

**AKNE TEDAVİSİ İÇİN İLAÇ YÜKLÜ MİKROİĞNELİ
YAMALARIN GELİŞTİRİLMESİ**

**DEVELOPMENT OF DRUG-LOADED MICRONEEDLE
PATCHES FOR ACNE TREATMENT**

BAŞAK ERDOĞDU

PROF. DR. KEZBAN ULUBAYRAM

Tez Danışmanı

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

ÖZET

AKNE TEDAVİSİ İÇİN İLAÇ YÜKLÜ MİKROİĞNELİ YAMALARIN GELİŞTİRİLMESİ

Başak ERDOĞDU

Yüksek Lisans, Biyomühendislik Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Kezban ULUBAYRAM

Eylül 2023, 68 sayfa

Akne vulgaris, cildin pilosebase birimlerinin iltihaplanması, propionibacterium acnes bakterisi kolonizasyonu, sebase (yağ) bezlerin aktivitesi, genetik faktörler, yaşam şekli ve hormonlar gibi birçok faktör nedeniyle özellikle ergenlik çağında yaşanan yaygın ve kronik bir hastalıktır. Akne tedavisinde oral veya topikal olarak antibiyotik ve retinoid türevi ilaçların birlikte kullanımı en etkili seçenektir. Günümüzde bu ilaçların tablet, krem, jel gibi klasik tedavi formları mevcuttur. Son yıllarda penetrasyon artırıcı özellikleri nedeniyle mikroığneli (MN) yamalar, çeşitli terapötiklerin transdermal iletimi için ideal platformlar olarak düşünülmektedir. Bu tez kapsamında akne tedavisinde kullanılan tetrasiklin (TCH) ve bir retinoid türevi olan retinoik asit (RA) hidrojel yapıya yüklenerek mikroığneli yamaların tasarımı ve üretilmesi hedeflenmiştir. Bu amaçla jelatin (Jel) ve poli(vinil alkol) (PVA) bazlı Jel/PVA mikroığneler mikrokalıplama yöntemi ile üretilmiştir. Mikroığnelere tetrasiklin ve retinoik asit farklı 2 dozda yüklenerek mikroığneler karakterize edilmiş ve etkinlikleri değerlendirilmiştir.

Üretilen mikroığnelerin morfolojileri ışık ve taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile incelenmiştir. Mikroskobik görüntülerde yaklaşık 650 µm iğne yüksekliğine sahip kare tabanlı piramidal mikroığnelerin oldukça düzgün yapılar oluşturduğu ve etken maddelerin iğnelere başarılı bir şekilde yüklendiği tespit edilmiştir. Mikroığnelerin termal özellikleri Diferansiyel Taramalı Kalorimetri (DSC) ve Termogravimetrik Analiz (TGA) ile incelenmiş ve bütün örneklerde ısıl bozunmanın yaklaşık olarak 325 °C’de başladığı ve 300-450 °C arasında %76-82 civarında kütle kayıplarının olduğu izlenmiştir. Etken

maddelerin Jel/PVA'ya eklenmesinin ısı bozunmaya önemli bir etkisinin olmadığı gözlenmiştir. Mikroİğnelerin DSC termogramları benzer özellik göstermiş olup 37.5 °C'de PVA'ya ait, 49.22 °C'de ise jelatine ait 2 farklı camsı geçiş sıcaklığı (T_g) tespit edilmiştir. Ayrıca 110 ve 195.36 °C'de sırasıyla jelatinin ve PVA'nın erime sıcaklıkları izlenmiştir. Üretilen mikroİğne yamalar L929 hücre hattına karşı toksik bir etki göstermemiştir. Mikroİğnelerin penetrasyon testi Parafilm M[®] katmanları ile gerçekleştirilmiştir. 650 µm iğne yüksekliğine sahip iğnelerin yaklaşık 5. ve 6. Parafilm M[®] katmanına kadar ulaştığı tespit edilmiştir. Bu sonuçlar değerlendirildiğinde mikroİğnelerin cildin dermis kısmına ulaşacağı sonucuna varılmıştır. Hazırlanan mikroİğne yamalarının antibakteriyal aktiviteleri *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 suşuna karşı incelenmiş ve antibakteriyal özellikte olduğu değerlendirilmiştir. Sonuç olarak; tetrasiklin ve retinoik asit yüklü hidrojel yapılı mikroİğne yamalarının kombine ilaç yaklaşımı ile penetrasyonu artırarak akne vulgarisin topikal tedavisinde kullanım potansiyeline sahip olduğu düşünülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Mikroİğne, tetrasiklin, retinoik asit, akne vulgaris, PVA, jelatin.

ABSTRACT

DEVELOPMENT OF DRUG-LOADED MICRONEEDLE PATCHES FOR ACNE TREATMENT

Basak ERDOGDU

Master of Science, Department of Bioengineering

Supervisor: Prof. Dr. Kezban ULUBAYRAM

September 2023, 68 pages

Acne vulgaris is a common and chronic disease, especially during adolescence, due to various factors such as inflammation of the pilosebaceous units of the skin, colonization of the *Propionibacterium acnes* bacterium, activity of sebaceous (oil) glands, genetic factors, lifestyle and hormones. In the treatment of acne, the combination of oral or topical antibiotics and retinoid drugs is the most effective option. Today, these drugs are available in traditional forms such as tablets, creams and gels. In recent years, microneedle (MN) patches have been considered as ideal platforms for the transdermal delivery of various therapeutics, primarily due to their enhanced penetration properties. This thesis aim to design and produce microneedle patches by loading them with tetracycline (TCH), commonly used in acne treatment, and a retinoid derivative known as retinoic acid (RA) in a hydrogel structure. To achieve this, microneedles based on gelatin (Gel) and poly(vinyl alcohol) (PVA) were fabricated using a micro-molding technique. The microneedles were loaded with tetracycline and retinoic acid at different doses, characterized and their effectiveness evaluated.

The morphologies of the produced microneedles were examined using light and scanning electron microscopy (SEM). Microscopic images revealed that square-based pyramidal microneedles with a height of approximately 650 μm exhibited well-defined structures, and the active substances were successfully loaded onto the microneedles. The thermal properties of the microneedles were investigated using Differential Scanning Calorimetry (DSC) and Thermogravimetric Analysis (TGA). It was observed that all samples exhibited thermal degradation approximately at 325 $^{\circ}\text{C}$, with mass losses of around 76-

82% in the temperature range of 300-450 °C. Adding the active substances to the Gel/PVA did not significantly affect thermal degradation. DSC thermograms of the microneedles showed similar characteristics, with two different glass transition temperatures (T_g) identified: one at 37.5 °C attributed to PVA and another at 49.22 °C attributed to gelatin. Additionally, the melting temperatures of gelatin and PVA were observed at 110°C and 195.36 °C, respectively. The microneedle patches did not exhibit toxic effects against the L929 cell line. A penetration test of the microneedles was performed using parafilm layers, and it was determined that microneedles with a height of 650 µm reached approximately the 5th to 6th parafilm layer. Based on these results, it can be concluded that the microneedles can penetrate into the dermal layer of the skin. The antibacterial activity of the prepared microneedle patches was examined against *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 strain, and they were found to possess antibacterial properties.

In conclusion, hydrogel-based microneedle patches loaded with tetracycline and retinoic acid have the potential to enhance penetration and are considered for use in the topical treatment of acne vulgaris through a combined drug approach.

Keywords: Microneedle, tetracycline, retinoic acid, acne vulgaris, PVA, gelatin.

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca bilgi ve tecrübesiyle yoluma ışık tutan, bilimsel ve manevi desteğiyle bana her türlü imkânı sunan, içindeki çalışma arzusunu örnek aldığım, bana çok değerli bilgiler katarak ufkumu genişletmeme yardımcı olan kıymetli danışman hocam Prof. Dr. Kezban Ulubayram'a,

Deneysel çalışmalarım esnasında yol gösterip değerli bilgilerini paylaşip tecrübelerini aktarmaktan çekinmeyen ve yardımlarını esirgemeyen Öğr. Gör. Dr. Şükrü Öztürk'e,

Tez çalışmamın her aşamasında bilgisini esirgemeyip desteğini her daim hissettiğim, sorularımı çekinmeden sorabildiğim, sunduğu yardım ve katkısı ile bitirmeme olanak sağlayan Arş. Gör. Elif Cönger'e,

Mikrobiyoloji deneylerimde tecrübesi ve alt yapısı ile destek sağlayan Doç. Dr. Didem Kart'a,

İlaç etken maddeleri sağlaması ve ilaç konusundaki bilgilerini aktararak tez çalışmama destek sağlayan Prof. Dr. İpek Eroğlu'na,

Polimerler konusunda bilgilerini benimle paylaşan Prof. Dr. Eda Ayşe Aksoy'a,

Çalışmalarımda yardımcı olan ve teknolojik bilgisiyle bana destek olan Soghrat Salamatı'ye,

Tez çalışmalarım sırasında bana yardımını ve arkadaşlığını esirgemeyen, sohbetinden keyif aldığım Şeyma Nur Türkmen Koç'a,

Hayatım boyunca yanımda olacaklarını bildiğim maddi ve manevi desteğini hissettiren canım annem, babam ve kardeşime,

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	i
ABSTRACT	iii
TEŞEKKÜR	v
İÇİNDEKİLER.....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ	x
1. GİRİŞ ve TEZİN AMACI.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	5
2.1. Mikroıǵneler.....	5
2.2. Mikroıǵne Üretiminde Kullanılan Malzemeler.....	8
2.2.1. Silikon	9
2.2.2. Metal.....	9
2.2.3. Cam	9
2.2.4. Seramik.....	10
2.2.5. Polimer	10
2.3. Mikroıǵne Fabrikasyon Yöntemleri	11
2.3.1. Litografi.....	11
2.3.2. Sıcak Kabartma	12
2.3.3. Mikro Kalıplama	12
2.3.4. Termal Çizim Litografisi.....	13
2.3.5. Lazer Ablasyon	13
2.3.6. 3B Baskılama	14
2.4. Mikroıǵnelerin Uygulama Alanları	14
2.4.1. Transdermal İlaç Salım Sistemi	14
2.4.2. Hastalıkların Tedavisi	15
2.4.3. Hastalık Teşhisi	16
2.4.4. Yara İyileşmesi.....	17
2.4.5. Aşı Uygulamaları	17
2.4.6. Cilt Hastalıklarının Tedavisi	17
2.5. Mikroıǵnelerde İlaç Salım Stratejileri.....	20

2.5.1. Katı (Solid) Mikroığneler	21
2.5.2. Etken Madde Kaplı (Coated) Mikroığneler	22
2.5.3. Çözünen (Dissolving) Mikroığneler	22
2.5.4. İçi Boş (Hollow) Mikroığneler	23
2.5.5. Hidrojel Mikroığneler	23
2.6. Ticari Ürünlerde Mikroığneler.....	23
3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR.....	26
3.1. Jelatin/Poli(vinil alkol) Mikroığnelerin Üretimi.....	26
3.2. Mikroığnelerin Karakterizasyonu	28
3.2.1. Mikroığnelerin Mikroskopik Görüntülerinin İncelenmesi	28
3.2.2. Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR)	28
3.2.3. Diferansiyel Taramalı Kalorimetri.....	28
3.2.4. Termogravimetrik Analiz	28
3.2.5. Mikroığnelerin Hidrolitik Bozunma Davranışlarının İncelenmesi	28
3.2.6. Mikroığnelerde Penetrasyon Analizi	29
3.3. Hücre Canlılığı Analizi.....	29
3.4. Mikroığnelerin Antibakteriyal Aktivitesinin İncelenmesi	30
4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA	31
4.1. Mikroığnelerin Mikroskop Görüntüleri	31
4.2. Mikroığnelerin FTIR Bulguları	35
4.3. Mikroığnelerin Termal Analiz Bulguları	37
4.4. Mikroığnelerin Hidrolitik Bozunma Davranışları	44
4.5. Mikroığnelerin Hücre Canlılığına Etkisi	45
4.6. Mikroığnelerin Penetrasyon Özellikleri.....	47
4.7. Mikroığnelerin Antibakteriyal Aktiviteleri.....	49
5. YORUM ve GELECEK PLANI.....	51
6. KAYNAKLAR	53
EKLER.....	67
EK 1 - Tez Çalışması Orjinallik Raporu.....	67
ÖZGEÇMİŞ	68

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1.1. Tetrasiklin HCl'in kimyasal yapısı.	2
Şekil 1.2. Retinoik asit'in kimyasal yapısı.	3
Şekil 1.3. Jelatin'in kimyasal yapısı.	3
Şekil 1.4. PVA'nın kimyasal yapısı.	4
Şekil 2.1. A) Mikroığneler, B) Mikroığne dizisi, C) Mikroığne geometrileri, D) Mikroığne boyutları (a = İğne yüksekliği, b = İğne taban genişliği, c = İğneler arası uzaklık)..	6
Şekil 2.2. Memeli derisinin histolojik yapısı [23].	8
Şekil 2.3. Mikrokalıplama yöntemi ile mikroığne oluşturulması [65].	13
Şekil 2.4. Mikroığne ilaç salım strateji çeşitleri [79].	21
Şekil 2.5. Mikroığneleme cihazları; A) Dermaroller, B) Dermastamp [®] , C) Dermapen [®] [34, 131, 132].	24
Şekil 2.6. Piyasadaki akne ve akne izlerine yönelik etken madde içeren mikroığne yamaları.	25
Şekil 3.1. Üretilen mikroığnelerin ölçüleri; A) Yükseklik: 800 µm, B) Taban genişliği: 200 µm, C) Merkez-merkez uzaklığı: 500 µm.	26
Şekil 3.2. Mikroığne üretim metodunun şematik gösterimi.	27
Şekil 4.1. Mikroığnelerin genel görüntüleri; A) ve B) Işık mikroskobu görüntüsü, C) SEM görüntüsü.	31
Şekil 4.2. Mikroığnelerin SEM görüntüleri.	33
Şekil 4.3. Mikroığne boyutları.	34
Şekil 4.4. Tetrasiklinin FTIR spektrumu.	35
Şekil 4.5. Retinoik asidin FTIR spektrumu.	36
Şekil 4.6. Mikroığnelere ait FTIR spektrumları.	37
Şekil 4.7. Tetrasikline (TCH) ait DSC termogramı.	38
Şekil 4.8. Retinoik asite (RA) ait DSC termogramı.	38
Şekil 4.9. Mikroığneye (MN) ait DSC termogramı.	39
Şekil 4.10. MN-TCH1/RA1'e ait DSC termogramı.	39
Şekil 4.11. Mikroığnelerin DSC termogramları.	40
Şekil 4.12. MN'nin TGA termogramı.	41
Şekil 4.13. MN-TCH1'in TGA termogramı.	41
Şekil 4.14. MN-TCH2'nin TGA termogramı.	42

Şekil 4.15. MN-RA1'in TGA termogramı.....	42
Şekil 4.16. MN-RA2'nin TGA termogramı.....	43
Şekil 4.17. MN-TCH1/RA1'in TGA termogramı.	43
Şekil 4.18. MN-TCH2/RA2'nin TGA termogramı.	44
Şekil 4.19. Mikroİğnelerde % jelatin kaybı.	45
Şekil 4.20. TCH ve RA yüklü mikroİğnelerin hücre canlılığı üzerine etkisi. Etken madde yüklü mikroİğnelerin hücre canlılığı üzerinde toksik etki göstermediği tespit edilmiştir. Elde edilen verilerin istatistiksel analizi tek yönlü varyans analizi kullanılarak gerçekleştirilmiş olup, gruplar arasında anlamlı fark olup olmadığı Bonferroni çoklu karşılaştırma metodu ile tespit edilmiştir. $p<0.05$ anlamlı olarak kabul edilmiştir. *** $p<0.001$, **** $p<0.0001$ temsil etmektedir.....	46
Şekil 4.21. Mikroİğne gruplarının mekanik testten önce ve sonra ışık mikroskobu görüntüleri ve kuvvet uygulama sonrası ilk katman ve İğnelerin parafilm deldiği son katmanlar.	48
Şekil 4.22. MN gruplarının antibakteriyal aktivitesi.	50

ÇİZELGELER DİZİNİ

Tablo 1. Üretilen mikroıǵnelerin kompozisyonu.	27
Tablo 2. <i>S. aureus</i> (ATCC 29128)'a karşı disk difüzyon testi sonuçları.....	50



1. GİRİŞ VE TEZİN AMACI

Akne vulgaris, cildin pilosebace birimlerinin iltihaplanmasına bağılı olarak özellikle ergenlik çağında yaşanan yaygın ve kronik bir hastalıktır. Akne genellikle yağ bezi tarafından aşırı üretilen sebum nedeniyle pilosebace ünite (saç folikülü, kıl kökü ve yağ bezi dahil) tıkanmanın bir sonucu olarak oluşur ve bu da *Propionibacterium acnes* (*P. Acnes*) bakterisinin aşırı çoğalmasını tetikler [1]. Hayatı tehdit eden bir hastalık olmamasına rağmen akne vulgaris, psikososyal problemlere yol açması nedeniyle önem arz etmektedir [2].

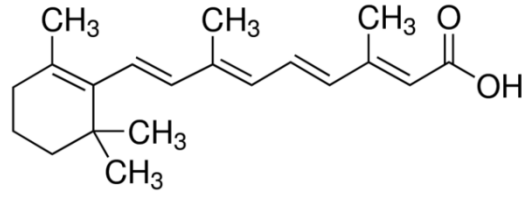
Akne hastalığının şiddetine göre topikal veya sistemik tedavi veya fiziksel yöntemler gibi birçok tedavi seçeneği bulunmaktadır. Birinci basamak tedavi seçenekleri ağırlıklı olarak benzoil peroksit veya topikal retinoid veya bunların şiddet ölçeğine göre topikal bir antibiyotik veya oral izotretinoin ile bir kombinasyonunu içerir. Önerilen antibiyotiklerden tetrasiklin sınıfı, kontrendike durumlar dışında ilk tercih seçeneğidir [3]. Topikal retinoidler, hem non-enflamatuvar hem de enflamatuvar akne lezyonlarının tedavisinde etkin olması nedeni ile birçok akne hastası için birinci basamak tedavi seçeneği olarak önerilmektedir [4]. Retinoidlerin bir üyesi olan tretinoin, akne için en sık kullanılan retinoiddir [5].

Akne tedavisinde, retinoid türevlerinin antibiyotik türevi ilaçlarla birlikte kullanılmasının tedavide etkinliği artırdığı bilinmektedir. Ancak mevcut şartlarda antibiyotik ve retinoidi bir arada içeren herhangi bir formülasyon bulunmamaktadır. Diğer taraftan tedavi seçenekleri arasında bulunan oral yolla kullanılan antibiyotiklerin ciddi yan etkileri olmakta ve direnç gelişimi göstermektedirler. Topikal kullanılan ilaçların ise tedavide etkinlikleri düşüktür. Bu nedenle araştırmacılar tedavide etkinliği artırmak için kombine ilaç yaklaşımlarını esas almakta ve klasik dozaj formları (tablet, krem, jel) yerine yeni dozaj şekilleri (mikro/nano emülsiyonlar, mikrosüngerler, lipozomlar, katı lipid nanopartiküller vb.) üzerine yoğunlaşmışlardır. Son yıllarda ise topikal uygulamalarda mikroiğneler araştırmacıların yoğun olarak dikkatini çekmiştir. Etkin maddelerin yarattığı ciddi yan etkiler sebebiyle tedavilerde kullanılan dozların düşürülerek ilaçların penetrasyonu artırılması için mikroiğneler ön plana çıkmıştır.

Bu tezin amacı topikal akne tedavileri için kombine ilaç yaklaşımı ile birlikte penetrasyonu artırmak için tetrasiklin ve bir retinoid türevi olan all trans retinoik asit yüklü jelatin (Jel) ve poli(vinil alkol) (PVA) yapıda çözünebilen/biyobozunur mikroiğneli yamaların geliştirilmesidir.

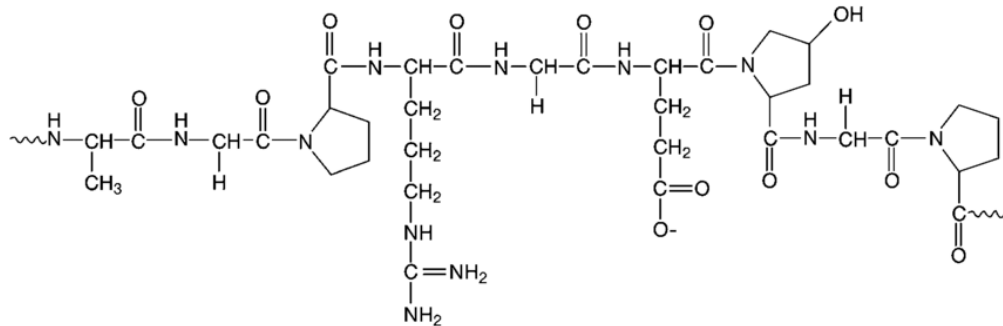
CN(C)[C@H]1C(=O)C(=C(C(=O)C2=C(C(=O)C3=C(C(=O)C4=CC(=C(C=C4)O)O)O)O)O)O1

2



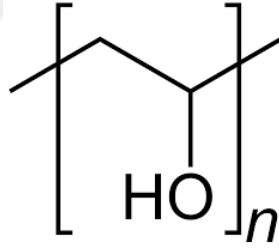
Şekil 1.2. Retinoik asit'in kimyasal yapısı.

Bu tez çalışmasında mikroıǵnelerin üretiminde jelatin ve PVA kullanılması planlanmıştır. Jelatin, kontrollü hidroliz yoluyla kolajenlerden elde edilen doğal bir biyopolimerdir (Şekil 1.3). Jelatin, mükemmel biyoyumluluk, esneklik, yapışkanlık, hücre proliferasyonuna etkisi, geliştirilmiş mekanik, fiziksel/kimyasal özelliklere sahip olması nedeniyle yaygın olarak biyomalzeme alanında kullanılan doğal bir polimerdir [10]. Genel olarak iki tip jelatin vardır: Tip A ve Tip B. Jelatin Tip A, kollajenlerden asidik ön işlemle ekstrakte edilir ve işlenir, oysa Tip B jelatin, alkali ön işlemle elde edilir. Alkali ön işlem , glutamin ve asparajin kalıntılarını glutamik ve aspartik asite dönüştürür, bu da Tip B jelatin için A Tipi jelatinden daha yüksek karboksilik asit içeriğine yol açar [11, 12]. Nispeten düşük maliyetle ticari olarak temin edilebilmesi ve düşük immünojenitesi nedeniyle jelatin yaygın olarak kullanılmaktadır. Jelatin, ilaç dağıtımında taşıyıcı, yara iyileşmesinde pansuman, damar protezlerinde sızdırmazlık maddesi gibi farmasötik ve tıbbi alanlarda kullanılmaktadır. Jelatinin diğer polimerlerle karıştırılması yaklaşımı araştırmacılar tarafından sıklıkla benimsenmiştir. Bu, sentetik ve doğal polimerlerin eksikliklerinin üstesinden gelmek için uygulanabilir bir yaklaşımdır [13]. Jelatin hidrojeller genellikle üç boyutlu ağı içerisinde kayda değer miktarda suyu hapsedebilir [14].



Şekil 1.3. Jelatin'in kimyasal yapısı.

Poli(vinil alkol) (PVA) ise yüksek düzeyde biyouyumlu olması, toksik ve kanserojen olmaması, mükemmel ve kolay film oluşturma özelliklerine sahip olması, suda iyi çözünmesi, biyolojik olarak parçalanabilir olması nedeniyle biyomedikal uygulamalarda yaygın olarak kullanılan bir polimerdir. Yüksek kristal yapısı nedeniyle iyi mekanik özelliklere sahiptir ve bu da onu polimerik mikroıǧnelerin geliştirilmesinde yaygın olarak kullanılmasını sağlar. PVA elverişli ve uyumlu özelliklerden dolayı birçok sentetik ve doğal polimerlerle harmanlanmıştır. Harmanlanmış malzemeler, doğal veya sentetik polimerler, her bir malzemenin arzu edilen özelliklerini kendi başına bir araya getirirken, harmanlanmış polimer malzemeler, elde edilen polimerik malzemelerin mekanik ve fizikokimyasal özelliklerini geliştirmek için PVA ile karıştırılır [15]. Bu polimerlerden bir tanesi de biyomedikal uygulamalarda kullanılan jelatindir. PVA ve jelatin kombinasyonu tezde yapılması planlanan hidrojel mikroıǧneler oluşturmak için kullanılan malzemeler arasındadır. Yapılan bir çalışmada, Jel/PVA'nın iç içe geçen hidrojellerinin biyomedikal uygulamalarda kullanımı için tüm gereksinimleri karşıladığını göstermektedir [9].



Şekil 1.4. PVA'nın kimyasal yapısı.

Bu bilimsel bilgiler ışığında akne tedavisinde kullanılmak üzere hem bakteriyostatik hem de komedolitik aktivite gösteren mikroıǧneli yamaların üretimi ve özellikleri kullanım potansiyellerine yönelik olarak değerlendirilmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Mikroİğneler

Mikroİğneler (MN), çeşitli organ ve dokularda mikron ölçeğinde delikler oluşturan gelişmiş transdermal ilaç iletimine izin veren minimal invaziv cihazlardır. Mikroİğne teknolojisi, terapötik, kozmetik ve teşhis açısından umut vericidir [16]. Mikroskobik iğneler tipik olarak küçük bir yama üzerinde oluşturulur. Mikroİğnelerin kullanımı için genellikle rulo, yama, aplikatör kullanmak yaygındır [17].

Mikroİğneler, ciltteki sinir uçlarıyla temas etmediğinden minimum doku hasarı gerçekleşir. Mikroİğneler yoluyla uygulanan ilaçların karaciğer gibi hayati insan organlarını atlaması nedeniyle bir MN'nin transdermal ilaç iletimi için en iyi yollardan biri olduğu düşünülmektedir [18]. Ayrıca, ağrısız bir deneyim sağlayarak intravenöz enjeksiyonla ilişkili ağrıyı ortadan kaldırır [19]. Sonuç olarak, iğne fobisi (tripanofobi) olan kişiler için en iyi seçenek olarak kabul edilir. Mikroİğneli transdermal ilaç verme uygulaması, eğitimli personel gerektirmez, bu nedenle kullanım kolaylığı sağlar [20]. Ayrıca bu, enfeksiyonun vücuda bulaşma riskini azaltır [21].

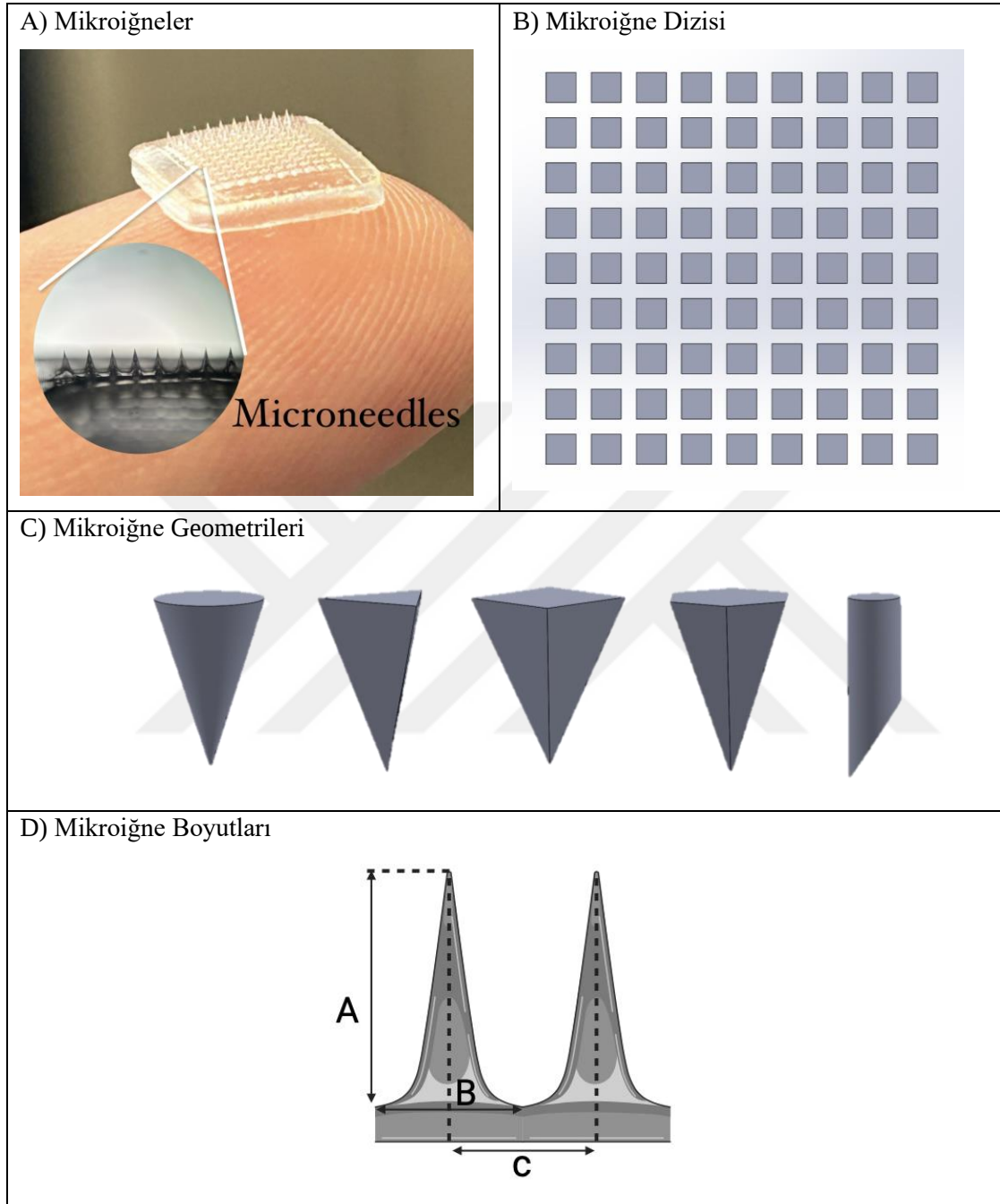
Stratum korneum, herhangi bir terapötik ajanın moleküllerinin deriden geçerek epidermis veya dermis tabakasına ulaşmasını önlemek için bir bariyer görevi görür [22]. Mikroİğne, stratum korneum bariyerini atlama ve ilacı herhangi bir ağrıya neden olmadan epidermise veya üst dermis tabakasına verme yeteneğine sahiptir [23]. Ayrıca, MN dizisi, stratum korneum'a nüfuz edecek kadar uzun ve dermise zarar gelmesini önleyecek veya sinir uçlarına ulaşacak kadar kısadır ve böylece ağrısızdır [24].

İnsan derisine manuel olarak veya mekanik bir yerleştirme sistemi ile yerleştirilebilir [25]. Yerleştirme sırasında MN'ler burkulma ve bükülme nedeniyle başarısız olabilir. Mikroİğne burkulması, uygulanan yük kritik burkulma yükünden fazla olduğunda gerçekleşir [26].

İlaç iletiminde, aşılarda ve diğer biyolojik türlerin lokalize veya sistemik uygulamasında ve deriden biyolojik numuneleri çıkarmak kullanılabilir [27]. Bu sistemler, COVID-19 aşılarının dağıtımı için platformlar olarak incelenmiştir [28, 29].

Özetle, daha iyi hasta uyumu, artan ilaç biyoyararlanımı, kolay uygulanabilirlik, minimal invazivlik ve kendi kendine aşılama potansiyeli özellikleriyle ağrısız bir ilaç iletim yöntemidir [30, 31]. Mikroİğnelerin kullanımı biyolojik olarak tehlikeli keskin alet atıklarının, iğne batması yaralanmalarının, iğne fobisi olan hastaların kaygılarının

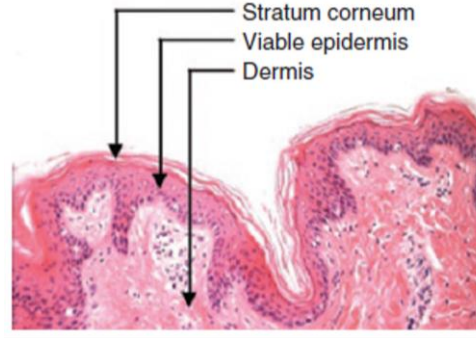
oluşmasını önler. Hipodermik iğnelere kıyasla mikrobiyal penetrasyonu ve kontaminasyonu önemli ölçüde azaltır [32].



Şekil 2.1. A) Mikroığneler, B) Mikroığne dizisi, C) Mikroığne geometrileri, D) Mikroığne boyutları (a = İğne yüksekliği, b = İğne taban genişliği, c = İğneler arası uzaklık).

Mikroiğneler, uygulamalara bağlı olarak genellikle 50 - 2000 µm uzunluğunda, 20 - 250 µm genişliğinde, uçlarının çapı 1 - 100 µm ve baz genişliği 25 - 500 µm arasında değişebilir [32]. Küçük uç yarıçapına, açısına ve yüksek en boy oranına sahip mikroiğneler, kırılma riskini ve doku penetrasyon hedefini dengelemek için idealdir [33]. Mikroiğnelerin temel amacı, deriye veya herhangi bir biyolojik dokuya kırılmadan veya bükülmeden nüfuz etmektir. Mikroiğnelerin kırılma kuvvetlerini ve deriye yerleştirilmesini etkileyen ana faktörler şunlardır: malzeme türü, iğne yüksekliği, uç yarıçapı, taban çapı, iğne geometrisi, iğne kalınlığı ve iğne yoğunluğu [34]. İğne uzunluğu, uç çapı ve taban genişliği/çapı dahil olmak üzere mikroiğnelerin kontrol edilebilir boyutları, iğnelerin hedeflenen konuma (penetrasyon derinliği) ulaşım sağlayamayacağını belirlediklerinden doku penetrasyonu için çok önemli parametrelerdir. Daha geniş, daha uzun ve daha yoğun bir şekilde paketlenmiş mikroiğnelerin daha etkili cilt geçirgenliğine yol açtığı sonucuna varmıştır. İğnenin en boy oranı, yerleştirme kolaylığını ve mekanik bütünlüğü etkiler. Daha yüksek en boy oranlı iğnelerin yerleştirilmesi daha kolayken, daha düşük en boy oranlı iğneler mekanik olarak daha güçlü iğneler sağlar [34]. Deri kalınlığının farklı etnik kökenlere, cilt tiplerine, yaş gruplarına, cinsiyetlere, anatomik bölgelere, yaşam tarzlarına ve vücut kitle indekslerine göre değiştiğini dikkate almak gerekir [35]. İğne tabanı geometrisi de penetrasyon derinliğini önemli ölçüde etkiler (Şekil 2.1.C). Örneğin, üçgen ve kare tabanlı mikroiğneler, sabit mikroiğne uzunluğu ve aralığında altıgen tabanlı mikroiğnelerden daha fazla penetrasyon derinliğine sahiptir [36]. İğne tabanı geometrisinin mikroiğnelerin mekanik mukavemeti üzerindeki etkisi, aynı polimer malzemelerden yapılmış konik ve piramidal mikroiğneler karşılaştırılarak araştırılmıştır. Test sırasında, piramidal mikroiğnelerin konik mikroiğnelere göre daha güçlü bir mekanik kuvvete sahip olduğu gösterilmiştir [37].

Derinin yapısı epidermis, dermis ve hipodermisten oluşur. Derinin en dış tabakası olan stratum korneum epidermiste yer alır. Bu katmanların mekanik özelliklerinin anlaşılması, mikroiğne teknolojilerinin geliştirilmesinde zorunludur.



Şekil 2.2. Memeli derisinin histolojik yapısı [23].

Derinin en dış tabakası olan stratum korneum tabakasının kalınlığı yaklaşık 10-20 μm 'dir [38]. Stratum korneum'un altında epidermis bulunur ve epidermis yaklaşık 100-150 μm 'dir ve kan damarlarından yoksundur [39]. Hedeflenen molekül stratum korneum ve epidermise nüfuz ettikten sonra dermiste sistemik absorpsiyon meydana gelir. Dermis tabakası genellikle 3-5 mm kalınlığındadır ve kan kılcal damarları, lenfatik ağlar, sinir uçları ve ter bezleri içerir [40]. Mikroİğnelerin penetrasyon derinliği, terapötiklerin derinin epidermise ve dermis tabakasına iletilmesi için sırasıyla 20 μm ve 150 μm 'den uzun olmalıdır. Sinir uçları derinin derin dermisinde dağıldığı için daha uzun olan mikroİğnelerin, ağrı reseptörlerini aktive etme olasılığı daha yüksektir. Mikroİğne uzunluğu ile ağrı arasındaki ilişkiyi araştıran bir çalışma, mikroİğne uzunluğunu 480 μm 'den 1450 μm 'ye çıkarmanın ağrıya yedi kattan fazla artışa yol açtığını bulmuştur [41]. Öte yandan, mikroİğne uzunluğundaki artış, difüzyon yolunun uzunluğunu azaltacak ve ilacın dermal mikrosirkülasyon tarafından alımını artıracaktır. Yapılan bir çalışmada, 300 mikron İğneler, cilt bariyerinin elastik deformasyonunun üstesinden gelemeyip insan derisi yeterince delinememiştir [42]. Sonuç olarak, İğne boyu etkisiz olacak kadar kısa ya da dermisin daha derin katmanlarındaki sinir uçlarına temas ederek ağrıya neden olacak kadar uzun olmamalıdır.

2.2. Mikroİğne Üretiminde Kullanılan Malzemeler

Mikroİğnelerin üretimi için metalden polimerlere kadar çok çeşitli malzemeler kullanılır. Mikroİğnelerin geliştirilmesinde kullanılan malzemelerin biyouyumluluk, maliyet, kullanıcı dostu, kolay temin edilebilirlik, yüksek çekme mukavemeti, aşındırıcı olmayan,

iyi mekanik mukavemet gibi özellikleri karşılaması gerekmektedir [43]. Bu özellikler mikroığnelerin kabul edilebilirliğini ve kullanışlılığını artıracaktır.

2.2.1. Silikon

Silikon, çeşitli özellikleriyle mikroyapıların ve mikro elektromekanik sistemlerin (MEMS) üretiminde çok yararlı olduğu bilinmektedir [34]. En büyük avantajı, esnekliğinden dolayı şekillendirilmesinin kolay olmasıdır. Bu özelliğe sahip olması da çeşitli istenilen şekil ve boyutlardaki mikro yapıların kolayca üretilebileceği anlamına gelir [44]. Silikon alt tabakalar için var olan üretim yöntemleri belirlidir ve maliyetleri azaltan toplu üretim yeteneğine sahiptir.

Silikon mikroığnelerin mekanik dayanıklılık gibi önemli mekanik özellikleri, cildi başarıyla delmesine izin vererek transdermal ilaç dağıtımını, istenen şekil ve boyutların üretimini kolaylaştırır [45]. Silikonun ana sınırlamaları, yüksek maliyeti, ayrıntılı imalatı, uzun imalat süreleri, temiz oda koşulları gerektirmesi ve karmaşık çok adımlı işlemesidir. Silikon mikroığnelerin kullanılmasıyla ilgili en büyük endişe, silikonun kırılğan doğası nedeniyle, delme işleminden sonra silikon mikroığne deride kırılabilir ve bu sağlıkla ilgili endişelere yol açabilir [46].

2.2.2. Metal

Mikroığnelerin üretiminde kullanılan paslanmaz çelik, titanyum gibi metaller zaten hipodermik iğne imalatı, tıbbi implantlar ve protezler için kullanılmış ve iyi bir biyouyumluluk ve mekanik dayanıklılık göstermiştir [44]. İyi biyouyumluluklarına ek olarak, bu tür metaller iyi mekanik özelliklere sahiptir. Young modülü, bir malzemenin esnekliğini ölçer. Modül değerleri karşılaştırılırken metaller, mümkün olan en yüksek silikon Young modulus değeriyle (180 GPa) karşılaştırılabilir olarak kabul edilebilir; ancak metaller, silikona kıyasla daha yüksek bir kırılma tokluğu sergiler. Bu nedenle, metaller silikona kıyasla MN üretimi için daha uygun bir malzeme olarak düşünülebilir. Ancak bazı hastalarda lokal alerjik reaksiyonlara neden olabilir [24].

2.2.3. Cam

Cam malzeme, geometrik olarak değişken mikroığneleri küçük ölçekte imal etmek için kullanılır. Silika cam, doğası gereği kırılğan olmasına rağmen genellikle mikroığnelerin hazırlanması için kullanılır [47]. Ayrıca, borosilikat cam daha elastiktir, bu nedenle elle üretilebilir. Böylece bu, camı mikroığneler için ticari bir imalat malzemesi olarak kısıtlar.

2.2.4. Seramik

Alümina (Al_2O_3), mikroğnelerin üretimi için en popüler seramik türüdür [48]. Monokristal silisyum ile karşılaştırıldığında, alümina uygun bir mekanik dayanıma sahiptir. Alümina en kararlı oksitlerden biri olarak düşünülmesine ve bu nedenle olumsuz çevre koşullarından veya korozyondan etkilenmemesine rağmen, kırılgan bir malzemedir [49]. Diğer malzemelere kıyasla gerilime karşı daha düşük mukavemet direncine sahiptir. Kırılganlığı, kesme kuvvetlerini ortadan kaldıran mikro girinti teknikleri kullanılarak ve MN'lerin silikon kauçuğa manuel olarak uygulanmasıyla mekanik performans testlerinde kanıtlanmıştır. Alümina MN'lerin deri üzerinde manuel olarak uygulanması sırasında kırılmalar meydana gelmiştir [50]. Zirkonya, MN yerleştirme açısından daha çekici olabilen, ancak daha zayıf aşınma özelliklerine sahip olan alümina ile karşılaştırıldığında daha iyi eğilme mukavemeti ve kırılma tokluğu değerlerine ve eğilme mukavemetine sahip olan başka bir seramik türüdür [51].

2.2.5. Polimer

Polimerik malzemeler, mikroğne üretimi için diğer malzemelere ek olarak umut verici alternatiflerdir. Bazı polimerler ve polisakkaritler, mükemmel biyouyumlulukları, biyobozunurlukları, düşük toksisiteleri, dayanıklılıkları/toklukları ve düşük maliyetleri nedeniyle giderek daha fazla dikkat çekmektedir [52]. Polimerler, yüksek biyouyumlulukları nedeniyle esas olarak çözünen ve hidrojel oluşturan MN'lerin imalatı için kullanılır ve yerleştirmenin ardından cilt içinde kalabilecek potansiyel MN malzemesiyle ilgili endişeleri azaltır. Genel olarak, polimerler silikon, metaller, seramik ve camdan daha düşük mukavemet gösterirken, cam ve seramikten daha iyi tokluk sunar [34]. Belirli bir klinik uygulamada istenen mekanik özellikleri elde etmek için farklı polimer karışımları kullanılabilir. Örneğin, bir çalışmada, cildi hızlı ve eşit bir şekilde delmek için delici bir malzeme olarak hyaluronik asit, karboksimetil selüloz ve aljinat kullanılmıştır. Böylece, altta yatan MN'lerin interstisyel sıvı ile etkileşime girmesine izin verilmiştir [53]. Bu çalışma, keskin bir iğne ucunun ve genel mekanik gücün iğne girişini etkileyen en önemli iki faktör olduğunu göstermiştir.

Çözünebilen/biyobozunur polimerler arasında sentetik polimer ve polisakkaritlerin doğal polimerleri, karbonhidratlar, polipeptitler ve protein polimerleri yer alır. Doğal polimerlerin metabolitleri toksik değildir ve insan vücudundan güvenli bir şekilde elimine edilebilir. Yaygın olarak kullanılan polisakkaritler veya karbonhidrat polimerleri arasında

kitosan, hyaluronik asit (HA), kondroitin sülfat, karboksimetil selüloz (CMC) ve hidroksiproil metil selüloz yer alır. Jelatin, kolajen ve ipek fibroinin polipeptitleri veya protein polimerleri ile de mikroıǵneler üretildiği rapor edilmiştir. Doğal polimerlere ek olarak, poli(vinil alkol) (PVA), poli(etilen glikol) (PEG), poli(vinil piroolidon) (PVP) ve poli(metil vinil eter-ko-maleik asit) (PMVE/MA)'nin sentetik çözünen polimerleri, poli(laktik asit) (PLA), poli(glikolik asit) (PGA) ve poli(laktik-ko-glikolik asit) (PLGA)'nin biyolojik olarak parçalanabilen polimerleri araştırılmıştır [54].

2.3. Mikroıǵne Fabrikasyon Yöntemleri

Mikroıǵne üretimi için litografi, mikro kalıplama, sıcak kabartma, lazer ablasyon ve 3B baskılama dahil olmak üzere çok sayıda yöntem kullanılabilir. Mikroıǵnelerin geliştirilmesi için mikro kalıplama ve litografi yaygın olarak kullanılsa da özelleştirilebilirlik, ölçeklenebilirlik, finansal uygulanabilirlik ve kullanılacak malzeme ile bağlantılı çeşitli sınırlamalarla karakterize edilirler.

2.3.1. Litografi

Litografi, önceden tasarlanmış maske modellerini belirli radyasyon kaynaklarına (ultraviyole ışık, X-ışını, elektron ışını) duyarlı olan ve resist adı verilen bir filme aktarma işlemidir. Litografi tekniği, geometrik şekillerin ana desenini bir substratın yüzeyine aktarmak için kullanılır [55]. Fotolitografi, mikroelettronik alanındaki geniş uygulanabilirliği nedeniyle öncelikle örüntü aktarımı için kullanılır [56]. Tüm uyaranlar arasında, fotolitografi en yaygın kullanılan litografidir. Fotolitografi sırasında, ışığa duyarlı bir polimerler (foto-direnç) ultraviyole (UV) ışığı ve X-ışınına tabi tutulur [57]. İnce bir foto-direnç tabakası, döndürerek kaplama yaklaşımıyla bir silikon levhanın oksit yüzeyi üzerine kaplanır. Direnç kaplı tabaka daha sonra bir maske aracılığıyla UV radyasyonuna (150 ve 500 nm) tabi tutulur. Photomask, radyasyona yalnızca belirli bir düzende izin veren şeffaf olmayan bir plakadır. Radyasyona maruz kaldığında, foto-direnç bozulur ve bir geliştirici içinde daha fazla çözünür hale gelir. Foto-direnç, tanımlanmış bir foto-direnç modeli elde etmek için köpük giderme yoluyla ayrılır ve son olarak tabakalar sonradan pişirilir. Litografi, cam, metal, seramik ve plastik gibi çeşitli malzemelerden ürünler yaratma yeteneğine sahiptir [58]. Aynı zamanda hassas geometriler ve düzgün dikey yan duvarlar üretir [59]. Ancak bu teknik, gelişmiş bir tesis (temiz oda) ve uzun üretim süresi gerektirir [60].

2.3.2. Sıcak Kabartma

Sıcak kabartma yönteminde, iki plaka birbiriyle temas halinde olacak şekilde preslenir ve polimerin mikro yapılara aktarılabilceği sıcaklığa kadar ısıtılır. Isıtılan polimer, kalıptaki oyuklara dolarak iğne yapılarını oluşturur. Oyuklara dolan iğneler soğutularak hazır hale gelmesi sağlanır. Kalıp plakasının tasarım mantığı ve kalitesi, hazırlanan MN'lerin kalitesini doğrudan etkiler. Boşluklu kalıpların çoğu esas olarak silikon veya metal levhalardan imal edilmiştir [61].

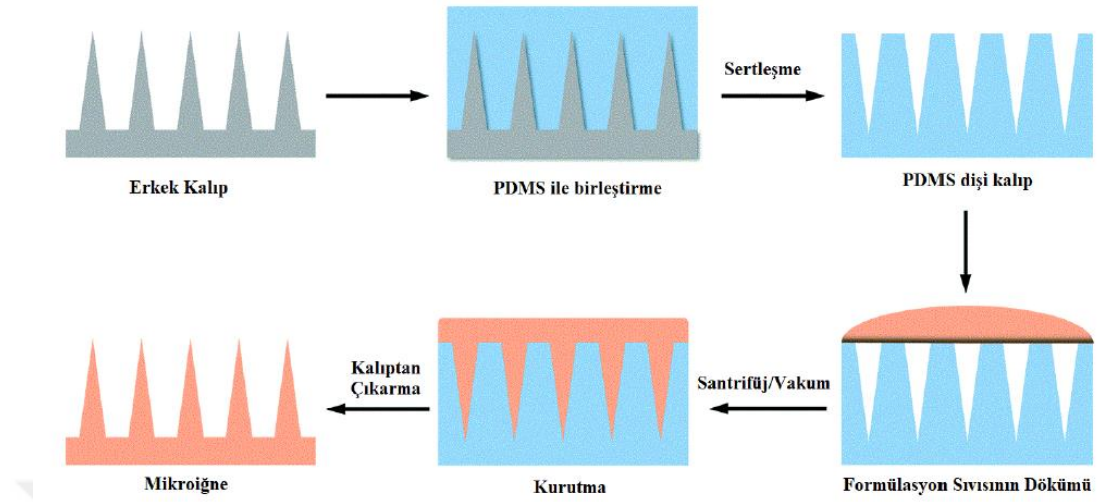
2.3.3. Mikro Kalıplama

Mikro kalıplama, mikro iğne üretimi için en yaygın kullanılan tekniktir. Mikro kalıplama, kalıplar kullanılarak bir ana yapının çoğaltılmasını içerir. Bugüne kadar, mikro iğne üretimi için kalıpların çoğu PDMS'den yapılmıştır. Bu malzemenin seçilmesinin ana nedenleri, esnekliği ve ana yapıların doğru şekilde yeniden üretilebilirliğidir. PDMS, mikro kalıpların, mikro cihazların kopyalarının imalatında yaygın olarak kullanılmasını sağlayan benzersiz özelliklere sahiptir. Düşük yüzey enerjisi, uygun termal kararlılık ve düşük termal iletkenlik, kimyasal olarak inert, biyolojik ve kimyasal olarak uyumlu, güvenli ve düşük maliyetlidir. Geleneksel mikro kalıplama tekniklerinde rahat kullanım sağlar [62, 63].

Mikro kalıplamanın birçok avantajı vardır; basit, ucuz ve yüksek oranda tekrarlanabilir. Ayrıca farklı malzemeleri ve kargoları aynı kalıba sırayla ekleyerek kompozit bir mikro iğne oluşturmak kolaydır. Sonuç olarak, kompleks salın kinetikleri ve fonksiyonları olan yapılar bu yöntemle elde edilebilmektedir. Yine de mikro kalıplamadaki ana sorunlardan biri kalıp doldurma sorunudur. Mikro ölçekte, yüzey gerilimi kuvveti baskın bir rol oynar ve malzemelerin yerçekimi kuvveti altında kalıp boşluğuna dolmasını zorlaştırır. Bu nedenle, yüzey geriliminin üstesinden gelmek için kalıp doldurma stratejileri gereklidir. Bu kalıp doldurma problemini çözmek için araştırmacılar vakum, santrifüjleme gibi yöntemler kullanmışlardır. Kalıpları hazırlamak için, farklı malzemeler (örneğin silikon veya metal) kullanılarak ana yapılar üretilebilir ve pozitif ana şablonlar olarak kullanılabilir. Mikro kalıplama, MN üretimi için polimer malzeme ile yaygın olarak kullanılır [64].

Mikro iğne şablonları sertleşmemiş PDMS'ye daldırılır ve hava kabarcıklarını çıkarmak için vakuma tabi tutulur, ardından ısıtma ve sertleştirme işlemleri yapılır. Sertleşmiş PDMS'den, şablonun çıkarılmasıyla dişi kalıp elde edilir. Mikro iğne malzemesinin

çözeltisi PDMS kalıbına dökülür ve uygun sıcaklıkta katılaştırılır. Belirtilen malzemeye sahip mikroığneler kalıptan çıkarılabilir [24].



Şekil 2.3. Mikrokalıplama yöntemi ile mikroığne oluşturulması [65].

2.3.4. Termal Çizim Litografisi

Erimiş polimer, bir taban plakası üzerine kaplanır ve çekme sütunlarıyla temas ettirilir. Belirli bir süre sonra, yukarı doğru hareketle plaka ve sütunların birbirinden ayrılarak polimerlerin iğne şeklindeki yapılara dönüşmesine neden olur. Aynı zamanda, mikroığne yapılarını iyileştirmek için malzemenin sıcaklığı kontrollü bir şekilde soğutulur [66].

2.3.5. Lazer Ablasyon

Lazer ablasyon, MN dizileri oluşturmak için bir substrattan materyali ortadan kaldırmak için odaklanmış bir optik ışık huzmesinin kullanımını içerir. Lazerler, çeşitli uygulamalar için mikro ve nano ölçekten farklı malzemeleri işlemek için kullanılmıştır [67, 68].

Lazer ablasyon yöntemi, MN'lerin üretimi için etkili ve hızlı bir yöntem olarak kabul edilir. Lazer ışınının malzeme tabakasındaki yanma noktasına yaklaşması 10 ila 100 nanosaniye sürer [59]. Lazer herhangi bir metali şekillendirmek için de kullanılabilir. Bu yöntem, MN yapısının ve mekanik özelliklerin değişmesine neden olan kesme yüzeyindeki termal etkilerle ilişkilidir [69]. Bu, MN'lerde çatlama veya yorulma direnci gibi istenmeyen etkilere yol açabilir. Lazer ablasyon yöntemi temassız bir işlemdir ve alt tabakaya düşük ısı yükleri uygular. Bununla birlikte, lazerin maliyeti diğer ekipman türlerine göre daha yüksektir [59]. Lazer ablasyon yöntemi, büyük ölçekli imalat için uygun değildir [69].

2.3.6. 3B Baskılama

3B baskılama tekniğinde, istenen malzeme katman katman yerleştirilerek bir nesne oluşturulur. Geleneksel fabrikasyon yöntemleriyle gerçekleştirilemeyen karmaşık parçaları programlanabilir bir şekilde işleyerek mikroıǵnelerin üretim zorluğunu büyük ölçüde azaltabilir. 3B baskı gibi bilgisayar kontrollü veya otomasyon üretim teknikleri, yüksek derecede hassasiyet ve tekrarlanabilirlik ile mikroıǵne fabrikasyonunda önemli bir rol oynar [70].

2.4. Mikroıǵnelerin Uygulama Alanları

Mikroıǵneler, invazif olmama, birincil seçicilik ve hastalıklarda hem terapötik hem de teşhis aracı olarak kullanımının çok yönlülüğü özelliklerine sahip bir biyomedikal ilerlemedir. İnfluenza aşılması [71], diabetes mellitus [72, 73], kanserler [74], nöropatik ağrı [75], yeniden saç çıkması [76] ve obezite [77, 78] tedavisi gibi çoğu araştırmada ilaçların transdermal olarak verilmesine odaklanılmıştır. Mikroıǵneler, farklı alanlarda potansiyeli olup birçok araştırmacı tarafından ilgi görmüştür.

2.4.1. Transdermal İlaç Salım Sistemi

Transdermal ilaç uygulaması, oral veya parenteral enjeksiyonlar gibi geleneksel uygulama yollarıyla karşılaştırıldığında çeşitli avantajları vardır. İlaçların deri yoluyla verilmesi, mide tahrişi, düşük biyoyararlanıma yol açan karaciğerde ilaçları zamanından önce metabolize eden ilk geçiş metabolizmasının ortadan kaldırılması ve zayıf hasta uyumu dahil olmak üzere oral ilaç verilmesi ile ilgili birçok sorunun üstesinden gelir [79]. Ek olarak, oral ilaç uygulamasına kıyasla zaman içinde daha iyi salım sağlar [80]. Transdermal uygulamanın ayrıca ağırlı olan, tehlikeli tıbbi atık oluşturan ve özellikle gelişmekte olan ülkelerde iğnenin yeniden kullanımıyla hastalık bulaşma riski oluşturan hipodermik enjeksiyonlara göre avantajları vardır. Ek olarak, transdermal sistemler invaziv değildir ve kendi kendine uygulanabilir. Uzun süre (bir haftaya kadar) salınım sağlayabilirler. Ayrıca hasta uyumluluğunu da artırır ve sistemler genellikle ucuzdur [81].

Transdermal terapötik sistemler; erişilebilir, değiştirilebilir, kontrol edilebilir ve koma veya yutma güçlüğü vakaları gibi oral ilaç vermenin zor olduğu durumlarda kolay uygulanabilir seçeneklerdir [82]. Hareket hastalığını yönetmek için birincil endikasyon

olan skopolamin (Transderm-Scop®), sigarayı bırakmak için nikotin (Nicoderm®) ve kronik ağrı için fentanil ilk nesil transdermal ilaç uygulamasının örnekleridir [83].

Öte yandan, yalnızca düşük moleküler ağırlıklı, düşük dozlu ve lipofilik ilaçlar, iyi bir terapötik etkinlik ile transdermal ilaç dağıtım sistemlerine geliştirilebilirler [84]. Farmakoterapi açısından bakıldığında; proteinler, peptitler ve genler, hidrofilik, elektrik yüklü veya büyük moleküller olduğundan deriyi terapötik miktarlarda geçemezler [85]. Bu nedenle, transdermal ilaç dağıtım sistemlerinin bariz bir dezavantajıdır. Bu nedenle, stratum corneum tarafından oluşturulan bariyeri aşmak için yıllar içinde çeşitli teknikler kullanılmıştır. Stratum corneum bariyerini aşmak için elastik lipozomlar, etozomlar gibi veziküller, kimyasal penetrasyon artırıcılar, iyontoforez, sonoforez, mikroiğneler, elektroporasyon ve diğer teknikler kullanılmıştır [79].

İlk nesil transdermal dağıtım sistemleri, pasif difüzyon yoluyla deriden geçen ilaçlara odaklanmıştır [86]. Cilt geçirgenliğini ve transdermal taşıma için itici güçleri artırarak küçük molekül iletimi için ek ilerlemeler sağlayan ikinci nesil transdermal taşıyıcı sistemler, hafif elektrik akımı (iyontoforez), ultrason (sonoforez) ve tek başına pasif difüzyon yoluyla ciltte terapötik miktarlarda taşınamayan ilaç moleküllerinin daha iyi taşınması için kullanılmıştır [87]. Üçüncü nesil transdermal terapötik sistemler, yüksek moleküler ağırlıklı ajanlar dahil olmak üzere ilaçların taşınması için mikroskobik iğneler (mikroiğneler) kullanır. Bu transdermal dağıtım sistemleri, ilaç moleküllerinin taşınmasını kolaylaştıran stratum corneum'u ihlal eder [79].

2.4.2. Hastalıkların Tedavisi

Mikroiğne yamalar, genellikle hastaların kendi kendine uygulaması için ağrısız, güvenli ve basit olan hipodermik enjeksiyon için potansiyel adaylar olarak kabul edilir. Mikroiğnelerle hastalık tedavisi geliştirmekte olan umut verici alanlardan birisidir.

2.4.2.1. Kanser

Cerrahi, kemoterapi ve radyoterapiyi içeren geleneksel kanser tedavi yöntemleri, akut toksisite ve yan etkilerin yanı sıra tümörün tekrarlamasına da yol açabilir. Mikroiğne yamaları ile ilişkili minimal invaziv bir kanser tedavisi, avantajlı kontrol edilebilirlik, kolay uygulanabilirlik ve baskın sinerjistik etkinin bir sonucu olarak her zaman geniş ilgi görmektedir [88]. Bu gereksinimleri karşılamak için Dong ve arkadaşları, yüzeysel tümörleri sinerjistik olarak tedavi etmek için kemoterapiyi fototermal terapi ile

birleştirmek üzere kemoterapötik ilaç doksorubisin (DOX) ve altın nanokafesler içeren mikroiğne dizilerini çözen hyaluronik asit (HA) geliştirmiştir [89].

2.4.2.2. Diyabet

Geleneksel diyabet tedavi yöntemleri, karmaşık ve çoklu günlük enjeksiyon uygulamaları hastanın tedaviye uyumunu azaltma eğilimindedir [90]. Bu zorlukların üstesinden gelmek için yapılan bir çalışmada, glikoza duyarlı mikroiğne yamaların, tip 1 diyabet tedavisi için insülin ileterek kandaki glikozu etkili bir şekilde düzenlediği gösterilmiştir. Çalışmada, oksijen tüketimi ile birlikte glikoz oksidaz, glikozu glukonik asite dönüştüren güçlü bir enzim görevi görmüştür. Hiperglisemik durum veya hipoksik durum, hyaluronik asit keseciklerinin kendiliğinden ayrışmasını takiben insülin salınması eşlik edebilir. Kendiliğinden bir araya getirilen yapay keseciklerin kullanıldığı akıllı insülin yaması, hızlı glikoza duyarlı, ağrısız ve güvenli diyabet tedavisi için alternatif bir fırsat sunmuştur [91].

2.4.2.3. Obezite

Çay veya kahveden ekstrakte edilen kafeinin, insanlığa herhangi bir zararlı etkisi olmaksızın anti-obezite aktiviteye sahip olduğu rapor edilmiştir. Dangol ve arkadaşları, hyaluronik asit (HA) bazlı çözünen mikroiğne yükleme kafeinin, yüksek yağlı diyetle indüklenen obez farelerde önemli kilo kaybına yol açabileceğini bulmuştur [92].

2.4.3. Hastalık Teşhisi

Hastalık teşhisi ve terapötik etkinlik, sağlık koşullarını değerlendirmek ve izlemek için vücut sıvılarını örnekleyen çeşitli yerleşik biyoanalizlerle izlenebilir. Mevcut yöntemler ağrıya neden olmakla birlikte özel teknikler, özel ekipman ve profesyonel tıbbi personel gerektirir. Ancak mikroiğne teknolojisi, ağrısız deneyim ve basit uygulama ile biyoanaliz çözümü sunar [93].

İçi boş mikro iğneler, kılcal kuvvet veya vakum kullanarak interstisyel sıvıyı geri çekmek için cildi epidermise delebilir. Çıkarılan interstisyel sıvı metabolitleri, kanser, ateroskleroz, tromboz, kardiyovasküler bozukluklar ve diyabet gibi çeşitli hastalıkları teşhis etmek için kullanılmıştır [94].

2.4.4. Yara İyileşmesi

Junjie Chi ve arkadaşları, antibakteriyel aktiviteye sahip kitosan bazlı mikroığnelerin hazırlandığını göstermiştir. Yara enfeksiyonunu önleyebilen ve aynı zamanda dokunun yeniden oluşmasını uyarabilen bir yama, yara iyileşmesi için inanılmaz derecede faydalıdır. Bu araştırma, yara iyileşmesini hızlandırmak için akıllı yanıt veren ilaç dağıtımıyla birleştirilmiş bir biyokütle kitosan mikroığne dizisi (CSMNA) yamasını tanımlamıştır. Biyokütle CSMNA yamasının yara iyileşmesi sırasında enflamatuvar baskılamayı, kollajen birikimini, anjiyogenezi ve doku rejenerasyonunu arttırdığı bulunmuştur. Sonuç olarak, bu uyarlanabilir CSMNA yaması klinik yara iyileşmesinde etkili olma potansiyeline sahiptir [95].

2.4.5. Aşı Uygulamaları

Çözünebilir MN'ler, aşı verme amaçları için kullanılan yaygın bir MN türüdür. Çözünebilir MN'ler, tipik olarak aşıları uygulamak için kullanılan hipodermik enjeksiyon iğnelerinin yerine kullanılmıştır. Diğer MN tiplerinden farklı olarak, çözünebilir MN'ler biyolojik olarak uyumludur, sağlamdır, ölçeklenebilirdir ve biyolojik olarak tehlikeli atık üretmez [96]. Çözünebilir MN'ler, sıtma, difteri [97], grip [98], Hepatit B [99], HIV [100] ve çocuk felci [101] aşılarını dağıtmak için kullanılmıştır.

Eriyebilir MN'ler en sık aşı uygulaması için kullanılsa da, kaplanmış ve içi boş MN dizileri de aşılama amaçları için başarılı bir şekilde kullanılmıştır [102, 103].

2.4.6. Cilt Hastalıklarının Tedavisi

Yara izleri, sedef hastalığı, herpes, akne vulgaris ve alopesi gibi cilt hastalıkları görünür semptomları ve yüksek prevalansı nedeniyle dikkat çekici hale gelmektedir. Oral ve intravenöz yolları gibi sistemik uygulama yöntemleri sistemik dolaşımla ilişkili toksik risklere ve yan etkilere sahiptir. Her ne kadar doğal topikal hedef özelliği nedeniyle çeşitli cilt hastalıklarının tedavisinde transdermal ilaç dağıtımı yaygın olarak kullanılmış olsa da kargoların transdermal penetrasyon kapasitesi genellikle yetersizdir ve bu da terapötik etkinliğin tehlikeye atılmasına yol açar. Mikroığneler ile oluşturulan geri dönüşümlü mikrokanallar yoluyla terapötik ajanları patolojik bölgeye iletebilmesi dikkat çekicidir [104]. Mikroığneler ile kozmetik uygulamalar esas olarak iki kısma ayrılır. Bunlardan biri yaralı cildin doğal iyileşmesini desteklemektir. Diğerleri ise kozmetiklerin ciltten nüfuzunu arttırmaktır. Mikroığnenin minimal invaziv iletimi, penetrasyonu arttırmak için geçici delikler oluşturarak yara onarım mekanizmasını kendiliğinden tetiklemiştir [105].

Skar Tedavisi

Skar, farklı travmaların neden olduğu normal cilt dokusunun morfolojisi, görünümü ve histopatolojik değişiklikleri için kullanılan ortak bir terimdir. İnsandaki yara iyileşme sürecinin kaçınılmaz bir ürünüdür ve özellikle yanık, şiddetli travma sonrası gibi kalan yara izleri olmak üzere hastalarda farklı derecelerde fiziksel ve psikolojik etkilere sebep olur. Akne yara izi, akne iyileşmesinden kaynaklanan bir tür cilt hasarıdır [106]. Akne skarlarını tedavi etmek için deri altı insizyon, perforasyon ve mikrodermabrazyon dahil olmak üzere çeşitli teknikler kullanılmıştır [107]. Günümüzde MN'ler akne izlerinin tedavisinde alternatif bir strateji olarak ortaya çıkmıştır. Sharad ve arkadaşları, akne izlerini tedavi etmek için paslanmaz çelik katı MN'leri glikolik asit (GA) peeling ile birleştirmişlerdir. Bu çalışmaya yaşları 20-40 arasında değişen 60 akne skarlı hasta dahil edilmiş ve rastgele iki gruba ayrılmıştır: bir grup GA peeling ile kombine MN'lerle tedavi alırken, diğer kontrol grubu sadece MN'lerle tedavi edilmiştir. Sonuçlar, MN'lerin GA peeling ile kombine tedavisinin akne izlerini önemli ölçüde iyileştirebileceğini göstermiştir [108].

Sedef Hastalığı Tedavisi

Sedef hastalığı, çoklu genetik kusurlar, travma, enfeksiyon ve ilaç kullanımıyla ilişkili kronik inflamatuvar bir cilt hastalığıdır. Sedef hastalığı ortaya çıktığında tipik semptomlar arasında kabuklanma, eritem, kaşıntı ve kalınlaşmış cilt bulunur [109]. Sedef hastalığının tedavisinde birinci basamak ilaç metotreksattır (MTX), ancak oral veya enjeksiyon uygulamasıyla ilişkili ciddi yan etkiler nedeniyle klinik uygulaması sınırlıdır. Alternatif olarak yapılan bir çalışmada, sedef hastalığının tedavisi için MTX yüklü, çözünen bir MN sistemi tasarlanmıştır. Hazırlama işlemi sırasında her MN yaması içindeki MTX'in kapsülleme miktarının kontrol edilmesiyle doğru bir doz elde edilebilmiştir. MTX yüklü MN'lerin, kalınlaşmış epidermisi olan fare sedef hastalığı modeline başarılı bir şekilde nüfuz edebildiği görülmüştür. Ek olarak in vivo sonuçlar, MTX yüklü MN'lerin, oral MTX'ten daha etkili olduğunu da göstermiştir [110].

Alopesi (Saçkıran) Tedavisi

Tıbbi adıyla alopesi areata yani saçkıran hastalığı kişinin saçının veya kaş, kirpik, sakal gibi diğer bölgelerdeki tüylerinin kısa süre içinde bölgesel olarak aniden dökülmesi ile karakterize bir hastalıktır. Alopesi insanlarda yaygın bir hastalıktır ve yaş, hastalık,

hormonlar ve ilaçlar gibi çeşitli faktörlerden kaynaklanır [111]. Alopesili hastalar psikolojik ve fizyolojik stres, özgüven kaybı gibi durumlara maruz kalacaklardır [112]. Günümüzde saç kökü nakli, alopesi tedavisinde etkili bir yöntem olarak kabul edilmektedir. Ancak bu işlemlerin pratikte uygulanmasında, işlemin pahalı olması ve invazivliğinin yüksek olması gibi bazı sorunlar bulunmaktadır. Son zamanlarda, intrinsik saç foliküllerinin indüksiyonu alopesili hastalar için umut verici noninvaziv bir tedavi sağlamıştır. Yapılan bir çalışmada, alopesi tedavisi için moleküler ajanlardan ve mezenkimal kök hücreden (MSC) türetilmiş eksozomlarla birlikte saç folikülü kök hücre aktivatörlerini yükleyen çıkarılabilir bir MN yaması tasarlanmışlardır. İğneler çoğunlukla keratinden yapılmış olup uygulandıktan sonra hyaluronik asit bulunan çıkarılabilen baz oluşturulmuştur. MN'lerin, saç folikülü rejenerasyonunu teşvik etmek için kargoları doğrudan ve sürekli olarak saç folikülü kök hücrelerine iletebilmesi umut vericidir. Böylece, noninvaziv olma ve gelişmiş cilt penetrasyon verimliliği gibi avantajlar elde edilmiştir. Çalışmada fare modelindeki in vivo sonuçlar, MN sisteminin saç yenilenmesini destekleyebileceğini göstermiştir [76].

Akne Vulgaris Tedavisi

Akne vulgaris, küresel nüfusun %80'inden fazlasını etkileyen, tekrarlayan bir duruma sahip kronik cilt hastalığıdır. Genellikle hastaların fizyolojisini ve psikolojisini etkileyen akne vulgaris; sebum üretiminde artış, kıl folikülü kanalı tıkanması, iltihaplanma ve kıl folikülünde *Propionibacterium acnes* (P. acnes) kolonizasyonu ile ilişkilidir [113]. Oral retinoik asit sebum salgısını etkili bir şekilde azaltıp akne tedavisi üzerinde olumlu bir etkiye sahip olabilir. Ancak retinoik asidin klinik uygulaması teratojenik yan etkilerinden dolayı sınırlıdır [114]. Günümüzde akne tedavisi ve cilt gençleştirme için minimal invazif cihazlar olarak fraksiyonel radyofrekans mikroiğneler (FRM'ler) geliştirilmiştir. Bu cihaz, retinoik asidin yan etkileri olmadan ne elastikizasyon ve ne kollajen oluşumu dahil olmak üzere retiküler dermiste uzun vadeli dermal yeniden yapılanmayı indükleyebilir [115]. Yapılan bir çalışmada, akne vulgarisli hastalarda FRM cihazının terapötik etkinliği değerlendirilmiş ve sebum sekresyonu üzerindeki etkisini araştırmak için objektif ölçümler önerilmiştir. Bu çalışmada akne vulgarisli 20 adet hastaya FRM tedavisi uygulanmıştır. Deneysel sonuçlar, FRM'nin akne vulgaris hastalarında sebum sekresyonu üzerinde bariz bir inhibitör etkiye sahip olduğunu göstermiştir [116].

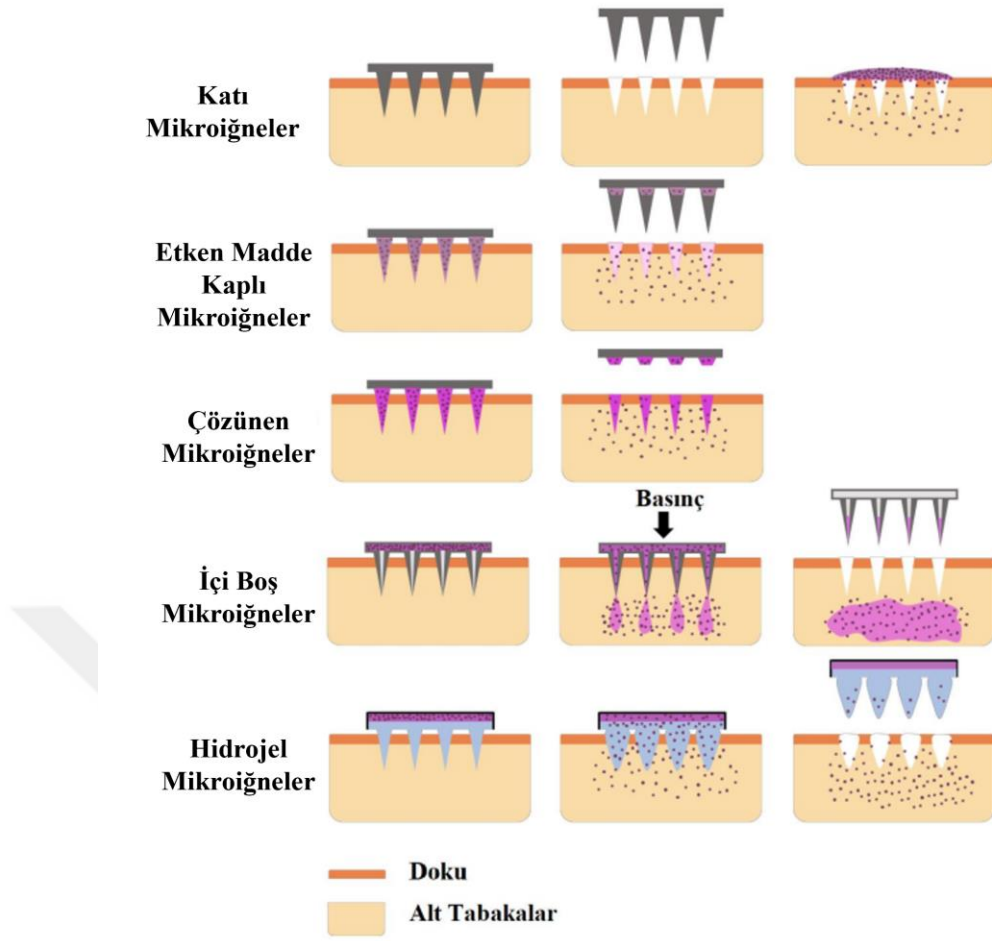
Anti-akne tedavisinde, transdermal ilaç penetrasyonunu ve tedavi verimliliğini artırmak için Zhang ve arkadaşları, ilaç salınımını gerçekleştirebilen ve yan etkileri azaltabilen bir

PVA matrisi kullanarak ilaç yüklü reaktif oksijen türüne (ROS)'a duyarlı bir MN yaması hazırlamıştır. Akne içinde aşırı üretilen ROS'a yanıt olarak kontrollü ve sürekli bir ilaç salınımı, antibakteriyel etkiyi iyileştirmek ve yan etkileri azaltmak için de önemlidir. Yaygın olarak kullanılan sivilce önleyici kremle karşılaştırıldığında MN sistemi, transdermal ilaç penetrasyonunu önemli ölçüde artırabilir. Böylece dermal lezyonların tedavi etkinliğini artırabilir. Yapılan in vivo çalışma fare üstünde *Propionibacterium acnes* kaynaklı sivilce modelinde, bu sistemin aynı zamanda cilt şişmesini etkili bir şekilde azaltabildiğini ve bakteri üremesini engelleyebildiğini gösterdi [117].

Benzer bir başka çalışmada Zhang ve arkadaşları, *P. acnes* enfeksiyonu tedavisi için salisilik asit içeren aktif farmasötik içerikli poli(iyonik sıvı) (API-PIL) bazlı MN yamasını (SA-PIL-MN) geliştirmişlerdir. Çalışmalar, yüksek mekanik mukavemete sahip MN'lerin cilde mikrokanallar oluşturabildiğini ve böylece antibakteriyel etkiler oluşturmak için salisilik asidi cilde etkili bir şekilde enjekte edilebileceğini göstermiştir. Ek olarak, bir fare anti-enfeksiyon modelinde serbest SA veya PIL-MN ile karşılaştırıldığında SA-PIL-MN sistemi, fare kulağının şişmesini etkili bir şekilde ortadan kaldırmıştır ve *P. acnes*'in büyümesini engellemiştir. Eş zamanlı olarak SA-PIL-MN, inflamatuvar faktörlerin salgılanmasını baskılamak için inflamatuvar hücrelerin sayısını da etkili bir şekilde azaltabilecektir [118].

2.5. Mikroığnelerde İlaç Salım Stratejileri

Mikroığne ilaç salım stratejileri katı, etken madde kaplı, çözünen, içi boş ve hidrojel mikroığneler olmak üzere 5 türde incelenmiştir (Şekil 2.5).



Şekil 2.4. Mikroigne ilaç salım strateji çeşitleri [79].

2.5.1. Katı (Solid) Mikroigneler

Katı mikroigneler ile deri üzerinde geçici olarak gözenekler oluşturulduktan sonra, ilaç taşıyıcı sistem tarafından uygulanır. Oluşturulan gözeneklerden ilaç moleküllerinin difüzyonu sağlanır. Katı mikroigne üretmek için kullanılan malzemeler tipik olarak silikon, titanyum ve paslanmaz çeliklerdir [119]. Katı MN'lerin avantajı, MN'ler uzaklaştırıldıktan sonra, MN'lerin oluşturduğu kanalların kapanması nedeniyle toksik maddeler veya enfeksiyondan kaçınılabilmektedir [120]. Bununla birlikte, delme işleminden sonra tedavinin hızlı bir şekilde uygulanmasını gerektirir. İnsan derisinin katı MN'lerle muamelesi biyouyumluluk sorunu oluşturabilir ve kırılmış katı MN yamaları cilde zarar vererek enfeksiyon riskinin artmasına sebep olabilir [121]. Bu yaklaşımın temel kısıtlılığı, hastalar için iki aşamalı bir uygulama sürecinin gerekliliğinden kaynaklı pratik bir seçenek olmamasıdır [31].

2.5.2. Etken Madde Kaplı (Coated) Mikroİğneler

Etken madde kaplı katı mikroİğneler, cilde uygulanmadan önce katı mikroİğnelerin etken madde içeren çözelti formülasyonuna batırılarak yüzeyleri etken madde molekülleri ile kaplanmasıyla oluşur. Kaplanmış mikroİğneler, aşılar, proteinler, peptitler ve DNA gibi özellikle yüksek moleküler ağırlıklı makromoleküllerin deriye hızlı bir şekilde deriye verilmesi için kullanılmıştır [22]. Bu tür mikroİğneler, basit bir tek adımlı uygulama sürecine izin verir. Ancak ana sınırlamaları, mikroİğne yapılarının sonlu yüzey alanı üzerine kaplanabilen sınırlı miktarda ilaç uygulanabilmesi ve kaplanmış MN yerleştirilmesinden sonra oluşan biyolojik olarak tehlikeli atığın dikkatli bir şekilde atılmasını gerektirmesidir [122].

2.5.3. Çözünen (Dissolving) Mikroİğneler

Çözünen mikroİğneler, genellikle biyouyumlu bir polimer veya şeker olan çözünür matrislerin mikro kalıplanmasıyla yapılırlar [123]. Dizinin cilt yerleştirilmesini, cilt interstisyel sıvısı ile temas üzerine mikroİğnelerin uçlarının çözünmesi takip eder. İlaç salımı zamanla serbest bırakılır. İlacın salım kinetiği, bileşen polimerlerin çözünme hızına bağlıdır. Bu nedenle kontrollü ilaç dağıtımı, mikroİğne dizisinin polimerik bileşimi ayarlanarak veya mikroİğne fabrikasyon işleminin modifikasyonu ile elde edilebilir. Çözünen mikroİğneler çok sayıda avantaj sunar. Katı veya kaplanmış MN'lerle karşılaştırıldığında, çözünen MN'ler daha yüksek ilaç yüklemelerine sahiptir. En büyük avantajlarından biri de tek aşamalı uygulama sonrası çözünerek etken maddeyi de salması ve geride tıbbi atık bırakmamasıdır. Böylece, kullanımdan sonra çözündükleri için cihazın tekrar kullanılmasına izin verilmez, bu da hastalar ve sağlık çalışanları arasında enfeksiyon bulaşma riskini ve keskin uçlu atıkların güvenli bir şekilde imha edilmesiyle ilgili sorunları ortadan kaldırır [124]. Çözünen mikroİğnelerin üretiminde genellikle mikro kalıp yöntemi kullanılmaktadır. Bu tip mikroİğne dizisini üretmek için poli(vinil alkol) (PVA), poli(vinilpirolidon) (PVP), dekstran, karboksimetil selüloz (CMC), kondroitin sülfat ve şeker dahil olmak üzere çeşitli materyaller kullanılmıştır. Buna göre, uygun polimer seçilerek salım muhtemelen aylarca sürdürülebilir. Öte yandan, çözünen MN'lerin uzun süreli kullanımının deride polimer birikmesiyle oluşabilecek güvenlik sorunlarına yol açabilir [125].

2.5.4. İçi Boş (Hollow) Mikroİğneler

İçi boş mikroİğneler, cilde sokulan İçi boş İğneler yoluyla bir sıvı formülasyonunun enjeksiyonu ile belirli bir ilacın deriye verilmesine olanak tanır. İçi boş mikroİğneler ile çözelti tipi formülasyonlar uygulanabilmekle birlikte genellikle vücuttan kan gibi biyolojik örnek toplamak İçin de kullanılabilirler. Bu tür sistemler, katı, kaplanmış ve çözünen mikroİğnelere kıyasla muhtemelen daha büyük miktarlarda ilaç maddesi verme yeteneğine sahiptir. İçi boş mikroİğneler, silikon, metal, cam, polimer ve seramik dahil olmak üzere çeşitli malzemelerden yapılabilir [126]. İçi boş mikroİğnelerin ana sınırlamaları, cilde yerleştirilmesi sırasında İğne açıklıklarının doku ile tıkanma potansiyeli ve yerleştirme sırasında mikroİğne uçlarının etrafında sıkışan yoğun dermal doku nedeniyle akış direncidir [127].

2.5.5. Hidrojel Mikroİğneler

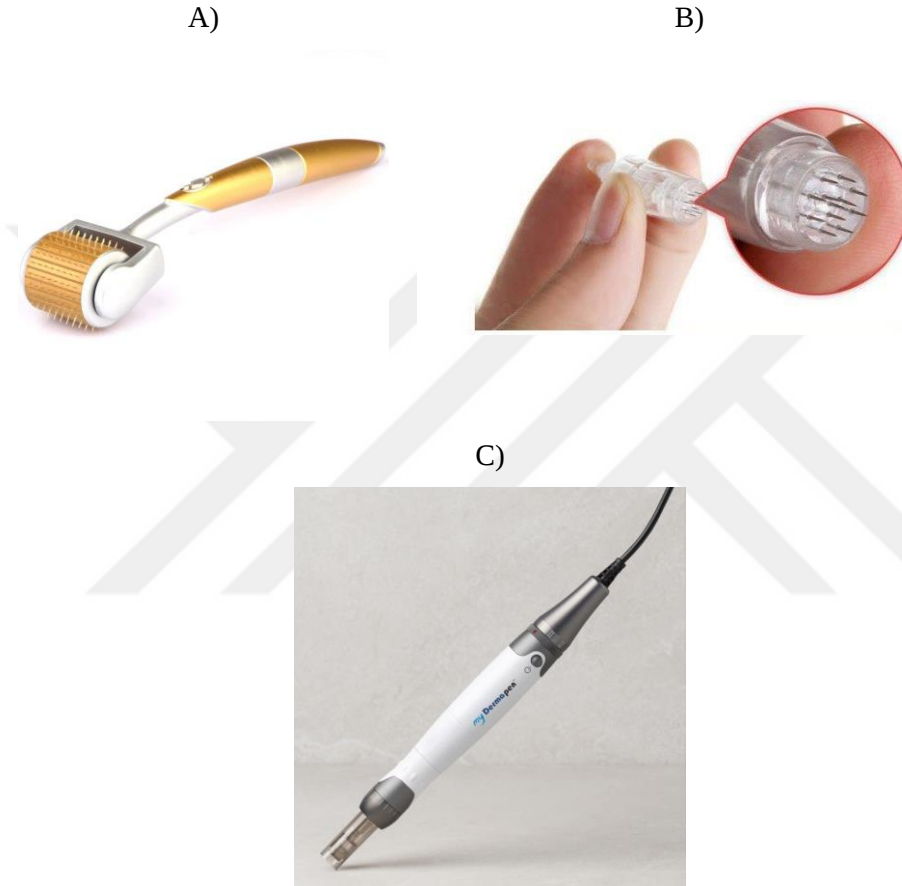
Hidrojel oluşturan matrislerden hazırlanan mikroİğne dizileri, kimyasal veya fiziksel olarak çapraz bağlanan polimerik mikroİğnelerden üretilir. Mikroİğne dizisinin cilde uygulanmasından sonra, sokulan İğne uçları dokudan interstisyel sıvıyı hızla alır ve böylece ilacın şişmiş mikroprojeksiyonlar yoluyla yamadan difüzyonunu indükler [128]. Hidrojel oluşturan mikroİğneler, ilaçları imalat sırasında polimerik yapıya dahil edilerek veya ilaçları ayrı bir rezervuara yükleyip hidrojel mikroİğnelerin üstüne konumlandırarak ilaçların transdermal iletimi İçin de kullanılabilir. Bu nedenle, İğne veya İğne yüzeyine yüklenebilen ilaç miktarı ile sınırlı değildir, bu da cilde nüfuz edebilen ilaç miktarını önemli ölçüde artırır [129].

Hidrojel mikroİğneler, geleneksel MN'lerin bazı sınırlamalarının da üstesinden gelir. Örneğın, hidrojel mikroİğneler daha yüksek bir ilaç yükleme kapasitesine ve ayarlanabilir bir ilaç salım hızına sahiptir. Bu faktörler genellikle doğrudan MN'lerin geleneksel formlarında kolayca kontrol edilemeyen polimer çapraz bağlanma oranına bağlıdır [130].

2.6. Ticari Ürünlerde Mikroİğneler

Sağlık personeli tarafından hastalar üzerinde tıbbi amaçlarla kullanılmak üzere veya daha yaygın olarak insanların kozmetik uygulamalar İçin kendi başlarına kullanmak üzere mikroİğne teknolojisine dayalı bir dizi ürün piyasaya sürülmüştür. Kozmetik pazarının genişlemesi ile birlikte mikroİğneli ürünlerin artmasına da sebep olmuştur. Mikroİğneler, birçok yerde satışa sunulmakta ve aktif şekilde kullanılmaktadır. Birçok kullanıcı, çapları

0.5 ila 2.5 mm arasında değişen mikro ince iğneler içeren bir silindir cihazı, kalem şeklinde otomatik bir mikro iğneleme cihazı veya mikroiğne yamaları kullanır (Şekil 2.6). İğneler ciltte mikroskobik delikler oluşturduğunda, vücudun hücre dönüşümünü destekleyen, kolajen üretimini artıran ve gelecekteki akne oluşumlarını azaltmaya yardımcı olan doğal yara iyileşme sürecini tetikler. Mikroiğneleme işlemiyle oluşan delikler, uygulanan tedavinin cildin daha derin katmanlarına ulaşmasını sağlar.



Şekil 2.5. Mikroiğneleme cihazları; A) Dermaloller, B) Dermastamp®, C) Dermapen® [34, 131, 132].

Manuel olarak uygulanan yani elle yavaş yerletirme yapılan mikroiğneler cilde düşük hızda yama yapar. Bu şekilde uygulama, elastik cilt nedeniyle düşük penetrasyon etkisine neden olabilir. Bu sınırlamanın üstesinden gelmek için, derinin anlık sertliğini iyileştirmek ve böylece tam nüfuz etme verimliliğini elde etmek için yüksek hızlı bir

aplikatör ile de uygulama yapılabilir. Bu da mikroığneli yamanın maliyetini arttırmak için kaçınılmazdır [133].

Mikroığneli yamalar, temel olarak akne gibi belirli cilt sorunlarını hedefleyen aktif bileşenleri uygulamak ya da etkinliğini artırmak için kullanılır. Salisilik asit, hyaluronik asit, niasinamid gibi farklı aktif bileşenler içeren erken evre aknelerin boyutunu ve şiddetini azaltmak üzere mikroığne yamaları satışa sunulmuştur.

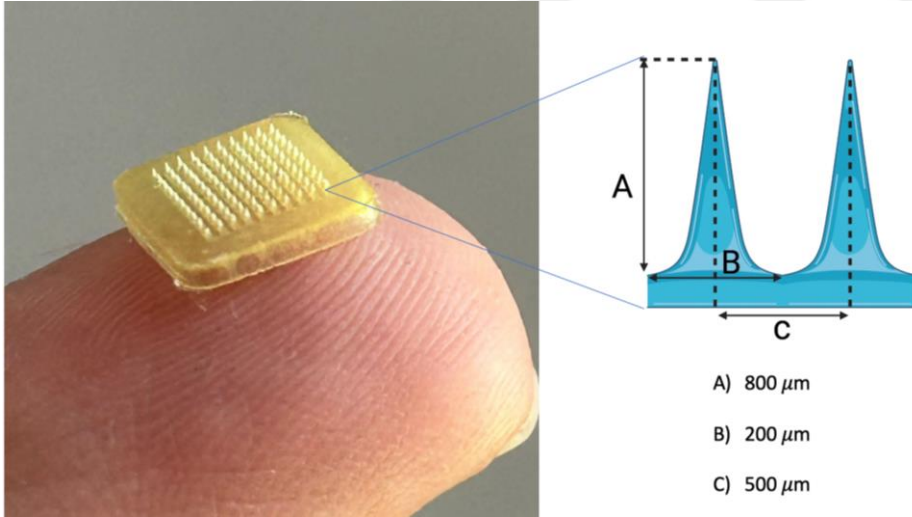


Şekil 2.6. Piyasadaki akne ve akne izlerine yönelik etken madde içeren mikroığne yamaları.

3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR

3.1. Jelatin/Poli(vinil alkol) Mikroıǵnelerin Üretimi

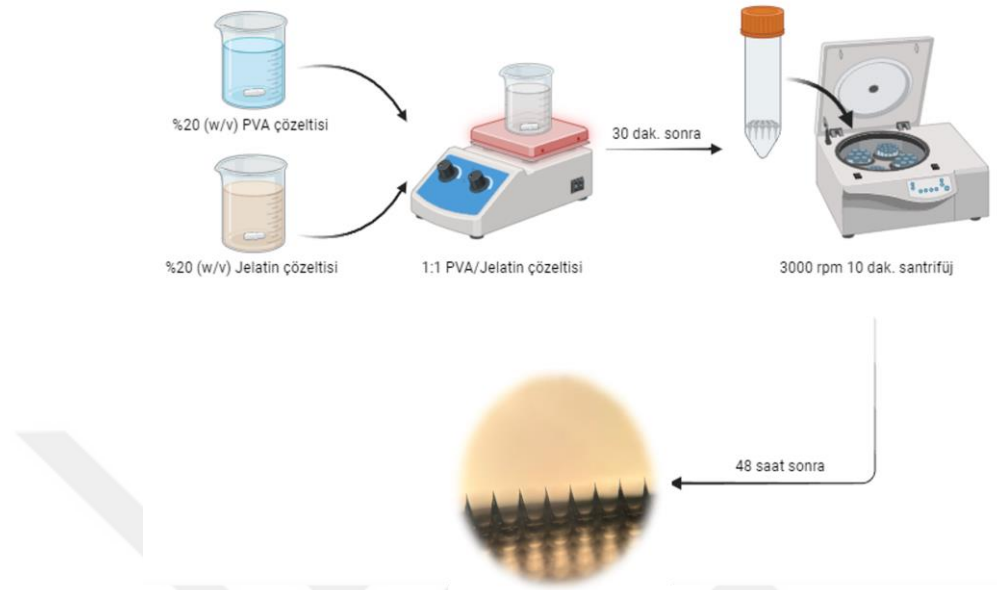
Dörtgen piramit geometriye sahip ve $0.8 \times 0.8 \text{ cm}^2$ bir taban üzerinde 10×10 diziliminde sıralanan mikroıǵneler; poli(dimetilsiloksan) (PDMS) kalıplar (Micropoint Technologies Pte Ltd, Singapur) kullanılarak üretilmiştir (Şekil 3.1). Mikroıǵne üretimi için %20 jelatin (w/w) (A Tipi jelatin, 300 Bloom, Sigma-Aldrich (St. Louis, MO, ABD) ve %20 (w/w) poli(vinil alkol) ($M_w=30.000-70.000$, Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, ABD) çözeltileri deiyonize su içinde hazırlanmış ve 1:1 oranında karıştırılarak 30 dakika boyunca 50°C 'de manyetik karıştırıcı ile homojen bir çözelti (Jel/PVA) elde edilmiştir. Daha sonra Jel/PVA çözeltisinden $200 \mu\text{L}$ alınarak PDMS kalıplara dökülmüş ve 3000 rpm 'de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Mikroıǵnelerin üretim şeması Şekil 3.2'de sunulmuştur. Kalıplar 37°C 'de 48 saat kurutulduktan sonra MN'ler kalıptan çıkarılmış ve ışık mikroskobu ile incelenmiştir. Daha sonra mikroıǵnelerin stabiliteilerini artırmak için 1 saat %25 glutareldehit buharına maruz bırakılmış ve kurutulmuştur. Bu mikroıǵneler MN olarak isimlendirilmiştir.



Şekil 3.1. Üretilen mikroıǵnelerin ölçüleri; A) Yükseklik: $800 \mu\text{m}$, B) Taban genişliği: $200 \mu\text{m}$, C) Merkez-merkez uzaklığı: $500 \mu\text{m}$.

Tetrasiklin (TCH) içeren mikroıǵneler ise günlük topikal uygulama dozu göz önünde bulundurularak %3 ve yüksek dozu %15 (w/w) etken madde içerecek şekilde

hazırlanmıştır. Bu amaçla %3 ve %15 belirli oranda TCH, %20 jelatin (w/w) çözeltisine eklenerek 15 dakika karıştırılmış ve yukarıda verilen genel yöntem izlenmiştir.



Şekil 3.2. Mikroığne üretim metodunun şematik gösterimi.

Retinoik asit (RA) içeren mikroığneler ise benzer şekilde günlük doz (%0.05 w/w) ve yüksek doz (%0.25 w/w) etken madde içerecek şekilde hazırlanmıştır. Bu amaçla, 100 μ L ethanol içinde çözdürülen RA %20 jelatin (w/w) çözeltisine eklenerek 15 dakika karıştırılmış ve yukarıda verilen genel yöntem izlenmiştir. Hazırlanan mikroığnelerin kompozisyonları ve adlandırmaları Tablo 1’de sunulmuştur.

Tablo 1. Üretilen mikroığnelerin kompozisyonu.

MN GRUPLARI	JELATİN %w/w	PVA %w/w	JEL/ PVA	TETRASİKLİN (TCH) %w/w	RETİNOİK ASİT (RA) %w/w
MN	20	20	1/1	-	-
MN-TCH1	20	20	1/1	3	
MN-TCH2	20	20	1/1	15	-
MN-RA1	20	20	1/1	-	0.05
MN-RA2	20	20	1/1	-	0.25
MN-TCH1/RA1	20	20	1/1	3	0.05
MN-TCH2/RA2	20	20	1/1	15	0.25

3.2. Mikroİğnelerin Karakterizasyonu

3.2.1. Mikroİğnelerin Mikroskopik Görüntülerinin İncelenmesi

Üretilen mikroİğnelerin görüntüleri ışık mikroskobu (Leica DM4000 B) ve Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM, GAIA3+Oxford XMax 150 EDS) ile incelenerek morfolojileri ve iğne boyutları analiz edilmiştir.

3.2.2. Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR)

Etken maddelerin ve hazırlanan mikroİğnelerin kimyasal yapıları Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR, Thermo Scientific/Nicolet iS50, ABD) ile 4500 - 550 cm^{-1} dalga boyu aralığında incelenmiştir.

3.2.3. Diferansiyel Taramalı Kalorimetri

Mikroİğnelerin termal özellikleri (camsı geçiş sıcaklıkları (T_g) ve erime sıcaklıkları (T_m) Diferansiyel Taramalı Kalorimetri (DSC, Perkin Elmer DSC-8000) ile azot atmosferi altında incelenmiştir. Analizler 25 °C - 300 °C sıcaklık aralığında ve 10 °C/dakika ısıtma hızı ile gerçekleştirilmiştir.

3.2.4. Termogravimetrik Analiz

Mikroİğnelerin termal stabiliteleri ve bozunma davranışları termogravimetrik analizör (TGA, Perkin Elmer Pyris, ABD) ile incelenmiştir. Analizler 25 °C - 500 °C sıcaklık aralığında 10 °C/dakika ısıtma hızı ile azot atmosferinde gerçekleştirilmiştir.

3.2.5. Mikroİğnelerin Hidrolitik Bozunma Davranışlarının İncelenmesi

Mikroİğnelerin % hidrolitik bozunması BCA analizi ile jelatinin bozunması üzerinden tespit edilmiştir. Bu amaçla ağırlıkları ölçülen mikroİğneler su banyosunda 37 °C'de 2.5 mL fosfat tampon çözeltisi (PBS, pH = 7.4) içerisinde inkübe edilmiş ve 1., 3., 6., 9., 12. ve 24. saatlerde örnekler alınmıştır (n=3). Örneklerin üzerinden 250 μL sıvı çekilerek yerine 250 μL taze PBS eklenmiştir. Sonraki günlerde her 24 saatte bir örnek toplanmıştır. Daha sonra BCA kiti (Takara, Japonya) kullanılarak protein miktar tayini yapılmıştır. BCA kiti üreticinin direktifleri takip edilerek kullanılmıştır. Özetle, ilk olarak 2 – 0 mg/mL konsantrasyon aralığında Bovine Serum Albumin (BSA, Takara, Japonya) içeren standart solüsyonlar hazırlanmıştır. 96 gözlü kültür kabının her gözüne 25 μL standart solüsyonları ve örneklerden konulmuştur. Daha sonra her göze bileşiminde kitin bileşenleri kullanılarak hazırlanan çalışma solüsyonundan (Reagent A: Reagent B; 100:1)

eklenerek 30 dak. 37 °C’de inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra spektrofotometrede 562 nm ölçüm yapılarak hem standart solüsyonların hem de örnek gruplarının absorbans değerleri ölçülmüştür. Elde edilen absorbans değerleri kullanılarak belirli zamanlarda toplanan örneklerden toplam protein miktarları (W₁) hesaplanarak başlangıç miktarı (W₀) ile oranlanmış ve yüzde bozunma oranı hesaplanmıştır.

$$\% \text{ Bozunma} = \frac{W_1}{W_0} \times 100$$

3.2.6. Mikroİğnelerde Penetrasyon Analizi

Mikroİğnelerin mekanik karakterizasyonu için literatürde sıklıkla kullanılan Parafilm M[®] testi kullanılarak mikroİğnelerin penetrasyonları incelenmiştir. Sert bir yüzey üzerine 10 katman Parafilm M[®] yerleştirildikten sonra MN gruplarının iğneleri Parafilm M[®] ile birbirine değecek şekilde konumlandırılmıştır. Yerleştirilen mikroİğnelerin üzerine yaklaşık 1 dakika boyunca 5 kg ağırlık uygulanmıştır. Daha sonra mikroİğneler Parafilm M[®] üzerinden çıkarılarak ışık mikroskobu altında mikroİğne deformasyonları incelenmiştir. Ayrıca her Parafilm M[®] katmanı birbirinden ayrılarak katmanlardaki delik oluşumları tespit edilmiştir.

3.3. Hücre Canlılığı Analizi

Mikroİğnelerin toksik etki gösterip göstermediklerinin araştırılması amacıyla fare fibroblast hücreleri (L-929) kullanılarak hücre canlılığı indirekt MTT analizi ile test edilmiştir [134]. L-929 hücreleri laboratuvarımız hücre stoğunda bulunmakta olup kültürleri rutin olarak laboratuvarımızda kullanılan yöntem ile yapılmıştır. Özetle hücreler sıvı azot tankından çıkarılarak çözündürülmüş ve kültürleri bileşiminde %10 Fetal Sığır Serum (FBS, Sigma-Aldrich, ABD), 4 mM L-glutamin (Cegrogen, Almanya), 100 IU/mL penisilin/streptomisin (Cegrogen, Almanya) bulunan yüksek şeker içeriğine sahip Dulbecco’s Modified Eagle Medium (DMEM, Cegrogen, Almanya) kullanılarak yapılmıştır. Hücre kültürü kabının yüzeyini %90 oranında kapladığı görülen hücreler tripsinizasyon işlemi ile kaldırılıp sayılmış ve devam eden deneylerde kullanılmıştır.

Bu çalışmada geliştirilen mikroİğnelerin hücre canlılığı üzerine etkilerinin test edilmesi amacıyla yukarıda detayları verilen yöntem kullanılarak hazırlanan mikroİğneler (Bknz: Tablo 1) laminar akışlı kabinde 45 dak. UV maruz bırakılarak sterilize edilmiş ve normal

hücre büyüme ortamında standart kültür koşullarında 72 saat inkübe edilerek ekstraktlar hazırlanmıştır. Elde edilen ekstraktlar 96 gözlü kültür kabında kültüre edilen (1.105 hücre/mL) L-929 hücrelerine uygulanarak 24 saat kültür yapılmıştır (n=9). Pozitif kontrol grubu olarak %10 DMSO içeren hücre büyüme ortamı ve negatif kontrol olarak normal hücre büyüme ortamı kullanılmıştır. 24 saat sonunda MTT yapılarak mikroiğnelerin hücre canlılığı üzerine etkileri tespit edilmiştir. Bu amaçla hücrelerin üzerindeki besi ortamı uzaklaştırılarak bileşimde %10 oranında MTT (5 mg/mL, Sigma-Aldrich) solüsyonu bulunan serumsuz besi ortamı eklenmiş ve 4 saat boyunca standart hücre kültür koşullarında inkübe edilmiştir. 4 saat sonra oluşan formazan kristalleri DMSO kullanılarak çözdürülmüş ve 570 ile 690 nm’de absorbans ölçümü yapılarak % hücre canlılığı hesaplanmıştır.

3.4. Mikroiğnelerin Antibakteriyal Aktivitesinin İncelenmesi

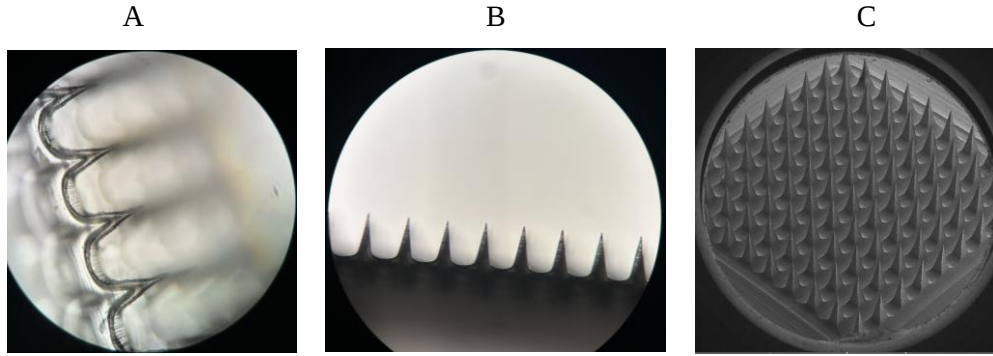
Mikroiğnelerin antibakteriyal aktivitelerinin değerlendirilmesi için disk difüzyon yöntemi ile *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213) suşu çalışmaya dahil edilmiştir. *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213) suşu Mueller-Hinton agar (MHA, Merck) katı besiyerine 37 °C’de ekilerek gün aşırı üremeleri sağlanmış ve ertesi gün üreyen kültürden 0.5 MacFarland bakteri solüsyonu hazırlanarak agara yoğun ekim yapılmıştır. Ekim yapılan besiyerlerinin üzerlerine hazırlanan mikroiğne örnekleri yerleştirilmiş ve 24 saat 37 °C’de inkübasyona bırakılmıştır. Ertesi gün inhibisyon zonları ölçülerek örneklerin antimikrobiyal aktiviteleri değerlendirilmiştir.

4. SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Bu tez çalışmasında akne tedavisinde güncel olarak kullanılan tetrasiklin ve bir retinoid türevi olan all trans retinoik asitin topikal uygulamasına yönelik transdermal ilaç taşıyıcı sistemin geliştirilmesi hedeflenmiştir. Bu amaçla tetrasiklin ve retinoik asit yüklü jelatin/PVA yapıda çözünebilir/biyobozunur mikroiğneli yamalar geliştirilmiştir. Geliştirilen mikroiğnelerle hem kombine tedavi hem de etken maddelerin uygulama bölgesinde penetrasyonunun artırılması hedeflenmiştir. Bu amaçla üretilen mikroiğnelerin mikroskopik görüntüleri, FTIR analizleri, termal ve penetrasyon özellikleri, sitotoksiteleri ve antibakteriyal aktiviteleri incelenmiş ve elde edilen bulgular aşağıda sunulmuştur.

4.1. Mikroiğnelerin Mikroskop Görüntüleri

Akne hastalığının topikal kullanıma yönelik olarak üretilen Jel/PVA mikroiğneler ve etken madde içeren mikroiğnelerin morfolojileri ışık mikroskobu ve SEM ile gözlemlenmiştir (Şekil 4.1-2). Silikon kalıplardan çıkarılan mikroiğnelerin platform üzerinde kusursuz olarak dizildiği gerek ışık mikroskobu gerekse SEM görüntüleri ile teyit edilmiştir.

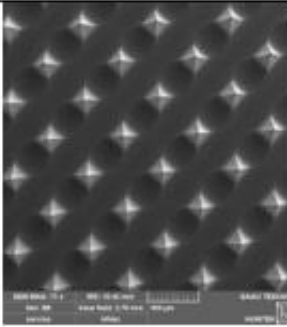
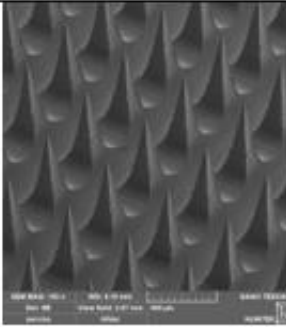
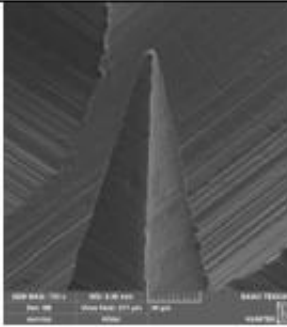
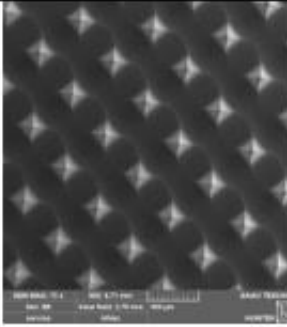
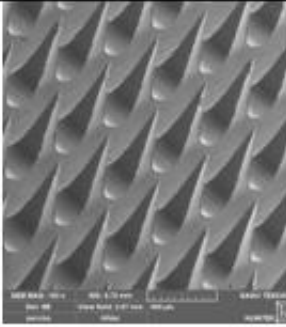
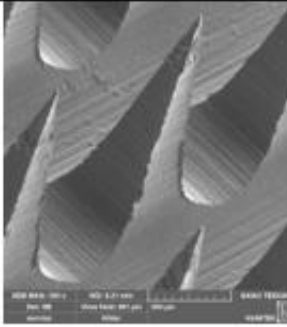
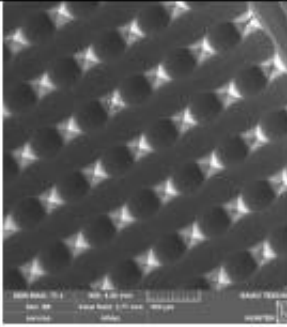
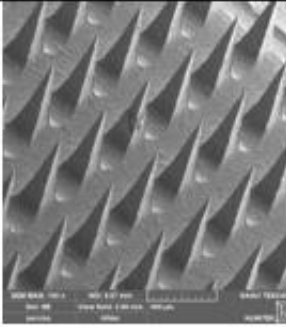
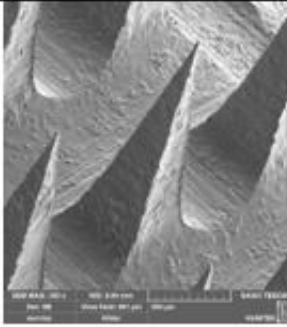
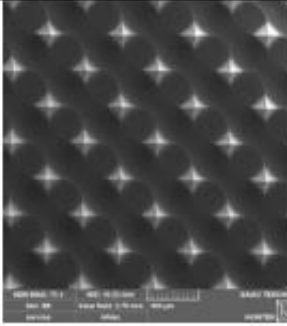
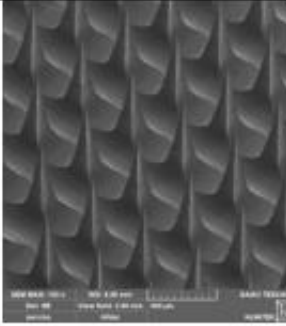
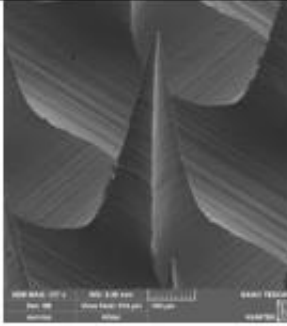


Şekil 4.1. Mikroiğnelerin genel görüntüleri; A) ve B) Işık mikroskobu görüntüsü, C) SEM görüntüsü.

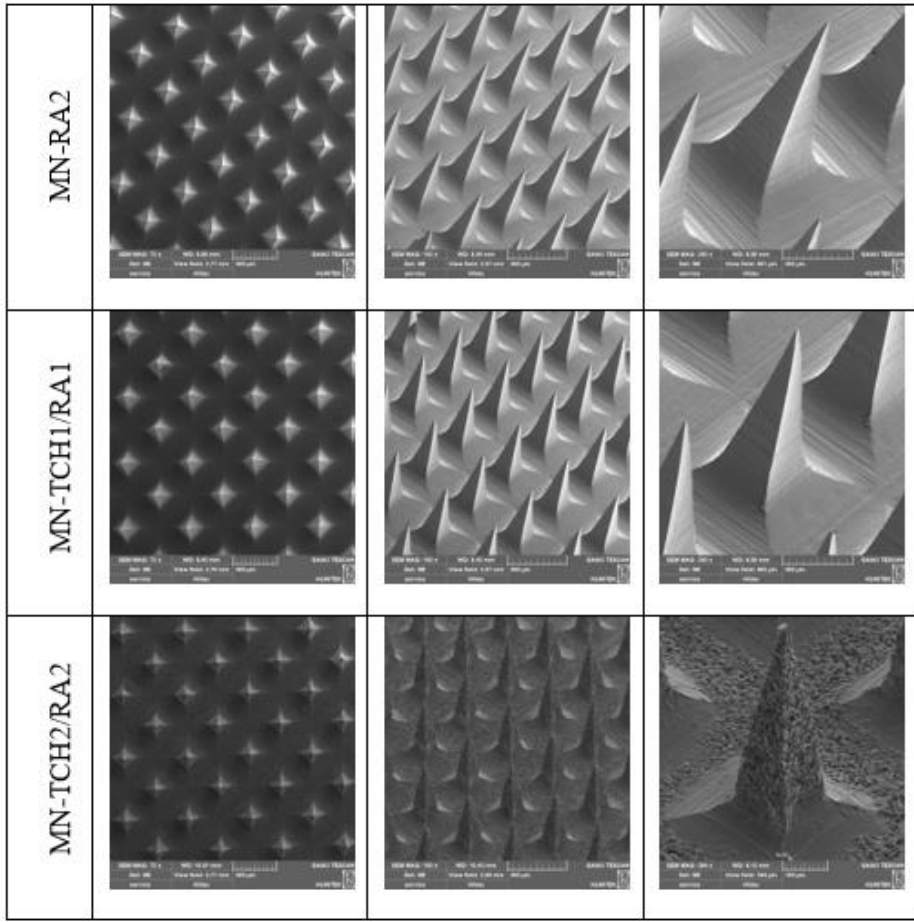
Üretilen MN grupların SEM ile farklı açılardan görüntüleri alınarak morfolojileri değerlendirilmiş (Şekil 4.2) ve aynı zamanda iğne boyutları ölçülmüştür (Şekil 4.3). Etken madde yüklenmemiş mikroiğnelerin oldukça pürüzsüz ve düzenli olarak sıralandığı izlenmiştir. Mikroiğnelere yüklenen etken maddelerin iğne şekillerine ve morfolojilerine

etkisi incelenmiş olup düşük dozda (%3 w/w) tetrasiklin yüklenen MN-TCH1 mikroiğnelerde ilacın önemli bir etkisi görülmez iken, ilaç konsantrasyonu 5 kat arttığında iğne yüzeylerinde hafif bir pürüzlülük izlenmiştir. Bunun nedeninin yüklenen tetrasiklin miktarının oldukça yüksek olması nedeniyle Jel/PVA içinde iyi çözünmeyerek kristalleştiği düşünülmektedir. MN-RA1 ve MN-RA2 gruplarının görüntüleri karşılaştırıldığında ise iğne morfolojilerinde veya yüzeylerinde herhangi bir değişiklik izlenmemiştir. Benzer şekilde düşük doz etken madde içeren MN-TCH1/RA1 grubu oldukça düzgün yüzeye sahip keskin mikroiğnelerden oluştuğu gözlenmiştir. Ancak yüksek dozda her iki etken madde yüklü MN-TCH2/RA2 mikroiğneler ise düzgün ve keskin iğne morfolojisine sahip olmakla birlikte etken maddelerin iğnede kristalleştiği görülmektedir.

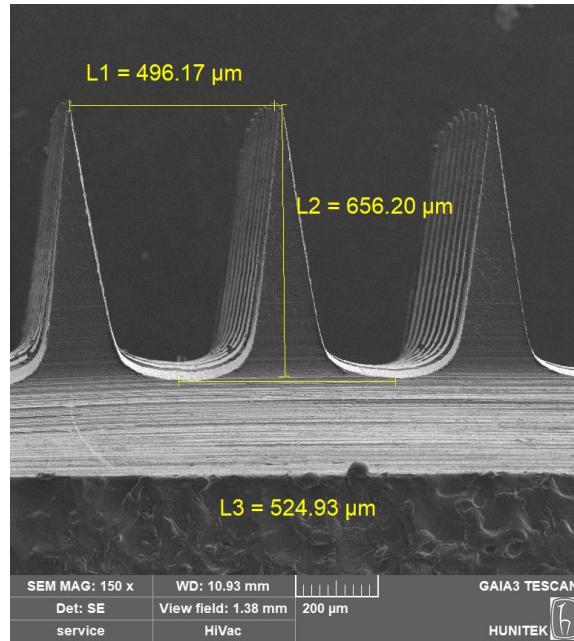
Üretimden sonra tüm iğne yükseklikleri ölçülmüş ve ortalama olarak iğne yükseklikleri 650 µm olarak bulunmuştur. Üretim için kullanılan silikon kalıplarda iğne boyutları 800 µm'dir. Üretimden sonra iğne boyutlarındaki bu azalmanın nedeninin doğal olarak hidrojel yapısından suyun buharlaşması olarak değerlendirilmiştir.

	Üstten Görünüm (75x)	Yakın Görünüm (100x)	İğne Görüntüsü
MN			
MN-TCH1			
MN-TCH2			
MN-RA1			

Şekil 4.2. Mikroıgnerlerin SEM görüntüleri.



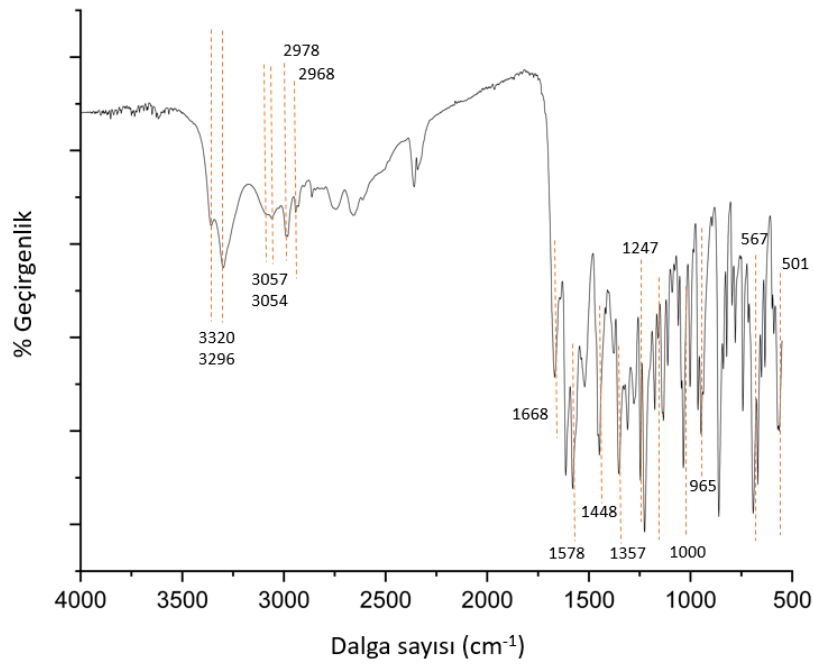
Şekil 4.2. devam etmektedir.



Şekil 4.3. Mikroigne boyutları.

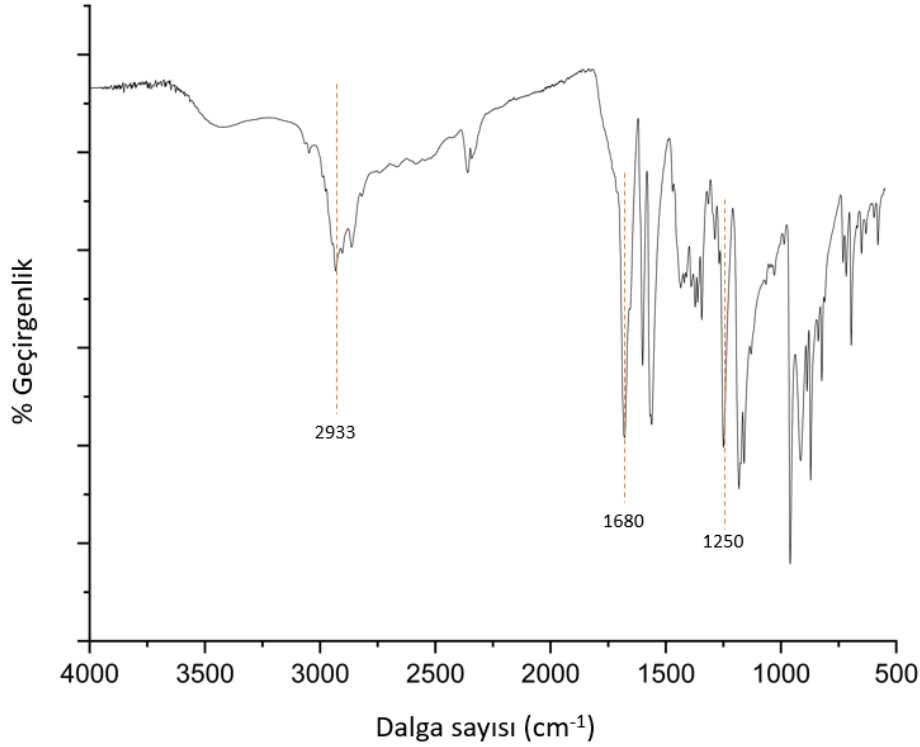
4.2. Mikroİğnelerin FTIR Bulguları

Etken maddelerin ve mikroİğnelerin kimyasal yapıları FTIR ile incelenmiştir (Şekil 4.4-6). Tetrasiklin amfoterik bir molekül olup dimetilamin, trikarbonilamid ve fenolik diketon gruplarını içerir. Karakteristik pikler esas olarak 1200-1700 cm^{-1} aralığında yer alır. Tetrasiklinin FTIR spektrumu incelendiğinde 3320 ve 3296 cm^{-1} 'de N-H ve O-H gerilmesi, 3057-3054 cm^{-1} 'de aromatik C-H gerilmesine aittir (Şekil 4.4). 2978-2968 cm^{-1} ve 1668-1578 cm^{-1} 'deki titreşimler sırasıyla CH_3 ve C=C gerilmelerine aittir. Aromatik C-H bükülme ve CH_3 bükülme sırasıyla 1448 ve 1357 cm^{-1} 'de izlenmiştir. Aromatik grupların düzlemsel ve düzlemsellikten saptığı sırasıyla 1247-1000 cm^{-1} ve 567-501 cm^{-1} 'deki titreşim bandları ile gözlenmiştir. 965 cm^{-1} 'deki titreşim bandı C-N gerilmelerine aittir. Elde edilen bulgular literatür ile uyumlu bulunmuştur [135, 136].



Şekil 4.4. Tetrasiklinin FTIR spektrumu.

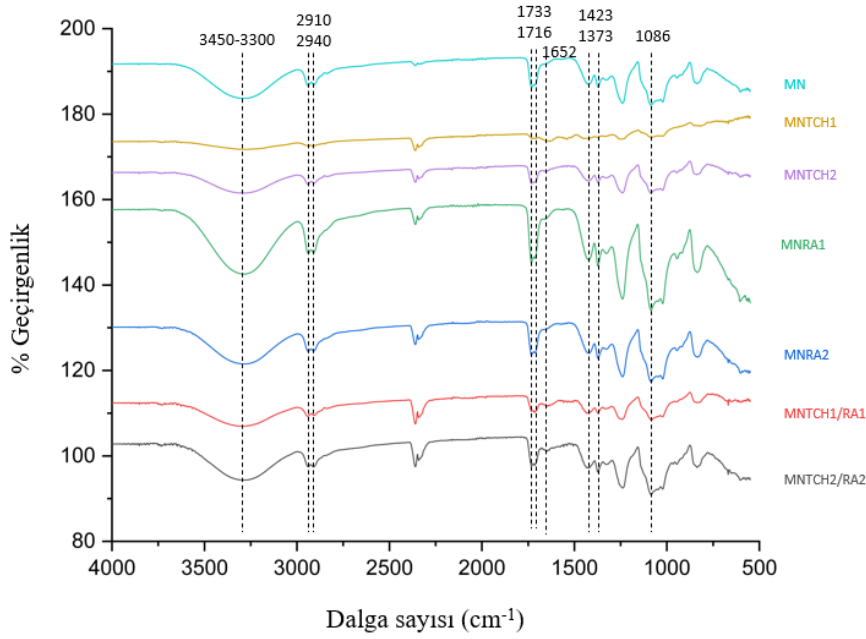
Retinoik asidin spektrumunda 1680 cm^{-1} 'deki karakteristik pikler karboksilik grubun C=O gerilmelerine aittir. 1250 cm^{-1} 'deki band C-H gerilmelerine aittir (Şekil 4.5). 2800-3000 cm^{-1} aralığında karboksilik asidin OH fonksiyonel grubuna, 2933 cm^{-1} 'deki band RA'daki çift bağlarının C-H'sine aittir [137].



Şekil 4.5. Retinoik asidin FTIR spektrumu.

Literatürde saf PVA'nın 3445 cm^{-1} 'de O-H gerilimleri, yaklaşık 2800 cm^{-1} C-H gerilimleri ve 1382 cm^{-1} 'de ise C-O gruplarına ait gerilimler izlenmiştir. Jelatinin karakteristik pikleri ise 3450 cm^{-1} ve 3423 cm^{-1} 'de ikincil amidlerin N-H gerilimleri, 2922 cm^{-1} ve 2850 cm^{-1} 'de C-H gerilimleri, 1680 cm^{-1} ve 1640 cm^{-1} 'de C=O gerilimleri, 1550 cm^{-1} ve 1500 cm^{-1} N-H bükülmeleri izlenmektedir [138].

Mikroiğnelerin FTIR spektrumları incelendiğinde (Şekil 4.6) $3450\text{-}3300\text{ cm}^{-1}$ 'de geniş bir pik O-H gerilimlerine ve ikincil amidlerin N-H gerilimlerine aittir. $2910\text{-}2940\text{ cm}^{-1}$ 'de C-H gerilimlerini, 1373 cm^{-1} piki C-O gerilmesini, 1423 cm^{-1} piki CH_2 grubunun bükülmesini göstermektedir [139, 140]. Ancak 1680 ve 1640 cm^{-1} 'de C=O gerilimleri izlenmemiştir. Bunun nedeni ise jelatinde bulunan serbest karboksilik asit grupların PVA ile esterleşmesi nedeniyle C=O gerilimlerinin $1733\text{-}1716\text{ cm}^{-1}$ 'ye kaydığı değerlendirilmiştir [141]. Elde edilen tüm spektrum verileri literatür ile uyumlu bulunmuştur.



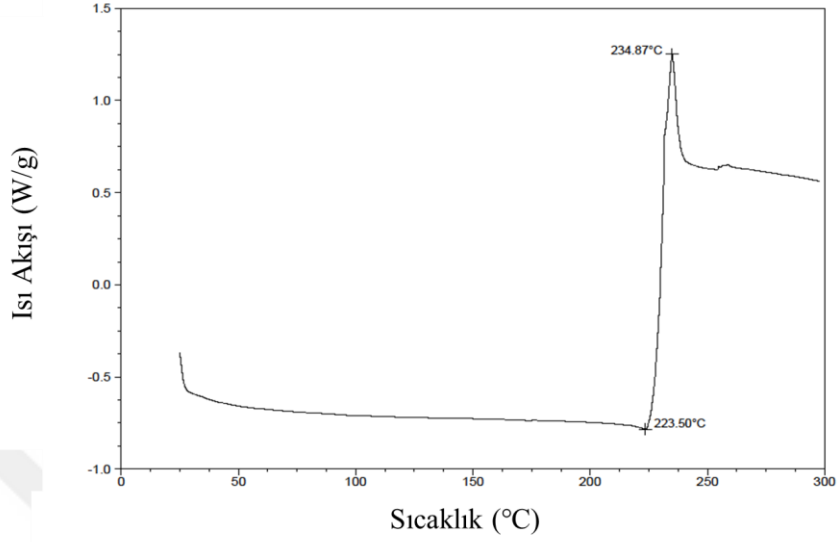
Şekil 4.6. Mikroïğnelere ait FTIR spektrumları.

4.3. Mikroïğnelerin Termal Analiz Bulguları

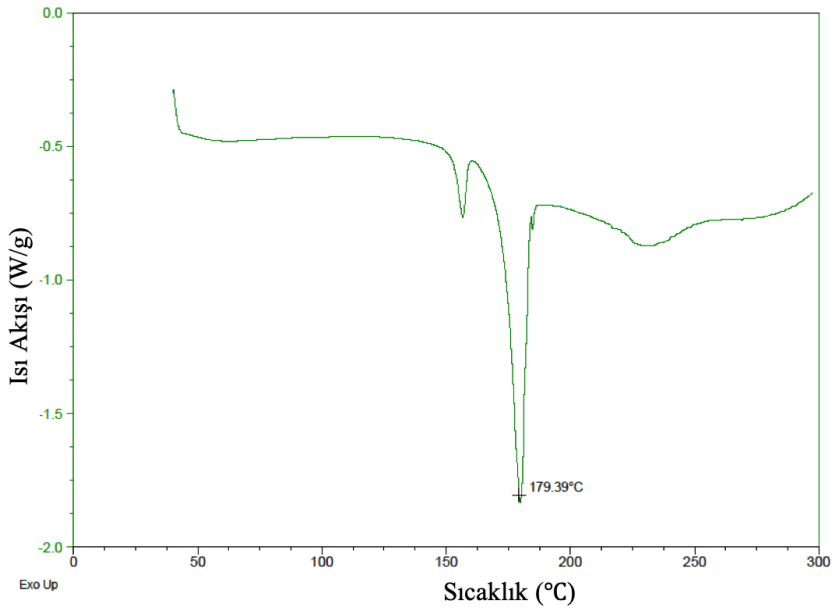
Etken maddelerin ve mikroïğnelerin DSC analizleri 30 - 300 °C aralığında incelenmiş ve Şekil 4.7-11’de sunulmuştur. Tetrasiklinin DSC termogramı incelendiğinde; 223.50 °C’de erime sıcaklığı ve 234.87 °C’de kristallenme izlenmiştir (Şekil 4.7). RA’nın DSC termogramında ise iki tepe noktası izlenmiştir. 179.39 °C’de görülen endotermik pik erime noktasını işaret ederken ~150 °C’de görülen endotermik pik ise all-trans RA’nın erimeden önceki monoklinik-triklinik faz geçişini göstermektedir (Şekil 4.8) [142]. Etken maddelerin DSC termogramları literatür ile uyumlu bulunmuştur [143, 144].

Mikroïğnelerin DSC termogramları Şekil 4.9-11’de verilmiştir. Etken madde içermeyen mikroïğnelerin termogramları incelendiğinde; 37.5 °C’de PVA’ya ait camsı geçiş sıcaklığı (T_g) ve 49.22 °C’de jelatine ait T_g gözlenmiştir. Jelatin/PVA mikroïğnelerde 2 adet T_g görülmesi harmanlanmış polimerlere özel bir durumdur. 110 °C’de izlenen geniş endotermik pik ise jelatinin erime sıcaklığı olarak değerlendirilmiştir. PVA’nın erime sıcaklığı ise 195.36 °C’de izlenmiştir. 221.51 °C’deki endotermik pik ise jelatinin yapısındaki farklı aminoasitlerin erime sırasındaki faz geçişlerinden dolayı olduğu değerlendirilmiştir [145]. Mikroïğnelere etken maddelerin yüklenmesinin jelatin/PVA polimerinin termal özellikleri üzerine bir etkisi gözlenmemiştir (Şekil 4.10). Tüm

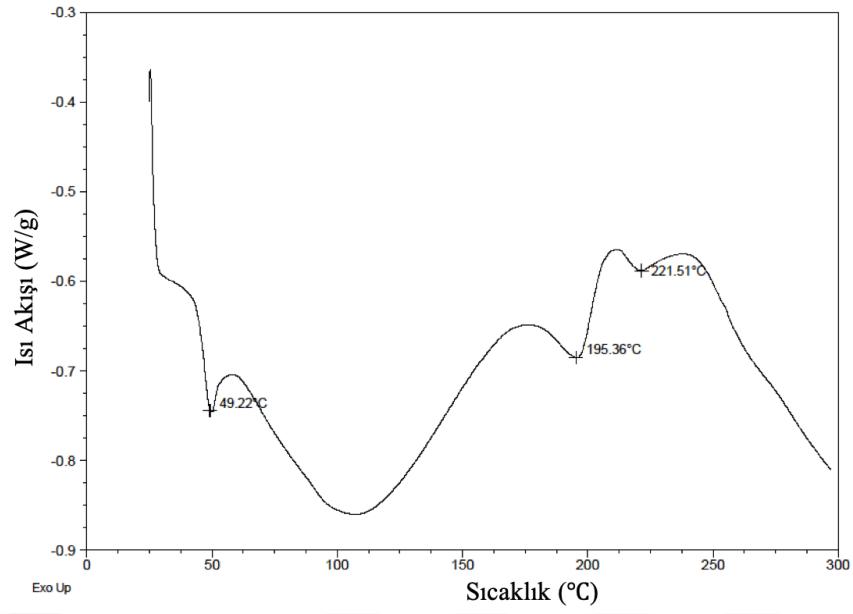
mikroiğnelerin DSC termogramları benzer özellik göstermiştir (Şekil 4.11). Elde edilen bulgular literatür ile uyumludur [145-147].



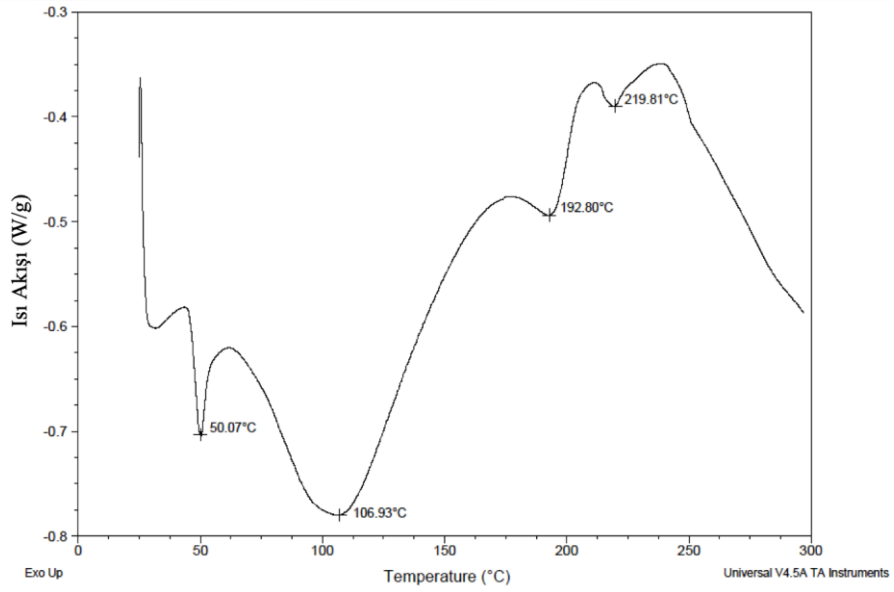
Şekil 4.7. Tetrasikline (TCH) ait DSC termogramı.



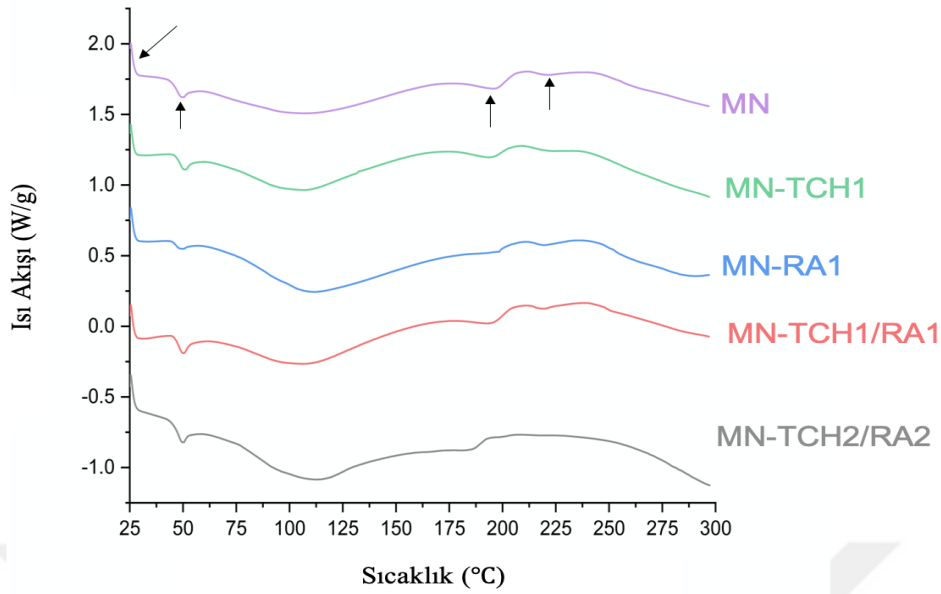
Şekil 4.8. Retinoik asite (RA) ait DSC termogramı.



Şekil 4.9. Mikroigneye (MN) ait DSC termogramı.

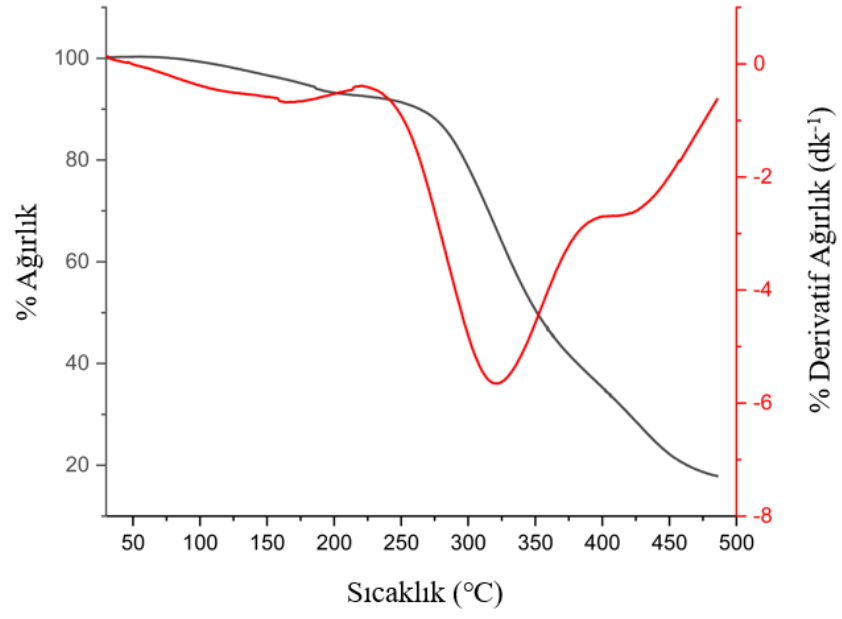


Şekil 4.10. MN-TCH1/RA1'e ait DSC termogramı.

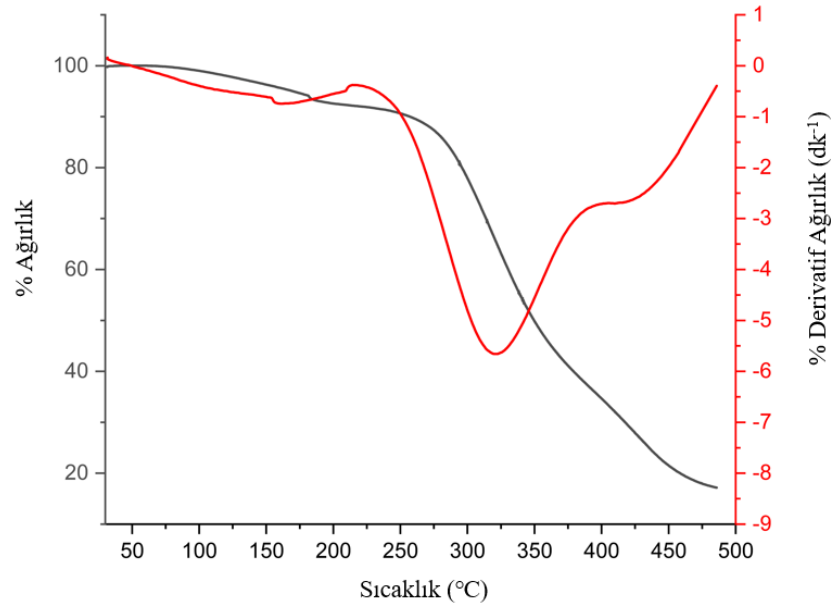


Şekil 4.11. Mikroİğnelerin DSC termogramları.

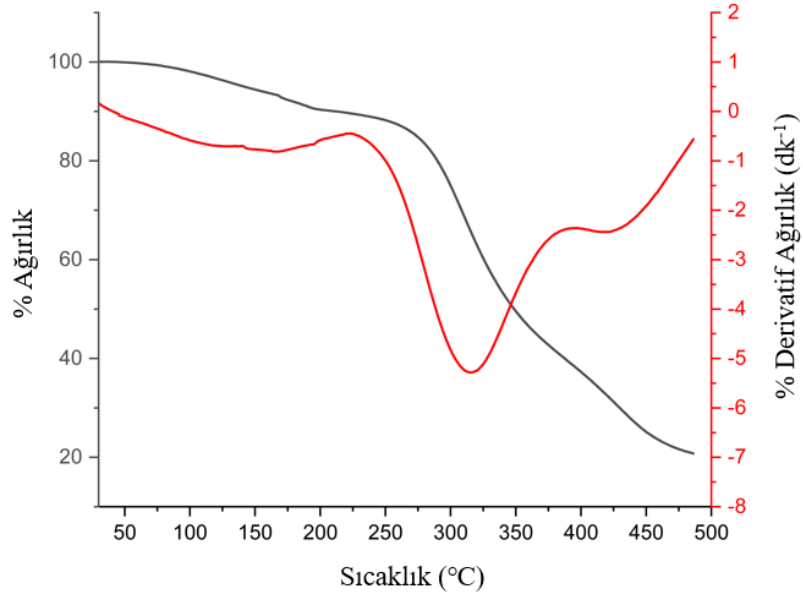
Mikroİğnelerin TGA termogramları Şekil 4.12-18'de sunulmuştur. Bütün örneklerin termogramlarında yaklaşık 80-90 °C'den başlayarak %10 civarında kütle kaybı gözlenmiştir. Bu, suyun buharlaşmasından kaynaklanmaktadır. Bütün örneklerde ısıl bozunmanın yaklaşık olarak 325 °C'de başladığı görülmüştür. Bu durum jelatin ve PVA'nın iyi harmanlandığını göstermektedir. Diğer taraftan 400 °C'deki ikinci ısıl bozunmanın ise tüm vinil polimerlerde olduğu gibi PVA'nın 2. basamak bozunması ile ilgili olduğu düşünülmektedir [145]. Etken maddelerin Jel/PVA'ya eklenmesinin ısıl bozunmaya önemli bir etkisinin olmadığı gözlenmiştir. 300-450 °C arasında toplam % kütle kayıpları incelendiğinde MN için 82.124, MN-TCH1 ve MN-TCH2 için sırayla 82.602, 79.208, MN-RA1 ve MN-RA2 için sırasıyla 80.266 ve 77.928, MN-TCH1/RA1 ve MN-TCH2/RA2 için ise sırasıyla 81.473 ve 76.402 olarak bulunmuştur. Yüksek dozda (% 0.25 w/w) retinoik asit içeren mikroİğnelerde (MN-RA2, MN-TCH2/RA2) % kütle kaybının diğerlerine göre yaklaşık olarak %3-4 oranında daha az olduğu gözlenmiştir. Elde edilen bulguların Jel/PVA harmanlanmış polimerlerin TGA termogramları ile uyumlu olduğu gözlenmiştir [145, 146].



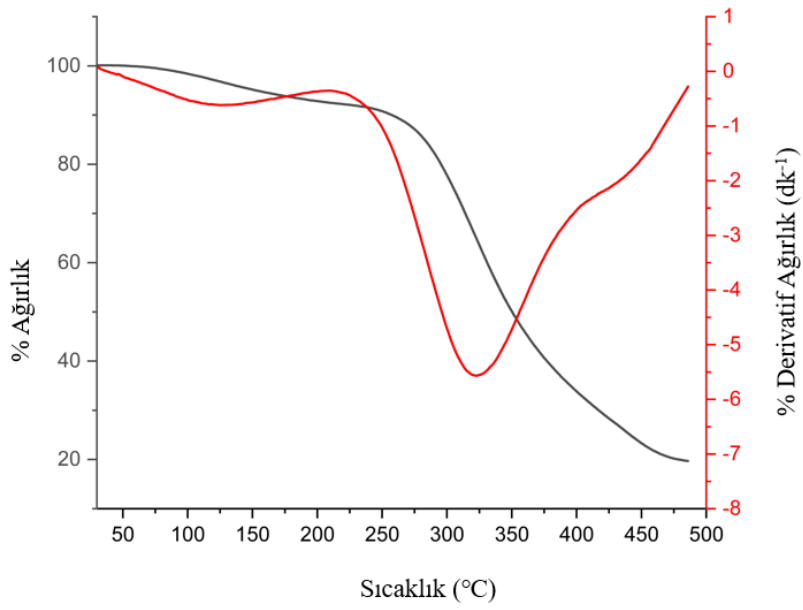
Şekil 4.12. MN'nin TGA termogramı.



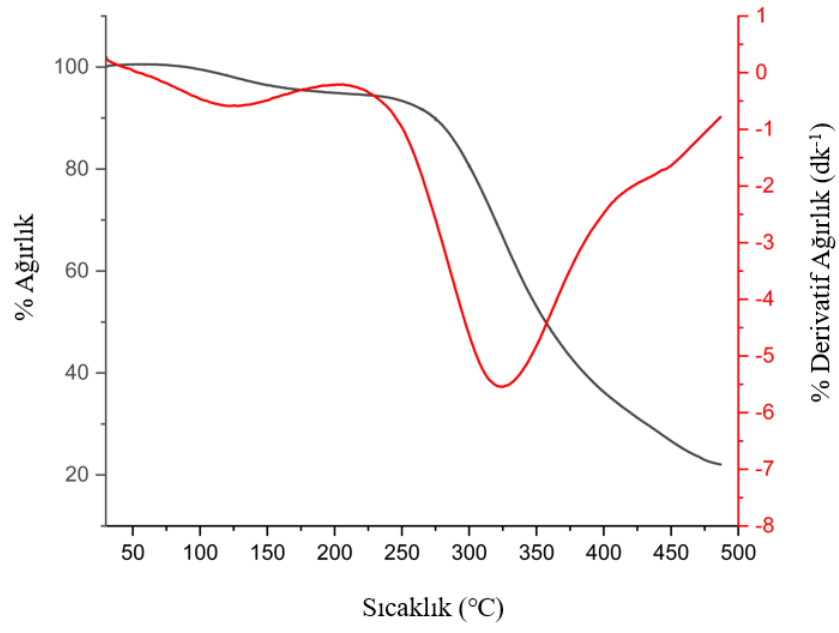
Şekil 4.13. MN-TCH1'in TGA termogramı.



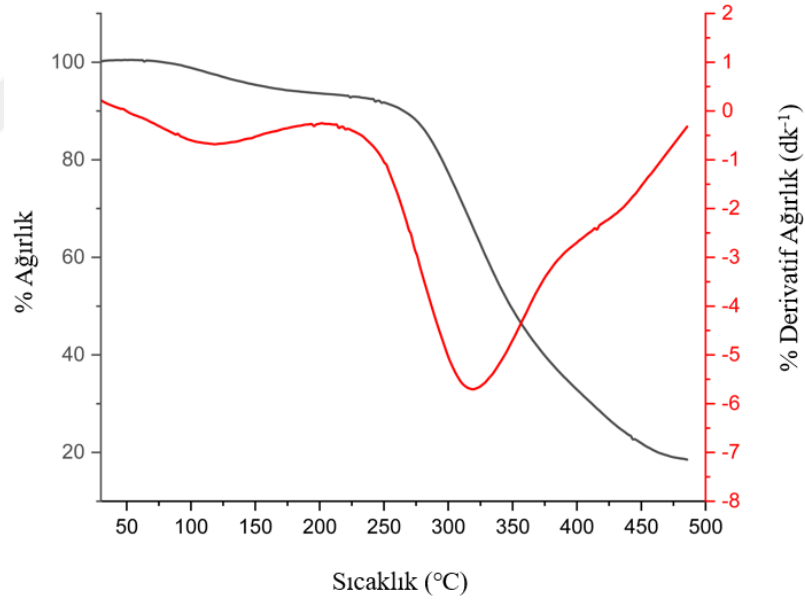
Şekil 4.14. MN-TCH2'nin TGA termogramı.



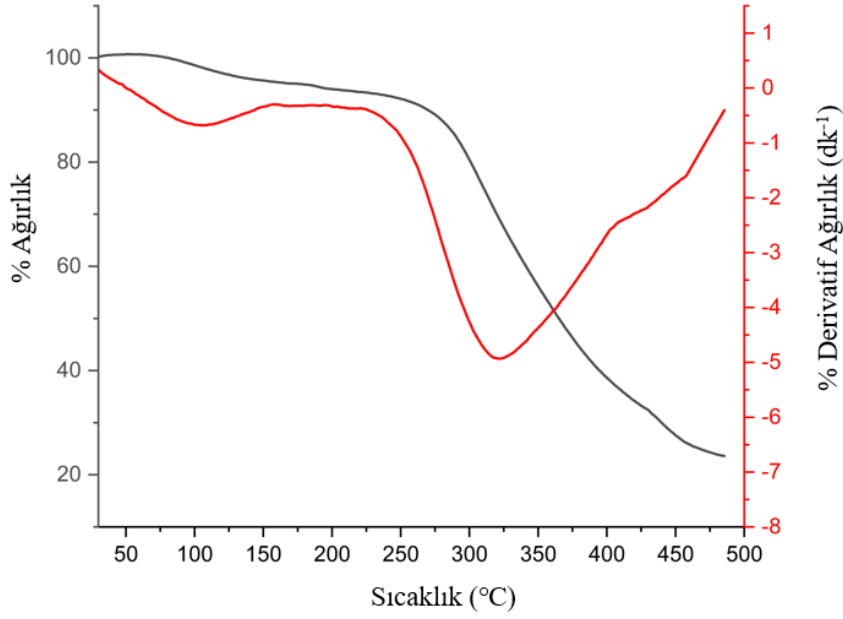
Şekil 4.15. MN-RA1'in TGA termogramı.



Şekil 4.16. MN-RA2'nin TGA termogramı.



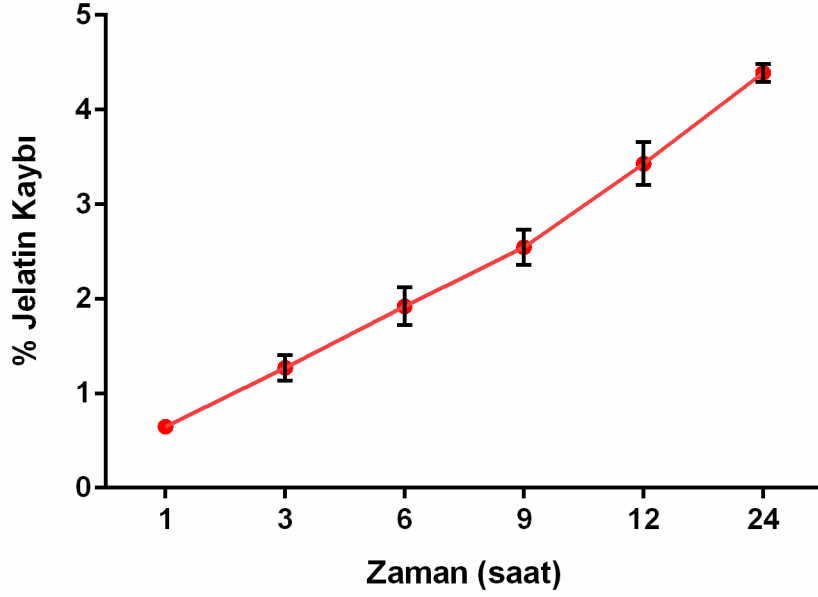
Şekil 4.17. MN-TCH1/RA1'in TGA termogramı.



Şekil 4.18. MN-TCH2/RA2'nin TGA termogramı.

4.4. Mikroİğnelerin Hidrolitik Bozunma Davranışları

Çözünen/bozunan mikroİğneler genel olarak doğal hidrojellerden elde edilir. Mikroİğneler deri altı interstisyel sıvısı ile temas ederek etken madde mikroİğnelerin uçlarının çözünmesi ile salınır [123]. İlacın salım kinetiği, mikroİğnenin bileşenine giren polimerlerin çözünme hızına ve çapraz bağ miktarına bağlıdır. Bu çalışmada her ikisi de *in vivo* ortamda bozunabilen jelatin ve PVA polimerleri kullanılarak mikroİğne üretilmiş ve daha sonra stabilitelerini artırmak için gluteraldehit buharına tabi tutulmuştur. Üretilen mikroİğnelerin hidrolitik bozunmaları yapıdaki jelatininin bozunması üzerinden BCA ile kolorimetrik olarak analiz edilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre 24 saat sonra mikroİğne yapısındaki jelatinin %4'ü bozunmaya uğramıştır. Bununla birlikte yapıdaki PVA'nın da sulu ortamda çözüneceği düşünüldüğünde mikroİğnelerin daha yüksek bir bozunma hızına erişeceği düşünülmektedir. BCA analizi ön bir çalışma olup mikroİğnelerin bozunma davranışlarının gravimetrik olarak incelenmesi planlanmıştır. Diğer taraftan mikroİğnelerin ortalama olarak % su tutma kapasitesi 331 olarak bulunmuştur. Mikroİğnelerin biyobozunur/çözünür bir hidrojel yapıya sahip olmasından dolayı etken madde salımının bozunma ile birlikte difüzyonla gerçekleşeceği düşünülmektedir. Bu konu etken madde salım çalışmaları ile birlikte ileride değerlendirilecektir.

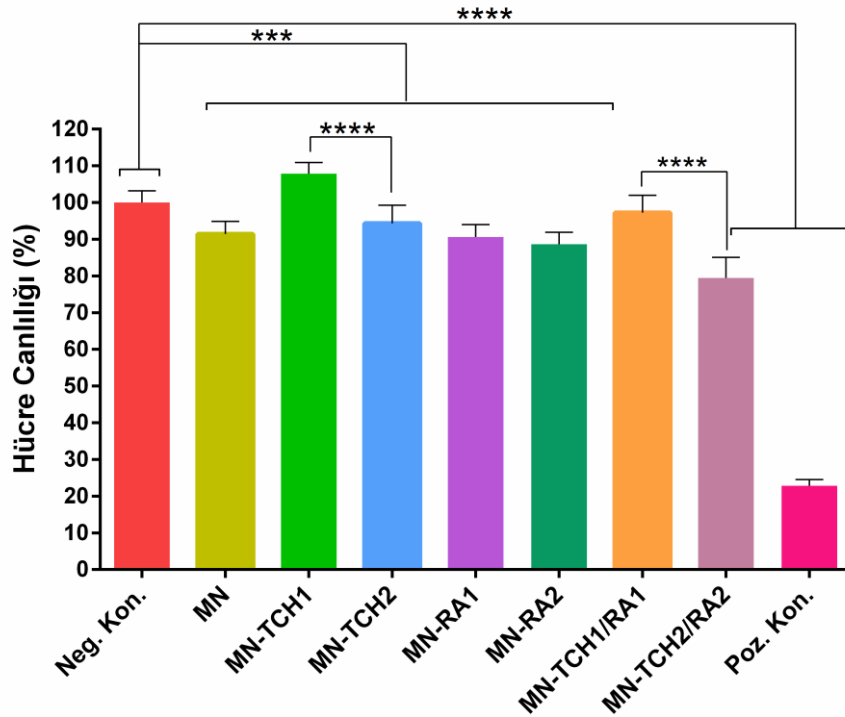


Şekil 4.19. Mikroİğnelerde % jelatin kaybı.

4.5. Mikroİğnelerin Hücre Canlılığına Etkisi

Geliştirilen ilaç yüklü mikroİğnelerin hücre canlılığına olan etkilerinin tespit edilmesi amacıyla MTT yapılmıştır. Elde edilen sonuçlar Şekil 4.20’de verilmiştir. Yapılan analiz tüm deney gruplarında yüksek hücre canlılığının (>%80) elde edildiğini, ilaç yüklü mikroİğnelerin toksik bir etkiye sahip olmadıklarını açık bir biçimde göstermiştir. Negatif kontrol grubu ile kıyaslandığında MN-TCH1 ve MN-TCH1/RA1 grupları dışında diğer gruplarda hücre canlılığının anlamlı olarak azaldığı ancak hücre canlılığının %80’in üzerinde olduğu hesaplanmıştır ($p<0.0001$). En yüksek hücre canlılığı MN-TCH1 grubunda, en düşük hücre canlılığı MN-TCH2/RA2 grubunda tespit edilerek sırasıyla %107 ve %79 olarak hesaplanmıştır. Yapılan analiz, mikroİğnelere TCH ve RA etken maddelerinin yüklenmesi hücre canlılığı profilinde konsantrasyona bağlı olarak değişim meydana geldiğini ve hücre canlılığının MN, MN-TCH1/RA1 ve MN-TCH2/RA2 gruplarında sırasıyla %91, %97 ve %79 olduğunu göstermiştir. Bununla birlikte mikroİğnelere 5 kat daha fazla TCH eklendiğinde hücre canlılığı anlamlı olarak düşmüş ancak RA eklendiğinde ise değişmemiştir ($p<0.0001$). Bu sonuç yüksek dozda TCH’nin hücre canlılığını etkilediğini ancak RA’nın olumsuz bir etki göstermediğini kanıtlamıştır. MN-TCH1/RA1 ve MN-TCH2/RA2 grubu sonuçları da bu durumu destekler nitelikte olup, MN-TCH1/RA1 grubu ile kıyaslandığında MN-TCH2/RA2 grubunda hücre

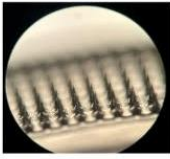
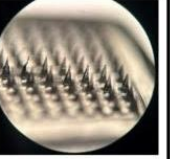
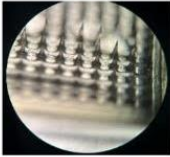
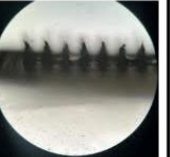
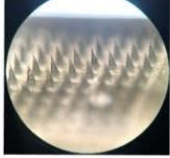
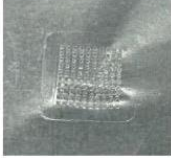
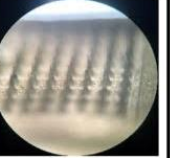
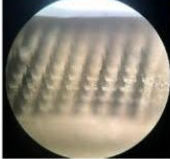
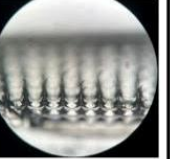
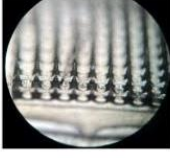
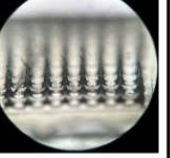
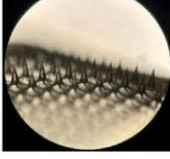
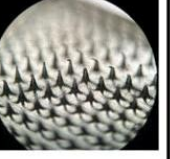
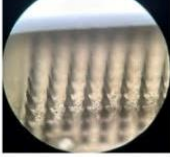
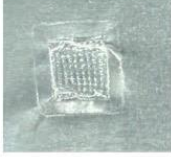
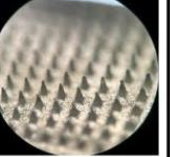
canlılığı anlamlı olarak düşük hesaplanmıştır ($p<0.0001$). Shao ve ark. yaptıkları çalışmada bakteriyel selüloz kompozit membranlara TCH yüklemiş ve geliştirilen membranın hücre canlılığına olan etkilerini HEK293 hücrelerinde incelemişlerdir. Elde edilen sonuçlar membranlara 10 mg/dm^2 tetrasiklin yüklendiğinde hücre canlılığının etkilenmediği tespit edilmiştir [148]. Yine başka bir çalışmada araştırmacılar elektroğrılmış PVA/Kitosan nanofiber doku iskelelerine TCH yüklemiş (polimer ağırlığının %5 oranında) ve düz kas hücrelerinde hücre canlılığını araştırmışlardır. Elde edilen sonuçlar TCH yüklü PVA/Kitosan doku iskelelerinin toksik olmadığını göstermiştir [149]. O’Leary ve ark. ise PCL-Kitosan nanofiber doku iskelelerine 0.1, 1, ve 10 µg/mg doku iskelesi RA yüklemiş ve epitel hücrelerini kullanarak doku iskelelerinin toksisitesini araştırmışlardır. Elde edilen sonuçlar RA yüklü doku iskelelerinin biyoyumlu olduklarını göstermiştir [150]. Dolayısı ile bu çalışmada elde edilen sonuçlar literatür verileri ile uyumlu olup TCH ve RA yüklü mikroığnelerin biyoyumlu olduklarını göstermiştir.



Şekil 4.20. TCH ve RA yüklü mikroığnelerin hücre canlılığı üzerine etkisi. Etken madde yüklü mikroığnelerin hücre canlılığı üzerinde toksik etki göstermediği tespit edilmiştir. Elde edilen verilerin istatistiksel analizi tek yönlü varyans analizi kullanılarak gerçekleştirilmiş olup, gruplar arasında anlamlı fark olup olmadığı Bonferroni çoklu karşılaştırma metodu ile tespit edilmiştir. $p<0.05$ anlamlı olarak kabul edilmiştir. *** $p<0.001$, **** $p<0.0001$ temsil etmektedir.

4.6. Mikroignelerin Penetrasyon Özellikleri

Mikroignelerin penetrasyon testleri için literatürde Parafilm M® mikroigne dizilerinin cilt üzerine yerleştirilmesi için bir model zar olarak kullanılmıştır. Bu model zarın biyolojik doku yerine kullanılabileceği sonucuna varılmıştır. Ayrıca, hızlı bir mikro iğne kalite kontrol testi için bir temel sağlayabileceği ve aday mikroigne formülasyonları arasındaki yerleştirme verimliliğinin karşılaştırmalı bir testi olarak kullanılabileceği belirtilmiştir [151]. Parafilm M®'nin katmanlanması, mikroignelerin nüfuz derinliğinin görselleştirilmesine olanak sağlamıştır. Mikroignelere kuvvet uygulama öncesi, uygulandıktan sonra ilk Parafilm M® katmanı, iğnelerin delik oluşturduğu sondan önceki Parafilm M® katmanı ve delik olduğu gözlemlenen son katman Şekil 4.21'te gösterilmiştir. MN, MN-TCH1, MN-TCH1/RA1 ve MN-TCH2/RA2 gruplarında 4. ve 5. katmanlara kadar delik olduğu gözlemlenmiş olup MN-TCH2, MN-RA1 ve MN-RA2 gruplarında ise 5. ve 6. katmanlara kadar delik olduğu görülmüştür. Mikroigne yamalarına ağırlık uygulandıktan sonra mikroskopik incelendiğinde, bazı iğnelerde ufak bir deformasyon olduğu ve iğne uçlarının büküldüğü görülmüştür. Gruplardaki bazı iğnelerin ise tabandan ucuna kadar sağlam kaldığını ve uç noktalarını koruduğunu gösterir. Tüm bu mekanik sonuçlar değerlendirildiğinde, etken maddelerin iğnelere mekanik olarak katkısı olmadığı görülmektedir.

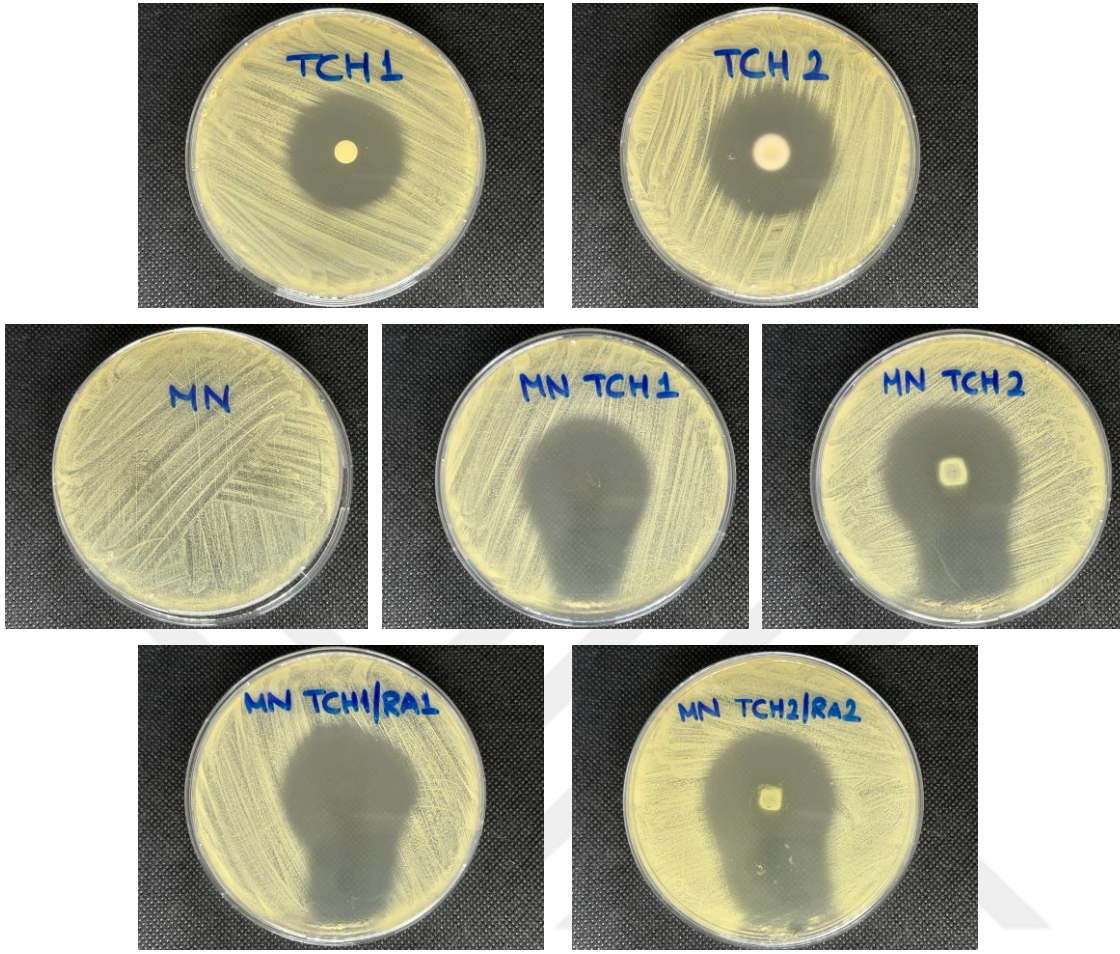
	Ağırlık Uygulanmadan Önce	Ağırlık Uygulandıktan Sonra Mikroİğnelerin Görüntülediği Parafilm Katmanları			Ağırlık Uygulandıktan Sonra
MN		 1. Katman	 4. Katman	 5. Katman	
MN-TCH1		 1. Katman	 4. Katman	 5. Katman	
MN-TCH2		 1. Katman	 5. Katman	 6. Katman	
MN-RA1		 1. Katman	 5. Katman	 6. Katman	
MN-RA2		 1. Katman	 5. Katman	 6. Katman	
MN-TCH2/RA1		 1. Katman	 4. Katman	 5. Katman	
MN-TCH2/RA2		 1. Katman	 4. Katman	 5. Katman	

Şekil 4.21. Mikroİğne gruplarının mekanik testten önce ve sonra ışık mikroskobu görüntüleri ve kuvvet uygulama sonrası ilk katman ve iğnelerin parafilm deldiği son katmanlar.

Bir Parafilm M® katmanı yaklaşık 130 µm'dir [152]. Üretilen MN grubunun Şekil 4.3'te görüldüğü üzere iğne yüksekliği yaklaşık 656,2 µm'dir. Böylece delik görünümünün en fazla 6. katmana kadar geçmesi beklenir. Şekil 4.4'te de gözüktüğü üzere mikroiğne delikleri en fazla 6. katmanda görülebilmektedir. Bu bilgiler doğrultusunda, sonuçların tutarlı olduğu değerlendirilmektedir. Ayrıca, oluşan mikroiğnelerin yaklaşık yüksekliği (656,2 µm) göz önünde bulundurulduğunda, stratum korneum (10–15 µm kalınlık) ve epidermis katmanını (50–100 µm kalınlık) geçerek cildin dermis kısmına ulaştığı sonucuna varılmıştır [153]. Ek olarak, transdermal ilaç dağıtımında çok önemli bir faktör, bir ilacın cilt katmanlarını geçerek kan dolaşımına girmesi için geçen süre olarak tanımlanan gecikme süresidir [154]. Terapötik etkinin yanı sıra ilaç dağıtımının hızlı bir şekilde başlamasını sağlamak için daha kısa bir gecikme süresi tercih edilir. Böylece, üretilen mikroiğneler ilacın dermis tabakasına yayılmasına izin vererek ilacın hareket mesafesini önemli ölçüde kısaltmıştır.

4.7. Mikroiğnelerin Antibakteriyal Aktiviteleri

Mikroiğnelerin antibakteriyal aktiviteleri, disk difüzyon yöntemi kullanılarak inhibisyon zon çapları gözlemlenmiştir. Şekil 4.22'te mikroiğnelerin antibakteriyal aktiviteleri ve Tablo 2'de inhibisyon zon çapları gösterilmiştir. Aynı zamanda etken madde olarak tetrasiklin mikroiğnelerdeki eşdeğer miktar kadar; günlük doz (TCH1) ve yüksek doz (TCH2) olarak disklere yüklenerek referans olarak test edilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, TCH yüklü mikroiğneler *S. Aureus* bakterisine karşı antibakteriyal etki gösterirken etken madde içermeyen mikroiğnenin (MN) hiçbir etkisinin olmadığı görülmüştür. Aynı zamanda TCH yüklü mikroiğnelerin inhibisyon zon çaplarının referans olarak kullanılan TCH1 ve TCH2 ile karşılaştırıldığında daha yüksek bulunmuştur. Bunun nedeninin etken maddenin mikroiğnelerden daha hızlı difüzyona uğraması olarak değerlendirilmiştir. Antibiyotik yüklü örneklerin (MN-TCH1, MN-TCH2, MN-TCH1/RA1 ve MN-TCH/RA2) zon çapları açısından bir fark olmadığı tespit edilmiştir. Tüm pozitif test örnekleri, negatif kontrol örnekleri olan MN ile karşılaştırıldıklarında antibakteriyal aktivite sergilemişlerdir. Bununla birlikte *Propionibacterium Acnes*'in aknenin etiyopatogenezinde önemli bir yeri olduğu bilinmektedir. Bu nedenle ileriki çalışmalarımızda tetrasiklin yüklü mikroiğnelerin antibakteriyal aktivite çalışmalarına *P. Acnes* kullanılarak devam edilecektir.



Şekil 4.22. MN gruplarının antibakteriyal aktivitesi.

Tablo 2. *S. aureus* (ATCC 29128)'a karşı disk difüzyon testi sonuçları.

Örnekler	İnhibisyon ortalama zon çapları (mm)
Tetrasiklin Disk (0.3 mg)	33
Tetrasiklin Disk (1.5 mg)	36
MN	0
MN-TCH1	$40,0 \pm 2,6$
MN-TCH2	$40,3 \pm 2,5$
MN-TCH1/RA1	$39,0 \pm 1,7$
MN-TCH1/RA2	$40,7 \pm 1,2$

5. YORUM VE GELECEK PLANI

Günümüzde akne vulgarisin tedavisine yönelik olarak tablet, krem, jel gibi pek çok klasik dozaj şekilleri mevcuttur. Ancak oral yolla alınan antibiyotiklerin yan etkilerinin olması ve aynı zamanda direnç gelişimi göstermesi nedeniyle yeni tedavi yaklaşımları araştırılmaktadır. Bu tez kapsamında kombine bir yaklaşımla akne tedavisinde kullanılan bir antibiyotik olan tetrasiklin (TCH) ve retinoik asit (RA) Jel/PVA mikroiğnelere yüklenerek hem ilaçların penetrasyonunun artırılması hemde lokal tedavi ile antibiyotik direncinin önlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla, hem günlük dozda hemde yüksek dozda TCH ve RA, Jel/PVA mikroiğnelere yüklenerek üretimleri yapılmış, mikroiğne özellikleri belirlenmiş ve antibakteriyal etkileri değerlendirilmiştir.

Mikroiğnelerin morfolojileri incelendiğinde etken maddelerin iğnelere başarılı bir şekilde yüklendiği ve düzgün morfolojiye sahip keskin mikroiğne dizilerinin olduğu görülmüştür. Elde edilen mikroiğneler 650 µm iğne yüksekliğine sahip olup kare tabanlı piramidal geometride olduğu ve düzgün yapılar oluşturduğu izlenmiştir. Geliştirilen mikroiğneler termal olarak stabil olup sitotoksik bir etki göstermemiştir. Mikroiğnelerin penetrasyon testi ağırlık kullanılarak Parafilm M[®] katmanları üzerinden gerçekleştirilmiş olup etken madde içeren mikroiğnelerin 5. ve 6. Parafilm M[®] katmanlarına kadar delik olduğu görülmüştür. Bu sonuç mikroiğnelerin derinin dermis kısmına ulaşabileceği konusunda bilgi vermiştir. Aynı zamanda mikroiğnelerin hidrolitik olarak bozunduğu gösterilmiştir. Aynı zamanda TCH yüklü mikroiğnelerin *S. Aureus* bakterisine karşı antibakteriyal etki gösterdiği tespit edilmiştir.

Bu bilgiler ışığında, TCH ve RA yüklü mikroiğneler, akne tedavisinde transdermal ilaç taşıyıcı sistemler olarak kombine tedavi için yeni bir yaklaşım sunmaktadır. Bu sayede TCH'nin yüksek doz uygulamalarının önüne geçerek antibiyotik direncini önleme potansiyeline sahiptir. Aynı zamanda yüksek penetrasyon etkisi ile düşük dozlarda etken maddelerin dermise ulaşmasına olanak sağlayarak klasik dozaj formlarına karşı daha avantajlı olduğu söylenebilir.

Sonuç olarak, bu tez kapsamında retinoik asit ve tetrasiklin yüklü Jel/PVA mikroiğne yamalarının antibakteriyal etkisi, hücrelerde toksik etki göstermemesi, yeterli

penetrasyon özellikleri, yüksek su tutma kapasitesi göstermesi nedeniyle akne vulgaris tedavilerinde kullanım potansiyeline sahip olduğu görülmüştür.

İleriye yönelik çalışmalarımızda üretilen mikroığnelerin ilaç salım profillerinin ve kinetiğinin belirlenmesi planlanmıştır. Aynı zamanda tetrasiklin yüklü mikroığnelerin antibakteriyal aktivite çalışmalarına *P. Acnes* kullanılarak devam edilecektir.



6. KAYNAKLAR

- [1] M. Toyoda, M. Morohashi, Pathogenesis of acne, *Med Electron Microsc* 34(1) (2001) 29-40.
- [2] R.J. Lasek, M.M. Chren, Acne vulgaris and the quality of life of adult dermatology patients, *Arch Dermatol* 134(4) (1998) 454-8.
- [3] A.L. Zaenglein, A.L. Pathy, B.J. Schlosser, A. Alikhan, H.E. Baldwin, D.S. Berson, W.P. Bowe, E.M. Graber, J.C. Harper, S. Kang, J.E. Keri, J.J. Leyden, R.V. Reynolds, N.B. Silverberg, L.F. Stein Gold, M.M. Tollefson, J.S. Weiss, N.C. Dolan, A.A. Sagan, M. Stern, K.M. Boyer, R. Bhushan, Guidelines of care for the management of acne vulgaris, *J Am Acad Dermatol* 74(5) (2016) 945-73.e33.
- [4] H. Şanlı, İ. Kalay Yıldızhan, Topikal Tedaviler, *TURKDERM - Turkish Archives of Dermatology and Venereology* 54(0) (2020) 23-29.
- [5] S.C. Shin, H.J. Kim, I.J. Oh, C.W. Cho, K.H. Yang, Development of tretinoin gels for enhanced transdermal delivery, *Eur J Pharm Biopharm* 60(1) (2005) 67-71.
- [6] E. Monk, A. Shalita, D.M. Siegel, Clinical applications of non-antimicrobial tetracyclines in dermatology, *Pharmacol Res* 63(2) (2011) 130-45.
- [7] B.E. Murray, E.R. Rensimer, H.L. DuPont, Emergence of high-level trimethoprim resistance in fecal *Escherichia coli* during oral administration of trimethoprim or trimethoprim--sulfamethoxazole, *N Engl J Med* 306(3) (1982) 130-5.
- [8] S. Gao, W. Zhang, X. Zhai, X. Zhao, J. Wang, J. Weng, J. Li, X. Chen, An antibacterial and proangiogenic double-layer drug-loaded microneedle patch for accelerating diabetic wound healing, *Biomaterials Science* 11(2) (2023) 533-541.
- [9] N. Akdeniz, Ö. Çalka, H. Özbek, A. Metin, Anti-inflammatory effects of tretinoin (all-trans-retinoic acid) 0.1% and adapalene 0.1% in rats, *Clinical and Experimental Dermatology* 30(5) (2005) 570-572.
- [10] J. Alipal, N.M. Pu'Ad, T. Lee, N. Nayan, N. Sahari, H. Basri, M. Idris, H. Abdullah, A review of gelatin: Properties, sources, process, applications, and commercialisation, *Materials Today: Proceedings* 42 (2021) 240-250.
- [11] H.F. Mark, *Encyclopedia of polymer science and technology, concise*, John Wiley & Sons 2013.
- [12] A.G. Ward, A. Courts, *The science and technology of gelatin*, (No Title) (1977).
- [13] Z. Yang, S. Chaieb, Y. Hemar, Gelatin-Based Nanocomposites: A Review, *Polymer Reviews* 61(4) (2021) 765-813.

- [14] J. Kopecek, Hydrogel biomaterials: a smart future?, *Biomaterials* 28(34) (2007) 5185-92.
- [15] A.M.N. Fitri, D. Elim, M.A.S.b. Mahfud, N.A.F. Sultan, M.D. Saputra, N. Afika, R.A. Friandini, N.J.N. Djide, A.D. Permana, Polymeric hydrogel forming microneedle-mediated transdermal delivery of sildenafil citrate from direct-compressed tablet reservoir for potential improvement of pulmonary hypertension therapy, *International Journal of Pharmaceutics* 631 (2023) 122549.
- [16] I. Sadeghi, J. Byrne, R. Shakur, R. Langer, Engineered drug delivery devices to address Global Health challenges, *Journal of Controlled Release* 331 (2021) 503-514.
- [17] A.S. Rzhevskiy, T.R.R. Singh, R.F. Donnelly, Y.G. Anissimov, Microneedles as the technique of drug delivery enhancement in diverse organs and tissues, *J Control Release* 270 (2018) 184-202.
- [18] Y.C. Kim, J.H. Park, M.R. Prausnitz, Microneedles for drug and vaccine delivery, *Adv Drug Deliv Rev* 64(14) (2012) 1547-68.
- [19] B.G. Amsden, M.F.A. Goosen, Transdermal delivery of peptide and protein drugs: An overview, *AIChE Journal* 41(8) (1995) 1972-1997.
- [20] E.L. Giudice, J.D. Campbell, Needle-free vaccine delivery, *Adv Drug Deliv Rev* 58(1) (2006) 68-89.
- [21] M. Museau, S. Butdee, F. Vignat, Design and Manufacturing of Microneedles Toward Sustainable Products, *Applied Science and Engineering Progress* 4(4) (2011) 41-51.
- [22] T. Waghule, G. Singhvi, S.K. Dubey, M.M. Pandey, G. Gupta, M. Singh, K. Dua, Microneedles: A smart approach and increasing potential for transdermal drug delivery system, *Biomed Pharmacother* 109 (2019) 1249-1258.
- [23] A.C. Williams, B.W. Barry, Penetration enhancers, *Advanced Drug Delivery Reviews* 64 (2012) 128-137.
- [24] R.F. Donnelly, T.R.R. Singh, D.I. Morrow, A.D. Woolfson, Microneedle-mediated transdermal and intradermal drug delivery, (2012).
- [25] L. Wu, P. Shrestha, M. Iapichino, Y. Cai, B. Kim, B. Stoeber, Characterization method for calculating diffusion coefficient of drug from polylactic acid (PLA) microneedles into the skin, *Journal of Drug Delivery Science and Technology* 61 (2021) 102192.
- [26] C. Radhika, B.K. Gnanavel, Buckling analysis of polymer microneedle for transdermal drug delivery, *Materials Today: Proceedings* 46 (2021) 3538-3541.

- [27] K. Ita, *Microneedles*, Elsevier Science 2022.
- [28] K. Ita, Coronavirus Disease (COVID-19): Current Status and Prospects for Drug and Vaccine Development, *Arch Med Res* 52(1) (2021) 15-24.
- [29] E. Kim, G. Erdos, S. Huang, T.W. Kenniston, S.C. Balmert, C.D. Carey, V.S. Raj, M.W. Epperly, W.B. Klimstra, B.L. Haagmans, E. Korkmaz, L.D. Falo, Jr., A. Gambotto, Microneedle array delivered recombinant coronavirus vaccines: Immunogenicity and rapid translational development, *EBioMedicine* 55 (2020) 102743.
- [30] K. Lee, M.J. Goudie, P. Tebon, W. Sun, Z. Luo, J. Lee, S. Zhang, K. Fetah, H.J. Kim, Y. Xue, M.A. Darabi, S. Ahadian, E. Sarikhani, W. Ryu, Z. Gu, P.S. Weiss, M.R. Dokmeci, N. Ashammakhi, A. Khademhosseini, Non-transdermal microneedles for advanced drug delivery, *Adv Drug Deliv Rev* 165-166 (2020) 41-59.
- [31] S. Sharma, K. Hatware, P. Bhadane, S. Sindhikar, D.K. Mishra, Recent advances in microneedle composites for biomedical applications: Advanced drug delivery technologies, *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl* 103 (2019) 109717.
- [32] G.S. Liu, Y. Kong, Y. Wang, Y. Luo, X. Fan, X. Xie, B.R. Yang, M.X. Wu, Microneedles for transdermal diagnostics: Recent advances and new horizons, *Biomaterials* 232 (2020) 119740.
- [33] M.R. Prausnitz, Microneedles for transdermal drug delivery, *Adv Drug Deliv Rev* 56(5) (2004) 581-7.
- [34] E. Larrañeta, R.E.M. Lutton, A.D. Woolfson, R.F. Donnelly, Microneedle arrays as transdermal and intradermal drug delivery systems: Materials science, manufacture and commercial development, *Materials Science and Engineering: R: Reports* 104 (2016) 1-32.
- [35] A.K. Dąbrowska, F. Spano, S. Derler, C. Adlhart, N.D. Spencer, R.M. Rossi, The relationship between skin function, barrier properties, and body-dependent factors, *Skin Res Technol* 24(2) (2018) 165-174.
- [36] E.Z. Loizidou, N.T. Inoue, J. Ashton-Barnett, D.A. Barrow, C.J. Allender, Evaluation of geometrical effects of microneedles on skin penetration by CT scan and finite element analysis, *Eur J Pharm Biopharm* 107 (2016) 1-6.
- [37] J.W. Lee, J.H. Park, M.R. Prausnitz, Dissolving microneedles for transdermal drug delivery, *Biomaterials* 29(13) (2008) 2113-24.
- [38] M.R. Prausnitz, R. Langer, Transdermal drug delivery, *Nature Biotechnology* 26(11) (2008) 1261-1268.

- [39] V. Planz, C.-M. Lehr, M. Windbergs, In vitro models for evaluating safety and efficacy of novel technologies for skin drug delivery, *Journal of Controlled Release* 242 (2016) 89-104.
- [40] P. Serrano-Castañeda, J.J. Escobar-Chavez, I.M. Rodriguez-Cruz, L.M. Melgoza, J. Martinez-Hernandez, Microneedles as Enhancer of Drug Absorption Through the Skin and Applications in Medicine and Cosmetology, *J Pharm Pharm Sci* 21(1) (2018) 73-93.
- [41] H.S. Gill, D.D. Denson, B.A. Burris, M.R. Prausnitz, Effect of microneedle design on pain in human volunteers, *Clin J Pain* 24(7) (2008) 585-94.
- [42] F.J. Verbaan, S.M. Bal, D.J. van den Berg, W.H. Groenink, H. Verpoorten, R. Lüttge, J.A. Bouwstra, Assembled microneedle arrays enhance the transport of compounds varying over a large range of molecular weight across human dermatomed skin, *J Control Release* 117(2) (2007) 238-45.
- [43] V. Ebrahimejad, P.D. Prewett, G.J. Davies, Z. Faraji Rad, Microneedle Arrays for Drug Delivery and Diagnostics: Toward an Optimized Design, Reliable Insertion, and Penetration, *Advanced Materials Interfaces* 9(6) (2022) 2101856.
- [44] P. Makvandi, M. Kirkby, A.R.J. Hutton, M. Shabani, C.K.Y. Yiu, Z. Baghbantaragh-dari, R. Jamaledin, M. Carlotti, B. Mazzolai, V. Mattoli, R.F. Donnelly, Engineering Microneedle Patches for Improved Penetration: Analysis, Skin Models and Factors Affecting Needle Insertion, *Nanomicro Lett* 13(1) (2021) 93.
- [45] P. Khanna, B.R. Flam, B. Osborn, J.A. Strom, S. Bhansali, Skin penetration and fracture strength testing of silicon dioxide microneedles, *Sensors and Actuators A: Physical* 170(1) (2011) 180-186.
- [46] S. Badilescu, M. Packirisamy, *BioMEMS: Science and Engineering Perspectives*, CRC Press 2016.
- [47] N. Bouras, M.A. Madjoubi, M. Kolli, S. Benterki, M. Hamidouche, Thermal and mechanical characterization of borosilicate glass, *Physics Procedia* 2(3) (2009) 1135-1140.
- [48] M.A. Boks, W.W.J. Unger, S. Engels, M. Ambrosini, Y.v. Kooyk, R. Luttge, Controlled release of a model vaccine by nanoporous ceramic microneedle arrays, *International Journal of Pharmaceutics* 491(1) (2015) 375-383.
- [49] R. Pignatello, *Biomaterials: applications for Nanomedicine*, BoD–Books on Demand 2011.
- [50] S. Bystrova, R. Luttge, Micromolding for ceramic microneedle arrays, *Microelectronic engineering* 88(8) (2011) 1681-1684.

- [51] R.J. Napier, A.J. Shimmin, Ceramic-on-ceramic bearings in total hip arthroplasty: "The future is now", *Seminars in Arthroplasty*, Elsevier, 2016, pp. 235-238.
- [52] X. Hong, L. Wei, F. Wu, Z. Wu, L. Chen, Z. Liu, W. Yuan, Dissolving and biodegradable microneedle technologies for transdermal sustained delivery of drug and vaccine, *Drug design, development and therapy* (2013) 945-952.
- [53] G. Bonfante, H. Lee, L. Bao, J. Park, N. Takama, B. Kim, Comparison of polymers to enhance mechanical properties of microneedles for bio-medical applications, *Micro and Nano Systems Letters* 8(1) (2020) 13.
- [54] Z. Le, J. Yu, Y.J. Quek, B. Bai, X. Li, Y. Shou, B. Myint, C. Xu, A. Tay, Design principles of microneedles for drug delivery and sampling applications, *Materials Today* (2022).
- [55] J. Odujole, S. Desai, Molecular Dynamics Simulation of Poly Acrylic Acid as a Resist Material for Thermal Nanoimprint Lithography Processes, *Proceedings of the Industrial Engineers Research Conference 2020*, 2020.
- [56] M.J. Madou, *Fundamentals of microfabrication: the science of miniaturization*, CRC press 2002.
- [57] S. Rajagopalan, L. Yang, R.M. DeMarco, R.G. Brule, R. Perez-Castillejos, *Smart Photolithography*, 2013 39th Annual Northeast Bioengineering Conference, 2013, pp. 76-77.
- [58] K.T.M. Tran, T.D. Nguyen, Lithography-based methods to manufacture biomaterials at small scales, *Journal of Science: Advanced Materials and Devices* 2(1) (2017) 1-14.
- [59] C. Jeggy, *Micro-injection moulding: from process to modelling*, Presses univ. de Louvain 2004.
- [60] H.R. Nejad, A. Sadeqi, G. Kiaee, S. Sonkusale, Low-cost and cleanroom-free fabrication of microneedles, *Microsystems & Nanoengineering* 4(1) (2018) 17073.
- [61] A. Trautmann, F. Heuck, C. Mueller, P. Ruther, O. Paul, Replication of microneedle arrays using vacuum casting and hot embossing, *The 13th International Conference on Solid-State Sensors, Actuators and Microsystems*, 2005. Digest of Technical Papers. TRANSDUCERS '05., 2005, pp. 1420-1423 Vol. 2.
- [62] F.K. Aldawood, A. Andar, S. Desai, A comprehensive review of microneedles: Types, materials, processes, characterizations and applications, *Polymers* 13(16) (2021) 2815.

- [63] J.-H. Park, M.G. Allen, M.R. Prausnitz, Biodegradable polymer microneedles: fabrication, mechanics and transdermal drug delivery, *Journal of controlled release* 104(1) (2005) 51-66.
- [64] M.J. Kim, S.C. Park, B. Rizal, G. Guanes, S.K. Baek, J.H. Park, A.R. Betz, S.O. Choi, Fabrication of Circular Obelisk-Type Multilayer Microneedles Using Micro-Milling and Spray Deposition, *Front Bioeng Biotechnol* 6 (2018) 54.
- [65] M. Wang, L. Hu, C. Xu, Recent advances in the design of polymeric microneedles for transdermal drug delivery and biosensing, *Lab on a Chip* 17(8) (2017) 1373-1387.
- [66] K. Lee, H. Jung, Drawing lithography for microneedles: a review of fundamentals and biomedical applications, *Biomaterials* 33(30) (2012) 7309-26.
- [67] S. Aoyagi, H. Izumi, Y. Isono, M. Fukuda, H. Ogawa, Laser fabrication of high aspect ratio thin holes on biodegradable polymer and its application to a microneedle, *Sensors and Actuators A: Physical* 139(1-2) (2007) 293-302.
- [68] Y.-T. Chen, K.-J. Ma, A.A. Tseng, P. Chen, Projection ablation of glass-based single and arrayed microstructures using excimer laser, *Optics & Laser Technology* 37(4) (2005) 271-280.
- [69] R.E. Lutton, E. Larrañeta, M.-C. Kearney, P. Boyd, A.D. Woolfson, R.F. Donnelly, A novel scalable manufacturing process for the production of hydrogel-forming microneedle arrays, *International journal of pharmaceutics* 494(1) (2015) 417-429.
- [70] K.J. Krieger, N. Bertollo, M. Dangol, J.T. Sheridan, M.M. Lowery, E.D. O'Cearbhaill, Simple and customizable method for fabrication of high-aspect ratio microneedle molds using low-cost 3D printing, *Microsystems & Nanoengineering* 5(1) (2019) 42.
- [71] S. Hirobe, H. Azukizawa, T. Hanafusa, K. Matsuo, Y.S. Quan, F. Kamiyama, I. Katayama, N. Okada, S. Nakagawa, Clinical study and stability assessment of a novel transcutaneous influenza vaccination using a dissolving microneedle patch, *Biomaterials* 57 (2015) 50-8.
- [72] Y. Ye, J. Yu, C. Wang, N.Y. Nguyen, G.M. Walker, J.B. Buse, Z. Gu, Microneedles Integrated with Pancreatic Cells and Synthetic Glucose-Signal Amplifiers for Smart Insulin Delivery, *Adv Mater* 28(16) (2016) 3115-3121.
- [73] J. Wang, Y. Ye, J. Yu, A.R. Kahkoska, X. Zhang, C. Wang, W. Sun, R.D. Corder, Z. Chen, S.A. Khan, J.B. Buse, Z. Gu, Core-Shell Microneedle Gel for Self-Regulated Insulin Delivery, *ACS Nano* 12(3) (2018) 2466-2473.

- [74] M.C. Chen, Z.W. Lin, M.H. Ling, Near-Infrared Light-Activatable Microneedle System for Treating Superficial Tumors by Combination of Chemotherapy and Photothermal Therapy, *ACS Nano* 10(1) (2016) 93-101.
- [75] X. Xie, C. Pascual, C. Lieu, S. Oh, J. Wang, B. Zou, J. Xie, Z. Li, J. Xie, D.C. Yeomans, M.X. Wu, X.S. Xie, Analgesic Microneedle Patch for Neuropathic Pain Therapy, *ACS Nano* 11(1) (2017) 395-406.
- [76] G. Yang, Q. Chen, D. Wen, Z. Chen, J. Wang, G. Chen, Z. Wang, X. Zhang, Y. Zhang, Q. Hu, L. Zhang, Z. Gu, A Therapeutic Microneedle Patch Made from Hair-Derived Keratin for Promoting Hair Regrowth, *ACS Nano* 13(4) (2019) 4354-4360.
- [77] Y. Zhang, Q. Liu, J. Yu, S. Yu, J. Wang, L. Qiang, Z. Gu, Locally Induced Adipose Tissue Browning by Microneedle Patch for Obesity Treatment, *ACS Nano* 11(9) (2017) 9223-9230.
- [78] A. Than, K. Liang, S. Xu, L. Sun, H. Duan, F. Xi, C. Xu, P. Chen, Transdermal Delivery of Anti-Obesity Compounds to Subcutaneous Adipose Tissue with Polymeric Microneedle Patches, *Small Methods* 1(11) (2017) 1700269.
- [79] K. Ita, *Transdermal Drug Delivery: Concepts and Application*, Elsevier Science 2020.
- [80] C. Pegoraro, S. MacNeil, G. Battaglia, Transdermal drug delivery: from micro to nano, *Nanoscale* 4(6) (2012) 1881-94.
- [81] M.A. Miller, E. Pisani, The cost of unsafe injections, *Bull World Health Organ* 77(10) (1999) 808-11.
- [82] M.B. Delgado-Charro, R.H. Guy, Effective use of transdermal drug delivery in children, *Adv Drug Deliv Rev* 73 (2014) 63-82.
- [83] S. Szunerits, R. Boukherroub, Heat: A Highly Efficient Skin Enhancer for Transdermal Drug Delivery, *Front Bioeng Biotechnol* 6 (2018) 15.
- [84] S. Wiedersberg, R.H. Guy, Transdermal drug delivery: 30+ years of war and still fighting!, *J Control Release* 190 (2014) 150-6.
- [85] B. Zorec, Š. Zupančič, J. Kristl, N. Pavšelj, Combinations of nanovesicles and physical methods for enhanced transdermal delivery of a model hydrophilic drug, *Eur J Pharm Biopharm* 127 (2018) 387-397.
- [86] K.S. Paudel, M. Milewski, C.L. Swadley, N.K. Brogden, P. Ghosh, A.L. Stinchcomb, Challenges and opportunities in dermal/transdermal delivery, *Ther Deliv* 1(1) (2010) 109-31.

- [87] M.R. Prausnitz, S. Mitragotri, R. Langer, Current status and future potential of transdermal drug delivery, *Nature Reviews Drug Discovery* 3(2) (2004) 115-124.
- [88] Q. Hu, W. Sun, Y. Lu, H.N. Bomba, Y. Ye, T. Jiang, A.J. Isaacson, Z. Gu, Tumor Microenvironment-Mediated Construction and Deconstruction of Extracellular Drug-Delivery Depots, *Nano Letters* 16(2) (2016) 1118-1126.
- [89] L. Dong, Y. Li, Z. Li, N. Xu, P. Liu, H. Du, Y. Zhang, Y. Huang, J. Zhu, G. Ren, J. Xie, K. Wang, Y. Zhou, C. Shen, J. Zhu, J. Tao, Au Nanocage-Strengthened Dissolving Microneedles for Chemo-Photothermal Combined Therapy of Superficial Skin Tumors, *ACS Applied Materials & Interfaces* 10(11) (2018) 9247-9256.
- [90] G.-Y. Hou, L.-H. Men, L. Wang, Z. Zheng, Z.-Q. Liu, F.-R. Song, Z.-Y. Liu, Quantitative analysis of urinary endogenous markers for the treatment effect of *Radix Scutellariae* on type 2 diabetes rats, *Chinese Chemical Letters* 28(6) (2017) 1214-1219.
- [91] J. Yu, Y. Zhang, Y. Ye, R. DiSanto, W. Sun, D. Ranson, F.S. Ligler, J.B. Buse, Z. Gu, Microneedle-array patches loaded with hypoxia-sensitive vesicles provide fast glucose-responsive insulin delivery, *Proc Natl Acad Sci U S A* 112(27) (2015) 8260-5.
- [92] M. Dangol, S. Kim, C.G. Li, S. Fakhraei Lahiji, M. Jang, Y. Ma, I. Huh, H. Jung, Anti-obesity effect of a novel caffeine-loaded dissolving microneedle patch in high-fat diet-induced obese C57BL/6J mice, *J Control Release* 265 (2017) 41-47.
- [93] J. Zhu, X. Zhou, A. Libanori, W. Sun, Microneedle-based bioassays, *Nanoscale Advances* 2(10) (2020) 4295-4304.
- [94] H. Chang, M. Zheng, X. Yu, A. Than, R.Z. Seeni, R. Kang, J. Tian, D.P. Khanh, L. Liu, P. Chen, C. Xu, A Swellable Microneedle Patch to Rapidly Extract Skin Interstitial Fluid for Timely Metabolic Analysis, *Adv Mater* 29(37) (2017).
- [95] J. Chi, X. Zhang, C. Chen, C. Shao, Y. Zhao, Y. Wang, Antibacterial and angiogenic chitosan microneedle array patch for promoting wound healing, *Bioactive Materials* 5(2) (2020) 253-259.
- [96] S. Marshall, L.J. Sahm, A.C. Moore, The success of microneedle-mediated vaccine delivery into skin, *Human vaccines & immunotherapeutics* 12(11) (2016) 2975-2983.
- [97] K. Matsuo, S. Hirobe, Y. Yokota, Y. Ayabe, M. Seto, Y.-S. Quan, F. Kamiyama, T. Tougan, T. Horii, Y. Mukai, Transcutaneous immunization using a dissolving microneedle array protects against tetanus, diphtheria, malaria, and influenza, *Journal of controlled release* 160(3) (2012) 495-501.

- [98] J. Yang, X. Liu, Y. Fu, Y. Song, Recent advances of microneedles for biomedical applications: drug delivery and beyond, *Acta Pharmaceutica Sinica B* 9(3) (2019) 469-483.
- [99] D. Poirier, F. Renaud, V. Dewar, L. Strodiot, F. Wauters, J. Janimak, T. Shimada, T. Nomura, K. Kabata, K. Kuruma, Hepatitis B surface antigen incorporated in dissolvable microneedle array patch is antigenic and thermostable, *Biomaterials* 145 (2017) 256-265.
- [100] A. Pattani, P.F. McKay, M.J. Garland, R.M. Curran, K. Migalska, C.M. Cassidy, R.K. Malcolm, R.J. Shattock, H.O. McCarthy, R.F. Donnelly, Microneedle mediated intradermal delivery of adjuvanted recombinant HIV-1 CN54gp140 effectively primes mucosal boost inoculations, *Journal of controlled release* 162(3) (2012) 529-537.
- [101] C. Edens, N.C. Dybdahl-Sissoko, W.C. Weldon, M.S. Oberste, M.R. Prausnitz, Inactivated polio vaccination using a microneedle patch is immunogenic in the rhesus macaque, *Vaccine* 33(37) (2015) 4683-4690.
- [102] E. Larrañeta, R.E. Lutton, A.D. Woolfson, R.F. Donnelly, Microneedle arrays as transdermal and intradermal drug delivery systems: Materials science, manufacture and commercial development, *Materials Science and Engineering: R: Reports* 104 (2016) 1-32.
- [103] J.A. Mikszta, J.P. Dekker III, N.G. Harvey, C.H. Dean, J.M. Brittingham, J. Huang, V.J. Sullivan, B. Dyas, C.J. Roy, R.G. Ulrich, Microneedle-based intradermal delivery of the anthrax recombinant protective antigen vaccine, *Infection and immunity* 74(12) (2006) 6806-6810.
- [104] D. Yang, M. Chen, Y. Sun, Y. Jin, C. Lu, X. Pan, G. Quan, C. Wu, Microneedle-mediated transdermal drug delivery for treating diverse skin diseases, *Acta Biomater* 121 (2021) 119-133.
- [105] G. Fabbrocini, V. De Vita, A. Monfrecola, M.P. De Padova, B. Brazzini, F. Teixeira, A. Chu, Percutaneous collagen induction: an effective and safe treatment for post-acne scarring in different skin phototypes, *Journal of Dermatological Treatment* 25(2) (2014) 147-152.
- [106] M. Monavarian, S. Kader, S. Moeinzadeh, E. Jabbari, Regenerative Scar-Free Skin Wound Healing, *Tissue Eng Part B Rev* 25(4) (2019) 294-311.
- [107] D. Connolly, H.L. Vu, K. Mariwalla, N. Saedi, Acne Scarring-Pathogenesis, Evaluation, and Treatment Options, *J Clin Aesthet Dermatol* 10(9) (2017) 12-23.
- [108] J. Sharad, Combination of microneedling and glycolic acid peels for the treatment of acne scars in dark skin, *J Cosmet Dermatol* 10(4) (2011) 317-23.

- [109] S.M. Schleicher, Psoriasis: Pathogenesis, Assessment, and Therapeutic Update, *Clin Podiatr Med Surg* 33(3) (2016) 355-66.
- [110] H. Du, P. Liu, J. Zhu, J. Lan, Y. Li, L. Zhang, J. Zhu, J. Tao, Hyaluronic Acid-Based Dissolving Microneedle Patch Loaded with Methotrexate for Improved Treatment of Psoriasis, *ACS Appl Mater Interfaces* 11(46) (2019) 43588-43598.
- [111] H.M. Almohanna, M. Perper, A. Tosti, Safety concerns when using novel medications to treat alopecia, *Expert Opin Drug Saf* 17(11) (2018) 1115-1128.
- [112] M. Iorizzo, A. Tosti, Treatments options for alopecia, *Expert opinion on pharmacotherapy* 16(15) (2015) 2343-2354.
- [113] S.M. Tuchayi, E. Makrantonaki, R. Ganceviciene, C. Dessinioti, S.R. Feldman, C.C. Zouboulis, Acne vulgaris, *Nature Reviews Disease Primers* 1(1) (2015) 15029.
- [114] C.W. Choi, J.W. Choi, K.C. Park, S.W. Youn, Facial sebum affects the development of acne, especially the distribution of inflammatory acne, *J Eur Acad Dermatol Venereol* 27(3) (2013) 301-6.
- [115] K.Y. Seo, M.S. Yoon, D.H. Kim, H.J. Lee, Skin rejuvenation by microneedle fractional radiofrequency treatment in Asian skin; clinical and histological analysis, *Lasers Surg Med* 44(8) (2012) 631-6.
- [116] K.R. Lee, E.G. Lee, H.J. Lee, M.S. Yoon, Assessment of treatment efficacy and sebosuppressive effect of fractional radiofrequency microneedle on acne vulgaris, *Lasers Surg Med* 45(10) (2013) 639-47.
- [117] Y. Zhang, P. Feng, J. Yu, J. Yang, J. Zhao, J. Wang, Q. Shen, Z. Gu, ROS-Responsive Microneedle Patch for Acne Vulgaris Treatment, *Advanced Therapeutics* 1(3) (2018) 1800035.
- [118] T. Zhang, B. Sun, J. Guo, M. Wang, H. Cui, H. Mao, B. Wang, F. Yan, Active pharmaceutical ingredient poly(ionic liquid)-based microneedles for the treatment of skin acne infection, *Acta Biomaterialia* 115 (2020) 136-147.
- [119] X. Li, Z. Zhao, M. Zhang, G. Ling, P. Zhang, Research progress of microneedles in the treatment of melanoma, *J Control Release* 348 (2022) 631-647.
- [120] Y. Hao, W. Li, X. Zhou, F. Yang, Z. Qian, Microneedles-Based Transdermal Drug Delivery Systems: A Review, *J Biomed Nanotechnol* 13(12) (2017) 1581-1597.
- [121] Z. Hu, C.S. Meduri, R.S.J. Ingrole, H.S. Gill, G. Kumar, Solid and hollow metallic glass microneedles for transdermal drug-delivery, *Applied Physics Letters* 116(20) (2020).

- [122] H.S. Gill, M.R. Prausnitz, Coated microneedles for transdermal delivery, *J Control Release* 117(2) (2007) 227-37.
- [123] N. Dabholkar, S. Gorantla, T. Waghule, V.K. Rapalli, A. Kothuru, S. Goel, G. Singhvi, Biodegradable microneedles fabricated with carbohydrates and proteins: Revolutionary approach for transdermal drug delivery, *International Journal of Biological Macromolecules* 170 (2021) 602-621.
- [124] K. Ita, Dissolving microneedles for transdermal drug delivery: Advances and challenges, *Biomed Pharmacother* 93 (2017) 1116-1127.
- [125] T. Liu, M. Chen, J. Fu, Y. Sun, C. Lu, G. Quan, X. Pan, C. Wu, Recent advances in microneedles-mediated transdermal delivery of protein and peptide drugs, *Acta Pharmaceutica Sinica B* 11(8) (2021) 2326-2343.
- [126] J. Yang, H. Zhang, T. Hu, C. Xu, L. Jiang, Y. Shrike Zhang, M. Xie, Recent advances of microneedles used towards stimuli-responsive drug delivery, disease theranostics, and bioinspired applications, *Chemical Engineering Journal* 426 (2021) 130561.
- [127] S. Xie, Z. Li, Z. Yu, Microneedles for transdermal delivery of insulin, *Journal of Drug Delivery Science and Technology* 28 (2015) 11-17.
- [128] T.M. Tuan-Mahmood, M.T. McCrudden, B.M. Torrisi, E. McAlister, M.J. Garland, T.R. Singh, R.F. Donnelly, Microneedles for intradermal and transdermal drug delivery, *Eur J Pharm Sci* 50(5) (2013) 623-37.
- [129] R.F. Donnelly, M.T.C. McCrudden, A. Zaid Alkilani, E. Larrañeta, E. McAlister, A.J. Courtenay, M.-C. Kearney, T.R.R. Singh, H.O. McCarthy, V.L. Kett, E. Caffarel-Salvador, S. Al-Zahrani, A.D. Woolfson, Hydrogel-Forming Microneedles Prepared from “Super Swelling” Polymers Combined with Lyophilised Wafers for Transdermal Drug Delivery, *PLOS ONE* 9(10) (2014) e111547.
- [130] R.F. Donnelly, T.R. Singh, M.J. Garland, K. Migalska, R. Majithiya, C.M. McCrudden, P.L. Kole, T.M. Mahmood, H.O. McCarthy, A.D. Woolfson, Hydrogel-Forming Microneedle Arrays for Enhanced Transdermal Drug Delivery, *Adv Funct Mater* 22(23) (2012) 4879-4890.
- [131] S. Bhatnagar, K. Dave, V.V.K. Venuganti, Microneedles in the clinic, *Journal of Controlled Release* 260 (2017) 164-182.
- [132] S. Indermun, R. Luttge, Y.E. Choonara, P. Kumar, L.C. du Toit, G. Modi, V. Pillay, Current advances in the fabrication of microneedles for transdermal delivery, *Journal of Controlled Release* 185 (2014) 130-138.

- [133] M.R. Prausnitz, Engineering Microneedle Patches for Vaccination and Drug Delivery to Skin, *Annu Rev Chem Biomol Eng* 8 (2017) 177-200.
- [134] C. Bayram, X. Jiang, M. Gultekinoglu, S. Ozturk, K. Ulubayram, M. Edirisinghe, Biofabrication of Gelatin Tissue Scaffolds with Uniform Pore Size via Microbubble Assembly, *Macromolecular Materials and Engineering* 304(11) (2019) 1900394.
- [135] D. Wan, L. Wu, Y. Liu, J. Chen, H. Zhao, S. Xiao, Enhanced Adsorption of Aqueous Tetracycline Hydrochloride on Renewable Porous Clay-Carbon Adsorbent Derived from Spent Bleaching Earth via Pyrolysis, *Langmuir* 35(11) (2019) 3925-3936.
- [136] M. Kumar Trivedi, Spectroscopic characterization of chloramphenicol and tetracycline: An impact of biofield treatment, *Pharm. Anal. Acta* 6 (2015) 395.
- [137] E. Shakiba, S. Khazaei, M. Hajialyani, B. Astinchap, A. Fattahi, Preparation and in vitro characterization of retinoic acid-loaded poly (ϵ -caprolactone)-poly (ethylene glycol)-poly (ϵ -caprolactone) micelles, *Research in pharmaceutical sciences* 12(6) (2017) 465.
- [138] C.Y. Huang, K.H. Hu, Z.H. Wei, Comparison of cell behavior on pva/pva-gelatin electrospun nanofibers with random and aligned configuration, *Sci Rep* 6 (2016) 37960.
- [139] S.M. Pawde, K. Deshmukh, S. Parab, Preparation and characterization of poly(vinyl alcohol) and gelatin blend films, *Journal of Applied Polymer Science* 109(2) (2008) 1328-1337.
- [140] D. Jain, E. Carvalho, A.K. Banthia, R. Banerjee, Development of polyvinyl alcohol–gelatin membranes for antibiotic delivery in the eye, *Drug development and industrial pharmacy* 37(2) (2011) 167-177.
- [141] K. Pal, A.K. Banthia, D.K. Majumdar, Preparation and characterization of polyvinyl alcohol-gelatin hydrogel membranes for biomedical applications, *Aaps Pharmscitech* 8 (2007) E142-E146.
- [142] X. Tan, N. Meltzer, S. Lindebaum, Solid-state stability studies of 13-cis-retinoic acid and all-trans-retinoic acid using microcalorimetry and HPLC analysis, *Pharm Res* 9(9) (1992) 1203-8.
- [143] A. Lira, D. Nanclares, A. Neto, J. Marchetti, Drug–polymer interaction in the all-trans retinoic acid release from chitosan microparticles, *Journal of Thermal Analysis and calorimetry* 87(3) (2007) 899-903.
- [144] J. Varshosaz, F. Hassanzadeh, H. Sadeghi Aliabadi, M. Nayebsadrian, M. Banitalebi, M. Rostami, Synthesis and Characterization of Folate-Targeted

Dextran/Retinoic Acid Micelles for Doxorubicin Delivery in Acute Leukemia, *BioMed Research International* 2014 (2014) 525684.

[145] K.S. Salem, M.M. Lubna, A.M. Rahman, M. NurNabi, R. Islam, M.A. Khan, The effect of multiwall carbon nanotube additions on the thermo-mechanical, electrical, and morphological properties of gelatin–polyvinyl alcohol blend nanocomposite, *Journal of Composite Materials* 49(11) (2015) 1379-1391.

[146] O. Mendieta-Taboada, P.J.d.A. Sobral, R.A. Carvalho, A.M.B. Habitante, Thermomechanical properties of biodegradable films based on blends of gelatin and poly (vinyl alcohol), *Food Hydrocolloids* 22(8) (2008) 1485-1492.

[147] S. Sudhamani, M. Prasad, K.U. Sankar, DSC and FTIR studies on gellan and polyvinyl alcohol (PVA) blend films, *Food Hydrocolloids* 17(3) (2003) 245-250.

[148] W. Shao, H. Liu, S. Wang, J. Wu, M. Huang, H. Min, X. Liu, Controlled release and antibacterial activity of tetracycline hydrochloride-loaded bacterial cellulose composite membranes, *Carbohydrate Polymers* 145 (2016) 114-120.

[149] A.C. Alavarse, F.W. de Oliveira Silva, J.T. Colque, V.M. da Silva, T. Prieto, E.C. Venancio, J.J. Bonvent, Tetracycline hydrochloride-loaded electrospun nanofibers mats based on PVA and chitosan for wound dressing, *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl* 77 (2017) 271-281.

[150] C. O'Leary, L. Soriano, A. Fagan-Murphy, I. Ivankovic, B. Cavanagh, F.J. O'Brien, S.A. Cryan, The Fabrication and in vitro Evaluation of Retinoic Acid-Loaded Electrospun Composite Biomaterials for Tracheal Tissue Regeneration, *Front Bioeng Biotechnol* 8 (2020) 190.

[151] E. Larrañeta, J. Moore, E.M. Vicente-Pérez, P. González-Vázquez, R. Lutton, A.D. Woolfson, R.F. Donnelly, A proposed model membrane and test method for microneedle insertion studies, *International Journal of Pharmaceutics* 472(1) (2014) 65-73.

[152] C. Ryall, S. Chen, S. Duarah, J. Wen, Chitosan-based microneedle arrays for dermal delivery of *Centella asiatica*, *International Journal of Pharmaceutics* 627 (2022) 122221.

[153] J. Sandby-Møller, T. Poulsen, H.C. Wulf, Epidermal thickness at different body sites: relationship to age, gender, pigmentation, blood content, skin type and smoking habits, *Acta Derm Venereol* 83(6) (2003) 410-3.

[154] H.X. Nguyen, A.K. Banga, Fabrication, characterization and application of sugar microneedles for transdermal drug delivery, *Ther Deliv* 8(5) (2017) 249-264.

[155] E.M. Migdadi, A.J. Courtenay, I.A. Tekko, M.T.C. McCrudden, M.C. Kearney, E. McAlister, H.O. McCarthy, R.F. Donnelly, Hydrogel-forming microneedles enhance transdermal delivery of metformin hydrochloride, *J Control Release* 285 (2018) 142-151.

