede karıştırılmaktadır. Mikro kürelerin stabilizasyonu için glutaraldehid kullanılmaktadır (Artursson ve diğ.,1989).

Organik dispersiyon fazında konsantre polimer çözeltilerinin kullanımı stabil dispersiyonlar vermektedir. Glutaraldehidle çapraz bağ oluşturulması mikro kürelerin yüzeyinde serbest aldehid grupları oluşturmakta, bu ise etken maddeler, immunoglobinler, enzimler ve antikorların bağlanması şeklinde kimyasal modifikasyonlara olanak sağlamaktadır. Mikro kürelerin çapları, dispersiyonun oluşturulması sırasında uygulanan karıştırma hızı ve süresi ile kontrol edilebilmektedir.

1.6.2.2.1 Epiklorohidrin ile çapraz bağ oluşturulmuş nişasta mikro küreleri

Çapraz bağlı nişasta mikro küreleri, işlem görmüş nişasta çözeltilerinin epiklorohidrin içeren, su ile karışmayan bir sıvı (dikloroetilen) içerisinde disperse edilmesi ile hazırlanabilir. Sulu fazın organik faza oranı %40'tır. (a/a) Sulu fazın damlacık büyüklüğü karıştırma hızı ile ayarlanmaktadır. Elde edilen çapraz bağlı mikro küreler filtrasyonla ayrılıp sırasıyla aseton, seyreltik asetik ve tekrar asetonla yıkanmaktadır. Bu işleme göre hazırlanan mikro küreler, suda önemli derecede şişmektedir. Böylece arter içi uygulamada ortama bağlı olarak şekil almaktadırlar (Thies, 1989).

1.6.2.2.2 Çapraz bağ oluşturulmuş polar mikro küreler

Hazırlama işleminde ilk olarak suda çözünebilir monomer (akrilamid, %6 a/h), çapraz bağ oluşturan madde (metilen-bis-akrilamid, %2 a/h), etken madde ve katalizör (tetrametilendiamin ve amonyum persülfat) fosfat tampon çözeltisinde çözülmektedir. Bu çözelti, organik faz olarak yüzey aktif madde poloksamer188 içeren toluen-kloroform kanşımı (4:1 h/h) içinde dağıltılmaktadır. Polimerizasyon, oda sıcaklığında 5-30 dakikada oluşmaktadır. Daha sonra tampon ve fizyolojik tuz çözeltileri ile birkaç kez yıkanarak mikro küreler ayrılmaktadır (Stjiimkvist ve diğ., 1989).

Poliakril mikro küreler, enzimler ve diğer makro moleküllerin vücutta spesifik organlar ve hücrelere aktif olarak hedeflenmesi açısından ümit vericidir. Bu mikro kürelerde etken maddenin bir kısmı polimer yapı içinde tutulurken bir kısmı da yüzeyde tutulmaktadır. Diğer bir taşıyıcı materyal poliakril nişastadır. Poliakril nişasta mikro küreleri de esas olarak çapraz bağlı poliakrilamid mikro kürelerin hazırlanmasında kullanılan yöntemle hazırlanmaktadır. Fakat monomer farklıdır (Artursson ve diğ., 1984).

Monomer olarak akrilikasit glisidilesterile kimyasal olarak modifiye edilmiş maltodekstrin veya hidroksietil nişasta kullanılmaktadır. Bu yönteme göre hazırlanan poliakril mikro kürelerin %80'i 0.5 – 2.5 µm arasında bir partikül büyüklüğüne sahiptir (Stjarnkvist ve diğ.,1987).

1.6.2.3. Desolvasyon

Isıya duyarlı etken madde mikro küre hazırlanmasında ısı ile denatürasyon işlemi uygun bir yöntem olmamaktadır. Bu tür mikro küreleri hazırlanması için bir yaklaşım, etken madde içermeyen boş mikro kürelerin ısı ile ya da kimyasal olarak stabil hale getirilmesinin ardından ısıya duyarlı etken maddenin çözeltisi ile ıslatılmasıdır (Thies, 1989).

Diğer bir yaklaşım, iç faz olarak proteinin sudaki çözseltisini içeren su/yağ tipi emülsiyonun su fazının 22°C'de basit dehidratasyonla jelleştirilmesi ya da katılaştırılmasıdır. Su fazı, emülsiyona ilave edilerek su fazından suyu ekstre eden ve yağ fazını çözen bir çözücü ile uzaklaştırılmaktadır. Bu amaçla dietileter, aseton, etanol ve izopropanol gibi çözücüler kullanılmaktadır. Dietil eter, mikro emülsiyon damlacıklarının yüzeyinde albumin moleküllerinin dönüşümlü denatürasyonunu sağlamakta ve agregat oluşumunu önlemektedir. Bu işlemden sonra mikro küreler filtrasyonla ayrılmakta ve adı geçen çözücülerle yıkanmaktadır (Burgess&Davis, (1988).

1.7 Polimerizasyon Yöntemleri

Monomerler, birbirlerine kovalent bağlarla bağlanarak büyük moleküller oluşturabilen küçük mol kütleli kimyasal maddelerdir. Polimer ise, çok sayıda monomerin kovalent bağlarla birbirlerine bağlanarak oluşturduğu yüksek molekül ağırlıklı molekülün adıdır (Saçak, 2005).

Polimerlerin üretim yöntemleri, polimerizasyon ortamının özelliklerine bağlı olarak şu şekilde sınıflandırılırlar:

a) Yığın Polimerizasyonu

b) Çözelti Polimerizasyonu

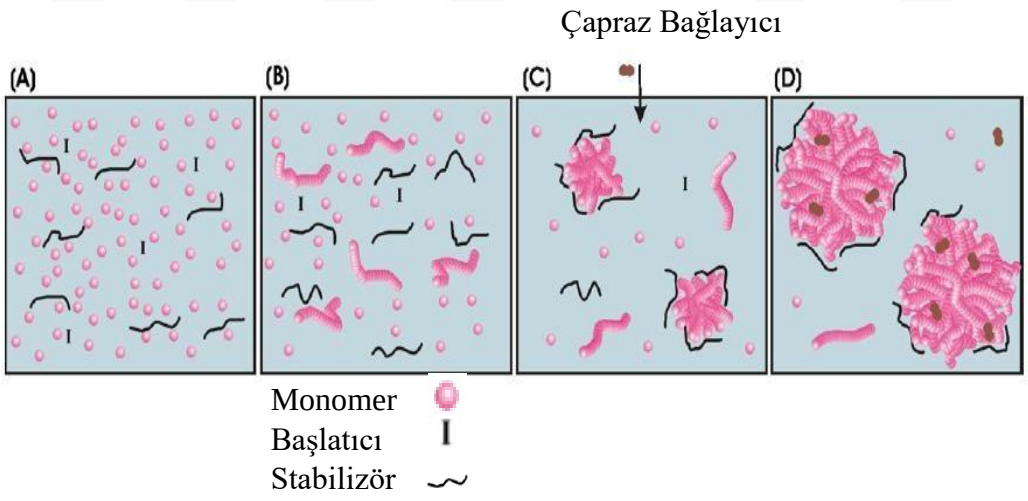
c) Süspansiyon Polimerizasyonu

d) Emülsiyon Polimerizasyonu

e) Dispersiyon Polimerizasyonu

1.7.1 Dispersiyon polimerizasyonu

Dispersiyon polimerizasyonu, monodispers (tek boyutlu) ve mikron boyutunda polimerik partiküllerin üretilmesi için etkin bir yöntemdir (Kawaguchi ve diğ., 2005). Başlatıcı, stabilizör ve genellikle alkol kullanılan bir dağıtma ortamı içerisinde dispersiyon polimerizasyonunda kullanılan monomer, homojen olarak çözünür formdadır (Şekil 1.5A). Isı etkisi ile aktive olan polimerizasyonda, başlatıcı- monomer radikalleri dağıtma ortamı içinde oluşur. Monomerlerin birbirlerine eklenmesiyle radikal zincir uzunluğu artmaya başlar (Şekil 1.5B). Başlangıçta homojen olan polimerizasyon sistemi, radikalik oligomer zincirlerinin ortamda çözünmez hale gelmesiyle partiküller, dağıtma ortamından ayrılması ise iki fazlı bir yapı oluşur. Eğer çapraz bağlayıcı ilavesi yapılacaksa bu aşamada yapılmaktadır. Bu aşamadan daha önce çapraz bağlayıcı eklenirse partikülün monodispersitesi ya da büyümesi etkilenebilir. Eklenen çapraz bağlayıcı oran monomer oranının %1' ini geçmemelidir (çekirdeklenme, Şekil 1.5C). Daha sonraki aşamada polimerizasyon, oluşmakta olan partiküllere dağıtma ortamından monomer difüzyonu ile devam eder (Şekil 1.5D). Polimerizasyon sonunda genellikle, 0.1-10 μm aralığında monodispers polimerik, mikron boyutunda küreler elde edilir (Gokmen ve diğ., 2012).



Şekil 1.5 Dispersiyon polimerizasyonunun şematik gösterimi (Gokmen ve diğ., 2012).

Dispersiyon polimerizasyonuyla sentezlenen partiküllerin boy ve boy dağılımı, molekül ağırlığı, monomer dönüşümü aşağıdaki faktörlere bağlıdır (Maraş, 2010):

a) Polimerizasyon sıcaklığı

b) Karıştırma hızı ve şekli

c) Dağıtma ortamının türü ve bileşimi

d) Stabilizör türü ve derişimi

e) Başlatıcı türü ve derişimi

f) Monomer dağıtma ortamı hacimsel oranı

Polimerizasyona sıcaklığın etkisini araştıran çalışmalarda 55-80^{o}C aralığında artan polimerizasyon sıcaklığı ile ortalama partikül boyutu ve boy dağılımında artış olduğu gözlemlenmiştir. Ayrıca sıcaklık artıkça polimerin molekül ağırlığı da önemli bir ölçüde azalmaktadır. Molekül ağırlığındaki bu azalma daha fazla serbest radikalin oluşması ile polimerizasyonun çok merkezli olarak başlaması ve ortalama zincir uzunluğunun kısalması ile açıklanmaktadır (Ober ve diğ., 1987).

Polimerizasyon sırasında kullanılan karıştırma hızının yüksek olması, şiddetli kayma gerilimi oluşturacağından partiküllerde monodispers özelliğin bozulmasına ve boy dağılımının oluşmasına neden olmaktadır. Bu sebeple genellikle düşük karıştırma hızlarında çalışılmaktadır (Ober ve diğ., 1985).

Dağıtma ortamının polaritesi partikül boyutunu ve boy dağılımını etkilemektedir. Monomerin dağıtma ortamı içindeki çözünürlüğünün yüksek, polimerin çözünürlüğünün ise düşük olması gerekmektedir. Artan monomer/dağıtma ortamı oranı ile ortalama partikül boyutu genelde artış göstermektedir. Fakat bu oranın aşırı artışı ile sentezlenen partiküllerde önemli ölçüde boy dağılımı meydana gelmektedir (Ober vd., 1985). Stabilizör derişiminin arttırılması ile partikül boyutunda küçülme olduğu gözlenmiştir (McHale, 2006).

Monomer fazında çözünebilen başlatıcılar kullanılmaktadır. Bu başlatıcıların miktarındaki artışı, sentezlenen partiküllerin boy dağılımında bir genişlemeye sebep olmuştur. Ayrıca reaksiyon hızında da artış gözlenmiş olup bu artış daha fazla serbest başlatıcı radikalinin oluşmasıyla açıklanmaktadır (Ober ve diğ., 1987).

1.7.2 Çok basamaklı mikro süspansiyon polimerizasyonu ile monodispers gözenekli partikül sentezi

Mikron boyutunda monodispers polimerik partiküller, ticari ve endüstriyel öneminin yanı sıra bilimsel araştırmaların da başlıca gereksinimlerinden olmuştur. Alet kalibrasyonu, kaplama uygulamaları, yapıştırıcı malzemeler, katalizör uygulamaları ve kromatografik dolum materyalleri gibi birçok alanda kullanılmaktadır. Ayrıca günümüzde yaygın uygulama alanları olan biyomedikal bilimlerinde de kendine yer edinmektedir (Saraçoğlu Kaya & Sağ 2017).

Makro gözenekli monodispers partikül üretimi için farklı çok basamaklı polimerizasyon teknikleri vardır. İki basamaklı mikrosüspansiyon polimerizasyonu çıkış lateksinin (seed) düşük molekül ağırlıklı organik bir ajan tarafından aktif hale getirilmesine dayanmaktadır. Partikül boyutu 7.8 µm olan çıkış lateksi bir dizi şişirme ve repolimerizasyon basamaklarına tabi tutulmuştur. Daha sonra, bu ortama monomer fazı (stiren veya divinilbenzen) ve diluent olarak toluen veya n- hekzan eklenerek polimerizasyon gerçekleştirildiğinde 11 µm boyutunda monodispers makro gözenekli partiküller elde edilmiştir (Elaissari, 2003).

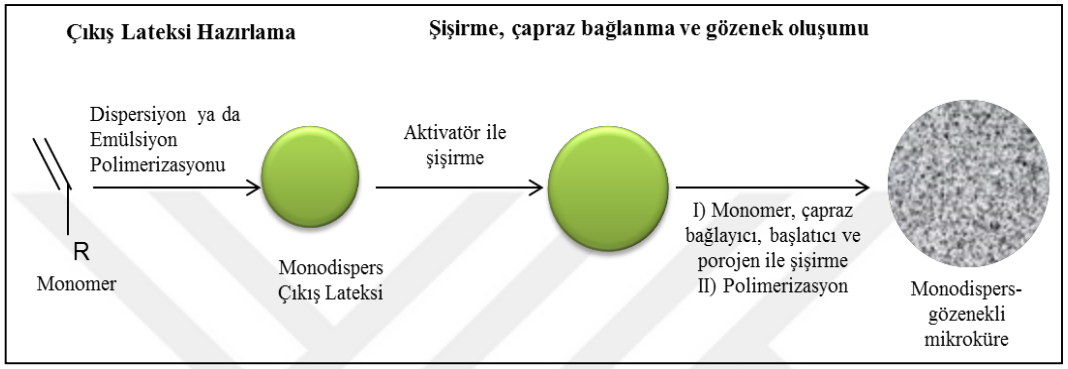
Frechet (1994) ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, 560 nm çapa sahip polistiren çıkış lateksi emülsiyon yapıcı içermeyen emülsiyon polimerizasyonu ile ilk kez sentezlenmiştir. Bu çıkış lateksi, emülsiyon ortamında dibütilftalat ile şişirilmiştir. Böylece çıkış lateksinin aktivasyonu sağlanmıştır. Şişirilmiş olan çıkış lateksine daha sonra monomer olarak propargil akrilat ve etilen dimetakrilat ve siklohekzanol/dodekanol madde emülsiyon ortamı içerisinde eklenmiştir.

Başlatıcı olarak AIBN eklenmiştir. Polivinil alkol ikinci basamaktan sonra eklenerek gerçekleştirilen polimerizasyon sonucunda 5 µm boyutunda monodispers alkin fonsiyonel gruplu partikül elde edilmiştir (Gokmen ve diğ., 2012). Monodispers gözenekli partiküllerin sentezi içi geliştirilen çok basamaklı mikrosüspansiyon polimerizasyonunun temel mekanizması şu şekildedir:

1. Dispersiyon veya emülsiyon polimerizasyonu ile çıkış lateksinin eldesi
2. Çıkış lateksinin düşük molekül ağırlıklı organik ajan (aktive edici ajan) tarafından birinci basamakta şişirilmesi
3. Aktive edilmiş partikülün monomer fazı ile ikinci basamak şişirilmesi

4. Stabilizör eşliğinde polimerizasyonun gerçekleştirilmesi.

Çıkış lateksi sentezi tek basamakta şişirme ile gerçekleştirilmektedir. Sonuçta elde edilecek partikülün boyutunu ve molekü ağırlığını belirler. Çıkış lateksinin eş boyutlu olması elde edilmek istenen partiküllerin de eş-boyutlu olmasındaki en önemli etkendir. Bu nedenle ilk basamak şişirme işlemlerinde genellikle düşük molekül ağırlıklı organik ajanlar (örneğin; siklohekzanol, dibütilftalat, dodesil klorid, toluen) kullanılmaktadır (Sağ, 2014).



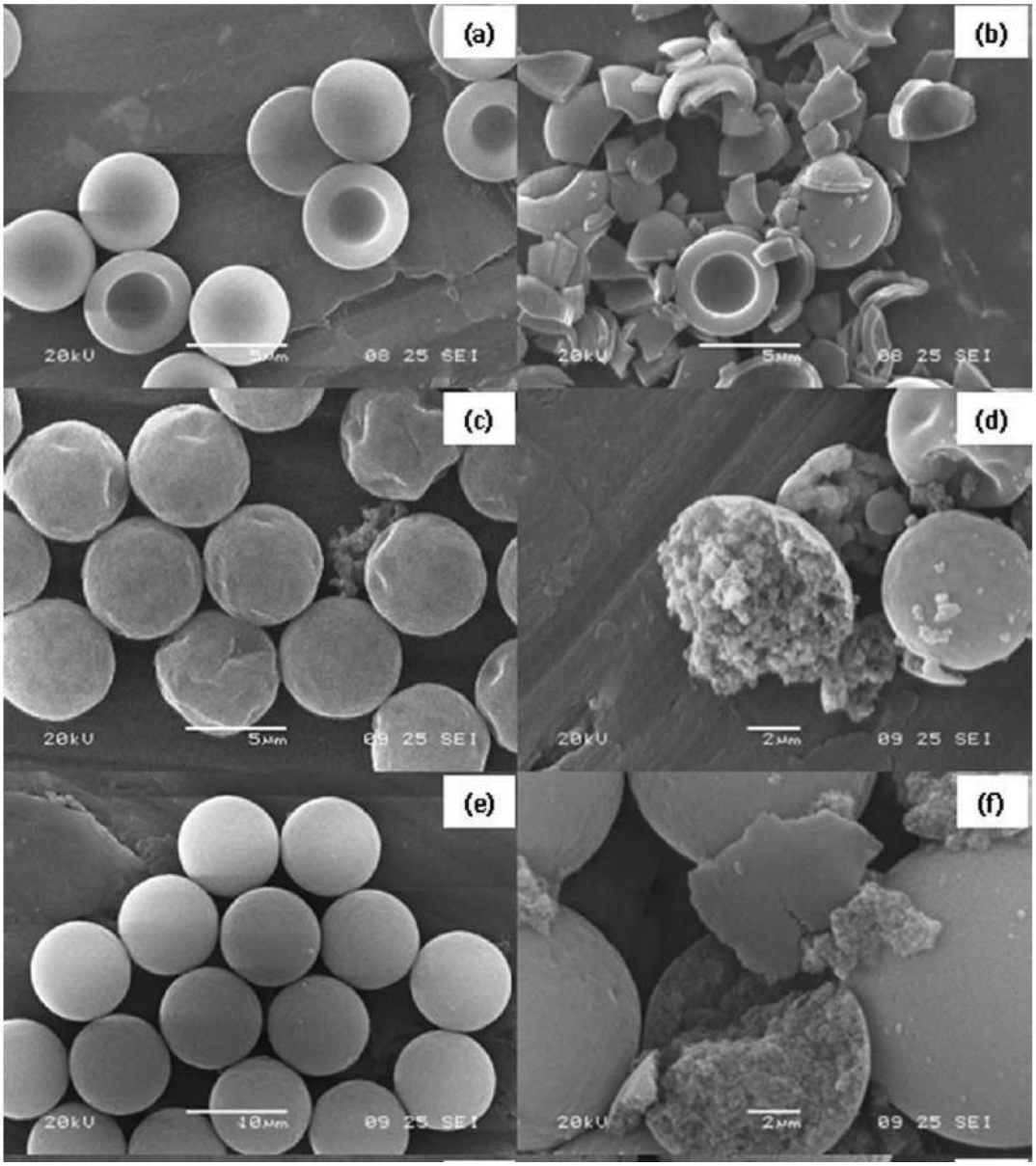
Şekil 1.6 Çok basamaklı mikro süspansiyon polimerizasyonunun şematik gösterimi (Gokmen ve diğ., 2012).

Malzemelere gözenek yapıcılar ya da porojenler de denilmektedir. Çıkış lateksinin monodispersitesinin kalıcığını sağlamak amacıyla genellikle anyonik bazlı sulu emülsiyon ortamı (örneğin; sodyum dodesil sülfat-su) kullanılmaktadır. Aktive edici ajan, çıkış lateksinin polimerik zincirinde gevşemeye neden olmakta ve bu etki de partikülün monomer absorpsiyon kapasitesini önemli ölçüde arttırmaktadır (Şekil 1.6). İkinci basamakta ise aktive edilmiş çıkış lateksi yine sulu emülsiyon ortamında monomer fazı ve bu fazda çözünebilen başlatıcı (benzoil peroksit, BPO) ile şişirilmektedir. Bu basamakta ise genellikle stiren gibi apolar, vinil monomerleri veya akrilat bazlı fonksiyonel gruplu monomerler tercih edilmektedir. Partiküllerin makro gözenekli yapıda olabilmeleri için başlatıcı derişiminin yeterince yüksek, oluşan polimerik porojen yapının molekül ağırlığının ise yeterince düşük olması gerekmektedir. Eğer yüksek molekül ağırlıklı polimerik porojen oluşursa son partikülde krater tipi gözenekler oluşmaktadır. En son basamakta ortam sıcaklığı arttırılmakta ve başlatıcı aktive edilmektedir. Monomer fazı ve gözenek yapıcı çözücü ile şişmiş olan çıkış lateks partikülleri içerisinde polimerizasyon gerçekleşmektedir (Elaissari, 2003; Denizli, 2009).

Srisopa (2011) ve arkadaşlarının çalışmaları, çıkış lateksi üretimi ve sonraki aşamada partiküller sentezlenirken değişen koşullarla partiküldeki değişimleri net bir şekilde gözlemlemektedir. Yukarıda anlatılan parametreler değiştikçe sonuçta gözlemlenen değerler bu çalışmada net bir şekilde gösterilmektedir. Çizelge 1.1' de farklı oranlar ve çıkış lateksleri ile elde edilen partikül büyüklüğü değişimi gösterilmiştir (Srisopa ve diğ., 2011). Bu partiküllere ait SEM görüntüleri ise Şekil 1.7 'de verilmiştir.

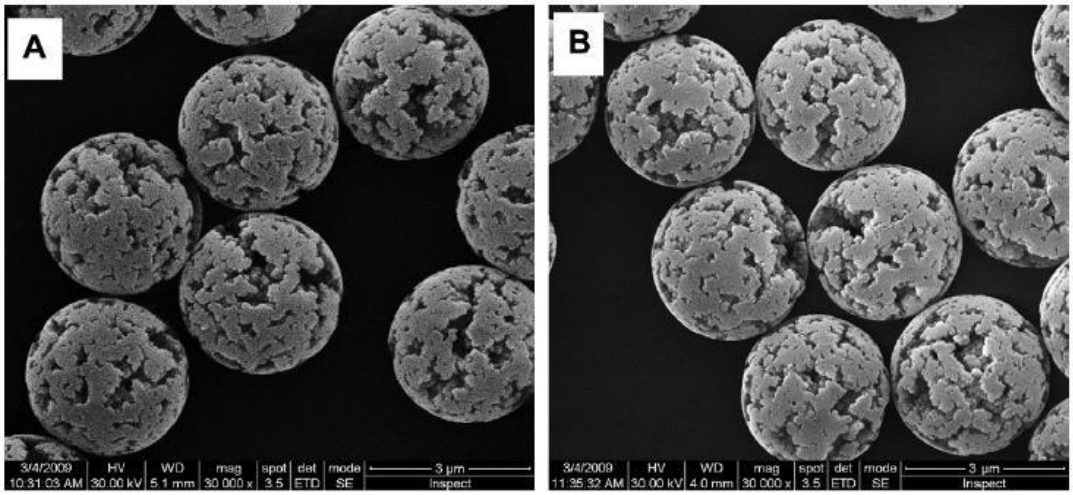
Çizelge 1.1 Farklı oranlar ve çıkış lateksleriyle üretilen polimerler (Srisopa ve diğ., 2011).

Kullanılan Çıkış Lateksi		**Monomer/ Çıkış lateksi**	**Toluen/ Monomer Karışımı**	**Partikül Boyutu**
PM 1	PS 1	7.5	0.7	5
PM 2	PS 2	7.5	0.7	6.8
PM 3	PS 3	7.5	0.7	10
PM 6	PS 1	22	0.5	6.7
PM 7	PS 1	22	2	7.5
PM 10	PS 2	7.5	2	7.3



Şekil 1.7 PM 1 (a,b), PM 2 (c,d) PM 3 (e,f) partiküllerinin SEM fotoğrafları (Srisopa ve diğ., 2011).

Monodispers ve gözenekli partikül sentezine yönelik bir diğer çalışma ise Margel ve arkadaşları tarafından yürütülmüştür (Omer-Mizrahi ve diğ., 2010).



Şekil 1.8 DVB partiküllerin SEM görüntüleri (Omer-Mizrahi ve diğ., 2010).

Bu çalışmada polistiren çıkış lateksi kullanılarak iki basamakta şişirme işlemi gerçekleştirilmiştir. Diğer yöntemlerden farklı olarak, gözenekli partikül dağıtma ortamında sadece polistiren kullanımıştır. Şişirme ortamına ise monomer olarak divinilbenzen eklenmiş ve gözenek yapıcı hiçbir materyal kullanılmamıştır. Divinilbenzenin yapısında dağılan polistiren zincirleri, polimerik gözenek yapıcı rolü oynayarak yüzey alanı 630 m^2/g olan partiküller elde edilmiştir (Şekil 1.8).

1.8 Küresel Kristalizasyon Tekniği

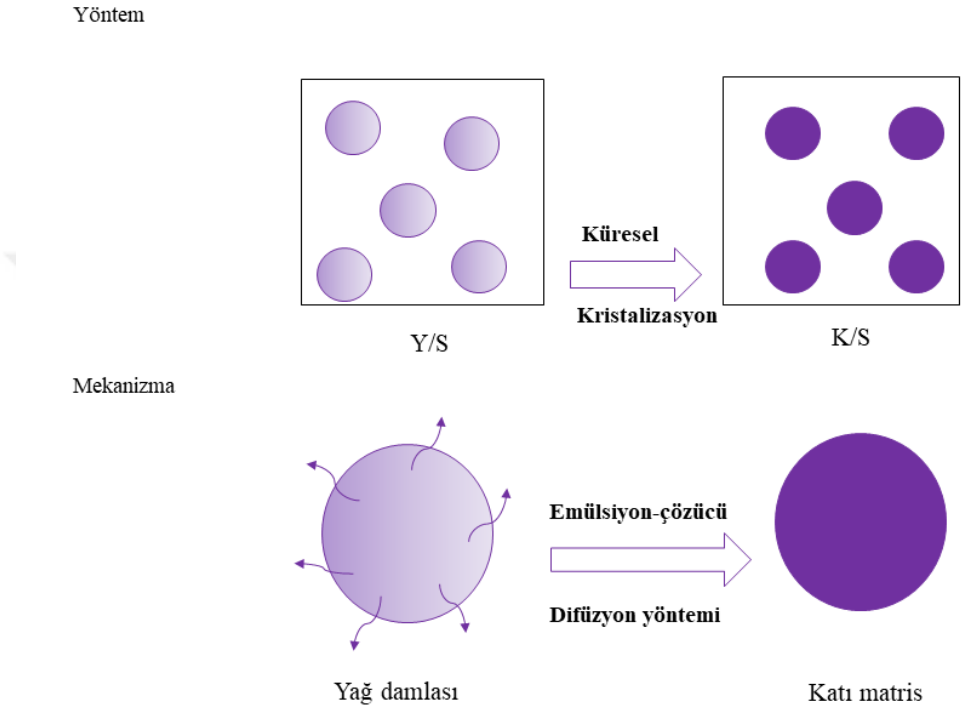
Etken maddenin ve akrilik polimer metilen klorür/etanol karışımında çözülüp, 0. 1 N-hidroklorik asit çözeltisine ilavesi ile mikro kürelerin elde edildiği bir yöntemdir. Bu yöntem ile 50-500 µm arasında partikül büyüklüğüne sahip yığın şeklinde küresel kristaller elde edilmektedir (Kaweshime ve diğ.,1989).

1.9 Kausi-Emülsiyon Çözücü Difüzyon Yöntemi

Bu yöntem, çap dağılımı kolaylıkla kontrol edilebilen sürekli etkili mikro kürelerin hazırlanması ve daha iyi bir farmasötik işlem yapılması amacıyla küresel kristalizasyon tekniğinin modifiye edilmesiyle geliştirilmiştir. Etken madde ve akrilik polimer, etanol içinde çözülmekte ve emülgatör olarak sukroz yağ asidi esteri içeren su ile karıştırılmaktadır. Etken madde ve polimerin etanoldeki çözeltisi su ortamına boşaltıldığında etanol çözeltisi, koaservat benzeri damlalar şeklinde ayrılmaya başlamaktadır. Sistem, yumuşak boncuklar şeklinde iken dereceli olarak

katılaştığından kuasi-emülsiyon olarak isimlendirilmektedir ve birkaç dakika içinde katı mikro küreler elde edilmektedir. Mikro küre oluşum mekanizması için kuasi-emülsiyon çözücü difüzyon modeli Şekil 1.9'da görülmektedir.

Yöntemde mikro kürelerin çapını tayin eden asıl faktörler, formülasyondaki etken madde ve polimer konsantrasyonları ile sistemin karıştırılma hızıdır (Kaweshime ve diğ.,1989).



Şekil 1.9 Mikro kürelerin Kausi-Emülsiyon çözücü difüzyon yöntemi ile hazırlanma işlemi ve mekanizması

1.10 Sıcakta Eritme Yöntemi

Mikro kürelerin hazırlanmasında kullanılan diğer bir polimer grubu polianhidritlerdir. Polianhidritler, degradasyon ürünlerinin toksik olmaması, biyolojik olarak uyumlu olmaları, polimer çatısındaki basit değişikliklerle etken maddenin salım hızının 100 kat değiştirilebilmesi nedeniyle seçilmiştir. Bu polimerler, suya dayanıklı olmayan bağ içermesi nedeniyle su kullanımı gerektiren genel mikro küre hazırlama yöntemleri ile mikro küre haline getirilememektedir (Mathiowithz ve diğ.,1987).

İşlemde eritilmiş polimer, etken madde ile karıştırılmakta ve bu karışım, polimerin erime noktasının 5°C üzerindeki sıcaklığa getirilmekte ve ortam ile karışmayan bir çözücüye ilave edilmektedir. Devamlı karıştırılarak emülsiyon elde edildikten sonra sistem, çekirdek materyal katılaşıncaya kadar soğutulmaktadır. İşlemde kullanılan çözücüler, silikon ve zeytinyağıdır. Mikro küreler içindeki etken maddenin uygun dağılımı, etken maddenin partikül büyüklüğünün genelde 50 μm'nin altında olması ile ilgilidir. Soğutma işleminden sonra mikro küreler, petrol eteri ile yıkanmakta ve kurutulmaktadır.

Ayrıca mikro kapsüllerin hazırlanmasında sıklıkla kullanılan faz ayrışması yöntemleri, mikro kürelerin hazırlanmasında da kullanılabilmektedir (Sanders ve diğ.,1984).

1.11 Polimerik mikro partiküllerin karakteristikleri

Polimerik mikro partikülün kullanım yerine bağlı olmakla birlikte özellikle önemli olan temel karakteristikler parçacık boyutu ve boyut dağılımı, parçacık morfolojisi, mekanik dayanım, enkapsülasyon verimi, ilaç salım profili ve biyobozunur uygulamalarda parçacıkların bozunmasıdır. Mikro parçacıkların boyutu taşıyıcının *in vivo* performansına etki etmekte ve ilacın veriliş şeklini belirlemektedir. Örneğin 1μm-5μm çapındaki partiküller, damar veya solunum yolu üzerinden ilaç verilmesine uygundur (Wattendorf ve diğ., 2008). 25μm'den küçük olan parçacılar, gözün daha büyük parçacıklara duyarlı olması nedeniyle, göz için ilaç salımında kullanılabilmektedirler (Florence& Siepmann, 2009). 10-250 μm arasındaki parçacıklar kas veya deri altı enjeksiyon uygulamalarında kullanılabilmektedir (Tarn ve diğ., 2013). Parçacık boyutu adsorpsiyon/desorpsiyon hızına bağlı olduğundan, biyobozunur olmayan taşıyıcıların deri veya sindirim kanalı ile ilaç salımında kullanılması aşamasında da önemlidir (Dubey ve diğ.,2009). Ancak, boyut ile ilgili en önemli parametre, ilaç salımı sırasında geniş boyut dağılımlı ve uniform olmayan parçacıkların kullanımında, ilaç salım hızının belirsizleşmesidir. Bu nedenle, parçacıkların homojen ve parçacık boyutunun monodispers olmasıdır (Siepmann ve diğ.,2004). Dermal, gastrointestinal, intramasküler veya subkutan (hatta intravenöz uygulamalar da dahil edilebilir) uygulamalarda ise mikro parçacığın mekanik dayanımı, ilacın kontrollü salımından önce taşıyıcının parçalanma ihtimali nedeniyle yüksek öneme sahiptir. Bu nedenle, taşıyıcı sistemlerde boyut, uniformluk, ilaç tutma

kapasitesi, salım performansı ve biyobozunurluk gibi parametrelerin yanı sıra, üretilen mikro kürelerin mekanik dayanımlarının da belirlenmesi gerekmektedir.

1.12 Mikro küreler ve Mekanik Özelliklerin Belirlenmesi

Mikro / nano küreler, süper kapasitörler, biyosensörler, ilaç iletimi ve kontrollü salım ve katalizör olarak geniş çapta kullanım alanına sahiptir. Bu mikro/nano kürelerin bir dış kuvvet uygulandığında deformasyona uğraması, bu malzemelerin performansına etki etmektedir. Bu nedenle, mikro/nano kürelerin bağımsız olarak mekanik özelliklerinin belirlenmesi (deformasyon mekanizması ve elastik modül gibi), bu malzemelerin son ürün veya kullanım yerleri ile ilgili özelliklerini geliştirmeyi sağlayacaktır. Mevcut literatürde mikro kürelerin mekanik özelliklerinin belirlenmesi ile ilgili sınırlı sayıda makale mevcuttur. Mikro/nano kürelerin bireysel mekanik özellikleri yığın davranışından farklılık gösterecektir. Ancak mikro / nano kürelerin boyutlarının küçük olması nedeniyle, mekanik özelliklerin belirlenmesi aşamasında deneysel çalışmalar yapmak oldukça zordur. Bu konuda nanoindentasyon veya tez çalışmasında sunulduğu haliyle AFM kullanılarak pikoindentasyon yöntemi, malzemeye erişim ve tekli kürenin özelliklerini belirlemek açısından temel yöntemdir.

Polikristalin TiO_2 mikro kürenin (<1 μm) AFM kullanılarak gerçekleştirilen indentasyon işleminde, 400 GPa civarında elastik modül değeri elde edilmiş ve elde edilen değerlerin yığın malzemeye oranla %30 daha fazla olduğu bulunmuştur (Hao ve diğ., 2014).

Hidrojeller biyomühendislik uygulamaları için önemli malzemelerdir. Gıda, kozmetik, kontak lensler ve yara örtüleri gibi endüstriyel alanlarda kullanılmaktadır. Jelatin yapının seramik küreler ile güçlendirildiği bir kompozit malzemede mikroindentasyon tekniği kullanılmış ve 24 kPa olan elastik modülün, %5 seramik küre katkısı ile 27 kPa'a ve %15 katkıda 33 kPa'a çıktığı gözlemlenmiştir (Galli ve diğ., 2010). Camsı bir biyouyumlu polimer olan poli (metil metakrilat)'ın mikroindentasyonunun gerçekleştirildiği bir başka çalışmada ise, normalde 3.3 GPa olan yığın malzeme elastik modülünün, mikroindentasyon ile %30 fazla çıktığı gözlemlenmiştir. Bu durum, yığın malzemedeki kusurlara bağlanmaktadır (Briscoe&Sebastian, 1996). Düşük boyutlu karbon malzemelerin mekanik özellikleri, bu malzemeler kullanılarak yapılan elektronik cihazların yapısal bütünlüğü açısından önemlidir. Bu konuda yapılan bir çalışmada (Sun ve diğ., 2016) enerji depolama cihazlarında kullanımı

amaçlanan karbon mikro kürelerin (1-5 μm) mikroindenter kullanılarak mekanik özelliklerine bakılmış ve elastik modülün 5 μm'lik küre için 11 GPa ve 1 μm'lik küre için 8 GPa olduğu ve bu değerlerin karbon fiberlere **(**Phani&Niyogi, 1987**)** kıyasla oldukça düşük (48 GPa) olduğu belirlenmiştir. Polimerlerde şişme ve büzülme davranışını kontrol etmek, reolojik özellikleri ayarlama, üretilen malzemenin ağırlığını düşürme ve maliyeti azaltma amacıyla kullanılan içi boş cam mikro kürelerin ilave edilmesi ile güçlendirilmiş polimerin mekanik özellikleri incelenmiş, ancak tekli kürenin mukavemeti incelenmemiştir (Aruniit, 2012).

2. MATERYAL VE METOD

Bu tez kapsamında yapılan çalışmalarla, gözenekli yapıda polimer mikro kürelerin üretimi gerçekleştirilmiş ve mikro kürelerin kontrollü ilaç salım sisteminde kullanılabileceği gösterilmiştir. Mikro kürelerin sentezi için ana monomer olarak vinil asetat seçilmiştir. Kontrollü ilaç salım materyali oluşturmak adına partiküllerin kimyasal kararlılığını sağlamak için divinilbenzen çapraz bağlayıcı olarak kullanılmıştır.

Tez kapsamında yapılan çalışmalar iki aşamada gerçekleştirilmiştir. İlk olarak [poli(VAc-co-DVB)] mikro küreler, çok basamaklı mikrosüspansiyon polimerizasyonu ile eşboyutlu ve gözenekli formda sentezlenmiş ikinci aşamada ise sentezlenen poli(VAc-co-DVB) partiküllerin kontrollü ilaç salımında nasıl kullanılması gerektiği araştırılmıştır.

2.1 Kontrollü İlaç Salım Materyallerinin Üretimi

Bu tez kapsamında iki farklı partikül sentezi gerçeleştirilmiş ve bu amaçla ilk olarak dispersiyon polimerizasyonu yöntemiyle polistiren (PS) çıkış lateksi üretilmiştir. Daha sonra PS lateks, eşboyut ve gözenekli yapı elde etmek amacıyla tek basamaklı şişme işlemine tabi tutulmuştur. Şişme basamağında düşük molekül ağırlığına sahip tek bir organik ajan ya da ikili organik ajan karışımı ile monomer, çapraz bağlayıcıyı ve başlatıcıyı içeren monomer fazı çıkış lateksi üzerine eklenmiş ve lateksin organik faz ile şişmesi sağlanmıştır. Şişme basamağından sonra monomer fazının partikül içerisinde polimerizasyonu gerçekleştirilmiştir. Elde edilen partiküller tetrahidrofuran (THF) ile ekstrakte edilerek sonrasında hidroliz işlemine tabi tutulmuştur. Hidroliz sayesinde sonuç partiküller –OH fonksiyonel gruplu PVA yapısına dönüştürülmüştür.

2.1.1 PS çıkış lateksinin üretimi

Çıkış lateksinin dispersiyon polimerizasyonu ile üretiminde dağıtma ortamı olarak mutlak etil alkol (Et-OH, Merck A.G., Almanya) ve 2-metoksietanol (HPLC grade, Met-OH, Aldrich Chemical Co., ABD) kullanılmıştır. Başlatıcı olarak 2-2'-azobisizobütironitril (AIBN, Acros Organics, ABD) kullanılmıştır. AIBN kullanılmadan önce etanol ile kristalize edilmiştir. Sterik stabilizör olarak da

polivinilprolidon K-30 (Mr:40000, PVP K-30, Sigma Chemical Co., ABD) kullanılmıştır. Monomer olarak kullanılan stiren (Sigma Chemical Co., ABD) vakumda distile edilip saflaştırılmış ve polimerizasyonda işlemeden önce +4 ^{o}C'de muhafaza edilmiştir.

Polistiren çıkış lateksleri dispersiyon polimerizasyonu yöntemiyle üretilmiştir. Ağzı sızdırmaz cam reaktörlerde gerçekleştirilen polimerizasyonda, dağıtma ortamı olarak mutlak etanol kullanılmıştır. Sterik stabilizör olarak kullanılan PVP K-30 dağıtma ortamında çözülmüştür. Uygun hacimdeki stiren monomeri ve başlatıcı olarak kullanılan AIBN'de dağıtma ortamına eklenmiştir. AIBN'nin çözünmesi için 5 dakika süreyle 200 W gücünde bir sonikatörde (Bransonic 200, İngiltere) oda sıcaklığında ultrasonikasyon işlemi yapılmıştır. Sızdırmaz 410 ml hacme sahip bir silindirik cam reaktörde bulunan polimerizasyon için gerekli bileşenler oda sıcaklığında çalkalamalı su banyosuna (Memmert WB 14, Almanya) konulmuştur. Polimerizasyon sıcaklığı olan 70°C'ye ayarlanan su banyosu içinde 120 cpm çalkalama hızında 24 saat boyunca dispersiyon polimerizasyonu gerçekleştirilmiştir. Polistiren çıkış lateksi sentezi için gerekli olan polimerizasyon koşulları Çizelge 2.1'de verilmiştir.

Polimerizasyon sonrasında ürünler oda sıcaklığına soğutulmuştur. Elde edilen PS çıkış lateksi 6000 rpm'de yaklaşık 5 dakika boyunca santrifüjlenmiştir (Hettich UNIVERSAL 320R, Almanya). Santrifüj sonrası üstte kalan sıvı kısım atılarak 10ml'lik santrifüj tüplerinin içinde çöken partiküllerin üzerine distile su eklenerek sulu ortamda dispers edilmiştir. Elde edilen yeni dispersiyonla santrifüjleme- dekantasyon işlemi 3 kez tekrar edilmiştir. Son santrifüj basamağında çöken partiküller yaklaşık 100ml su içerisinde dağıtılarak partikül boyutu ortalama 3.1 μm olan monodispers polistiren çıkış lateks partikülleri polimerizasyonda kullanılmak üzere hazır duruma getirilmiştir (Unsal vd., 2005b).

Çizelge 2.1 Monodispers formda polistiren çıkış lateksi sentezi için dispersiyon polimerizasyonu koşulları

Kullanılan Kimyasallar	**Miktarlar**
Etanol (ml)	100
PVP K-30 (g)	1
Stiren (ml)	10
AIBN (g)	0.14
Polimerizasyon Koşulları	
Sıcaklık (°C)	70
Polimerizasyon Süresi (saat)	24
Çalkalama Hızı (cpm)	120
Reaktör hacmi (ml)	410

2.1.2 Çok basamaklı mikro süspansiyon polimerizasyonu yöntemi ile eşboyutlu-gözenekli poli(VAc-co-DVB) mikro kürelerin üretimi

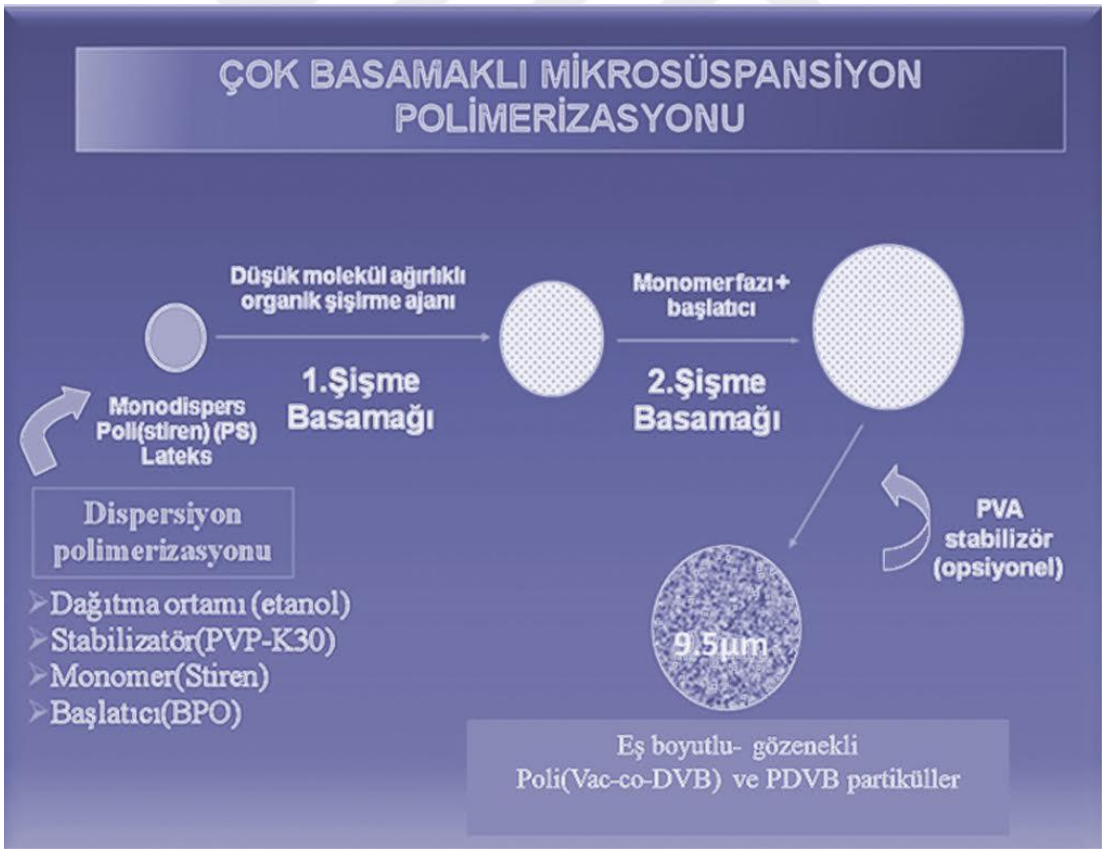
Kontrollü ilaç salımında kullanılacak eşboyutlu-gözenekli mikro kürelerin sentezi çok basamaklı mikro süspansiyon polimerizasyonu yöntemi ile yapılmıştır. Yöntem, daha önceki çalışmalarda, farklı kimyasal yapıya sahip mikro kürelerin hazırlanması amacıyla geliştirilmiş bir polimerizasyon yöntemidir (Unsal ve diğ., 2004a; 2004b; 2005a).

Yöntemde monomer olarak vinil asetat (VAc), çapraz bağlayıcı olarak ise divinilbenzen (DVB) kullanılmaktadır. Yöntemin şematik gösterimi Şekil 2.2'de verilmektedir. Yöntemde çıkış materyali olarak, dispersiyon polimerizasyonu ile sentezlenen ortalama 3.1µm boyutunda monodispers polistiren (PS) lateks partiküller kullanılmaktadır (Çağlayan ve diğ., 2006).

Çizelge 2.2 Sentezlenen poli(VAc-co-DVB) bazlı mikro küreler

Kod	Monomer/ Çapraz bağlayıcı	Diluent	Başlatıcı
DVB2	VAc/DVB	TOLUEN/DBP	BPO
DVB3	DVB	TOLUEN/DBP	BPO

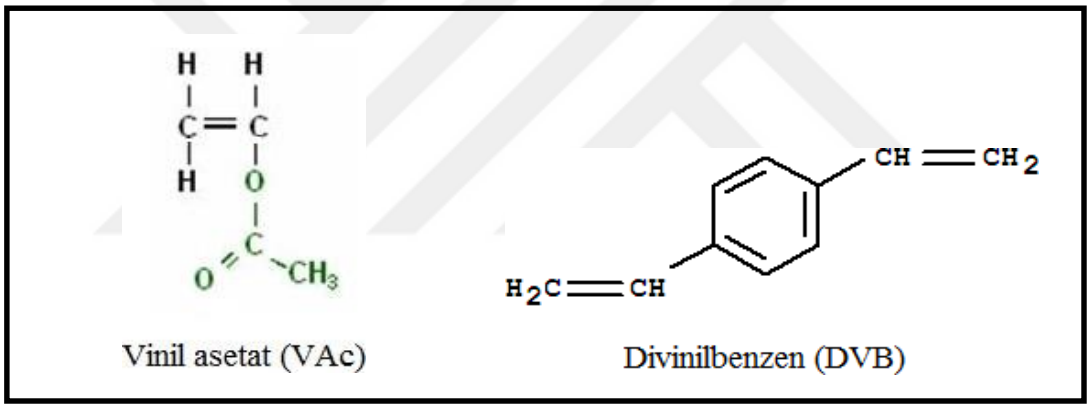
Şekil 2.2'de de görüleceği üzere, monodispers PS partiküller ilk basamakta, su bazlı emülsiyon ortamı içerisinde gerek monomer, gerekse solvent/solvent karışımı içeren bir organik faz ile şişirilmektedir. İkinci basamakta ise monomer fazı şişmiş partiküller içerisinde polimerize edilerek, monodispers ve gözenekli formda poli(vinil asetat-co-divinilbenzen) [poli(VAc-co-DVB)] partiküllerin (Unsal ve diğ., 2006a ve 2006b) eldesi sağlanmaktadır. Aşağıda verilen Çizelge 2.2'de yöntemin tipik uygulaması gösterilmektedir.



Şekil 2.1 Eş boyutlu gözenekli poli (VAc-co-DVB) partiküllerin sentezi için kullanılan *"Çok Basamaklı Mikro süspansiyon Polimerizasyonu"* yöntemi

2.1.3 Eş boyutlu-gözenekli poli(VAc-co-DVB) mikro kürelerin üretim yöntemi

Partiküllerin çok basamaklı mikro süspansiyon polimerizasyonu yöntemi ile sentezi için diluent olarak toluen (HPLC grade, Aldrich Chem. Corp., ABD) ile dibütil ftalat (DBP, Aldrich Chemicals Co., ABD) ve anyonik emülsiyon yapıcı madde olarak sodyum dodesil sülfat (SDS, Sigma, ABD) kullanılmıştır. Polimerizasyonlarda monomer olarak vinil asetat (VAc, Aldrich Chem. Corp., ABD); çapraz bağlayıcı monomer olarak ise divinilbenzen (DVB, %55 para ve meta- DVB izomerleri Aldrich Chem. Corp, ABD) (%5 NaOH çözeltisi ile ekstrakte edilerek) kullanılmıştır (Şekil 2.3). Başlatıcı olarak yağda çözünebilen başlatıcılardan seçilen benzoil peroksit (BPO, Aldrich Chemicals Co., ABD) kullanılmadan önce kurutulmuştur. Polimerizasyonlarda stabilizör olarak polivinilalkol (PVA, MA: 87000-146000, %87-89 hidrolize, Aldrich Chemicals Co., ABD) kullanılmıştır.



Şekil 2.2 Poli(VAc-co-DVB) mikro kürelerin sentezinde kullanılan monomer ve çapraz bağlayıcı monomer

Monodispers formdaki partiküllerinin gözenekli olabilmesi, yapısına gözenek oluşturucu ajanların eklenmesi ile mümkün olmaktadır. Bu amaçla polistiren çıkış partiküllerinin içine düşük molekül ağırlığına sahip organik bir ajan olan toluen ve DBP eklenmiştir. Homojen ikili bir karışımdan oluşan organik faz, polistiren partiküllerin içine girerek zincirlerin gevşemesine (kısmen de olsa çözünmelerine) diğer bir deyişle partiküllerin şişmesine neden olmaktadır. Ancak polistiren partiküllerin organik ajanla şişirilmesi sırasında monodispersitenin korunması gerekmektedir. Bu nedenle şişirme işlemi sırasında diluent, sodyum dodesil sülfat (SDS) varlığında sulu emülsiyon ortamında çıkış lateksi ile etkileştirilmiştir. Burada SDS misel yapısı oluşturarak, diluentin emülsiyon ortamı içerisinde homojen olarak

dağılmasını sağlamaktadır. Böylece partiküllerin aynı oranda şişmekte ve monodispersite korunmaktadır.

Poli(VAc-co-DVB) partiküller hacimce iki farklı VAc/DVB oranında (sırasıyla 50:50 ve 0:100) sentezlenmiştir. Partiküllerin sentezinde kullanılan yöntemde sulu emülsiyon için, sürekli faz SDS (0.16 g) ve PVA'nın (0.35 g) sulu ortam (65 ml) içerisinde çözünmesiyle elde edilmektedir. Sulu emülsiyon ortamına, toluen (1.5 ml) ve DBP (1.5 ml), VAc (DVB2 için: 1.6 ml DVB3 için: 0 ml), DVB (DVB2 için: 1.6 ml DVB3 için: 3.2 ml) ve BPO (0.12 g) eklenmektedir. Birinci basamakta elde edilen çıkış lateksini takiben ikinci basamakta (0.08 g) SDS ve (30 ml) distile su, çözelti berrak hale gelene kadar ultrasonikasyonla soniklendikten sonra içine (1.5 ml) toluen (1.5ml), DBP eklenen bu karışım, 12 dakika boyunca probsonikasyona (ANDELIN, Almanya) tabi tutularak dispers edilmiştir. Elde edilen emülsiyona monodispers polistiren lateks partiküller (0.15 g) eklenmiştir.

Diluent içeren organik fazın lateks partiküllere transferi ve onları şişirmesi amacıyla elde edilen karışım oda sıcaklığında, 24 saat süreyle, manyetik olarak 400 rpm hızda karıştırılmıştır. Üçüncü basamakta ayrı ortamlarda hazırlanan (0.08 g) SDS ve (30 ml) distile su ve monomer (0.12 g), BPO karışımları çözeltiler berrak hale gelene kadar ultrasonikasyonla soniklenmiştir. Daha sonra monomer ve başlatıcı içeren karışım, SDS'li ortama eklenerek 12 dakika boyunca probsonikasyona tabi tutulmuştur. Sonikasyondan çıkan bu karışım ikinci basamak çözeltisine eklenmiştir. Sonuç olarak başlatıcı, monomer ve diluent içeren organik fazın lateks partiküllere transferi ve onları şişirmesi amacıyla elde edilen karışım bir kez daha oda sıcaklığında, 24 saat süreyle, manyetik olarak 400 rpm hızda karıştırılmıştır. Bu süre bitiminde (5 ml) distile su içinde çözünmüş olan (0.35 g) PVA son karışıma eklenerek ortam sıcaklığı, 70^{o}C'ye yükseltilmiş ve şişmiş partiküller içerisinde polimerizasyon, çalkalamalı su banyosunda, 24 saat süreyle, 70^{o}C'de 120 cpm çalkalama hızında yapılmıştır.

Elde edilen eşboyutlu-gözenekli formda poli(VAc-co-DVB) partiküllerin sentez koşulları Çizelge 2.3'de özetlenmekte ve sentez için kullanılan polimerizasyon yöntemi şematik olarak Şekil 2.2.'de verilmektedir. Sentezlenen eş boyutlu poli(VAc-co-DVB) partikülerin (DVB2 ve DVB3) ekstraksiyon ve hidroliz aşamaları literatürde verildiği şekliyle gerçekleştirilmiştir (Çağlayan ve diğ., 2006).

Çizelge 2.3 Poli(VAc-co-DVB) bazlı mikro küre sentez koşulları

	Partikül Kodu	Lateks (g)	Monomer (ml)	Ç.Bağlayıcı (ml)	Diluent (ml)	Başlatıcı (g)	PVA (g)
Poli(VAc-co-DVB)	**DVB1**	0.15 (PS1)	1.6	1.6	3.0	0.12	0.35
	DVB2	0.15 (PS2)	1.6	1.6	3.0	0.12	0.35
Poli(DVB)	**DVB31**	0.15 (PS1)	0	3.2	3.0	0.12	0.35
	DVB32	0.15 (PS2)	0	3.2	3.0	0.12	0.35

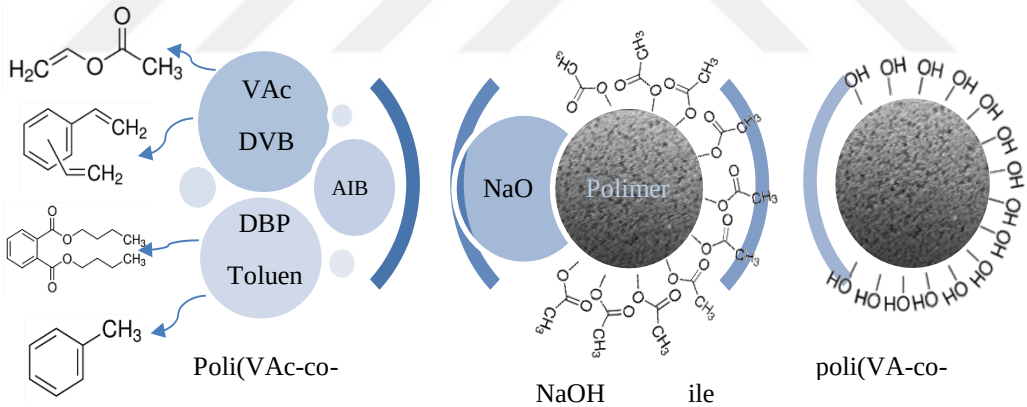
Polimerizasyon sonucunda ana ürün olarak elde edilen eşboyutlu ve gözenekli partiküllerin dağıtma ortamından ve polimerizasyon yan ürünlerinden ayrılması gerekmektedir. Partiküllerin ortamda bulunan ve sürekli fazda oluşan 1µm civarındaki yan üründen ayrılması amacıyla bir seri santrifüjleme dekantasyon işlemi uygulanmıştır. Santrifüjleme işlemi önce distile su ardından da etanol ile yapılmıştır. Polimerizasyon sonrasında erlenlerden alınan dispersiyon, 10 ml hacmindeki santrifüj tüplerine konulmuş 1500 rpm'de 3 dakika boyunca santrifüjlenmiştir. Santrifüj sonucunda monodispers makrogözenekli partiküller çökmüş ve yaklaşık 1 µm boyutundaki yan ürünler süpernatantın dekantasyonu ile ortamdan uzaklaştırılmıştır. Santrifüjleme-dekantasyon işlemine optik mikroskop ile yapılan gözlemlerle küçük partikül fraksiyonları ortamdan tamamen uzaklaşana kadar devam edilmiştir. Daha sonra elde edilen eşboyutlu makrogözenekli partiküller etanol ortamında dağıtılmış ve 2000 rpm hızında 3 dakika boyunca santrifüjlenmiştir. Bu işlem 3 kez tekrarlanmıştır. Partiküller içinde kalan organik ajanın ve lineer polistirenin ortamdan uzaklaştırılması için partiküller THF ile ekstrakte edilmiştir. Bu amaçla partiküller 10 ml'lik santrifüj tüplerinde önce THF içine dispers edilmiş, 2000 rpm'de 3 dakika boyunca santrifüjlendikten sonra süpernatant ortamdan uzaklaştırılmıştır. 2 kez yinelenen santrifüj işleminin ardından partiküller yaklaşık 150 ml THF içine alınmıştır. Partiküller, THF ile çalkalayıcılı su banyosunda (Memmert, Almanya) 50°C'de 4 saat süreyle ekstrakte edilmiştir. Ekstraksiyon bitiminde partiküller oda sıcaklığında soğutulmuştur.

Polimerizasyon sırasında oluşan mikro küreler içinde sentez aşamasında belirli boşluklar kalmaktadır. Bu boşluklar makrogözenekli yapının temelini oluşturmaktadır. Polimerizasyon sonrasında yapılan su ve etanol yıkamaları sırasında küreler arasında

az da olsa bulunan çözünmemiş SDS, THF ekstraksiyonu sayesinde yine küreler içinde bulunan reaksiyona girmeyen monomer ve çıkış lateksinden kaynaklanan lineer polistiren zincirler, çapraz bağlı polimerik matristen sökülüp atılmaktadır. Bu sayede mikro küreler temizlenerek gözenek yapısının tam olarak oluşturulması sağlanmaktadır. Ekstraksiyon sonrasında partiküller tekrar etanol ve daha sonra distile su ile yıkanarak yaklaşık % 10'luk sulu süspansiyon halinde oda sıcaklığında saklanmaktadır.

2.1.4 Poli(VAc-co-DVB) Partiküllerin Hidrolizi

Son basamak olarak polimerizasyon sonucunda elde edilen poli(VAc-co-DVB) kopolimeri sodyum hidroksit (NaOH, Merck A.G., Almanya) ile hidrolizedilmektedir. 0.25 g partikül önce, 0.8 g NaOH içeren 20 ml metanol ile 250 ml'lik pyrex reaktör içinde dağıtılmaktadır. Hidroliz işlemi, 70°C'de 8 saat süreyle çalkalayıcılı bir su banyosunda gerçekleştirilmektedir. Hidroliz işlemi sayesinde partiküllerdeki poli(VAc) birimleri –OH fonksiyonel grubu içeren PVA'ya dönüşmektedir. Bu dönüşümün şematik gösterimi Şekil 2.4'de verilmiştir.

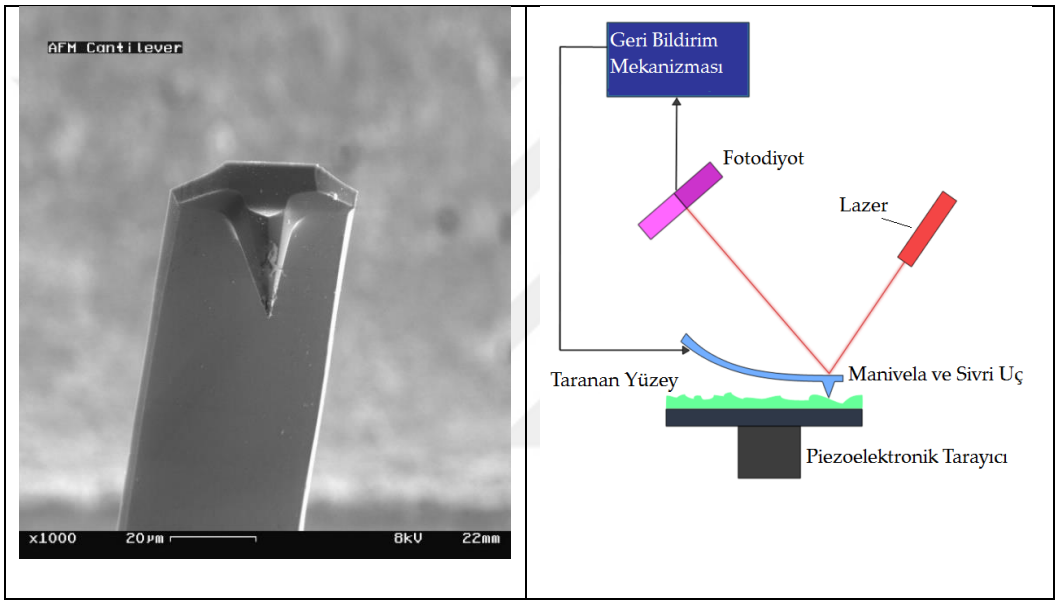


Şekil 2.3 Eş boyutlu-gözenekli partiküllerin bazik hidrolizi

2.2 Atomik Kuvvet Mikroskobisi ve Nanomekanik Testler

2.2.1 Atomik kuvvet mikroskobisi (AFM)

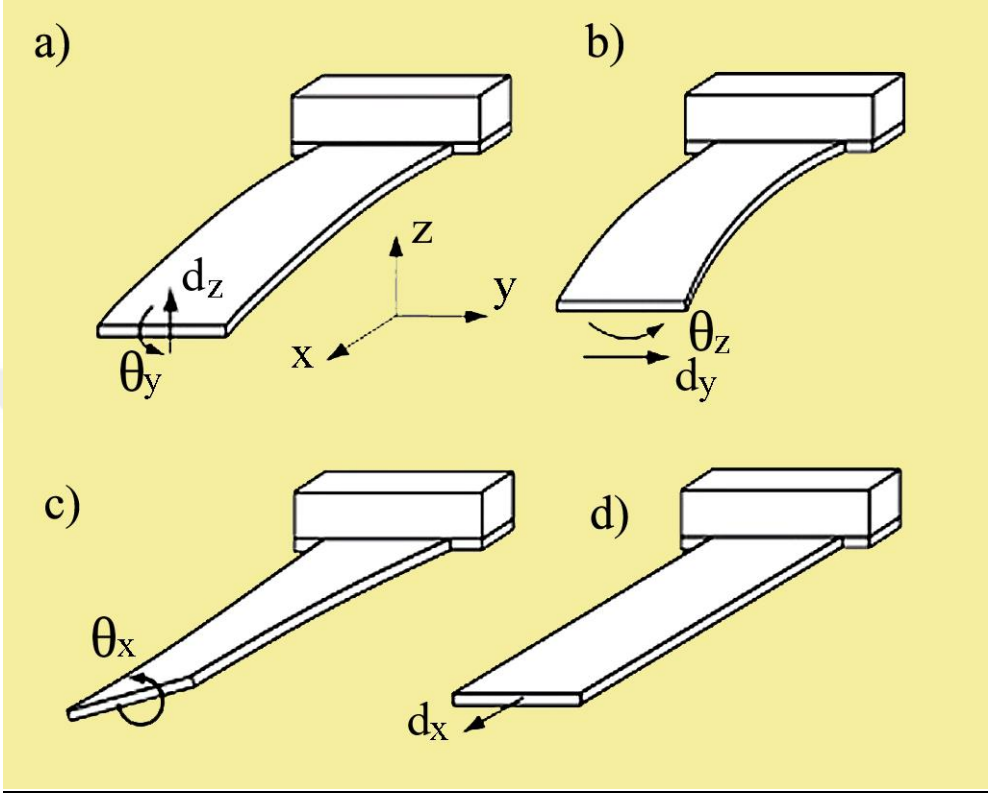
AFM taramalı uç analiz yöntemlerinden birisidir ve uç atomu ile yüzey atomu arasındaki atomik kuvvetlerin ölçülmesi prensibiyle çalışmaktadır. 1986 yılında Binning, Quate ve Gerber tarafından IBM Araştırma Laboratuvarı (Zürih) tarafından geliştirilip 1989 yılında ticari anlamda piyasaya sürülmüştür. Nano ölçekte görüntüleme, ölçme ve malzeme işleme konusunda gelişmiş araçlardan birisidir.



Şekil 2.4 Tipik bir AFM mikro yay ve sivri ucu b) AFM çalışma prensibi

AFM'nin analiz almasına yardımcı olan uç yüzeye yaklaştırılarak temas kurulur. Yüzeyle etkileşen uç yüzey şekillerine göre bir bükülme ve/veya alçalma – yükselme hareketi yapar. Ucun hem kalibrasyonunda hem de analizinde yardımcı olan lazer ışınlarının fotodiyota yansımasıyla analiz gerçekleşir. Yüzey karakterizasyonun olan yükselti veya çukurlarda z yönünde hareket eden piezo-elektrik düzenek analiz yaparken, analiz alınacak alan 'x' ve 'y' yönünde hareketi sağlayan zeminde yer değiştirilerek analiz alınır. Topografi, faz farkı, malzeme sertliği vb. konularda bilgi veren AFM cihazı, üzerinde bulunan uç sayesinde analiz yapmamıza olanak sağlamaktadır (Binning ve diğ., 1986).

AFM'de bulunan yay (kantilever), nanometrik veya nanometre altı mesafelerde ortaya çıkan, van der Waals (Stigter ve diğ.,1992), elektrostatik ve elektronik çekme ve itme (Charrier ve Baudau, 2005) kuvvetleri olarak adlandırılan; prob ve numune yüzeyi arasında oluşturulan etkileşim kuvvetlerini tayin eder (Şekil 2.5).



Şekil 2.5 Yüzey ile etkileşen AFM ucunun karşılaştığı deformasyon şekilleri (Roa ve diğ., 2011).

AFM yayı, yüzey ile etkileşirken dört farklı deformasyon şekli ile karşılaşılır (Şekil 2.6).

a) Düşey bükülme: z ekseni etrafında bükülme olarak tanımlanabilir. Bu tür bir bükülme ile temas modunda çalışılırken karşılaşılır ve geri besleme sinyali olarak alınır. Geri besleme sinyali (θy) ile normal sapma (dz) miktarlarıyla hesaplanır.

b) Yatay bükülme: y ekseni etrafında bükülme olarak tanımlanabilir. Bu tür bir bükülme olayı ile temas modunda çalışılırken karşılaşılır. Rotasyon açısı (θz) ve düşey sapma (dy) olarak hesaplanır. Bu tarz bir bükülme yay sertliklerinin çok olması nedeniyle oldukça küçük bir değerdir.

c) Torsiyon (Burulma): x ekseni üzerinde gerçekleşir. AFM sivri ucu ile numune yüzeyi arasında olan sürtünme kuvveti ile orantılı bir burulma açısı (θx) ortaya çıkmaktadır.

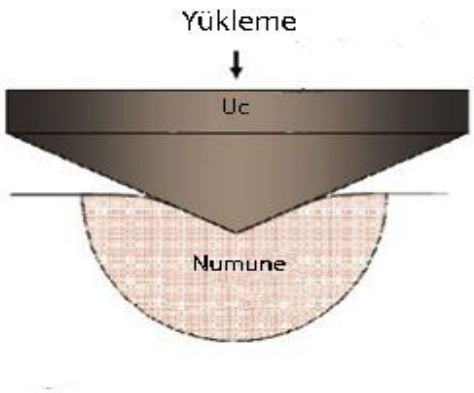
d) Uzama: x ekseni boyunca yaşanır. Yay'ın uzunlamasına neden olmaktadır (dx). Hızlı tarama esnasında temas modunda gerçekleşir (Enachescu ve diğ., 2004).

2.2.2 Nanoindentasyon

İlk kez 1992 yılında sertlik ve elastik modülü ölçmek için tanıtılan indentasyon tekniği küçük ölçeklerdeki malzemelerin mekanik özelliklerinin belirlenmesinde ve karakterizasyonunda kullanılmıştır (Oliver ve Pharr, 1992).

$$E = \frac{\sigma}{\varepsilon} = \frac{F/A}{\Delta l / L_0} \qquad [2.1]$$

Malzemelerin dayanımlarını, adezyon kuvvetlerini, sertlik modüllerini, gerilim – gerinim eğrilerini, geri kazanım derinliklerini, kırılma tokluklarını, akma dayanımlarını, delinme dirençlerini, yapışma – yapışkanlık özelliklerini, plastik ve elastik deformasyon miktarlarını analiz edebilmektedir. Belirli yazılımlarla birlikte numunenin farklı noktalarından alınan analizleri birleştirerek sertlik haritası ve adezyon haritası oluşturmamamıza da yardımcı olabilmektedir.



Şekil 2.6 AFM cihazı ile nanoindentasyon

Nano indentasyon testlerinde sertlik; Maksimum yükleme miktarının (Pmax) sivri uçun temas alanına (Ac) oranı ile hesaplanır (Shuman, 2006).

$$Sertlik = \frac{Yük}{Alan} = \frac{Pmax}{Ac} \quad [2.2]$$

Kuvvet spektroskopisi (FS) modu, temel bir AFM modudur. Bu yöntemde AFM ucu, μN ile birkaç pN arasında dikey kuvvetler uygulayabilmektedir. Bu işlem sırasında AFM ucu numune yüzeyinden içeriye doğru belirli Δz mesafesinde itilir, etkileşim gerçekleştirdikten sonra da AFM ucu yeniden başlangıç pozisyonuna getirilir. Bu işlem yüksek bir kuvvet çözünürlüğünde tüm malzemeler için nano mekanik ölçümler sağlar (Şekil 2.7). Elde edilen veri kuvvet eğrisidir ve numunenin elastik ve plastik özelliklerinin belirlenmesini sağlar. Numune yüzeyine uygulanan kuvvet (F) arttırıldıkça numuneye baskı uygulanır ve numune hem elastik hem de plastik deformasyon gözlemlenebilir. Mekanik testler malzemelerin karakterizasyonunda ve kalite kontrolünde sıkça kullanılmaktadır. Günümüzde AFM, döngüsel yük altında oluşan yüzey deformasyonunun belirlenmesinde, seramik ve polimerik malzemlerin yapısal özelliklerinin belirlenmesinde kullanılmıştır. AFM yalnızca yüksek çözünürlüklü topografik görüntü vermez, aynı zamanda malzemede oluşan deformasyonla ilgili kuvvetleri de ölçer. Nanoindentasyon (veya birçok makalede belirtilen şekli ile pikoindentasyon) işleminde AFM'nin, bir başka deyişle atomik kuvvet mikroskobisi – kuvvet spektroskopisinin (AFM-FS) kullanılmasının birçok avantajı bulunmaktadır. Örneğin, ölçümler oldukça lokaldir (numune ve prob arasında birkaç nm^2'lik küçük temas alanı bulunur) ve farklı alanlarda ölçüm gerçekleştirilerek, numuneye ait mekanik özelliklerin ortalamasının alınması sağlanabilir ve haritalandırma uygulanabilir.

Ayrıca bu yöntem, derinliğe bağlı bir algılama sağlar ve bu şekilde ölçme gerilimine (σys) etki etmeksizin farklı daldırma derinliklerinde bir malzemenin karakterizasyonun gerçekleştirilmesine olanak sağlar. Son olarak, indentasyon testleri sırasında oluşan baskı izinin görüntülenmesi ve karakterize edilmesi gerekmez ki bu işlem E değerlerinin hesaplanmasını kolaylaştırır. Belirtilen avantajların ışığında, pikoindentasyon birkaç nN'dan pN seviyesine kadar değişen yükler uygulanırken (F), E (Young Modülü) değerlerinin ölçülmesi konusunda uygun ve güvenilir bir teknik olarak ortaya çıkmaktadır. Kuvvete karşılık yerdeğiştirme eğrileri (F-z), bu eğrilerin klasik makroskopik veya nanoskopik indentasyon testlerinden elde edilen eğriler ile benzerlik göstermesi nedeniyle sert malzemelerin elastik özellikleri hakkında bilgi

edinilmesine neden olmuştur. Pikoindentasyon ile ilgili temel farklılıklar düşük uygulanan kuvvet ve nanometre mertebesindeki temas alanıdır (Ac).

3.SONUÇLAR

Bu çalışmada, ilaç taşıyıcı olarak kullanılabilme imkanı bulunan Poli(VAc-co-DVB) mikro kürelerin mikro mekanik özellikleri incelenmiştir. Yüzey karakterizasyonları ve kuvvet spektroskopi ölçümleri AFM cihazı ile gerçekleştirilirken, yüzey karakterizasyonları SEM kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Ayrıca, bu mikro kürelerin sentezinde kullanılan çıkış lateksleri de mekanik incelemeye tabi tutulmuştur.

Sentezlenen partiküllerin ortalama partikül boyu ve boy dağılımı taramalı elektron mikroskobu (Scanning Electron Microscope, SEM) (MIRA3 TESCAN) ile tayin edilmiştir. Bu amaçla 0.1 ml partikül dispersiyonu, örnek diski üzerine konularak, vakum ortamında 50^{o}C'ta kurutulmuştur. Partiküller vakum altında yaklaşık 150 Angstrom kalınlığında altın ile kaplanmıştır. Görüntüler 1500-4000- 15000X büyütme ile SEM cihazında fotoğraflanmıştır. Görüntüler içinden 1500X büyütme olan SEM fotoğraflarının değerlendirilmesi ile, sayıca ortalama partikül boyu ve boy dağılımı için bağıl standart sapma (relative standard deviation, RSD %) değeri belirlenmiştir.

3.1 Parçacık Deformasyonunun Modellenmesi

Bir AFM ucu ve katı bir alt tabaka arasında harici bir mekanik yük F tarafından sıkıştırılmış bir polimer küresi Şekil 3.1'de gösterilmektedir. AFM ucu ve mikro küre arasındaki temasın modellenmesinin karmaşıklığını azaltmak için, yalnızca mikro kürelerin üst kısmında parçacık üzerine yükleme (bastırma) -boşaltma (yük kaldırma) döngüleri kaydedilmiştir (Şekil 3.1). Bu şekilde gerçekleştirilen yük uygulama tek eksenli bir sıkıştırma ortaya çıkarmaktadır. Ayrıca, elastik deformasyon bölgesinde yalnızca nanokütle sıkıştırmasının ardından parçacık hacminin değişmediği varsayılmıştır. Hertz teorisi, yapışma (adezyon) ve sürtünme yokluğunda normal yükler altında elastik malzemelerin temas deformasyonunu göz önüne alır. Teori, yapışkan olmayan, elastik bir kürenin iki elastik tabaka ile düzlemsel alt tabaka arasında sıkıştırılarak küçük boyutlu deformasyonların olması durumunda geçerlidir ve ayrıca nanoindentasyon deneylerinde yaygın olarak kullanılır (Tan ve diğ., 2004).

Hertz modeline göre, elastik bir küre uygulanan bir normal yüke tabi tutulduğunda, F, Şeki 3.1'de gösterildiği gibi kürenin deformasyonu, h aşağıdaki gibi ifade edilir:

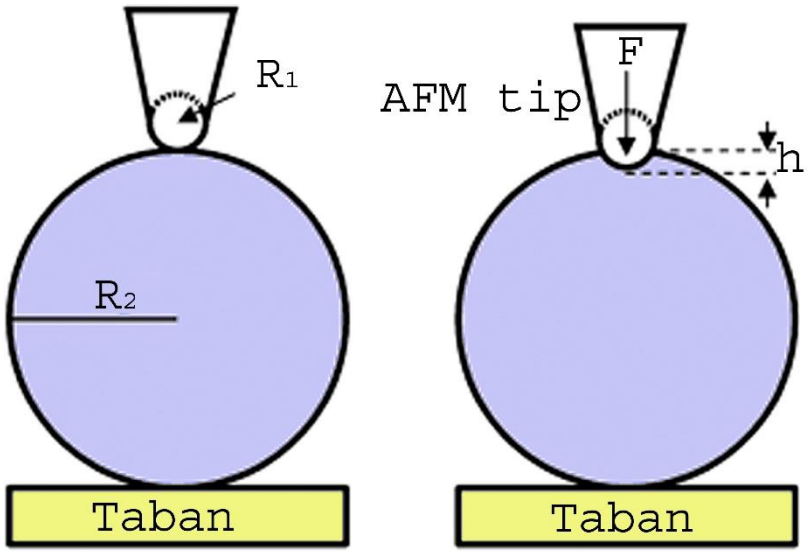
$$h^{3/2} = \frac{3F}{4E^*\sqrt{R^*}} \quad [3.1]$$

burada R^*ve E^*, aşağıdaki gibi tarif edilen be temasta olan 1 ve 2. Cisimlerin ortak elastik modülü ile bükümlülük oransal çapıdır.

$$\frac{1}{R^*} = \frac{1}{R_1} + \frac{1}{R_2} \quad [3.2]$$

$$\frac{1}{E^*} = \frac{1-\upsilon_1^2}{E_1} + \frac{1-\upsilon_2^2}{E_2} \quad [3.3]$$

Burada υ_1^2ve υ_2^2 malzemelerin Poisson oranlarıdır. Hesaplamalarda R_1 AFM ucunun eğimi, ve R_2 mikro kürenin yarıçapıdır. Tüm çalışmalarda kullanılan AFM ucunun elastik modülü 130 GPa ve Poisson oranı 0.27'dir. Yay sabiti 0.6 N/m, uç çapı 8 nm ve koni açısı $40^{o'}$dir.



Şekil 3.1 AFM indentasyon işleminde ölçüler ve koordinatlar.

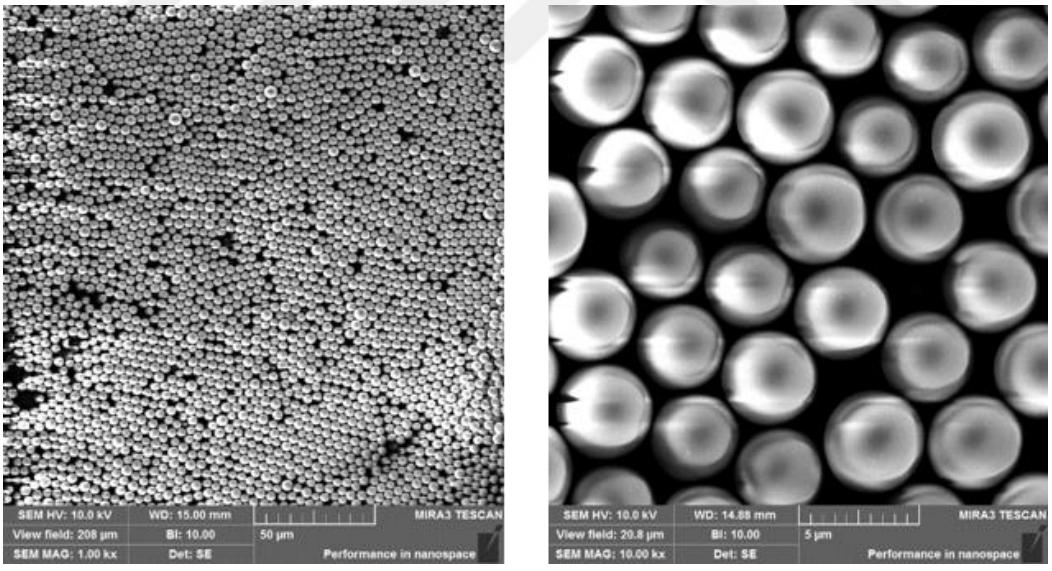
3.2 PS 1

3.2.1 PS çıkış lateksinin üretimi ve karakterizasyonu

Eş boyutlu ve gözenekli partiküllerin üretiminin ilk basamağında monodispers (tek dağılımlı) formda PS çıkış lateksi sentezlenmiştir. Stiren monomerinin dispersiyon polimerizasyonu yöntemi kullanılarak polimerleştirilmesi sonucunda ortalama 3.1µm boyutunda monodispers çıkış lateksleri elde edilmiştir.

3.2.2 PS1 - Elektron mikroskobisi sonuçları

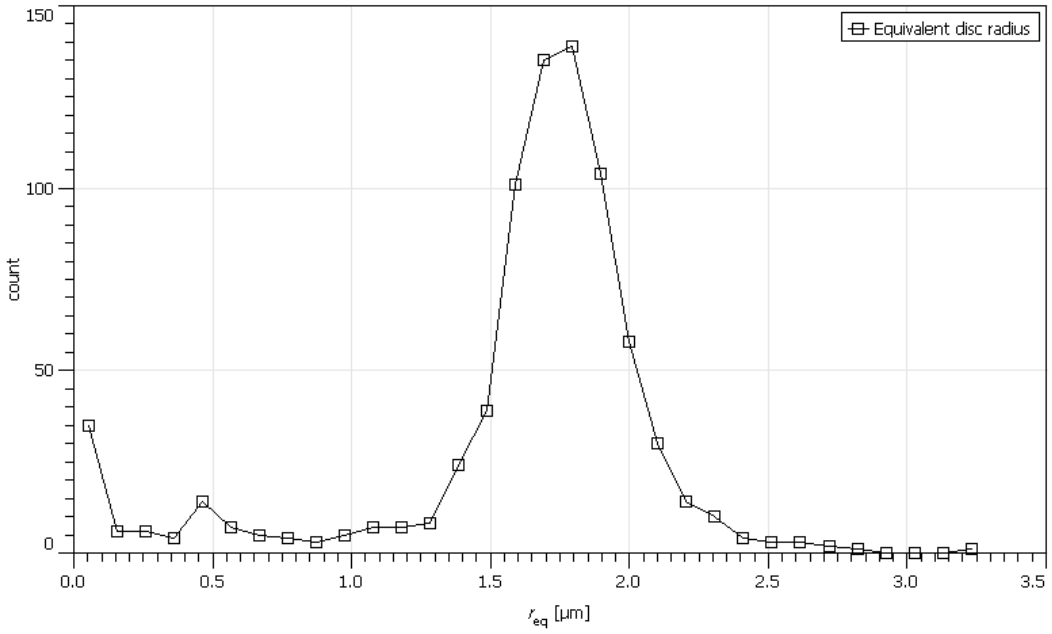
PS1'e ait elektron mikroskobisi görüntüleri Şekil 3.2'de verilmiştir. Parçacık boyut dağılımı ve ortalama parçacık büyüklükleri Gwyddion yazılımı kullanılarak hesaplanmıştır. Hesaplama işlemi, alınan görüntüde kenar belirlenmesi ve ardından tanecik belirlenmesi algoritmalarının kullanılması ile gerçekleşmiştir. Tanecik boyut dağılımı, Şekil 3.3'te gösterilmiştir.



Şekil 3.2 Çıkış lateksi olan polistiren

Çıkış lateksi PS1'in 1000 ve 10000 büyütme ile elde edilen SEM görüntüleri incelendiğine, yapının gözeneksiz olduğu ve oldukça homojen ve uniform bir dağılıma sahip olduğu görülmektedir. Boyut dağılımı analizi sonucunda, Şekil 3.3'te görüldüğü

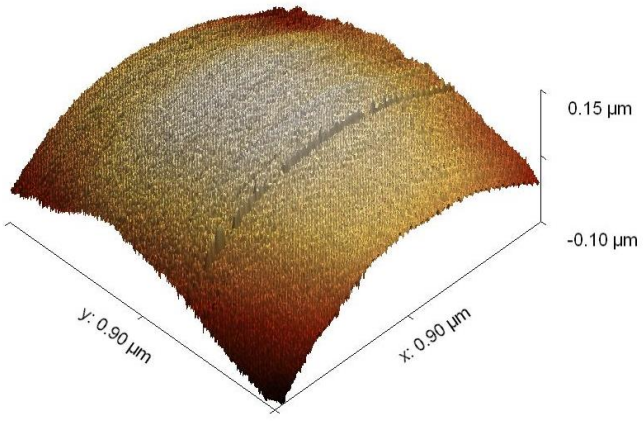
üzere taneciklerin yarıçapları, 1.75 μm civarında yoğunlaşmaktadır ve oldukça homojen ve tek dağılımlı bir boyut dağılım grafiği elde edilmiştir.



Şekil 3.3 PS1 lateksine ait boyut dağılımı

3.2.3 PS1 AFM morfoloji analizleri

Eş dağılımlı çıkış lateksi PS1'e ait örnek 3D AFM görüntüsü Şekil 3.4'te verilmiştir. AFM topoğrafi ve SEM görüntüleri birbirleri ile uyumludur ve oldukça gözeneksiz bir yapıyı ortaya koymaktadır. AFM topoğrafi analizleri sonucu yazılım tarafından hesaplanan istatistiksel veriler Çizelge 3.1'de verilmiştir.



Şekil 3.4 PS1 lateksine ait 3D AFM görüntüsü

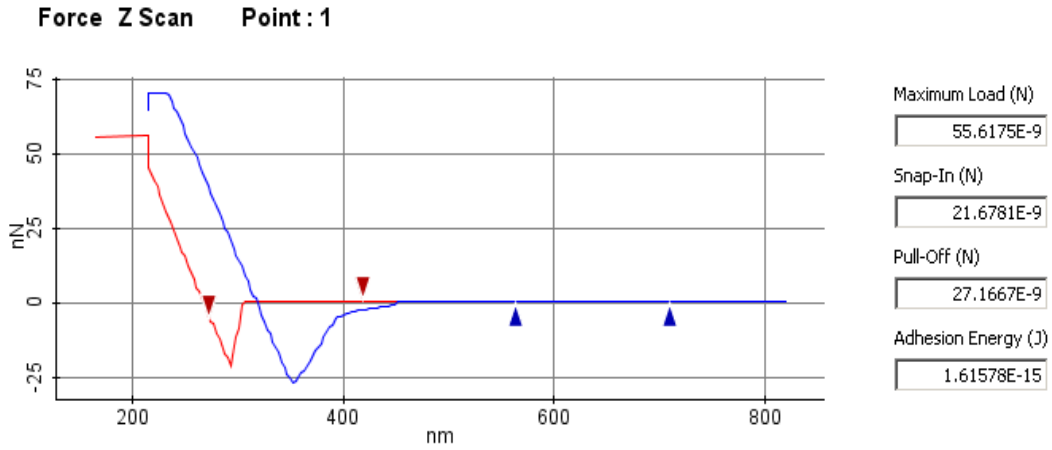
Çizelge 3.1 PS1 lateksine ait boyut dağılımı

Minimum	128.891 nm
Maksimum	261.531 nm
Ortalama	217.765 nm
Median	221.704 nm
Ra (Sa)	19.9999 nm
RMS (Sq)	24.0904 nm
RMS Pürüzlülük (tanecik)	24.0904 nm
Yüzey alanı (ölçüm)	285.301 10^{-15} m^2
Yüzey alanı (hesaplanan)	975.327 10^{-15} m^2

Çizelge 3.1'de görülen değerlerden, ortalamadan sapmaların karelerinin karekökü (Root Mean Square, RMS) değerleri malzemenin yüzeyindeki yapıları boyut karakteristiğini vermektedir. RMS (Sq) ve RMS pürüzlülük değerleri 24 nm olarak bulunmuştur. Malzemenin yüzey pürüzlülüğünün bir ölçüsü de, tarama yapılan yüzey alanı ile hesaplanan yüzey alanı arasıdaki farktır. Ancak, doğal olarak küresel olan bir yüzey için bu parametrenin değerlendirilmesi anlamlı değildir.

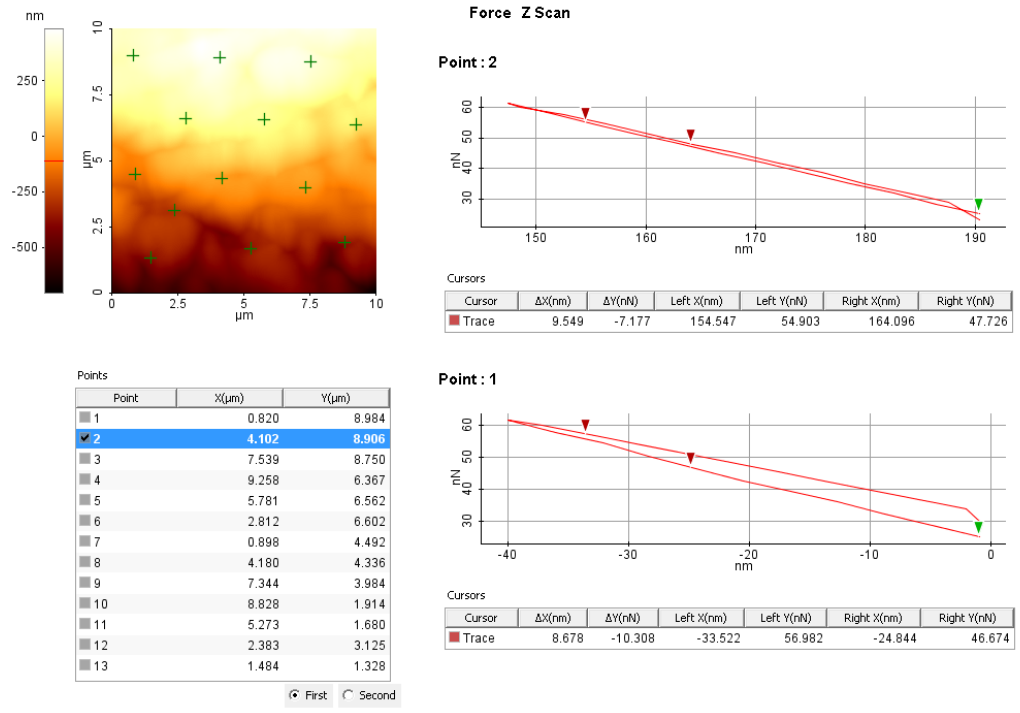
3.2.4 PS1 için kuvvet spektroskopisi analizleri

AFM ile gerçekleştirilen nanoindentasyon işlemi sonucu elde edilen kuvvet-derinlik (F-d) grafiklerinden, elastik davranış gösteren bölgeye ait veriler alınarak, F-d grafiklerinin eğimleri elde edilmiştir. F-d grafiklerine bir örnek Şekil 3.5'te verilmiştir. Grafikte kırmızı çizgi yükleme, mavi çizgi yük kaldırma sırasında alınan eğrileri göstermektedir. Nanoindentasyon testlerinde önemli bir konu, batma derinliği ile ölçülen elastik modül değerlerinin değişmesidir. Bu durum, malzeme yüzeyinden µm mertebesinde derinliklere indentasyon yapıldığı durumda önem kazanmaktadır. Sunulan çalışmada, indentasyon testlerinin sınırı uygulanan maksimum yük olarak belirlenmiş ve bu nedenle de yalnızca yüzeyden 100-200 nm mesafede indentasyon gerçekleştirilmiştir. Bu durumda indentasyon testlerinin batma mesafesine bağlılığı ortadan kalkmıştır. Ayrıca, sınırılı mesafede indentasyon, kürenin taban tarafından bastırılmasını ve kuvvet dağılımını ortadan kaldırdığından, hesaplamalarda kullanılan Hertz modeli yeterli olmuştur.



Şekil 3.5 Bir numuneye ait kuvvet spektroskopi eğrisi

Nanoindentasyon işlemi ile polimerlerin elastik davranışları karakterize edilirken, rastgele seçilmiş çok sayıda noktada, farklı dalma mesafelerinde ve dalma kuvvetlerinde indentasyon deneyleri gerçekleştirilmiştir. Malzeme yüzeyinde seçilen noktalara bir örnek Şekil 3.6'da verilmiştir.



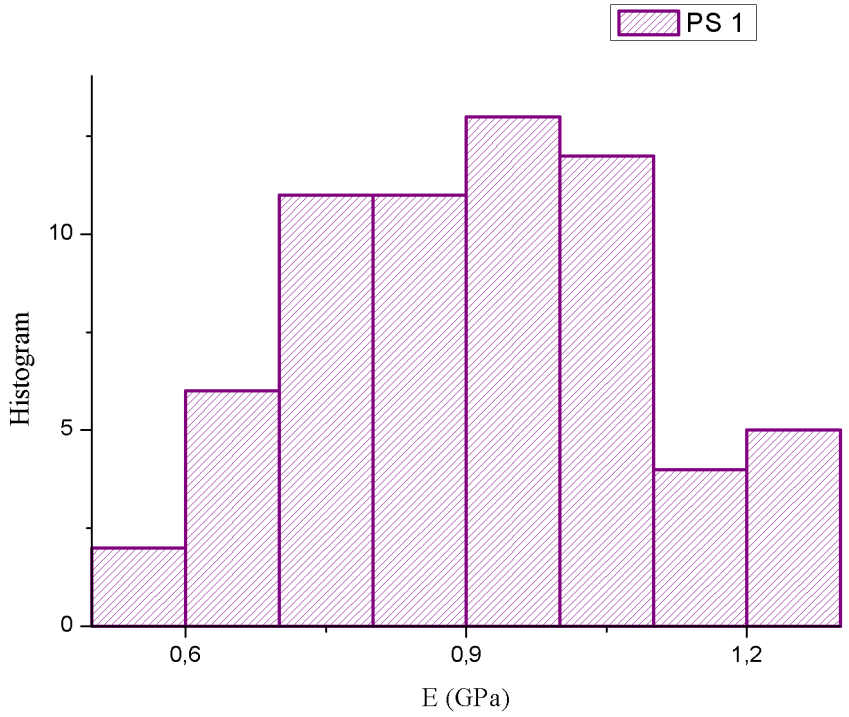
Şekil 3.6 Nanoindentasyon işlemi ve elde edilen F-d eğrileri (örnek)

İndentasyon işlemi sonucunda elde edilen F-d eğrileri kullanılarak elastik bölge belirlenmiştir. Elastik bölge F-d eğrilerinde doğrusal olan bölgedir. Bu bölgede (nN) cinsinden uygulanan kuvvet ve (nm) cinsinden yerdeğiştirme verileri dikkate alınarak Young's Modülü hesaplanmıştır. Konik uçlu AFM yay için Hertz indentasyon modeli aşağıdaki şekilde yazılabilir:

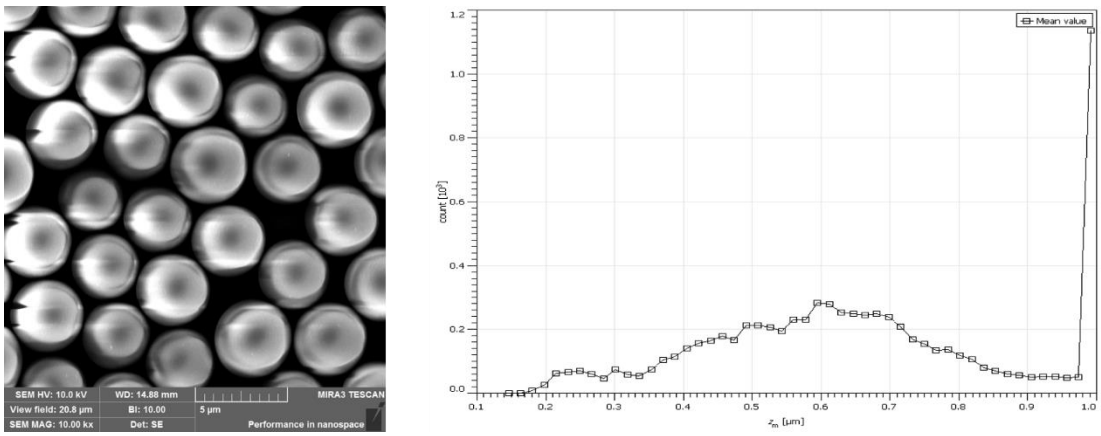
$$F = \frac{E_{etkin}}{1-\vartheta} \frac{2\tan\alpha}{\pi} \delta^2 \qquad [3.4]$$

Burada E_{etkin}, ölçülen Young's Modülü, ϑ, malzeme için Poisson oranı (0.45), α, AFM ucunun tipik yarı tepe açısı (20°), δ, indentasyon derinliği ve F, nN cinsinden uygulanan kuvvettir. Bu işlemin ardından farklı bölgelerden alınan ölçümlerden belirlenen Young Modülü değerleri istatistiki olarak değerlendirilmiştir.

Şekil 3.7'de PS1 lateksi için elde edilen elastik modül histogramı verilmiştir. Elastik modül değeri, çok sayıda ölçümün dağılımı (histogram) şeklinde sunulmştur. Bu tür bir dağılımın nedeni, ölçüm sonuçlarındaki sapmaya bağlı olmayıp, malzemenin üretim aşamasında yüzeyindeki mekanik farklılıklardan kaynaklanmaktadır. Diğer bir deyişle malzemenin yüzey uniformluğunun da bir ölçüsüdür. Şekil 3.7'de görüldüğü üzere PS1 lateksinin elastik modül değeri 600 MPa ile 1200 MPa arasında bir dağılım göstermektedir. Çoğunlukla 900 MPa civarında yoğunlaşmış bir dağılım ortaya çıkmıştır ve dağılımın tek tepe noktalı (tek dağılımlı) olduğu gözlenmiştir. PS1 çıkış lateksinin gözeneklilik değeri incelendiğinde ise (Şekil 3.8), yüzey tanecik yarıçaplarının 300 nm civarında yoğunlaştığı ve yine tek dağılım gösterdiği görülmektedir.



Şekil 3.7 PS1 lateksine ait elastik modül değerleri (çok sayıda ölçümün dağılımı olarak elde edilmiştir).

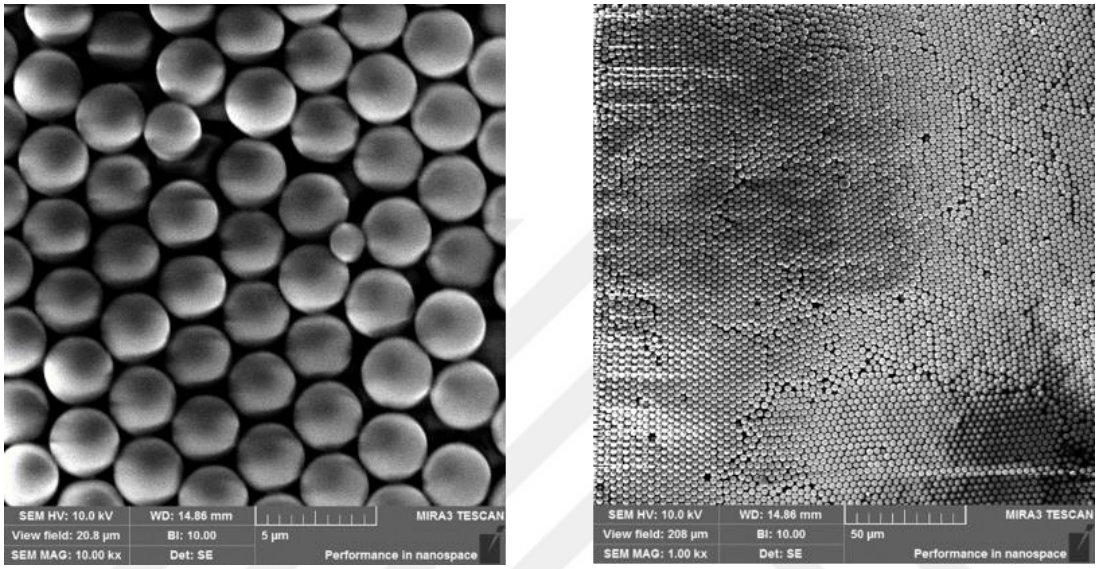


Şekil 3.8 PS1 çıkış lateksine ait hesaplanan gözeneklilik

3.3 PS2

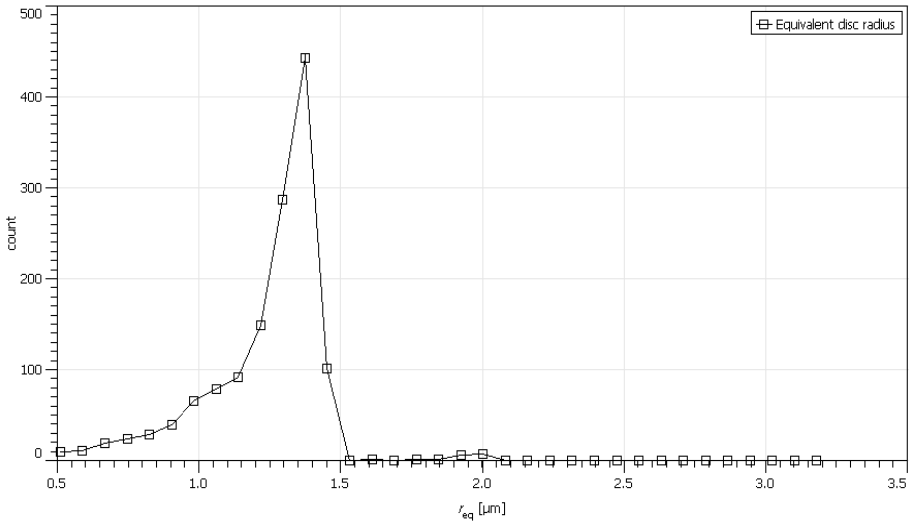
3.3.1 PS2 - Elektron mikroskobisi sonuçları

PS2'e ait elektron mikroskobisi görüntüleri Şekil 3.9'da verilmiştir. Parçacık boyut dağılımı ve ortalama parçacık büyüklükleri hesaplanarak, Şekil 3.10'da gösterilmiştir.



Şekil 3.9 Çıkış lateksi olan polistiren (PS2)

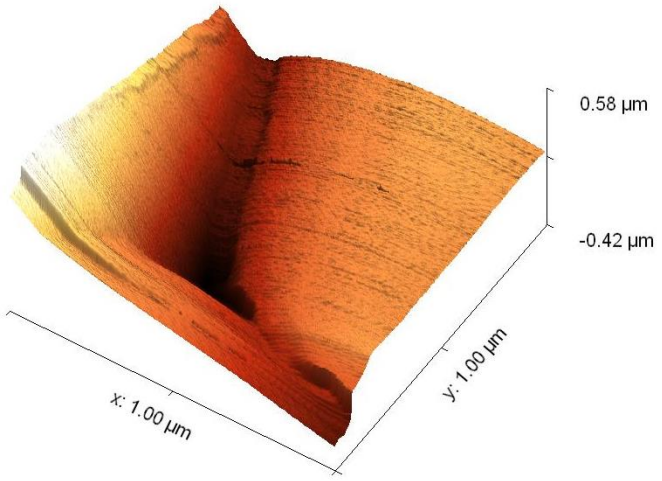
Çıkış lateksi PS2'in SEM görüntüleri incelendiğine, yapının yine gözeneksiz olduğu ve oldukça homojen ve uniform bir dağılıma sahip olduğu görülmektedir. Ayrıca, Şekil 3.10'da görüldüğü üzere taneciklerin yarıçapları, 1.40 μm civarında yoğunlaşmaktadır. PS2 parçacıklarının ortalama tanecik büyüklükleri PS1 lateksine göre daha küçüktür.Ayrıca PS2 lateksi daha dar bir dağılım grafiği verdiğinden, boyutunun PS1'e oranla daha homojen dağıldığı ve tek boyut dağılımının uniform olduğu söylenebilir.



Şekil 3.10 PS2 lateksine ait boyut dağılımı

3.3.2 PS2 AFM morfoloji analizleri

PS2'e ait 3D AFM görüntüsü Şekil 3.11'de verilmiştir. AFM topoğrafi ve SEM görüntüleri birbirleri ile uyumludur ve gözeneksiz bir yapıyı ortaya koymaktadır. Yazılım tarafından hesaplanan istatistiksel veriler Çizelge 3.2'de verilmiştir.



Şekil 3.11 PS2 lateksine ait 3D AFM görüntüsü

AFM ile elde edilen topoğrafik analiz sonucuna göre PS2 lateksinin yüzey RMS sonuçları 40 nm civarında çıkmıştır.

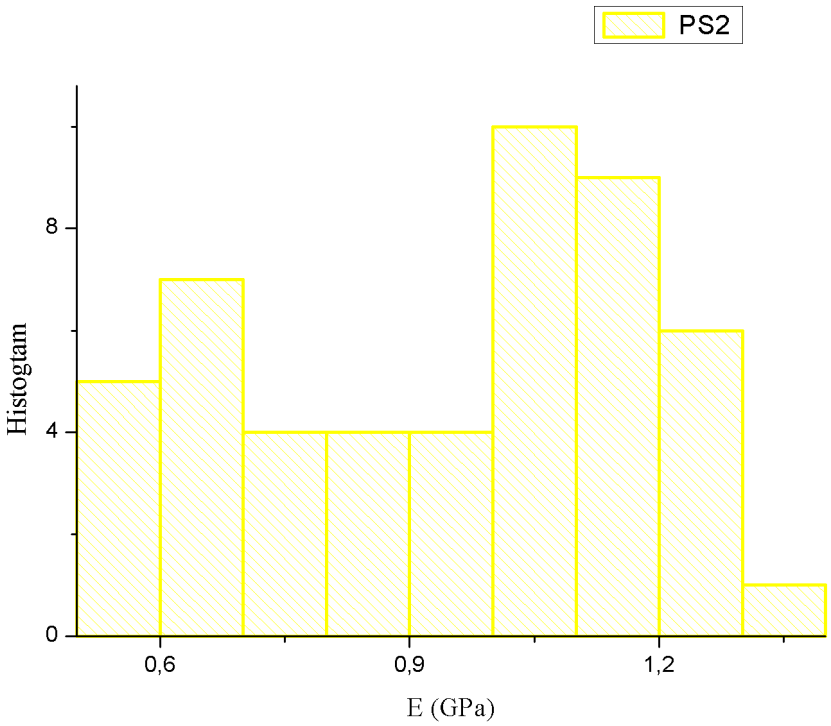
Bu değer, 24 nm olan PS1 lateksine oranla daha yüksektir ve sonuç olarak pürüzlülük değerinin daha yüksek olduğunun bir göstergesidir. PS1 ve PS2 lateksinin alansal oranları karşılaştırıldığında (malzemenin yapısal bükümlülüğün alana etkisi dahil edildiğinde) PS1'de 0.32 olan alan oranının PS2'de 0.34 olduğu görülmektedir. Bu durum, ortalama yüzey şekllerinin PS2'de 40 nm ve PS1'de 24 nm olmasına rağmen gözenekliliğin (tanecik boyutu farklı olsa da) benzer olduğunu ortaya koymaktadır.

Çizelge 3.2 PS2 lateksine ait boyut dağılımı

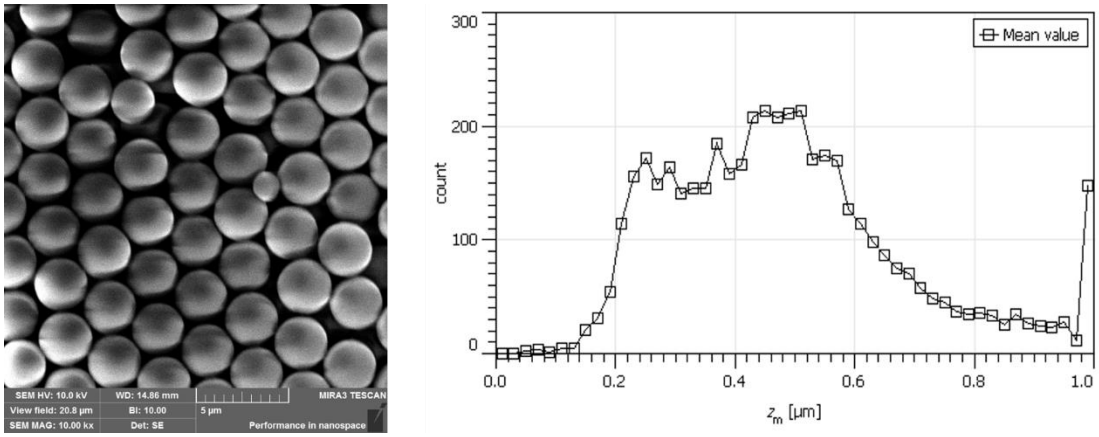
Minimum	-61.491 nm
Maksimum	159.422 nm
Ortalama	94.968 nm
Median	105.317 nm
Ra (Sa)	32.8050 nm
RMS (Sq)	40.7668 nm
RMS Pürüzlülük (tanecik)	40.7668 nm
Yüzey alanı (ölçüm)	173.080 10^{-15} m^2
Yüzey alanı (hesaplanan)	503.955 10^{-15} m^2

3.3.3 PS2 için kuvvet spektroskopisi analizleri

Şekil 3.12'de PS2 lateksi için elde edilen elastik modül histogramı verilmiştir. PS2 lateksin elastik modül dağılımı 600 MPa- 1.3 GPa arasında oldukça geniş olarak bulunmuştur. Ayrıca, 700 MPa ve 1100 MPa'da yoğunlaşan iki farklı histogram piki de göze çarpmaktadır. Bu durum, üretiln PS2 latekslerin farklı iki mekanik davranış sergileyecek yapıda polimerleştiğini göstermektedir. Ayrıca, PS1 ile kıyaslandığında PS2'nin elastik modülünün daha yüksek olduğu söylenebilir. Ancak, boyut dağılımına baklıdığında (Şekil 3.10) 1.4 μm civarında gözlenen dağılım pikinin yanı sıra, 1.0 μm civarında bir pik elde edildiği de görülmektedir. Bu piklerin relatif göreceli oranları elastik modül histogramlarında da gözlenmiş, bu nedenle iki farklı yoğunlukta PS2 lateksinin sentezlenmiş olabileceği kanısını güçlendirmiştir.



Şekil 3.12 PS2 lateksine ait elastik modül değerleri (çok sayıda ölçümün dağılımı olarak elde edilmiştir).



Şekil 3.13 PS2 çıkış lateksine ait hesaplanan gözeneklilik

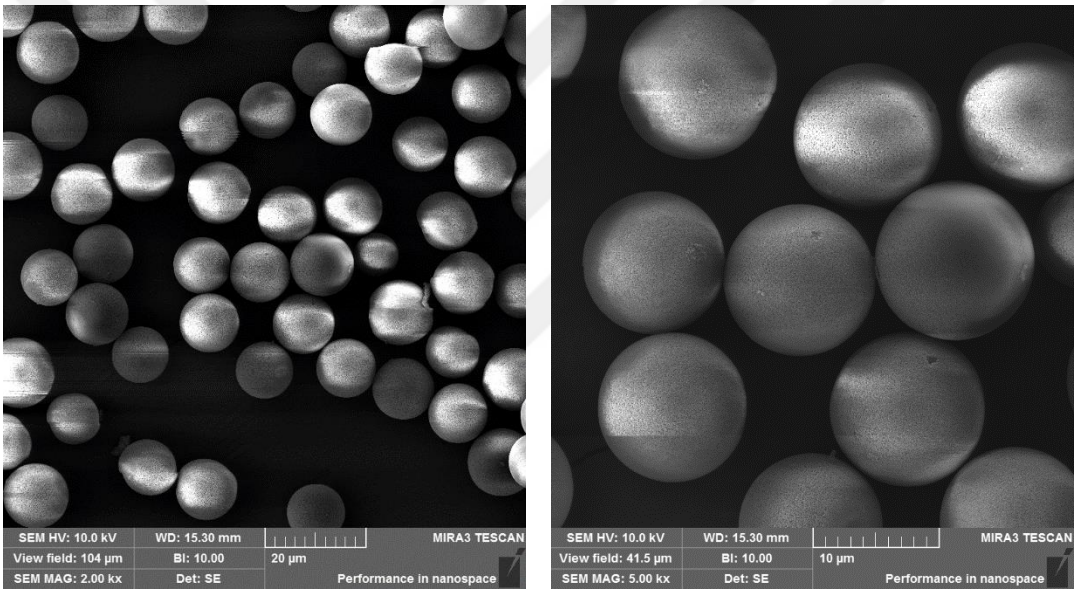
Benzer şekilde, PS2 lateksinin gözenekliliği incelendiğinde, 100-300 nm arasında bir dağılım elde edildiği görülmektedir.Gözenek ortalama büyüklükleri PS1'e oranla daha düşüktür ve bu durum PS1 ile PS2 arasındaki elastik modül farkını açıklamaktadır. Bir

diğer sonuç, gözeneklilik dağılımının da nispeten elastik modül ve tanecik boyut dağılımına benzer örüntüye sahip olmasıdır.

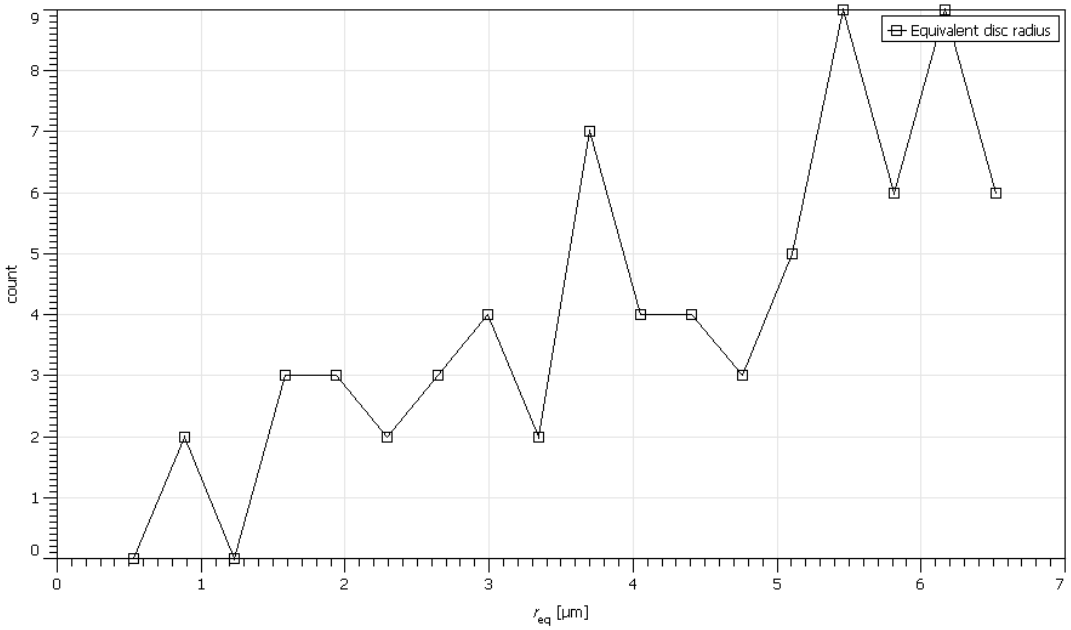
3.4 DVB 1

3.4.1 DVB1 Elektron mikroskobisi sonuçları

Çıkış latekslerinden sentezlenen mikro küreler PS1 için "1", PS2 lateksi için "2" indeksleri ile belirtilmiştir (Çizelge 2.3). DVB1'e ait elektron mikroskobisi görüntüleri Şekil 3.14'te verilmiştir. Parçacık boyut dağılımı ve ortalama parçacık büyüklükleri belirlenerek boyut dağılımı, Şekil 3.15'te gösterilmiştir.



Şekil 3.14 Poli(VAc-co-DVB) partiküllerin (DVB) boy dağılımı ve yüzey morfolojisini gösteren SEM fotoğrafları

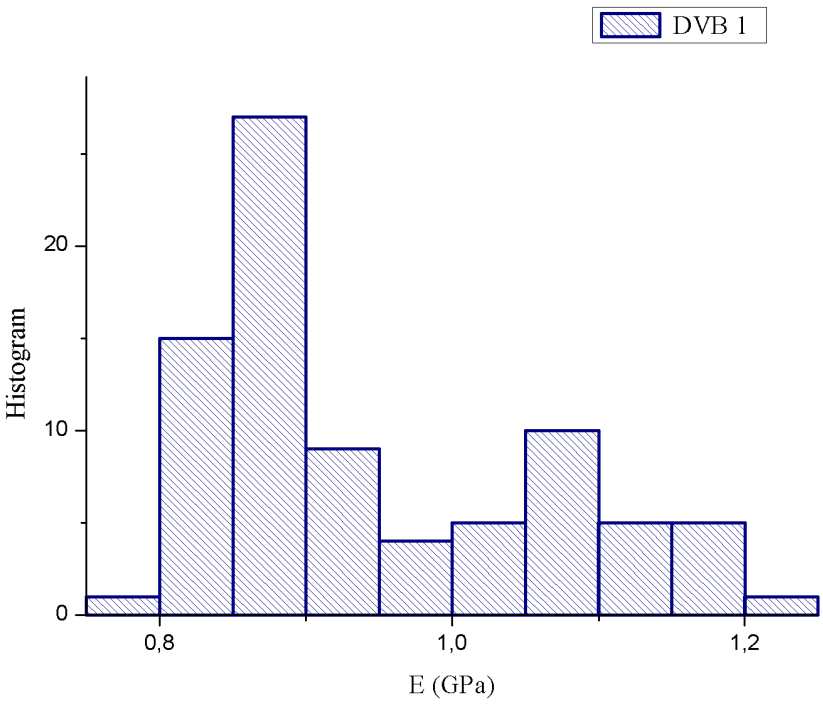


Şekil 3.15 Poli(VAc-co-DVB) partiküllerin (DVB) boy dağılımı

Şekil 3.15'te görüldüğü üzere, DVB1 partiküllerinin boyut dağılımı nispeten geniş çıkmıştır. Genel dağılım 5-7 µm civarında olmuştur. Çapraz bağlı, poli(VAc-co-DVB) polimerinin çıkış lateksi PS1'den üretilmesi ile elde edilen DVB1 partikülleri, 5-7 µm civarında, çıkış lateksine göre 4-5 µm daha yüksek yarıçapa sahiptir. Çapraz bağlanma sırasında malzeme gözenekli ve ilaç taşımaya uygun olarak üretilmiştir.

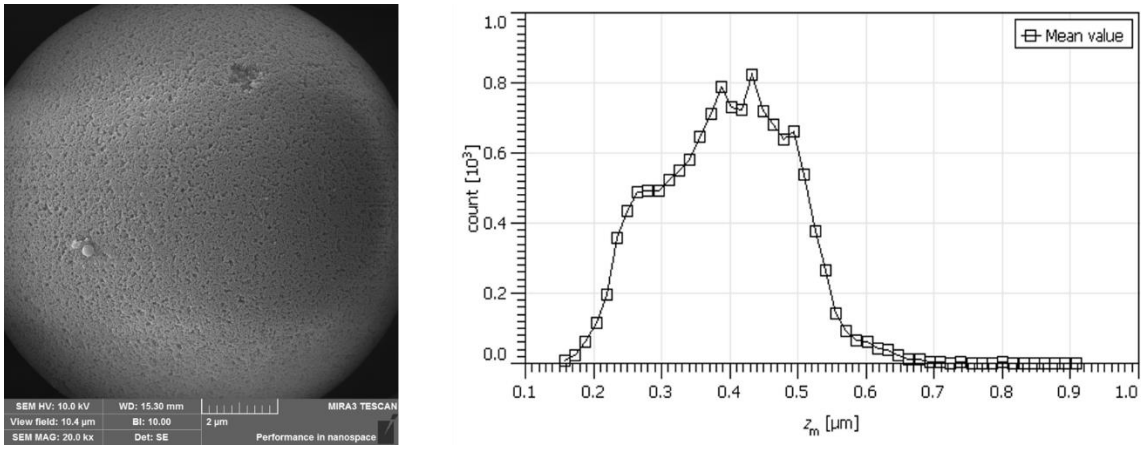
3.4.2 DVB1 için kuvvet spektroskopisi analizleri

Şekil 3.16'da DVB1 için elde edilen elastik modül histogramı verilmiştir. 800 MPa ile 1.2 GPa arasında bir dağılım göze çarpmaktadır. Ancak, iki farklı dağılım piki de görülmektedir. Dağılım piklerinden birincisi 900 MPa civarnda diğeri ise 1.1 GPa civarında elde edilmiştir. İki farklı dağılımın gözlendiği elastik modül değerlerinde çapraz bağlayıcı eleman olan DVB, mekanik özellikleri artırıcı bir bileşen olarak davranmış ve çıkış lateksine oranla DVB1'in elastik modülünü artırmıştır.



Şekil 3.16 DVB1 mikro küresine ait elastik modül değerleri (çok sayıda ölçümün dağılımı olarak elde edilmiştir).

Görüldüğü üzere elastik modül değerleri, çıkış lateksine oranla daha yüksek çıkmış ve daha geniş (0.8-1.2 GPa) bir aralıkta olmuştur.



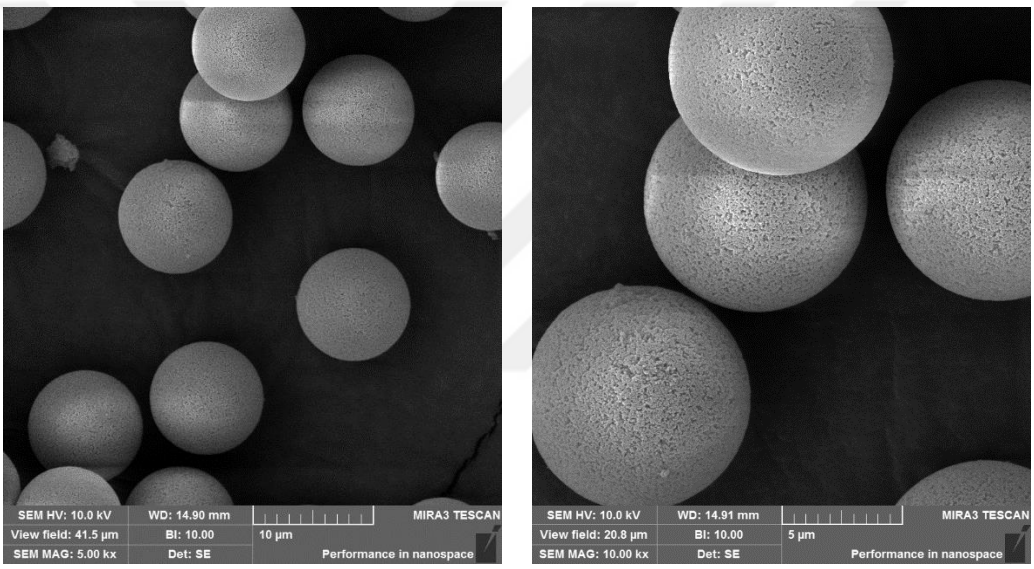
Şekil 3.17 DVB1 mikro küresine ait hesaplanan gözeneklilik

DVB1'in gözenekli yapısı, şişme sonrası VAc ve DVB çapraz bağları nedeniyle gerçekleşmektedir. Şekil 3.17'de görüldüğü üzere, 200 nm civarında yoğunlaşan ve oldukça uniform gözenekler elde edilmiştir.

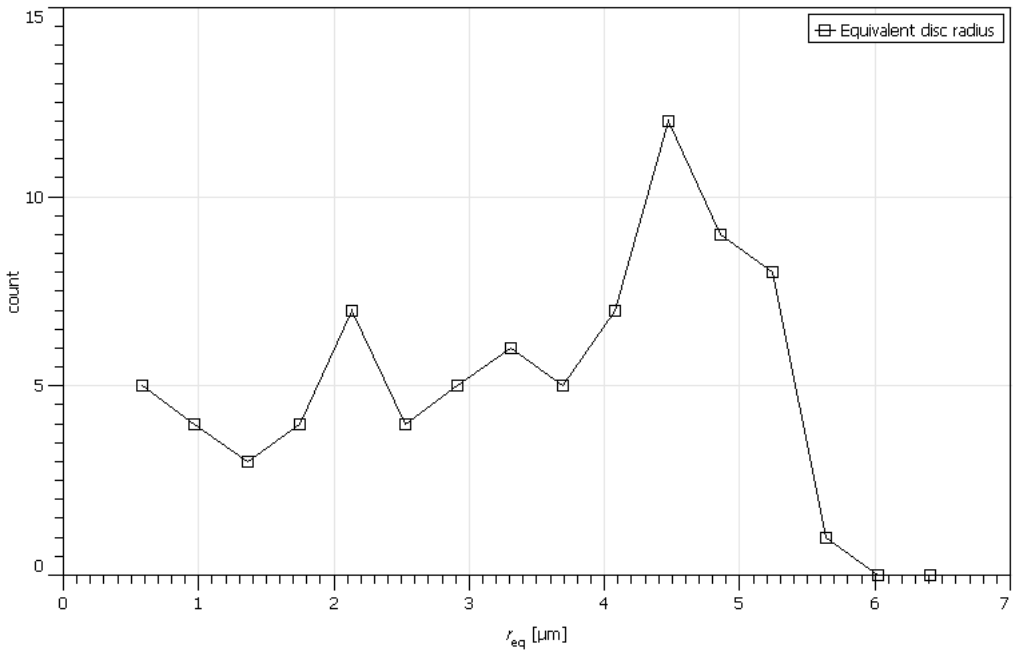
3.5 DVB 2

3.5.1 DVB 2 - Elektron mikroskobisi sonuçları

DVB2'ye ait elektron mikroskobisi görüntüleri Şekil 3.18'de verilmiştir. Parçacık boyut dağılımı alınan görüntüde kenar belirlenmesi ve ardından tanecik belirlenmesi algoritmalarının kullanılması ile gerçekleşmiştir. Tanecik boyut dağılımı, Şekil 3.19'de gösterilmiştir.



Şekil 3.18 Poli(VAc-co-DVB) partiküllerin (DVB) boy dağılımı ve yüzey morfolojisini gösteren SEM fotoğrafları

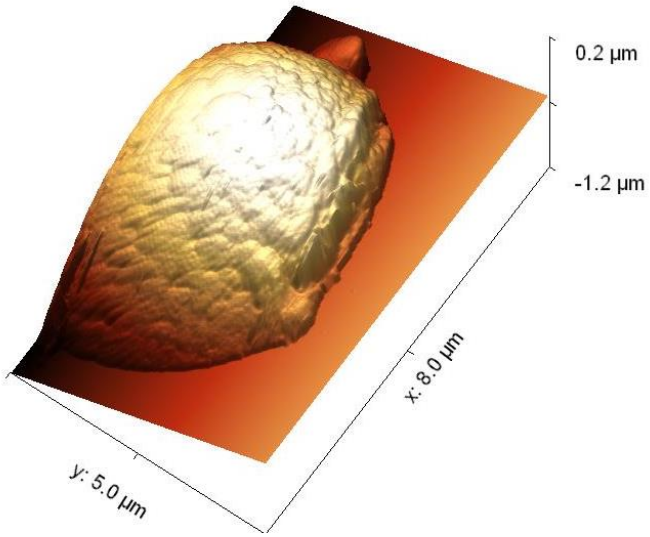


Şekil 3.19 Poli(VAc-co-DVB) partiküllerin (DVB) boy dağılımı

Şekil 3.20'de görüldüğü üzere, DVB2 partiküllerinin boyut dağılımı nispeten geniş çıkmıştır. Genel dağılım 4-6 μm civarında olmuştur. Özellikle 5 µm civarında yoğunlaşan boyut dağılımı, DVB1 ile kıyaslandığında daha uniformdur. PS2 parçacıklarının büyüklüğü PS1 lateksine oranla daha küçük olmasına rağmen, PS2 kullanılarak üretilmiş olan poli(VAc-co-DVB) parçacıkları daha büyük bir boyuta sahip olmuştur. Bu durum, PS2 lateksinin organik fazda daha fazla şişmesinin bir sonucu olabilir.

3.5.2 DVB 2 AFM morfoloji analizleri

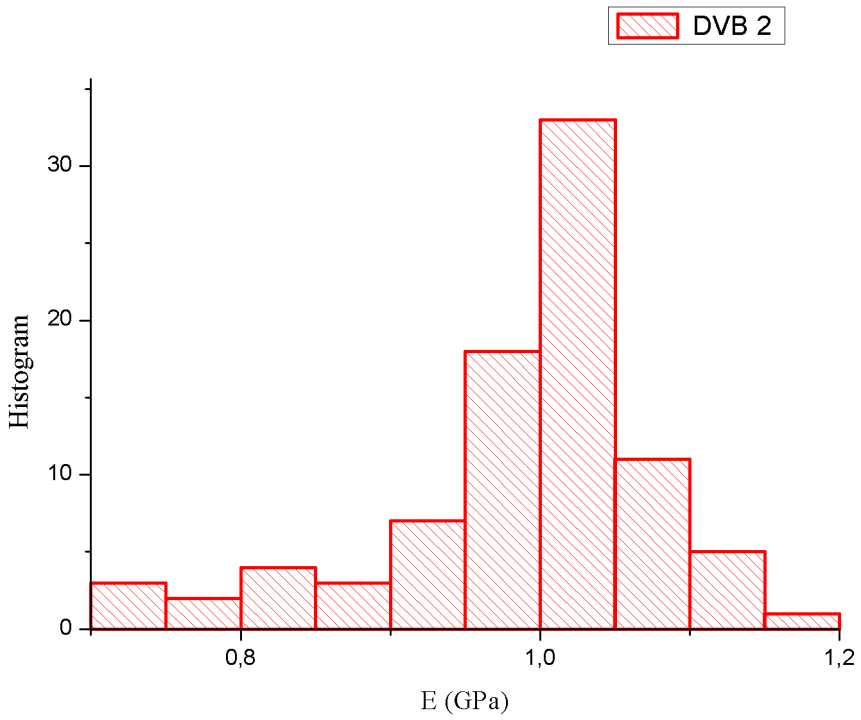
DVB2'ye ait 3D AFM görüntüsü Şekil 3.20'de verilmiştir. AFM topoğrafi ve SEM görüntüleri birbirleri ile uyumludur ve gözenekli bir yapıyı ortaya koymaktadır. DVB2 mikro küreleri, DVB1'e oranla daha geniş gözenek yapısına sahiptir.



Şekil 3.20 DVB2 lateksine ait 3D AFM görüntüsü

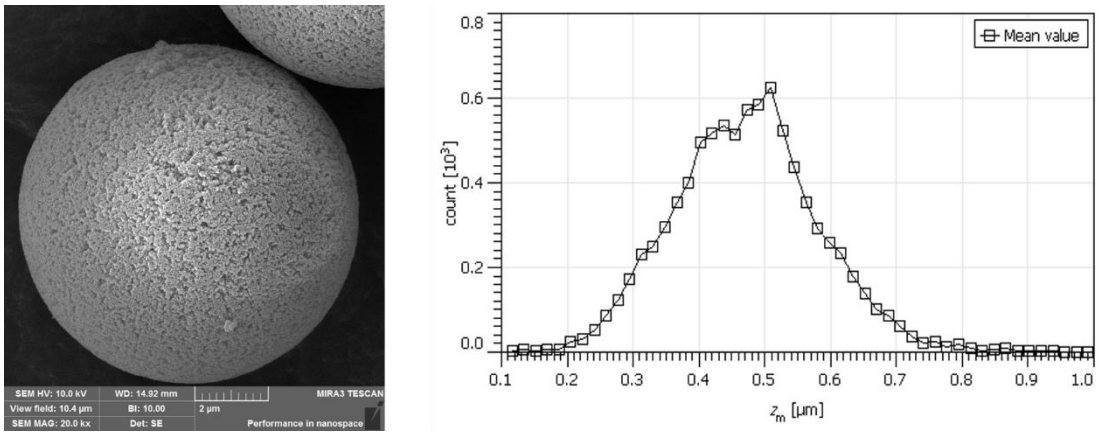
3.5.3 DVB2 için kuvvet spektroskopisi analizleri

Şekil 3.21'de DVB2 için elde edilen elastik modül histogramı verilmiştir. DVB1'e oranla daha fazla gözenekliliğe sahip olan bu mikro kürenin elastik modül değeri, 900 MPa ile 1.2 GPa arasında ve oldukça keskin bir dağılıma sahiptir. Üretilen mikro kürelerin çıkış lateksine yakın bir mekanik davranış elde edilmiştir. Ancak 1 GPa civarındaki tek dağılım, malzemenin daha uniform bir çapraz bağlanma geçirdiğini ve PS2'nin şişme basamağında ve çapraz bağlanma aşamasında oldukça uniform bir reaksiyonun olduğu göstermektedir.



Şekil 3.21 DVB2 mikro küresine ait elastik modül değerleri (çok sayıda ölçümün dağılımı olarak elde edilmiştir).

DVB2 parçacıklarına ait gözeneklilik ise 250 nm civarında yoğunlaşmaktadır ve DVB1'e oranla bir miktar yüksek çıkmıştır. Her iki bileşen de %50 DVB ve %50 VAc içermekte olduğundan, elde edilen fark çıkış latekslerinin uniformluğu ve şişebilme derecelerine bağlı bulunmuştur. PS2 lateksinin büyük olması, bu lateksten çıkılarak aynı koşullarda üretilen DVB2 mikro kürelerin de büyük olmasına neden olmuş, ancak mekanik dayanımın, gözenekliliğin ve boyut dağılımının daha uniform olması ile sonuçlanmıştır.

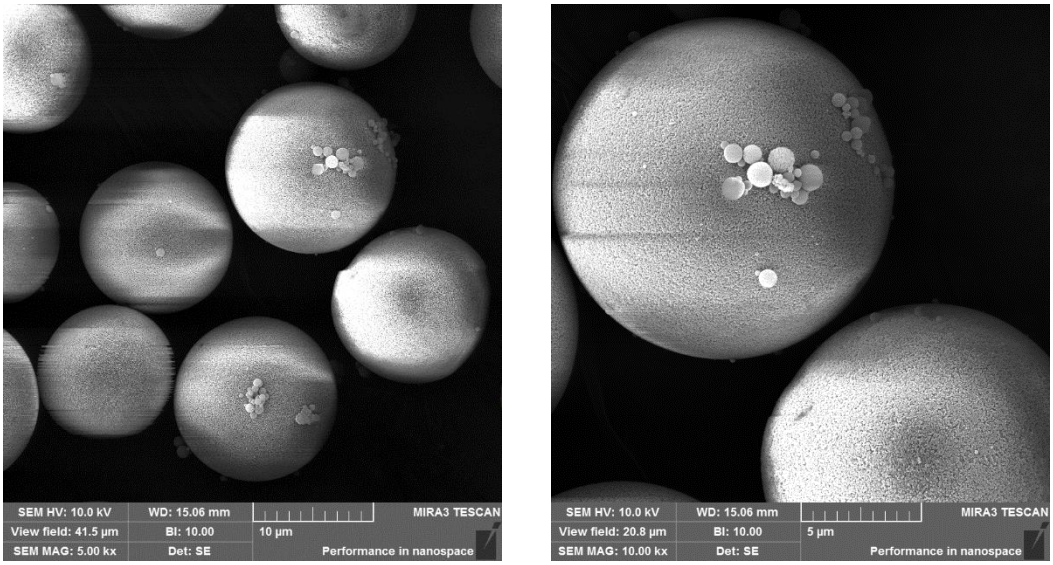


Şekil 3.22 DVB2 mikro küresine ait hesaplanan gözeneklilik

3.6 DVB 31

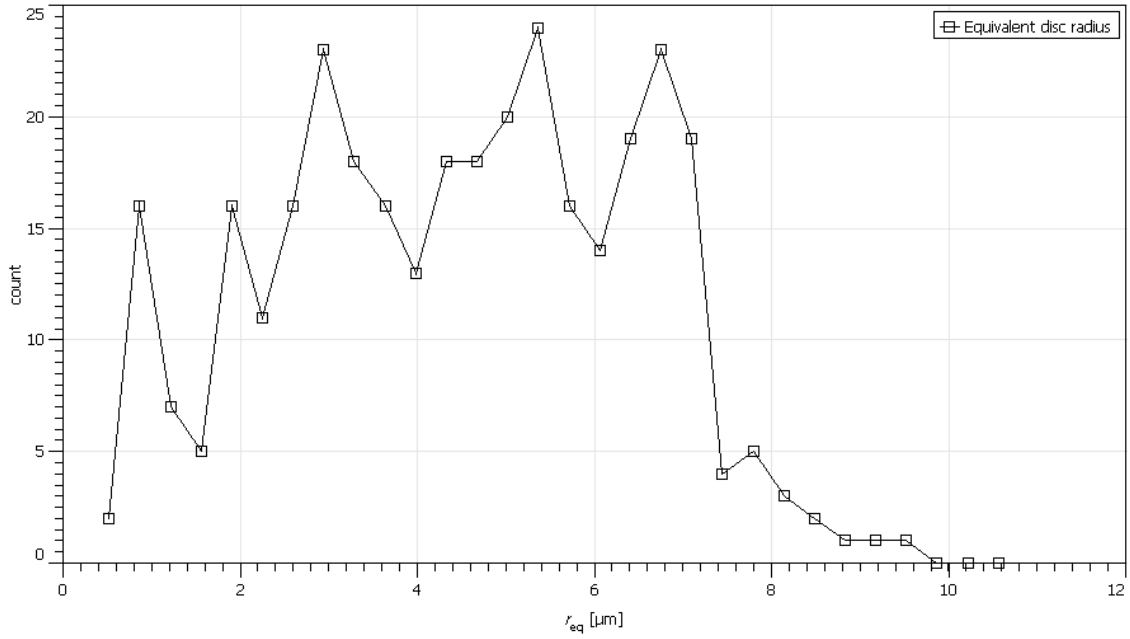
3.6.1 DVB 31 - Elektron mikroskobisi sonuçları

DVB3'e ait elektron mikroskobisi görüntüleri Şekil 3.23'te verilmiştir. DVB3 parçacıkları yalnızca çapraz bağlı DVB'den üretilmiştir. İçerisinde VAc bulunmamaktadır. Parçacık boyut dağılımı ve ortalama parçacık büyüklükleri belirlenmiş ve tanecik boyut dağılımı, Şekil 3.24'te gösterilmiştir.



Şekil 3.23 Poli(VAc-co-DVB) partiküllerin (DVB) boy dağılımı ve yüzey morfolojisini gösteren SEM fotoğrafları

Şekil 3.24'te görüldüğü üzere, DVB31 partiküllerinin boyut dağılımı nispeten geniş çıkmıştır. Genel dağılım 1-8 μm civarında olmuştur. Bu oldukça yüksek boyut dağılımı, çıkış lateksinin boyutundan daha küçük boyutta örneklerin de olmasından dolayı, polimerleşmenin PS çıkış lateksinin dışında da olduğunu göstermektedir. Bu nedenle çıkış lateksinden daha küçük parçacıklar muhtemelen çapraz bağlı polidivinilbenzen parçacıklarıdır.

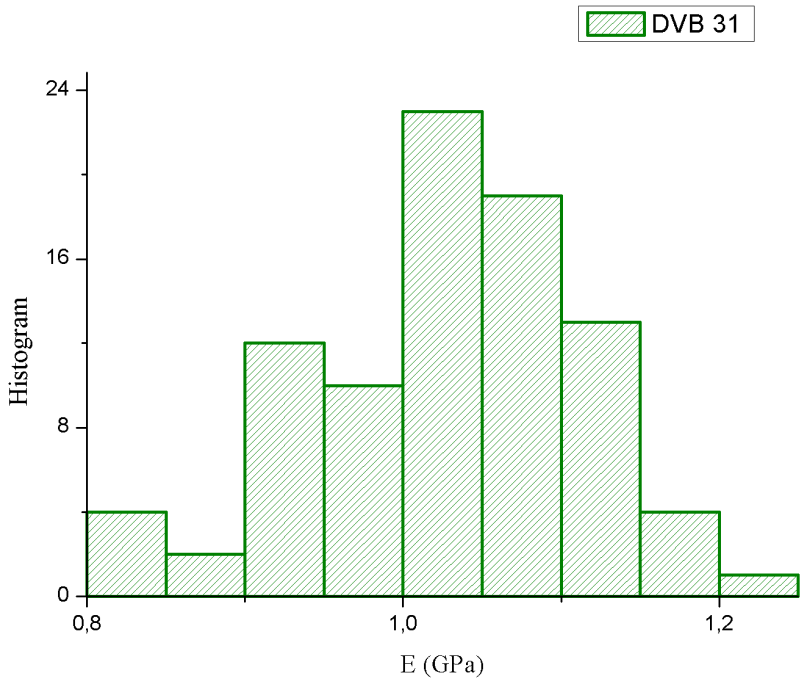


Şekil 3.24 Poli(VAc-co-DVB) partiküllerin (DVB) boy dağılımı

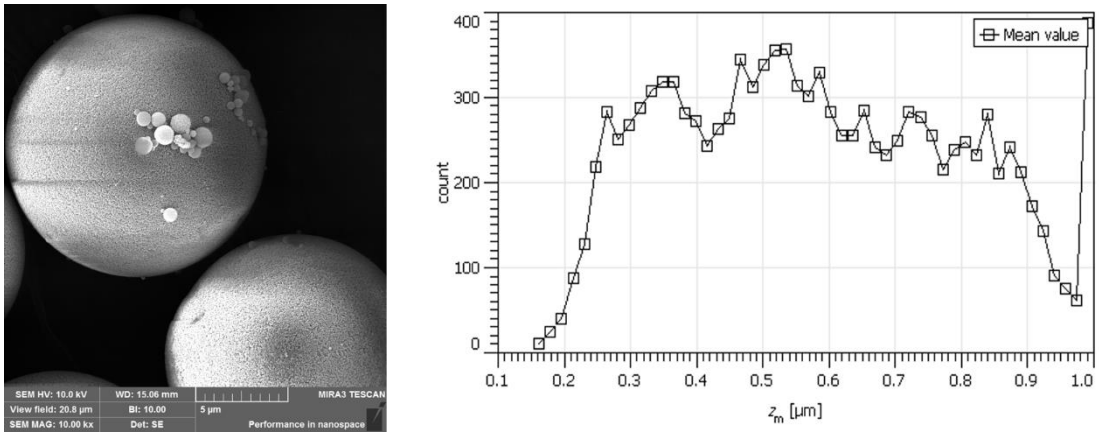
3.6.2 DVB 31 için kuvvet spektroskopisi analizleri

Şekil 3.25'te DVB31 için elde edilen elastik modül histogramı verilmiştir. Genel dağılım 1.1 GPa civarında yoğunlaşan ve 900 MPa ile 1.2 GPa arasında bir elastik modül davranışı şeklindedir. Elde edilen değer, çıkış lateksine oranla daha yüksek çıkmış ve çapraz bağlı poliDVB yapısının malzemenin mekanik özelliklerine pozitif katkısı olduğu belirlenmiştir. Ayrıca, kuvvet spektroskopisi analizlerinde histogramın uniform olması, DVB moleküllerinin yapı içerisinde uniform bir çapraz bağlanma gerçekleştirdiğini ortaya koymuştur. Ayrıca aynı PS1 lateksinden elde edilen ve %50 VaC içeren DVB1 ile karşılaştırıldığında DVB31'in 1.1 GPa civarında yoğunlaşan elastik modül değerinin, DVB1'de gözlendiği ancak daha çok 900 MPa civarında yoğunlaşan elastik modül değerinin olduğu görülmektedir. Bu nedenle, VAc'ın yapıya

ilave edilmesi malzemenin elastik modül değerini düşürürken, DVB ilavesinin elastik modülü artırdığı söylenebilir.



Şekil 3.25 DVB31 mikro küresine ait elastik modül değerleri (çok sayıda ölçümün dağılımı olarak elde edilmiştir).



Şekil 3.26 DVB 31 mikro küresine ait hesaplanan gözeneklilik

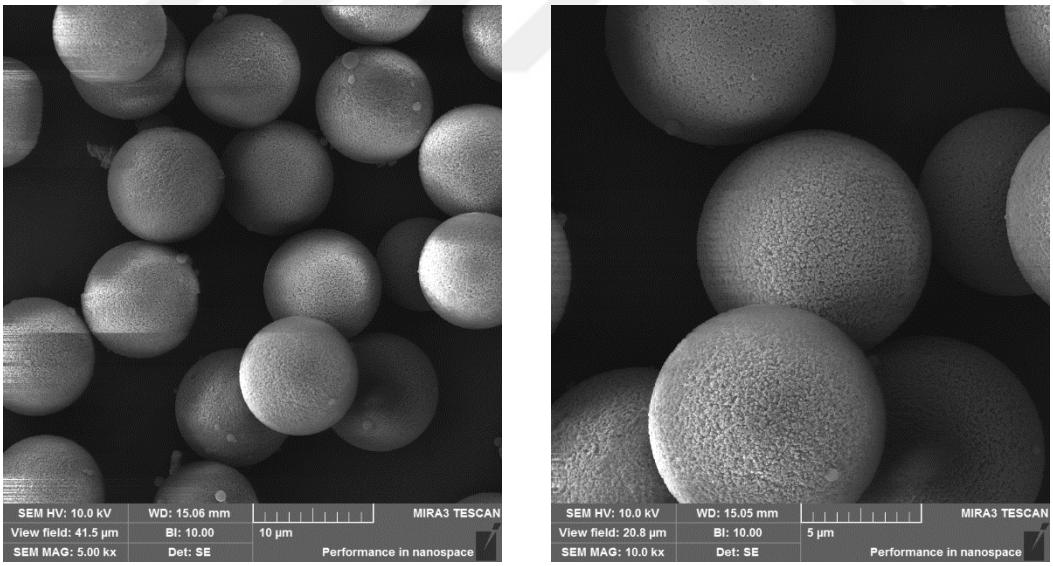
DVB31'in gözeneklilik değeri çok daha geniştir ve 150 nm ile 500 nm arasında bulunmuştur (Şekil 3.26). Bu değer, DVB1 ile kıyaslandığında (200 nm), gözenekliliği

artıran bileşenin DVB olduğu sonucunu ortaya çıkarmaktadır. Çapraz bağlayıcı DVB miktarının mikro küre içerisinde artması, gözenekliliği artırmıştır.

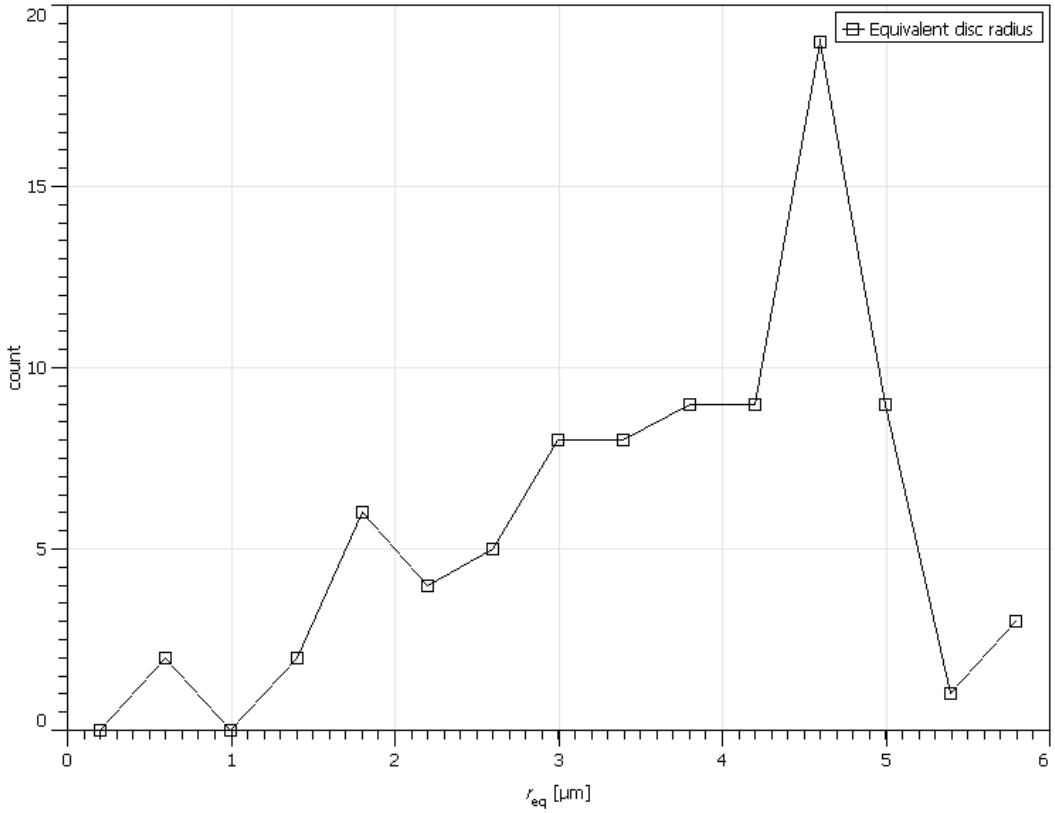
3.7 DVB 32

3.7.1 DVB 32 - Elektron mikroskobisi sonuçları

DVB32'ye ait elektron mikroskobisi görüntüleri Şekil 3.27'de ve tanecik boyut dağılımı, Şekil 3.28'de gösterilmiştir. DVB31'e göre yalnızca çıkış lateksi değişen bu mikro kürede PS2 lateksi kullanılarak üretim gerçekleştirilmiştir. Gözenekli yapıya sahip bu mikro kürede, boyut dağılımının çıkış lateksinden daha küçük olan kısmının bulunduğu ancak DVB31'e oranla bu oranın daha düşük olduğu görülmektedir. Bu durum, DVB'in lateks dışında da çapraz bağlandığını, ancak bu bağlanmanın PS1 çıkış lateksindeki kadar yüksek olmadığını ortaya koymuştur. Çapraz bağlanma reaksiyonu sırasında çıkış lateksinden dışarı difüze olan DVB miktarının PS2 çıkış lateksi kullanıldığı durumda daha düşük olduğu sonucuna ulaşılmıştır.

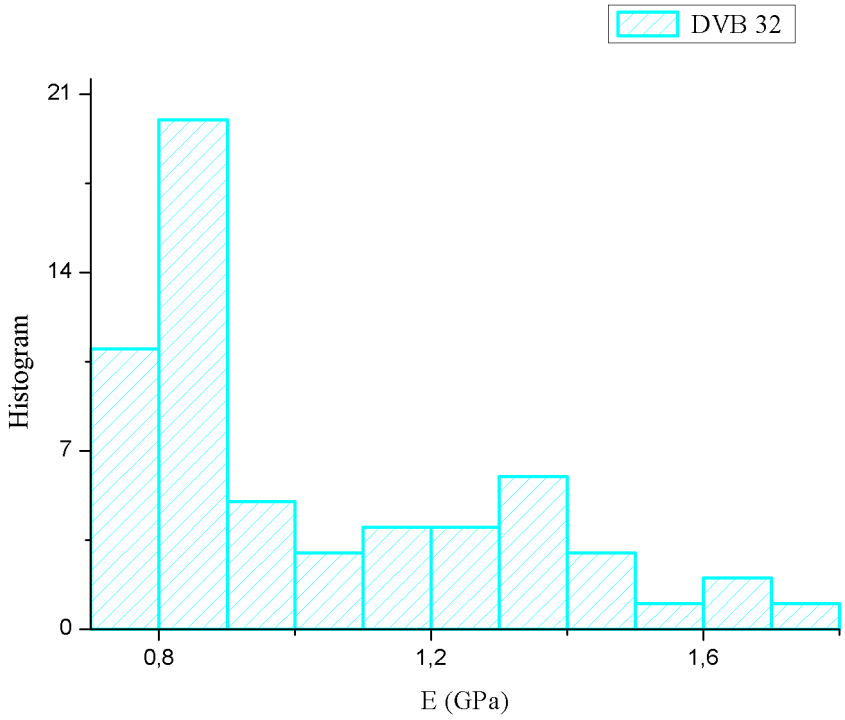


Şekil 3.27 Poli(VAc-co-DVB) partiküllerin (DVB) boy dağılımı ve yüzey morfolojisini gösteren SEM fotoğrafları



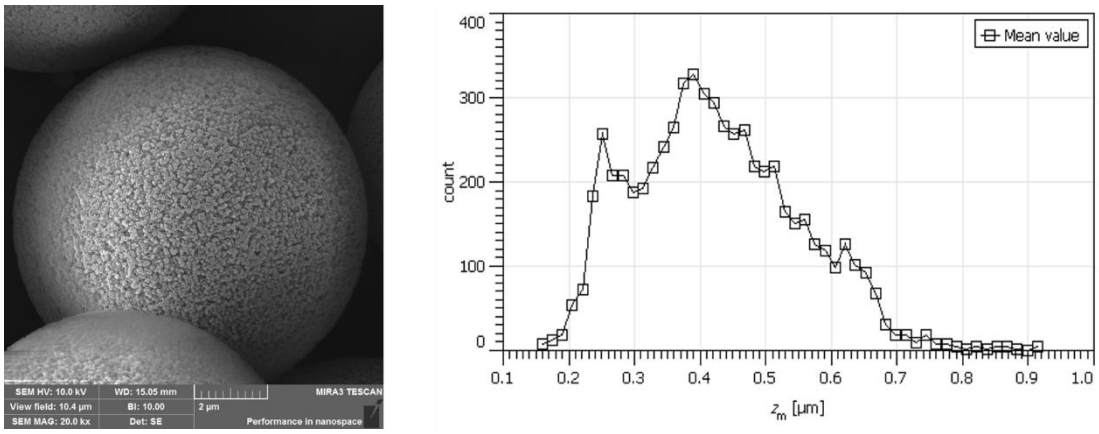
Şekil 3.28 Poli(VAc-co-DVB) partiküllerin (DVB) boy dağılımı

Şekil 3.28'da görüldüğü üzere, DVB32 partiküllerinin boyut dağılımı tek dağılımlıdır ve 4.5 μm civarında yoğunlaşmaktadır. Bu boyuttan daha küçük (çapraz bağlanma oranına göre) parçacıklar da mevcuttur.



Şekil 3.29 DVB32 mikro küresine ait elastik modül değerleri (çok sayıda ölçümün dağılımı olarak elde edilmiştir).

Elastik modül değerleri incelendiğinde, 1.1 GPa ila 1.6 GPa arasında bir dağılım elde edilmiştir (Şekil 3.29). Dağılımın oldukça geniş olduğu görülmektedir. Aynı çıkış lateksine sahip ancak VAc monomeri içeren DVB2 ile karşılaştırıldığında, tamamen DVB içeren mikro kürelerin elastik modül değerinin daha yüksek olduğu, bu nedenle üretilen mikro kürelerin elastik modülünü artıran bileşenin çapraz bağlayıcı DVB olduğu sonucuna varılmıştır. Ayrıca, DVB2 ile DVB32'nin gözenek miktarları karşılaştırıldığında, yaklaşık olarak aynı (250 nm'de yoğunlaşmış) gözeneklilik elde edilmiştir. Bu durum, DVB çapraz bağlanma miktarının gözenekliliğe etki ettiği, ancak gözenekliliğin çıkış lateksine daha fazla bağlı olduğu bulunmuştur.



Şekil 3.30 DVB 32 mikro küresine ait hesaplanan gözeneklilik

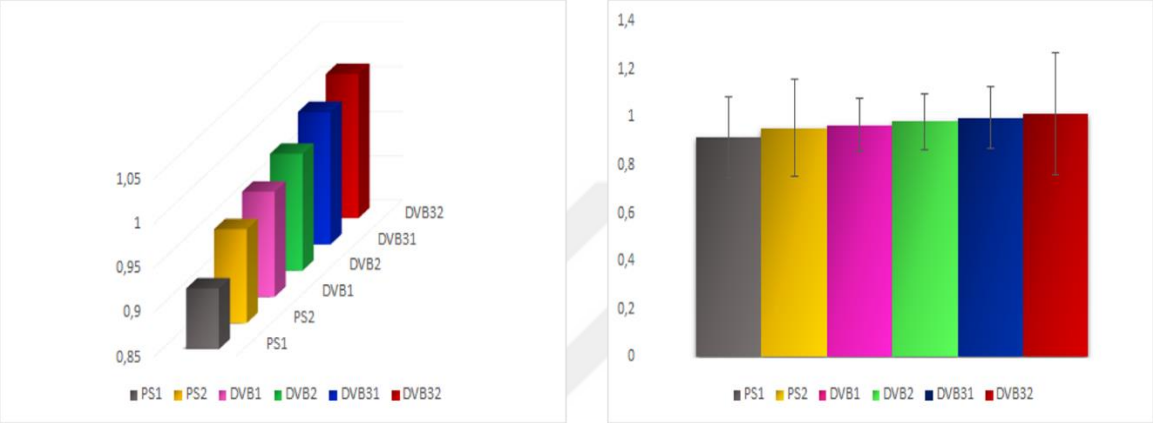
3.8 Genel Karşılaştırma ve Sonuç

Histogramlardan elde edilen ortalama ve standart sapması hesaplanmış elastik modül değerleri karşılaştırıldığında, çıkış lateksi PS1'in 0.919±0.169 GPa olan değerinin PS2 lateksinde 0.956±0.202 GPa olduğu görülmektedir. Standart sapma değerleri, ölçüm tekniğinin daha hassas olması nedeniyle, ölçüm yapılan mikro kürelerin uniformluğunun bir ölçüsü olarak değerlendirilebilir. PS2 lateksi, PS1 lateksine oranla bir miktar daha fazla elastik modüle sahiptir. Ancak, uniformluk değerlendirildiğinde, malzemenin mekanik özelliklerinin, PS1'e oranla daha az uniform olduğu görülmektedir. Başlangıç lateksi PS1'den çıkılarak elde edilen poli(VAc-co-DVB) mikro küresi için elastik modül, başlangıç lateksinden daha yüksek ve 0.968±0.111 GPa olarak bulunmuştur. Standart sapma değeri, uniformluğn bir ölçüsü olarak dikkate alındığında, DVB1 parçacığının çıkış lateksine oranla daha uniform bir mekanik özellik gösterdiği görülmektedir. Bu durum, malzemenin diğer yapısal özelliklerinde de gözlenmiştir (gözeneklilik, parçacık dağılımı gibi). Yine ilginç bir şekilde, başlangıç lateksi PS2'den çıkılarak elde edilen poli(VAc-co-DVB) mikro küresi için elastik modül, başlangıç lateksinden daha yüksek ve 0.981±0.116 GPa olarak bulunmuştur. Bu durum, VAc ve DVB çapraz bağlı yapının, hem malzemenin elastik modül değerini artırdığını, hem de standart sapma değerleri kıyaslandığında, malzemenin mekanik özelliklerinin daha uniform olmasını sağladığını göstermektedir.

Yalnızca DVB çapraz bağlı poli(DVB) mikro küreler incelendiğinde, ortalama elastik modülün DVB31 için 0.999±0.126 GPa olduğu bulunmuştur. VAc içermeyen bu

yapının elastik modülünün yüksek çıkması, malzemeye sertlik veren bileşenin çapraz bağlı DVB olduğunu ortaya koymaktadır. Benzer şekilde, malzemenin elastik modülü başlangıç lateksinden (PS1) ve VAc içeren mikro küreden (DVB1) daha yüksek olmuştur. Ayrıca, malzemenin çapraz bağlanması sonucu mikromekanik özelliklerinin daha uniform olduğu söylenebilir.

DVB32 için elde edilen elastik modül değeri, ortalama 1.0123±0.154 GPa olarak bulunmuştur. Bu değer, DVB31'e yakın ancak bir miktar yüksek bir değerdir.



Şekil 3.31 Tüm kürelerin ortalama karşılaştırması

Yapılan çalışma sonucu elde edilen veriler ışığında yapılan genel değerlendirme şu şekildedir:

Mikro kürelerin mekanik özellikleri AFM ve pikoindentasyon yöntemi ile ölçülebilmektedir. Mikro kürelerin bağımsız olarak ölçüldüğü bu yöntemde, yöntemden kaynaklanan sapmalardan daha çok malzemenin uniformluğu ön plana çıkmaktadır. Elde edilen elastik modül değerleri, literatürdeki yığın malzemelere ait elastik modül değerlerinden daha düşük (özellikle PS1 ve PS2 lateksleri için 1-3 GPa arası) çıkmıştır. Ancak, mikro kürelerin çapraz bağlanma oranları ve latekslerin üretim yöntemleri dikkate alındığında, gözenekli kürelere ait elastik modül değerlerinin daha düşük çıkması normaldir. Literatürde, mikro kürelere ait karşılaştırma yapacak veri bulunmamaktadır (mikroindentasyon dahil). Genel olarak, PS lateksin VAc içeren çapraz bağlı yapıya oranla daha yüksek mekanik özellik gösterdiği, VAc içeriğinin malzemenin şişebilirliğine etkisinin yanı sıra, malzemenin elastik modülünü düşürdüğü, ancak uniformluğu artırdığı, DVB'in yapıya ilavesi ile mekanik

özelliklerin yüksek miktarda değiştiği ve özellikle minimum ve maksimum değerler dikkate alındığında elastik modülün 600 MPa dan 1.6 GPa arttığı sonucuna varılmıştır. Ortalama veriler dikkate alındığında bu değişim daha küçük olmakla birlikte gözlenmektedir.

İlaç salım uygulamaları açısından, özellikle topikal uygulamalarda DVB içeriği artırılmış olan poli(VAc-co-DVB) mikro kürelerin organik fazda çözünürlüğü yüksek olan, VAc içeriği artırılmış olan poli(VAc-co-DVB)'in ise sulu fazda çözünürlüğü yüksek olan ilaçları 1.0 GPa'dan daha düşük mekanik stresler altında uygun bir şekilde taşıyacağı düşünülmektedir.

Son olarak, tez çalışmasında sunulan yöntem, tüm ilaç salım uygulamalrında, yığın malzemedeye kıyasla mikro kürelerin bireysel olarak incelenerek, yapılan iyileştirmelerin mikromekanik özelliklere hangi yönde etki ettiğinin belirlenmesi açısından uygulanabilir, güvenilir ve temel bir yöntem olarak ortaya çıkmaktadır.

KAYNAKLAR

Akbuğa, J. (1989). Preparation and evaluation of controlled release furose- mide microspheres by spherical crystallization, *lnt J Pham*, 53. q, 99- 105.

Arslan, A. (2006). Akrilatların fotopolimerizasyonu ile hidrojellerin üretimi ve kontrollü ilaç salım sistemlleri olarak kulanımları *H.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Biyomühendislik Anabilim Dalı* (Yüksek Lisans Tezi), Ankara.

Artursson, P., Berg, A., Edman, P. (1989). Biochemical and cellular effects of degraded starch microspheres on macrophages, *lnt J Pharm*,52, 183-190.

Artursson, P.,Edman, P., Laakso, T., Sjöholm, I. (1984). Chracterization of polyacryl starch microparticles as carriers for proteins and drugs, *J Pharm Sci*, 73 (11), 1507-1513.

Aruniit, A., Kers, J., Majak, J., Krumme, A., Tall, K. (2012). Influence of hollow glass microspheres on the mechanical and physical properties and cost of particle reinforced polymer composites, Polymer Science, Proceedings of the Estonian Academy of Sciences, 61, 3, 160-165.

Barkai, A., Pathak, Y. V., Benita, S. (1990). Polyacrylatee (Eudragit Retard) microspheres for oral controlled release of nifedipine I. formulation design and process optimization, *Drug Dev In. Phamı*,16(13), 2057-1075.

Barrows, T.H. (1991). High performance biomaterials, (M. Szycher,ed.), Technomic Publ, *Lancaster PA.*

Benedetti, L. M., Topp, E. M., Stella, V. J. (1990). Microspheres of hyaluronic acid esters-Fabrication methods and in vitro hydrocortisone release, *J Contr Rel,*13, 33-41.

Benita, S., Benoit, J., Puisieux, F., Thies, C. (1984). Characterization of drug-loaded poly (d, L-Lactide) microspheres*, J Phamı Sci*,73 (12), 1721- 1724.

Binning, C.F., Quate, C.F., Gerber, C. (1986). Atomic force microscope, *Physical Review Letters*, 56, 930-933p.

Bodmeier, R., McGinity, J. W. (1988). Solvent selection in the preparation of poly (DL-Lactide) microspheres Prepared by the solvent evaporation method, *Int J Pham*,43, 179-186.

Boretos, J.W., Eden, M. (Eds.). (1984). Contemporary biomaterials noyes, *Park Ridges, N.J.*

Briscoe, B.J., Sebastian, K.S. (1996). The elastoplastic response of poly(methyl methacrylate) to indentation, *Proc R Soc Lond A*, 452, 439-457.

Bronzino, J.D. (Ed.). (1995). The biomedical engineering handbook, *CRC Press.*

Brown, E.N., Kessler, M.R., Sottos, N.R., White, S.R. (2003). In situ poly (urea-formaldehyde) microencapsulation of dicyclopentadiene, *J Microencapsul*, 20:719–730.

Burgess, D. J., Davis, S. S. (1988). Potential use of albumin microspheres as a drug delivery system II In vivo deposition and release of steroids, *Int J Pharm,*46, 69-76.

Burgess, D. J., Davis, S. S., Tomlinson, E. (1987). Potential use of albumin microspheres as a drug delivery system; I. preparation and in vitro release of steroids, *Int J Pharm,* 39, 129-136.

Charrier A, Th., Baudau F. (2005). Main phase transition in supported lipid single-bilayer. *Biophys Journal,* 89, 1094-1100.

Chasin, M., Langer, R. (Eds). (1990). Biodegradable polymers as drug delivery systems, *Marcel Dekker, New York.*

Çağlayan, B., Unsal, E., Çamlı, T., Tuncel, M., Tuncel, A. (2006). Monodisperse porous poly(vinyl acetate-codivinylbenzene) particles by single-stage seeded polymerization: a packing material for reversed phase HPLC, *J Sep Sci,* 29, 936 – 944.

Denizli, A. (2009). Protein kromatografisi ve yeni nesil polimerik sistemler, *Pozitif Yayın,* s61-72, Ankara.

Dorkoosh, F.A., Verhoef, J.C., Ambragts, M.H.C., Rafiee-Tehrani, M., Borchard, G., Junginger, H.E. (2002a). Peroral delivery systems based on superporous hydrogel polymers: release characteristics for the peptide drugs buserelin, octreotide, and insulin, *Pharm Sci,* 15, 433-439.

Dorkoosh, F.A., Verhoef. J.C., Borchard. G., Rafiee-Tehrani, M., Junginger, H.E. (2001a). Development and characterization of a novel peroral peptide drug delivery system, *J Control Rel,* 71, 307-318.

Duncan, R., Seyrnour, L. W. (1989). Controlled release tecnologie, A survey of research and commercial applications, 126-127, 132-133, *Elsevier Science Publishers Ltd,UK.*

Edman, P., Artursson, P., Laskso, T., Sjöholm, L. (1986). Solid microspheres as drug delivery systems, in Methods of Drug Delivery (Ed. Ihler, G. M.), pp. 23-37, *PorgamonPress, Uk.*

Elaissari, A. (2003). Colloidal polymers-synthesis and chracaterization, Surfactant Science Series, N Y, USA, s343-347.

Enachescu M., Capric R. W., Ogletree, D.F. (2004). Polydiacetylene films: A review of recent investigations into chromagenic transitions and nanomechanical properties, *Journal Phys Condens Maters,* 16 (23), 679-697p.

Florence, A., Siepmann, J., (2009) Modern pharmaceutics, Volume 2: Applications and Advances, Ed 5, Boca Raton, CRC Press.

Fong, J. W., Nazareno, J. P., Pearson, J. E., Maulding, H. V. (1986). Evaluation of biodegradable microspheres prepared by a solvent evaporation process using sodium oleate as emulsifier, *J. Contr. Rel.,*3, 119-130.

Galli, M., Fornasiere, E., Cugnoni, J., Oyen, M.L. (2010). Poroviscoelastic characterization of particle reinforced gelatin gels using indentation and homogenization, *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials,* 4, 610-617.

Ghosh, S.K. (2006) Functional coatings and microencapsulation: A general perspective. In Ghosh SK, Weinheim, Wiley-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA.

Gokmen, M. T., Du Prez, E. F. (2012). Porous polymer particles: A comprehensive guide to synthesis, characterization, functionalization and applications, *Progress in Polymer Science,* 37, 365– 405

Gümüşderelioğlu, M. (2002). Bilim ve Teknik Temmuz, Özel Eki, *Biyomalzemeler*, Tübitak Yayınları

Gürsoy, A., Dortunç, B., Pişkin, E., Peppas, N.A. (1989) Kontrollü İlaç Serbestleştiren Sistemler, *Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları* No:469/5, İstanbul.

Gürsoy, A. (2002). Kontrollü Salım Sistemleri, *Elma Bilgisayar Basım ve Ambalaj San Tic Ltd Şti,* İstanbul.

Hao, P., Liu, Y., Du, Y., Zhang, Y., (2014) Young's modulus of polycrystalline titania microspheres determined by in situ nanoindentation and finite element modeling, *Journal of Nanomaterials,* Article ID 309827.

Hengli, C., Hou, C., Rongjun, Q., Chunhua, W., Changmei, S., Wenying, Z., Mengmeng, Y., Hongyan, J.H. (1998). Crosslinked poly(styrene-co-divinylbenzene) microspheres prepared by precipitation polymerization: Effects of the polymerization parameters on the characteristics of the particles, *Journal of Applied Polymer Science,* 111(6), 3144–3149.

Huang, H.J., Yuan, W.K., Chen, X.D. (2006). Microencapsulation based on emulsification for producing pharmaceutical products: *Literature review,* Dev Chem Eng Miner Process 14(3/4): 515–544.

Jamekhorshid, A., Sadrameli, S.M., Farid, M. (2014). A review of microencapsulation methods of phase change materials (PCMs) as a thermal energy storage (TES) medium, *Renew Sust Energy Rev,* 31:531– 542.

Jeong, B., Choi, Y.H., Zentner, G., Kim, S.W. (1999). New biodegradable poymer for injectable drug delivery systems, *J Control Rel*, 62, 109-114.

Jeyanthi, R., Panduranga, R. K. (1987). Preparation of gelatin microspheres of Bleomycin, *Int J Pharm,*35, 77-79.

Juhi, M., Hamaho, L., Kubote, M. (1986). Controlled release of aclarubicin, an anticancer antibiotic, from. poly-beta-hydroxybutyricacid microspheres, *J Contr Rel,* 4, 25-32.

Jyothi, N.V., Prasanna, P.M., Sakarkar, S.N., Prabha, K.S., Ramaiah, P.S., Srawan, G.Y. (2010). Microencapsulation techniques, factors influencing encapsulation efficiency, *J Microencapsul* 27:187–197.

Kas, H. S. (1990). Magnetically targeted microspheres: A review, *Pharm Acia-JTPA,* 30 (2), 77-97.

Kawaguchi, S., Ito, K. (2005). Dispersion polymerization, *Advances in Polymer Science*, 175, 299-328.

Kaweshime, Y., Niwe, T., Hande, T., Tekeuhi, H., lwamoto, T., Itoh, K. (1989). Preparetion of controlled release microspheres of lbuprofen with acrylic polymers by a novel quasi-emulsion solvent diffusion method, *J Pharm Sci*,78 (1), 68-72.

Kishida, A., Dressmruı, J., B.,Yosbioka, S., Aso, Y., Takeda, Y. (1990). Some determinants of morphology and release rate from poly (L) lactic acid microspheres, *J Contr Rel*,13, 83-89.

Lam, P.L., Gambari, R. (2014). Advanced progress of microencapsulation technologies: In vivo and In vitro models for studying oral and transdermal drug deliveries, *J Control Release*, 178:25–45.

Langer, R., Wise, D.L. (Ed). (1984). Medical applications of controlled release, Vol I and II, *CRC Press, Boca Raton, FL.*

Levin, S.N. (Ed). (1968). Materials in biomedical engineering, *Annals of the New York Acad Sci,* Vol. 146.

Longo, W. E., Iwata, H., Lindbeinıer, T. A., Goldberg, E. P. (1982). Preparation of hydrophilic albumin microspheres using polymeric dispersing agents, *J. Pharm. Sci.*,71 (12), 1323-1328.

Maraş B. (2010). Hidrojel formunda reaktif monodispers-makrogözenekli partiküllerin sentezi ve kromatografik sabit faz olarak kullanımı, *H.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Mühendisliği Bölümü,* (Yüksek Lisans Tezi), s18-4-13, Ankara.

Mathiowithz, E., Langer, R. (1987). Polyanhidride microspheres as drug carriers. I. Hot-melt microencepsulation, *J Contr Rel*,5, 13-22.

McHale, R., Aldabbagh, F., Zetterlund, P. B., Minami, H., Okubo M. (2006). Compartmentalization in nitroxide-mediated radical polymerization in dispersed systems, *Macromolecules,* American Chemical Society, 8959-8967.

Ober, C.K., Hair, M.L. (1985). Monodispersed, Micron-Sized Polystyrene Particles By Dispersion Polymerization, *Journal of Polymer Science*, Part A: Polymer Chemistry, 23, 103-108.

Ober, C.K., Hair, M.L. (1987). The Effect Of Temperature And Initiator Levels On The Dispersion Polymerization Of Polystyrene, *Jounal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*, 25, 1395-1398.

Oliver W.C., Pharr, G.M. (1992). An Improved Technique for Determining Hardness and Elastic Modulus Using Load and Displacement Sensing Indentation Experiments, *Journal of Materials Research*, 7 (6), 1564-1583p.

Omer-Mizrahi, M., Margel, S. (2010). Synthesis and characterization of uniform polyepoxide micrometer sized particles by redox graft polymerization of glycidyl methacylate on oxidized polystyrene and polydivinylbenzene microspheres for enzyme immobilization, *Polymer*, 51,1222–30.

Oppenhieim, R. C. (1986). Nanoparticulate drug delivery systems Based on Gelatin and Albumin in polymeric nanoparticles and microspheres, *CRC Press,Floria.*

Park, K., Yeo, Y., (2007). Microencapsulation technology In Swarbrick J, Editor: Encyclopedia of Pharmaceutical Technology, New York, *Informa Healthcare*, pp 2315–2327.

Peppas, N.A., Bures, P., Leobandung, W., Ichikawa, H. (2000). Hydrogels in pharmaceutical formulations, *Europ J Pharm Biopharm*, 50, 27-46.

Phani, K.K., Niyogi, S.K. Young's modulus of porous brittle solids, *J Mater Sci*, 22, 1987, 257.

Pişkin, E. (1994). Polymers for biomedical applications, *lnternational Seminar of Polymer Science and Technology*, March 2 to 4:401p. Shiran-lran.

Pişkin, E., Hoffman, A.S. (Eds). (1986). Polymeric biomaterials, *Martinus Nijhoff Dordrecht.*

Pongpaibul, Y., Meruyama, K., lwatsuru, M. (1988). Formation and in-vitro evaluation of theophylline-loaded polx (methyl methacrylate) microspheres, *J Pharm Pharmacol,*40, 530-533.

Pongpaibul, Y., Price, J. C., Whitworth, C. W. (1984). Preparation and evaluation of controlled release Indomethacin, *Drug Dev Ind Pham,*10 (10), 1597- 1616.

Prajapati, V.D., Jani, G.K., Kapadia, J.R. (2015). Current knowledge on biodegradable microspheres in drug delivery, *Expert Opin Drug Deliv* 12:1283–1299,

Qui, Y., Park, K. (2003). Superporous IPN hydrogels having enhanced mechanical properties, *AAPS Pharm Sci Tech*, 4(4), 406-412.

Rama, D., T.C. Shami, K.U. Bhasker, R. (2009). Microencapsulation technology and applications, *Def Sci J*, 59:82–95.

Reddy, B. P., Dorle, A. K., Krishna, D. R. (1990). Albumin micrsopheres: Effect of process variables on size distribution and in vitro release, *Drug Dev lnd Pharm*,16 (11), 1791-1803.

Reis, C.P., Neufeld, R.J., Vilela, S., Ribeiro, A.J., Veiga, F. (2006). Review and current status of emulsion/dispersion technology using an internal gelation process for the design of alginate particles, *J Microencapsul* 23:245–257.

Roa, J. J., Oncins, G., Diaz, J., Sanz, F., Segerra, M. (2011). Colculation of Young's Modulus Value by Means of AFM, *Recent Patenets on Nanotechnology*, 5, 27-36p.

Robinson, J. R., Lee, V. H. L. (Eds.). (1987). Controlled drug delivery fundamentals and Applications, Marcel Dekker, 2 nd Ed., pp. 448--450, 558-559, *New York.*

Saçak, M. (2005). Polimer Teknolojisi, *Gazi Kitabevi, Birinci Baskı,* s141,Ankara.

Sağ, E. (2014). Protein ayırma teknolojisi için HPLC kolon dolgu materyali tasarimi. *C.Ü. Fen Bilimleri Kimya Mühendislik Anabilim Dalı* (Yüksek Lisans Tezi)

Sanders, L. M., Kent, J. S., McRee, G. I., Vickery, B. H., Tice, T. R., Lewis, D. H. (1984). Controlled release of a LHRH analogue from poly (d, 1-lactide-co-glyco- lide)microspheres, *J. Pharm. Sci.*,73 (9), 1294-129.

Saraçoğlu Kaya, B., Sağ, E . (2017). Proteinleri ayırmak için ters faz kromatografisi (RPC) kolon dolgu materyali tasarımı: Bölüm 1-Sentez ve karakterizasyon. *Cumhuriyet Science Journal*, 38 (4), 788-797.

Siepmann, J., Faisant, N., Akiki, J., Richard, J., Benoit, J.P. (2004). Effect of the size of biodegradable microparticles on drug release: Experiment and theory, *J Control Release*, 96:123–134.

Spenlehauer, G., Vert, M., Benoit, J. P., Chabot, F., Veillard, M. (1988). Biodegradable cisplatiim microspheres prepared by the solvent evaporation method: Morphology and release characteristics, *J Contr Rel*,7, 217-229.

Srısopa, A., Alı, A.M. I., Mayes, A. G. (2011). Understanding and preventing the formation of deformed polymer particles during synthesis by a seeded polymerization method, *Journal Of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*, 49, 2070–2080.

Stigter, D., Mingins, J., Dill, K. A. (1992). Phospolipid interaction in model membrane systems, *Biophys Journal*, 61, 1616-1629p.

Stjarnkvist, P., Artursson, P., Brunmark, A., Laakso, T., Sjöholm, I. (1987). Biodegradable ınicrospheres VIII: Killing of *leishmania donovani* in cultured macrophages by microparticle-bound Primaquine, *Int J Pharm*, 40, 215- 222.

Stjiimkvist, P., Lakkso, T., Sjöholm, I. (1989). Biodegradable microspheres XII: Properties of the crosslinking chains in polyacryl starch microparaticles, *J. Pharm. Sci.*,78 (1), 52-56.

Sun, Y., Chen, R., Zhao, G., Yang, F. (2016). Nanoindentation of carbon microspheres, *Int. J. Mater. Res*, 107, 8, 687-691.

Szycher, M. (Ed.). (1991). High Performance Biomaterials, *Technicom, Zurich.*

Tabata, Y., Ikada, Y. (1989). Synthesis of gelatin microspheres containing Interferon, *Pharm Res*,6 (5), 422-427.

Tan, S., Sherman, R.L., Ford, W.T. (2004) Nanoscale compression of polymer microspheres by atomic force microscopy, Langmuir, 20, 7015-7020.

Tang, C., Yin, C., Pei, Y., Zhang, M., Wu, L. (2010). New superporous hydrogels composites based on aqueous Carbopol® solution (SPHCcs): Synthesis, characterization and *in vitro* bioadhesive force studies, *Eur Polym J,* 41 (3), 557-562.

Tarn, D., Ashley, C.E., Xue, M., Carnes, E.C., Zink, J.I., Brinker, C.J. (2013). Mesoporous silica nanoparticles nanocarriers: Biofunctionality and biocompatibility, *Acc Chem Res*, 46:792–801.

Thies, C. (1989). Dispersed systems for parenteral administration, in Controlled Release of Drugs:Polymers and Aggregate System (Ed. Rosoff, M.), *VCH Publishers, inc,New York,* pp. 97-123,

Tomlinson, E. (1983). Microsphere delivery systems for drug targeting and controlled release, *Int J.Pharm Tech Prod Mfr*, 4 (3), 49-57.

Tonessen, H.H., Karlsen, J., (2002). Alginate in drug delivery systems, *Drug Dev Ind Pharm*, 28:621–630.

Unsal, E., Camli, S. T., Irmak, T., Tuncel, M., Tuncel, A. (2004a). Monodisperse poly(styrene-co-divinylbenzene) particles (3.2 μm) with relatively small pore size as HPLC packing material, *Chromatographia*, 60, 553–560.

Unsal, E., Camli, S. T., Senel, S., Tuncel, A. (2004b).Chromatographic Performance of Monodisperse–Macroporous Particles Produced by "Modified Seeded Polymerization." I: Effect of Monomer/Seed Latex Ratio, *Journal of Applied Polymer Science*, 92, 607–618.

Unsal, E., Elmas B., Camli, S.T., Senel, S., Tuncel, A. (2005a). A Uniform Particles For The Reversed Phase Separation of Proteins With High Resolution and High Column Efficiency, *Separation Science and Technology*, 40,1425-1438

Unsal, E., Elmas B., Camli, S.T., Tuncel, M., Senel, S., Tuncel, A. (2005b). Monodisperse-Porous Poly(Styrene-*co*-Divinylbenzene) Beads Providing High Column Efficiency in Reversed Phase HPLC, *Journal of Applied Polymer Science*, 95, 1430–1438

Url-1 < https://tr.wikipedia.org/wiki/Mikro_k%C3%BCre > son erişim tarihi: 27.03.2017

Üzüm, Ö.B. (2008). Yeni Akrilamid Esaslı Anyonik IPN'lerin sentezi, karakterizasyonu ve şişme/soğurum/denetimli salının potansiyellerinin araştırılması, *A.M Ü., Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı*, (Doktora Tezi), 162s. *Aydın,*

Vemmer, M., Patel, A.V. (2013). Review of encapsulation methods suitable for microbial biological control agents, *Biol Control*, 67:380–389,

Versypt, A.N., Pack, D.W., Braatz, R.D. (2013). Mathematical modeling of drug delivery from autocatalytically degradable PLGA microspheres A review, *J Control Release*,165:29–37.

Wattendorf, U., Coullerez, G., Vörös, J., Textor, M., Merkle, H.P. (2008). Mannose-based molecular patterns on stealth microspheres for receptor-specific targeting of human antigen-presenting cells, Langmuir 24:11790–11802.

Willmott, N., Chen, Y., Goldberg, J., Mcardle, C., Florence, A. T. (1988). Bio- degradation rate of embolized protein microspheres in lung, liver and kidney of rats, *J Pharm Pharmacol*, 41, 433-438.

Yang, S., Park, K. (2004). Semi-interpenetrating polymer networks superporous hydrogels based on poly(3-sulfopropylacrylate, potassium salt) and poly(vinyl alcohol): Synthesis and characterization, *J Bioact Compat Polym*, USA,19, 81-100.

Yang. J., Han, S., Zheng, H., Dong, H., Liu, J. (2015). Preparation and application of micro/nanoparticles based on natural polysaccharides, *Carbohydr Polym*, 123:53–66.

ÖZGEÇMİŞ



Kişisel bilgiler

Adı Soyadı	Merve KÜÇÜKOFLAZ
Doğum Yeri ve Tarihi	Nevşehir, 01.01.1993
Medeni Hali	Bekâr
Yabancı Dil	İngilizce
E-posta Adresi	kucukoflazmerve@gmail.com

Eğitim ve Akademik Durumu

Lise	Nevşehir 2000 Evler Anadolu Lisesi, 2011
Lisans	Cumhuriyet Üniversitesi, Kimya Mühendisliği, 2016
Yüksek Lisans	Cumhuriyet Üniversitesi, İş Sağlığı ve Güvenliği, (Tezsiz) 2018
Yüksek Lisans	Cumhuriyet Üniversitesi, Nanoteknoloji Mühendisliği, (Tezli) 2018