T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HALLOYSİT KATKILI BİYOUYUMLU PCL/PEO KOMPOZİT NANOLİF SENTEZİ VE BİYOMEDİKAL UYGULAMALARI

DENİZ ÇETİNER

KİMYA MÜHENDİSLİĞİ ANA BİLİM DALI

TEMMUZ 2019


GAZİ ÜNİVERSİTESİ
Gazi
1926

HALLOYSİT KATKILI BİYOUYUMLU PCL/PEO KOMPOZİT NANOLİF SENTEZİ VE BİYOMEDİKAL UYGULAMALARI

Deniz ÇETİNER

YÜKSEK LİSANS TEZİ
KİMYA MÜHENDİSLİĞİ ANA BİLİM DALI

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

TEMMUZ 2019

Deniz ÇETİNER tarafından hazırlanan "HALLOYSİT KATKILI BİYOUYUMLU PCL/PEO KOMPOZİT NANOLİF SENTEZİ VE BİYOMEDİKAL UYGULAMALARI" adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ ile Gazi Üniversitesi Kimya Mühendisliği Ana Bilim Dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Prof. Dr. Nursel DİLSİZ

Kimya Mühendisliği Ana Bilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum. .....

Başkan: Prof. Dr. Gülay ÖZKAN

Kimya Mühendisliği Ana Bilim Dalı, Ankara Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum. .....

Üye: Prof. Dr. Hakan ATEŞ

Metalurji ve Malzeme Mühendisliği Ana Bilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum. .....

Tez Savunma Tarihi: 01/07/2019

Jüri tarafından kabul edilen bu tezin Yüksek Lisans Tezi olması için gerekli şartları yerine getirdiğini onaylıyorum.

.....

Prof. Dr. Sena YAŞYERLİ

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmasında;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmasında yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.



Deniz ÇETİNER

01/07/2019

HALLOYSİT KATKILI BİYOUYUMLU PCL/PEO KOMPOZİT NANOLİF SENTEZİ VE BİYOMEDİKAL UYGULAMALARI

(Yüksek Lisans Tezi)

Deniz ÇETİNER

GAZİ ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Temmuz 2019

ÖZET

Yürütülen tez çalışmasının amacı, doksisiklin yüklenmiş halloysit katkılı ve katkısız PCL/PEO kompozit nanoliflerin elektro eğirme yöntemiyle geliştirilmesi, karakterize edilmesi ve ilaç salım profillerinin belirlenmesidir. Çalışma kapsamında, öncelikle %18 (w/v) konsantrasyondaki PCL çözeltisine sırasıyla % 0,5; 1,0 ve 1,5 (w/w) oranlarında PEO eklenmiştir. Morfolojik açıdan en iyi karışım olan %18 PCL/ %1,0 PEO karışımına, sırasıyla % 0,1; 0,3 ve 0,5 (w/w) olmak üzere 3 farklı oranda saf HNT eklenmiştir. Daha sonra morfolojik açıdan en iyi sonucu veren HNT oranına sahip kompozit karışımına (%18 PCL/ %1.0 PEO/% 0.3 HNT) saf HNT yerine iki ayrı yüzey modifikasyonu uygulanmış kil (HNT-APTES ve HNT-GPTMS) eklenerek iki nanolif membranı daha sentezlenmiştir. Seçilen her bir düzgün morfolojili nanolif karışımı bir de %5 DOXH eklemesi ile sentezlenmiş ve ilaç salım profilleri karşılaştırılmıştır. Düzgün lif oluşumunu sağlamak amacıyla hazırlanan karışımların her biri için, elektro eğirme parametreleri olan uygulanan voltaj, toplayıcı levha-iğne arası mesafe ve akış hızı optimize edilmiştir. Elde edilen ilaç yüklenmiş ve yüklememiş nanolif membranlarının fiziksel ve kimyasal özellikleri, Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM), FT-IR, ve Atomik Kuvvet Mikroskobu (AFM) yöntemleriyle incelenmiştir. Yapılan deneysel çalışmaların sonucunda, yalnızca polimer içeren membranlara modifiyeli ve modifiyesiz HNT eklenmesi sonucunda lif çapları nanometre mertebesinden mikrometre mertebesine çıkmıştır. GPTMS ile modifiye edilmiş HNT katkısı ile ani salım oranı, modifiye edilmemiş HNT içeren membrana göre yükselmiş olsa da kontrollü bir salım profili göstermektedir. APTES ile modifiye edilmiş HNT katkısı ise ani salım oranının oldukça yüksek olması ile sonuçlanmıştır.

Bilim Kodu : 91213
Anahtar Kelimeler : PCL, PEO, biyopolimer, nanofiber malzemeler, biyobozunur
Sayfa Adedi : 101
Danışman : Prof. Dr. Nursel DİLSİZ

HALLOYSITE ADDED BIOCOMPATIBLE PCL/PEO COMPOSITE NANOFIBER SYNTHESIS AND BIOMEDICAL APPLICATION

(M. Sc. Thesis)

Deniz ÇETİNER

GAZİ UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

July 2019

ABSTRACT

The aim of the thesis study is to develop and characterize the PCL / PEO / HNT composite nanofibers with/without doxycycline loaded by electrospinning method and to determine drug release profiles. In the study, PEO at rates of 0.5, 1.0 and 1.5% (w / w) were added to the PCL solution at a concentration of 18% (w / v), respectively. Three different percentages of pure HNT as 0.1%, 0.3 and 0.5 (w / w) respectively, were added to the mixture of 18% PCL / 1.0% PEO, which was the best mixture in terms of morphological considerations. Then, two different surface modified HNT (HNT-APTES and HNT-GPTMS) were added to the composite mixture (18% PCL / 1.0% PEO / 0.3% HNT) with the same ratio of pure HNT. Moreover, each selected mixture which is resulted with smooth morphology was synthesized by addition of 5% DOXH and the drug release profiles were compared. For each of the mixtures prepared to ensure uniform fiber formation, the applied voltage, the distance between the collector plate and the needle and the flow rate, which are the parameters of the electrospinning process, were optimized. The physical and chemical properties of the drug loaded and unloaded nanofiber mats were investigated by Scanning Electron Microscopy (SEM), Fourier Transform Infrared (FT-IR), and Atomic Force Microscopy (AFM) methods. In consequence of the experimental studies, fiber diameters enhances from nanometers to micrometers as a result of modified and unmodified HNT addition into polymer solution. APTES-modified HNT additon was resulted in a high rate of burst release. On the other hand the GPTMS-modified HNT additive shows a controlled release profile, although the rate of burst release is elevated in comparison of unmodified HNT addition.

Science Code : 91213
Key Words : PCL, PEO, biopolymer, nanofiber materials, biodegradable polymers
Page Number : 101
Supervisor : Prof. Dr. Nursel DİLSİZ

TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans çalışmalarım süresince bilgi ve tecrübesiyle yardımcı olan, desteğini asla esirgemeyen ve iyi bir çalışma ortamı sağlayan danışmanım Sayın Prof. Dr. Nursel DİLSİZ'e en içten teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmalarımın her aşamasında desteği, bilgisi ve yardımlarıyla en yoğun zamanlarında bile benim için fazlasıyla zaman harcayan, güler yüzünü asla eksik etmeyen çalışma arkadaşım Yunus Emre BÜLBÜL'e; yine hiçbir şekilde ilgisini ve desteğini esirgemeden tüm çalışmalarım boyunca yanımda olan dönem arkadaşlarım Özgü YÖRÜK ve Buse BOZAN'a; laboratuvarda beraber çalışmaktan keyif aldığım arkadaşlarım Tevhide Uzunoğlu ve Melda Eskitoros TOĞAY'a; "BAP-06/2019-05" kodlu "Halloysit Katkılı Biyouyumlu PEO/PCL Kompozit Nanofiber Sentezi ve Biyomedikal Uygulamaları" isimli proje kapsamında çalışmalarımı destekleyerek gerçekleşmesini sağlayan Gazi Üniversitesi BAP'a teşekkür ederim.

Son olarak onu en zorladığım zamanlarda bile bana sabırla katlanan, desteği ve sevgisiyle beni her zorlukta ayakta tutmayı başaran Çağrı İLHAN'a; hayatım boyunca destek ve sevgilerini asla esirgemeyen, bana her zaman yol gösteren babam Bayram ÇETİNER ve annem Mahnur ÇETİNER' e sonsuz teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET iv

ABSTRACT v

TEŞEKKÜR vi

İÇİNDEKİLER vii

ÇİZELGELERİN LİSTESİ ix

ŞEKİLLERİN LİSTESİ x

RESİMLERİN LİSTESİ xii

SİMGELER VE KISALTMALAR xiii

1. GİRİŞ 1

2. GENEL BİLGİLER 3

2.1. Nanolif Kompozitler 3

2.2. Biyobozunur Polimerler 3

2.2.1. Polikaprolakton (PCL) 4

2.2.2. Polietilen oksit (PEO) 10

2.3. Halloysit Nanotüp (HNT) 13

2.3.1. HNT yüzey modifikasyonu 17

2.4. Doksisiklin 19

2.5. Nanolif Üretim Yöntemleri 20

2.5.1. Elektro eğirme yöntemi 20

2.5.2. Elektro eğirme yöntemini etkileyen parametreler 22

2.5.3. Diğer nanolif üretim yöntemleri 33

2.5.4. Elektro eğirme yöntemiyle nanolif üretiminin avantajları 37

2.6. Kontrollü İlaç Salım Sistemleri 40

2.6.1. İlaç salım mekanizmaları 41

Sayfa

3. LİTERATÜR ARAŞTIRMASI 45
4. DENEYSEL YÖNTEM 57
4.1. Deneyde Kullanılan Sarf Malzemeler 57
4.2. Deneyde Kullanılan Cihazlar 59
4.3. Elektro Eğirme Çalışmaları 59
4.4. HNT Yüzey Modifikasyonu 62
4.5. Karakterizasyon Çalışmaları 63
4.5.1. Optik mikroskop ile yüzey karakterizasyonu 63
4.5.2. Taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile yüzey karakterizasyonu 64
4.5.3. Atomik kuvvet mikroskobu (AFM) ile yüzey karakterizasyonu 64
4.5.4. Indentasyon 65
4.5.4. FTIR ile kimyasal yapı analizi 65
4.5.5. Hücre kültürü çalışması (MTT) 66
4.6. Miktar Tayini ve İn Vitro İlaç Salım Çalışmaları 67
5. BULGULAR VE TARTIŞMA 71
5.1. Morfolojik Analiz Sonuçları 71
5.1.1. Optik mikroskop görüntüleri 71
5.1.2. SEM görüntüleri 74
5.1.3. AFM görüntüleri 80
5.2. Kimyasal Yapı Analiz Sonuçları 83
5.2.1. FTIR sonuçları 83
5.3. Farmasötik Çalışmalar 87
5.3.1. Miktar tayini ve ilaç salım profilinin incelenmesi 87
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER 91
KAYNAKLAR 93
ÖZGEÇMİŞ 101

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge **Sayfa**

Çizelge 2.1. PCL fiziksel ve mekanik özellikleri 5

Çizelge 2.2. PCL - polimer karışımlarının kullanım alanları 8

Çizelge 2.3. PEO fiziksel ve mekanik özellikleri 11

Çizelge 2.4. HNT'nin yapısal özellikleri 15

Çizelge 2.5. Nanolif üretim yöntemlerinin avantaj ve dezavantajları. 39

Çizelge 4.1. Sarf malzemeler-1 57

Çizelge 4.2. Sarf malzemeler-2 58

Çizelge 4.3. Kullanılan cihazlar 59

Çizelge 4.4. Sentezlenen kompozit nanolif membranlarının adlandırılması 60

Çizelge 4.5. Çözeltilere göre elektro eğirme parametreleri 61

Çizelge 5.1. Numunelerin ortalama lif çapları 74

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil **Sayfa**

Şekil 2.1. Bozunma sırasında polimer zincirlerindeki ayrılma 6

Şekil 2.2. PEO sentezi 10

Şekil 2.3. (a) işlenmemiş halloysit, (b) toz halloysit, (c) TEM görüntüsü ve (d) SEM görüntüsü, (e) HNT'lerin kristal yapısı 13

Şekil 2.4. (a) Hal-(10 Å) kristal yapısı, (b) HNT yapısı, (c-d) HNT'nin TEM ve AFM görüntüsü. 14

Şekil 2.5. APTES ile HNT yüzey modifikasyonunun şematik gösterimi. 18

Şekil 2.6. Doksisiklinin kimyasal yapısı. 19

Şekil 2.7. Elektro eğirme sistemi ve elektro eğirme yönteminin şematik gösterimi. 21

Şekil 2.8. (I) Taylor konisinin yapısı. (II-A) polimer çözeltisinin yüzeyinde uygulanan elektrik alan ile oluşan yükler, (II-B) küresel damlacığın esnemesi, (II-C) yüklerin birbirini geri tepmesiyle küresel damlacığın tamamen esneyerek deformasyonu sayesinde Taylor konisi oluşumu. 22

Şekil 2.9. Elektro eğirilmiş liflerin özelliklerini etkileyen proses, çözelti ve ortam parametreleri. 23

Şekil 2.10. (a-c) Artan elektrik alanın etkisi altında polivinilpirolidon damlacığının üç aşamalı deformasyonunu gösteren dijital görüntüler, (d-f) yüklerin polimerik damlacıklar üzerindeki etkisinin mekanizması. 24

Şekil 2.11. Akış hızının artmasıyla oluşan farklı jetler. 25

Şekil 2.12. Farklı toplayıcılar kullanılarak üretilmiş nanoliflere ait SEM görüntüleri. 26

Şekil 2.13. Elektro eğirme sırasında oluşan liflerin düşük konsantrasyondan yüksek konsantrasyona doğru değişimini gösteren SEM görüntüleri. 27

Şekil 2.14. Elektro eğirme ile elde edilmiş PEO nanoliflerinin viskozitesi ile morfolojisinde oluşan değişiklikler: (a-d) şematik ve (e-h) SEM görüntüleri. 28

Şekil 2.15. Farklı çözücülerle hazırlanan %5'lik PCL çözeltilerinin SEM görüntüleri: (a) glasiyal asetik asit, (b) %90 asetik asit, (c) metilen klorür/DMF = 4/1, (d) glasiyal formik asit, (e) formik asit/aseton = 4/1, (f) THF/DMSO = 9/1(v/v) 'de çözülen %10'luk polivinil bütiral (PVB) nanoliflerinin SEM görüntüsü. 29

Şekil **Sayfa**

Şekil 2.16. Farklı çözücülerle hazırlanan %4'lük polivinil pirolidon (PVP) nanoliflerinin TEM görüntüleri: (a) etanol, (b) diklorometan (DCM), (c) dimetil formamid (DMF). 30

Şekil 2.17. Farklı bağıl nemlerde sentezlenmiş polistiren nanoliflerine ait SEM görüntüleri (%15 konsantrasyon, MC/EtOH = 90/10 (v/v), T = 19 ±1 ^{o}C): (a,b) %30 nemlilik, (c,d) %40 nemlilik, (e,f) %50 nemlilik, (g,h) %60 nemlilik, (i,j) %70 nemlilik. 32

Şekil 2.18. Çekme yöntemi ile nanolif eldesi..... 33

Şekil 2.19. Eriyik püskürtme yöntemi..... 34

Şekil 2.20. Şablon sentez yöntemi ile nanolif eldesi 35

Şekil 2.21. Faz ayrımı yöntemi ile nanolif eldesi 35

Şekil 2.22. Kendiliğinden birleşme ile nanolif eldesi 36

Şekil 2.23. Çift bileşenli ekstrüzyon yöntemi ile üretilmis liflerin kesit ve boy görüntüleri. 37

Şekil 2.24. Kontrollü ilaç salımının şematik gösterimi. 41

Şekil 2.25. Polimer bazlı difüzyon kontrollü sistemlerin şematik gösterim. 43

Şekil 4.1. DOXH miktar tayini kalibrasyon grafiği 67

Şekil 4.2. DOXH salım hızı tayini kalibrasyon grafiği 69

Şekil 5.1. Numunelerin ortalama lif çapları 75

Şekil 5.2. Indentasyon verileri..... 82

Şekil 5.3. Modifiye edilmemiş, APTES ile ve GPTMS ile modifiye edilmiş HNT'lerin FT-IR spektrumları..... 84

Şekil 5.4. Saf PCL (M1), PCL/ %1 PEO (M3), PCL/ %1 PEO/ %0.3 HNT (M7), PCL/ %1 PEO/ %0.3 HNT-APTES (M10), PCL/ %1 PEO/ %0.3 HNT-GPTMS (M12) membranlarının FT-IR spektrumları 85

Şekil 5.5. (a) Saf DOXH, %18 PCL-%1.0 PEO (M3) ve DOXH yüklenmiş membranların (M5, M9, M11, M13) FT-IR spektrumları, (b) DOXH piklerinin yakın görünümü..... 86

Şekil 5.6. M5, M9, M11 ve M13 membranlarından in vitro DOXH salım grafiği..... 87

Şekil 5.7. İlaç yüklenmiş (M5, M7, M9, M11) membranlarının % hücre canlılığı 89

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim **Sayfa**

Resim 4.1. Elektro eğirme sistemi 61

Resim 4.2. Vakumlu etüv kurutucu..... 63

Resim 4.3. Optik mikroskop 63

Resim 4.4. Digimizer ile ortalama nanolif çapı ölçümü 64

Resim 4.5. Atomik kuvvet mikroskobu (AFM) 65

Resim 4.6. MTT sitotoksisite testi plakaları 66

Resim 4.7. UV-Vis spektrofotometre cihazı 68

Resim 4.8. Sıcaklık kontrollü çalkalayıcı su banyosu..... 69

Resim 5.1. Ön deneylerde elde edilen nanoliflerin optik mikroskop görüntüleri; (a) %18 PCL - Kloroform:DMF=70:30, (b) %15 PCL – Kloroform, (c) %12 PCL – DMF:DCM=80:20, (d) %18PCL – DMF 71

Resim 5.2. Elde edilen nanoliflerin optik mikroskop görüntüleri (10x büyütme); saf PCL (M1), PCL/0.5 PEO (M2), PCL/ %1.0 PEO/DOX (M5), PCL/ %1.0 PEO/ %0.3 HNT (M7), PCL/ %1.0 PEO/ 0.3 HNT/%5 DOX (M9), PCL/ %1.0 PEO/ %0.3 HNT-APTES/ %5 DOX (M11)..... 73

Resim 5.3. PCL/PEO nanoliflerin SEM görüntüleri; %0.5 PEO (M2), %1.0 PEO (M3), %1.5 PEO (M4) 76

Resim 5.4. PCL/PEO/HNT nanoliflerin SEM görüntüleri; % 0.1 HNT (M6), % 0.3 HNT (M7), % 0.5 HNT (M8) 78

Resim 5.5. Modifiye HNT katkılı PCL/PEO nanoliflerin SEM görüntüleri; %0.3 HNT-APTES (M10), %0.3 HNT-GPTMS (M12) 79

Resim 5.6. DOXH yüklenmiş nanoliflerin SEM görüntüleri; PCL/ %1.0 PEO/ %5.0 DOXH (M5), PCL/ %1.0 PEO/ %0.3 HNT/ %5.0 DOXH (M9), PCL/ %1.0 PEO/ %0.3 HNT-APTES/ %5.0 DOXH (M11), PCL/%1.0 PEO/ %0.3 HNT-GPTMS/ %5.0DOXH (M13) 80

Resim 5.7. Nanolif membranlarının AFM görüntüleri 82

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler	**Açıklamalar**
µg	Mikrogram
µm	Mikrametre
dak	Dakika
mg	Miligram
ml	Mililitre
g	Gram
nm	Nanometre
m	Metre
cm^3	Santimetreküp
s	Saat
MPa	Megapaskal
GPa	Gigapaskal
Tg	Camsı geçiş sıcaklığı

Kısaltmalar	**Açıklamalar**
APTES	3-amino propil trietoksisilan
AFM	Atomik kuvvet mikroskobu
DCM	Diklorometan
DMF	N,N-Dimetilformamid
DOXH	Doksisiklin hiklat
DSA	Temas açı analizi
DSC	Diferansiyel taramalı kalorimetre
FDA	Amerikan Gıda ve İlaç Kurumu
FT-IR	Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi
GPTMS	3-glisidil oksi propil trimetoksisilan

Kısaltmalar	Açıklamalar
HNT	Halloysit nanotüp
MMP	Matriks-metaloproteinaz
PA6	Poliamid 6
PBS	Fosfat tampon çözeltisi
PCL	Polikaprolakton
PEO	Polietilen oksit
PLA	Polilaktik asit
PLGA	Polilaktik-ko-glikolik asit
PLLA	Polilaktik-L-laktik asit

1. GİRİŞ

Elektro eğirme yöntemi, nano boyutlara kadar inebilen geniş çap aralığında düzenli lifler elde edilebilmesi gibi birçok avantajı sayesinde çeşitli alanlarda uygulanmaktadır. Son yıllarda sentetik kompozit nanoliflerin üretiminde de yaygın olarak kullanılan etkili bir yöntem olmaya başlamıştır. Yalnızca polimer karışımlarından değil, kil gibi farklı birçok nanomalzeme katkısıyla, özellikleri geliştirilmiş nanoliflerin üretimi mümkündür. Elektro eğirme yöntemi, diğer yöntemlerin arasından lif çapı kontrolünün kolay olması, geniş çap boyut aralığı (nanometreden mikrometreye), yüksek yüzey alanı/hacim, yüksek uzunluk/çap oranı, yüksek gözeneklilik, ayarlanabilir gözenek boyutu ve hücreler arası ortama benzerliği gibi avantajlarıyla öne çıkmaktadır (Kai, Liow ve Loh, 2015).

Elektro eğirme yöntemi ile elde edilen lifleri ilaç uygulamasında kullanmanın avantajları arasında, yüksek ilaç yüklemesi (yaklaşık % 60'a kadar) ve kapsülleme verimliliği (yaklaşık % 100'e kadar), eğirilebilir polimer çeşitliliği, salımın ayarlanabilirliği, kolay uygulanabilen bir yöntem olması ve düşük maliyetli olması sayılabilir (Chou, Carson ve Woodrow, 2015). Elektro eğirme, farmasötik ajanların veya biyomoleküllerin liflere doğrudan kapsüllenmesini sağlar, aynı zamanda salımlarını kontrol ederken çevre ortamdan korur (Repanas, Andriopoulou ve Glasmacher, 2016).

İlaç salım sistemi (DDS), tedavi edici bir maddenin vücuda alınmasını sağlayan ve ilaçların vücutta salım hızını, zamanını ve yerini kontrol ederek etkinliğini ve güvenliğini arttıran bir formülasyon veya bir araç olarak tanımlanmaktadır. Kontrollü ilaç salım sistemleri, ilacın istenilen dozda ve salım hızında, kontrollü olarak ve daha uzun sürelerde vücuda verilebilmesi, vücutta minimum birikim yaratarak toksik etkiye sebep olmaması ve ilaç alım sıklığının azalması gibi sebeplerle geleneksel ilaç salım sistemlerinden daha avantajlıdır (Bruschi, 2015).

İlaç etkinliğinin arttırılması bu sistemlerin geliştirilmesindeki esas hedeftir. Kontrollü ilaç salım sistemlerinde sentetik biyopolimerlerin taşıyıcı olarak kullanımı, biyopolimerlerin dayanıklılığı ve vücutta toksik etki yaratmamaları sebebiyle sıklaşmıştır (Bruschi, 2015).

Bir ilaç salım sistemi tasarlamanın amacı, hastalığa ve ilacın türüne bağlı olarak belirlenen süre boyunca ve belirlenen oranda, tıbbi koşulların azaltılmasına yönelik ilaç salımının kontrol edilmesini sağlamaktır. Elektro eğirilmiş nanolifler, liflerdeki birbirine bağlı gözenekler ile yüksek yüzey alanına sahip olması sayesinde daha iyi çözünme hızı ve yüksek terapötik alım sağlamaktadır. Bu da elektro eğirme yönteminin ilaç salım sistemlerinde avantajlarını öne çıkarmaktadır (Kai ve diğerleri, 2015).

Bu tez çalışmasının amacı, elektro eğirme yöntemiyle ilaç taşıyıcı kompozit nanolifler geliştirilmesidir. Bu doğrultuda, doksisiklin taşıyıcı olarak, polikaprolakton/polietilen oksit, polikaprolakton/polietilen oksit/halloysit nanotüp kil karışımları kullanılarak nanolif membranları üretilmiştir. Halloysit nanotüp ise, 3-amino propil trietoksisilan ve 3-glisidil oksi propil trimetoksisilan olmak üzere iki farklı ajan ile modifiye edilmiş ve polikaprolakton/polietilen oksit karışımına eklenerek nanolif membranlar sentezlenmiştir. Düzgün lif oluşumunu sağlamak amacıyla hazırlanan karışımların her biri için, uygulanan voltaj, toplayıcı levha-iğne arası mesafe ve akış hızı parametreleri optimize edilmiştir. Farklı konsantrasyonlarda malzeme katkısı ile üretilen membranların morfolojik açıdan en düzgün olan karışımına ilaç yüklemesi yapılarak elde edilen salım profilleri karşılaştırılmıştır. Hazırlanan kompozit nanolif membranların karakterizasyon, in vitro salım ve hücre canlılığı çalışmaları gerçekleştirilmiş, saf halloysit nanotüp ve iki farklı ajanla modifiye edilmiş halloysit nanotüp katkısının, katkısız fiber membranlarına ve birbirine kıyasla ilaç salım profiline etkisi tartışılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Nanolif Kompozitler

Nanolifler, çapı 1 ile 100 nanometre aralığında olan liflerdir. İlaç dağıtımı, gen dağıtımı, hücre tedavisi, kanser tedavisi, doku mühendisliği ve rejeneratif tıp gibi çeşitli biyomedikal uygulamalarda yaygın olarak kullanılırlar. Nanolifler, geniş yüzey alanı, yüksek en boy oranı, üstün yüzey özellikleri, kuantum hapsetme etkileri, hücre reseptörlerine bol miktarda bağlanma sitesi sağlayan ve hücre, doku, organ sentezi sırasında güçlü hücre-matris etkileşimine izin veren biyomoleküllerin hızlı emilim kabiliyeti gibi fonksiyonel özellikleri sayesinde, hücresel ve moleküler uygulamalar için mikro ve makro ölçekli benzerlerine kıyasla çok daha etkili sistemlerdir (Ramalingam ve Ramakrishna, 2017).

Nanolif kompozitler, yeni ve hedeflenen fiziksel, kimyasal ve/veya biyolojik özelliklere ulaşmak üzere bir araya getirilen iki veya daha fazla farklı fazdan oluşan, bileşen fazlardan her ikisinin de üstün özelliklerinin öne çıktığı yeni bir malzeme ortaya çıkacak şekilde tasarlanan malzemelerdir. Matris ve takviye fazlar nanolif kompozitlerin iki bileşenidir. Matris fazı (sürekli faz olarak da adlandırılır), genellikle daha yumuşak ve daha az sert olan birincil fazdır. Takviye faz ise (aynı zamanda ikincil faz veya dağınık faz olarak da adlandırılır), genellikle matris fazından daha güçlüdür ve matris içine gömülür (Ramalingam ve Ramakrishna, 2017).

Bir nanolif kompozit, bileşenlerin üstün özelliklerini tek bir malzemede birleştirerek spesifik bir uygulama için mevcut polimer nanolifleri ve takviye fazların optimum kombinasyon seçimine izin verir. Literatürde nanolif kompozitler üzerine çok sayıda araştırma yapılmış olup, nanolif kompozitlerin bazı biyolojik ve biyomedikal uygulamalarda monofazik nanoliflerden daha iyi bir seçenek olduğu kanıtlanmıştır (Ramalingam ve Ramakrishna, 2017).

2.2. Biyobozunur Polimerler

Biyobozunur polimerler ambalaj, tarım, ilaç ve diğer alanlarda kullanılan malzemelerdir. Son yıllarda biyobozunur polimerlere olan ilgi artmıştır. Biyolojik olarak çözünebilen bu malzemeler iki çeşitle sınıflandırılmaktadır: sentetik ya da doğal polimerler. Sentetik

biyobozunur polimerler petrol kaynaklarından (yenilenemeyen kaynaklar), doğal biyobozunur polimerler ise biyolojik kaynaklardan (yenilenebilir kaynaklar) elde edilebilmektedir. Malzeme özellikleri açısından ele alındığında genel olarak doğal polimerler, sentetik polimerlerden daha az avantaj sunmaktadır (Vroman ve Tighzert, 2009).

Nişasta, selüloz, soya proteini ve şeker pancarı posası plastikleri doğal yollarla oluşan biyobozunur polimerlere, polilaktik asit ve polihidroksialkanoat yenilebilir kaynaklardan türetilen biyobozunur polimerlere, polikaprolakton, polibütilen süksinat ve polibütilen-ko-tereftalat petrol kaynaklarından türetilen biyobozunur polimerlere örnek verilebilir (Jiang ve Zhang, 2012).

Biyobozunur polimerlerin moleküler zincirleri, hidrolitik bozunma veya enzimatik yollarla parçalanabilir. Biyomedikal uygulamalarda biyobozunur polimerlerin kullanımına olan ilgi artmış olup, mevcut eğilimler gelecekte biyobozunur polimerlerin, biyostabil malzemelerin kullanımını adım adım değiştirebileceğini göstermektedir. Biyobozunur polimerlerin implant uygulamalarında biyolojik olarak çözünebilir biyomalzemelere tercih edilmesinin nedenleri, biyobozunur polimerlerin iki ana avantajına bağlanabilir. Birincisi, vücuttaki işlevlerini yerine getirdikten sonra ortadan kaybolurlar ve implantasyon bölgesinde artıkların izlerini bırakmazlar. Malzemenin tamamen kaybolmasından dolayı tedavi sonrasında revizyon cerrahisine gerek yoktur. İkincisi, biyolojik olarak parçalanabilen polimerlerden üretilen implantlar kademeli olarak bozunduğundan, implantasyon bölgesinde oluşan gerilim yavaş yavaş iyileşen dokuya aktarılır. Böylece, onarılmış dokunun gerilme engeli ve zayıflaması önlenerek iyileşme dokusunun uygun bir yeniden biçimlendirme oranı sağlanır (Niemelä ve Kellomäki, 2011).

2.2.1. Polikaprolakton (PCL)

Polikaprolakton (PCL) 1930'larda Carothers grup tarafından sentezlenen ilk polimerlerdendir. Sentetik polimerlerin mikroorganizmalar tarafından bozunabildiğinin anlaşılmasıyla beraber ticarileşmeye başlamıştır. Organik çözücülerde iyi çözünebilmesi, düşük erime noktasına sahip olması ve iyi karışım oluşturabilmesi gibi özelliklerinden dolayı biyomedikal alandaki kullanımlar için oldukça uygundur. Bu özellikleri sayesinde 1970 ve 1980'lerde birçok ilaç taşıyıcı sistemde kullanımı yaygınlaşmıştır. Bozunma

kinetiği, mekanik özellikleri, kolay şekillendirilebilmesi, gözenekli yapıda üretilebilmesi gibi diğer biyopolimerlere kıyasla daha fazla avantaja sahiptir. Yapısına fonksiyonel gruplar eklenerek daha hidrofilik ya da biyouyumlu bir yapı elde edilebilmektedir. Aynı zamanda yaygın kullanılan biyopolimerler olan Poliglikolik asit (PLGA), Polilaktik asit (PLA) ve kopolimerlerinden daha yavaş bozunma hızına sahip olması öne çıkan bir diğer özelliğidir (Woodruff ve Hutmacher, 2010).

PCL, Ɛ- kaprolaktonun halka açılma polimerizasyonuyla elde edilen hidrofobik ve yarı kristalin yapıda biyobozunur bir polimerdir. Camsı geçiş sıcaklığı -60^{o}C, erime sıcaklığı ise 59-60 ^{o}C civarındadır. Yarı kristalin yapısı ve düşük erime sıcaklığı sayesinde kolay şekillendirilebilir. Bozunma sıcaklığı 350^{o}C, çekme mukavemeti 20,7 - 42 MPa arasında, young modülü 0,21 – 0,44 GPa ve kopma uzaması % 20 – 1000 aralığındadır. Ortalama moleküler ağırlığı 3000 ile 80 000 g/mol aralığında değişmektedir. PCL'nin fiziksel ve mekanik özellikleri Çizelge 2.1'de verilmiştir (Labet ve Thielemans, 2009).

Oda sıcaklığında kloroform, diklorometan, karbon tetraklorür, benzen, toluen, siklohekzan ve 2-nitropropan içerisinde iyi çözünür. Aseton, 2-bütanon, etil asetat, dimetilformamid ve asetonitril içerisinde çözünürlüğü ise daha düşük olup, alkol, petrol eteri ve dietileter içerisinde hiç çözünmez(Labet ve Thielemans, 2009).

Çizelge 2.1. PCL fiziksel ve mekanik özellikleri(Labet ve Thielemans, 2009)

Özellik	Aralık
Ortalama moleküler ağırlık – M_A (g/mol)	3000 - 80 000
Yoğunluk – ρ (g/cm^3)	1,071 – 1,200
Camsı geçiş sıcaklığı – T_g (^{o}C)	(-65) – (-60)
Erime noktası – T_m (^{o}C)	56 – 65
Bozunma sıcaklığı (^{o}C)	350
Çekme mukavemeti – σ (MPa)	20,7 - 42
Young modülü – E (GPa)	0,21 – 0,44
Kopma uzaması – Ɛ (%)	20 – 1000

PCL'nin bozunma mekanizması

PCL'nin bozunma mekanizması, yapısındaki ester bağlarının hidroliz ile ayrılması sonucunda kütle kaybına uğraması ile gerçekleşir. PCL molekül ağırlığına, kristallenme derecesine ve bozunma ortamına bağlı olarak birkaç ay ile birkaç yıl arasında bozunabilmektedir. Hidrofobik ve yüksek molekül ağırlığına sahip olduğundan tamamen bozunması, polilaktik asitten daha yavaştır. Amorf yapıdaki PCL görece daha hızlı bozunurken, moleküler ağırlığı sabit olmak koşuluyla kristallenme derecesi arttıkça bozunması da yavaşlar. Yüksek sıcaklıklarda PCL zincirin son halkasından düzenli bir şekilde bozunurken, düşük sıcaklıklarda zincirin rastgele bir halkasından bozunma gerçekleşir (Bkz. Şekil 2.1). Doğada bulunan birçok mikroorganizma PCL'nin tamamen bozunmasını sağlayabilir. PCL'nin bozunması sırasında ortaya çıkan karboksilik asitlerle otokatalizlenebildiği gibi, enzim katalizörlüğünde daha hızlı bozunma da gerçekleştirilebilir. Yani PCL doğada enzimlerle bozunabilmekte, ancak vücut ortamında enzimatik olarak bozunmamaktadır. Bu sebeple insan vücudunda tamamen bozunması neredeyse 3 yıldan fazla sürmektedir. Bu özelliği sayesinde uzun süreli kullanıma uygun implantların üretiminde kullanıma uygundur (Chou ve diğerleri, 2015; Kai ve diğerleri, 2015).

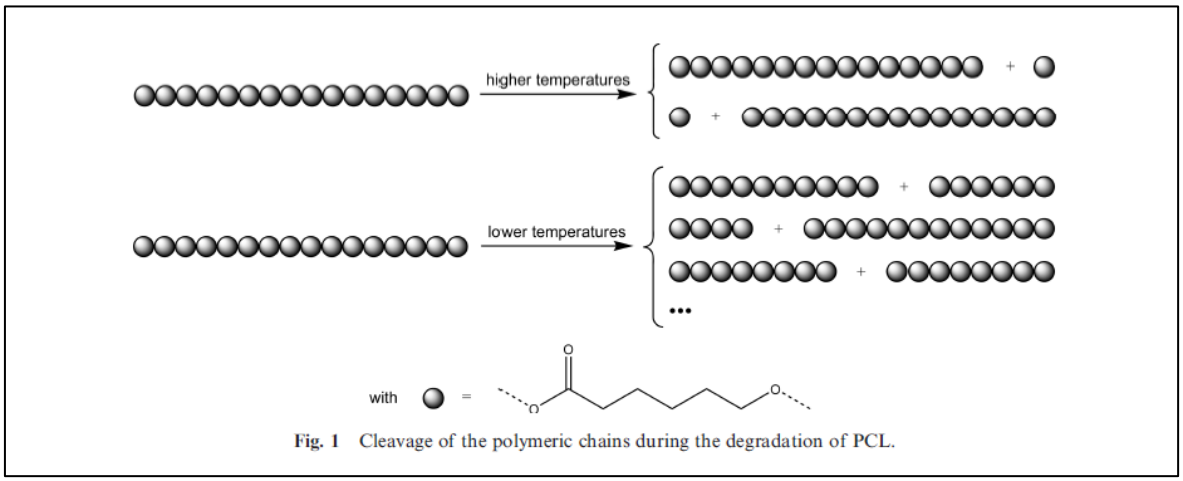


Fig. 1 Cleavage of the polymeric chains during the degradation of PCL.

Şekil 2.1. Bozunma sırasında polimer zincirlerindeki ayrılma

PCL'nin kullanım alanları

Alifatik polyester sınıfındaki PCL, hidrofobik, yarı kristal yapılı (%50), biyouyumlu ve yavaş bozunması nedeniyle son yıllarda biyomedikal uygulamalarda yaygın olarak karşımıza çıkmaktadır (Mondal, Griffith ve Venkatraman, 2016). Biyobozunur ve biyouyumlu olması, iyi çözünebilir ve düşük erime noktasına sahip olması yönünden diğer polimerlere kıyasla oldukça avantajlıdır. Tek başına kullanılabildiği gibi başka polimerlerle karışım oluşturularak ya da kopolimeri yapılarak kullanılabilmektedir. Öne çıkan bu özellikleri PCL'ye, doku mühendisliğinden ilaç taşıyıcı sistemlere, medikal uygulamalardan tekstil sanayiine kadar oldukça geniş bir yelpazede kullanım alanı sağlar (Azimi, Nourpanah, Rabiee ve Arbab, 2014). PCL'nin farklı malzemelerle karıştırılarak kullanıldığı bazı medikal alanlar Çizelge 2.2'de gösterilmiştir (Abedalwafa, Wang, Wang ve Li, 2013).

Medikal alanda dikiş ve yara örtüsü üretimi, kardiyovasküler doku mühendisliğinde, sinir hücrelerinin yenilenmesi ve kemik doku mühendisliği alanlarındaki uygulamalarıyla son yıllarda öne çıkmaktadır. İlaç, protein, gen gibi tedavi edici moleküllerin kontrollü taşıma ve salımında kullanımı güncel olarak derinlemesine araştırılan konulardandır. Aynı zamanda, Amerikan Gıda ve İlaç İdaresi'nin (FDA) ilaç kullanımında onay almış belli sayıdaki polimerlerindendir (Mondal ve diğerleri, 2016).

Son yıllarda proteinler, peptidler, oligonükleotidler, DNA, RNA gibi tedavi edici birçok molekülün taşınmasında biyouyumlu ve biyobozunur polimerlerin kullanımı yaygınlaşmaya başlamıştır (Chou ve diğerleri, 2015). Biyobozunur ve biyouyumlu bir polimer olan PCL, yüksek geçirgenlik özelliği, biyouyumluluğu ve bir kez vücuda alındıktan sonra tamamen atılabilmesinden dolayı kontrollü ilaç salım sistemlerinde kullanıma çok uygundur. Diğer polimerlere kıyasla daha yavaş bozunabilir. Vücuttan tamamen atılması 1 yıldan daha uzun sürmektedir. Bu nedenle uzun süreli ilaç taşıma gerektiren uygulamalarda kullanıma oldukça uygundur. Suda çözünürlüğünün az olması tedavi edici bileşenlerin taşınmasını engeleyebilse de son yıllarda yapılan araştırmalar çözünürlük arttırıcı ajanların taşıyıcı malzeme yapısına katkısıyla bu özelliğini önemsiz kılmaktadır (Woodruff ve Hutmacher, 2010).

Çizelge 2.2. PCL - polimer karışımlarının kullanım alanları (Abedalwafa ve diğerleri, 2013)

PCL ile karıştırılan polimer	Üretim yöntemi	Uygulama alanı
Kitosan	Liyofilizasyon (vakumlu kurutma) Eriyik esnetme (melt stretching) ve çoklu katman biriktirme (multilayer deposition)	Doku mühendisliği Kemik doku mühendisliği
İpek	Liyofilizasyon Elektro eğirme (Electrospinning)	İskelet doku mühendisliği Doku mühendisliği
Örümcek ipeği ve jelatin	Elektro eğirme (Electrospinning)	Damar doku mühendisliği
Alginat	Faz Ayırma (Separation phase)	Kemik doku mühendisliği
Kolajen	Elektro eğirme (Electrospinning)	Doku mühendisliği
PLLA ve MWCNTs	Çözücü dökme (Solvent casting)	Doku mühendisliği
Poli üretan (PU)	Elektro eğirme (Electrospinning)	Damar doku mühendisliği
PLGA	Elektro eğirme (Electrospinning)	Doku mühendisliği
PLLA	Donmuş ekstraksiyon (Freeze extraction)	Membran doku mühendisliği
Polistiren (PS)	Döndürmeli kaplama (Spin coating)	Biyomalzeme
PGA	Faz Ayırma (Separation phase)	Kemik doku mühendisliği
Forsterit (Mg_2SiO)	Çözücü dökme(Solvent casting) Partikül liçing (Particle Leaching)	Kemik doku mühendisliği
Kalsiyum Alginat	Faz ayırma (Separation phase)	Kemik doku mühendisliği
Aluminyum oksit	Elektro eğirme (Electrospinning)	Doku mühendisliği Diş implantı
Magnezyum Fosfat	Parçacıkla liçing(Particulate leaching)	Kemik doku mühendisliği
Nanohidroksi apatit (nHA)	Modifiye edilmiş eriyik kalıplama/liçing (modified mel molding/leaching)	Kıkırdak doku mühendisliği
Biyoaktif cam mikroküreler	Çözücü dökme(Solvent casting)	Kemik doku mühendisliği

PCL'den ilaç salım oranları, formülasyon tipine, hazırlama yöntemine, PCL içeriğine, mikrokapsüllerde yüklü ilacın büyüklüğü ve yüzdesine bağlıdır. PCL geçirgenliğinin daha yüksek olması nedeniyle, gerilimi, çatlama direncini ve ilaçların salım hızı üzerindeki kontrolünü geliştirmek için diğer polimerlerle harmanlanır. Son on yılda, PCL polimerleri özellikle peptitler ve proteinler için kontrollü dağıtım sistemleri geliştirmek için ana ilgi alanı olmuştur (Woodruff ve Hutmacher, 2010).

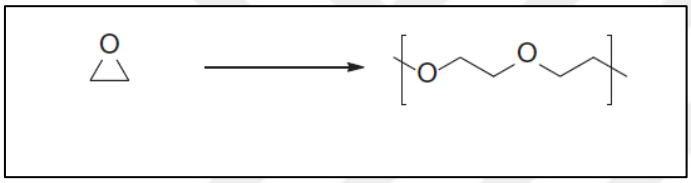
Doku mühendisliği, biyolojik fonksiyonları geliştirmek veya değiştirmek için bir hücre, mühendislik ve malzeme yöntemleri kombinasyonunun ve uygun biyokimyasal ve fizyo-kimyasal faktörlerin kullanılması olarak tanımlanabilir (Azimi ve diğerleri, 2014). Doku mühendisliği uygulamalarında, kompozit malzemeler ayarlanabilir gözenek yapısı, kontrol edilebilir bozunma kinetiği ve yönlendirilebilen hücre-malzeme etkileşimi sayesinde oldukça kullanışlı olabilmektedir. Bir çok çalışma grubu, kompleks kemik doku rejenerasyonu için iyi düzenlenmiş yapıya sahip kompozit iskeletler geliştirmiştir (Sinha, Bansal, Kaushik, Kumria ve Trehan, 2004).

Son kırk yılda alifatik polyesterlerden yapılan dikişlerin biyouyumluluğu ile ilgili çeşitli çalışmalar yayınlanmıştır. Polimerler, fizyolojik koşullarda (insan vücudunda olduğu gibi) hidrolitik olarak kararsız alifatik ester bağlantılarının mevcudiyeti nedeniyle hidrolitik bozunmaya uğrar. Polimerlerin bu özelliğinden yararlanmak amacıyla, PCL dokuya uyumlu olduğundan Avrupa'da biyobozunur bir dikiş olarak kullanımı yaygınlaşmıştır.

Polimerik biyobozunur doku iskeleleri, sentetik ve doğal malzemelerin avantajlarını birleştirir. Sentetik polimerlerin mekanik mukavemet ve bozunma hızı gibi fiziksel özellikleri, doğal malzemeler ile normalden daha az partiden partiye varyasyonla, gereksinimlere göre manipüle edilebilir. Biyobozunur polimerlerin farklı sınıfları arasında, PCL iskele imalatı için oldukça uygundur. PCL, inanılmaz derecede çok yönlü bir biyo-emilebilir polimerdir ve üstün reolojik özellikleri sayesinde, muazzam bir iskele dizisi üretmek için hemen hemen her polimer işleme teknolojisi tarafından kullanılabilir. PCL'yi yüksek gözenekliliğe ve yüzey alanına sahip 3D polimerik iskelelere işlemek için birçok üretim teknolojisi uygulanmıştır (Azimi ve diğerleri, 2014).

2.2.2. Polietilen oksit (PEO)

Polietilen oksit (PEO), Polietilen glikol (PEG) ile aynı kimyasal yapıda, ancak daha yüksek moleküler ağırlıklara sahip sentetik bir polimerdir. Kimyasal formülü (–O – CH2 – CH2–)n –OH olarak ifade edilir. PEO ticari olarak, metalik katalizör sistemlerinin varlığında etilen oksidin katalitik polimerizasyonu yoluyla üretilir. Dallanmamış doğrusal makromoleküller halinde olan PEO dereceleri moleküler zincirlerin uzunluğuna göre değişir (Ma ve diğerleri, 2014). Molekül ağırlığı 100 000'dan düşük olan malzemeler genellikle PEG olarak adlandırılırken, daha yüksek moleküler ağırlıklı polimerler PEO olarak sınıflandırılır. PEO, 100 000 ila 8 000 000 g/mol' lük geniş bir moleküler ağırlık aralığında sentezlenebilir (Cantin, 2016). PEO sentezi Şekil 2.2'de şematik olarak gösterilmiştir.



Şekil 2.2. PEO sentezi

Ticari PEO kuru, serbest akışlı beyaz bir tozdur. Suda ve metilen klorür, etanol, toluen, aseton ve kloroform gibi birçok organik çözücüde çözünebilir. Erime noktası 63 °C - 67 °C arasında değişmektedir. Ticari olarak POLYOXTM adıyla Union Carbide Corporation tarafından pazarlanmaktadır (Ma ve diğerleri, 2014).

PEO hem soğuk hem de sıcak suda tamamen çözülebilir, ancak çözeltinin sıcaklığı bulut noktası olarak adlandırılan suyun kaynama noktasına yakın olduğu zaman polimerler çökelecektir. Bulutlanma noktası PEO konsantrasyonu ve moleküler ağırlığından etkilenmektedir. PEO'nun çözünme hızı çok yavaştır. Kuru tozun su ile ıslatılması kolaydır, ancak su içinde çözülürken düzgün bir şekilde dağılmadığı takdirde topaklanma ve jel oluşma eğilimindedir (Ma ve diğerleri, 2014).

Camsı ile kauçuk faz, faz geçişinin gerçekleştiği bir polimerin camsı geçiş sıcaklığı (Tg), özellikle kontrollü ilaç taşıyıcı sistem uygulamalarına ilişkin olarak önemli bir karakteristik sabittir. Polimer zincirleri Tg'nin altında hareketsizdir (camsı faz). Aksine, makromoleküllerin mobilitesi Tg'nin üzerinde belirgin bir şekilde artar (kauçuk faz). PEO

ürünleri ailesinin Tg'si -50 ila -57 ^{o}C arasında değişmektedir. Tg malzemenin yapısındaki kimyasal bağ kuvvetine bağlı olduğu için, yapıdaki zincir sayısı bağın kopma derecesini değiştirmeyecektir. Bu nedenle moleküler ağırlığın, PEO Tg 'si üzerinde önemli bir etkisi yoktur. PEO ailesinin en yüksek molekül ağırlığına sahip olanı ile en düşük molekül ağırlığına sahip olanı Tg açısından kıyaslandığında, aralarında çok az bir fark olduğu görülecektir. PEO'in fiziksel ve mekanik özellikleri Çizelge 2.3'te verilmiştir (Ma ve diğerleri, 2014).

Çizelge 2.3. PEO fiziksel ve mekanik özellikleri (Ma ve diğerleri, 2014)

Özellik	Aralık
Ortalama moleküler ağırlık – M_w (g/mol)	100 000 – 8 000 000
Yoğunluk – ρ (g/cm^3)	1,13
Camsı geçiş sıcaklığı – T_g (^{o}C)	(-50) – (-57)
Erime noktası – T_m (^{o}C)	63 – 67
Bozunma sıcaklığı (^{o}C)	350
Çekme mukavemeti – σ (MPa)	20,7 - 42
Young modülü – E (GPa)	0,21 – 0,44
Kopma gerinimi – Ɛ (%)	20 – 1000

Amerikan Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) belirli gıda ambalajlama kullanımları için ve biraya doğrudan katkı maddesi olarak biyobozunur ve biyouyumlu bir polimer olan PEO'in kullanımını kabul etmiş ve onaylamıştır (The Dow Chemical, 2002). Literatürdeki hayvan çalışmalarında ise, ağız yoluyla alınabilecek maksimum doz vücut ağırlığının her bir kilogramı başına 2 grama eşit olacak şekilde polietilen oksitin tüm maruz kalma yollarıyla uygulanması sonucunda herhangi bir ölüm ya da zehirlenme raporlanmamış olup, çok düşük toksisiteye sahip olduğu belirtilmiştir. Yine yapılan araştırmalarda, PEO'den kaynaklı herhangi bir cilt ya da tahrişi rapor edilmemiştir. Bunlara ek olarak, polietilen oksit yüksek molekül ağırlıklı bir polimer olduğu için, vücutta emilimi oldukça yavaştır ve vücuttan tamamen uzaklaştırılabilir (Cantin, 2016).

PEO’nin kullanım alanları

PEO tarım, inşaat ve inşaat, seramik işleme, kişisel bakım ve kozmetik, elektronik ve telekomünikasyon, madencilik, kağıt ve eczacılık ürünleri formüle etmek için kullanılabilir.

Yüksek moleküler ağırlıklı PEO’lar (PEG), dispersiyon ajanları, çözücüler, merhemler, fitil bazlarında ve tıp, eczacılık ve kozmetik endüstrisinde müshil olarak kullanılır. Köpüklenmeyi önleyebilirler ve bu nedenle gıda endüstrisinde köpürmenin gerekli olmadığı preparatlarda kullanılırlar. Düşük moleküler ağırlıklı PEO, baskı için mürekkep çözücülerin ve yağlama maddelerinin oluşumu için tercih edilen ürünlerdir. Bunlar kozmetikler için de önemlidir ve cilde yakınlıklarından dolayı cilt kremleri, yağlayıcılar ve merhem bazlarının hazırlanmasında tercih edilir. PEO, cilde herhangi bir tahrişe neden olmaz ve mükemmel suda çözünürlüğü nedeniyle su ile kolayca çıkarılabilir. Diş macunlarında, ksantan sakızının diş macununa eşit şekilde dağılmasını sağlayan su bağlayıcı maddeler olarak işlev görür.

Farmasötik formülasyonlar için PEO, topikal, oral, oftalmik ve rektal preparatların hazırlanmasında önemli bileşenlerdir. Çeşitli tıbbi uygulamalarda film kaplama maddeleri ve yağlayıcılar olarak kullanılırlar. Özellikle katı dereceli PEO’ler plastikleştiriciler olarak tercih edilir. Kaplama filminin yırtılmasını veya hasar görmesini önleyebilir ve bu nedenle tablet oluşturma işleminde kullanılabilir (Bailey ve Koleske, 1976).

PEO, molekül ağırlığı 100 000 - 8 000 000 g/mol arasında değişen, hidrofilik, doğrusal ve çapraz bağlanmamış bir polimerdir. PEO suda çözünürlüğü yüksek, hızlı hidrasyon özelliği olan, toksik olmayan, fizyolojik sıvıların pH’ına duyarsız ve üretimi kolay bir polimerdir. PEO’nun hidrofilikliğinden dolayı, PEO bazlı tablet matrisleri su ile temas ettiğinde, hidratlanır ve şişer, suyun tablet matrisine daha fazla nüfuz etmesini ve ilacın içeriden çözünmesini düzenleyen bir hidrojel katman oluşturur. Bu hidrasyon ve şişme özellikleri, PEO'yu, özellikle kontrollü salımlı tablet sistemlerinde, farmasötik endüstrisinde kullanışlı bir malzeme yapmaktadır (Ma ve diğerleri, 2014).

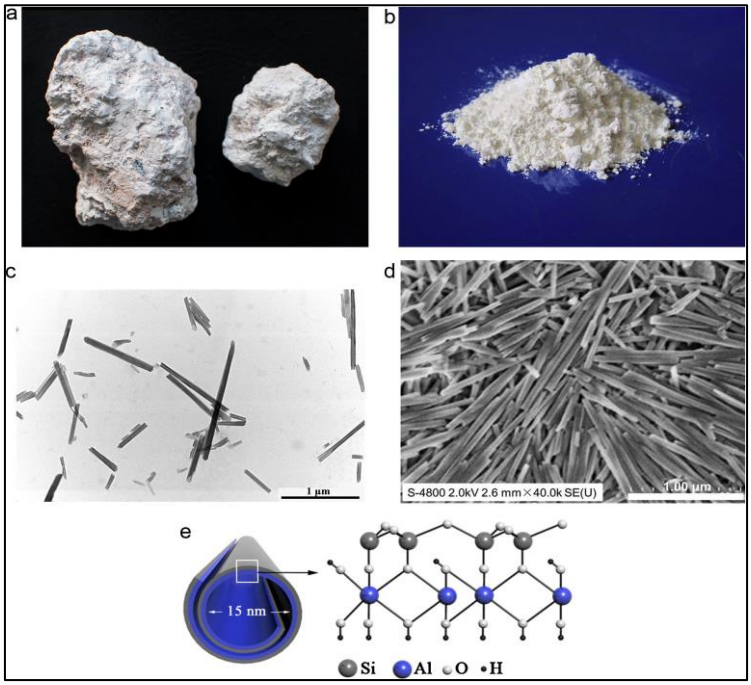
PEO, birçok farmasötik üründe yardımcı madde olarak kullanılır. Düşük molekül ağırlıklı olanları oral sıvılarda ve yumuşak kapsüllerde çözücü olarak kullanılırken, katı yani

yüksek molekük ağırlığa sahip olanları merhem bazları, tablet bağlayıcıları, film kaplamaları ve yağlayıcılar olarak kullanılır. PEO, yakın kızılötesi bir florofor ile işaretlendiğinde, preklinik çalışmalarda tümörlerin geçirgenliği ve tutma etkisinden yararlanılarak vasküler, lenfatik ve genel tümör görüntüleme ajanı olarak kullanılmaktadır (Kariduraganavar, Kittur ve Kamble, 2014).

PEO, enjekte edilebilir ilaç taşıyıcı sistemler, ozmotik pompalarda kontrollü ilaç salımı, hidrofilik matrisler, mukoadhezyon, oral filmler, gastroretentif sistemler ve suistimal direnci teknolojileri gibi farmasötik uygulamalarda geniş çapta çalışılmakta ve kullanılmaktadır (Dhawan, Dhawan, Varma ve Sinha, 2005).

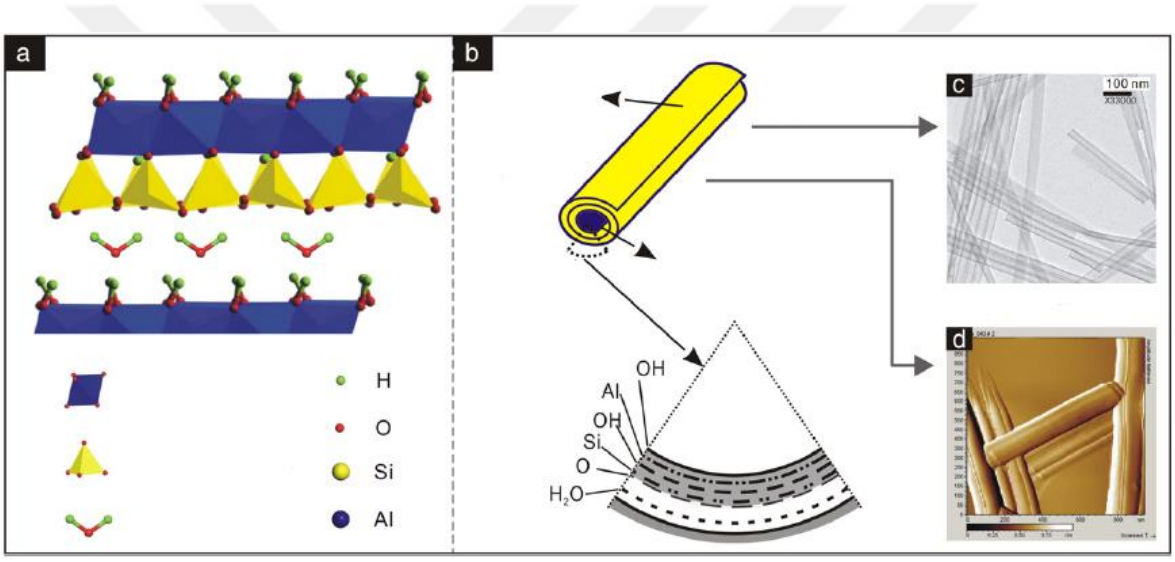
2.3. Halloysit Nanotüp (HNT)

Halloysit, farklı endüstriyel alanlarda potansiyel olarak önemli bir kullanımı olan doğal nanolaşmış bir tübüler kil mineralidir. Halloysit kili doğal tortul kayaçlardan çıkarılarak elde edilir. Bu malzeme genellikle beyaz renklidir, ancak bazen hafif kırmızımsı olabilir. Taş benzeri doğal halloysit kili kolayca toz haline getirilebilir. İşlenmemiş halloysit ve toz halloysitin görünümü, SEM ve TEM görüntüleri ve kristal yapısı Şekil 2.3'te gösterilmektedir (Liu, Jia, Jia ve Zhou, 2014).



Şekil 2.3. (a) işlenmemiş halloysit, (b) toz halloysit, (c) TEM görüntüsü ve (d) SEM görüntüsü, (e) HNT'lerin kristal yapısı (Liu ve diğerleri, 2014)

Küresel, tabakalı ya da tüp morfolojisinde olabilen halloysitin doğal oluşumu çoğunlukla tüp formdadır. Bu yapı, hava ve hidrotermal süreçlerin etkisi ile kaolin tabakalarının yuvarlanması sonucu oluşmaktadır. Kimyasal olarak kaolinite benzer, ancak halloysit içindeki birim katmanlar bir su molekülleri katmanıyla ayrılır. Yapısal formülü $Al_2 (OH)_4 Si_2 O_5 \cdot n H_2O$ şeklindedir. Yapısında su bulunduran halloysit formu (n = 2), çok katmanlı maddeler arasında bir su molekülü tabakasının bulunduğu "Halloysit - (10 Å)" olarak adlandırılır. Halloysitin susuz yapısı (n = 0) "Halloysit - (7 Å)" olarak adlandırılır ve hafif ısıtma ve / veya bir vakum ortamında ara tabaka su moleküllerinin kaybıyla elde edilebilir. Halloysit - (10 Å)'in şematik görüntüsü Şekil 2.4'te verilmiştir (Yuan, Tan ve Annabi-Bergaya, 2015).



Şekil 2.4. (a) Hal-(10 Å) kristal yapısı, (b) HNT yapısı, (c-d) HNT'nin TEM ve AFM görüntüsü (Yuan ve diğerleri, 2015)

Morfolojik olarak, HNT'ler, kaolinitten farklı olarak, yüksek en boy oranına sahip, içi boş bir boru biçimindeki bir yapıya sahiptir; kaolinit ise istiflenmiş bir plaka yapısına sahiptir. HNT'ler çok duvarlı inorganik nanotüplerdir. İdeal bir HNT kristali, 1: 1 stokiyometrik oranda oktahedral konumlanmış Al^{3+} ve tetrahedral konumlanmış Si^{4+} içeren, katmanlı bir yapıdan oluşur. HNT'lerin uzunluğu 0,2 - 2 µm arasında; tüplerin iç ve dış çapı sırasıyla 10 - 40 nm ve 40 - 70 nm arasındadır. Çoğu kilin aksine, aluminollerin çoğu HNT'lerin içinde bulunurken, HNT'lerin dış kısımları primer siloksanlar ve tabakaların kenarlarında açığa çıkan az sayıda silanol ve alüminollerdir. HNT'lerin iç ve dış yüzeyleri sırasıyla pozitif ve negatif olarak yüklenmiştir. HNT için genel yapısal özellikler Çizelge 2.4'te gösterilmektedir.

Çizelge 2.4. HNT'nin yapısal özellikleri

Kimyasal formül – $Al_2 (OH)_4 Si_2 O_5 \cdot n H_2O$	
Özellik	Aralık
Uzunluk	0,2 – 2 μm
Dış Çap	40-70 nm
İç Çap	10-40 nm
L/D oranı	10-50
Elastisite modülü	140 GPa
Sulu çözeltisindeki ortalama partikül boyutu	143 nm
Sulu çözeltisindeki partikül boyutu aralığı	50-400 nm
BET yüzey alanı	22,1 – 81,6 m^2/g
Gözenek boşluğu	14 – 46,8 %
Lumen boşluğu	11 - 39 %
Yoğunluk	2,14 – 2,59 g/cm^3
Ortalama gözenek boyutu	79,7 – 100,2 Å
Yapısal suyun bırakılma sıcaklığı	400 - 600 ^oC

HNT'lerin yüksek L/D oranlarını sağlayan boru şeklindeki mikro yapıları vardır. HNT'lerin yüksek L/D oranı, matristen nanotüplere yük transferini optimize ederek kompozitlerde polimerlerin güçlendirilmesine yardımcı olur. Yüksek en boy oranı, küçük boyut ve yüksek kuvvet, HNT'lerin yüksek performanslı polimer nanokompozitlerinde potansiyel kullanımlara sahip olduğunu göstermektedir. Diğer nanoparçacıklarla karşılaştırıldığında, HNT'ler ortalama bir BET yüzey alanı değerine (22,10 m^2/g - 81,59 m^2/g) sahiptir. Bununla birlikte, HNT'lerin % 10,7–39 lümen boşluğu vardır. Boş lümen yapılarından dolayı HNT'lerin yoğunluğu talk ve kalsit ($CaCO_3$) gibi diğer dolgu maddelerine göre nispeten daha düşüktür (2.14 - 2.59 g / cm^3), montmorillonit ve kaolinit ile karşılaştırılabilir. Nispeten düşük HNT yoğunluğu, hafif polimer kompozitler hazırlanırken uygun olmalarını sağlar.

Aluminollerin çoğu HNT'lerin içine yerleştirilirken, HNT'lerin dış yüzeyinde esasen levhaların kenarlarında açığa çıkan birkaç silanol / aluminol ile siloksan bulunur. Diğer nanokiller ve nanosilika ile karşılaştırıldığında, yüzeylerindeki nispeten düşük hidroksil gruplarının içeriği HNT'leri nispeten hidrofobik yapar. Bu nedenle, HNT'ler, tüpler ve polimer omurgası arasındaki kayma etkileşimleri nedeniyle apolar polimerlerde kolayca dağılabilir (Liu ve diğerleri, 2014).

Halloysit nanotüpler kolaylıkla temin edilebilir, karbon nano tüpler gibi diğer nano dolgu maddelerine göre daha ucuz ve aynı zamanda biyouyumludurlar. Polipropilen gibi çoğu polimer yapısında, halloysitle etkileşime geçebilecek bir polar grup taşımaz. Bu durum genellikle, polimer matrisinde halloysitlerin zayıf dağılması ve ayrıca dolgu yüzeyi ile

polimer matrisi arasında zayıf ara yüzey bağı ile sonuçlanır. Aynı zamanda, haloysitlerin polimer matrisine dahil edilmesinin avantajlarını da sınırlar. Ancak, çok amaçlı özellikleri nedeniyle doğal olarak oluşan tüp şeklindeki halloysit kili, araştırmacıların ilgisini çekmiştir ve termoplastik matrislerin HNT'lerle güçlendirilmesi, farklı araştırma kategorileri tarafından ilgi çekici bir konu olmuştur. HNT'ler polimerik nanokompozitlerde, polimerlerin mekanik mukavemetini, ısıl kararlılığını, kristal davranışını vb. geliştirmek için kullanılır. Polimer nanokompozitlerin nihai performansının belirlenmesinde, ara yüzey etkileşimleri ve dolgu maddelerinin polimer matriks içinde dağılım dereceleri kilit hususlardır. HNT'ler, montmorillonit gibi diğer katmanlı silikatlara kıyasla dış yüzeylerinde nispeten düşük hidroksil yoğunluğu taşımaktadırlar. Kesme kuvvetine duyarlı olan tüp yapılar arasındaki hidrojen bağları halloysitin agregasyon eğilimini artırmaktadır. Bu nedenle tek tüplü yapılardan oluşmuş halloysitlerin matriste dağılımı daha iyi olmaktadır. Ayrıca, hali hazırda hidrofilik olan halloysitlere yüzey modifikasyonu uygulandıktan sonra polimer matrisine eklendiğinde iyi bir ıslatma özelliği de kazandırmaktadır. Özetle, yüzey modifikasyonu uygulanmış ya da uygulanmamış halloysitin polimer matrisine eklenmesi, partiküllerin dağılım hızını, nanokompozitin fiziksel ve termomekanik özelliklerinin artırılmasında önemli bir rol oynar (Kubade ve Kshirsagar, 2015).

HNT’nin kullanım alanları

Tarihsel olarak haloysit, en yüksek kalitede sofra takımı üretmek için çin porseleni, ince porselen ve porselen ürünleri imalatında kullanılmıştır; ancak son yıllarda bilim adamlarının ve mühendislerin çok çeşitli yeni uygulamaları da mevcuttur (Joussein ve diğerleri, 2005). Nano yapıdaki Halloysitler, mükemmel mekanik özelliklere ve iyi biyouyumluluk özelliğine sahiptir. Bu özellikleri sayesinde,

- seramik hammaddeleri
- aktif bileşikler için nano-taşıyıcılar
- katalizörler
- kirlilik iyileştirme için adsorban
- polimer dolgu maddeleri gibi çeşitli uygulamalara sahiptir (Liu ve diğerleri, 2014).

Çevre dostu, biyouyumluluk ve doğal bolluk özellikleri HNT'leri biyomedikal uygulamalar geliştirmek için önemli bir nanomalzeme yapmaktadır. Son yıllarda HNT'lerin doku mühendisliği, ilaç taşıyıcı sistemler, kanser hücreleri izolasyonu, kemik implantı ve kozmetik gibi biyomedikal uygulamalarda kullanımı yaygınlaşmaya başlamıştır(Liu ve diğerleri, 2014).

HNT'lerin bir ilaç taşıyıcı sistemlerde potansiyel uygulamaları literatürde geniş bir şekilde incelenmektedir ve ilaç salım hızı, polimerlerin ilaç yüklü HNT'lerle kaplanmasıyla daha da yavaşlatılabilir. Bunun yanında HNT'lerin biyouyumlu olması sayesinde HNT-polimer nanokompozitler ilaç/DNA taşıyıcı sistemler için oldukça uygun katkı malzemeleridir (Kai ve diğerleri, 2015).

Doku mühendisliği iskeleleri, hücrelerin büyümesini şekillendirmek için kullanılan yapay veya doğal maddelerden yapılan yapılardır. Genel olarak, bu iskeleler gözenekli, hücre ve doku uyumlu, biyoaktif ve mekanik olarak güçlü olmalıdır. Doku mühendisliği iskelelerini hazırlamak için polivinil alkol (PVA), kitosan, polilaktik asit (PLA) ve polilaktik-glikolik asit (PLGA) gibi biyobozunur polimerlere HNT'ler eklenmektedir. HNT takviyeli PVA biyonano kompozit filmler osteoblast ve fibroblast hücreleri ile oldukça uyumludur(Liu ve diğerleri, 2014).

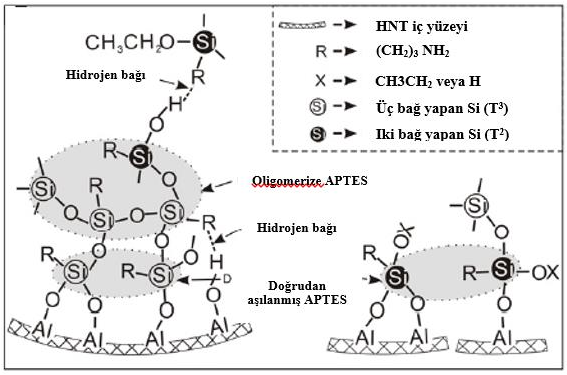
Kanser hücrelerinin hasta kanından ayrılmasını kolaylaştırmak, kanser için kişiselleştirilmiş tedavilerin gelişimi için önemlidir. HNT'ler, yüzeylerinde bir poli-l-lisin tabakası ile kaplanır ve daha sonra rekombinant insan selektin proteini ile fonksiyonelleştirilir. Bu yöntem, HNT'lerin akış altında lösemik hücrelere karşı yakalanma kabiliyetini artırabilir. Bu nedenle, kanser hücresi yakalanmasının arttırılmasına yönelik bu etkili ve pratik yol nihayetinde bireyselleştirilmiş kanser tedavisinin uygulanabilirliğini arttırmayı vaat etmektedir (Liu ve diğerleri, 2014).

2.3.1. HNT yüzey modifikasyonu

Yüzey modifikasyonu, fonksiyonel grupların, fiziksel modifikasyonlar (modifikasyon malzemesinin ana malzemeye Van der Waals kuvvetleri, hidrojen bağı ve elektrostatik etkileşim ile bağlanması) veya kimyasal modifikasyonlar (modifikasyon malzemesinin ana malzemeye kovalent bağ ile bağlanması) yoluyla elde edilebilecek bir ana malzemenin

yüzeyine bağlanması anlamına gelir. Ana malzemenin çözünürlük, dispersiyon, hidrofiliklik/hidrofobiklik gibi fiziksel ve reaktivite, biyotoksisite gibi kimyasal özellikleri, spesifik bir yüzey modifikasyonu için uygun hale getirilebilir ve sonuç olarak ana malzemenin performansını arttırabilir. Halloysitin modifikasyonu söz konusu olduğunda, birden fazla yüzey (dış yüzey, ara tabaka yüzeyi ve iç lümen yüzeyi) potansiyel olarak değiştirilebilir. Dış yüzey, siloksan (Si – O – Si) gruplarından ve HNT'nin kenarlarında ve yüzey kusurlarında açığa çıkan az sayıda aluminol (Al-OH) ve silanol (Si-OH) gruplarından oluşur (Yuan ve diğerleri, 2015).

Katmanlar arası yüzey ve iç lümen yüzeyi, aluminol (Al-OH) grupları dizisinden oluşur. HNT'nin dış ve iç yüzeyleri arasındaki kimyasal fark, iç yüzey için pozitif bir zeta potansiyeli ve dış yüzey için negatif bir zeta potansiyelinden kaynaklanır. Ayrıca, HNT oldukça hidrofiliktir. HNT dolgu maddesi, adsorban ya da taşıyıcı gibi alanlarda kullanıldığında ana malzeme için zayıf bir afinite (iyon değişimi, hidrojen bağı ve Van der Waals kuvvetleri) göstermiştir. Bu tip alanlarda HNT'nin performasını arttırmak için bölgeye özgü ya da bazen seçici yüzey modifikasyonu gerçekleştirilir (Yuan ve diğerleri, 2015).



Şekil 2.5. APTES ile HNT yüzey modifikasyonunun şematik gösterimi (Yuan ve diğerleri, 2015)

HNT'nin iç lümen yüzeyindeki Al-OH grupları, organosilanlar gibi birçok organik bileşiğe karşı yüksek kimyasal aktiviteye sahiptir. HNT'nin yüzey modifikasyonu, fonksiyonel grupların iç lümen yüzeyine kovalent bağlanması ile sağlanabilir.

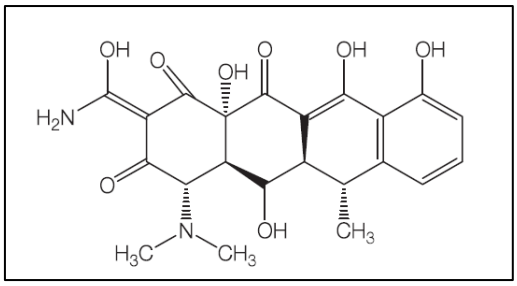
Şekil 2.5'te gösterildiği gibi, HNT'de APTES aşılama genel mekanizması şu şekilde tarif edilebilir: i) HNT'nin iç lümen yüzeyindeki Al-OH grupları ve kenarlardaki Al-OH ve Si-OH grupları ile hidroliz edilmiş APTES yüzeyindeki hidroksil grupları arasında

yoğunlaşma meydana gelir, bunun sonucunda HNT lümenlerinde APTES aşılanması gerçekleşir; ii)bazı hidroliz olmuş APTES'ler, kovalent ve/veya hidrojen bağlarıyla aşılanmış ve lümen içinde çapraz bağlı bir ağ oluşturan oligomerler oluşturmak için birbirleriyle yoğunlaşır (Yuan ve diğerleri, 2015).

2.4. Doksisiklin

Yarı sentetik bir oksitetrasiklin türevi olan doksisiklin (alfa-6-deoksitetrasiklin), gram pozitif ve gram negatif bakterilere karşı geniş spektrumlu bir antibiyotik ve bakteriyostatik ajandır; aynı zamanda antiprotozoal aktiviteye sahiptir. İlk defa 1967 yılında piyasaya sunulmuştur. Doksisiklin monohidrat, doksisiklin hidroklorür ve doksisiklin hiklat olmak üzere üç formu mevcuttur (Eisen, 2010).

Doksisiklin hiklatın moleküler formülü $(C_{22}H_{24}N_2O_8 \cdot HCl)_2 \cdot C_2H_6O \cdot H_2O$ şeklinde olup kimyasal yapısı Şekil 2.6'da gösterilmiştir. Moleküler ağırlığı 1025,89 g/mol'dür. Suda 50 mg/ml'ye kadar çözünebilmektedir. Sarı, sarı-yeşil renkte toz formdadır. 2-8^{o}C'de, ışıktan uzakta saklanması gerekmektedir. Metanolde iyi, etanolde az miktarda çözünebilmekte; kloroform ve eterde çözünmemektedir (Eisen, 2010).



Şekil 2.6. Doksisiklinin kimyasal yapısı (Eisen, 2010)

Doksisiklinler, aminoasil t-RNA'nın 30S ribozomal alt ünitesine bağlanmasını önleyerek protein sentezini inhibe edecek şekilde bakteriyostatik etki gösterirler. Gram pozitif / negatif enfeksiyonların standart tedavisine ek olarak, klamidya, rickettsia, mycoplasma ve bazı spirochete enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılır. Ayrıca antiprotozoal özellik de göstermektedir (Eisen, 2010).

Ayrıca birçok çalışma, Doksisiklin'in antiproliferatif, antianjiyogenik, anti-kollajenolitik, anti-enflamatuar, osteoklast inhibe edici ve fibroblast uyarıcı özellikleri gibi başka

biyolojik eylemler sergileyebileceğini de bildirmiştir. Doksisiklinin bu antiproliferatif aktivitesi, hücre dışı matrisin parçalanmasında ve remodelasyonunda rol oynayan matris-metaloproteinazların (MMP'ler) inhibisyonuna bağlanır. Burada, MMP'lerin inhibisyonundaki doksisiklin yeteneği, kanser hastalarının tedavisi ve tespiti için yeni bir potansiyel hedefleri temsil edebilir. Ek olarak, doksisiklinin melanom, akciğer, meme, kolon ve prostat kanserleri gibi farklı karsinoma hücrelerine karşı anti-kanseri, bu ilacın kanser terapilerinde potansiyel kullanımını artıran in vivo çalışmalar ile doğrulanmıştır (Ramírez-Agudelo ve diğerleri, 2018).

2.5. Nanolif Üretim Yöntemleri

Nanolif kompozitler çekme yöntemi, eriyik püskürtme yöntemi, şablon sentez yöntemi, faz ayrımı yöntemi, kendiliğinden birleşme yöntemi, fibrilasyon yöntemi, bikomponent yöntemi ve elektro eğirme yöntemi ile üretilebilmektedir.

2.5.1. Elektro eğirme yöntemi

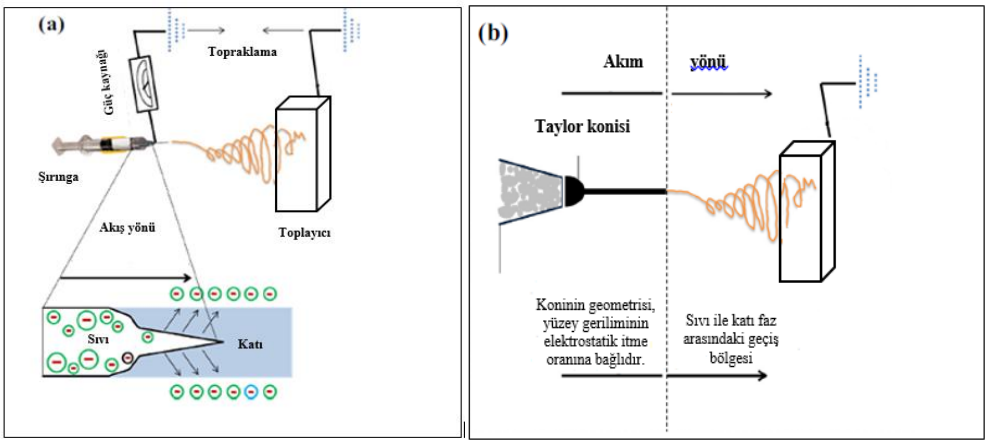
Nanolif malzeme üretim yöntemleri arasında, elektro eğirme yöntemi, nanoliflerin oryantasyonunu kolayca kontrol edilebilmek açısından çok seviyeli yapılandırılmış ultra ince liflerin üretimi için daha basit ve kullanışlıdır. Elektro eğirme, fiziksel ve elektriksel mekanizmalara dayanan elektro-püskürtme yönteminin doğrudan bir uzantısıdır. İlk olarak 1882'de Lord Rayleigh tarafından yüksek oranda elektrik yüklü damlacıkların dengesiz olduğu ve yüklü damlacıklar uygulanan potansiyel gradyanda bir şırıngadan geçirildiğinde kolayca küçük damlacıklara parçalandığı bildirilmiştir. 1934 yılında A. Formhals, elektrospinning tekniği üzerine ilk patenti almıştır ve daha sonra, elektroeğirme üzerine daha fazla yayın ve patent birkaç araştırmacı tarafından bildirilmiştir (Moheman, Sarwar ve Mohammad, 2016).

Elektro eğirme, özellikle nanoteknolojiye olan ilginin artması ve eşsiz malzeme özelliklerine sahip ürünler üretilebilmesi nedeniyle biyomedikal uygulamalar için ilgi çekici olmaya başlamıştır. Elektro eğirme, çapı 3-5000 nm arasında değişen nano ölçekli polimer lifler oluşturmak için ucuz ve basit bir yöntemdir. Nanolifler, biyolojik ortamı taklit etmeye uygundur; çünkü biyolojik moleküller ile aynı ölçektedirler. Aslında, parçacıklar, lifli morfolojiler veya diğer kompleks formlar gibi nanomalzemeler (seçici

endositoz, yapışma ve oryantasyon gibi), hücrelerle gelişmiş etkileşimler göstermiştir. Ek olarak, bu yapıların geniş yüzey alanı / hacim oranı farklı gözenek ebatlarına ve yüksek gözenek hacimlerine sahip nanolifli matların üretimine olanak sağlar (Kai ve diğerleri, 2015).

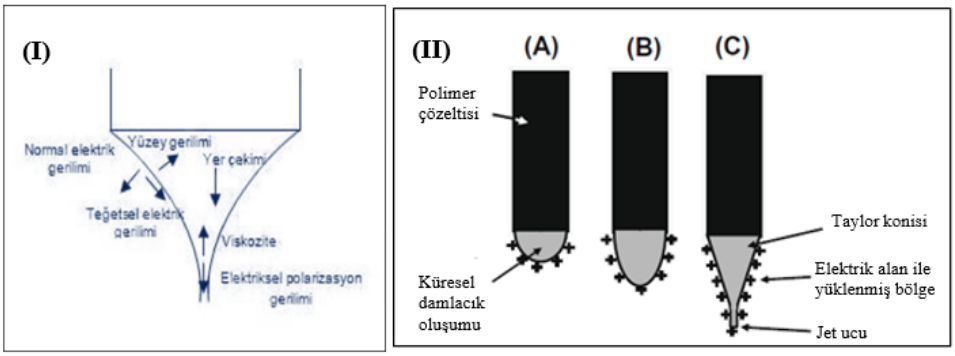
Elektro eğirme teorisi ve çalışma prensibi

Elektro eğirme sistemi esas olarak dört ana bölümden oluşur: şırınga, metalik iğne, güç kaynağı ve metalik toplayıcı (değişken morfolojili). Bu yöntemde, öncelikle polimer ya da polimer karışımları uygun bir çözücüde çözülüp oda sıcaklığında karıştırılarak homojen bir çözelti hazırlanır ve şırıngaya enjekte edilir. Ardından hazırlanan çözelti, pompa yardımıyla şırıngadan iğne ucuna sabit hızla gönderilir. Sonrasında, iğne ucuna yüksek voltaj verilir ve toplayıcı topraklamaya bağlanır, böylece iğne ile toplayıcı arasında elektrik alan oluşur. Uygulanan voltaj kritik bir değere ulaşana kadar, iğne ucundaki çözelti yüzey geriliminin uyguladığı kuvvetler sayesinde küresel bir damlacık halini alır. Uygulanan voltaj kritik değere ulaştığında ise elektostatik kuvvetlerin yüzey gerilim kuvvetlerine eşitlenmesiyle iğne ucundaki küresel damlacık Şekil 2.11'de gösterilmiş olan Taylor konisi denilen konik yapıdaki bir polimer damlacığına dönüşür. Elektriklenen bu polimer damlacığı jet olarak toplayıcıya doğru yol aldıkça yapıdaki çözücü uçarak uzaklaşır ve lif halinde toplayıcı üzerine dağılır. Genel olarak bir elektro eğirme yöntemi ve sisteminin şematik gösterim Şekil 2.7'de verilmiştir (Baji, Mai, Wong, Abtahi ve Chen, 2010).



Şekil 2.7. Elektro eğirme sistemi ve elektro eğirme yönteminin şematik gösterimi (Haider, Haider ve Kang, 2015)

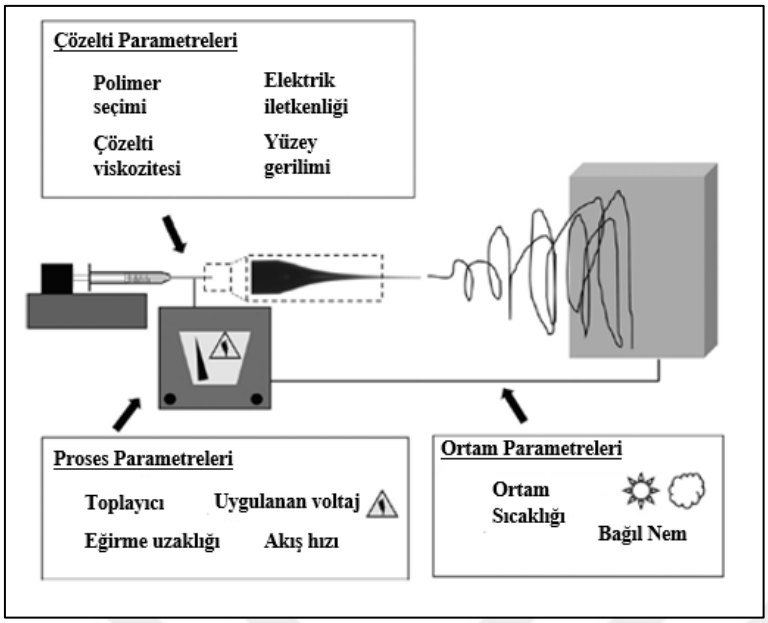
Elektro eğirme işlemi, elektrik yükü metalik iğne aracılığıyla polimer çözeltisine doğru hareket ettiğinde başlar. Bu durum, polimer damlacığı üzerindeki yüklerin tetiklenmesi sonucu polimer çözeltisi içinde kararsızlığa neden olur. Aynı zamanda, yüklerin karşılıklı olarak itilmesi, yüzey gerilimine karşı çıkan bir kuvvete neden olur ve polimer çözeltisi elektrik alanı yönünde akar. Elektrik alanındaki ekstra artış, küresel damlacıkların deforme olmasına ve konik bir şekil almasına neden olur. Bu aşamada, Taylor konisinin oluşturduğu ultra ince nanolifler, optimize edilmiş bir mesafede tutulan metalik toplayıcı üzerinde toplanır. Stabil bir elektrik yüklü jet, ancak polimer çözeltisi yeterli yapışma kuvvetine (kohezif kuvvet) sahip olduğunda oluşturulabilir. İşlem sırasında, iç ve dış yük kuvvetleri, sıvı jetinin toplayıcı yönünde çırpılarak itilmesine neden olur (Bkz. Şekil 2.8). Bu çırpma hareketi, çözelti içindeki polimer zincirlerinin gerilmelerine ve birbirleri üzerinden kaymalarını sağlar, bu da nanolif olarak adlandırılabilecek kadar küçük çaplarda liflerin oluşturulmasına neden olur (Haider ve diğerleri, 2015).



Şekil 2.8. (I) Taylor konisinin yapısı. (II-A) polimer çözeltisinin yüzeyinde uygulanan elektrik alan ile oluşan yükler, (II-B) küresel damlacığın esnemesi, (II-C) yüklerin birbirini geri tepmesiyle küresel damlacığın tamamen esneyerek deformasyonu sayesinde Taylor konisi oluşumu (Baji ve diğerleri, 2010)

2.5.2. Elektro eğirme yöntemini etkileyen parametreler

Elektro eğirme işlemini etkileyen birkaç faktör bulunmaktadır. Bu faktörler elektro eğirme parametreleri, çözelti parametreleri ve çevresel parametreler olarak sınıflandırılmaktadır. Elektro eğirme parametreleri, uygulanan elektrik alanını, iğne ile toplayıcı arasındaki mesafeyi, akış hızını ve iğne çapını içerir. Çözelti parametreleri arasında çözücü, polimer çözeltisinin konsantrasyonu, viskozite ve çözelti iletkenliği bulunur. Çevresel parametreler ise bağıl nem ve ortam sıcaklığı olarak ifade edilmektedir (Bkz. Şekil 2.9).

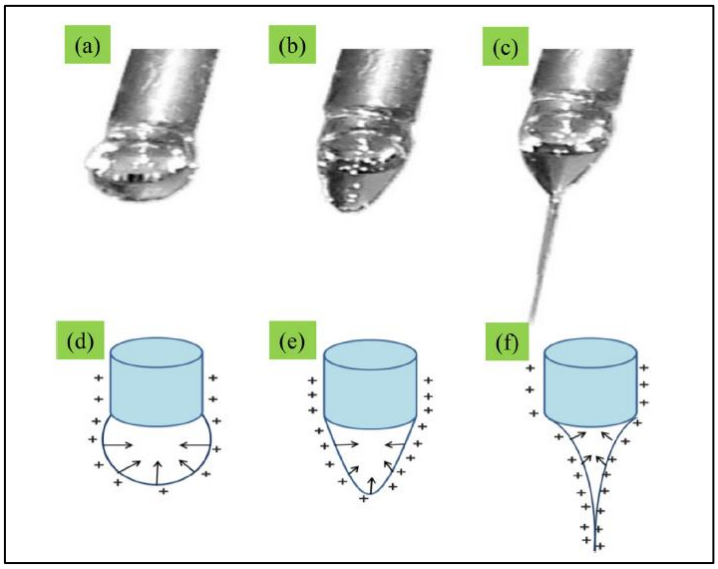


Şekil 2.9. Elektro eğirilmiş liflerin özelliklerini etkileyen proses, çözelti ve ortam parametreleri (Repanas ve diğerleri, 2016)

Elektro eğirme parametreleri

Uygulanan voltaj

Yüksek voltajlı bir güç kaynağından akımın metalik bir iğne vasıtasıyla bir çözeltiye akışı küresel bir damlacığın Taylor konisine dönüşmesine ve kritik bir voltaj değerinde ultra ince nano lifler oluşturmasına neden olmaktadır. Uygulanan voltajın bu kritik değeri polimerden polimere değişmektedir. Uygulanan voltajın artışı ile daha küçük çaplı nanoliflerin oluşumu, polimer jetinin içindeki yük itişiyle bağlantılı olarak polimer çözeltisinin gerilmesine bağlıdır. Uygulanan voltajda kritik değerin ötesinde bir artış, boncuklu nanolif oluşumu ile sonuçlanacaktır. Uygulanan voltajda bir artış ile boncuklu nanoliflerin çapındaki ve boncuk oluşumundaki artışlar, Taylor konisinin boyutundaki düşüşe ve aynı akış hızı için jet hızındaki artıştan kaynaklanmaktadır (Haider ve diğerleri, 2015).



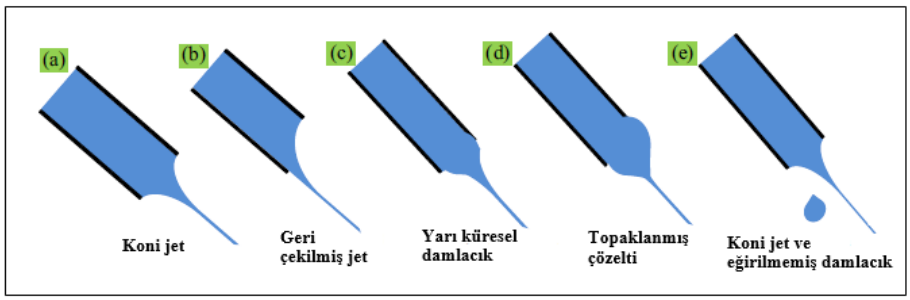
Şekil 2.10. (a-c) Artan elektrik alanın etkisi altında polivinilpirolidon damlacığının üç aşamalı deformasyonunu gösteren dijital görüntüler, (d-f) yüklerin polimerik damlacıklar üzerindeki etkisinin mekanizması (Haider ve diğerleri, 2015)

Şekil 2.10'da uygulanan voltajın iğne ucunda oluşan taylor konisine etkisi görselleştirilmiştir. Yüksek gerilimin, yüzey gerilimi tarafından tutulan polimer çözeltisine uygulanması sıvının yüzeyinde bir yük oluşturur. Karşılıklı yüklerin birbirini itmesi ve yüzey yüklerinin karşı elektrotta büzülmesi, yüzey geriliminin karşıtı bir kuvvete neden olur. Elektrik alanın yoğunluğu arttıkça, iğne ucunun ucunda oluşan yarım küre damlası konik şekle dönüşür.

Çözelti besleme hızı

Polimer çözeltisinin metalik iğne ucundan akışı, elektro eğirilmiş nanoliflerin morfolojisini belirler. Düzgün elektro eğirilmiş boncuksuz bir nanolif, kritik bir akış hızı ile hazırlanabilir. Bu kritik değer polimer sistemine göre değişiklik gösterir. Akış hızını kritik değerin üzerine çıkarmak, boncuk oluşumuna neden olabilir. Akış hızındaki artış ve azalmalar, nanolif oluşumunu ve çapını etkilemektedir. Jet oluşumu sırasında iğne ucundan ayrılan polimer çözeltisinin oluşturduğu lifin kopmadan toplanmasını sağlayabilmek için minimum bir akış hızı tercih edilir. Bu, aynı zamanda, sabit bir jet konisinin ve bazen de geri çekilmiş bir jetin (iğnenin içinden doğrudan görünen bir damlacık veya koni olmadan doğrudan çıkan bir jet) oluşumuna izin vermektedir. Geri çekilmiş jetler sabit jetler değildir ve elektro eğirme işlemi sırasında, bu jetler sürekli olarak koni jetleri ile değiştirilmektedir. Bu olayın bir sonucu olarak, geniş çap aralığında nanolifler

oluşabilmektedir. Boncuk oluşumuna ek olarak, bazı durumlarda, yüksek bir akış hızında, şerit benzeri kusurlar ve bükülmemiş damlacıklar da literatürde bildirilmiştir. Artan bir akış oranına sahip boncuk ve şerit benzeri yapıların oluşumu esasen çözücünün buharlaşmamasına ve çözeltinin iğne ile metalik toplayıcı arasındaki hareketi boyunca gerginliğinin düşük olmasına bağlıdır. Aynı etki, akış hızındaki artış ile nanoliflerin çapının artmasına da bağlanabilir. Eğirilmemiş damlacıkların varlığı, yer çekimi kuvveti etkisine bağlanır. Nanolif yapısında kusurlara neden olabilecek bir diğer önemli faktör ise yüzeydeki yüklerin yoğunluğudur. Yüzeydeki yüklerin yoğunluğundaki herhangi bir değişiklik, nanolifin morfolojisini de etkileyebilir. Akış hızının artmasıyla oluşabilecek farklı jet tipleri Şekil 2.11'de gösterilmiştir (Haider ve diğerleri, 2015).



Şekil 2.11. Akış hızının artmasıyla oluşan farklı jetler (Haider ve diğerleri, 2015)

Toplayıcı ile iğne ucu arasındaki mesafe

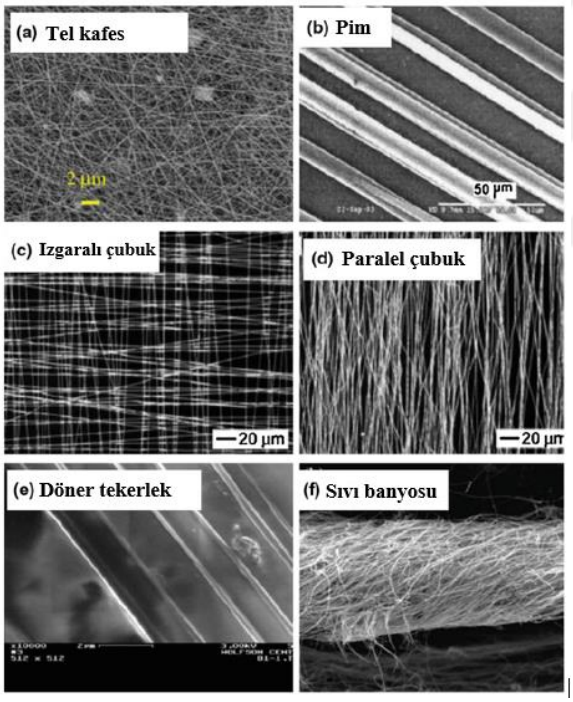
Metalik iğne ucu ile toplayıcı arasındaki mesafe, elektro eğirilmiş bir nanolifin morfolojisinin belirlenmesinde önemli bir rol oynar. Uygulanan elektrik alan, viskozite ve akış hızı gibi, metalik iğne ucu ile toplayıcı arasındaki mesafe de polimer sistemine göre değişiklik göstermektedir. Birikme süresi, buharlaşma hızı ve çırpma veya kararsızlık aralığına bağlı olması nedeniyle, oluşan nanolifin morfolojisi uzaklıktan kolayca etkilenebilmektedir. Bu nedenle, düzgün ve üniform nanolifler elde edebilmek için kritik bir mesafe oluşturulması gerekir ve bu mesafenin her iki tarafındaki herhangi bir değişiklik nanolifin morfolojisini etkileyecektir (Haider ve diğerleri, 2015).

Birçok araştırmada, iğne ucu ile toplayıcı arasındaki mesafenin etkisi incelenmiş ve bu mesafe az tutulduğunda kusurlu ve büyük çaplı nanoliflerin oluştuğu sonucuna varılmış, nanolifin çapı ise mesafe arttıkça azalmıştır (Matabola ve Moutloali, 2013). Ancak, iğne ve

toplayıcı arasındaki mesafenin değiştirilmesiyle nanolif morfolojisinin etkilenmediği durumlar da mevcuttur (Athira, Sanpui ve Chatterjee, 2014).

Toplayıcı

Elektro eğirme işlemi sırasında, toplayıcılar genellikle elektrik yüklenmiş lifleri toplamak için iletken katman olarak davranırlar. Genel olarak, toplayıcı olarak aluminyum folyo kullanılır; ancak toplanan nanolifleri çeşitli uygulamalar için başka yüzeylere aktarmak zordur. Oluşan lifleri aktarma ihtiyacı ile tel kafes, pim, ızgaralar, paralel veya ızgaralı çubuk, döner çubuklar veya tekerlek, sıvı banyosu gibi çeşitli toplayıcılar geliştirilmiştir (Li ve Wang, 2013). Farklı toplayıcılar kullanılarak üretilmiş nanoliflere ait SEM görüntüleri Şekil 2.12'te verilmiştir.



Şekil 2.12. Farklı toplayıcılar kullanılarak üretilmiş nanoliflere ait SEM görüntüleri (Li ve Wang, 2013)

Çözelti parametreleri

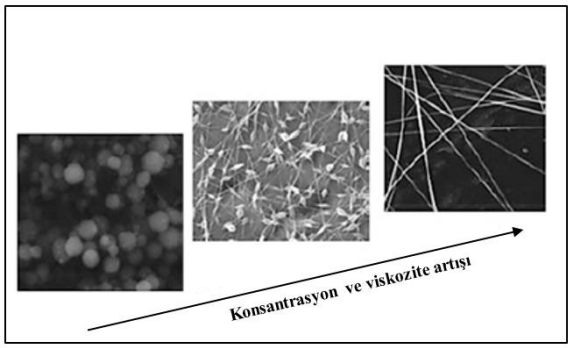
Çözelti konsantrasyonu

Elektro eğirme işlemi, elektrik yüklü bir jetin tek eksenli olarak gerilmesi olayına dayanır. Elektrik yüklenen jetin gerilmesi, polimer çözeltisinin konsantrasyon değişiminden önemli

ölçüde etkilenir. Örneğin, polimer çözeltisinin konsantrasyonu düşük olduğunda, uygulanan elektrik alan ve yüzey gerilimi, dolaşmış polimer zincirlerinin toplayıcıya ulaşmadan önce parçalara ayrılmasına neden olur. Bu parçalar ise boncuk veya boncuklu nanoliflerin oluşumuna neden olur. Bunun yanısıra, konsantrasyonun kritik bir değerin ötesinde arttırılması, çözeltinin metalik iğne ucunda kuruyarak geçmesini engeller. Böylece kusurlu veya boncuklu nanolifler elde edilmiş olur (Haider ve diğerleri, 2015). Elektro eğirme sırasında oluşan liflerin düşük konsantrasyondan yüksek konsantrasyona doğru değişimi Şekil 2.13'te gösterilmiştir.

Özetlemek gerekirse, düşükten yükseğe olmak üzere aşağıdaki dört kritik duruma dikkat edilmelidir (Li ve Wang, 2013):

- ✓ Konsantrasyon çok düşük olduğunda, polimerik mikro (nano) partiküller elde edilir. Bu durumda, çözeltinin düşük viskozitesi ve yüksek yüzey gerilimi nedeniyle, elektro eğirme yerine elektro sprey şeklinde oluşum gözlenir.
- ✓ Konsantrasyon biraz daha yüksek olduğunda, boncuklu lif oluşumu gözlenecektir.
- ✓ Konsantrasyon uygun olduğunda pürüzsüz nanolifler elde edilebilir.
- ✓ Konsantrasyon çok yüksekse, nano-ölçekli lifler yerine helis şeklindeki mikro-şeritler gözlenir.



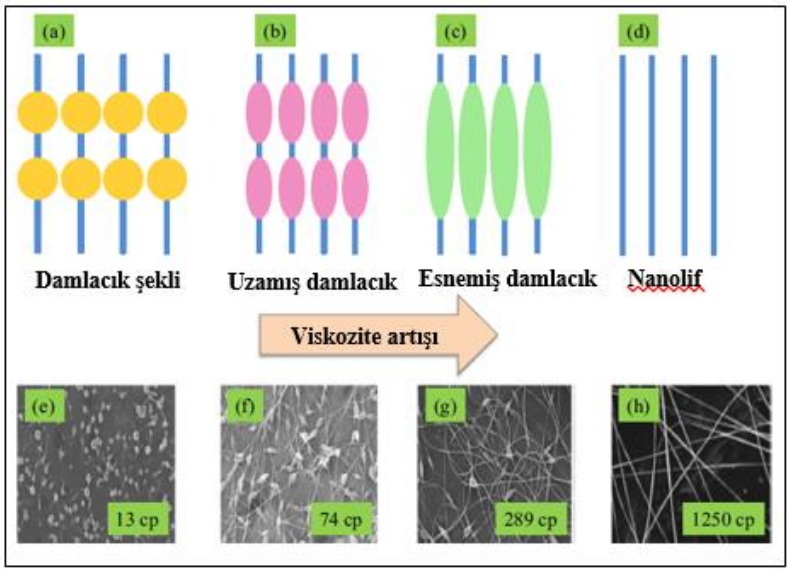
Şekil 2.13. Elektro eğirme sırasında oluşan liflerin düşük konsantrasyondan yüksek konsantrasyona doğru değişimini gösteren SEM görüntüleri (Li ve Wang, 2013).

Viskozite

Çözelti viskozitesi, lif morfolojisinin belirlenmesinde kritik rol oynamaktadır. Çözelti viskozitesi, polimer konsantrasyonu değiştirilerek ayarlanabilmektedir. Polimer çözeltisinin konsantrasyonunun arttırılması, viskozitede bir artışa yol açacaktır, bu daha sonra polimer zincirleri arasındaki zincir dolaşımını arttırır. Bu zincir karmaşası, yüzey

geriliminin üstesinden gelerek, sonuçta tek tip boncuksuz nanoliflerin eldesi ile sonuçlanır. Düşük viskoziteli bir çözelti için, yüzey gerilimi baskın faktördür ve sadece boncuklar veya boncuklu fiberler oluşur. Çözelti uygun viskoziteye sahipse, sürekli lifler elde edilebilir. Sürekli ve pürüzsüz lifler çok düşük viskozitede elde edilememektedir, bunun yanı sıra çok yüksek viskozite de jetleri çözeltiden sert bir şekilde çıkarmakla sonuçlanmaktadır, yani elektro eğirme için optimum viskozitenin sağlanması gerekmektedir(Kanani ve Bahrami, 2011; Yang ve diğerleri, 2004).

Oluşan boncukların morfolojileri, çözelti viskozitesi değiştikçe yuvarlak damlacık benzeri bir şekilden (düşük viskoziteli çözeltilerle) gerilmiş bir damlacık ya da elips şeklinde yumuşak liflere (yeterli viskoziteli) dönüşen ilginç bir şekil değişikliği göstermektedir. Elektro eğirme ile elde edilmiş PEO nanoliflerinin viskozitesi ile morfolojisinde oluşan değişiklikler Şekil 2.14'da gösterilmiştir (Haider ve diğerleri, 2015).



Şekil 2.14. Elektro eğirme ile elde edilmiş PEO nanoliflerinin viskozitesi ile morfolojisinde oluşan değişiklikler: (a-d) şematik ve (e-h) SEM görüntüleri (Haider ve diğerleri, 2015)

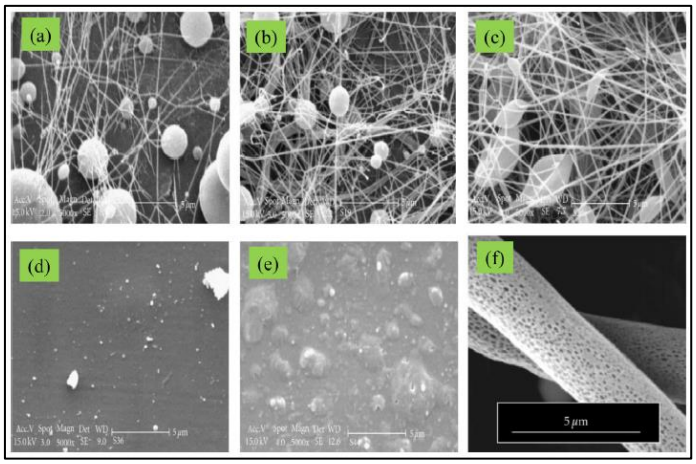
Çözücü seçimi

Çözücünün seçimi, pürüzsüz ve boncuksuz elektro eğirilmiş nanoliflerin oluşumu için kilit faktörlerden biridir. Genellikle çözücü seçimiyle ilgili iki önemli faktör dikkate alınmalıdır. İlk olarak, elektro eğirme işlemi için tercih edilen çözücü/çözücüler polimeri tamamen çözmelidir. İkinci olarak ise, çözücü ortalama bir kaynama noktasına sahip

olmalıdır. Uçucu çözücülerin, yüksek buharlaşma hızları sayesinde iğnenin ucundan toplayıcıya toplanmaları sırasında kolayca buharlaşabilmesi beklenir. Ancak, uçuculuğu çok yüksek olan çözücüler tercih edilmemelidir. Çünkü düşük kaynama noktaları ve yüksek buharlaşma hızları, çözeltinin henüz iğne ucundayken kurumasına neden olmaktadır. Bu kuruma iğne ucunu tıkayarak elektro eğirme işlemini engellemektedir. Benzer şekilde, daha az uçucu çözücülerden de kaçınılmaktadır; çünkü yüksek kaynama noktaları, çözeltinin nanoliflerin toplayıcı üzerinde toplanması sırasında kurumasını önler. Yüksek kaynama noktasına sahip bir çözücü kullanıldığında, çözücü içeren nanoliflerin toplayıcı üzerine birikmesi boncuklu nanoliflerin oluşumuna neden olmaktadır (Haider ve diğerleri, 2015).

Birçok araştırmada çözücü sistemlerinin nanolif morfolojisi üzerindeki etkisi incelenmiş ve uygulanan gerilime benzer şekilde farklı çözücülerin kullanımının da polimer sistemini etkilediği sonucuna varılmıştır. Polimer, iki çözücüde çözündüğünde, her iki çözücünün farklı buharlaşma oranlarına sahip olması faz ayrımına yol açacak, bunun sonucunda üretilen nanolifler yüksek gözenekli yapıya sahip olacaktır (Fong, Chun ve Reneker, 1999; Kanani ve Bahrami, 2011).

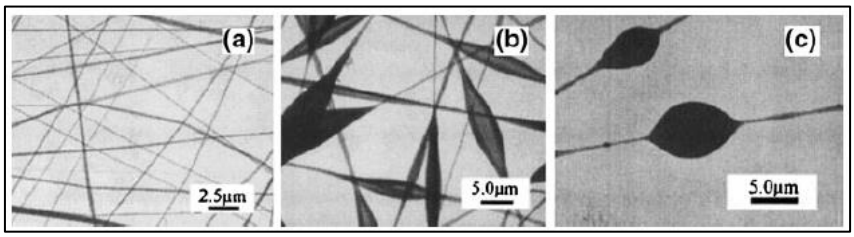
Çözücünün uçuculuğuna ek olarak, iletkenliği ve dipol momenti de oldukça önemlidir. İletkenlik ve dipol momentinin etkilerini araştırmak için Jarusuwannapoom ve ark., 18 adet farklı çözücüyü test ederek, içlerinden yalnızca 5 çözücünün (etil asetat, DMF, THF, metil etil keton ve 1,2-dikloroetan) polistiren çözeltisinin elektro eğirilmesi için uygulanabilir olduğunu ortaya koymuşlardır. Bu beş çözücünün diğerlerine kıyasla daha iyi iletkenlik ve dipol moment değerlerine sahip olduklarını belirtmişlerdir. Farklı çözücülerle hazırlanan nanoliflere ait SEM görüntüleri Şekil 2.15'de verilmiştir (Jarusuwannapoom ve diğerleri, 2005).



Şekil 2.15. Farklı çözücülerle hazırlanan %5'lik PCL çözeltilerinin SEM görüntüleri: (a) glasiyal asetik asit, (b) %90 asetik asit, (c) metilen klorür/DMF = 4/1, (d) glasiyal formik asit, (e) formik asit/aseton = 4/1, (f) THF/DMSO = 9/1(v/v)'de çözülen %10'luk polivinil bütiral (PVB) nanoliflerinin SEM görüntüsü (Kanani ve Bahrami, 2011; Lubasova ve Martinova, 2011)

Yüzey gerilimi

Çözeltinin solvent bileşimlerinin fonksiyonu olarak yüzey gerilimi, elektro eğirme yönteminde oldukça önemli bir faktördür. 2004 yılında Yang ve Wang, yüzey geriliminin, etanol, dimetilformamid (DMF) ve diklorometan (DCM) çözücüleri ile elektro eğirilmiş polivinil pirolidon (PVP) liflerinin morfolojileri üzerindeki etkisini sistematik olarak araştırarak, farklı çözücülerin farklı yüzey gerilimlerine katkıda bulunabileceği sonucuna ulaştılar. Konsantrasyon sabit tutularak çözeltinin yüzey gerilimi azaldığında boncuklu liflerin pürüzsüz liflere dönüştürülebildiğini gözlemlediler (Bkz. Şekil 2.16). Aynı zamanda, çözücü karışım oranları değiştirilerek çözelti viskozitesi ve yüzey gerilimi kontrol edilebildiğinden, lif morfolojilerinin düzenlenebildiğini gösterdiler. Bu bağlamda, temel olarak yüzey gerilimi, diğer tüm koşullar sabit tutulduğunda elektro eğirme prosesinin alt ve üst sınırlarını belirlemektedir (Yang ve diğerleri, 2004).



Şekil 2.16. Farklı çözücülerle hazırlanan %4'lük polivinil pirolidon (PVP) nanoliflerinin TEM görüntüleri: (a) etanol, (b) diklorometan (DCM), (c) dimetil formamid (DMF) (Yang ve diğerleri, 2004)

Ortam parametreleri

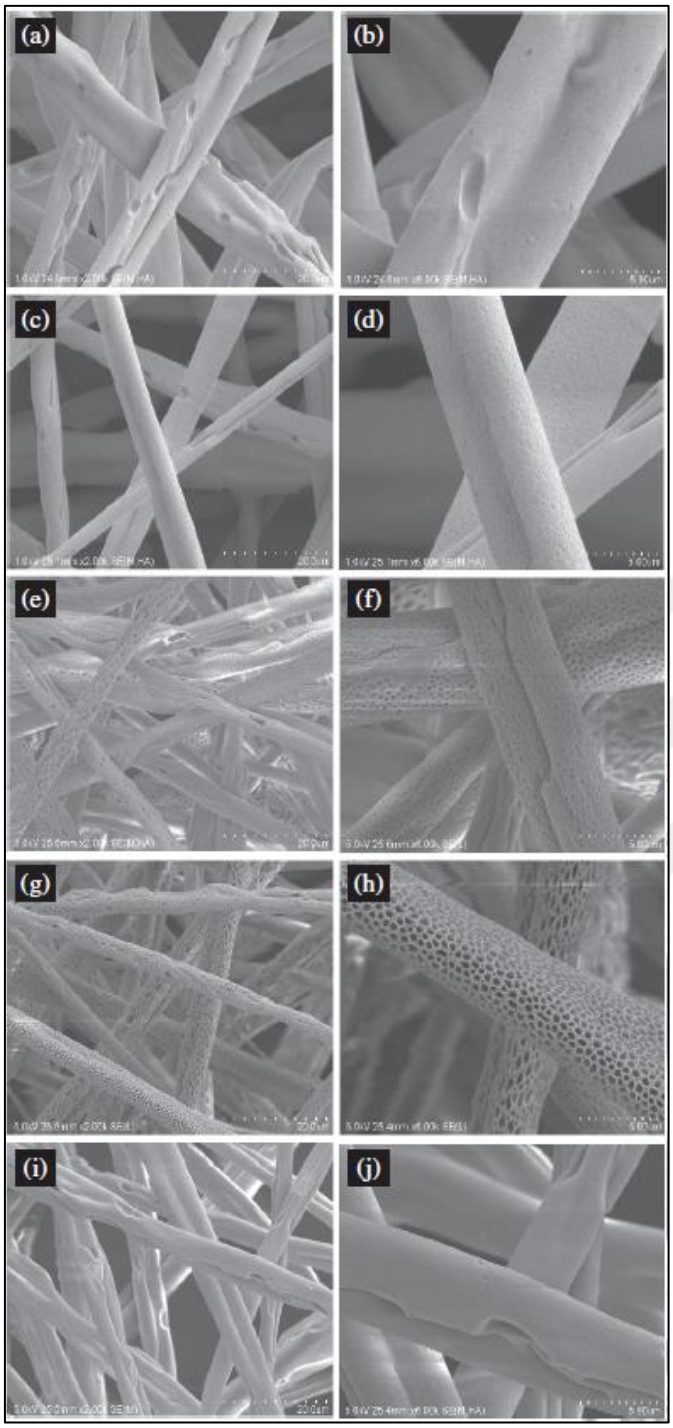
Nem ve sıcaklık

Elektro eğirme ve çözelti parametrelerinin yanı sıra bağıl nem ve sıcaklık gibi çevresel faktörler de nanoliflerin çapını ve morfolojisini etkilemektedir. Nem, yüklü jetin katılaşma işlemini kontrol ederek nanoliflerin çapında değişikliklere neden olmaktadır. Bu olay, kullanılan polimerin kimyasal yapısına da bağlıdır.

Pelipenko ve arkadaşları, PVA, PEO ve bunların karışım çözeltileri olan PVA / hiyalüronik asit (HA) ve PEO / kitosan (CS) kullanarak nemdeki değişiklik ile nanolif çapındaki değişimi incelemişlerdir. Nanoliflerin çapının, nemdeki %4'ten %60'a artışla, PVA liflerinin çapının 667 nm'den 161 nm'ye, PEO liflerinin çapının 252 nm'den 75 nm'ye düştüğünü gözlemlediler. Karışım için ise düşüşün daha fazla olduğunu, yani nem %4'ten %50'ye çıkarken, PVA / HA nanoliflerinin çapının 231 nm'den 46 nm'ye ve PEO / CS nanoliflerinin çapının 231 nm'den 46 nm'ye düştüğünü gözlemlediler. Nemin artması, tek polimerli çözeltiler için boncuklu lifler oluşumuna, karışımlar için ise elektro eğirme işleminin gerçekleştirilememesine sebep olmuştur (Pelipenko, Kristl, Jankovic, Baumgartner ve Kocbec, 2013).

Park ve Lee (2010), nem oranındaki artış ile PEO nanoliflerinin çapında benzer bir düşüş olduğunu raporlamışlardır. Nem, ikili çözücü sistemi kullanıldığında gözenekli nanoliflerin oluşturulmasında da önemli bir rol oynamaktadır (Bkz. Şekil 2.17) (Park ve Lee, 2010).

Sıcaklık, nanoliflerin ortalama çapını değiştirmek için iki karşıt etkinin oluşmasına neden olur: (i) çözücünün buharlaşma hızını arttırır ve (ii) çözeltinin viskozitesini azaltır. Çözücünün buharlaşmasındaki artış ve çözeltinin viskozitesindeki azalma bileşik bir mekanizma ile çalışır, ancak her ikisi de ortalama lif çapında düşüşe yol açar (Haider ve diğerleri, 2015).

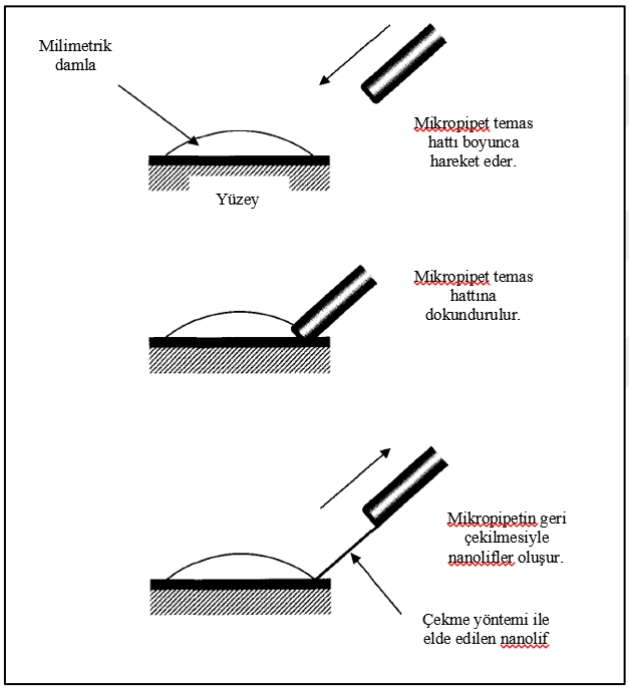


Şekil 2.17. Farklı bağıl nemlerde sentezlenmiş polistiren nanoliflerine ait SEM görüntüleri (%15 konsantrasyon, MC/EtOH = 90/10 (v/v), T = 19 ±1 ^{o}C): (a,b) %30 nemlilik, (c,d) %40 nemlilik, (e,f) %50 nemlilik, (g,h) %60 nemlilik, (i,j) %70 nemlilik (Park ve Lee, 2010)

2.5.3. Diğer nanolif üretim yöntemleri

Çekme yöntemi

Bu yöntemde polimer, uygun bir çözücü ile çözülerek bir yüzey üzerinde çözeltiden damla oluşturulur. Daha sonra birkaç µm yarıçapındaki bir mikropipet mikro manipülatör yardımıyla polimer damlacığına daldırılır ve yaklaşık 10-4 m/s hızla çekilir. Bu sayede fiberler yüzeyde toplanır. Çekme yöntemi ile lif üretimi Şekil 2.18'de gösterilmiştir (Ramakrishna, Fujihara, Teo, Lim ve Ma, 2005).

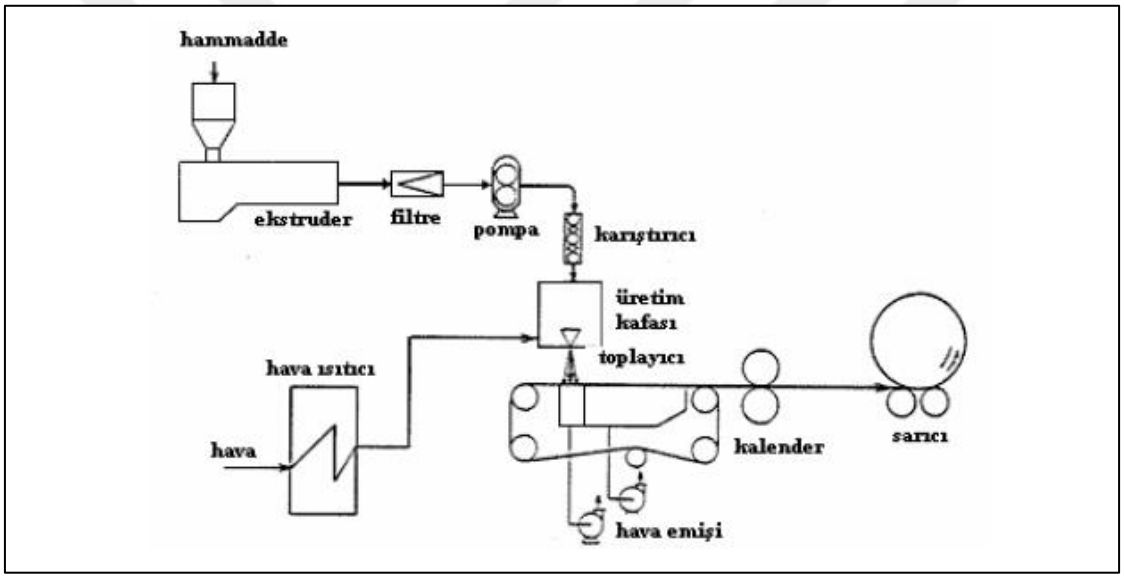


Şekil 2.18. Çekme yöntemi ile nanolif eldesi (Ramakrishna ve diğerleri, 2005)

Mikropipet sıvıdan çekilirken yaklaşık 1 x 10^{-4} ms^{-1} hızında hareket ettirilir. Mikropipetin çekilmesi sonucu bir lif elde edilmiş olur. Çekilen lif, mikropipetin ucu ile dokunarak yüzeyde biriktirilir. Nano liflerin çekilmesi, her damlacıkta birkaç kez tekrar edilir. Bu işlem sırasında, malzemenin damlacık kenarındaki viskozitesi buharlaşma ile artar. Bir lifin çekme işlemi, çekme sırasında oluşan gerilmeleri destekleyecek kadar kohezif olurken, güçlü deformasyonlara maruz kalabilen bir viskoelastik malzeme gerektirir. Çekme işlemi moleküler seviyede bir kuru eğirme olarak kabul edilebilir (Ramakrishna ve diğerleri, 2005).

Eriyik püskürtme yöntemi

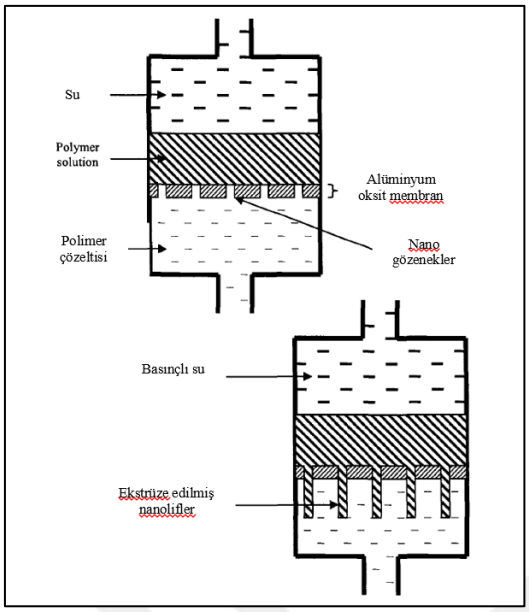
Bu yöntemde öncelikle polimer eritilmekte, filtrasyon adımlarından geçmekte ve sonra bir pompa ile lif, çekim başlığına gelmektedir. Nozzle başlığından fışkırtılan erimiş polimer direkt olarak nozzle ağzında yüksek sıcaklıktaki havaya maruz bırakılarak lif-hava karışımı oluşturulur. Yüksek sıcaklıkta lifleri çekmek için hava sıcaklığı, liflerin erime sıcaklığına göre ayarlanmalıdır. Daha sonra soğuk hava uygulanır. Soğuk havayla temas eden polimer katılaşır. Diğer üretim yöntemlerine göre, çözücü gerektirmeyen bir yöntem olduğu için, daha ekonomik bir proses olup yüksek üretim hızına sahiptir. Şekil 2.19'de yöntemin basit proses şeması gösterilmiştir (Kozanoğlu, 2006).



Şekil 2.19. Eriyik püskürtme yöntemi (Kozanoğlu, 2006)

Şablon sentez yöntemi

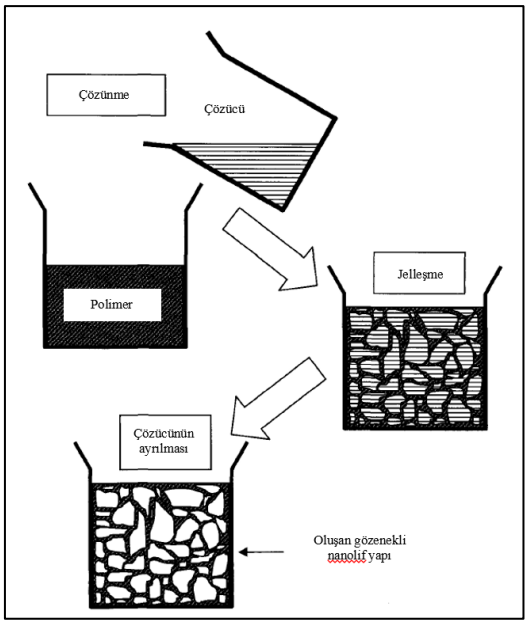
Şablon sentezi, istenen bir materyali veya yapıyı elde etmek için bir şablon veya kalıbın kullanımını ifade eder. Dolayısıyla, döküm yöntemi ve DNA replikasyonu, şablon bazlı sentez olarak kabul edilebilir. Nanolif üretimi için şablon, nano ölçekli çapta kalınlığa sahip gözenekli bir metal oksit membranını belirtir. Şablonun bir tarafından su basıncı yardımıyla polimer çözeltisi ittirilerek ekstrüze edilir. Şablonun gözeneklerinden geçen polimer çözeltisi gözeneklerin şeklini alarak lif haline gelir ve katılaştırıcı bir çözelti içerisine alınır. Bu yöntemde şablonun gözenek boyutu istenilen şekilde ayarlanarak nanoliflerin çapları belirlenebilir. Şablon sentez yöntemi ile nanolif eldesi Şekil 2.20'de gösterilmiştir (Ramakrishna ve diğerleri, 2005).



Şekil 2.20. Şablon sentez yöntemi ile nanolif eldesi (Ramakrishna ve diğerleri, 2005)

Faz ayrımı yöntemi

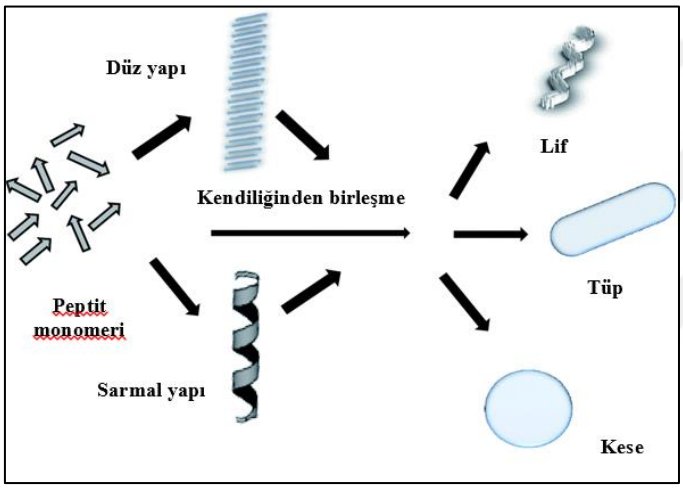
Bu yöntemle nanolif üretimi ana adımdan oluşur: (i) polimer çözünmesi, (ii) jelleşme, (iii) çözücü ekstraksiyonu, (iv) dondurma ve (v) dondurularak kurutma. Faz ayrılmasında, bir polimer ilk olarak jelleşmeden önce bir çözücü ile karıştırılır. Bu süreçte ana mekanizma fiziksel uyumsuzluk nedeniyle fazların ayrılmasıdır. Fazlardan biri, diğer fazı(çözücü) geride bırakarak ekstrakte edilir (Bkz. Şekil 2.21) (Ramakrishna ve diğerleri, 2005).



Şekil 2.21. Faz ayrımı yöntemi ile nanolif eldesi (Ramakrishna ve diğerleri, 2005)

Kendiliğinden birleşme yöntemi

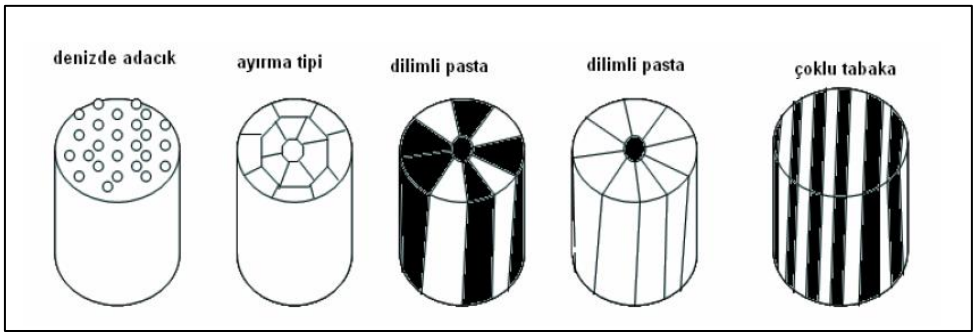
Nanoliflerin kendiliğinden birleşmesi, temel yapı taşları olarak daha küçük moleküller kullanılarak nano ölçekli liflerin oluşturulmasını ifade eder. Bu yöntemde, küçük bir molekül, diğer küçük moleküller ile bağ oluşturarak eş merkezli bir şekilde yerleşir. Bu yerleşim, lifler düzlemsel olacak şekilde uzunlamasına ve tek eksende meydana gelir. Kendinden birleşme için ana mekanizma, küçük birimleri bir arada tutan moleküller arası kuvvetlerin makromoleküllü nanolifleri meydana getirmesidir. Yöntemin şematik gösterimi Şekil 2.22'te verilmiştir (Ramakrishna ve diğerleri, 2005).



Şekil 2.22. Kendiliğinden birleşme ile nanolif eldesi (Ramakrishna ve diğerleri, 2005)

Çift bileşenli ekstrüzyon (Bikomponent) yöntemi

Çift bileşenli lifler, aynı filament içinde bulunan iki polimeri ekstrüzyon ile tek bir lif haline getirmek olarak tanımlanabilir. Bikomponent lif üretmenin temel amacı, yalnızca iki polimerde de bulunmayan yeteneklerden yararlanabilmektir. Bu teknikle, planlanan herhangi bir enine kesit veya geometriye sahip lifler üretmek mümkündür. İki bileşenli lifler genellikle yan yana, kabuk-çekirdek, denizde adacık, dış merkezli veya dilimli pasta kesit tipleri olarak sınıflandırılır (Bkz. Şekil 2.23) (Kozanoğlu, 2006).



Şekil 2.23. Çift bileşenli ekstrüzyon yöntemi ile üretilmis liflerin kesit ve boy görüntüleri (Kozanoğlu, 2006)

2.5.4. Elektro eğirme yöntemiyle nanolif üretiminin avantajları

Polimer lif malzemelerin çapları mikrometrelerden (ör. 10-100 mm), mikron altı veya nanometrelere (ör. $10x10^{-3}$ -$100x10^{-3}$ mm) küçülürken; yüksek yüzey alanı / hacim oranı (bir nanolif için bu oran, bir mikrolifin 103 katı kadar olabilir), yüzey özelliklerinde esneklik ve malzemenin bilinen diğer herhangi bir formu ile karşılaştırıldığında, üstün mekanik performans (örneğin sertlik ve çekme dayanımı) gibi üstün özellikleri ortaya çıkmaktadır. Bu üstün özellikler, polimer nanolifleri birçok önemli uygulama için oldukça uygun bir malzeme tipi yapmaktadır. Son yıllarda polimer nanoliflerin eldesi için çekme, şablon sentezi, faz ayrılması, kendinden birleşme, elektro eğirme gibi bir dizi üretim yöntemi kullanılmaktadır (Huang, Zhang, Kotaki ve Ramakrishna, 2003).

Çekme yöntemi, lif endüstrisindeki kuru eğirme işlemine benzer bir işlemdir. Bu yöntemle sırayla uzun ve tekil nanolifler yapabilir. Ancak çekme yöntemiyle, yalnızca çekme işlemi sırasında ortaya çıkan gerilimi kaldırabilecek, güçlü deformasyonlara dayanıklı viskoelastik bir malzeme kullanılarak lif üretilebilir (Huang ve diğerleri, 2003).

Şablon sentezi yönteminde, adından da anlaşılacağı gibi, katı lif ya da boşluklu tüp şeklinde nanolifler elde etmek için nano gözenekli bir membran şablon olarak kullanılır. Bu yöntemin en önemli özelliği, iletken polimer, metal, yarı iletken ve karbon gibi ham maddelerden nano boyutlarda tüp ya da lifler üretilebilmesidir. Öte yandan, bu yöntem arka arkaya sürekli nanolif üretmek için uygun değildir (Huang ve diğerleri, 2003).

Faz ayrımı yöntemi, çözünme, jelleşme, farklı bir çözücü kullanarak ekstraksiyon, donma ve nano-ölçekli bir gözenekli köpükle sonuçlanan kurutma basamaklarından oluşur. İşlem,

katı polimeri nano-gözenekli köpüğe aktarmak için nispeten uzun bir süre alır (Huang ve diğerleri, 2003).

Kendiliğinden birleşme yöntemi, bireysel, önceden var olan bileşenlerin kendilerini istenen kalıp ve işlevlerde düzenledikleri bir süreçtir. Bununla birlikte, faz ayrımına benzer şekilde bu yöntem de sürekli polimer nanoliflerin üretiminde zaman alıcıdır (Huang ve diğerleri, 2003).

Dolayısıyla, elektroeğirme işlemi, çeşitli polimerlerden arka arkaya, sürekli nano liflerin seri üretimi için daha da geliştirilebilecek tek yöntem gibi görünmektedir. Nanolif üretim yöntemlerinin avantaj ve dezavantajları Çizelge 2.5'te özetlenmiştir (Huang ve diğerleri, 2003).

Çizelge 2.5. Nanolif üretim yöntemlerinin avantaj ve dezavantajları (Ramakrishna ve diğerleri, 2005)

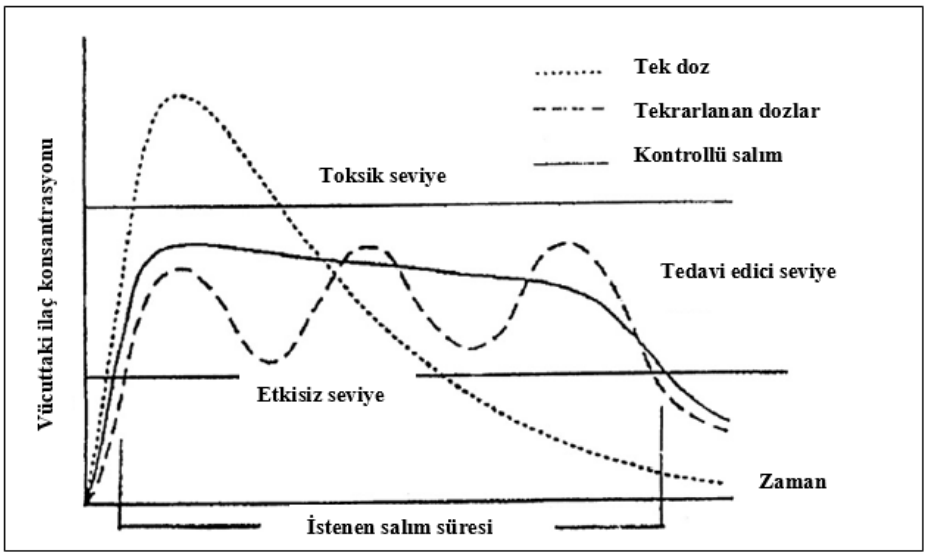
Yöntem	Üretim tipi	Ortalama fiber çapı	Avantajlar	Dezavantajlar
Çekme	Laboratuvar	2-1000 nm	➢ Düzgün lif eldesi	➢ Sürekli bir proses değil ➢ Lif boyutunu kontrol etmek mümkün değil
Şablon sentez	Laboratuvar	100 nm	➢ Şablonun gözenek boyutuna göre lif çapı	➢ Farklı şablon kullanımı ➢ Şablon materyali pahalı (metal oksitler)
Faz ayırma	Laboratuvar	50-500 nm	➢ Ucuz ve kolay ➢ Lif katman üretimi için uygun	➢ Liflerin boyut kontrolü zor ➢ Yalnızca bazı polimerler kullanılabilir
Kendiliğinden tutunma	Laboratuvar	7-100 nm	➢ Ara yüzey bağları sağlam ve kararlı ➢ Düzgün lif eldesi	➢ Uzun ve karmaşık bir proses ➢ Sürekli lif eldesi zor ➢ Her malzemeye uygulanamaz
Eriyik üfleme	Endüstriyel	500-1000 nm	➢ Lif çapının kontrolü kolay ➢ Yüksek üretim hızı ➢ Çözücü gerektirmez	➢ Bazı polimerlerin kullanımına uygun ➢ Düşük mukavemetli lifler ➢ Düzensiz lif çap dağılımı ➢ Yalnızca yüksek çaplı lif üretimine uygun
Eğirmeli bağlama	Endüstriyel	>500 nm	➢ Lif çapı kontrolü kolay	➢ Yüksek çaplı lif üretimine uygun ➢ Düzensiz lif çap dağılımı
Elektro eğirme	Endüstriyel	50-500 nm	➢ Sürekli lif eldesi ➢ Lif çapının kontrolü kolay ➢ Mikrometreden nanometre boyutuna kadar lif çapı eldesi ➢ Yüksek yüzey alanı/hacim oranı ➢ Yüksek uzunluk/çap oranı ➢ Gözenek boyutu kontrol edilebilir ➢ Düzgün lif eldesi	➢ Parametrelerin optimizasyonu karmaşık ➢ Sistem kurulumu pahalı ➢ Yüksek voltaj gereksinimi

2.6. Kontrollü İlaç Salım Sistemleri

Kontrollü ilaç salım sistemleri; alışılagelmiş doz verilmesinden farklı olarak verimliliği arttırması, toksikliği azaltması ve hastalar için daha uygun olması açısından birçok avantaja sahiptir. Bilinen ve geleneksel ilaç salım sistemlerinde ilaç, fazla dozajlarda ve tek seferlik verilebilirken kontrollü salım sistemleriyle daha uzun sürelerde ve kontrollü şekilde verilebilmesi bu yönteme doğru ilginin giderek artmasını sağlamıştır. Kontrollü ilaç salım sistemlerinde sentetik polimer esaslı biyomalzemeler taşıyıcı olarak sıklıkla kullanılmaktadır ve asıl amaç, ilaç tedavisinin etkinliğinin arttırılmasıdır (Tüylek, 2017). Kontrollü ilaç salımı, aşağıdaki amaçlar için kullanılmaktadır (Bajpai, Shukla, Bhanu ve Kankane, 2008).

- Kanda minimum dalgalanmalarla terapötik olarak aktif bileşiklerin sürekli konsantrasyonunu sürdürmek
- Uzun bir süre boyunca öngörülebilir ve tekrar üretilebilir salım oranları.
- Çok kısa bir yarı ömre sahip biyoaktif bileşiklerin korunması.
- Yan etkilerin, ilaç israfının ve sık dozajın kaldırılması;
- Optimize edilmiş terapi ve daha iyi hasta uyumu.
- İlaç stabilitesi probleminin çözümü.

Kontrollü bir ilaç salım sistemi iki bölümden oluşur: bir ilaç ve bir taşıma cihazı. İlaç seçimi tedavi edilecek hastalığa göre değiştirilebilir. Kontrollü salım sistemleri, ilaç seviyesinin istenen bir aralıkta korunmasına izin verir ve uygulama sayısını azaltır (Bkz. Şekil 2.24). Etkili ilaç salım süresinin sıkı bir şekilde düzenlenmesine ek olarak, kontrollü ilaç salım formülasyonları, aktif bileşiklerin hedefli ve lokal olarak uygulanması için gerçekçi seçenekler oluşturur (Commandeur, Van Beusekom ve Giessen, 2006).



Şekil 2.24. Kontrollü ilaç salımının şematik gösterimi

Kontrollü ilaç salım sistemleri üç ana kategoride sınıflandırılabilir: kontrollü, hedefli ve uzun süreli veya sürekli dağıtım. Kontrollü sistemler, uygun ilaç miktarlarını sürekli olarak veya spesifik fizyolojik, kimyasal veya fiziksel koşullar altında serbest bırakmak için tasarlanmıştır. Hedeflenen dağıtım, ilacı etki alanına sokma stratejisi olarak tanımlanmaktadır. Uzun süreli veya sürekli ilaç salım sistemleri, vücutta sabit terapötik seviyelerin uzun süre korunmasını sağlar (Classen, Pestotnik, Evans, Lloyd ve Burke, 1997).

2.6.1. İlaç salım mekanizmaları

Kontrollü salım mekanizmaları genel olarak fiziksel ve kimyasal mekanizmalar olarak sınıflandırılabilir. Fiziksel mekanizmalar, ilaç moleküllerinin bir polimer tabakadan difüzyonunu, ilaç salım hızını kontrol eden polimer matrisinin çözünmesini veya parçalanmasını, ilaç salımı için ozmotik basıncı ve iyonlaştırılmış ilaçlar için iyon değişiminin kullanımını içerir. Fiziksel mekanizmaların kullanılmasının ana avantajlarından biri, ilaç salma kinetiğinin, ilaç taşıyıcı sistemin kendisi tarafından kontrol edilebilmesidir. Her ilaç taşıyıcı sistem, polimer zarının kalınlığı, kullanılan bir polimerin türü ve yüzey alanı gibi değişen basit parametrelerle ayarlanabilen bir ilaç salma kinetiğine sahiptir. Kimyasal mekanizmalar, ilaç moleküllerini polimer zincirleri gibi bir taşıyıcı araca kimyasal veya enzimatik bozunma yoluyla bağlayan kovalent bağların kırılmasına dayanır. Kimyasal mekanizmaları kullanmanın en büyük dezavantajı, ilaç moleküllerinin, taşıyıcı araca aşılama için kimyasal olarak modifiye edilmesi gerekliliğidir ve bu, ön ilaçlar

olarak adlandırılan yeni kimyasal maddeler ile sonuçlanır. Bu nedenle, fiziksel mekanizmalar en yaygın şekilde kullanılmıştır. Kullanımı kolaydır ve ilaç salım kinetiğinin kontrolünde oldukça etkilidirler (Acharya ve Park, 2006).

İlaçların taşıyıcı sistemlerin üç genel salım mekanizması vardır (Günay, n.d.).

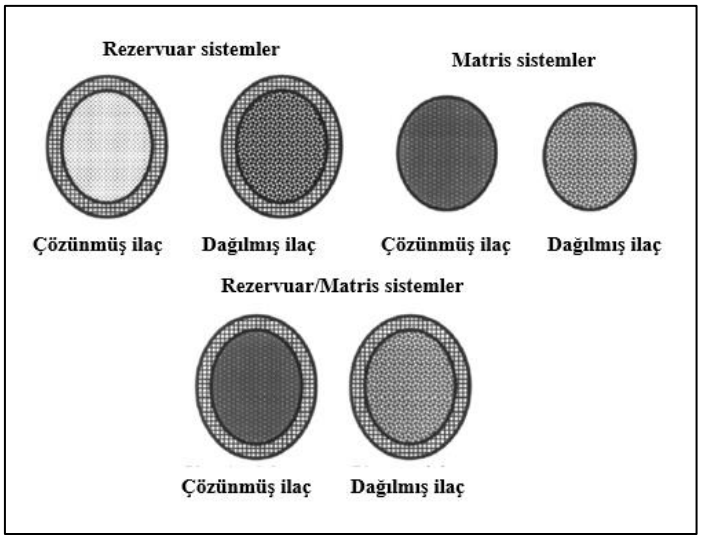
- İlacın sistemden veya sistem yoluyla difüzyonu.
- Sistemin kimyasal (hidrolitik) veya enzimatik bozunması.
- Çözücü aktivasyonu, ozmoz veya sistemin şişmesi yoluyla.

Bu mekanizmalara ek olarak, harici olarak düzenlenmiş salım sistemleri mevcuttur. Bu harici mekanizmalar için manyetizma, ışınlama, ultrason, sıcaklık ve pH değişiklikleri ve elektrik alanından faydalanılır (Kost ve Langer, 2012).

Difüzyon kontrollü sistemler

Difüzyon kontrollü sistemlerde, ilaçlar polimer içerisinden difüze olur. İlacın tükenmesi sonrasında polimer, biyobozunmaya maruz kalabilir. ilacın difüze edebileceği bir haznede (çekirdek) içine alındığı bir sistem, bir difüzyon sisteminin en basit örneği olarak belirtilebilir. İlaç, çekirdek içerisinde doymuş bir durumda tutulduğu sürece, salım neredeyse sonlanana kadar sıfır dereceli kinetik izleyecektir. İlaç salım sistemlerinde iki tip difüzyon kontrollü sistem kullanılır. Bunlar, rezervuar sistemler (veya lamine matris sistemler) ve matris sistemlerdir (Bkz. Şekil 2.25) (Bajpai ve diğerleri, 2008).

Rezervuar sistemlerinde, ilaç rezervuarı, hız kontrol membranı olarak işlev gören ince bir polimer tabakası ile kaplanır. Sabit durumda, ilaç salım hızı sıfır dereceli salım kinetiğine uyacak şekilde sabit kalır. Matris (veya monolitik) sistemlerde, bir ilaç genellikle polimer matris içinde dağılır ve ilaç, hızı kontrol eden herhangi bir bariyer tabakası olmadan çevreye salınır. İlaç moleküllerinin yüzeyden uzağa taşınması gerektiğinden, ilaç salım hızı zamanla azalır ve sıfır dereceli kinetik model gösteren salımla sonuçlanır (Acharya ve Park, 2006).



Şekil 2.25. Polimer bazlı difüzyon kontrollü sistemlerin şematik gösterimi (Bajpai ve diğerleri, 2008)

Kimyasal kontrollü sistemler

Kimyasal kontrollü ilaç salımı, bir taşıma matrisi içinde meydana gelen reaksiyonlarla belirlenen molekül salımını tanımlamak için kullanılır (Lin ve Metters, 2006).

Kimyasal kontrollü ilaç salım sistemlerinde, farmakolojik olarak aktif bir maddenin salımı genellikle sulu ortamda aşağıdaki mekanizmalardan biri veya daha fazlası ile gerçekleşir (Bajpai ve diğerleri, 2008).

(i) Polimer içeren bir ilacın aşamalı biyobozunumu.
(ii) İlacın polimer sistemine bağlandığı kararsız bağların biyolojik ayrışması.
(iii) İlacın enjekte edilebilir ve biyolojik olarak parçalanabilir mikro boncuklardan difüzyonu.

İlaç salım sistemlerinde meydana gelen en yaygın reaksiyonlar, polimer ağı ile serbest bırakılabilir ilaç arasında meydana gelen hidrolitik/enzimatik bozunma veya tersinir/geri dönüşümsüz reaksiyonlar yoluyla polimer zincirlerinin parçalanmasıdır. Belirli koşullar altında, polimerin yüzeyi veya tamamının bozunması, ilacın salım hızını kontrol edecektir. Alternatif olarak, ilaç polimer zincirine bağlanıyorsa, bağlanma dengesi ilacın salım hızını belirleyebilir. Genel olarak, kapsüllenmiş veya polimere bağlanmış ilaçların salımı, polimer zincirinin bozunması veya polimer iskeletinin kütlesel bozunması sırasında ortaya çıkabilir. Bu sistemlerin avantajı, salım tamamlandıktan sonra vücutta kalan polimer

bozunarak vücuttan uzaklaşmasıdır. Bu sayede cerrahi bir müdahaleye gerek duyulmaz (Lin ve Metters, 2006).

Su-geçiş kontrollü sistemler

Su-geçiş kontrollü sistemlerde salım, osmotik kontrollü ve şişme kontrollü olmak üzere iki farklı mekanizma ile gerçekleşir (Bajpai ve diğerleri, 2008).

Osmoz bazlı kontrollü salım sistemlerinde, ilaç sıfır derece kinetik ile salınır, çünkü cihazların içindeki osmotik basınç, sistem tarafından tanımlanan sabit bir hızda oluşur. İlaç molekülleri çok küçük bir delikten çevreye itildiğinden, ilaç molekülleri sadece difüzyonla değil, konveksiyon ile çevreye pompalanır. Bu tür ilaç salımı, konveksiyonla ilaç salımının önemli olduğu durumlarda iyi bir seçenek olabilir (Acharya ve Park, 2006).

Şişme kontrollü salım sistemlerinde ise, ilaç çözeltinin içine konulduktan sonra taşıyıcının şişmesi yoluyla salımı mümkündür. İlaç taşıyıcı hidrojeller başlangıçta kurudurlar ve vücuda yerleştirildiğinde, suyu veya diğer vücut sıvılarını emerek şişerler. . Şişme, polimer ağ ebatını arttırdığı gibi, formülasyon içindeki sulu çözücü içeriğini de arttırarak ilacın şişmiş bu ağ aracılığıyla dış ortama yayılmasını sağlar (Bajpai ve diğerleri, 2008).

Ayarlanabilen sistemler

Bu sistemlerde, ilaç salımı, sıcaklık, pH, iyonik kuvvet, elektrik alan, elektromanyetik radyasyon veya UV ışığı, gibi dış uyaranlarla kontrol edilir. Sıcaklığa duyarlı ilaç salım sistemleri, polimer moleküllerinin termal olarak ters çevrilebilir dönüşümü, ağların şişme değişimi, camsı geçiş ve kristalin erimesi dahil olmak üzere çeşitli polimer özelliklerini kullanır (Bajpai ve diğerleri, 2008).

pH kontrollü sistemlerde de, pH'a duyarlı polimerler, çevresel pH'taki değişikliklere cevap olarak protonları kabul eden veya serbest bırakan asılı asidik veya bazik gruplar içerir. Hidrojelin şişmesi, zayıf asidik (anyonik) gruplar halinde dış ortam pH'ı arttıkça artar. Polimer zincirleri zayıf ise bazik (katyonik) gruplar hidrojel şişmesi azalır. Bu sayede ilaç salımı gerçekleşir (Aysan, 2014).

3. LİTERATÜR ARAŞTIRMASI

Jeong ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, PEO ve poli (L-laktik asit) 'in ısıya duyarlı biyobozunur bir hidrojelini sentezlemişlerdir. Bu kopolimerlerin sulu bir çözeltisinin moleküler ağırlıkların uygun bir kombinasyonu ile sıcaklığa bağlı tersinir çözelti-jel geçişi gösterdiğini gözlemişlerdir. İstenen moleküler düzenlemelerin, çözeltinin (düşük sıcaklıkta) jel (vücut sıcaklığında) oluşturduğu benzersiz bir davranış sergilediğini, bu iki biyobozunur polimerin kullanımının, sürekli enjekte edilebilir ilaç taşıma sistemleri için büyük bir avantaja sahip olduğunu raporlamışlardır (Jeong, Choi, Bae, Zentner ve Kim, 1999).

Gutowska ve arkadaşları, PEO'nun in situ jel oluşturucu sistemlerinin doku mühendisliği yaklaşımlarını gözden geçirmişlerdir. Çalışmalarına göre, enjekte edilebilir polimer formülasyonu, sıcaklık değişimine (termal jelasyon), pH değişimine, iyonik çapraz bağlanmaya ya da çözücü değişimine yanıt olarak in vivo jelleşebilmektedir. Jelleşme kinetiğinin, jelleşme mekanizmasından doğrudan etkilenmekte olduğunu belirtmektedirler. Enjekte edilebilir formülasyonların, önceden oluşturulmuş yapı iskelelerine göre çeşitli terapötik ajanların yapıya kolay bir şekilde dahil edilmesi, istenen bir şekli doldurma yeteneği ve invaziv bir implantasyon olasılığı gibi özel avantajlar sunmakta olduğu belirtilmiştir (Gutowska, Jeong ve Jasionowski, 2001).

Korner ve arkadaşları, tek bir PEO derecesi veya farklı oranlarda çeşitli dereceler içeren bir karışım içeren bir dizi matris tablet hazırlamıştır. Yaptıkları çalışmalara göre, yüksek / düşük moleküler ağırlıklı PEO oranının salım hızını kontrol ettiği ve yüksek moleküler ağırlıklı polimerlerin payının, karışık PEO tabletlerinde toplam salım hızı üzerindeki etkisine hakim olduğu sonucuna varmışlardır. İki modlu, çoklu dağılmış bir polimer tablet içindeki her iki moleküler ağırlık fraksiyonu, çözünme işlemi sırasında aynı oranda serbest bırakılmıştır. Serbest bırakma oranı, polimerin ortalama moleküler ağırlığının benzersiz bir fonksiyonu olmadığı ve aynı zamanda çoklu dağılıma da bağlı olduğu sonucuna varmışlardır (Körner, Larsson, Piculell ve Wittgren, 2005).

Cha ve arkadaşları, demans tedavisi için minosiklin HCl'nin matriks tabletlerinden pH'dan bağımsız genişletilmiş salımını geliştirmişlerdir. Islak granülasyon tekniğini kullanarak salımı gerçekleştirmiş; Eudragit L ve S'yi farklı oranlarda (1:0, 1:1 ve 0:1 w/w) salım

düzenleyici olarak, PEO'i matriks kalıbı olarak kullanmışlardır. Eudragit L ve S'nin (L:S = 1: 1 için) salım düzenleyicileri olarak ve Na stearil fumaratın PEO bazlı matris tabletlerine bir lubrikant olarak eklenmesinin etkili bir şekilde pH bağımsız minosiklin salım profilleri ürettiği sonucuna varmışlardır (Cha ve diğerleri, 2009).

Handge ve diğerleri, Poliamid 6 (PA 6) molar kütlesinin, PA6 / halloysite nanokompozitlerin mekanik, termal ve reolojik özellikleri üzerindeki etkisini incelemişlerdir. Poliamid verim stresinin yanı sıra HNT'nin elastik modülündeki artışla birlikte, düşük molar kütleli polyamide 6 için düşük dolgu maddesi fraksiyonlarında çok farklı bir etkinin bulunduğunu belirtmişlerdir. Elastik modül, HNT'lerin yoğunluğu ile büyük dolgu maddesi oranlarında doğrusal olarak artar. HNT'lerin kütlece %30 oranında eklenmesi Young modülünün % 90 oranında artmasına neden olduğunu bildirmişlerdir. Bunlara ek olarak, PA 6'nın camsı geçiş sıcaklığının (Tg) üstündeyken, HNT'lerin güçlendirici etkisinin, PA 6'nın cam geçiş sıcaklığının çok üstünde olduğu gözlenmiştir. Ayrıca, PA6'nın kristalleşme davranışının HNT'lerden etkilendiğini ve düşük molar kütleli PA6 için iyi bir g-modifikasyon oluşumu oluştuğunu gözlemlediler. Kristal fazın HNT'lerin varlığında etkili bir şekilde düzenlenmesinin, dolgu maddesinin düşük oranlarındaki takviye etkisinden kaynaklandığını belirtmişlerdir. Bunların yanında, HNT'lerin eklenmesiyle malzemenin akış özelliklerinin de oldukça değiştiğini bildirmişlerdir. Özetle, HNT'lerin PA 6'nın akış özelliklerini kaybetmeden PA 6'nın elastik özelliklerini geliştirdiğini, volastonit ve kaoline göre daha çekici bir alternatif olduğu ve uygun L/D oranına sahip HNT'ler seçildiğinde daha yüksek potansiyelde uygulamalara sahip kompozitler elde edilebileceğini raporlamışlardır (Handge, Hedicke-höchstötter ve Altstädt, 2010).

K. Prashantha ve diğerleri, amonyum tuzu ile modifiye edilmiş ve modifiye edilmemiş HNT'lerin (QM-HNT) kütlece farklı oranlarda yüklenmesinin, polipropilenin (PP) mekanik, yapısal özellikleri üzerindeki etkisini incelemişlerdir. PP'ye yüklenen HNT'lerle birlikte kristalleşme sıcaklığının yanı sıra kristallik derecesinin de, arttığını ve nanotüplerin eklenmesinin potansiyel çekirdeklenme etkisine neden olduğunu ortaya koymuşlardır. Yaptıkları çalışmaya göre, modifiye edilmiş HNT'ler, modifiye edilmemiş olanlara kıyasla polimer matrisinde daha iyi dağılım göstermiştir. Tg'de küçük miktarda bir artış gözlenmiş, ayrıca HNT eklenmesiyle de modülüste artış olduğu görülmüştür. Bu durumun modifiye edilmiş HNT'lerin eklenmesiyle, modifiye edilmemişlere kıyasla daha kayda

değer artışlar görülmüştür. Özetle QM-HNT'ler modifiye edilmemiş HNT'lere göre, polimer matrisinde dağılım ve mekanik özellikler bakımından daha iyi performans sergilemiştir (Prashantha, Lacrampe ve Krawczak, 2011).

Diller ve diğerleri (2007), PLA ve PCL'den yapılmış olan iki bileşenli liflerin ve sadece PCL ve sadece PLA lif membranlarının, 3 farklı antibiyotik çeşidi olan tetrasiklin, klorotetrasiklin hidroklorür ve amfoterisin B yüklenerek ilaç salım profillerini ve antimikrobiyal etkilerini incelemişlerdir. İlaçların zamana bağlı salımı takip edilmiş ve antimikrobiyal etkileri araştırılmıştır. Elektro eğirme işlemi; 18 gaugelık (1,024 mm) iğne ile 20 kV gerilim altında, 6 ile 15 ml/sa akış hızlarında, 19,4 cm toplayıcı ve iğne ucu arasındaki mesafede gerçekleştirilmiş, farklı konsantrasyonlarda çözeltilerle çalışılmıştır. Çözücü olarak kloroform, tetrahidrofuran (THF) ve toluen kullanılmıştır. Sırasıyla 9, 12 ve 15% 'lik PCL, 12%'lik PLA ve 12%'lik 3:1, 1:1 1:3 oranlarında PCL:PLA çözeltileri hazırlanmıştır. Kloroform, toluen ve THF ile yapılan deneylerle elde edilen buharlaşma eğrilerine göre kloroformun, PCL ve PLA için benzer sonuçlar göstermesi ve hızlı lif oluşumu sebebiyle en uygun solvent olduğu saptanmıştır. Yüzey morfolojilerine bakıldığında, PCL liflerinin yüksek konsantrasyonlarda istenen lif özelliklerinden uzaklaştığı anlaşılmıştır. Sadece PLA ile yapılan ve PCL den daha fazla miktarda PLA içeren bileşenlerden elde edilen liflerden gerçekleşen ilaç salımının daha düşük olduğu gözlenmiştir. Buna karşılık daha fazla miktarda ve eşit miktarda PCL içeren iki bileşenli ve sadece PCL içeren liflerde ise, %70 den fazla miktarda ilaç ilk 30 dk içerinde serbest kalmaktadır. Sonuç olarak, sadece tek polimerle gerçekleştirilen çalışmalarda; PCL liflerinden ilaç salımı hızlı ve daha yüksek oranlardayken; PLA dan salım daha uzun sürmüştür. PCL/PLA iki bileşenli lifler, oranı fazla olan polimerin salım karakterine yakın sonuçlar göstermiştir. Antimikrobiyal etkisi incelendiğinde ise 10 dk içerisinde %95 oranında bakterinin azaldığı gözlenmiştir (Buschle-Diller ve diğerleri, 2007).

Uyar ve ark (2009), elektroeğirme tekniği ile fonksiyonel nano ağlar geliştirmek için siklodekstrin (CD) ile fonksiyonelleştirilmiş polietilen oksit (PEO) nanoliflerini (PEO / CD) başarıyla sentezlemiştir. Üç farklı CD tipi; a-CD, b-CD ve c-CD, elektro eğirilmiş PEO nanoliflerine ayrı ayrı yerleştirilmiştir. Farklı miktarlarda PEO (%3, %3,5 ve %4 (ağırlık/hacim)), ve CD'ler (%25 ve %50 (ağırlık / ağırlık)) içeren sulu çözeltilerden boncuksuz nanolifler elde edilmiştir. PEO çözeltilerinde CD'lerin varlığında, boncuksuz nanoliflerin düşük polimer konsantrasyonlarının elektro eğirmeyi kolaylaştırdığı

bulunmuştur ve bu davranış PEO/CD çözeltilerinin yüksek iletkenliğine ve viskozitesine bağlanmaktadır. PEO/CD nano ağlarının varlığı, Fourier dönüşümü kızılötesi (FTIR) spektroskopi ile doğrulanmıştır. 2-D X-ışını kırınımı (XRD) spektrumu, CD moleküllerinin herhangi bir faza ayrılmış kristal topakları olmadan polimer matrisi içinde dağıldığını göstermiştir (Uyar ve Besenbacher, 2009).

Zahedi ve diğerleri (2011), PLA, PCL ve 50/50 PCL/PLA karışımından elektro eğirme ile elde edilen nanoliflerin yüksek dozlarda tetrasiklin hidroklorür yüklenmesini gerçekleştirerek elde edilen nanoliflerin, yaraların iyileştirilmesi amacıyla morfolojisi (SEM), mekanik dayanımı, ilaç salınım hızı (UV sp.), su geçirgenliği ve su alması gibi özelliklerini incelemişlerdir. Antibakteriyel özellikleri ticari ürün olan Comfeel Plus ile *E. coli* (Gram negatif) ve *S. aureus* (Gram pozitif) mikroorganizmaları ile denenerek karşılaştırılmıştır. % 6, 9, 12 ve 15 (wt/v) konsantrasyonları, 9/1 oranında kloroform ve dimethyle formamid (DMF) hazırlanarak 1 saat boyunca karıştırılmıştır. Ardından antibiyotik çözülerek polimer çözeltisine eklenmesi gerçekleşmiştir. Elektro eğirme parametreleri; çözelti akış hızı 0,7 mL/h, voltaj 15 kV, iğne boyutu 0,7 mm, toplayıcı-iğne arası mesafe 12 cm olacak şekilde ve döner toplayıcı kullanılarak çalışılmıştır. Antibiyotik eklenmeden farklı konsantrasyonlarda hazırlanan liflere bakıldığında; %15 (wt/v) PCL, %12 (wt/v) PLA ve %15 (wt/v) 50/50 PCL/PLA liflerinin daha düzgün, uygun çaplarda ve boncuksuz elde edildiği belirtilmiştir. Elde edilen liflerin çapları sırasıyla; 863, 741 ve 885,3 nm olarak kaydedilmiştir. İlaç salım sistemleri için liflerin çaplarının uygunluğundan ziyade boncuksuz olması daha büyük önem taşımaktadır. Su absorplama ve su buharı geçirgenliği ticari ürüne göre daha iyi sonuç vermiştir. 50/50 PCL/PLA lifleri en yüksek antibiyotik salımını ve *S. aureus* bakterisine göre en etkili antibiyotik etkiyi göstermiştir. Sonuçta, PCL den PLA/PCL karışımından elde edilen yara iyileştiricilerin ticari üründen daha iyi sonuç verdikleri gösterilmiştir (Zahedi ve diğerleri, 2011).

Kong ve diğerleri (2012), elektro eğirme yöntemini kullanarak karbon nanotüp (CNT) ve PCL'ye graft edilmiş karbon nanotüp katkısıyla (MWCNTs-PCL), matris malzemesi olan PLA'nın kompozit liflerini elde etmeye çalışmışlardır. Hacimce %12'lik PLA, diklorometan (DCM) içinde hazırlanmıştır. MWCNTs-PCL (PCL'ye graft edilmiş çok katmanlı karbon nanotüp) ise PLA çözeltisine eklenmiştir. MWCNTs/PLA çözeltisi, 10 ml'lik şırıngada, iğne ucu çapı 0,5mm olan, 15 ml/sa besleme hızına sahip, 10 kV voltajın uygulandığı düzenekte iki paralel plaka arasında elektro eğrilmiştir. PLA, CNT'lerle

kompozit nano yapı oluşturmak için matris olarak kullanılmış, çok duvarlı karbon nanotüpler (MWCNT) ise PCL ile graft edilmiştir. Takviye elemanı olarak ise MWCNT-PCL kullanılmıştır. İki plaka arası uzaklık 3 cm olduğu zaman en düzgün hizalanmış lifler elde edilmiştir. MWCNT-PCL lifler içerisine gömülmüş ve elektro eğirme sırasında lifler yönlendirilmiştir. Bu modifiye edilmiş elektro eğirme sistemiyle MWCNT-PCL'lerin, PLA içerisinde çok düzgün bir şekilde yönlendirilmesi sağlanmıştır (Kong, Yuan ve Qiu, 2012).

Ribeiro Neto ve diğerleri (2012), farklı miktarlardaki nano hidroksiapatitler (nHA), PLA ve PCL ile elektro eğrilerek nanolifler elde etmişlerdir. İşlem sırasında uygulanan voltaj ve toplayıcı devri değiştirilmiştir. Hacimce %7'lik PLA, 60/40 (v/v) kloroform/DMF çözücüsünde çözülmüştür (Başta kloroform da çözülmüş ardından DMF eklenmiştir). Hacimce %12'lik PCL, 75/25 (v/v) kloroform/metanol çözeltisinde hazırlanmıştır. nHA ise 90 dk ultrasonik banyoda kloroformda çözülmüştür. Ardından polimer çözeltileri nHA çözeltisinin içine eklenmiş ve 12 sa karıştırılmıştır. Sonunda nHA konsantrasyonu, %1 ve % 5 (w/v) olmuştur. Örnekler; PLA-nHA 1%, PLA-nHA 5%, PCL-nHA 1%, PCL-nHA 5% şeklinde isimlendirilmiştir. Elektro eğirme sisteminde, 20 mL şırınga (0,7 mm şırında iğnesi çapı ve 25 mm uzunluğunda) ve toplayıcı olarak 15 cm çapında 1800 rpm hızıyla dönen silindir kullanılmıştır. PLA için mesafe 10 cm iken, PCL için 8 cm tutulmuştur. Sırasıyla 9, 12 ve 15 kV voltajları uygulanmıştır. Çözelti karakterizasyonuna bakıldığında; saf PLA çözeltisi başta düşük kayma hızlarında dilatant akışkan davranış göstermiş, ardından yüksek kayma hızlarında Newtonian akışkan davranış göstermişlerdir. nHA miktarının artmasıyla çözelti viskozitesi artmış ve düşük kayma hızlarında dilatant akışkan davranış gözlenmiştir. Fakat kayma hızı arttıkça önce pseudo plastik, ardından Newtonian davranışa geçmiştir. Uygulanan voltajda çaplar şu şekilde sıralanmaktadır; d(PLA)<d(PLA-nHA %1)<d(PLA-nHA %5). %12 PCL çözeltisi ise başta dilatant davranış göstermiş ardından pseudo plastik ve Newtonian davranışa geçmiştir. %1 nHA katılmasıyla düşük vizkozite değerlerinde çözelti hafifçe plastikleşmiştir. nHA oranı arttırıldığında ise, PCL çözeltisinin viskozitesi belirgin ölçüde artmıştır. Uygulanan voltajda nanolif çap değişimleri: d(PCL-nHA %1)<d(PCL)<d(PCL-nHA %5). PCL ve PLA karşılaştırıldığında ise, yüksek kayma hızlarında benzer viskozite gösterecekleri ve çaplarının da uygulanan voltajda birbirine eşitleneceği belirtilmiştir. Nanoliflerin morfolojilerine bakıldığında, nanolifler homojen, sorunsuz, gözeneksiz ve silindirden ziyade yassı şekildedir. Sonuçlar; (i) uygulanan voltajda nanoliflerin çapları benzerdir, (ii)

uygulanan voltaj arttırıldıkça PLA çapı azalmış fakat PCL çapında değişme gözlenmemiştir, (iii) 12 kV'ta iki polimer için de en düşük lif çapı elde edilmiştir. PLA-nHA örneklerinde ise, nanolif çapları 12 ve 15 kV'ta PCL-nHA nanoliflerinden daha büyüktür. Uygulanan voltajda nHA miktarı arttıkça nanolif çapında azalma gözlenmiştir. Verilen nHA konsantrasyonunda ise, uygulanan voltaj arttıkça nanolif çapı artmaktadır. nHA nanolifler içerinde birikmiştir. PLA nanolifleri içerisinde PCL ye göre daha homojen şekilde dağılma göstermiştir. Bunun sebebi de PCL ile nHA etkileşimi daha zordur. İki polimer de öncelikle kloroformda çözülmüştür. Ardından PLA, DMF'de (apolar); PCL ise metanolde (polar) çözülmüştür. nHA hidrofilik yapıdadır; bu sebeple PCL içerindeki dağılımı PLA'dan daha iyi olmuştur. Doku iskelelerinde nHA'nın yapı içerisindeki dağılımı ve saçılımı hücre yapışması açısından önem taşımaktadır. Hücre canlılığı testleriyle, en yüksek hücre canlılığı içeren nanoliflerin, yüksek nHA oranı içerdiği, yüksek elastik modülüne sahip olduğu, fakat düşük kristaliniteye sahip olduğu gözlenmiştir (Ribeiro ve diğerleri, 2012).

Karami ve diğerleri (2012), elektro eğrilmiş PCL, PLA ve 50/50 hibrit nanolifli membran ile %1,2 (v/v) bitkisel ilaç timol içeren yapının özelliklerini ve yara iyileştirmesindeki performansını incelemişlerdir. PCL için %11-13 w/v ve PLA için %2-4 w/v konsantrasyonları denendiğinde, PLA için %2 ve PCL için %11 oranında çözeltinin, toplayıcıya varana dek çözücünün buharlaşamamasından ötürü boncuk oluşumuyla sonuçlanmıştır. %4 PLA ve %13 PCL'de ise, viskozitenin artmasıyla polimer jetin toplayıcıya ulaşması zorlaşmaktadır. Ardından %12 (w/v) PCL ve %3 (w/v) PLA, kloroform/DMF (7:3) içerisinde çözülerek hazırlanmıştır. Elde edilen sonuçlarda boncuksuz lifler elde edilmiş ve ortalama çap değeri düşmüştür. Elektro eğirme koşulları ise; akış hızı 0,7 mL/h, voltaj 15 kV, mesafe 12 cm, iğne çapı 0,7 mm olarak belirlenmiştir. İlaç salım davranışları; PCL ve PLA nanolif davranışlarıyla karşılaştırınca, 50/50 PCL/PLA hibrit nanoliflerinde en fazla seviyede (yaklaşık %72) salım olmuştur. Antibakteriyel araştırmalar, timol içeren elektro eğrilmiş 50/50 PCL/PLA, *E. coli* bakterisi ile karşılaştırıldığında *S. aurues* için daha olumlu sonuç vermiştir. Hibrit nanolifli doku iskelesi ticari yara iyileştiricilerle (Comfeel Plus ve gauge bandage) karşılaştırıldığında 14 gün içerisinde % 92,5 oranında iyileşme göstermiştir (Karami, Rezaeian, Zahedi ve Abdollahi, 2013).

Haroosh ve diğerleri (2013), iki farklı konsantrasyonda HNT ekleyerek, PLA ve iki farklı oranda PCL'yi karıştırmıştır. Çalışmada modifiye edilmemiş HNT ve 3-aminopropil trietoksi silan (APTES) ile modifiye edilmiş HNT kullanılarak ilaç salım sistemleri üzerindeki etkilerini incelemişlerdir. %8 (w/v) PLA çözeltisi ile %9 (w/v) ve %15 (w/v) olmak üzere iki farklı konsantrasyonda PCL karıştırılarak çözeltiler hazırlanmıştır. Hazırlanan PLA ve PCL çözeltileri 1:1 (v/v) oranında karıştırılmıştır. Çözücü olarak kloroform:metanol (2:1 v/v) karışımı kullanılmıştır. Katkı malzemesi olarak yüzey modifiyeli ve modifiyesiz olmak üzere iki çeşit HNT kullanılmış, %1(w/v) ve %2 (w/v) oranlarında çözeltilere eklenmiştir. Elektro eğirme işlemi iğne ve toplayıcı arası mesafe 15 cm, akış hızı 2 ml/sa ve uygulanan voltaj 25-28 kV arası olacak şekilde gerçekleştirilmiştir. İğne çapı 0,584 mm dir. Oluşan lif kalınlıkları 700 ile 1200 nm aralığında değişmektedir. Elektro eğirme sonucunda elde edilen liflerde, PCL konsantrasyonun artmasıyla, viskozite ve çap artışı gözlenmiştir. Karışıma eklenen HNT, çözelti viskozitesini arttırmıştır. Modifiye edilmemiş HNT'nin PCL içeren kompozitlere katılması durumunda belirgin ölçüde çap kalınlığının arttığı; bunun da viskozite artışından meydana geldiği belirtilmiştir. Yüzey modifiyeli HNT-APTES'in PLA:PCL nanolifleri içerisine, modifiye edilmemiş HNT'ye göre daha başarılı bir şekilde emdirilebildiği görülmüştür (H. J. Haroosh, Dong, Chaudhary, Ingram ve Yusa, 2013).

Oliveira ve diğerleri (2013), dokunmamış PLA, PEO ve PCL membranlarını elektro eğirme (ES) ve çözelti üfleyerek eğirme (SBS) yöntemleriyle hazırlamışlardır. Sırasıyla %6 (w/v) PCL çözeltisi DCM'de, %6 (w/v) PLA çözeltisi kloroform:aseton (3:1)'da, %6 (w/v) PEO çözeltisi DCM'de çözülerek üç ayrı polimer çözeltisi hazırlanmıştır. Elektro eğirme işlemi 2 µL/dk akış hızında, toplayıcı-iğne arası mesafe 12 cm olacak şekilde ve 24 kV voltaj uygulanarak gerçekleştirilmiştir. Çözelti üfleyerek eğirme işlemi ise 120 µl/dk akış hızında, 0.4 MPa hava basıncında ve 12 cm çalışma mesafesinde gerçekleştirilmiştir. Elde edilen liflerin karakterizasyonu için SEM, FTIR, XRD ve temas açısı yöntemleri kullanılmış; termal analizler gerçekleştirilmiştir. Lif morfolojisi analiziyle, polimer molekül ağırlığının, yüzey geriliminin ve polimer çözeltisinin buharlaşma hızının, lif çapına etki ettiği görülmüştür. PLA için iki yöntemde de uyumlu lif çapları gözlenmiştir. PCL için; SBS ile düzensiz lifler elde edilirken, ES ile daha düzenli bir yapı oluştuğu gözlenmiştir. PEO liflerinde ise, iki yöntemde de benzer çaplarda liflere ulaşılmıştır. Sonuç olarak bu iki yöntem karşılaştırıldığında, lif morfolojisi ve fiziksel özelliklerinin üretim

tekniğine ve polimer tipine bağlı olduğunu söylemişlerdir (Oliveira, Mattoso, Orts ve Medeiros, 2013).

Wang ve diğerleri (2013), çok tabakalı doku iskelesini üretmek için elektro eğirme yöntemini kullanmışlardır. İç tabaka doku yapışmasını önleyecek şekilde PLA'dan; orta tabaka PLA ve PCL den; dış tabaka ise hücre yapışmalarını ve çoğalmasını sağlayacak kolajen ve PLA içerecek şekilde hazırlanmıştır. Hazırlanan polimer çözeltisi sisteme 1 ml/sa akış hızında beslenmiş, iğne ve toplayıcı arasındaki mesafe 15 cm olarak belirlenmiştir. Toplayıcı olarak döner toplayıcı kullanılmıştır. 12-24 kV arasında gerilim uygulanmıştır. İç tabaka için %5 (w/v) PLA çözeltisi 1,1,1,3,3,3-hexafluoro-2-propanol (HFIP)'de çözülerek, orta tabaka için %6 (w/v) 1:1 PLA:PCL çözeltisi HFIP'de çözülerek ve dış tabaka için %6 (w/v) 4:1 kolajen:PLA çözeltisi HFIP'de çözülerek hazırlanmıştır. Elektro eğirme parametreleri 1 ml/sa akış hızı, 12-14 kV voltaj ve 15 cm iğne-toplayıcı arası mesafe olarak ayarlanmıştır. İç tabakadaki PLA beyin doku yapışmasını engellemiş böylece istenmeyen tepkilerin oluşmasının önüne geçilmiştir. Kolajen tabakası ise fibroblastların büyümesine olanak sağlamış ve ayrıca doku gelişimini ve yaraların iyileştirilmesini arttırmıştır. Dış tabaka ile hücre canlılığı ve büyümesi arttırmıştır. Böylece elde edilen doku iskelesiyle iç kısımda doku yapışması engellenirken dış kısımda hücre çoğalması sağlanabilmektedir. In vitro çalışmalar ve hayvan modeli, bu hibrit yapının yeterli mekanik dayanım ve biyokimyasal özellikleri gösterdiği belirtmiştir (Wang, Guo ve Ying, 2013).

Haroosh ve diğerleri (2014), ilaç taşıyıcı olarak beş farklı orandaki PLA/PCL (1:0, 3:1, 1:1, 1:3, 0:1) karışımını morfolojik yapı, kristalinite ve termal özellikleri açışından incelemiştir. Antibiyotik olarak tetrasiklin hidroklorür (TCH)'ü hacimce %1 ve %5 olmak üzere iki farklı konsantrasyonda kullanmışlardır. Elektro eğirme işleminde; %8 (wt/v) PLA başlangıçta %9 (wt/v) PCL ile beş farklı konsantrasyonda 2:1 (v/v) oranında kloroform:metanol karışımında çözülerek hazırlanmıştır. Ardından TCH de hacimce %1 ve %5 olarak iki farklı oranda, metanolde çözülerek hazırlanmıştır. İğne çapı 0,584 mm dir. Akış hızı 2 ml/sa, voltaj ise 25-28 kV, toplayıcı-iğne arası mesafe 13 cm olarak ayarlanmıştır. Lif çapları 300-800 µm aralığında elde edilmiştir. PCL oranının fazla olduğu karışımlarda (PLA:PCL=1:3 ve PLA:PCL=0:1) ortalama lif çapı 300 nm'lerden 700 nm'lere kadar yükselmiştir. Farklı karışımlardaki PLA/PCL için PCL oranı arttırıldıkça, viskozite 68 cP' den 138 cP' ye doğru artmıştır. Sadece PCL içeren karışımda en yüksek

viskozite oranına ulaşılmıştır (182 cP). (1:1) oranındaki PLA/PCL karışımına %1 ile %5 oranında TCH katılması durumunda lif çapı 364 nm (%1) den 302 nm (%5) ye düşmüştür. Bunun sebebi de elektriksel iletkenliğin artması ve küçük çapta liflerin elde edilmesindendir. Kristallenme özelliklerine bakıldığında TCH katılması spinlenmiş PLA/PCL liflerinin kristal yapısını çok etkilememiştir. Böylece TCH ilacının amorf yapıda iyi dağıldığı söylenmiştir. PCL lifleri yüksek kristalik derecede XRD piklerine sahipken, PLA lifleri baskın amorf fazlarını belirtmektedir. DSC sonuçlarında, PCL nin Tg ve Tm değerleri TCH değerleri 0' dan 5' e arttırıldıkça düşmüştür. Fakat PLA'nın Tm değeri için, karışım oranı ve TCH kullanımı çok fazla etki etmemiştir. FTIR analiz sonuçlarına göre TCH nanolifler içerisinde iyi şekilde dağılmıştır. TCH konsantrasyonu arttırıldıkça ilaç salımı da artmıştır (H. J. Haroosh, Dong ve Lau, 2014).

Dong ve ark. (2015) polilaktik asit (PLA) / halloysite nanotüp (HNT) kompozit membranlarını elektro eğirme yöntemi ile başarıyla üretmişlerdir. Ağırlıkça % 0, 1, 5 ve 10 oranlarında olmak üzere hem modifiye edilmiş hem modifiye edilmemiş HNT'ler BYK-9076 (Byk-Chemie marka yüksek molekül ağırlıklı kopolimer alkil amonyum karışımı) dağıtıcısı (dispersant) beraberinde PLA membranlarına takviye olarak eklenmiştir. Hazırlanan farklı oranlarda HNT katkılı %7'lik PLA çözeltisi 2:1 oranında kloroform:methanol çözücüsünde çözünmüştür. Elektro eğirme işlemi, 3.4 ml/sa akış hızı, 20 kV gerilim ve 13 cm mesafe parametrelerinde gerçekleştirilmiştir. Çalışma sonucunda ortalama ağırlıkça %5 ve %10 oranında modifiye HNT'lerle takviye edilmiş kompozit membranların lif çapları 1 mikron civarında bulunmuştur. Özellikle %5 ve %10 oranında modifiye HNT içeren liflerin daha düzgün ve düzenli yapıda elde edildiği gözlenmiştir. Modifiye edilmiş HNT katkısının lif çapını hatrı sayılır oranda arttırdığı gözlenmiştir. Bunun sebebinin, HNT'lerin çözeltiye eklenmesi ile viskozitenin artması olabileceği belirtilmiştir. Elektro eğirme sırasında HNT'nin aglomerasyonundan kaynaklanan tıkanma sorununun, HNT dispersiyonunun artırılmasıyla giderilebileceği belirtilmektedir. Ancak, çalışmada modifiye edilmiş HNT'ler için dağıtıcı kullanılması, PLA / modifiye HNT kompozit membranların lif çapını tersine azalttığı gözlenmiştir. HNT katkısının elde edilen membranların çekme özelliklerini de artırdığı belirtilmiştir. Sırasıyla %10 ve %1 oranında HNT eklenmiş membranlarda çekme modülü ve mukavemetinin maksimum %401 ve %134 değerlerine ulaştığı gözlenmiştir. Ayrıca, HNT katkısının lif membranlarının termal stabilitelerini de geliştirdiği belirtilmiştir. XRD sonuçları hiçbir HNT interkalasyon etkisinin olmadığını ve PLA moleküllerinin HNT'lerin dış yüzeylerine bağlanma

eğiliminde olduklarını göstermektedir. HNT modifikasyonun, aynı zamanda, kompozit membranların elastik modüllerinin ve kuvvetlerinin belirgin bir şekilde arttırdığı doğrulanmıştır (Dong ve diğerleri, 2015).

Sultanova ve diğerleri (2016), modifiye bir eş eksenli elektro eğirme yöntemi olan tamamen eğirilemeyen bir çözelti kullanarak çekirdek-kabuk liflerinin üretimini incelemişlerdir. Çalışmada bu teknik, polikaprolakton ile düşük uyumluluğa sahip olduğu bilinen hidrofilik bir ilacın (ampisilin) kontrollü salımını sağlamak için kullanılmıştır. PCL katmanıyla kaplı ampisilin yüklü PCL nanolifleri üretmek amacıyla, kısmen eğirilebilir kabuk akışkanı (% 4 (ağırlık / hacim) olarak polikaprolakton (PCL) ve tamamen eğirilebilen bir çekirdek akışkanı olarak (% 10 (ağırlık / hacim) PCL,% 2 (ağırlık / hacim) ampisilin çözeltisi kullanılmıştır. Araştırma sonuçlarına göre PCL ile kaplanmış ampisilin yüklü PCL nano lifleri, modifiye eş eksenli elektro eğirme işlemi ile başarıyla üretilmiştir. Kabuk sıvısı olarak % 4 (ağırlık / hacim) PCL çözeltisinin kullanılması, iğne ucunda daha az tıkanmaya, daha ince lif çaplarına ve ilacın sürekli salımına neden olmuştur. SEM görüntülerinden ortalama lif çapları sırasıyla, çekirdek akış hızı oranları için 464 ±214 nm ve 567± 180 nm olarak ölçülmüştür. Modifiye eş eksenli elektro eğirme ile sentezlenen çekirdek kabuklu yapı polarize mikroskopi ile gözlenmiştir. ATR-FTIR spektrumundan, PCL'nin hidrojen bağından dolayı ampisilin ile bir miktar uyumluluğa sahip olabileceği gösterilmiştir. İlaç salımı çalışmaları,% 4 (ağırlık / hacim) PCL ile kaplanmış nano liflerin, ilk 72 saat içinde sıfır dereceli ilaç salım kinetiğine yakın olan ideal bir kontrollü ampisilin salımı gösterdiğini kanıtlamıştır. Bu salım profilinin nedeni, difüzyon geciktirici bir bariyer görevi gören kabuk katmanı olarak belirtilmiştir. Öte yandan, çekirdek çözeltinin tek elektro eğirilmesi için ciddi bir ani salım (burst release) gözlenmiştir (Sultanova, Kaleli, Kabay ve Mutlu, 2016).

Williams ve diğerleri (2017), elektro eğirme yöntemiyle, aktif farmasötik içerikleri olan indometasin (IMC) veya mebeverin hidroklorür (MB-HCl) içeren çekirdek / kabuk liflerini hazırlamak için kullanmışlardır. Liflerin kabuk kısmı, pH'a duyarlı Eudragit S100 polimeri iken, ilaç yüklü çekirdek kısmı polietilen oksit (PEO) bazlı seçilmiştir.. Üç farklı ilaç yüklemesi (çekirdek kütlesinin % 9 ila 23'ü arasında olacak şekilde hazırlanmış) yapılmış ve MB-HCl için iki farklı PEO moleküler ağırlığı incelenmiştir. Elde edilen lifler genellikle pürüzsüz silindirlerden oluşmaktadır; ancak bazı durumlarda yüzey parçacıkları, düzleştirilmiş veya birleştirilmiş lifler gibi kusurlar görülmüştür. Geçirimli elektron

mikroskobuyla (TEM) tüm sistemlerin temiz çekirdek ve kabuk bölmelerine sahip olduğu gösterilmiştir. Çözünme testleri, liflerin asitli koşullarda temsili olarak salımı etkili bir şekilde önleyebileceğini göstermiştir (özellikle asidik olduğu için mide ortamında). pH 7,4 ortamına aktarıldıktan sonra, 6 ila 22 saat arasında sürekli salım gözlenmiştir. Test sonuçlarına göre PH 7.4 fosfat tamponunda 6 saat sonra,% 62 ila 94.6 arasında dahil edilen MB-HCl için ilaç salımı olmuştur. IMC için ise bu aralık % 65,1-78,7'dir. MB-HCl durumunda, ilaç içeriğindeki artışın 8 saat sonra salınan ilacın miktarını azalttığı ve bu eğilimin 24 saatlik zaman noktasında hala gözlendiği görülmektedir. Bu, ilacın temel yapısı ve liflerdeki kütle oranı arttıkça, nötr koşullarda çözünmeye yardımcı olmak için daha az polimer mevcut olduğu gerçeğiyle açıklanabilir. Bunlara ek olarak kullanılan PEO'nun moleküler ağırlığı, salım profillerinde kayda değer bir fark yaratmamaktadır (Jia, Gao ve Williams, 2017).

Zhang ve diğerleri (2018), modifiye edilmiş polilaktik-ko-glikolik asit (PLGA) ile modifiye edilmemiş PLGA çözeltilerinden elektro eğirme yöntemiyle iki farklı nanolif membranı oluşturarak ilaç salım profillerini karşılaştırmışlardır. PLGA'nın hidrofilikliğini artırmak için polietilen glikol (PEG) ile modifiye etmişlerdir. İlaç olarak amoksisilin (AMX) kullanmışlardır. %25(wt/v) konsantrasyondaki PLGA çözeltisini 3:1(v/v) THF:DMF çözücü karışımında çözerek hazırlamışlardır. Aynı şekilde %25'lik (wt/v) PLGA-PEG çözeltisi hazırlamışlardır. Hazırlanan her iki çözeltiye de PLGA yüzdesine göre sırasıyla %1,3 ve 5 oranlarında Amoksisilin (AMX) eklenmiştir. Elektro eğirme işlemi 18 kV gerilimde, 15 cm toplayıcı-iğne arası mesafede ve 0,8 ml/sa akış hızında gerçekleştirilmiştir. Oluşan lif membranları 2 gün vakum ortamında kurutularak yapısındaki organik çözücüler ve bileşenler uçurulmuştur. Bu işlemlerin sonucunda farklı oranlarda AMX içeren membranların ilaç salım profillerini incelemişlerdir. Elektro eğirme sonucunda oluşan liflerin SEM görüntülerinden düzgün ve düzenli morfolojiye sahip oldukları görünmektedir. %1 oranında AMX içeren AMX/PLGA ve AMX/PLGA-PEG liflerinin çapları sırasıyla 891 ± 195 nm ve 847 ± 206 nm olarak ölçülmüştür. Bu sonuç PEG ile modifiye edilmiş PLGA ile elde edilen liflerin çaplarının çok az değiştiğini, eğirilebilirliğe etkisinin neredeyse olmadığını göstermektedir. Aynı şekilde viskozitedeki değişimin de oldukça az olduğu görülmektedir. Her iki polimerden elde edilmiş liflerin ilaç salım profillerinin başlangıçta hızlı olduğunu, daha sonra oranın sabitlenerek salımın devam ettiği gözlemişlerdir. PLGA'nın PEG ile modifiye edilmesi liflerin hidrofilikliğini arttırmış, bunun sonucunda da modifiyesiz PLGA nanoliflerine kıyasla, PLGA-PEG

nanoliflerinden aynı koşullarda daha hızlı AMX salımı olduğunu gözlemişlerdir. Bunun, aralarındaki hidrofiliklik farkından ve AMX'in alıkonma özelliğinden kaynaklandığını belirtmişlerdir. Aynı zamanda PLGA-PEG membranında AMX molekülleri daha düzenli dağılmış; bu sayede daha iyi bir salım profili gözlemişlerdir (Zhang ve diğerleri, 2018).

4. DENEYSEL YÖNTEM

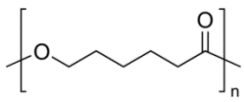
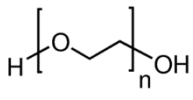
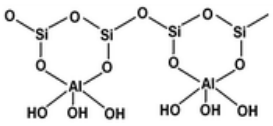
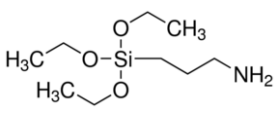
Yürütülen çalışma kapsamında, ilaç yüklenmiş/ yüklenmemiş kompozit nanolif membranların sentezi ve ilaç yüklü membranların ilaç salım profilinin incelenmesi amaçlanmıştır. Çalışmalara HNT yüzey modifikasyonu ile başlanmış; modifiye işlemlerinin tamamlanmasının ardından, nanolif sentezi gerçekleştirilmiş, elde edilen membranların karakterizasyon çalışmaları yapılmış ve ilaç salım profilleri incelenmiştir. Deneysel çalışmaların tamamı Gazi Üniversitesi Kimya Mühendisliği bölümünde gerçekleştirilmiştir.

Tez kapsamında kullanılan gereç/malzemeler ve deneysel yöntem aşağıda detaylandırılmıştır.

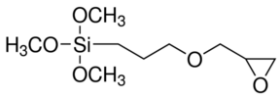
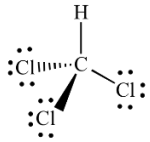
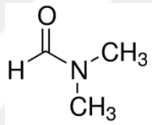
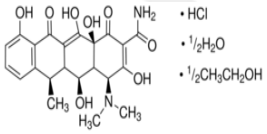
4.1. Deneyde Kullanılan Sarf Malzemeler

Deneysel çalışmalarda kullanılan sarf malzemeler, özellikleri, kimyasal formülleri ve tedarik edilen firma bilgileri Çizelge 4.1'de özetlenmiştir.

Çizelge 4.1. Sarf malzemeler-1

Malzeme	Malzeme Özellikleri	Kimyasal formülü	Tedarik Edilen Firma
Poli(kaprolakton) (PCL)	$(C_6H_{10}O_2)n$ M_A ~ 80 000 Tm = 60°C d = 1,145 g/ml		Sigma-Aldrich
Poli(etilen oksit) (PEO)	$(-CH_2CH_2O-)_n$ M_A ~ 300 000 Tm = 65°C d = 1,210 g/ml Viskozite: 600-1,200 cP (5 % H_2O'da)		Sigma-Aldrich
Halloysit	$Al_2Si_2O_5(OH)_4 \cdot 2H_2O$ M_A ~ 294,19 g/mol Gözenek boyutu: 1.26-1.34 mL/g Yüzey alanı: 64 m^2/g		Sigma-Aldrich
3-amino propil trietoksisilan (APTES)	M_A ~ 221,37 g/mol $C_9H_{23}NO_3Si$ > % 98,5 Tb = 217 °C / 760 mmHg d = 0.946 g/ml		Acros Organics

Çizelge 4.2. Sarf malzemeler-2

Malzeme	Malzeme Özellikleri	Kimyasal formülü	Tedarik Edilen Firma
3-glisidil oksi propil trimetoksisilan (GPTMS)	M_A ~ 236,34 g/mol $C_9H_20O_5Si$ > % 98 Tb = 120 °C / 2 mmHg d = 1,07 g/ml		Acros Organics
Kloroform	$CHCl_3$ ≥ % 99 M_A ~ 119,38 g/mol d = 1,492 g/ml Tb = 60-62^oC BB = 160 mmHg (20^oC)		Sigma-Aldrich
N,N-Dimetilformamid (DMF)	C_3H_7NO, ≥ %99 M_A ~ 73,09 g/mol d = 0,944 g/ml Tb = 153^oC BB = 2,7 mmHg (20^oC)		Sigma-Aldrich
Doksisiklin hiklat	$C_{22}H_{24}N_2O_8 \cdot HCl \cdot 0.5H_2O \cdot 0.5C_2H_6O$>%98 M_A ~ 1025,89 g/mol		Sigma-Aldrich, ABD
Fosfat tampon çözelti (PBS Tablet)	1 tablet + 200 ml deiyonize su için (0,01 M çözeltide); 0,0027 M KCl, 0,137 M NaCl pH=7,4 (25^oC)	-	Sigma-Aldrich, ABD

4.2. Deneyde Kullanılan Cihazlar

Deneysel çalışmalar kapsamında kullanılan cihazlar ve markaları Çizelge 4.3'de özetlenmiştir.

Çizelge 4.3. Kullanılan cihazlar

Cihaz Adı	Cihaz Markası
Elektro-eğirme sistemi	Teknotip, Türkiye
Şırınga pompası	New Era Pump Systems NE-1000
Güç kaynağı (DC)	Gamma High Voltage Research, Series ES, ABD
UV-Visible spektrofotometresi	PG Instruments T80+, AN-KA, Türkiye
Çalkalayıcılı su banyosu	Nüve, Türkiye
Vakumlu etüv	Binder, Almanya
Ultrasonik su banyosu	Bandelin Sonorex Super Ultrasonic Bath, Almanya
Atomik kuvvet mikroskobu (AFM)	XE-100E instrument, Park Systems, ABD
Taramalı elektron mikroskobu (SEM)	JEOL JSM 6060 LV, Japonya
Fourier transform infrared (kızılötesi) spektroskopisi (FT-IR)	Thermo Nicolet Avatar 370, ABD
Optik mikroskop	Meiji, Japonya

4.3. Elektro Eğirme Çalışmaları

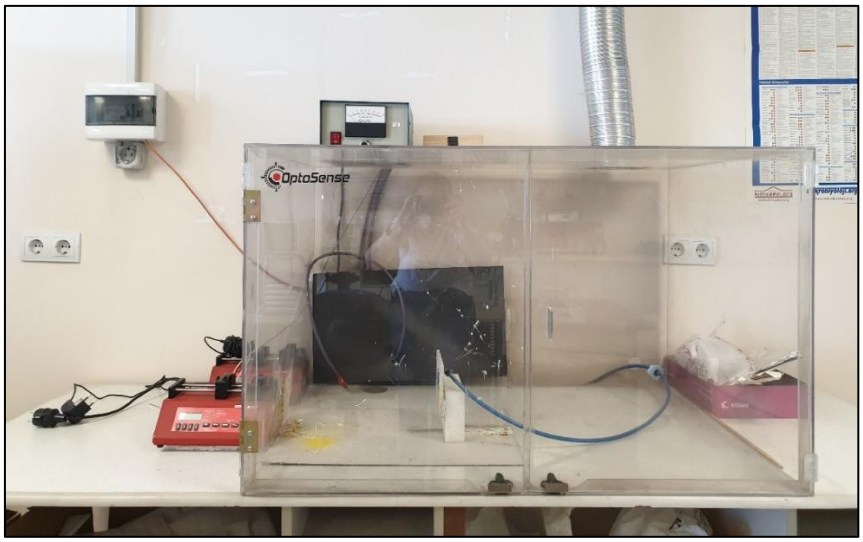
Yapılan ön çalışmalar ve literatür araştırmalarına dayanarak, ağırlıkça %18 (w/v) sabit PCL konsantrasyonuna belirlenen üç farklı oranda (% 0.5, 1.0 ve 1.5 (w/w)) hidrofilik özellikteki PEO eklenerek elektro eğirme işlemi gerçekleştirilmiş, morfolojik açıdan en iyi sonucu veren karışım belirlenmiştir. Seçilen PCL/PEO karışımına belirlenen üç farklı oranda (% 0.1, 0.3 ve 0.5 (w/w)) saf HNT eklenerek elektro eğirme işlemi gerçekleştirilmiştir. İki farklı yüzey modifikasyonu uygulanmış HNT-APTES ve HNT-GPTMS kil katkıları %0.3 (w/w) oranında, PCL/PEO karışımına eklenerek elektro eğirme işlemi gerçekleştirilmiştir. Sonuç olarak, seçilen her bir karışıma ise %5 (w/w) oranında doksisiklin hiklat yüklemesi yapılmıştır. Her bir çözelti 10 ml olacak şekilde, hacimce 90:10 (v/v) oranında kloroform:DMF karışımında çözülerek hazırlanmıştır. Yalnızca polimer içeren çözeltiler, çözücü içerisine belirlenen oranda polimerler eklendikten sonra oda sıcaklığında 24 saat manyetik karıştırıcıda karıştırılarak hazırlanmıştır. Kil katkılı polimer çözeltileri ise, yine polimer ve kil çözücü içerisine belirlenen oranlarda eklendikten sonra, ilk olarak oda sıcaklığında 24 saat manyetik karıştırma, daha sonra 2 saat ultrasonik karıştırma yapılarak hazırlanmıştır.

Sentezlenen kompozit nanolif membranlarının içerikleri Çizelge 4.4'te belirtilmiştir.

Çizelge 4.4. Sentezlenen kompozit nanolif membranlarının adlandırılması ve içerikleri

Adlandırma	Membran Bileşenleri	PCL %(w/v)	PEO %(w/w)	Kil %(w/w)	DOXH %(w/w)
M1	PCL	18	-	-	-
M2	PCL - PEO	18	0.5	-	-
M3	PCL - PEO	18	1.0	-	-
M4	PCL - PEO	18	1.5	-	-
M5	PCL – PEO - DOXH	18	1.0	-	5
M6	PCL – PEO - HNT	18	1.0	0.1	-
M7	PCL – PEO - HNT	18	1.0	0.3	-
M8	PCL – PEO - HNT	18	1.0	0.5	-
M9	PCL – PEO – HNT - DOXH	18	1.0	0.3	5
M10	PCL – PEO – HNT/APTES	18	1.0	0.3	-
M11	PCL – PEO – HNT/APTES - DOXH	18	1.0	0.3	5
M12	PCL – PEO – HNT/GPTMS	18	1.0	0.3	-
M13	PCL – PEO – HNT/GPTMS - DOXH	18	1.0	0.3	5

Hazırlanan çözeltiler 10 ml'lik plastik şırıngadan sisteme beslenmiştir. Şırınganın metal iğne ucu 0-40 kV DC voltaj üreten güç kaynağı elektroduna bağlanmıştır. Şırınga akış hızı ayarlanabilen pompa yardımıyla sisteme beslenmiştir. Şırınga ucuna 15-17,5 kV aralığında elektriksel potansiyel uygulanırken, çözeltiler 0.4 – 1.0 ml/sa aralığında akış hızı ile sisteme beslenmiştir. Eğirilen lifler, alüminyum folyo ile kaplı levha toplayıcıya 15-20 cm aralığındaki uzaklıklarda biriktirilerek nanolif membranları elde edilmiştir. Kullanılan elektro eğirme sistemi Resim 4.1'de gösterilmiştir. Yapılan ön çalışmalar doğrultusunda belirlenen optimum elektro eğirme parametreleri Çizelge 4.5'de verilmiştir.



Resim 4.1. Elektro eğirme sistemi

Çizelge 4.5. Çözeltilere göre elektro eğirme parametreleri

Adlandırma	Membran Bileşenleri	Akış hızı (ml/sa)	Toplayıcı – iğne arası mesafe (cm)	Uygulanan voltaj (kV)
M1	18% PCL	0.4	17.5	15
M2	18% PCL - 0.5% PEO	0.5	15	15
M3	18% PCL - 1.0% PEO	0.5	15	15
M4	18% PCL - 1.5% PEO	0.5	15	15
M5	18% PCL - 1.0% PEO - 5% DOXH	0.5	17.5	15
M6	18% PCL - 1.0% PEO -0.1% HNT	0.5	15	15
M7	18% PCL - 1.0% PEO - 0.3% HNT	0.5	22.5	17.5
M8	18% PCL - 1.0% PEO - 0.5% HNT	0.5	17.5	15
M9	18% PCL - 1.0% PEO - 0.3% HNT - 5% DOXH	0.5	15	15
M10	18% PCL - 1.0% PEO - 0.3% HNT-APTES	0.5	15	15
M11	18% PCL - 1.0% PEO - 0.3% HNT-APTES - 5% DOXH	0.5	15	15
M12	18% PCL- 1.0% PEO - 0.3% HNT-GPTMS	1.0	15	15
M13	18% PCL - 1.0% PEO - 0.3% HNT-GPTMS - 5% DOXH	1.0	20	15

4.4. HNT Yüzey Modifikasyonu

HNT'nin polimer matrisi içerisinde homojen dağılımını sağlamak, hidrofilikliğini artırmak, mekanik ve biyolojik özelliklerini geliştirmek amacıyla yüzey modifikasyonu gerçekleştirilmiştir. Yüzey modifikasyonu için 3-amino propil trietoksisilan (APTES) ve 3-glisidil oksi propil trimetoksisilan (GOPTMS) olmak üzere iki çeşit silanlı kaplama ajanı kullanılmıştır.

Yapılan literatür taraması sonucunda, yüzey modifikasyonu için sırasıyla aşağıdaki adımlar izlenmiştir.

1) Yüzey modifikasyonu yapılmadan önce HNT'nin yapısındaki havadan absorplanan nemin uzaklaştırılması için, 40^{o}C'de 2 saat süreyle Binder marka vakumlu etüvde kurutulmuştur (Bkz.Resim 4.2).
2) Kurutma sonrası, 2 g HNT 30 ml kloroformda çözülerek bir çözelti hazırlanmıştır.
3) Hazırlanan HNT çözeltisine, APTES (3-amino propil trietoksisilan) ile modifikasyon için 2 ml APTES çözeltisi, GPTMS (3-glisidil oksi propil trimetoksisilan) ile modifikasyon için 2 ml GPTMS çözeltisi ilave edilmiştir.
4) APTES ve GPTMS'nin yapısındaki silan gruplarının, HNT'nin yapısına bağlanabilmesi için oda sıcaklığında ultrasonik banyoda 1 saat boyunca karıştırılmıştır.
5) Ultrasonik banyo sırasında sıcaklık artışı olduğu için çözeltiyi oda sıcaklığında tutabilmek adına su banyosuna buz eklenmiştir.
6) Karışımdaki çözücüyü buharlaştırabilmek için 120^{o}C'de 6-8 saat arası manyetik karıştırıcıda ağzı açık olarak karıştırılmıştır.
7) Çözücü uçurulduktan sonra modifiye HNT'de kalan fazla çözücü süzgeç kağıdı ile süzülmüş, süzüldükten sonra karışım kloroform ile 2 kez yıkanmıştır.
8) Yıkama sonrasında modifiye HNT'deki tüm çözücülerin uçması için 120^{o}C'de vakum altında 24 saat kurutulmuştur.



Resim 4.2. Vakumlu etüv kurutucu

4.5. Karakterizasyon Çalışmaları

4.5.1. Optik mikroskop ile yüzey karakterizasyonu

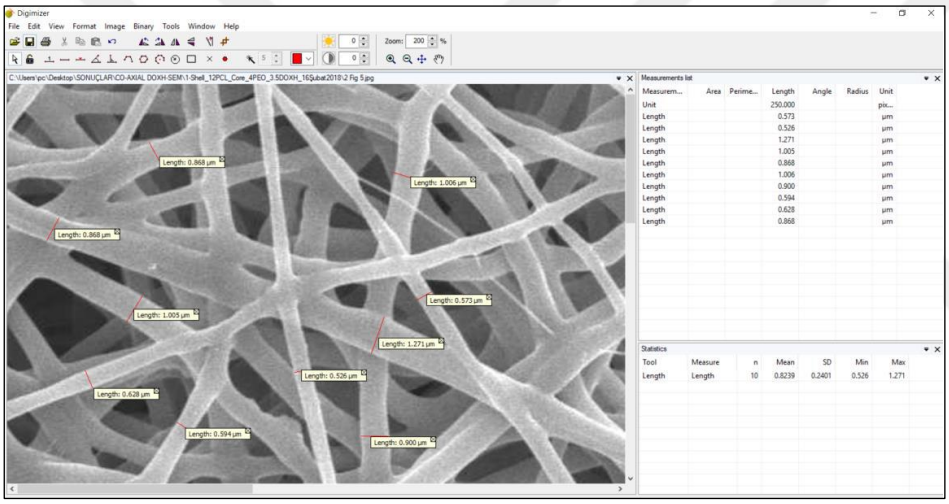
Elektro eğirme yöntemi ile üretilen nanolif membranlarının nihai üretiminden önce yapılan ön deneyler ve üretim parametrelerinin optimizasyonunu sağlamak amacıyla Meiji marka optik mikropskop ile görüntüler alınarak yüzey karakterizasyonu incelenmiştir (Bkz.Resim 4.3). Membran eldesi öncesinde lifler lamel üzerine beslenerek, liflerin 4x, 10x, 20x ve 40x büyütmede görüntüleri incelenmiştir.



Resim 4.3. Optik mikroskop

4.5.2. Taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile yüzey karakterizasyonu

Elektro eğirme yöntemi ile üretilen nanolif membranlarının yüzey karakterizasyonu Gazi Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü'ndeki JEOL JSM 6060 LV marka taramalı elektron mikrokobu (SEM) ile 10-15 kV voltaj aralığında incelenmiştir Analiz öncesinde numuneler altın-paladyum ile kaplanmış, 1000x, 2500x, 5000x ve 10000x büyütmede görüntüler alınmıştır. Alınan görüntüler üzerinden Digimizer programı yardımıyla ortalama lif çapı hesaplanmıştır (Bkz. Resim 4.4). Görüntüler program yardımıyla açılarak ölçü skalası belirlenmiş, ilgili görüntüden rastgele 6 farklı lif çapı ölçülerek program yardımıyla ortalamaları alınmıştır.



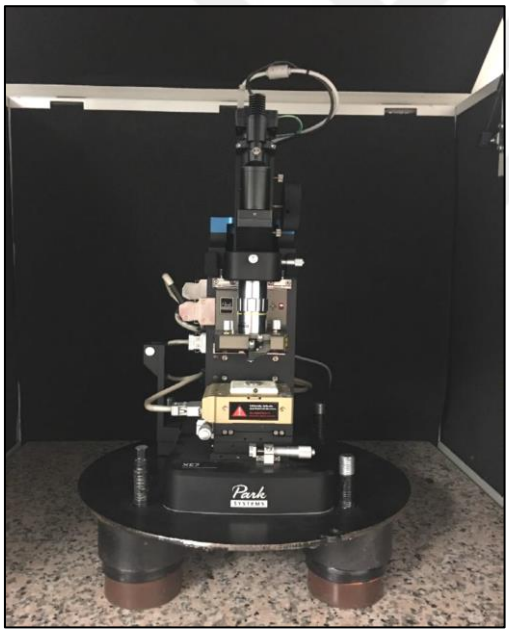
Resim 4.4. Digimizer ile ortalama nanolif çapı ölçümü

4.5.3. Atomik kuvvet mikroskobu (AFM) ile yüzey karakterizasyonu

Elektro eğirme ile üretilen nanoliflerin yüzey topoğrafyası ve mekanik dayanımı XE-100E instrument, Park Systems marka atomik kuvvet mikroskobu (AFM) ile gerçekleştirilmiştir (Bkz. Resim 4.5). Lamellere beslenen tekli nanoliflerin 20 x 20 μm^2'lik alanda piezo tarayıcıyla yüzey topografya görüntüleri taranarak kaydedilmiştir. Topografya analizleri oda koşullarında, 1 Hz tarama hızında ve temassız (non-contact) modda gerçekleştirilmiştir.

4.5.4. İndentasyon

Sentezlenen nanolif membranların mekanik dayanımları, AFM cihazıyla indentasyon yapılarak belirlenmiştir. Lamel üzerine alınan tekli nanolif numuneleri üzerinde rastgele 3 nokta seçilerek nanoindentasyon testi yapılmıştır. Nanoindentasyon testi 0.3μm/s girintileme hızında, hiç gecikme olmadan ve maksimum 2.813 μN (≈3 μN) yükleme yapılarak gerçekleştirilmiştir. Hertz Matematiksel model kullanılarak, nanoindentation test ile polimerik yapıdaki single fiberler için Young modül değerleri hesaplanmıştır. Young modül hesaplanırken nanokompozit içerisindeki derişimi, takviye elemanına nazaran çok daha fazla olan polimerin (PCL) Poisson oranı kullanılmıştır. Hesaplamalarda örneğin poisson oranı 0.33 olarak alınmıştır. Topografya, ortalama çap, yükseklik ve young modül dahil tüm hesaplamalar XEI-7 programı kullanarak yapılmıştır.



Resim 4.5. Atomik kuvvet mikroskobu (AFM)

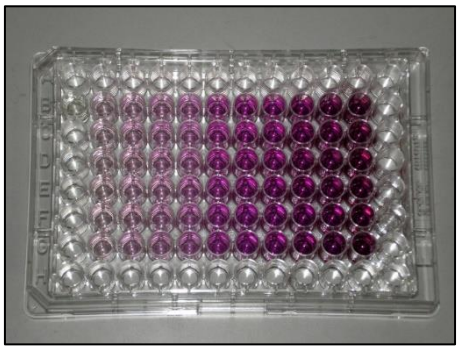
4.5.4. FTIR ile kimyasal yapı analizi

Modifiye edilmiş/edilmemiş, ilaç katkılı/katkısız nanolif membranlarının kızılötesi ışın absorpsiyonu 4000-500 cm-1 dalga boyu aralığında analiz edilerek karakteristik pikleri incelenmiştir.

4.5.5. Hücre kültürü çalışması (MTT)

Elektro eğirme ile elde edilen ilaç yüklü nanolif membranlarının sitotoksisiteleri hücre kültürü çalışması ile in vitro çalışmayla belirlenmiştir. Canlı hücrelerin mitokondrilerindeki süksinat dehidrojenaz enzimine bağlanabilen MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenilteteeazolyum bromür) maddesi sarı renkli olup, enzime bağlandıktan sonra koyu mavi renkli formazan kristalleri oluşturmaktadır. Oluşan kristaller suda çözünmezken, DMSO gibi çözücülerde çözünebilmektedir. MTT'nin renk değişikliği ile gözlenebilen bu özelliği sayesinde hücre canlılığı kantitatif ve kalorimetrik bir yöntem olarak ölçülebilmektedir.

MCF-7 (insan meme kanseri) hücre hattıyla yapılan bu çalışmada, öncelikle canlılık ölçümü yapılacak nanolif membranlarının etilen oksit ile sterilizasyonu gerçekleştirilmiştir. Hücreler, 75 cm^{-1} kültür flasklarında %10 Fetal bovin serum (FBS), %1 penisilin/streptomisin içeren ve 2 mM L-glutamin içeren Dulbecco's modified Eagle's medium (DMEM) içerisinde, nemlendirilmiş %5 CO_2/%95 hava ve 37^oC koşullarda çoğaltılmıştır. Nanolif membran numuneleri ve besi ortamında çoğaltılan hücreler 24 bölmeli plakalara (Bkz. Resim 4.6) alınarak, 37^oC'de inkübatörde 24-48 saat boyunca inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrasında her bir bölme MTT çözeltisi ile işaretlenerek 2-4 saat daha CO_2'li inkübatörde inkübe edilmiştir. Daha sonra her bir bölmeye DMSO eklenerek oluşan MTT kristalleri çözdürülmüş ve bölmelerin absorbans değerleri ELİSA Reader mikroplaka okuma cihazı ile okunarak absorbans değerleri hesaplanmıştır. Kontrol grubu olarak nanolif membran numuneleri eklenmemiş hücreler inkübe edilmiştir.

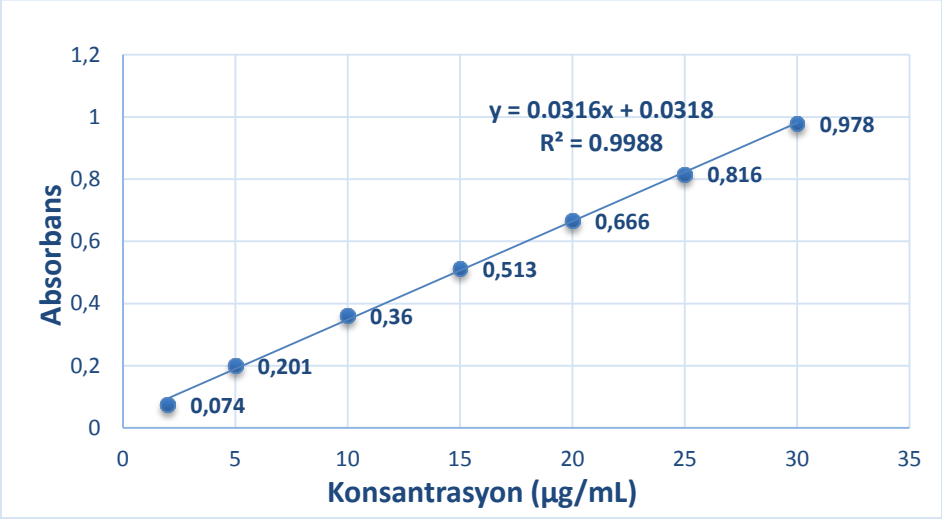


Resim 4.6. MTT sitotoksisite testi plakaları

4.6. Miktar Tayini ve İn Vitro İlaç Salım Çalışmaları

Nanolif membranlarındaki ilaç derişimi ile absorbans değerleri arasındaki ilişkiyi belirlemek amacıyla öncelikle kalibrasyon grafiği oluşturulmuştur. Hazırlanan çözeltilerin absorbans değerleri AN-KA PG Instruments T80+ marka UV-Vis spektrofotometre (Bkz. Resim 4.7) cihazı ile ölçülmüştür.

Nanolif membranlarına yüklenen ve membranlardan salımı gerçekleşen ilaç miktarlarını tayin edebilmek amacıyla, iki farklı çözelti ortamında hazırlanmış doksisiklin hiklat çözeltisinin UV-Vis spektrofotometre ile absorbansları ölçülerek 2 ayrı kalibrasyon grafiği oluşturulmuştur. İlk çözelti elektro eğirme çözeltisinin de hazırlandığı ortam olan kloroform:DMF = 90:10 çözücüsünde doksisiklin hiklat 5-40 ppm arasında değişen 8 farklı konsatrasyonda olacak şekilde çözülerek hazırlanmıştır. Hazırlanan çözeltilerin absorbansları ölçülerek absorbans-konsantrasyon grafiği oluşturulmuştur. Doksisiklin miktar tayini hesaplamaları için oluşturulan kalibrasyon grafiği Şekil 4.1'de verilmiştir.



Şekil 4.1. DOXH miktar tayini kalibrasyon grafiği

Elde edilen nanolif membranlarından 1 cm x 1 cm boyutlarında numuneler kesilerek ağırlıkları ölçülmüştür. Kesilen numuneler 10 ml kloroform:DMF (90:10 v/v) karışımında çözülerek 24 saat boyunca oda sıcaklığında manyetik karıştırıcıda karıştırılmıştır. Karışım sonrası UV-Vis spektrofotometre ile 350 nm dalga boyunda absorbans değerleri okunmuştur. Oluşturulan kalibrasyon grafiği (Şekil 4.1) yardımıyla okunan absorbans

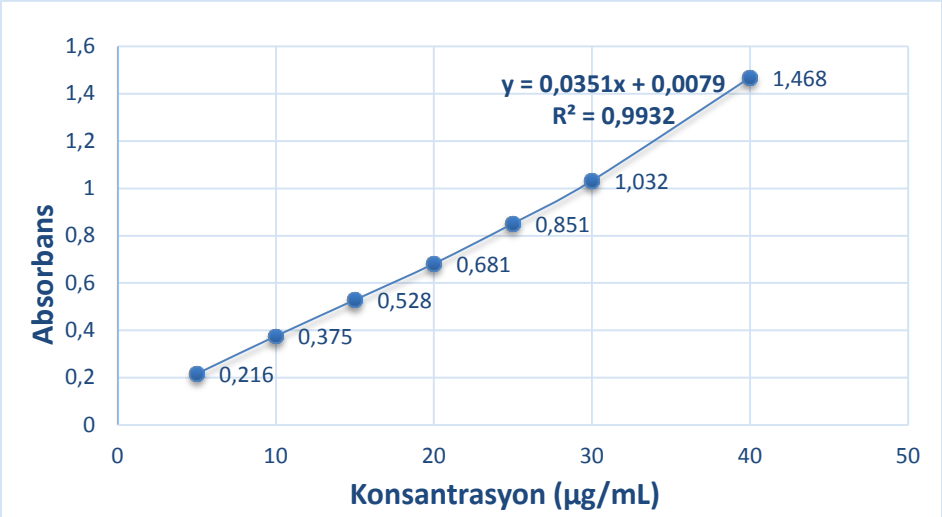
değerlerine karşılık gelen konsantrasyonlar belirlenerek membranlara yüklenen ilaç miktarı hesaplanmıştır.



Resim 4.7. UV-Vis spektrofotometre cihazı

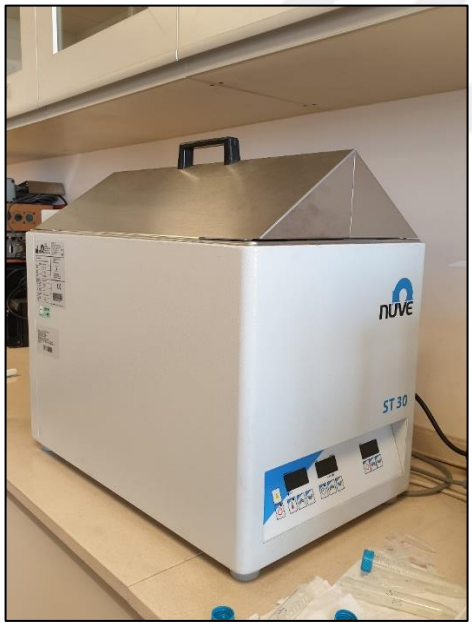
İn vitro ilaç salım çalışmaları, insan vücut ortamını simule etmek için benzer sıcaklık ve pH'ta (pH=7,4 , T=37^{o}C) çalışılmıştır. 7,4 pH'ı sağlamak amacıyla 0,01 M PBS çözeltisi kullanılmıştır. Sentezlenen membranlardan salımı gerçekleşen kümülatif ilaç miktarının belirlenebilmesi için, in vitro salım çalışmalarının gerçekleştirildiği PBS ortamında 5-40 ppm arasında değişen 8 farklı konsantrasyonda doksisiklin hiklat çözeltisi hazırlanarak absorbansları UV-Vis spektrofotometre ile ölçülmüş ve absorbans-konsatrasyon grafiği oluşturulmuştur. Doksisiklinin salım hızı tayini için oluşturulan kalibrasyon grafiği Şekil 4.2'de verilmiştir.

Salım profili belirlenecek ilaç yüklü nanolif membranından 1 cm x 1 cm numune kesilerek ağırlığı kaydedilmiştir. Daha sonra kesilen 1 cm x 1 cm membran, 30 ml PBS çözeltisine atılmış (200 ml saf suda 1 tablet çözünerek hazırlanmıştır) ve ilaç salımı gözlenmek üzere Nüve marka çalkalayıcı su banyosunda (Bkz. Resim 4.8), 37^{o}C'de 50 rpm'de karıştırılmaya başlanmıştır. Belirli zaman aralıklarında salım ortamından 1 ml'lik numuneler alınarak UV-Vis spektrofotometre cihazı ile 1100-190 nm dalga boyu aralığında absorbansları ölçülmüştür. Salım ortamından alınan her 1 ml'lik numuneye karşılık, ortama 1 ml taze PBS çözeltisi eklenerek hacim sürekli sabit tutulmuştur. Kalibrasyon grafiği (Şekil 4.2) yardımıyla, ölçülen absorbans değerine karşılık gelen konsantrasyon belirlenerek 1 ml'lik numunedeki ilaç konsatrasyonu hesaplanmıştır.



Şekil 4.2. DOXH salım hızı tayini kalibrasyon grafiği

Deneysel çalışmalarda kullanılan Nüve marka çalkalayıcı su banyosu Resim 4.8'de verilmiştir.



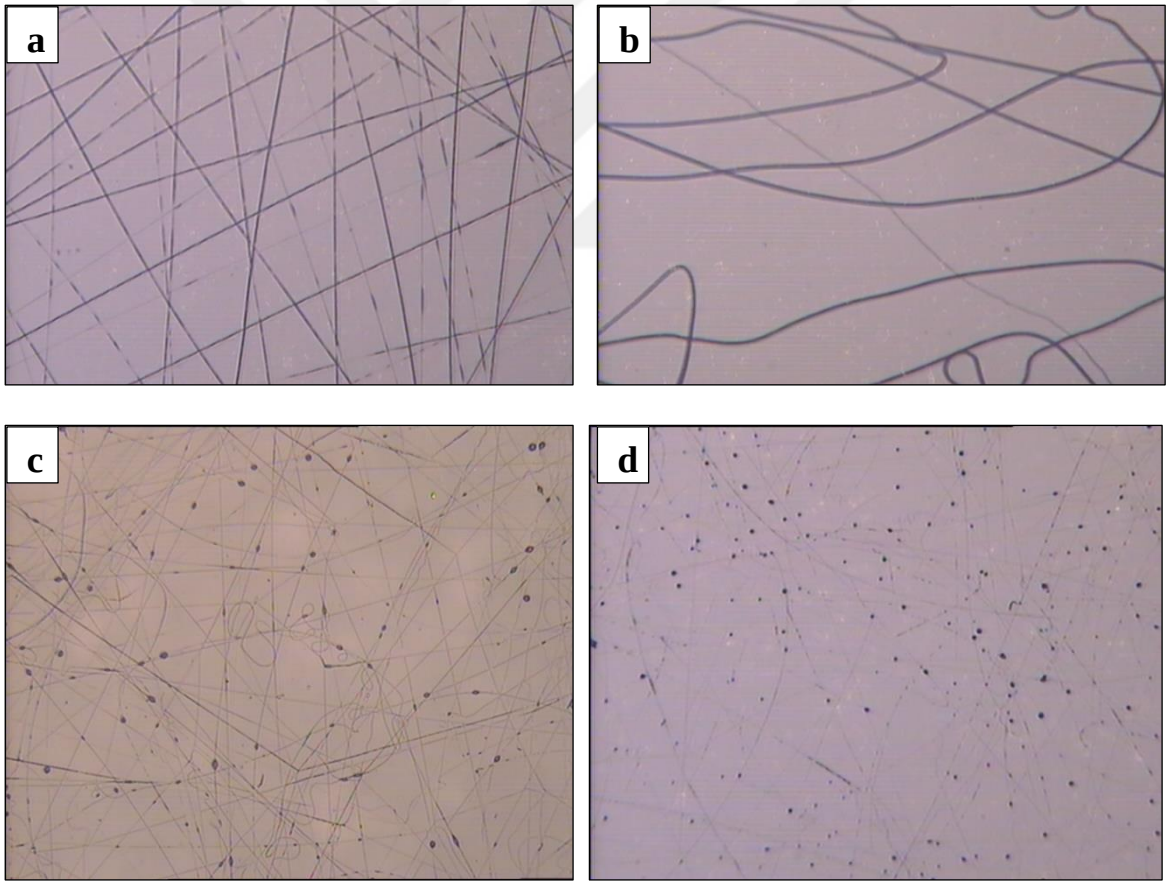
Resim 4.8. Sıcaklık kontrollü çalkalayıcı su banyosu

5. BULGULAR VE TARTIŞMA

5.1. Morfolojik Analiz Sonuçları

5.1.1. Optik mikroskop görüntüleri

Elde edilen nanoliflerin yüzey morfolojisini incelemek amacıyla ilk olarak optik mikroskop görüntüleri incelenmiştir. Nanolif membranlarının nihai üretimine geçmeden önce, üretim parametrelerini optimize edebilmek amacıyla optik mikroskop görüntülerinden faydalanılmıştır. Farklı konsantrasyonlardaki her bir çözelti için optimum parametreler belirlenene kadar parametreler değiştirilerek toplayıcı üzerine yerleştirilen bir lamel üzerine lif numuneleri alınmış ve morfolojileri optik mikroskopta incelenmiştir.



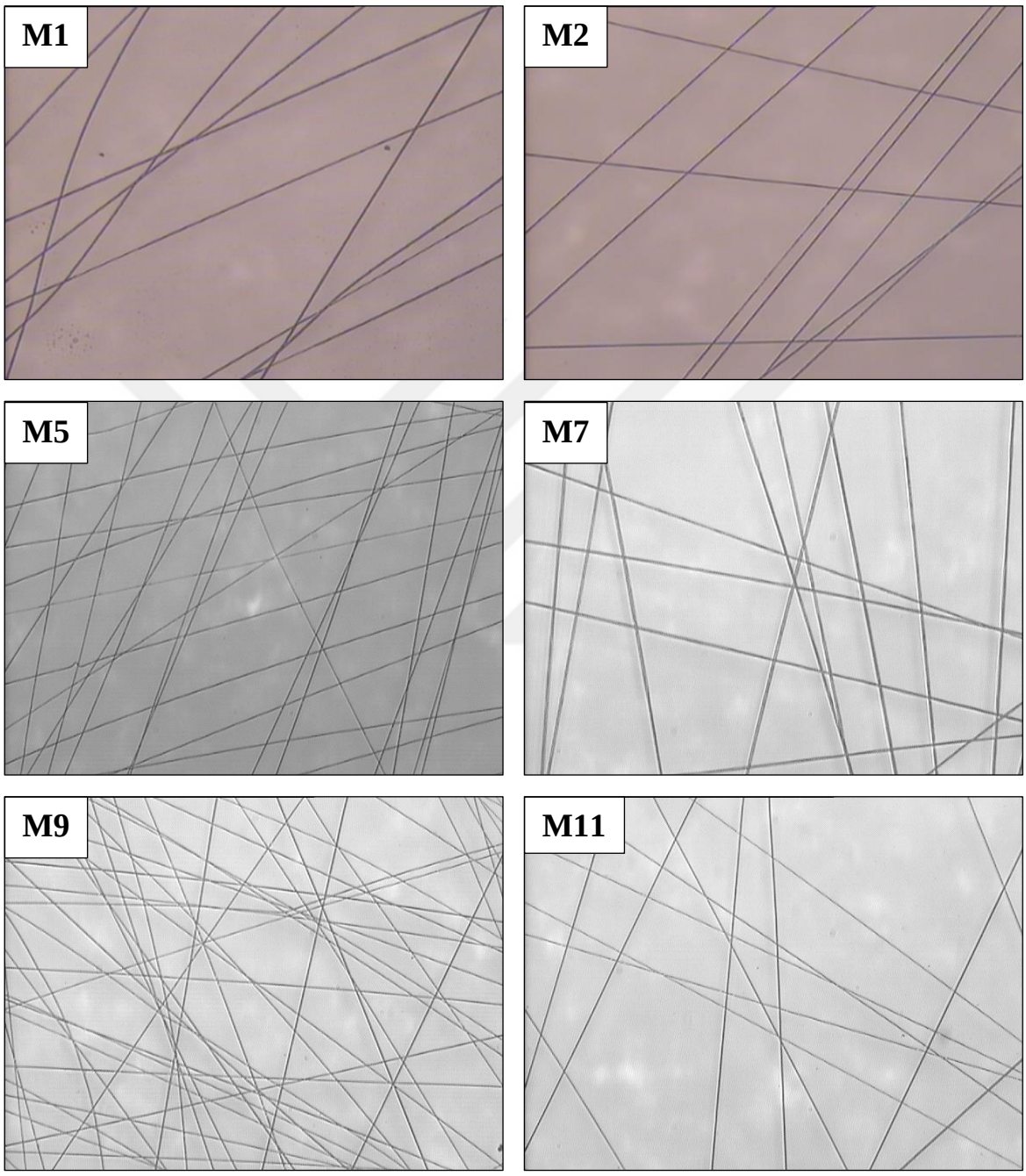
Resim 5.1. Ön deneylerde elde edilen nanoliflerin optik mikroskop görüntüleri; (a) %18 PCL - Kloroform:DMF=70:30, (b) %15 PCL – Kloroform, (c) %12 PCL – DMF:DCM=80:20, (d) %18PCL – DMF

Üretilen kompozit nanolif membranlarının matrisi PCL olduğundan, öncelikle PCL'nin elektro eğirme parametrelerini optimize etmek amacıyla ön deneyler gerçekleştirilmiştir. Yapılan ön deneylerde farklı çözücülerle, farklı oranlarda çözeltiler hazırlanmış, farklı parametrelerle denemeler yapılarak polimer çözeltisi optimize edilmeye çalışılmıştır. Resim 5.1'de yapılan bazı ön deneylerle elde edilen liflerin optik mikroskop görüntüleri verilmiştir.

Düşük konsantrasyonda viskozite düşük olduğundan yeterli jelleşme oluşamamakta ve çözelti yüzey geriliminin üstesinden gelememektedir; bundan dolayı elektro eğirme işlemi sırasında düzgün jet oluşumu sağlanamamaktadır(Kanani ve Bahrami, 2011; Yang ve diğerleri, 2004). Resim 5.1 (c)'de göründüğü gibi, boncuklu yapı ve liflerin bir arada oluşumunun sebebi, düşük viskoziteli çözeltinin yüzey geriliminin üstesinden gelememesi kaynaklıdır. İşlem sırasında yüksek voltajlara çıkılsa bile yeterli jelleşme/viskozite sağlanamadığı için düzgün jetler oluşmayacak, yani boncuk oluşumu kaçınılmaz olacaktır. Benzer şekilde Resim 5.1 (d)'de boncuklu ve düzensiz lif yapısının görülmesinin sebebi ise, çözücü seçiminden kaynaklanmaktadır. Konsantrasyonun artırılması ile boncuklar küresel halden yassı hale dönüşerek optimum seviyeye geldiğinde yok olmuştur. Düzgün lif eldesi için seçilen çözücünün iletken ve uçuculuğu yüksek olması istenmektedir (Haider ve diğerleri, 2015). Resim 5.1 (d)'de çözücü olarak yalnızca DMF kullanılması uçuculuğun yetersiz kalmasına sebep olmuştur. Resim 5.1 (a)'da, konsantrasyon ve çözücü kullanımı uygun olsa da jetlerin satabil olmaması nedeniyle oluşan lifler düzensiz yapıdadır. Bunun sebebi uygulanan voltaj, mesafe ya da akış hızı kombinasyonunun doğru oluşturulmaması olabilir. Aynı şekilde Resim 5.1 (b)'de oluşan liflerin kararsız yapıda olması, yüzey geriliminin fazla ya da az olması nedeniyle jet oluşumunun düzgün olmamasından dolayıdır.

Yapılan ön deneyler sonucunda hem iletkenlik hem de uçuculuğu optimum seviyede tutabilmek için 90:10 kloroform:DMF çözücüsü ile %18(w/v)'lik PCL çözeltisinin hazırlanmasına karar verilmiştir ve optimum elektro eğirme parametreleri belirlenmiştir. Çizelge 4.5'de içerik ve üretim parametreleri detaylandırılan M1, M2, M5, M7, M9 ve M11 membranlarına ait optik mikroskop görüntüleri Resim 5.2'de verilmiştir. Elektro eğirme işlemi sırasında oluşan jetlerin doğrusallığı ve Taylor konisinin tam olarak gözlenebilmesi sonucunda, lifler kararlı, yönelimleri düzgün ve boncuksuz yapıda elde edilmiştir. İlk etapta morfolojiyi analiz edebilmek için kullanılan optik mikroskop

görüntüleri bu durumu desteklemektedir. Optik mikroskop görüntüleriyle boncuksuz, düzenli ve kararlı lif oluşumunun sağlandığı parametreler belirlendikten sonra alüminyum toplayıcı üzerine 2 saatlik beslemelerle nihai nanolif membranları üretilmiştir.



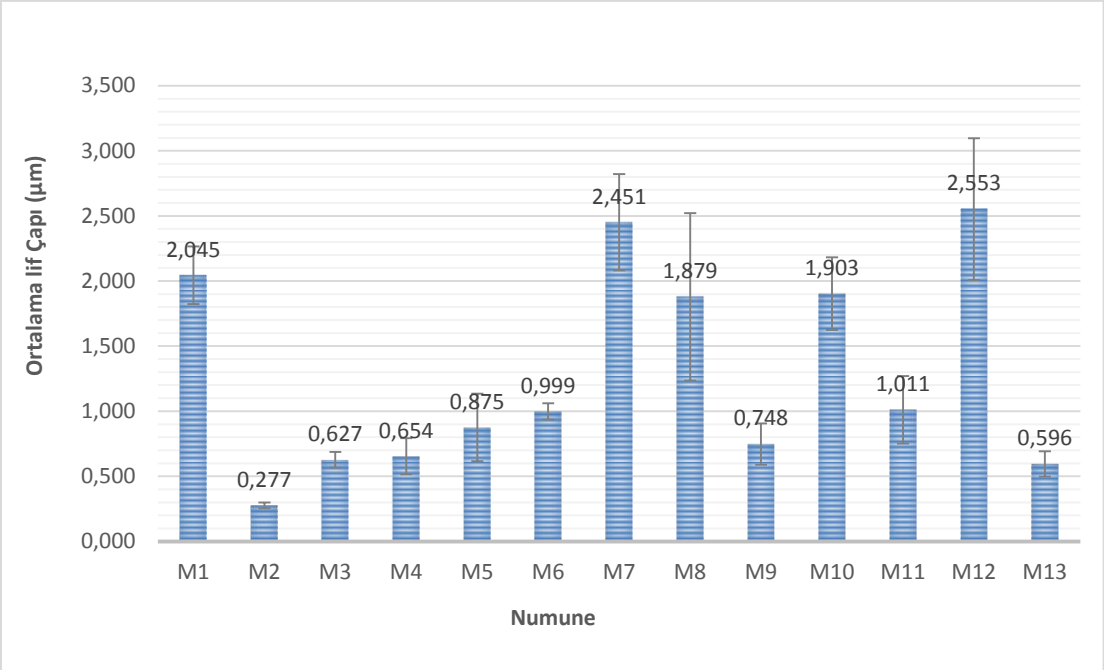
Resim 5.2. Elde edilen nanoliflerin optik mikroskop görüntüleri (10x büyütme); saf PCL (M1), PCL/0.5 PEO (M2), PCL/ %1.0 PEO/DOX (M5), PCL/ %1.0 PEO/ %0.3 HNT (M7), PCL/ %1.0 PEO/ 0.3 HNT/%5 DOX (M9), PCL/ %1.0 PEO/ %0.3 HNT-APTES/ %5 DOX (M11)

5.1.2. SEM görüntüleri

Elektro eğirme yöntemi ile membranların (M1-M13) üretimi sonrasında yüzey morfolojileri yüksek çözünürlüklü taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile incelenmiştir. 1 000x – 10 000x büyütme aralığında görüntüler alınmıştır. Liflerin ortalama çap değerleri Digimizer programı yardımıyla rastgele 6'şar adet lif seçilerek hesaplanmıştır. Bulunan ortalama lif çapı değerleri Çizelge 5.1 ve Şekil 5.1'de verilmiştir.

Çizelge 5.1. Numunelerin ortalama lif çapları

Adlandırma	Numune	Ortalama lif çapı (nm)
M1	18% PCL	2 045 ± 221
M2	18% PCL - 0.5% PEO	277 ± 22
M3	18% PCL - 1.0% PEO	627 ± 6
M4	18% PCL - 1.5% PEO	654 ± 139
M5	18% PCL - 1.0% PEO - 5% DOXH	875 ± 26
M6	18% PCL - 1.0% PEO -0.1% HNT	999 ± 63
M7	18% PCL - 1.0% PEO - 0.3% HNT	2 451 ± 369
M8	18% PCL - 1.0% PEO - 0.5% HNT	1 879 ± 643
M9	18% PCL - 1.0% PEO - 0.3% HNT - 5% DOXH	748 ± 159
M10	18% PCL - 1.0% PEO - 0.3% HNT-APTES	1 903 ± 279
M11	18% PCL - 1.0% PEO - 0.3% HNT-APTES - 5% DOXH	1 011 ± 26
M12	18% PCL- 1.0% PEO - 0.3% HNT-GMPTS	2 553 ± 545
M13	18% PCL - 1.0% PEO - 0.3% HNT-GMPTS - 5% DOXH	596 ± 97

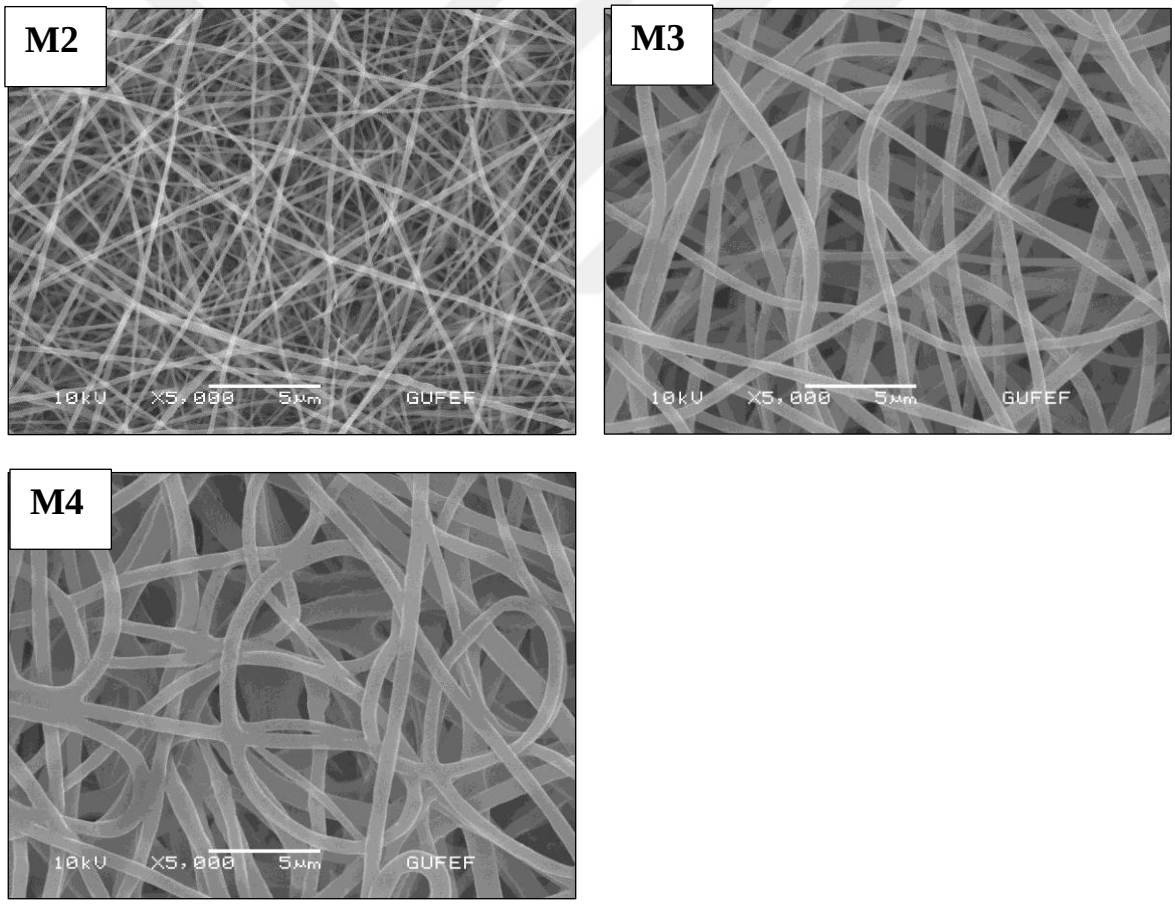


Şekil 5.1. Numunelerin ortalama lif çapları

Resim 5.3'te %18 (w/v) PCL'ye %0.5 (w/w), %1.0 (w/w) ve %1.5 (w/w) olmak üzere 3 farklı oranda PEO eklenerek sentezlenen nanolif membranlarının (M2, M3, M4) 5 000x büyütmedeki görüntüleri verilmiştir. M2, M3, M4 membranlarının üretimleri sırasında Çizelge 4.5'te de belirtildiği gibi, çözelti 0.5 ml/sa akış hızı ile 2 saat süreyle beslenmiş, iğne ucu ile toplayıcı arasındaki mesafe 15 cm olarak ayarlanmış ve 15 kV voltaj uygulanmıştır. Ortalama çap değerleri sırasıyla M2 için 277 ± 22 nm, M3 için 627 ± 6 nm, M4 için 654 ± 139 nm olarak hesaplanmıştır. Resim 5.3'ten de anlaşılacağı üzere en düzensiz çap dağılımı M2 membranında görülmektedir. PEO konsantrasyonu artırıldığında çap dağılımının düzensizliği azalmış, konsantrasyon artışıyla viskozite de arttığından lif çapları kalınlaşmıştır. PEO konsantrasyonu en yüksek olan M4 membranında liflerin yönelimlerinin bozulmaya başladığı gözlenmektedir. PEO katkılı numuneler arasında optimum çapa sahip lifler, en düzgün morfoloji ve yönelim M3 membranında gözlenmiştir. Bu nedenle katkı yapılacak membran olarak M3 (%1.0 (w/w) PEO içeren) seçilmiştir.

Haroosh ve diğerleri (2011), %8 (w/v)lik PLA çözeltisiyle %9 (w/v) ve %15 (w/v) olmak üzere iki farklı konsantrasyondaki PCL çözeltisini 1:1 oranında karıştırmış, elde ettikleri iki çözeltiye de ayrı ayrı %1 (w/v) ve %2 (w/v) oranlarında APTES ile modifiye edilmiş ve edilmemiş HNT ekleyerek elektro eğirme yöntemi ile nanolif membranlar üretimişlerdir. HNT katkısı bulunmayan %15 PCL içeren PLA-PCL membranlarının ortalama lif çapları

814 nm iken, %1 oranında modifiye edilmemiş HNT katkısıyla 1087 nm'ye, %2 oranında modifiye edilmemiş HNT katkısıyla 1233 nm'ye çıkmıştır. %1 ve %2 oranında HNT-APTES içerenlerin ortalama lif çaplarını ise sırasıyla 905 ve 927 nm olarak raporlamışlardır (H. J. Haroosh, Chaudhary ve Yusa, 2011). Çalışmada da görüldüğü gibi, saf HNT katkısı ile nanolif çapları artmakta, modifiye edilmiş HNT katkısıyla saf HNT'ye kıyasla azalma görülmektedir. Bu durum HNT'nin çözelti viskozitesini arttırması ve aglomerasyona sebep olmasıyla açıklanabilir. APTES HNT'nin yapısındaki hidrolize SiO_2 bağlarını yarıya indirerek katmanların arasını açmaktadır. Bu durum polimer çözeltisine HNT-APTES eklenmesiyle viskozitenin azalmasına sebep olur. Çözelti viskozitesinin azalması ise daha düzgün lif jetlerinin oluşumuna yol açarak daha ince lif eldesine olanak sağlar.



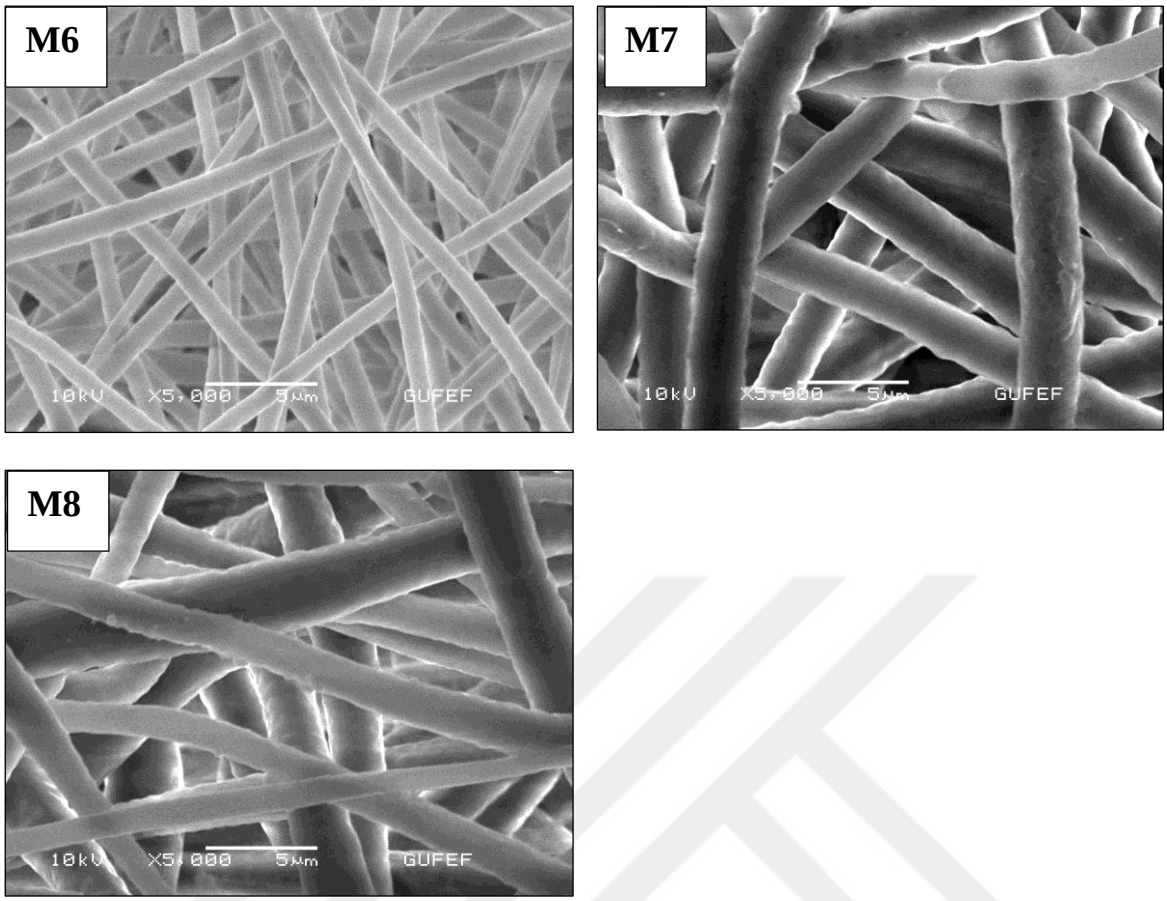
Resim 5.3. PCL/PEO nanoliflerin SEM görüntüleri; %0.5 PEO (M2), %1.0 PEO (M3), %1.5 PEO (M4)

Resim 5.4'te %18 (w/v) PCL/ %1.0 (w/w) PEO karışımına % 0.1 (w/w), % 0.3 (w/w) ve % 0.5 (w/w) olmak üzere 3 farklı oranda HNT eklenerek sentezlenen nanolif membranlarının

(M6, M7, M8) 5 000x büyütmedeki görüntüleri verilmiştir. Ortalama çap değerleri sırasıyla, M6 için 999 ± 63 nm, M7 için 2451 ± 369 nm, M8 için 1879 ± 643 nm bulunmuştur. Polimer karışımına HNT eklenmesi konsantrasyonu attırdığından viskozite artmış, bunun sonucunda lif çaplarında artış gözlenmiştir. HNT katkısı ile liflerin morfolojisi görünür şekilde düzelerek, yalnızca PEO eklenmiş membranlara kıyasla yönelimleri daha doğrusal ve daha düzgün lifler elde edilebilmiştir.

Touny ve diğerlerinin (2010) yapmış olduğu çalışmada, farklı konsantrasyonlardaki PLA/HNT karışımlarından (%10 sabit HNT katkısıyla % 5, 10, 15, 20 (w/v) konsantrasyonda çözelti ve %10 (w/v) sabit çözelti konsantrasyonunda % 0, 2.5, 5, 10, 15 HNT katkısı) elektro eğirme yöntemi ile membranlar üretmişlerdir. İnorganik kil katkısı ile çözeltinin viskozitesi ve elektrik iletkenliğinin (0.285 µs/cm'den 2.71 µs/cm'e) arttığını raporlamışlardır. HNT katkısının artmasıyla liflerin boncuksuz ve daha düzgün yönelimli lifler elde edebilmişlerdir. Viskozite artışı daha iyi Taylor konisi oluşumunu destekleyerek boncuksuz lif oluşumuna sebep olmaktadır. Ayrıca, HNT katkısı sayesinde çözeltinin iletkenliğinin artmasıyla, elektro eğirme sırasında oluşan jetin yüzeyindeki yük yoğunluğu artmıştır. Bu biriken yükler, kohezif kuvvetlerin üstesinden gelerek boncuksuz liflerin oluşumuna yol açan itici kuvvetleri arttırmaktadır (Touny, Lawrence, Jones ve Bhaduri, 2010).

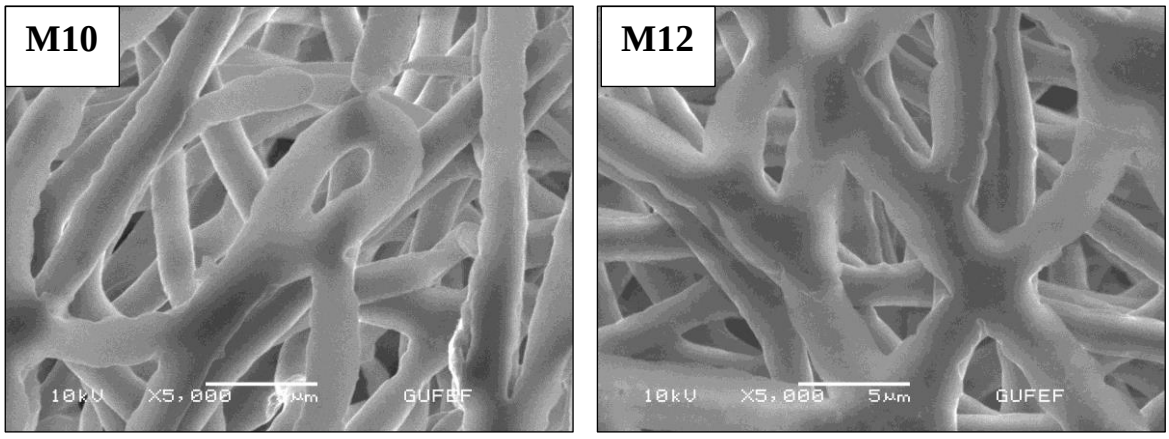
Benzer şekilde Haroosh ve diğerleri (2011) de farklı oranlardaki PLA/PCL karışımlarına (1:0, 3:1, 1:1), farklı konsantrasyonlarda HNT (%1 (w/v) ve %2(w/v)) ekleyerek elektro eğirme ile nanolif membranları sentezlemişlerdir. HNT katkısının çözelti iletkenliği ve viskozitesini arttırdığı için daha düzgün ve daha yüksek çapta lifler elde edebildiklerini raporlamışlardır (H. Haroosh, Chaudhary, Dong ve Hawkins, 2011).



Resim 5.4. PCL/PEO/HNT nanoliflerin SEM görüntüleri; % 0.1 HNT (M6), % 0.3 HNT (M7), % 0.5 HNT (M8)

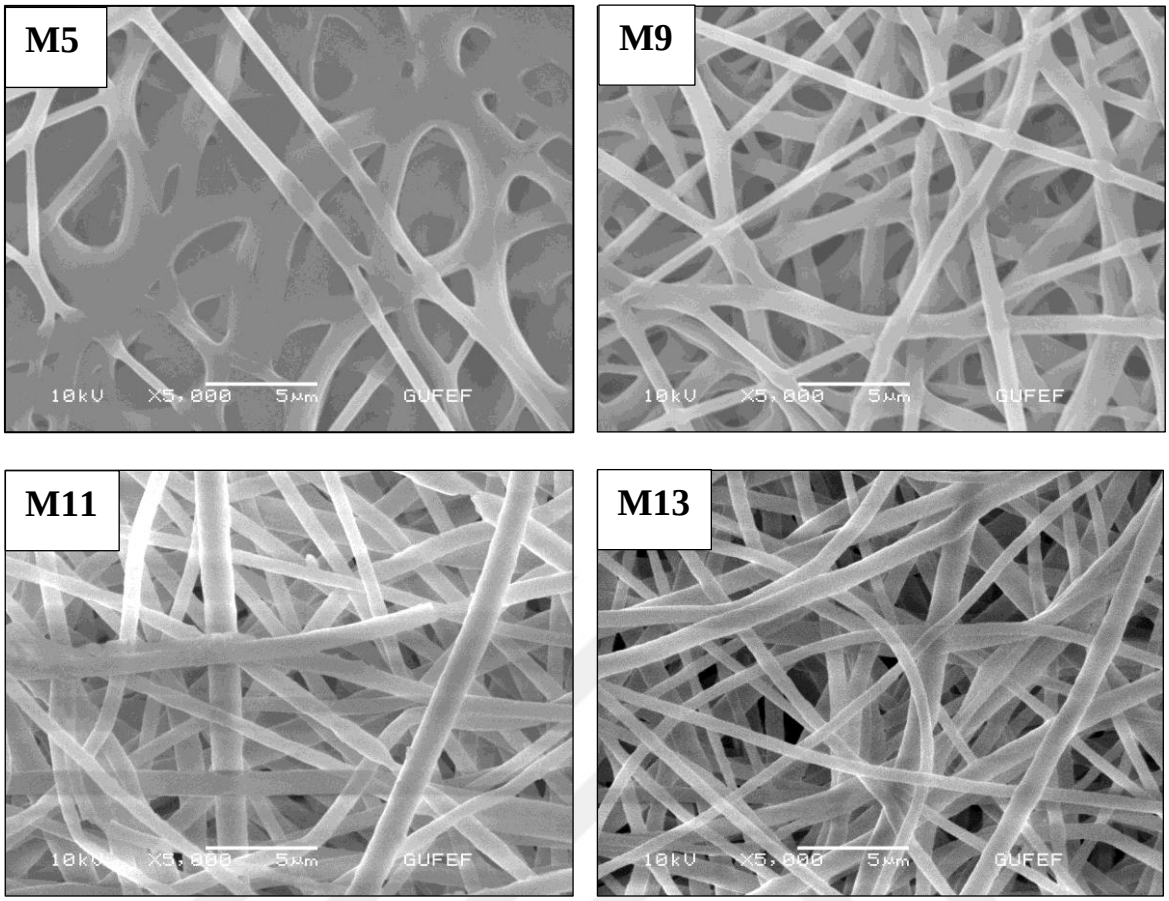
Resim 5.5'te %0.3 (w/w) APTES (3-amino propil trietoksisilan) ve GPTMS (3-glisidil oksi propil trimetoksisilan) ile modifiye edilmiş HNT katkısı içeren nanolif membranlarının 5 000x büyütmedeki SEM görüntüleri verilmiştir. Elde edilen liflerin ortalama çap değerleri sırasıyla M10 için 1 903 ± 279 nm, M12 için 2 553 ± 545 nm'dir. Aynı konsantrasyonda (%0.3 (w/w)) modifiye edilmemiş HNT katkılı liflerin ortalama çap değerleri ile kıyaslandığında, HNT-GPTMS katkılı lif çaplarının katkısız HNT içerenlere yakın değerlerde, HNT-APTES katkılı lif çaplarının ise HNT içerenlerden yaklaşık %70 oranda daha ince olduğu görülmektedir.

HNT, yapısındaki güçlü hidrojen bağları sebebiyle kümeleşmeye (agregasyon) çok müsait bir malzemedir. HNT'nin APTES ile modifiye edilmesi, HNT ve polimer karışımı arasında iyi bir etkileşim oluşturur ve bazı liflerin HNT boşlukları arasına kolaylıkla nüfuz etmesini sağlar. Başka bir deyişle APTES modifikasyonu sayesinde HNT, polimer matrisi içerisinde daha iyi dağılarak daha düzgün lif eldesi sağlar (H. J. Haroosh ve diğerleri, 2013).



Resim 5.5. Modifiye HNT katkılı PCL/PEO nanoliflerin SEM görüntüleri; %0.3 HNT-APTES (M10), %0.3 HNT-GPTMS (M12)

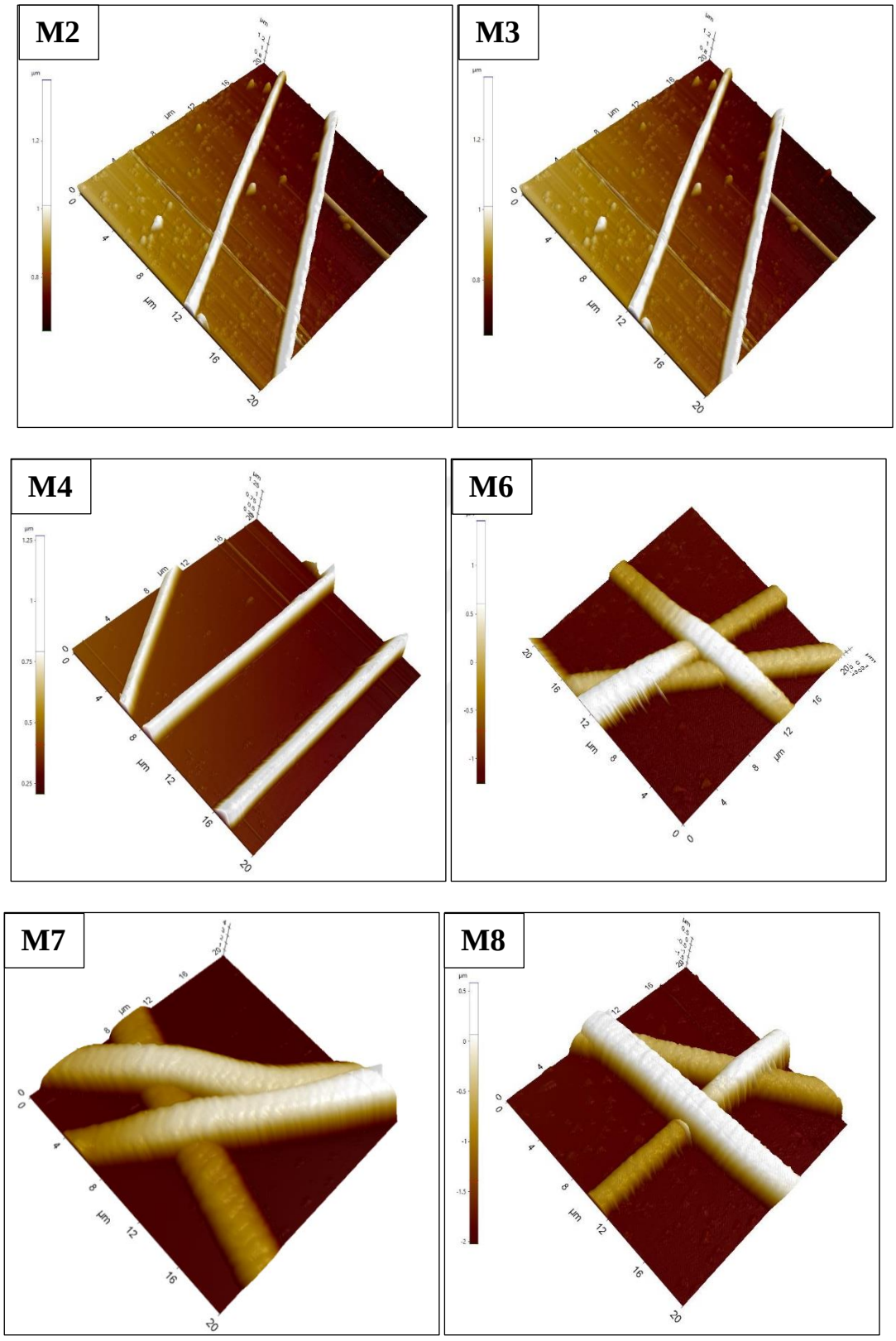
Resim 5.6'da seçilen konsantrasyonlardaki PCL/PEO, PCL/PEO/HNT, PCL/PEO/HNT-APTES ve PCL/PEO/HNT-GPTMS karışımlarına %5 (w/w) DOXH yüklenerek sentezlenmiş nanolif membranlarının 5 000x büyütmedeki SEM görüntüleri verilmiştir. Elde edilen liflerin ortalama çap değerleri sırasıyla M5 için 875 ± 26 nm, M9 için 748 ± 159 nm, M11 için 1011 ± 26 nm, M13 için 596 ± 97 nm'dir. Aynı konsantrasyondaki DOXH yüklenmemiş membranlarla kıyaslandığında, genel olarak DOXH yüklemesinin nanolif çaplarını düşürdüğü gözlenmektedir. Lif morfolojisi incelendiğinde M9, M11 ve M13 membranlarına ait liflerin M5 liflerine kıyasla daha düzgün yapıda olduğu görülmektedir. M5 liflerinde ilacın lifler içerisinde tamamen dağılmadığı, liflerin yüzeyinde kaldığı görülmektedir.



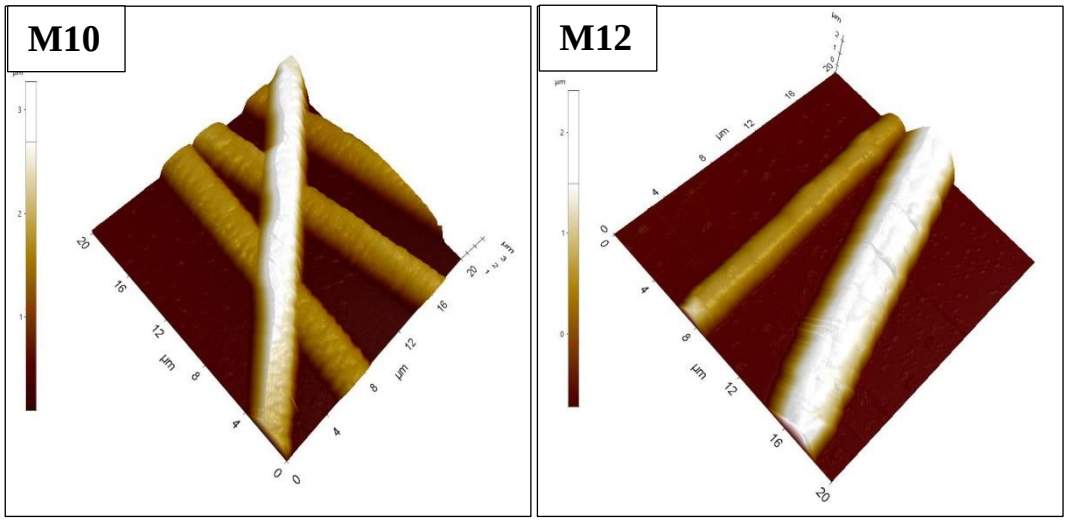
Resim 5.6. DOXH yüklenmiş nanoliflerin SEM görüntüleri; PCL/ %1.0 PEO/ %5.0 DOXH (M5), PCL/ %1.0 PEO/ %0.3 HNT/ %5.0 DOXH (M9), PCL/ %1.0 PEO/ %0.3 HNT-APTES/ %5.0 DOXH (M11), PCL/%1.0 PEO/ %0.3 HNT-GPTMS/ %5.0DOXH (M13)

5.1.3. AFM görüntüleri

Hazırlanan çözeltilerden uzun süreli besleme alınmadan önce, belirlenen elektro eğirme parametreleri sağlanarak lamel üzerine alınan nanolif numunelerinin yüzey topoğrafyaları, atomik kuvvet mikroskobu (AFM) ile görüntülenmiştir. Topografya görüntüleri 20x20 μm^2 tarama alanında, temassız (non-contact) modda üç boyutlu olarak alınmıştır. Resim 5.7'de numunelerin AFM görüntüleri verilmiştir.



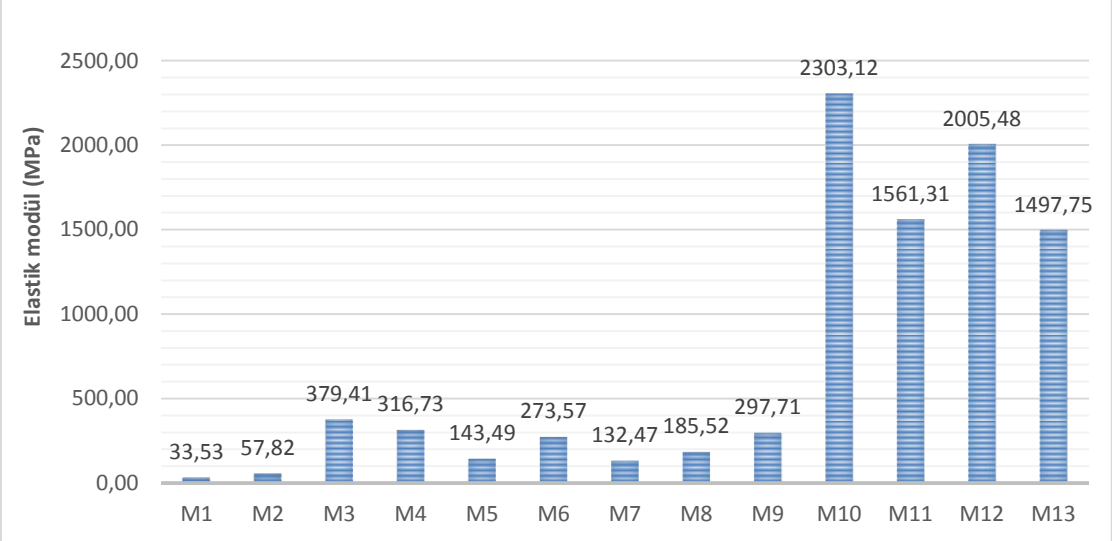
Resim 5.7. Nanolif membranlarının AFM görüntüleri



Resim 5.7. (devam) Nanolif membranlarının AFM görüntüleri

Görüntülerde koyu renkler yüzeydeki derinliği, açık renkler yükseltileri ifade etmektedir. AFM görüntüleri incelendiğinde, elde edilen liflerin tamamının boncuksuz ve düzgün oldukları görünmektedir. PEO içeren liflerin çapları (M2, M3, M4) daha inceyken, HNT katkısıyla (M6, M7, M8) kalınlaştığı görülmektedir. Yine modifiye edilmiş HNT'lerin eklenmesiyle (M10, M12) daha kalın lif oluşumu gözlenmiştir. Elde edilen bu görüntüler, SEM görüntülerini destekler niteliktedir.

Liflerin mekanik dayanımları ise lamel üzerine alınan tekli lif numunelerinin yüzeyinde indentasyon yapılarak ölçülmüştür. İndentasyon sonucunda elde edilen Young modülü değerleri Şekil 5.2'de verilmiştir.



Şekil 5.2. Indentasyon verileri

Elde edilen numunelerin Young modülü değerleri sırasıyla, M1 için 33,53 MPa, M2 için 57,82 MPa, M3 için 379,41 MPa, M4 için 316,73 MPa, M5 için 143,49 MPa, M6 için 273,57 MPa, M7 için 132,47 MPa, M8 için 185,52 MPa, M9 için 297,71 MPa, M10 için 2303,12 MPa, M11 için 1561,31 MPa, M12 için 2005,48 MPa ve M13 için 1497,75 MPa bulunmuştur. Saf PCL'nin Young modülü oldukça düşük iken, karışıma PEO eklenmesiyle az miktarda artış görülmüştür. HNT'nin modifikasyonu ise membranların dayanımını yüksek oranda artırmıştır.

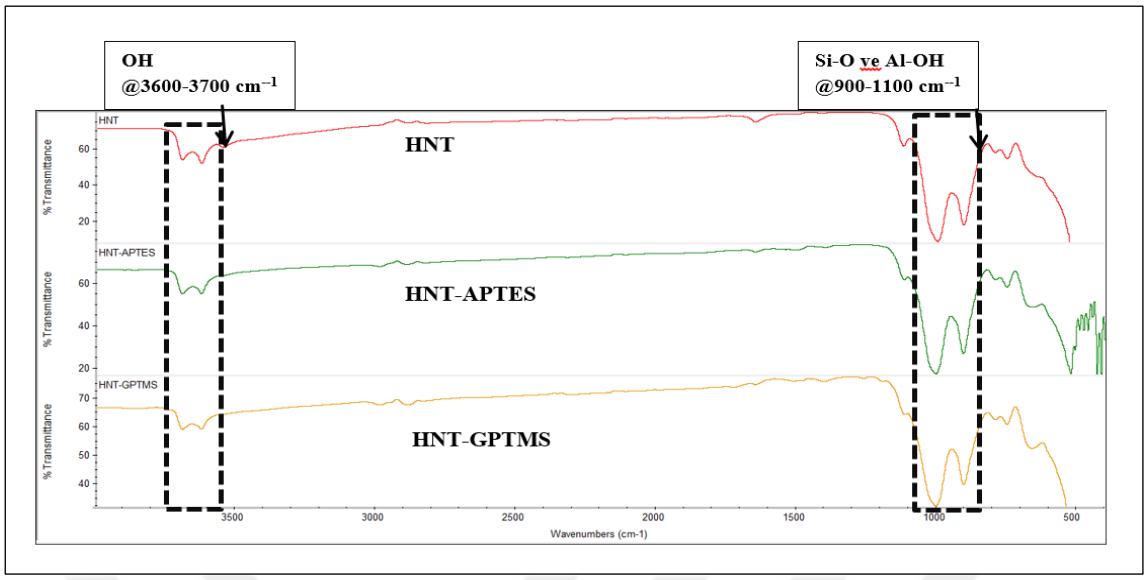
Qi ve diğerleri (2012), elektro eğirme yöntemiyle elde ettikleri HNT katkılı PLGA (poli laktik-ko-glikolik asit) nanoliflerine çekme testi uygulayarak, mekanik özelliklerini incelemişlerdir. Karışımdaki HNT oranının ağırlıkça %1, %3 ve %5 artışıyla, çekme dayanımı ve Young modülü değerleri de artış göstermiştir (Qi ve diğerleri, 2012).

Benzer şekilde Cai ve diğerleri (2015), elektro eğirme yöntemiyle elde ettikleri PLLA (poli-L-laktik asit) membranlarının mekanik özelliklerini geliştirmek için polimer çözeltisine ağırlıkça %1, 2, 4 ve 6 oranlarında HNT eklemişlerdir. HNT oranının artmasıyla Young modülü ve çekme dayanımı değerlerinde artış gözlemişlerdir (Cai ve diğerleri, 2015).

5.2. Kimyasal Yapı Analiz Sonuçları

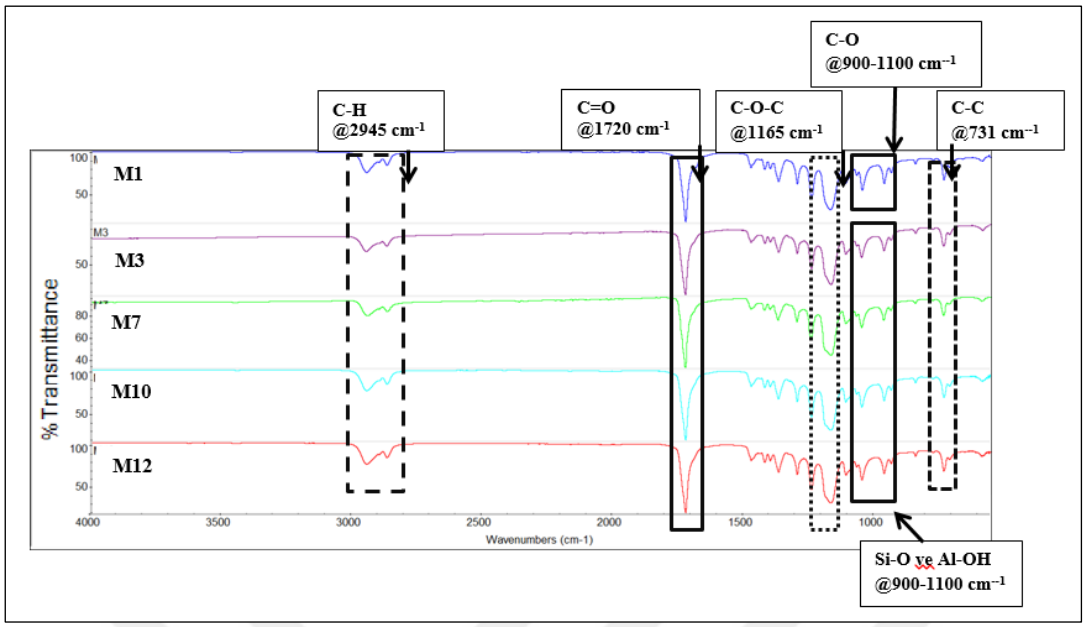
5.2.1. FTIR sonuçları

Modifiye edilen HNT'ler ve elektro eğirme ile sentezlenen nanolif membranlarının kimyasal yapısında değişiklik olup olmadığını saptamak için FT-IR analizleri gerçekleştirilmiştir. APTES ve GTPMS ile modifiye edilmiş ve modifiye edilmemiş HNT'lere ait FTIR spektrumları Şekil 5.3'te verilmiştir. Spektrumlar 500-4000 cm^{-1} dalga boyu aralığında oluşturulmuştur. Spektrumlar incelendiğinde HNT'nin iç katmanlarındaki –OH grubunun karakteristik pikleri 3690 ve 3623 cm^{-1} dalga boylarında görülmektedir. 700-1100 cm^{-1} dalga boyu aralığında HNT'nin karakteristik kimyasal bağ titreşimleri görülmektedir. 904, 905 ve 906 cm^{-1} dalga boylarındaki pikler Al-OH bağını, 749 cm^{-1} dalga boyundaki pik Si-O-Al bağını, 1003 ve 998 cm-1 dalga boyundaki derin pikler Si-O-Si bağını ifade etmektedir (H. J. Haroosh ve diğerleri, 2013).



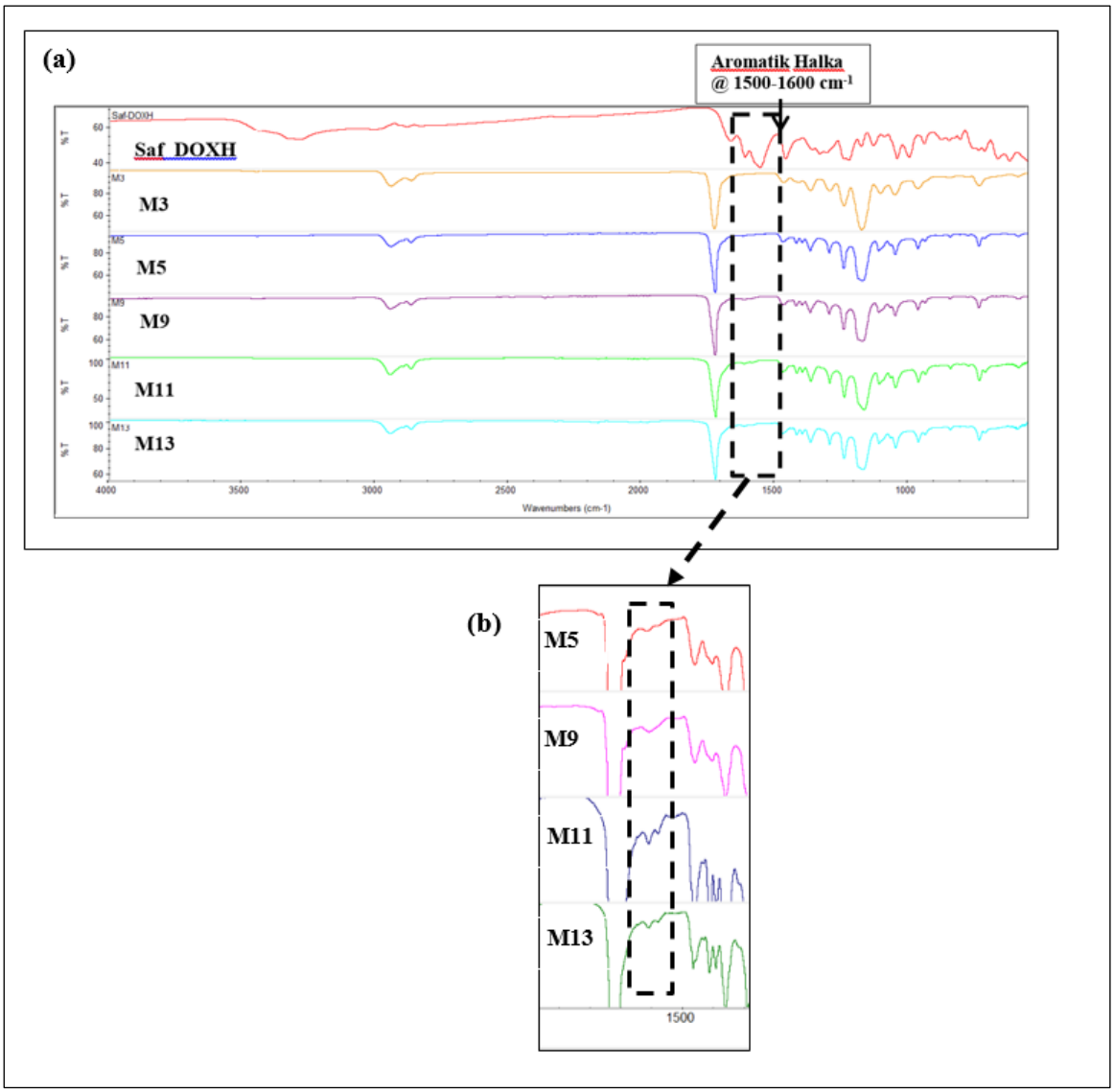
Şekil 5.3. Modifiye edilmemiş, APTES ile ve GPTMS ile modifiye edilmiş HNT'lerin FT-IR spektrumları

APTES ve GPTMS modifikasyonuna ait spektrumlar değerlendirildiğinde yapılarındaki C-H bağlarının varlığı 2885 cm-1 dalga boyundaki piklerle gözlenmektedir. HNT'nin yüzey modifikasyonu iç lümen yüzeyindeki Al-OH ve dış kenarlardaki Si-O gruplarına modifiye gruplarının katılmasıyla gerçekleşir (Yuan ve diğerleri, 2015). Bu nedenle spektrumlar incelendiğinde 1000-900 cm^{-1} dalga boyu aralığındaki Si-O ve Al-OH pikleri, modifiye edilmemiş HNT'de daha şiddetliyken modifiye edilmiş olanlarda daha zayıftır. Bu durum HNT'nin organosilan gruplarıyla (APTES ve GPTMS) modifiyesinin gerçekleştiğini göstermektedir. Ayrıca, modifiye edilmemiş HNT ile modifiye edilmiş HNT'lerin spektrumları karşılaştırıldığında yeni bir pik oluşumunun görülmemesi, modifikasyon işlemi sırasında yeni bir reaksiyon ya da bileşiğin oluşmadığını göstermektedir.



Şekil 5.4. Saf PCL (M1), PCL/ %1 PEO (M3), PCL/ %1 PEO/ %0.3 HNT (M7), PCL/ %1 PEO/ %0.3 HNT-APTES (M10), PCL/ %1 PEO/ %0.3 HNT-GPTMS (M12) membranlarının FT-IR spektrumları

İlaç yüklenmemiş nanolif membranlarının FT-IR spektrumları Şekil 5.4'te verilmiştir. 500-4000 cm-1 dalga boyu aralığında ölçülen spektrumlar incelendiğinde PCL, PEO içeriğinden dolayı oluşan C-H gerilmesi pikleri 2865 ve 2943 cm^{-1} dalga boylarında, C-O-C gerilmesi piki ise 1160-1175 cm^{-1} dalga boyu aralığında görülmektedir. PCL'nin en güçlü bağı olan C= O dipol momentinin yüksek olmasından dolayı 1720 cm^{-1}'de derin karakteristik pik vermektedir. Polimerik yapıyı ortaya koyan bir diğer bağ olan C-C ise 731 cm^{-1} dalga boyunda pik vermektedir. HNT'nin yapısındaki Al-OH ve Si-O kimyasal bağlarının titreşimleri 900-1100 cm^{-1} aralığında görülmekte ve aynı aralıktaki PCL pikleri ile çakışmaktadır (Elzein, Nasser-Eddine, Delaite, Bistac ve Dumas, 2004).



Şekil 5.5. (a) Saf DOXH, %18 PCL-%1.0 PEO (M3) ve DOXH yüklenmiş membranların (M5, M9, M11, M13) FT-IR spektrumları, (b) DOXH piklerinin yakın görünümü

Doksisiklin yüklü membranların (M5, M9, M11, M13) ve saf doksisiklinin FT-IR spektrumları

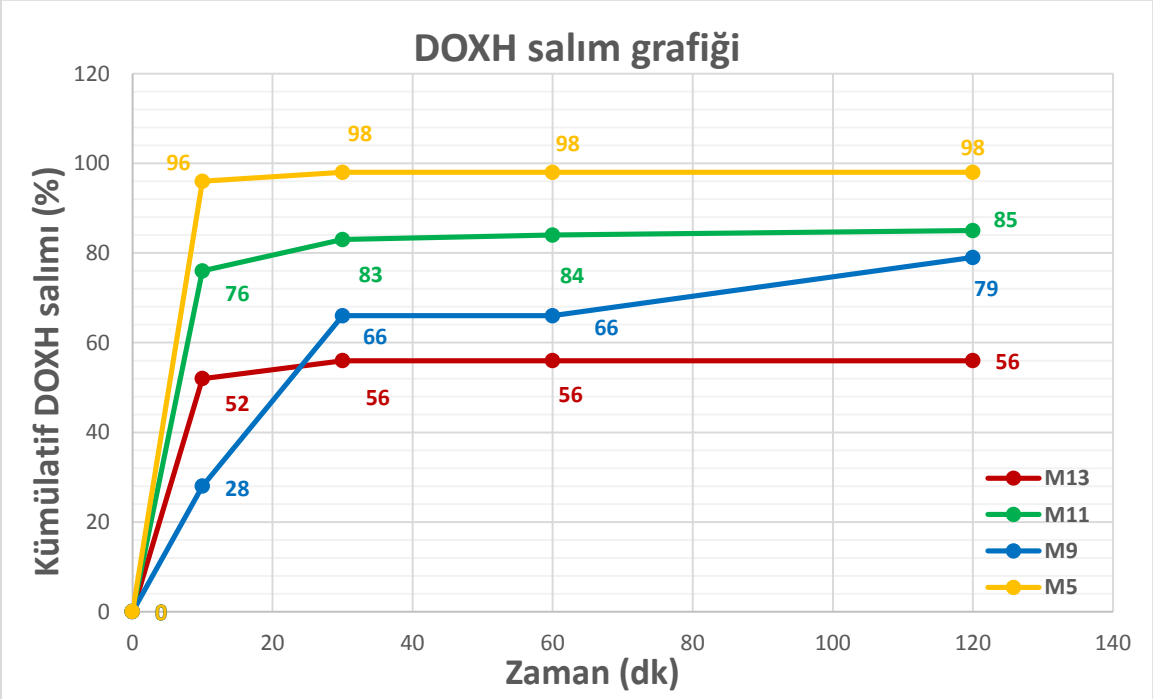
Şekil 5.5'te verilmiştir. Doksisiklinin yapısında bulunan $CONH_2$ titreşim bandının karakteristik piki 1600 cm^{-1} dalga boyu civarında görülmelidir. Yine doksisiklin katkısıyla pik vermesi gereken aromatik halka titreşimleri 1500-1600 cm^{-1} dalga boyu aralığında görülmesi beklenmektedir. Ancak spektrum incelendiğinde, 1500-1600 aralığında çok düşük şiddetli pikler görünmektedir. Membranların içeriği ele alındığında polimer

yoğunluğunun ilaca göre çok daha fazla olması sebebiyle doksisiklinin karakteristik piklerinin baskılandığı düşünülmektedir (Khalf ve Madihally, 2017).

5.3. Farmasötik Çalışmalar

5.3.1. Miktar tayini ve ilaç salım profilinin incelenmesi

DOXH yüklü membranların in vitro salım çalışmaları, PBS ortamında 37°C'de ve 50 rpm karıştırma hızında gerçekleştirilmiştir. Membranlara yüklenen ilaç miktarları kalibrasyon grafiği yardımıyla sırasıyla M5 için 0,235 mg DOXH/mg, M9 için 0,0951 mg DOXH/mg, M11 için 0,257 mg DOXH/mg ve M13 için 0,333 mg DOXH/mg olarak hesaplanmıştır. Kümülatif DOXH salım yüzdelerinin zamana karşı grafiği Şekil 5.6'da verilmiştir.



Şekil 5.6. M5, M9, M11 ve M13 membranlarından in vitro DOXH salım grafiği

Elektro eğirme yöntemiyle üretilen membranların salım profilleri incelendiğinde, %18 PCL/%1.0 PEO/%5 DOXH (M5), %18 PCL/%1,0 PEO/%0,1 HNT/%5 DOXH (M9), %18 PCL/%1,0 PEO/%0,1 HNT-APTES/%5 DOXH (M11) ve %18 PCL/%1,0 PEO/%0,1 HNT-GPTMS/%5 DOXH (M13) membranları için ilk 10 dakikadaki ani salım oranlarının sırasıyla %96, %28, %76 ve %52 olduğu görülmektedir. 120. dakikadaki kümülatif ilaç salım oranları ise, %18 PCL/%1.0 PEO/%5 DOXH (M5), %18 PCL/%1,0 PEO/%0,1

HNT/%5 DOXH (M9), %18 PCL/%1,0 PEO/%0,1 HNT-APTES/%5 DOXH (M11) ve %18 PCL/%1,0 PEO/%0,1 HNT-GPTMS/%5 DOXH (M13) membranları için sırasıyla %98, %79, % 85 ve %56'dır.

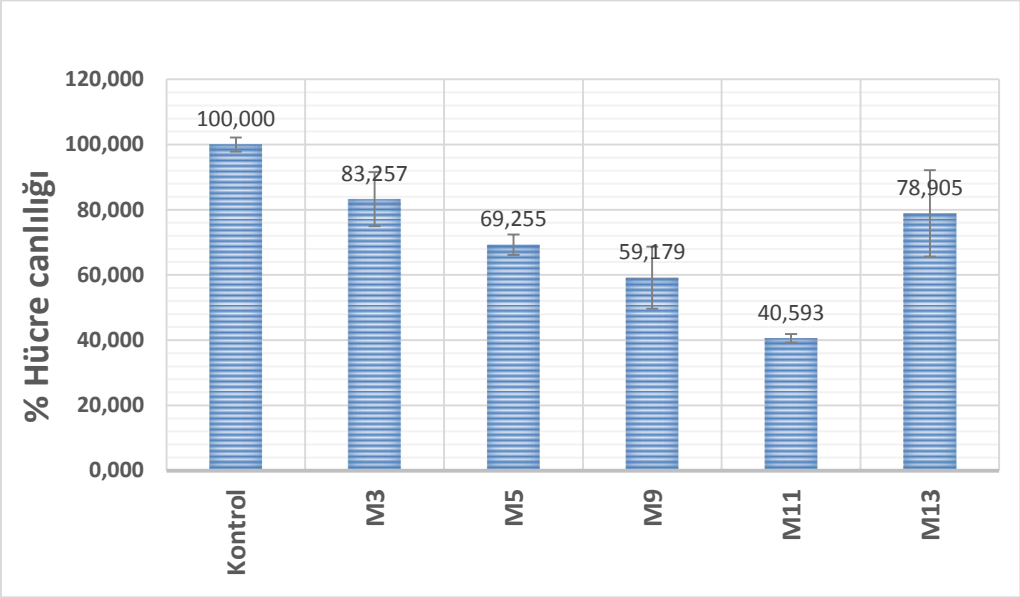
Sonuçlar değerlendirildiğinde, 10 dakika sonunda en yüksek ani salım oranı PCL/PEO içeren (M5) membranda görülürken (%96), en düşük ani salım oranı PCL/PEO/HNT içeren (M9) membranda görülmektedir (%28). Modifiye edilmiş HNT katkılı M11 ve M13 membranlarında ise ani salım oranları (sırasıyla %76, %52), PCL/PEO içeren M5 (%96) membranına kıyasla daha düşükken, modifiye edilmemiş HNT içeren M9 (%28) membranına kıyasla daha yüksektir. Modifiye edilmiş HNT içeren membranları kendi içerisinde kıyasladığımızda ise, GPTMS modifikasyonlu membran, APTES modifikasyonlu membrana göre daha düşük ani salım oranına sahiptir.

Polimer matrisine saf HNT eklenmesi ile membranlara yüklenen ilaçlar nanotüplerin içine de absorbe olacağından ilacın difüzyonunun iki kere olması beklenir. Yani ilaç önce nanotüpler içinden polimer matrisine, sonra membrandan ortama salınacaktır. Bu sebeple HNT katkılı membranların ani salım oranlarının, yalnızca polimer içeren membrana kıyasla daha düşük olduğu gözlenmiştir. Yüzey modifikasyonu uygulanmış HNT içeren membranların salım profillerinin daha düzenli olduğu görülmektedir. Ani salım oranının yüksek olması istenilmediği gibi, düşük salım miktarı da terapötik etkinliğin yetersizliğine sebep olabilir. Dolayısıyla yüzey modifikasyonu ile yüksek ve/veya düşük ani salım oranının önüne geçilirken, aynı zamanda daha düzenli bir salım profili elde edilebilmiştir. Ani salım oranlarından da görüldüğü gibi, HNT katkısı sonucunda daha kontrollü bir ilaç salım profili gözlenebilmektedir. Kontrollü salım gözlenen membranların ilaç salım profili nispeten daha uzun süreli olacağı için, kümülatif salım oranları da daha düşük olacaktır.

Togay ve diğerleri (2019), farklı oranlarda PCL/PEO içeren karışımlardan elektro eğirme yöntemiyle nanolif membranlar sentezlemiş, sentezlenen membranlara farklı oranlarda DOXH yükleyerek ilaç salım profillerini incelemişlerdir. Çalışmalar sonucunda, karışımdaki PEO oranı arttıkça ani salım oranlarında artış gözlemişlerdir. Farklı oranlarda DOXH yüklenen membranlardaki kümülatif ilaç salım oranının ise DOXH oranı arttıkça artış gösterdiği raporlanmıştır. Ağırlıkça %5 DOXH yüklenmiş membranın ani ilaç salım oranı ise yaklaşık %95 olarak belirtilmiştir (Eskitoros-Togay ve diğerleri, 2019). Bu çalışmada elde edilen sonuçlara bakıldığında ise PCL/PEO karışımından sentezlenen

membrandaki ani salım oranı %96 iken modifiye edilmiş ve edilmemiş HNT katkısıyla bu oran %28 ile 76 arasında değişmiştir. Bu sonuç HNT katkısının ani salım oranında önemli ölçüde düşüşe sebep olduğunu göstermektedir.

Bir oksitetrasiklin türevi olan doksisiklin (DOXH) geniş spektrumlu bir antibiyotiktir. Aminoasil t-RNA'nın 30S ribozomal alt ünitesine bağlanmasını önleyerek protein sentezini inhibe edecek şekilde bakteriyostatik etki gösterirler. Ayrıca birçok çalışmada antiproliferatif, antianjiyogenik, anti-kollajenolitik, anti-enflamatuar, osteoklast inhibe edici ve fibroblast uyarıcı özellikleri gibi başka biyolojik özellikler de gösterdikleri bildirilmiştir. Ek olarak, literatürde melanom, akciğer, meme, kolon ve prostat kanserleri gibi farklı karsinoma hücrelerine karşı anti-kanser özellik gösterebileceği, bu ilacın kanser terapilerinde potansiyel kullanımını artıran in vivo çalışmalar da bulunmaktadır (Haider, Haider ve Kang, 2015).



Şekil 5.7. İlaç yüklenmiş (M5, M7, M9, M11) membranlarının % hücre canlılığı

DOXH'nin MCF-7 kanser hücreleri üzerindeki toksik etkisini incelemek üzere, kütlece %5 oranında DOXH yüklemesi yapılan farklı içeriklerdeki nanolif membranlarının MTT analizi gerçekleştirilmiştir. Analiz sonucunda elde edilen hücre canlılık yüzdeleri Şekil 5.7'da verilmiştir. Analiz sonuçları incelendiğinde, 24 saat sonunda %18 PCL/%1.0 PEO (M3), %18 PCL/%1.0 PEO/%5 DOXH (M5), %18 PCL/%1,0 PEO/%0,1 HNT/%5 DOXH (M9), %18 PCL/%1,0 PEO/%0,1 HNT-APTES/%5 DOXH (M11) ve %18 PCL/%1,0 PEO/%0,1 HNT-GPTMS/%5 DOXH (M13) membranları için hücre canlılığı yüzdeleri

sırasıyla %83, %69, %59, %41 ve %80 olarak belirlenmiştir. Yalnızca PCL/PEO polimer karışımı içeren M5 membranı en az toksik özellik göstermektedir. %18 PCL/%1,0 PEO tüm nanolif membranlarının bazını oluşturduğundan kontrol grubu olarak hücre canlılığı ölçülmüştür. Bu durum, M5 membranının ilaç salım profilinin de hızlı olması nedeniyle ilacın 24 saat sonuna kadar etkisini kaybetmesinden kaynaklanıyor olabilir. HNT katkılı M9 membranının canlılık yüzdesine bakıldığında ise toksik etkinin daha yüksek olduğu görülmektedir. Bu sonuç, ilaç salım profili daha yavaş ve kontrollü olan M9 membranından salınan ilacın etkisinin 24 saat sonuna kadar daha fazla korumasından kaynaklanıyor olabilir. Modifiye edilmiş HNT içeren membranlar karşılaştırıldığında ise, APTES içeren M11 membranının GPTMS içeren M13 membranına göre daha yüksek toksik etkiye sahip olduğu görülmüştür. Dolayısıyla APTES modifiyeli HNT içeren M11 membranının en yüksek toksik özelliği gösterdiği gözlenmiştir.

Togay ve diğerleri (2019), farklı oranlarda DOXH yükleyerek elektro eğirme yöntemiyle PCL/PEO nanolif membranları sentezlemişlerdir. Elde edilen membranların MCF-7 kanser hücreleri üzerindeki toksik etkisini incelemek üzere MTT testleri gerçekleştirmişlerdir. Yapılan testler sonucunda en yüksek toksik etkinin %21 oranında DOXH yüklü membranda olduğunu, yüklenen DOXH oranı arttıkça toksik etkinin de arttığını raporlamışlardır. Çalışmada, %5 oranında DOXH içeren membranın toksik etkisi ise yaklaşık %80 olarak raporlanmıştır (Eskitoros-Togay ve diğerleri, 2019). Bu çalışmada sentezlenen tüm membranlar %5 DOXH içeriğine sahip olup, HNT katkısıyla toksik etkinin arttığı gözlenmiştir.

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Tez kapsamında elektro eğirme yöntemi kullanılarak HNT ve PEO katkılı PCL kompozit nanolif membranları ilaç taşıyıcı sistem olarak kullanılmak üzere başarıyla sentezlenmiştir. Farklı konsantrasyonlarda PEO ve HNT içeren nanolif membranlarının düzgün morfoloji gösteren karışımlarına doksisiklin yüklemesi yapılarak in vitro çalışmalarla ilaç salım profilleri incelenmiştir. Bu çalışma sonucunda aşağıdaki bulgular saptanmıştır.

- Elde edilen tüm nanolifler boncuksuz ve düzgün morfolojide elde edilmiştir.
- Lif çapları kıyaslandığında, en yüksek ortalama çapa sahip lif membranı 2 553 ± 545 nm ile 18% PCL- 1.0% PEO - 0.3% HNT-GMPTS (M12), en düşük ortalama çapa sahip lif membranı 277 ± 22 nm ile 18% PCL - 0.5% PEO (M2) membranıdır.
- Yalnızca polimer içeren membranlara modifiyeli ve modifiyesiz HNT eklenmesi sonucunda lif çapları nanometre mertebesinden mikrometre mertebesine çıkmıştır.
- Yapılan indentasyon testleri sonucunda, en yüksek Young modülü değeri (2303 MPa) 18% PCL - 1.0% PEO - 0.3% HNT-APTES (M10) membranında, en düşük Young modülü değeri (33 MPa) 18% PCL (M1) membranında görülmüştür.
- APTES ve GPTMS ile modifiye edilmiş HNT katkısı, nanolif membranlarının dayanımlarını PCL/PEO içeren membranlara kıyasla yaklaşık 6 kat arttırmıştır.
- Kütlece %5 oranında doksisiklin içeren membranların salım profilleri incelendiğinde, ilk 10 dakikadaki en yüksek ani salım oranı %96 ile %18 PCL/%1.0 PEO/%5 DOXH (M5) membranında, en düşük ani salım oranı %28 ile %18 PCL/%1,0 PEO/%0,1 HNT/%5 DOXH (M9) membranında gözlenmiştir.
- 120. dakikadaki en yüksek kümülatif salım oranı %18 PCL/%1.0 PEO/%5 DOXH (M5) membranı için %98, en düşük kümülatif salım oranı ise %18 PCL/%1,0 PEO/%0,1 HNT-GPTMS/%5 DOXH (M13) membranı için %56 bulunmuştur.
- Modifiye edilmemiş HNT katkısı, ani salım oranını yüksek oranda düşürerek salım profilinin daha kontrollü olmasına sebep olmaktadır.
- GPTMS ile modifiye edilmiş HNT katkısı ile ani salım oranı, modifiye edilmemiş HNT içeren membrana göre yükselmiş olsa da kontrollü bir salım profili göstermektedir. APTES ile modifiye edilmiş HNT katkısı ise ani salım oranının oldukça yüksek olması ile sonuçlanmıştır.

- Yalnızca PCL/PEO polimer karışımı içeren M5 membranı, yüksek ani salım oranına ve hızlı bir ilaç salım profiline sahip olması nedeniyle ilacın 24 saat sonunda etkisini kaybedebileceğinden en az toksik özelliğe sahiptir.
- Tez kapsamında yapılan çalışmalar ışığında; GPTMS ile modifiye edilmiş HNT katkılı membranın ilaç salım profilinin daha düşük ani salım oranına ve daha kontrollü bir ilaç salım profiline sahip olması sebebiyle, diğer membranlara kıyasla daha iyi bir ilaç taşıyıcı olduğu sonucuna varılmıştır.

KAYNAKLAR

Abedalwafa, M., Wang, F., Wang, L. and Li, C. (2013). Biodegradable poly-epsilon-caprolactone (pcl) for tissue engineering applications : a review. *Reviews on Advance Material Science*, *34*, 123–140.

Acharya, G. and Park, K. (2006). Mechanisms of controlled drug release from drug-eluting stents. *Advanced Drug Delivery Reviews*, *58*, 387–401.

Athira, K. S., Sanpui, P. and Chatterjee, K. (2014). Fabrication of poly (caprolactone) nanofibers by electrospinning. *Journal of Polymer and Biopolymer Physics Chemistry*, *2*(4), 62–66.

Aysan, A. B. (2014). *Controlled Drug Release Applications of Polycaprolactone Composites*, Yüksek Lisans Tezi, Ege Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İzmir.

Azimi, B., Nourpanah, P., Rabiee, M. and Arbab, S. (2014). Poly (ε -caprolactone) fiber: an overview. *Journal of Engineered Fibers and Fabrics*, *9*(3), 74–90.

Bailey, F. E., and Koleske, J. V. (1976). *Poly(ethylene oxide).(First edition).* New York : Academic Press, 87-95.

Baji, A., Mai, Y., Wong, S., Abtahi, M. and Chen, P. (2010). Electrospinning of polymer nanofibers : Effects on oriented morphology , structures and tensile properties. *Composites Science and Technology*, *70*(5), 703–718.

Bajpai, A. K., Shukla, S. K., Bhanu, S. and Kankane, S. (2008). Responsive polymers in controlled drug delivery. *Progress in Polymer Science Journal*, 33, 1088–1118.

Bruschi, M. L. (2015). *Strategies to Modify the Drug Release from Pharmaceutical Systems*.(Second edition). UK: Elsevier, 25,88.

Buschle-Diller, G., Cooper, J., Xie, Z., Wu, Y., Waldrup, J. and Ren, X. (2007). Release of antibiotics from electrospun bicomponent fibers. *Cellulose*, *14*(6), 553–562.

Cai, N., Dai, Q., Wang, Z., Luo, X., Xue, Y. and Yu, F. (2015). Toughening of electrospun poly(l-lactic acid) nanofiber scaffolds with unidirectionally aligned halloysite nanotubes. *Journal of Materials Science*, *50*(3), 1435–1445.

Cantin, O. (2016). *PEO hot melt extrudates for controlled drug delivery*, Doctoral dissertation, Faculty of Pharmaceutical Science and Biology, Université du Droit et de la Santé - Lille II.

Cha, K., Park, J., Cho, W., Gu, D., Jeong, K. and Hwang, S. (2009). Design of pH-independent extended release matrix tablets of minocycline hydrochloride for the treatment of dementia. *Archives of Pharmacal Research*, *32*(11), 1593–1598.

Chou, S. F., Carson, D. and Woodrow, K. A. (2015). Current strategies for sustaining drug release from electrospun nanofibers. *Journal of Controlled Release*, *220*, 584–591.

Classen, D. C., Pestotnik, S. L., Evans, R. S., Lloyd, J. F. and Burke, J. P. (1997). Adverse drug events in hospitalized patients. *Journal of the American Medical Association*, *277*(4), 301–306.

Commandeur, S., Van Beusekom, H. M. M. and Giessen, V. Der. (2006). Polymers, drug release, and drug-eluting stents. *Journal of Interventional Cardiology*, *19*(6), 500–506.

Dhawan, S., Dhawan, K., Varma, M. and Sinha, V. R. (2005). Applications of poly (ethylene oxide) in drug delivery systems. *Pharmaceutical Technology*, (September), 82–96.

Dong, Y., Marshall, J., Haroosh, H. J., Mohammadzadehmoghadam, S., Liu, D., Qi, X. and Lau, K. (2015). Polylactic acid (PLA)/ halloysite nanotube (HNT) composite mats: Influence of HNT content and modification. *Composites : Part A*, *76*, 28–36.

Eisen, D. P. (2010). 67 Doxycycline. In M. L. Grayson, S. M. Crowe, J. S. McCarthy, J. Mills, J. W. Mouton, S. R. Norrby, M. A. Pfaller (Eds.), *Kucer's The Use of Antibiotics*.FL,USA: CRC Press - Taylor & Francis Group pp, 851–869.

Elzein, T., Nasser-Eddine, M., Delaite, C., Bistac, S. and Dumas, P. (2004). FTIR study of polycaprolactone chain organization at interfaces. *Journal of Colloid and Interface Science*, *273*(2), 381–387.

Eskitoros-Togay, M., Bulbul, Y. E., Tort, S., Demirtaş Korkmaz, F., Acartürk, F. and Dilsiz, N. (2019). Fabrication of doxycycline-loaded electrospun PCL/PEO membranes for a potential drug delivery system. *International Journal of Pharmaceutics*, *565*, 83–94.

Fong, H., Chun, I. and Reneker, D. H. (1999). Beaded nanofibers formed during electrospinning. *Polymer*, *40*, 4585–4592.

Günay, A. (2008). *Investigations on the biodegradable polymeric and inorganic substrates for controlled drug delıvery and bone and cartilage repair*, Yüksek Lisans Tezi, Orta Doğu Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.

Gutowska, A., Jeong, B. and Jasionowski, M. (2001). Injectable Gels for Tissue. *The Anatomical Record*, *263*, 342–349.

Haider, A., Haider, S. and Kang, I. (2015). A comprehensive review summarizing the effect of electrospinning parameters and potential applications of nanofibers in biomedical and biotechnology. *Arabian Journal of Chemistry*, *11*(8), 1165–1188.

Handge, U. A., Hedicke-höchstötter, K. and Altstädt, V. (2010). Composites of polyamide 6 and silicate nanotubes of the mineral halloysite : In fluence of molecular weight on thermal, mechanical and rheological properties. *Polymer*, *51*, 2690–2699.

Haroosh, H., Chaudhary, D., Dong, Y. and Hawkins, B. (2011). Electrospun PLA : PCL / Halloysite Nanotube Nanocomposites Fibers for Drug Delivery. *Processing and Fabrication of Advanced Materials XIX*, (19), 1–12.

Haroosh, H. J., Chaudhary, D. S. and Yusa, S. (2011). *Effect Of Halloysite On Electrospinning Of PLA/PCL Nanofibres*. Paper presented at CHEMECA 2011 Sydney, Australia.

Haroosh, H. J., Dong, Y., Chaudhary, D. S., Ingram, G. D. and Yusa, S. I. (2013). Electrospun PLA:PCL composites embedded with unmodified and 3-aminopropyltriethoxysilane (ASP) modified halloysite nanotubes (HNT). *Applied Physics A: Materials Science and Processing*, *110*(2), 433–442.

Haroosh, H. J., Dong, Y. and Lau, K. T. (2014). Tetracycline hydrochloride (TCH)-loaded drug carrier based on PLA:PCL nanofibre mats: Experimental characterisation and release kinetics modelling. *Journal of Materials Science*, *49*(18), 6270–6281.

Huang, Z., Zhang, Y., Kotaki, M. and Ramakrishna, S. (2003). A review on polymer nanofibers by electrospinning and their applications in nanocomposites. *Composites Science and Technology*, *63*, 2223–2253.

Jarusuwannapoom, T., Hongrojjanawiwat, W., Jitjaicham, S., Wannatong, L., Nithitanakul, M., Pattamaprom, C. and Supaphol, P. (2005). Effect of solvents on electro-spinnability of polystyrene solutions and morphological appearance of resulting electrospun polystyrene fibers. *European Polymer Journal*, *41*(3), 409–421.

Jeong, B., Choi, Y. K., Bae, Y. H., Zentner, G. and Kim, S. W. (1999). New biodegradable polymers for injectable drug delivery systems. *Journal of Controlled Release*, *62*, 109–114.

Jia, D., Gao, Y. and Williams, G. R. (2017). Core / shell poly (ethylene oxide)/ eudragit fibers for site-specific release. *International Journal of Pharmaceutics*, *523*(1), 376–385.

Jiang, L. and Zhang, J. (2012). Biodegradable polymers and polymer blends. In S. Ebnesajjad (Ed.), *Handbook of Biopolymers and Biodegradable Plastics:Properties, Processing and Applications* (1st Edition). UK: Elsevier, pp 109-125.

Joussein, E., Sciences, E., De, Â. C., Bag, P., North, P. and Zealand, N. (2005). Halloysite clay minerals- a review. *Clay Minerals*, *40*, 383–426.

Kai, D., Liow, S. S. and Loh, X. J. (2015). Biodegradable polymers for electrospinning: Towards biomedical applications. *Materials Science and Engineering C*, *45*, 659–670.

Kanani, A. G. and Bahrami, S. H. (2011). Effect of changing solvents on poly (ε -caprolactone) nanofibrous webs morphology. *Journal of Nanomaterials*, *2011*, 1–10.

Karami, Z., Rezaeian, I., Zahedi, P. and Abdollahi, M. (2013). Preparation and performance evaluations of electrospun poly (Ɛ -caprolactone), poly (lactic acid), and their hybrid (50/50) nanofibrous mats containing thymol as an herbal drug for effective wound healing. *Journal of Applied Polymer Science*, *129*, 756–766.

Kariduraganavar, M. Y., Kittur, A. A. and Kamble, R. R. (2014). Polymer synthesis and processing. S. G. Kumbar, C. T. Laurencin, M. Deng (Eds.), In *Natural and Synthetic Biomedical Polymers*. Boston: Elsevier, pp. 1-27.

Khalf, A. and Madihally, S. V. (2017). Modeling the permeability of multiaxial electrospun poly(ε-caprolactone)-gelatin hybrid fibers for controlled doxycycline release. *Materials Science and Engineering C*, *76*, 161–170.

Kong, Y., Yuan, J. and Qiu, J. (2012). Preparation and characterization of aligned carbon nanotubes / polylactic acid composite fibers. *Physica B: Physics of Condensed Matter*, *407*(13), 2451–2457.

Körner, A., Larsson, A., Piculell, L. and Wittgren, B. (2005). Molecular information on the dissolution of polydisperse polymers: mixtures of long and short poly(ethylene oxide). *Journal of Physical Chemistry B*, *109*(23), 11530–11537.

Kost, J. and Langer, R. (2012). Responsive polymeric delivery systems. *Advanced Drug Delivery Reviews*, *64*, 327–341.

Kozanoğlu, G. S. (2006). *Elektrospinning yöntemiyle nanolif üretim teknolojisi*, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.

Kubade, P. and Kshirsagar, R. (2015). Current Research Trends in Modification / Interaction of Halloysite Nanotube Filled Polymer Blends and Its Composites : A Review. *International Journal of Science and Research (IJSR)*, *4*(12), 1766–1772.

Labet, M. and Thielemans, W. (2009). Synthesis of polycaprolactone : a review. *Chemical Society Reviews*, *38*, 3484–3504.

Li, Z. and Wang, C. (2013). *In One-Dimensional nanostructures Electrospinning Technique and Unique Nanofibers* (First edition). Berlin: Springer, 15-29.

Lin, C. and Metters, A. T. (2006). Hydrogels in controlled release formulations: network design and mathematical modeling. *Advanced Drug Delivery Reviews*, *58*, 1379–1408.

Liu, M., Jia, Z., Jia, D. and Zhou, C. (2014). Recent advance in research on halloysite nanotubes-polymer nanocomposite. *Progress in Polymer Science Journal*, *39*, 1498–1525.

Lubasova, D. and Martinova, L. (2011). Controlled morphology of porous polyvinyl butyral nanofibers. *Journal of Nanomaterials*, *2011*, 1–6.

Ma, L., Deng, L., Chen, J., Ma, L., Deng, L. and Chen, J. (2014). Applications of poly (ethylene oxide) in controlled release tablet systems : a review. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, *40*(7), 845–851.

Matabola, K. P. and Moutloali, R. M. (2013). The influence of electrospinning parameters on the morphology and diameter of poly (vinyledene fluoride) nanofibers- effect of sodium chloride. *Journal of Material Science*, *48*, 5475–5482.

Moheman, A., Sarwar, M. and Mohammad, A. (2016). Recent trends in electrospinning of polymer nano fibers and their applications in ultra thin layer chromatography. *Advances in Colloid and Interface Science*, *229*, 1–24.

Mondal, D., Griffith, M. and Venkatraman, S. S. (2016). Polycaprolactone-based biomaterials for tissue engineering and drug delivery : Current scenario and challenges. *International Journal of Polymeric Materials*, *65*(5), 255–265.

Niemelä, T. and Kellomäki, M. (2011). Bioactive glass and biodegradable polymer composites. In H. O. Ylänen (Ed.), *Bioactive Glasses: Materials, Properties and Applications*. UK: Woodhead Publishing, pp. 227-243.

Oliveira, J. E., Mattoso, L. H. C., Orts, W. J. and Medeiros, E. S. (2013). Structural and morphological characterization of micro and nanofibers produced by electrospinning and solution blow spinning: a comparative study. *Advances in Materials Science and Engineering*, *2013*, 1-14.

Park, J.-Y. and Lee, I.-H. (2010). Relative humidity effect on the preparation of porous electrospun polystyrene fibers. *Journal of Nanoscience and Nanotechnology*, *10*(5), 3473–3477.

Pelipenko, J., Kristl, J., Jankovic, B., Baumgartner, S. and Kocbec, P. (2013). The impact of relative humidity during electrospinning on the morphology and mechanical properties of nanofibers. *International Journal of Pharmaceutics*, *456*(1), 125–134.

Prashantha, K., Lacrampe, M. F. and Krawczak, P. (2011). Processing and characterization of halloysite nanotubes filled polypropylene nanocomposites based on a masterbatch route : effect of halloysites treatment on structural and mechanical properties. *Express Polymer Letters Vol.5*, *5*(4), 295–307.

Qi, R., Cao, X., Shen, M., Guo, R., Yu, J. and Shi, X. (2012). Biocompatibility of electrospun halloysite nanotube-doped poly(Lactic-co-Glycolic Acid) composite nanofibers. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, *23*(1–4), 299–313.

Ramakrishna, S., Fujihara, K., Teo, W.-E., Lim, T.-C. and Ma, Z. (2005). *An Introduction to Electrospinning and Nanofibers (First edition)*. Singapore: World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd., 149-154.

Ramalingam, M. and Ramakrishna, S. (2017). Introduction to nanofiber composites. In *Nanofiber Composites for Biomedical Applications*. USA: Elsevier, 3-26.

Ramírez-Agudelo, R., Scheuermann, K., Gala-García, A., Monteiro, A. P. F., Pinzón-García, A. D., Cortés, M. E. and Sinisterra, R. D. (2018). Hybrid nanofibers based on poly-caprolactone/gelatin/hydroxyapatite nanoparticles-loaded doxycycline: effective anti-tumoral and antibacterial activity. *Materials Science and Engineering C*, *83*(July 2017), 25–34.

Repanas, A., Andriopoulou, S. and Glasmacher, B. (2016). The significance of electrospinning as a method to create fibrous scaffolds for biomedical engineering and drug delivery applications. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, *31*, 137–146.

Ribeiro, W. A., Pereira, I. H. L., Ayres, E., Paula, A. C. C. De, Averous, L., Góes, A. M. and Bretas, S. (2012). Influence of the microstructure and mechanical strength of nano fibers of biodegradable polymers with hydroxyapatite in stem cells growth. Electrospinning, characterization and cell viability. *Polymer Degradation and Stability*, *97*, 2037–2051.

Sinha, V. R., Bansal, K., Kaushik, R., Kumria, R. and Trehan, A. (2004). Poly- Ɛ -caprolactone microspheres and nanospheres : an overview. *International Journal of Pharmaceutics*, *278*, 1–23.

Sultanova, Z., Kaleli, G., Kabay, G. and Mutlu, M. (2016). Controlled release of a hydrophilic drug from coaxially electrospun polycaprolactone nanofibers. *International Journal of Pharmaceutics*, *505*(1–2), 133–138.

The Dow Chemical. (2002). *POLYOX Water-Soluble Resins,* USA: The Dow Chemical Company.

Touny, A. H., Lawrence, J. G., Jones, A. D. and Bhaduri, S. B. (2010). Effect of electrospinning parameters on the characterization of PLA/HNT nanocomposite fibers. *J. Mater. Res.*, *25*(5), 857–865.

Tüylek, Z. (2017). İlaç taşıyıcı sistemler ve nanoteknolojik etkileşim. *Bozok Tıp Dergisi*, *7*(3), 89–98.

Uyar, T. and Besenbacher, F. (2009). Electrospinning of cyclodextrin functionalized polyethylene oxide (PEO) nanofibers. *European Polymer Journal*, *45*(4), 1032–1037.

Vroman, I. and Tighzert, L. (2009). Biodegradable polymers. *Materials*, *2*(2), 307–344.

Wang, Y. F., Guo, H. F. and Ying, D. J. (2013). Multilayer scaffold of electrospun PLA-PCL-collagen nanofibers as a dural substitute. *Journal of Biomedical Materials Research - Part B Applied Biomaterials*, *101*(8), 1359–1366.

Woodruff, M. A. and Hutmacher, D. W. (2010). The return of a forgotten polymer - Polycaprolactone in the 21st century. *Progress in Polymer Science*, *35*, 1217–1256.

Yang, Q., Li, Z., Hong, Y., Zhao, Y., Qiu, S., Wang, C. and Wei, Y. (2004). Influence of solvents on the formation of ultrathin uniform poly (vinyl pyrrolidone) nanofibers with electrospinning. *Journal of Polymer Science: Part B: Polymer Physics*, *42*, 3721–3726.

Yuan, P., Tan, D. and Annabi-Bergaya, F. (2015). Properties and applications of halloysite nanotubes: recent research advances and future prospects. *Applied Clay Science*, *112–113*, 75–93.

Zahedi, P., Karami, Z., Rezaeian, I., Jafari, S., Mahdaviani, P., Abdolghaffari, A. H. and Abdollahi, M. (2011). Preparation and Performance Evaluation of Tetracycline Hydrochloride Loaded Wound Dressing Mats Based on Electrospun Nanofibrous Poly (lactic acid)/ Poly (Ɛ-caprolactone) Blends. *Journal of Applied Polymer Science*, *124*, 4174–4183.

Zhang, L., Wang, Z., Xiao, Y., Liu, P., Wang, S., Zhao, Y. and Shi, X. (2018). Electrospun PEGylated PLGA nanofibers for drug encapsulation and release. *Materials Science and Engineering C*, *91*(March), 255–262.

ÖZGEÇMİŞ



Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı	: ÇETİNER, Deniz
Uyruğu	: T.C.
Doğum tarihi ve yeri	: 15.08.1991, Çankaya
Medeni hali	: Bekar
Telefon	: 0 (554) 801 56 32
e-mail	: dnz.cetiner@gmail.com

Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet Tarihi
Yüksek lisans	Gazi Üniversitesi / Kimya Mühendisliği	Devam ediyor
Lisans	Gazi Üniversitesi / Kimya Mühendisliği	2015
Lise	Ayrancı Anadolu Lisesi	2005

İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
2019- Halen	Sefar Filtrasyon	İç Satış Uzmanı
2018-2019	Drogsan İlaçları San. ve Tic. A.Ş.	Satınalma Uzmanı
2017-2018	Gazi Üniversitesi Kimya Mühendisliği	Öğrenci Asistanı

Yabancı Dil

İngilizce

Yayınlar

Cetiner, D., Dilsiz, N. (2018, November). *Effect of halloysite on electrospinning and drug release behavior of PCL/PEO nanofibers.* Paper presented at 1st International Eurasian Conference on Science, Engineering and Technology (EurasianSciEnTech 2018), Ankara, Turkey.

Projeler

“Halloysit Katkılı Biyouyumlu PEO/PCL Kompozit Nanofiber Sentezi ve Biyomedikal Uygulamaları” (Gazi Üniversitesi, Kimya Mühendisliği) 2018 (BAP-06/2019-05, Araştırmacı).



GAZİ GELECEKTİR..

GAZİ ÜNİVERSİTESİ

Gazi

1926

Gazi gelecektir