



MİKROAKIŞKAN CİHAZ KULLANARAK POLİMERİK MİKROBALONCUK/NANOPARTİKÜLLERİN ÜRETİM VE KARAKTERİZASYONU

^{1,2}Sümeyye CESUR , ^{1,3}Muhammet Emin ÇAM , ^{1,4}Oğuzhan GÜNDÜZ 

¹Marmara Üniversitesi, Nanoteknoloji ve Biyomalzeme Uygulama ve Araştırma Merkezi (NBUAM), İstanbul, TÜRKİYE

²Marmara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Metalürji ve Malzeme Mühendisliği Bölümü, İstanbul, TÜRKİYE

³Marmara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakoloji Anabilim Dalı, İstanbul, TÜRKİYE

⁴Marmara Üniversitesi, Teknoloji Fakültesi, Metalürji ve Malzeme Mühendisliği Bölümü, İstanbul, TÜRKİYE

¹sumeycesur@marun.edu.tr, ²muhammet.cam@marmara.edu.tr, ³oguzhan@marmara.edu.tr

(Geliş/Received: 09.05.2020; Kabul/Accepted in Revised Form: 13.09.2020)

ÖZ: Son yıllarda, biyomedikal uygulamalarda farklı morfolojilere sahip polimerik mikro/nano partiküller kontrollü ilaç salımı gibi birçok uygulamadaki potansiyelleri nedeniyle ilgi görmektedir. Bu çalışmada, polimer kaplı mikrobalonculardan nanopartiküller üretmek için T-bağlantılı mikroakışkan cihaz kullanılmıştır. Mikrobaloncukların ve nanopartiküllerin morfolojisi ve yapısı optik mikroskop, taramalı elektron mikroskobu (SEM) ve Fourier Dönüşümlü Kızıl Ötesi Spektrometresi (FT-IR) kullanılarak üretim işleminden sonra incelendi. Elde edilen mikrobaloncukların ve nanopartiküllerin çapı sırasıyla $104 \pm 91 \mu\text{m}$ ve $116 \pm 13 \text{ nm}$ idi. Solüsyonun akış hızının nanopartiküllerin çapı üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğu görülmüştür. Ortaya çıkan bu sonuçlar, biyomedikal tedavide hücre nakli, ileri terapötik uygulamalar ve gıda endüstrisi gibi birçok uygulama için çok yararlı olacaktır.

Anahtar Kelimeler: Mikrobaloncuk, Polimerik nanopartikül, Mikroakışkan cihaz, Polivinil alkol

Production and Characterization of Polymeric Microbubble / Nanoparticles Using a Microfluidic Device

ABSTRACT: In recent years, polymeric micro/nanoparticles with different morphologies in biomedical applications have gained attention due to their potential in many applications such as controlled drug release. In this study, a T-junction microfluidic device was used to produce nanoparticles from polymer-coated microbubbles. The morphology and structure of microbubbles and nanoparticles were performed after the production process using optical microscopy, scanning electron microscopy (SEM), and Fourier-transform infrared spectroscopy (FT-IR). The diameter of the produced microbubbles and nanoparticles was $104 \pm 91 \mu\text{m}$ and $116 \pm 13 \text{ nm}$, respectively. The flow rate of the solution was found to have a significant effect on the diameter of the nanoparticles. These results can be very useful for many applications such as advanced therapeutic applications, cell transplantation in biomedical therapy, and the food industry.

Key Words: Microbubble, Polymeric nanoparticle, Microfluidic device, Polyvinyl alcohol

GİRİŞ (INTRODUCTION)

Mikrobaloncuklar ve nanopartikül uygulamalarının hastalık tespiti ve tedavisi, ilaçların veya biyoaktif moleküllerin enkapsüle edilmesi ve hedeflenen organlara doğrudan iletilme yetenekleri;

kimyasal reaktifler, hücre/enzim deneyleri, genler gibi geniş uygulama yelpazesi nedeniyle son yıllarda giderek önemi artmaktadır (Fernandez-Fernandez ve diğ., 2011; Martínez-Gómez ve diğ., 2017; Xu ve diğ., 2011). Polimerik partiküller, çeşitli hastalıkların tedavisinde görüntüleme ve ilaç taşıyıcı sistem olarak kullanılmaktadır. Çalışmalarda polimerik partiküller kanser tedavisi, diyabet tedavisi ve doku mühendisliği için kullanılmıştır. Yenilikçi immünoterapi (otoimmün hastalıkların tedavisi veya kanser tedavisi için immünotimülasyon) ve endotelial hastalık terapisi alanlarında polimerik partiküller artan bir rol oynamaktadır (Liu ve diğ., 2017). Polimerik taşıyıcılar, kanser ve diğer hastalıklarda ilaçların yavaş salınması ve hedefli tedavi için klinik öncesi ve klinik olarak yaygın olarak kullanılmaktadır (Jain ve diğ., 2012). Polimer taşıyıcıların partikül boyutu, ürünün biyo-dağılımını yöneten ana parametrelerden biridir ve ayrıca ilaçların biyoyararlanımı için de kritik bir öneme sahiptir (Banerjee ve diğ., 2016; Kumar ve diğ., 2015).

Spreyle kurutma, elektrohidrodinamik teknikler, çökeltme, faz ayrılması gibi polimerik mikropartiküllerin hazırlanmasına yönelik çeşitli geleneksel yöntemler vardır (Cam ve diğ., 2019a). Bu yöntemlerle tek tip nano ölçekli partiküller üretilemez (Peltonen ve diğ., 2010). Monodispers (tek dağılımlı) mikrobaloncuklar geleneksel hazırlama yöntemlerinin aksine, tek adımlı mikroakışkan bazlı bir yöntem kullanılarak elde edilir (Pancholi ve diğ., 2008).

Mikroakışkan teknikler, gaz basıncı ve sıvı akışının kolay kontrolü gibi özellikleri nedeniyle monodispers mikrobaloncuklar/partiküllerin üretimini sağlarlar (Garstecki ve diğ., 2004; McEwan ve diğ., 2016). Dahası, bu teknik, baloncukların tek bir adımda ve diğer tekniklerden daha uygun maliyetle üretilmesine izin verir. Literatürde T kavşaklar, akan veya çapraz akışlı cihazlar ve akış odaklı kılcal borular gibi çeşitli cihaz geometrilerine sahip mikroakışkan yöntemleri araştırılmıştır. Bu yöntemler arasında T-bağlantı cihazı, yüksek oranda homojen ve ölçeklenebilir baloncuk üretmenin en kolay yöntemlerinden biridir. Polimer çözeltisi gaza ulaştığında baloncuklar oluşur, genişler ve düşmeye başlar. Gaz basıncı, akış hızı ve polimer çözeltisinin fiziksel özellikleri baloncuk boyutunu ve dağılımını etkileyen ana parametrelerdir (Elsayed ve diğ., 2016). Tek dağılımlılık, ilaç verme sistemlerinde kullanılan mikrokapsüller için çok önemlidir, çünkü mikrokapsüllerin in vivo dağılımı ve biyolojik hücreler ile etkileşimi partikül boyutundan önemli ölçüde etkilenir. Tek dağılımlı mikrokapsüller biyoyararlanımı artırabilir ve istenmeyen yan etkileri sınırlandırabilir. Ayrıca partikül boyutu ve nanopartiküllerin yüzey özellikleri, parenteral uygulamadan sonra hem pasif hem de aktif ilaç hedeflemeyi gerçekleştirmek için basitçe kontrol edilebilir (Gündüz ve diğ., 2013).

Çok işlevli partiküller, ilaç taşıyıcı sistemler için doğal ve sentetik biyopolimerlerden yapılabilir. Sentetik polimerler biyouyumlu, parçalanabilir ve iyi mekanik özellikleri nedeniyle araştırmalarda genellikle tercih edilir (Cam ve diğ., 2019b; Cesur ve diğ., 2019). Doku mühendisliği, ilaç taşıyıcı sistem ve rejeneratif tıpta önemli bir rol oynar. Polivinil alkol (PVA) düşük toksisite, iyi kimyasal stabilite ve iyi esnekliğe sahip suda çözünür bir sentetik biyopolimerdir (Martínez-Gómez ve diğ., 2017). İlaç taşıyıcı sistemler, yara örtüsü ve yapay kan damarları gibi biyomedikal ve farmasötik alanlarda yaygın olarak kullanılır (Jiang ve diğ., 2011).

Bu çalışmada, PVA biyopolimer esaslı mikrobaloncuklar üretmek için T-bağlantılı mikroakışkan cihaz kullanılmıştır. Daha sonra bu mikrobaloncukların patlamasıyla oldukça düzgün boyut, şekil ve yapıda polimer nanopartikülleri elde edilmiştir. Çözeltinin yoğunluk, viskozite ve yüzey gerilimi gibi fiziksel özellikleri incelenmiştir. Baloncuk ve partiküllerin optik mikroskop, taramalı elektron mikroskobu ve Fourier dönüşümlü

MATERYAL VE YÖNTEM (MATERIAL AND METHOD)

Polivinil alkol (PVA, Molekül ağırlığı=89,000-98,000,% 99 hidrolize) Sigma Aldrich firmasından satın alındı.

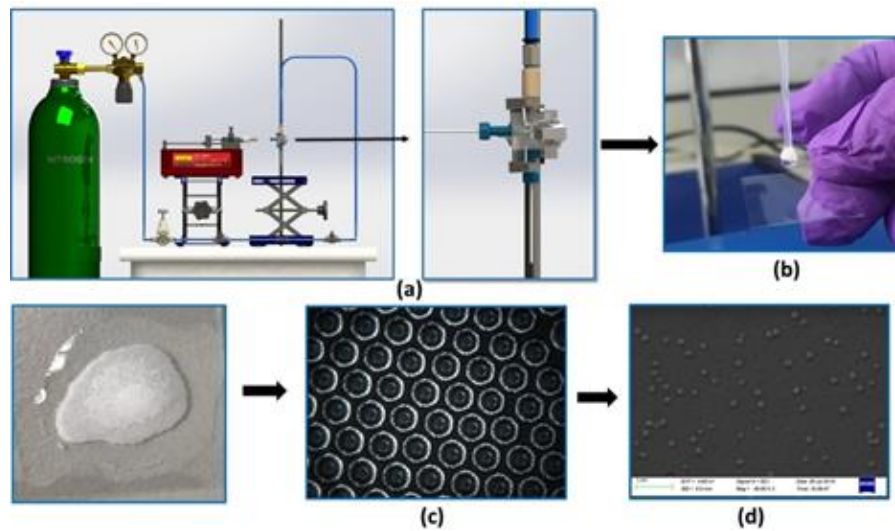
Çözeltinin Hazırlanması ve Karakterizasyonu (Preparation and Characterization of Solution)

Ağırlıkça % 0.3 PVA, yaklaşık 1 saat süreyle manyetik karıştırıcıda (Wise Stir®, MSH-20 A, Almanya) 120 °C'de sıcaklıkta, 10 ml saf su içerisinde çözüldürüldü.

Çözeltinin fiziksel karakterizasyonu bir viskozimetre, piknometre ve yüzey gerilim cihazı kullanılarak yapıldı. Yoğunluk, standart bir 10 ml lik yoğunluk şişesi (DIN ISO 3507- Boru Cam, Türkiye) kullanılarak ölçüldü. Çözeltinin yüzey gerilimi değerleri, platin halkalı bir kuvvet tansiyometresi (Sigma 703D, Dikkat, Almanya) ile ölçülmüştür. Viskozitesi ise dijital viskozimetre (DV-E, Brookfield AMETEK, ABD) ile ölçüldü. Tüm deneyler, oda sıcaklığında (23°C) yapıldı.

Cihaz Tasarımı ve Yapımı (Device Design and Construction)

Çalışmada, mikrobaloncuklar/nanopartiküller üretmek için kullanılan T-bağlantı cihazı Şekil 1'de gösterilmektedir. Cihaz, CNC ile işleme kullanılarak polimetilmetakrilat (PMMA) ile imal edilmiştir. Cihaz, mikrobaloncuk üretim işlemi sırasında yüksek basınçlara dayanacak şekilde tasarlanmıştır. İç çapı ID = 100 µm ve dış çapı OD = 1.6 mm olan teflon FEP (florlanmış etilen polipropilen) kılcal borular, PMMA bloğuna (22 × 27 × 15 mm) gömülmüştür.



Şekil 1. (a) T-bağlantılı mikroakışkan sistem, (b) mikrobaloncuk üretim aşaması, (c) polivinil alkol (PVA) polimeri kullanılarak üretilen mikrobaloncukların optik mikroskop görüntüleri ve (d) baloncuk patlaması ile elde edilen polimerik nanopartiküller

Figure 1. (a) T-junction microfluidic system, (b) microbubble production stage, (c) optical microscope images of microbubbles produced using polyvinyl alcohol (PVA) polymer, and (d) polymeric nanoparticles obtained by bubble burst

Mikrobaloncuk Üretimi (Microbubble Generation)

Mikrobaloncuk ve nanopartiküllerin üretim aşaması Şekil 1'de gösterilmektedir. Gaz ve çözelti ile beslenen mikro kanalların giriş ve çıkışlarını bağlamak için teflon FEP tüpü (ID = 100 µm) kullanıldı. T-bağlantı cihazının üst borusu, kontrollü basınç altında N₂ sağlayan bir basınç manometresine bağlandı. Çözeltinin akış hızı, dijital olarak kontrol edilen şırınga pompasına (NE-300, New Era Pump Systems, Inc., ABD) monte edilmiş 10 ml'lik bir plastik şırınga kullanılarak kontrol edildi. Çözelti ve gaz, iki dik kılcal kısım arasındaki kesişme noktasında buluşturuldu. Mikrobaloncuklar daha sonra T-bağlantısı altında yer alan kılcal borudan çıkarak üretildi. Baloncuklar cam slaytlar üzerinde toplandı.

Baloncuk ve Nanopartikül Karakterizasyonu (Bubble and Nanoparticle Characterization)

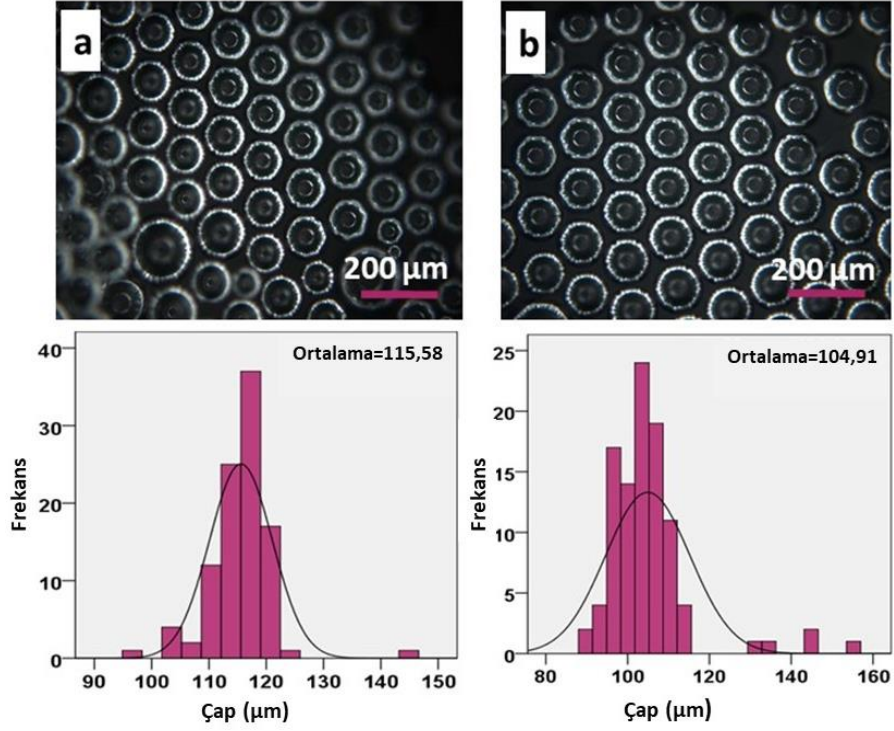
Üretilen mikrobaloncukların ve nanopartiküllerin özelliklerini incelemek için bazı karakterizasyon testleri yapılmıştır. Mikrobaloncukların ve nanopartiküllerin morfolojisi ve yapısı optik mikroskop ve SEM kullanılarak belirlendi. Boyut analizi, mikrobaloncukların morfolojik dağılımı, tek tip olup olmadıkları ve yapıları optik mikroskop altında incelenerek analiz edildi (Olympus AnalySIS, ABD). Cam slaytlar üzerinde toplanan kabarcıklar, ortam koşulları (23 °C) altında kurutuldu. Üretilen nanopartiküllerin boyutunu ve morfolojisini karakterize etmek için taramalı elektron mikroskopisi (SEM, EVO LS 10, ZEISS) kullanıldı. Görüntülemeye önce, nanopartiküllere bir Quorum SC7620 Mini Sprey kaplayıcı kullanılarak altın-paladyum püskürtüldü. Ayrıca PVA nanopartiküllerinin bağlanma yapılarını ve fonksiyonel gruplarını incelemek için Jasco FT/IR-4700 model bir FTIR cihazı kullanıldı. Tüm spektrumlar 4 cm⁻¹ çözünürlükte 4000-400 cm⁻¹ çözünürlükte alınmıştır.

SONUÇ ve TARTIŞMALAR (RESULTS and DISCUSSIONS)

Bir T-bağlantı cihazı kullanılarak mikrobaloncukların patlaması ile çeşitli monodispers polimerik nanopartiküller üretildi. Mikrobaloncuklar elde etmek için, karıştırma alanına iki farklı kanaldan biri polimer çözeltisi diğeri N₂ gazı verilir. Polimer çözeltisinin gazı emmesiyle üretim başlar. Kapsüllenmiş mikrobaloncuklar çıkış kılcal kanalından aşağı akar ve baloncuklar oluşur (Kucuk ve diğ., 2018). Elde edilen baloncukların boyutları gaz ve sıvı akış hızından etkilenir (Gunduz ve diğ., 2012). Bunun yanı sıra viskozite ve yüzey gerilimi, monodispers mikrobaloncuk oluşumunu etkileyen en önemli faktörlerdir. Polimer konsantrasyona bağlı olarak değişirler (Parhizkar ve diğ., 2015). Polimer çözeltisinin yüzey gerilimi 42.90 mN/m ve viskozitesi 280 mPa.s olarak ölçüldü.

Mikrobaloncukların Optik Mikroskop Sonuçları (Optical Microscope Results of Microbubbles)

T-bağlantı cihazının 1. girişine ağırlıkça % 0.3 PVA çözeltisi enjekte edildi, giriş 2'ye ise N₂ gazı pompalandı. Mikrobaloncukların üretiminde, gaz basıncı 40 kPa'da sabit tutuldu ve akış hızları 40'dan 100 µl/dakikaya yükseltildi. Mikrobaloncukların optik mikroskop görüntülerine göre (Şekil 2), akış hızındaki artış mikrobaloncukların çapını 115 ± 50 µm'den 104 ± 91 µm'ye düşürdü. Bu sonuca göre mikrobaloncukların daha düzenli ve monodisperse olduğu gözlenmiştir (Parhizkar ve diğ., 2013).

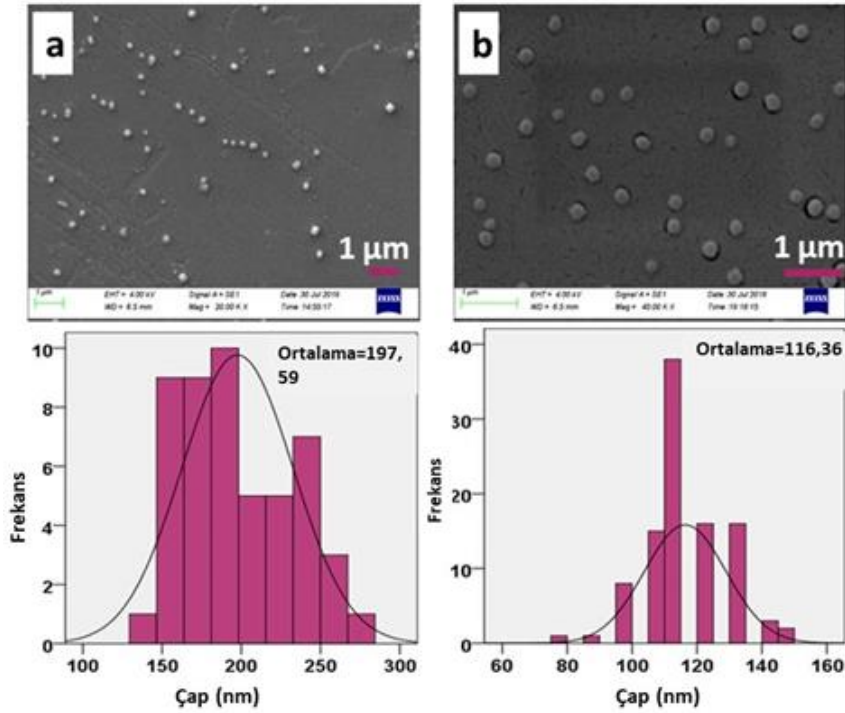


Şekil 2. Farklı akış hızlarında üretilen mikrobaloncukların optik görüntüleri ve çap dağılımı a) 40 µl / dak b) 100 µl / dak

Figure 2. Optical images and diameter distribution of microbubbles produced at different flow rates a) 40 µl / min b) 100 µl / min

Nanopartiküllerin SEM Sonuçları (SEM Results of Nanoparticles)

Mikrobaloncukların patlaması ile elde edilen nanopartiküllerin SEM görüntülerine (Şekil 3) göre, ortalama çapları sabit 40 kPa gaz basıncında 40 µl/dakika için 198 ± 35 nm ve 100 µl/dakika içinse akış hızının artırılmasının nanopartikül büyüklüğünü azalttığı gözlenmiştir. Bu da yüksek akış hızında üretilen nanopartiküllerin daha homojen ve muntazam boyutta olduğunu gösterdi.

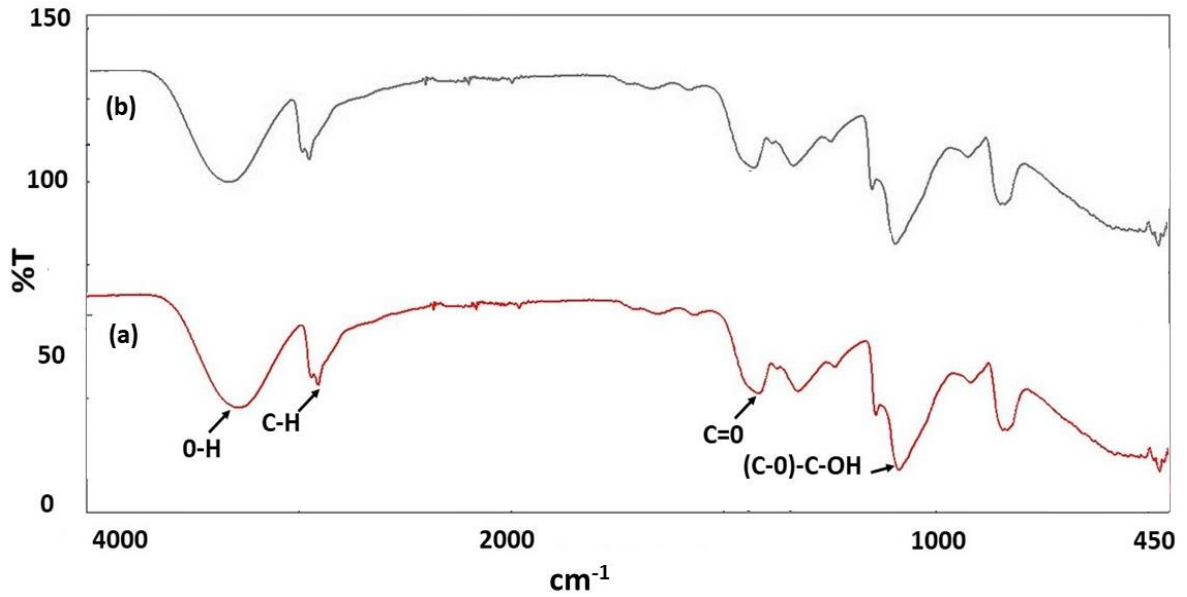


Şekil 3. Farklı akış hızlarında üretilen nanopartiküllerin taramalı elektron mikroskopisi (SEM) görüntüleri ve çap dağılımı: a) 40 µl / dak ve b) 100 µl / dak

Figure 3. Scanning electron microscopy (SEM) images and diameter distribution of nanoparticles produced at different flow rates: a) 40 µl / min and b) 100 µl / min

FTIR Analizi (FTIR Analysis)

Saf PVA polimeri ve elde edilen polimerik nanopartikülün fonksiyonel gruplarını araştırmak için FTIR analizi yapılmıştır (Şekil 4). Saf PVA polimerinin bileşimi, 450-4000 cm^{-1} aralığında elde edilen FT-IR spektrumları ile teyit edildi. Şekilde görüldüğü gibi, PVA karakteristik kızılötesi bantlar 3286 cm^{-1} 'de O-H germe ve 1116 cm^{-1} 'de C=O germe (Roberts ve diğ., 2002) gözlemlendi. Saf PVA tozlarının ve elde edilen nanopartiküllerin spektrumları karşılaştırıldığında, saf PVA ve PVA nanopartiküllerinin spektrumları, bazı ekstra absorpsiyon pikleri dışında büyük ölçüde benzerlik göstermektedir.



Şekil 4. a) Saf PVA tozları b) Elde edilen PVA nanopartiküllerinin FTIR spektrumu
 Figure 4. FTIR Spectra of a) pure PVA powders b) the resultant PVA nanoparticles.

SONUÇ (CONCLUSION)

Bu çalışmada, monodispers polimer kaplı mikrobalonculardan nanopartikül üretmek için T-bağlantılı mikroakışkan cihaz kullandık. Çözeltinin akış hızının nanopartiküllerin çapı üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğunu gördük. Mikrobaloncuklar ve nanopartiküllerin optik mikroskop ve SEM görüntüleri incelendiğinde, ağırlıkça % 0.3 PVA çözeltisi, 40 kPa basınç ve 100 µl / dakika akış hızı ile optimize edildi. Mikrobaloncuk ve nanopartiküllerin çapı sırasıyla 104 ± 91 µm ve 116 ± 13 nm idi. Elde edilen bu sonuçlara göre, T-bağlantılı mikroakışkan sistem önümüzdeki çalışmalarda özellikle ilaç taşıyıcı sistemler ile kontrollü salım gibi terapötik uygulamalarda kullanılmak için büyük bir potansiyele sahiptir.

KAYNAKLAR (REFERENCES)

- Banerjee, A., Qi, J., Gogoi, R., Wong, J., & Mitragotri, S., 2016, "Role of nanoparticle size, shape and surface chemistry in oral drug delivery", *Journal of Controlled Release*, Cilt 238, ss. 176-185.
- Cam, M. E., Zhang, Y., & Edirisinghe, M., 2019a, "Electrosprayed microparticles: a novel drug delivery method" *Expert opinion on drug delivery*, Cilt 16, Sayı 9, ss. 895-901.
- Cam, M. E., Cesur, S., Taskin, T., Erdemir, G., Kuruca, D. S., Sahin, Y. M., & Gunduz, O., 2019b, "Fabrication, characterization and fibroblast proliferative activity of electrospun Achillea lycanica-loaded nanofibrous mats", *European Polymer Journal*, Cilt 120, ss. 109239.
- Cesur, S., Oktar, F. N., Ekren, N., Kilic, O., Alkaya, D. B., Seyhan, S. A., & Gunduz, O., 2019, "Preparation and characterization of electrospun polylactic acid/sodium alginate/orange oyster shell composite nanofiber for biomedical application", *Journal of the Australian Ceramic Society*, ss. 1-11.
- Elsayed, M., Kothandaraman, A., Edirisinghe, M., & Huang, J., 2016, "Porous polymeric films from microbubbles generated using a T-junction microfluidic device", *Langmuir*, Cilt 32, Sayı 50, ss. 13377-13385.
- Fernandez-Fernandez, A., Manchanda, R., & McGoron, A. J., 2011, "Theranostic applications of nanomaterials in cancer: drug delivery, image-guided therapy, and multifunctional platforms", *Applied biochemistry and biotechnology*, Cilt 165, Sayı 7-8, ss. 1628-1651.

- Garstecki, P., Gitlin, I., DiLuzio, W., Whitesides, G. M., Kumacheva, E., & Stone, H. A., 2004, "Formation of monodisperse bubbles in a microfluidic flow-focusing device", *Applied Physics Letters*, Cilt 85, Sayı 13, ss. 2649-2651.
- Gunduz, O., Ahmad, Z., Stride, E., Tamerler, C., & Edirisinghe, M., 2012, "Bioinspired bubble design for particle generation", *Journal of The Royal Society Interface*, Cilt 9, Sayı 67, ss. 389-395.
- Gunduz, O., Ahmad, Z., Stride, E., & Edirisinghe, M., 2013. "Continuous generation of ethyl cellulose drug delivery nanocarriers from microbubbles". *Pharmaceutical research*, Cilt 30, Sayı 1, ss. 225-237.
- Jain, S., Hirst, D. G., & O'sullivan, J. M., 2012, "Gold nanoparticles as novel agents for cancer therapy", *The British journal of radiology*, Cilt 85, Sayı 1010, ss. 101-113.
- Jiang, S., Liu, S., & Feng, W., 2011, "PVA hydrogel properties for biomedical application", *Journal of the mechanical behavior of biomedical materials*, Cilt 4, Sayı 7, ss. 1228-1233.
- Kucuk, I., Yilmaz, N. F., & Sinan, A., 2018, "Effects of junction angle and gas pressure on polymer nanosphere preparation from microbubbles bursted in a combined microfluidic device with thin capillaries", *Journal of Molecular Structure*, Cilt 1173, ss. 422-427.
- Kumar, S., Anselmo, A. C., Banerjee, A., Zakrewsky, M., & Mitragotri, S., 2015, "Shape and size-dependent immune response to antigen-carrying nanoparticles", *Journal of Controlled Release*, Cilt 220, ss. 141-148.
- Liu, D., Zhang, H., Fontana, F., Hirvonen, J. T., & Santos, H. A., 2017. "Microfluidic-assisted fabrication of carriers for controlled drug delivery", *Lab on a Chip*, Cilt 17, Sayı 11, ss. 1856-1883.
- Martínez-Gómez, F., Guerrero, J., Matsuhira, B., & Pavez, J., 2017, "In vitro release of metformin hydrochloride from sodium alginate/polyvinyl alcohol hydrogels", *Carbohydrate polymers*, Cilt 155, ss. 182-191.
- McEwan, C., Kamila, S., Owen, J., Nesbitt, H., Callan, B., Borden, M., McHale, A. P., 2016, "Combined sonodynamic and antimetabolite therapy for the improved treatment of pancreatic cancer using oxygen loaded microbubbles as a delivery vehicle", *Biomaterials*, Cilt 80, ss. 20-32.
- Pancholi, K., Stride, E., & Edirisinghe, M., 2008. "Dynamics of bubble formation in highly viscous liquids" *Langmuir*, Cilt 24 Sayı 8, ss. 4388-4393.
- Parhizkar, M., Edirisinghe, M., & Stride, E., 2013, "Effect of operating conditions and liquid physical properties on the size of monodisperse microbubbles produced in a capillary embedded T-junction device", *Microfluidics and nanofluidics*, Cilt 14, Sayı 5, ss. 797-808.
- Parhizkar, M., Edirisinghe, M., & Stride, E., 2015, "The effect of surfactant type and concentration on the size and stability of microbubbles produced in a capillary embedded T-junction device", *Rsc Advances*, Cilt 5, Sayı 14, ss. 10751-10762.
- Peltonen, L., Valo, H., Kolakovic, R., Laaksonen, T., & Hirvonen, J., 2010, "Electrospraying, spray drying and related techniques for production and formulation of drug nanoparticles", *Expert opinion on drug delivery*, Cilt 7, Sayı 6, ss. 705-719.
- Roberts, M. J., Bentley, M. D., & Harris, J. M., 2002, "Chemistry for peptide and protein PEGylation", *Advanced drug delivery reviews*, Cilt 54, Sayı 4, ss. 459-476.
- Xu, R. X., Xu, S., Zuo, T., Huang, T. H., Shen, R., & Tweedle, M. F., 2011, "Drug-loaded biodegradable microspheres for image-guided combinatory epigenetic therapy in cells", *Journal of biomedical optics*, Cilt 16, Sayı 2, ss. 020507.