



T.C.
NECMETTİN ERBAKAN
ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



TARÇIN ÖZÜTÜ İLE ENKAPSÜLE GÜMÜŞ NANOPARTİKÜLLÜ
PLGA NANOFİBER YARA ÖRTÜSÜ

Çisem GİLİK

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Biyomedikal Mühendisliği Anabilim Dalı

Temmuz-2021
KONYA
Her Hakkı Saklıdır

ÖZET

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TARÇIN ÖZÜTÜ İLE ENKAPSÜLE GÜMÜŞ NANOPARTİKÜLLÜ PLGA NANOFİBER YARA ÖRTÜSÜ

Çisem GİLİK

Necmettin Erbakan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyomedikal Mühendisliği Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Ahmet AVCI

2021,70 Sayfa

Jüri

Prof. Dr. Ahmet AVCI

Prof. Dr. Erol PEHLİVAN

Doç. Dr. Meltem DEMİREL KARS

Yara iyileştirme çalışmalarına verilen önem geçmişten günümüze artış göstermiştir. Bu durum sadece sosyal değil ekonomik bir problem haline gelmiştir. Doğal çözümlerin yanında sentetik çözümlerden biri olan polimer kullanımı yara iyileştirme çalışmalarında sıklıkla kullanılmaktadır. Bu çalışmada da yara iyileşmesini hızlandıracak, enfeksiyon oluşumunu minimuma indirecek ve uygun nemli bir ortamı sağlayacak yara örtüsü geliştirilmesi hedeflenmiştir. Bu çalışmada, biyobozunur polimerden biri olan PLGA(Poly (L-lactic-co-glycolic acid)), tarçınla enkapsüle edilmiş gümüş nanopartikül(eAgNP) ile katkılanarak nanofiber üretimi gerçekleştirilmiştir. eAgNP üretiminde yeşil sentez metodu kullanılmıştır. Elektro-eğirme cihazında üretimi gerçekleştirilen nanofiberlerin morfolojik, mekanik, antibakteriyel, biyobozunurluk özellikleri analiz edilmiştir. Analiz sonucunda ortalama 116 nm çap uzunluğuna sahip, hidrofobik özelliği yüksek, katkısız PLGA'ya göre daha iyi mukavemet derecesinde olan ve antibakteriyel etkisi yüksek nanofiberler üretilmiştir. Sonuç olarak eAgNP/PLGA nanofiberler, yara iyileştirme çalışmalarında umut vaad etmektedir.

Anahtar Kelimeler: Elektro-eğirme, Gümüş Nanopartikül, Nanofiber, PLGA, Yara İyileşmesi, Yeşil Sentez

ABSTRACT

MS THESIS

CINNAMON EXTRACT ENCAPSULATED SILVER NANOPARTICLES DOPED PLGA NANOFIBER WOUND DRESSING

Çisem GİLİK

**The Graduate School Of Natural And Applied Science Of Necmettin Erbakan
University**

**The Degree Of Master Of Science
In Biomedical Engineering**

Advisor: Prof. Dr. Ahmet AVCI

2021,70 Sayfa

Jury

Prof. Dr. Ahmet AVCI

Prof. Dr. Erol PEHLİVAN

Doç. Dr. Meltem DEMİREL KARS

The importance given to wound healing studies has increased from the past to the present. This situation has become not only a social but also an economic problem. In addition to natural solutions, the use of polymers, which is one of the synthetic solutions, is frequently used in wound healing studies. In this study, it is aimed to develop a wound dressing that will accelerate wound healing, minimize infection and provide a suitable moist environment. In this study, nanofiber production was carried out by doping with cinnamon encapsulated silver nanoparticle (eAgNP), PLGA (Poly (L-lactic-co-glycolic acid)), which is one of the biodegradable polymers. Green synthesis method was used in the production of eAgNP. The morphological, mechanical, antibacterial and biodegradable properties of nanofibers produced in the electro-spinning device were analyzed. As a result of the analysis, nanofibers with an average diameter of 116 nm, high hydrophobicity, better strength than undoped PLGA and high antibacterial effect were produced. In conclusion, eAgNP/PLGA nanofibers show promise in wound healing studies.

Keywords: Electro-spinning, Silver Nanoparticle, Nanofiber, PLGA, Wound Healing, Green Synthesis

ÖNSÖZ

Yüksek Lisans eğitimim boyunca ve tezimin yürütülmesi, yönlendirilmesinde göstermiş olduğu ilgi, destek ve anlayış için, bilgi ve tecrübe deneyimini esirgemeyen danışman hocam Sayın Prof. Dr. Ahmet AVCI'ya;

Ders döneminde ilgi, tecrübe ve bilgi birikimini aktaran hocam Sayın Dr. Öğretim Üyesi Muhammet Üsame Öziç'e;

Laboratuvar içi ve dışı çalışmalarım boyunca her türlü desteğini esirgemeyen hocam Sayın Arş. Gör. Cansu GÜNEŞ'e;

Eğitim hayatım boyunca her zaman maddi manevi destekle, sabırla, güvenle yanımda olarak bu günlere gelmemi sağlayan aileme teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışmanın gerçekleştirilmesinde maddi destek sağlayan Necmettin Erbakan Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Koordinatörlüğü'ne katkılarından dolayı teşekkür ederim.

Çisem GİLİK
KONYA-2021

İÇİNDEKİLER

ÖZET	ii
ABSTRACT.....	iii
ÖNSÖZ	iv
İÇİNDEKİLER	v
SİMGELER VE KISALTMALAR	ix
1. GİRİŞ	1
2. KAYNAK ARAŞTIRMASI	4
2.1. İNSAN DERİSİNİN ANATOMİSİ	4
2.1.1. Epidermis Katmanı	4
2.1.2. Dermis Katmanı	5
2.1.3. Hipodermis Katmanı (Deri Altı Katman)	6
2.2. İNSAN DERİSİNDE MEYDANA GELEN YARALANMALAR.....	6
2.2.1. Yara İyileşmesi	7
2.3. YARA ÖRTÜLERİ	8
2.3.1. Geliştirilmiş Yara Örtüleri	8
2.3.2. İdeal Yara Örtüsü.....	11
2.4. NANOFİBER YAPILARIN ÖZELLİKLERİ VE KULLANIM ALANLARI ...	11
2.4.1. Nanofiber Uygulama Alanları	12
2.4.2. Nanofiber Üretim Yöntemleri.....	14
2.5. ELEKTRO-EĞİRME YÖNTEMİ	17
2.5.1. Elektro-eğirme Cihazı.....	17
2.5.2. Elektro-eğirme Sürecini Etkileyen Parametreler	17
2.6. GÜMÜŞ NANOPARTİKÜL.....	20
2.6.1. Gümüş Nanopartikül Üretim Metotları.....	20
2.6.2. Yeşil Sentez	21
2.7. TARÇIN BİTKİSİ	23
2.8. POLİMER.....	24
2.8.1. PLGA Polimeri ve Kimyasal Özellikleri	25
2.9. PLGA Polimerinin Yara İyileştirme Çalışmalarına Katkısı	26
2.10. Gümüş Nanopartiküllerin Yara İyileştirme Çalışmalarına Katkısı.....	27
2.11. Tarçın Bitkisinin Yara İyileştirme Çalışmalarına Katkısı	28
3. MATERYAL VE YÖNTEM.....	30
3.1. Kullanılan Kimyasal Malzemeler	30
3.1.1. Poly (L-lactic-co-glycolic acid)(PLGA)	30
3.1.2. N,N-Dimethylformamide (DMF)	30
3.1.3. Dichloromethane (DCM).....	31
3.1.4. PBS	31
3.1.5. Saf Gümüş Nanopartikül (AgNP).....	31
3.2. Kullanılan Cihazlar	32

3.2.1. Laboratuvar Ortamında Kullanılan Cihazlar	32
3.2.2. Analiz için Kullanılan Cihazlar	32
3.3. Yeşil sentez Yöntemiyle Gümüş Nanopartikül Üretimi	33
3.4. Nanofiber Üretimi için Çözelti Hazırlama.....	35
3.5. Elektro-eğirme Yöntemiyle Nanofiber Üretimi.....	36
3.6. Nanofiberlerin Karakterizasyon Analizleri.....	37
3.7. Temas Açısı Ölçümü	38
3.8. Mekanik Test Analizi.....	38
3.9. Biyobozunurluk Analizi.....	39
3.10. Antibakteriyel Aktivite Analizi	40
3.10.1. Mueller Hinton Agar (MHA) Hazırlama	40
3.10.2. Bakteri Ekimi.....	41
4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA.....	43
4.1. Enkapsüle Gümüş Nanopartikül Sonuçları	43
4.1.1. UV-vis Spektrofotometrede Miktar Tayini.....	43
4.1.2. TEM Analizi	45
4.1.3. FTIR Analizi	45
4.2. Nanofiber Analiz Sonuçları	46
4.2.1. FE-SEM Analizi	46
4.2.2. TEM Analizi	50
4.2.3. XRD Analizi	50
4.2.4. TGA Analizi	51
4.2.5. FTIR Analizi	52
4.2.6. Temas Açısı	53
4.2.7. Mekanik Test	53
4.2.8. Biyobozunurluk Analizi.....	55
4.2.9. Antibakteriyel Aktivite	58
5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	60
5.1 Sonuçlar	60
5.2 Öneriler	61
6. KAYNAKLAR	62

ŞEKİLLER VE TABLO DİZİNİ

Şekil 2.1. Deri Kesiti. Derinin ana katmanları ve temsili yapı grupları verilmiştir.....	4
Şekil 2.2. Epidermiste bulunan tabakalar ve hücre çeşitleri. Her tabakada farklı hücreler yer aldığı görülmektedir.	5
Şekil 2.4. Hipodermis katmanı ve içinde bulundurduğu yapılar	6
Tablo 2.1 Yara Çeşitleri.....	6
Şekil 2.5. Yara İyileşme Aşamaları.(J. S. Boateng et al., 2008)	7
Şekil 2.6. Yarı geçirgen film(Erdem, 2013).....	9
Şekil 2.7. Hidrojel tabaka, kurumuş nekrotik dokuyu çözer ve bakterilerin yaraya girişini engeller(Erdem, 2013).	9
Şekil 2.8 Köpük yara örtüsü(Erdem, 2013)	10
Şekil 2.9 selüloz içerikli hidrokolloid yara örtüsü(Erdem, 2013; Kaya, 2019).....	10
Şekil 2.10 PLGA polimerinden elde edilen nanofiber yapısı.....	12
Şekil 2.11 Nanofiberlerin birçok özelliği bir arada bulundurmasıyla uygulama alanları genişlemektedir. 12	
Şekil 2.12 Nanofiber yara örtüsü (OctaMed).....	13
Şekil 2.13 Nanofiber ile üretimi gerçekleştirilen kalp kapakçığı(Zeytuncu, 2014)	14
Tablo 2.2 Nanofiber Üretim Teknikleri	14
Tablo 2.3 Laboratuvar Ölçekli Üretim teknikleri ve özellikleri.....	15
Şekil 2.14 Faz ayırma yöntemiyle nanofiber üretimi(Ramarkrishra et al.).....	15
Şekil 2.15 Çekme yöntemi(Ramarkrishra et al.).....	15
Şekil 2.16 Şablon sentezi yöntemi(Karahan, 2017)	15
Şekil 2.17 Kendiliğinden düzenlenme yöntemiyle oluşturulan nanofiber yapı	15
Tablo 2.4 Endüstriyel Ölçekli Üretim Teknikleri ve Özellikleri.....	16
Şekil 2.18 Bikomponent üretim tekniği	16
Şekil 2.19 Meltblowing tekniği.....	16
Şekil 2.20 Spunbond tekniği	16
Şekil 2.21 Elektro-eğirme cihazının bileşenleri	17
Şekil 2.22 Farklı konsantrasyonlarda PLGA nanofiberlerin SEM görüntüleri(Kumbar, James, Nukavarapu, & Laurencin, 2008).....	18
Şekil 2.23 uygulanan voltajdaki artışla jette meydana gelen değişim(Sill & Von Recum, 2008)	19
Şekil 2.24 Gümüş Nanopartikül Üretim Metotları.....	21
Şekil 2.25 AgNP üretim sürecinde indirgeme mekanizması(Annavaram, Posa, Uppara, Jorepalli, & Somala, 2015)	22
Şekil 2.26 Yeşil sentezin avantajları(Gan, Li, & Bio/Technology, 2012; Mbonnyiriyivuze et al., 2015)	22
Tablo 2.5 Tarçın Kısımlarının Kimyasal Bileşenleri(Hamidpour & Shahlari, 2015)	23
Şekil 2.27 Tarçın bitkisi ve kabuk hali	23
Şekil 2.28 PLGA hidrolizinin sonucunda PLA ve PGA ortaya çıkar(Danhier et al., 2012).	25
Şekil 3.1 PLGA polimerinin çözelti oluşturmadan önceki hali.....	30
Şekil 3.2 DMF çözücünün molekül yapısı.....	30
Şekil 3.3 DCM çözücünün molekül yapısı	31
Şekil 3.4 Fosfat Tampon Çözelti	31
Şekil 3.5 Gümüş tozu.....	31
Şekil 3.6 Elektro-eğirme cihazı.....	32
Şekil 3.7 Tarçın özütü elde etme işlem basamakları. 1) 15 gr toz tarçın, 2) saf su ve toz tarçın birleştirme, 3) 24 saat bekletme, 4) filtreleme işlemi.	34
Şekil 3.8 Tarçın ile enkapsüle edilmiş gümüş nanopartiküllerin üretim süreci. a) tarçın özütü+ saf su karışımına AgNO ₃ çözeltisinin damla damla verilmesi, b) manyetik karıştırıcıda homojen hale getirme, c) karışımın cam kaba aktarılması, d) etüvde buharlaştırma işlemi, e) cam lamellerle kalan tortuyu kazıma işlemi, f) tarçın ile enkapsüle edilmiş gümüş nanopartiküller	35
Şekil 3.9 Manyetik karıştırıcı üzerinde PLGA nanofiber çözeltisi	35
Şekil 3.10 A) ultrasonik karıştırıcıda gümüş nanopartiküllerin çözündürülmesi, B) manyetik karıştırıcıda PLGA polimerinin eklenmesi.....	36
Şekil 3.11 Elektro-eğirme süreci.....	37
Şekil 3.12 Elektro-eğirme yöntemiyle üretilen nanofiberler.....	37
Şekil 3.13 Temas Açısı Ölçüm Cihazı	38
Şekil 3.14 Nanofiber yapının mekanik test analizi. 1) çekme test cihazına yerleştirme, 2) uygulanan çekme kuvvetiyle meydana gelen gerilme, 3) numunelerde meydana gelen kopma.....	39
Şekil 3.15 PBS içinde Biyobozunurluk analizi. A) Numunelerin PBS içine daldırılmadan önceki hali, B) PBS daldırma süreci, C) PBS sonrası numunelerde meydana gelen değişim.	40

Şekil 3.16 Bakteri ekimi için hazırlanan donmuş agar.....	41
Şekil 3.18 Ekiyyon çubuğuyla bakteri ekimi	42
Şekil 3.19 Numunelerin UV dezenfektan cihazında sterilize edilmesi	42
Şekil 3.20 Disk şeklindeki numunelerin pens yardımıyla bakteri ortamına yerleştirilmesi	42
Şekil 4.1 eAgNP için AgNO ₃ çözelti oranlarının UV-VIS Spektrofotometrede tayin edilmesi	43
Şekil 4.2 eAgNP için tarçın özüt miktarının UV-VIS Spektrofotometrede tayin edilmesi.....	44
Şekil 4.3 Tarçın özütü ile gümüş nitrat çözeltisinin kimyasal etkileşimi	44
Şekil 4.4 eAgNP TEM görüntüsü	45
Şekil 4.5 eAgNP FTIR analizi	46
Şekil 4.6 PLGA nanofiber FE-SEM görüntüsü.....	47
Şekil 4.7 AgNP/PLGA nanofiber FE-SEM görüntüsü	48
Şekil 4.8 eAgNP/PLGA nanofiber FE-SEM görüntüsü.....	49
Şekil 4.9 TEM görüntüleri. A) eAgNP/PLGA nanofiberi, B) AgNP/PLGA nanofiber	50
Şekil 4.10 XRD grafiği. A) eAgNP/PLGA nanofiber, B) AgNP/PLGA nanofiber, C) eAgNP	51
Şekil 4.11 Nanofiberlerin TGA analizi. a) PLGA nanofiber, b) AgNP/PLGA nanofiber, c) eAgNP/PLGA nanofiber	51
Şekil 4.12 Nanofiber yapılarında FTIR spektrumu. a) PLGA nanofiber, b) AgNP/PLGA nanofiber, c) eAgNP/PLGA nanofiber	52
Şekil 4.13 Nanofiberlerin temas açısı analizi.....	53
Tablo 4.1 Young Modulus	54
Şekil 4.14 Nanofiberlerin Gerilme- Şekil değişimi grafiği.	55
Şekil 4.15 PBS içerisinde yer alan nanofiberlerin biyobozunurluk mekanizması	56
Şekil 4.16 PBS içinde bekletilen nanofiber yapıların biyobozunma grafiği. a) PLGA nanofiber, b) AgNP/PLGA nanofiber, c) eAgNP/PLGA nanofiber.....	56
Şekil 4.17 Numunelerin bekletildiği PBS içinden alınan örnek PBS sıvısının UV Spektrofotometrede analizi	57
Şekil 4.18 Biyobozunma sonrası FE-SEM görüntüleri. A) eAgNP/PLGA, B) AgNP/PLGA, C) PLGA..	58
Şekil 4.18 PLGA, AgNP/PLGA ve eAgNP/PLGA nanofiber örtülerinin E.Coli ve S.Aureus bakterilerinde antibakteriyel aktivitesinin gözlemlenmesi. (a,d) PLGA; (b,e) AgNP/PLGA; (c,f) eAgNP/PLGA	59

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

pH	Çözeltinin asitlik veya bazlık derecesini gösteren ölçü birimi
rpm	Dakikadaki devir sayısı
g	Gram
Ag ⁺	Gümüş iyonu
kg	Kilogram
kV	Kilovolt
CFU/ml	Koloni oluşturan birim/mililitre
MPa	Megapascal
mL	Mililitre
mL/h	Mililitre/saat
mm	Milimetre
M	Molar
nm	Nanometre
°C	Santigrat derece

Kısaltmalar

AgNP	Saf Gümüş Nanopartikül
eAgNP	Enkapsüle Gümüş Nanopartikül
DCM	Diklormetan
DMF	Dimetilformamid
ECM	Hücre Dışı Matris
<i>E.coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
EMA	Avrupa İlaç Ajansı
FDA	Amerikan Gıda ve İlaç Kurumu
FE-SEM	Alan Emisyonlu Taramalı Elektron Mikroskobu
FTIR	Fourier Dönüştürücü Infrared Spektroskopisi
PBS	Fosfat Tamponlu Tuz
PGA	Poly(glycolic acid)
PLA	Poly(lactic acid)
PLGA	Poli(laktik-co-glikolik asit)
<i>S.aureus</i>	<i>Staphylococcus aureus</i>
TEM	Geçirmeli Elektron Mikroskobu
TGA	Termal gravimetrik analiz
UV	Ultra-Viyole
XRD	X Işınımı Kırınımı

1. GİRİŞ

İnsan vücudunda önemli bir yere sahip olan deri, vücudu dış etkenlere karşı koruma, kendini iyileştirme, vücut sıvısını dengeleme gibi görevleri üstlenir. Çeşitli etmenler(fiziksel/kimyasal/termal) nedeniyle dokuda meydana gelen anatomik bozulmalar 'yara' olarak adlandırılır(Golchin, Hosseinzadeh, & Ardeshiryajimi, 2018; Zahedi, Rezaeian, Ranaei-Siadat, Jafari, & Supaphol, 2010). Yara, dünya genelinde insanı etkileyen ve sosyal/ekonomik maliyete sebep olan önemli bir sağlık problemidir(Homaeigohar & Boccaccini, 2020; Tchemtchoua et al., 2011). Yara iyileştirmede meydana gelen problemlere (yavaş iyileşme sürecinin uzun sürmesi, maliyetli çözümler, enfeksiyon artışı) karşı bu alanda çalışmalar yapılmaya başlanmıştır. Amerika Birleşik Devletleri'nde tahmini olarak 25 milyar dolarlık bir sağlık hizmeti maliyeti sadece yara iyileştirme çalışmalarına ayrılırken(Golchin et al., 2020), ülkemizde de bu tür ekonomik problemler yaşanmaktadır. Buna çözüm olarak yara iyileştirme uygulamalarına verilen önem artmıştır.

Geçmişte yara bakımı için değişik absorpsiyon kapasitesinde doğal ve sentetik bandajlar, hidrofil pamuk, sargı bezi ve gazlı bez gibi geleneksel yara örtüleri kullanılmaktaydı(Zahedi et al., 2010). Ancak günümüzde, yara iyileşmesinde büyüme faktörlerinin, hücre dışı matris(ECM)'nin aktif rol oynadığı, iyileşmenin dinamik bir süreç olduğu ve geleneksel yara örtücülerinin, yaraların etkin olarak iyileşmesinde yeterli olmadığı anlaşılmıştır. Bu gibi sebeplerle modern yara örtüleri geliştirilmiştir. Bunun yanı sıra geleneksel yara örtüleri yara iyileşmesini etkileyen faktörlerden biri olan nemli ortamı sağlayamadığı için yerini modern yara örtülerine bırakmıştır(J. S. Boateng, Matthews, Stevens, & Eccleston, 2008). Çünkü zamanla sıvı üretimi azaldığından yara örtüsü yaraya yapışma eğilimindedir ve bu durum hastayı rahatsız etmektedir. Ayrıca dezavantaj bir durum olarak yaranın maruz kaldığı enfeksiyon durumlarında bakteri oluşumunu engelleyemediğinden iltihap bölgesini genişletir, yeniden doku oluşumunu engeller ve iyileşme sürecini geciktirerek hastanede kalış ve tedavi maliyetlerini artırır(Edwards & Harding, 2004) . Bu nedenle, yara ortamında bakteriyel enfeksiyon oluşumunu önlemek için yaraların antibakteriyel maddeler içeren yara örtüleri ile tedavi edilmesi gerekir(Song et al., 2016) . Ancak kullanılan yara örtülerinin hiçbiri tam olarak bu gereksinimleri karşılayamaz. Uygulanan yara sargılarının çoğu hidrokolloidler, hidrojel, köpükler veya filmler olarak sınıflandırılabilir(Davidson, 2015; Murphy &

Evans, 2012). Hidrokolloidler ve hidrojeller nemli yara ortamlarını koruyabilir ve genellikle diğer fonksiyonel katmanlarla birlikte kullanılır. Bununla birlikte, hidrokolloid yara örtüleri için, yara sıvılarının emilmesinin neden olduğu aşırı nemli ortam nekrotik dokunun otolizi hızlandırabilir ve enfeksiyon riskini artırabilir(McIntosh, 2007). Aksine, hidrojeller sulu ortamın pH ve iyonik gücüne bağlı olarak tersinir bir şekilde şişebilir veya büzüşebilir. Köpük tipi pansumanlar aynı zamanda yüksek absorban kapasiteleri nedeniyle orta / yüksek drenajlı yaralar için kullanılırken, filmler normalde dayanıklıdır, yarı geçirgendir ve sıvı ve mikrobiyal kontaminasyonu geçirmezler(Fonder et al., 2008). Bununla birlikte, filmlere aktif bir madde eklenmesi ile karakterize edilen film bazlı ilaçlı yara sargıları, eksüdalara emme kapasitesine sahip değildir(J. Boateng & Catanzano, 2015).

Yara örtüsü, yanık veya yaralanma nedeniyle hasar görmüş cildi onarmak için kullanılan bir tedavi yöntemidir(Ramarkrishra, Fujihara, Teo, & Lim). Nanofiberler üstün morfolojik özellikleri sebebiyle yara örtüsü olarak kullanımlarında da oldukça avantaj sağlamaktadır. Yara örtülerinin amacı yara bölgesini mikroorganizma ve dış etmenlerden korumak, yaradan kaynaklı sıvının emilimi sağlamak ve görüntüyü iyileştirmektir. Nano boyutlu yapısından dolayı çok küçük organizmaların bile geçişini önlemektedir. Elektroğrılmış nanofiberler morfolojik özellikleri sayesinde yara sıvısının emilimini artırır, yara ortamında su buharını tutarak hasarlı bölgenin nemli kalmasını, oksijen geçirgenliği sayesinde yaranın hava almasını sağlar ve enfeksiyon oluşumunu önler. Bu da yaranın daha hızlı iyileşmesi anlamına gelmektedir(Khil et al., 2003).

Yara örtüsü çalışmalarında nanofiber kullanımı yaygınlaşmıştır. Elektro-eğirme yöntemiyle ECM'yi taklit edebilen(Abrigo, McArthur, & Kingshott, 2014), yüksek yüzey alanı/hacim oranı (Zahedi et al., 2010), yüksek gözeneklilik gibi özelliklere sahip nanofiberler üretilir. Yara örtüsü çalışmalarında mükemmel biyobozunurluk ve minimum sitotoksositeye sahip olan ve tıp alanında ABD Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından onaylanan PLGA büyük ilgi görmüştür(Hua, Ti, Xu, & biophysics, 2014; Terriza et al., 2014). PLGA, ilaç dağıtım uygulamalarında, cerrahi implantlarda ve yara iyileştirme gibi alanlarda uygulanabilirliği için geniş çapta araştırılmıştır(Es-Saheb, Sherif, El-Zatahry, El Rayes, & Khalil, 2012).

Nanofiberlerin içine biyoaktif moleküller, metalik iyonlar eklenerek yara iyileştirilmesi hızlandırılabilir(Aytaç, 2012). Metalik iyonlardan biri olan gümüş nanopartikülün antibakteriyel etkisine literatürde yapılan çalışmalarda yer verilmiştir. Gümüş iyonunun yara enfeksiyonlarının önemli zorluklarını ele almadaki yüksek

potansiyeli göz önüne alındığında, yara pansumanları için geliştirilen polimerik nanolifler için bir antibakteriyel dolgu maddesi olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır. Gümüş, memeli veya bakteri hücreleri tarafından emilimi zor inert bir metaldir. Fakat, yara sıvılarına maruz kaldığında kolayca iyonize olur ve proteinlere ve hücre zarlarına yapışan son derece reaktif bir maddeye dönüşür. Gümüş iyonu, solunum enzimlerini ve mikrobiyal elektron taşıyan bölümleri zehirleyerek ve ayrıca çeşitli DNA aktivitelerini devre dışı bırakarak mikroorganizmaları öldürür ve onlara büyük ölçüde zarar verir(Wright, Lam, & Burrell, 1998). Gümüş iyonunun engelleyici performansı, hücre solunum enzimlerinde bulunan tiyol grupları ile yoğun bağlanabilme kabiliyetinden kaynaklanmaktadır. Dahası, gümüş iyonu hücre yapısını oluşturan proteinlerle ve özellikle DNA bazlarıyla etkileşime girerek replikasyonu engelleyebilir(Russell & Hugo, 1994).

Son yıllarda nanopartikül üretim yöntemlerinden biri olan ‘yeşil sentez’ ile daha kolay ve kimyasal metotlardan uzak gümüş nanopartikül sentezi gerçekleştirilmektedir. Pahalı kimyasallar, yüksek enerji tüketimi ve toksik malzeme kullanmadan doğal indirgeyici, kapatıcı ve stabilize edici ajanlar kullanan verimli yeşil sentezin ilerlemesi araştırmacıları biyolojik yöntemlere çekmiştir. Yeşil sentezle üretilen partiküller, fizikokimyasal yaklaşımlardan farklıdır. Fiziksel ve kimyasal yaklaşımlarda toksik yan ürünlere ihtiyaç vardır. Yeşil sentez kimyasal indirgeyici ajanın, metal veya metal oksit nanopartiküllerin sentezini sağlamak için mantar, bakteri, ağaç, bitki yaprakları veya meyveler gibi doğal bir ürünün özünü kullanır. Biyolojik varlıklar nanopartikül üretimi için önemlidir. Biyolojik sentezle üretilen nanopartiküller çevre dostu, kimyasal kontaminasyon içermeyen, maliyeti düşük, sürdürülebilir ve seri üretim için kullanılabilir durumdadır (Hussain, Singh, Singh, Singh, & Singh, 2016).

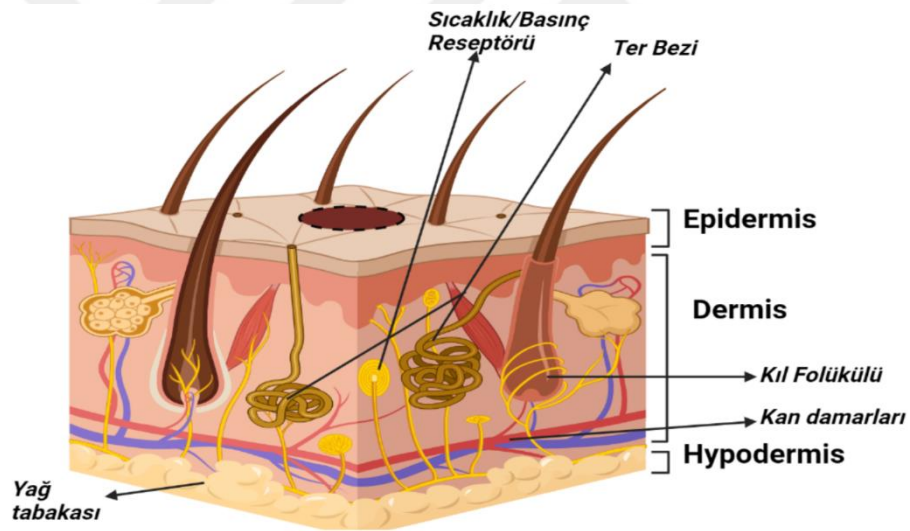
Bu çalışmada yeşil sentez metodu ile gümüş nanopartikül üretimi yapılmıştır. Yeşil sentezde indirgeyici ajan olarak tarçın özütü kullanılmıştır. Sentezlenen gümüş nanopartikül PLGA polimerine katılanmıştır ve nanofiber üretimi elektro-eğirme yöntemiyle gerçekleştirilmiştir. Üretilen nanofiber örtünün yara örtüsü olarak uygunluğunu belirlemek için in-vitro ortamda testler yapılmıştır. Karakterizasyon özelliklerini test etmek için Alan Emisyonlu Taramalı Elektron Mikroskobu (FE-SEM), Geçirgen Elektron Mikroskobu (TEM), Fourier Transform Infrared Spektroskopi (FTIR), Thermogravimetric Analiz(TGA), X-Işını Difraktometresi(XRD) cihazı, mekanik özelliği çekme test cihazında, antibakteriyel özelliği disk difüzyon yöntemiyle, su temas

açısı ve biyobozunurluk testlerinin her biri PLGA, saf gümüş nanopartikül (AgNP)/PLGA, eAgNP/PLGA nanofiber yapılarında gerçekleştirilmiştir.

2. KAYNAK ARAŞTIRMASI

2.1. İNSAN DERİSİNİN ANATOMİSİ

Deri, yetişkin vücut ağırlığının yaklaşık %16'sını oluşturan vücudun en geniş ve en büyük yaşamsal organıdır. Mikroorganizmalar/kimyasal/çevresel etmenlere karşı vücudu koruma(Alipour, Khorshidi, Shojaei, Mashayekhi, & Moghaddam, 2019), sinir kanalları yardımıyla ağrı/sıcaklık/basınç gibi etmenleri algılama, vücut ısısını ayarlama, su kaybını engelleme, D vitamini sentezi gibi görevleri üstlenir(Golchin et al., 2020). Deri, 3 katmandan oluşur. Bu katmanlar Şekil2.1'de verildiği gibi dıştan içe doğru epidermis, dermis ve hipodermis olarak adlandırılır.

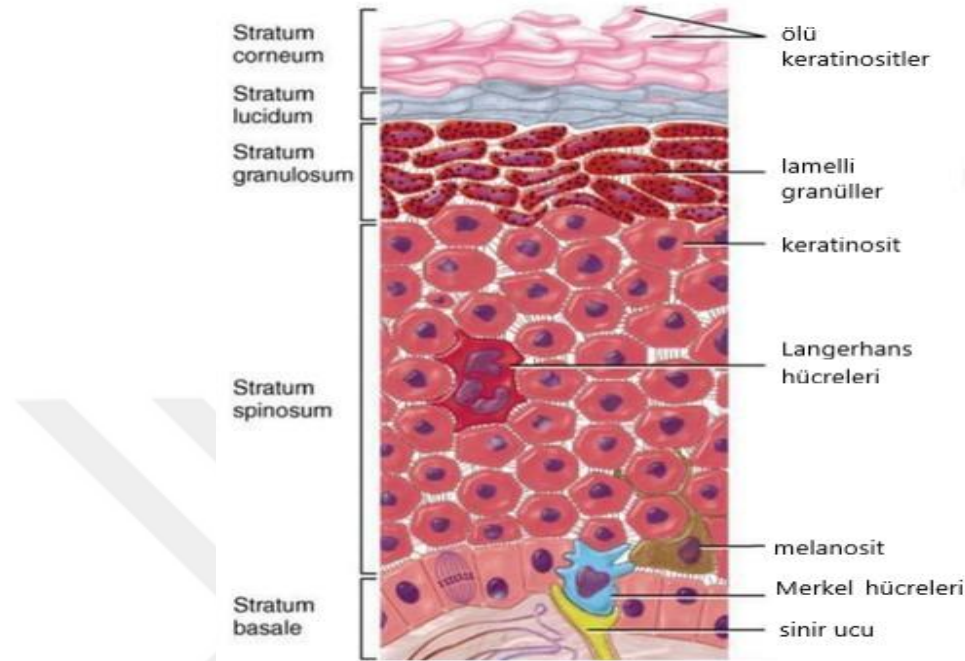


Şekil 2.1. Deri Kesiti. Derinin ana katmanları ve temsili yapı grupları verilmiştir.

2.1.1. Epidermis Katmanı

Epidermis, derideki en dış katmana verilen isimdir. Diğer katmanlara göre en aktif katmandır. Bu katman kendi içinde 5 ayrı tabakaya ayrılır(Şekil2.2). Bu tabakalar: stratum bazale (epidermisin en derin kısmı), stratum spinosum, stratum granulosum, stratum lucidum ve stratum corneum (epidermisin en yüzeysel kısmı)'dur. Epidermiste bulunan hücre çeşitleri keratinositler, melanositler, Langerhans ve Merkel hücreleridir. Keratinosit hücre tipi keratin üretimi, su bariyeri oluşturma, kalsiyum emilimi düzenlenmesinde rol oynar. Melanosit hücre tipinde cilt renginden sorumlu melanin

üretimi gerçekleştirilir. Langerhans hücreleri deride oluşan bakteri/enfeksiyon riski durumunda savunucu olarak görev alırken, Merkel hücreleri duyuusal algılamada görev alan mekanoreseptörlerdir(Yousef, Alhajj, & Sharma, 2017).



Şekil 2.2. Epidermiste bulunan tabakalar ve hücre çeşitleri. Her tabakada farklı hücreler yer aldığı görülmektedir.

2.1.2. Dermis Katmanı

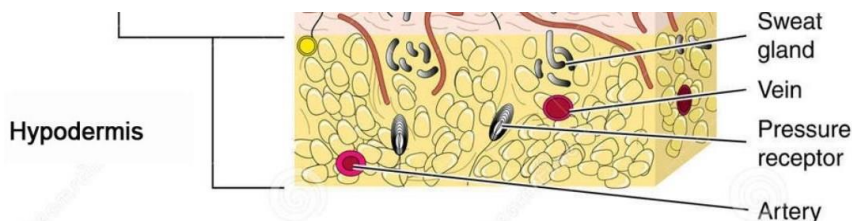
Epidermis katmanının altında, derinin ikinci katmanı olan bu yapıya ‘dermis’ adı verilir. Dermiste elastin ve kolajen liflerden oluşan hücre dışı matris(ECM) yer alır. ECM, bağışıklık hücre göçü için iskele olarak görev alır(Kabashima, Honda, Ginhoux, & Egawa, 2019). Epidermis ile karşılaştırıldığında, çok daha az sayıda hücre ve çok daha fazla lif bulunmaktadır. Derinin besin gereksiniminin karşılanması, atıkların vücut dışına atılması, termoregülasyona yardımcı olmakla görevlidir(Brown & Krishnamurthy, 2020). Bu tabakada, kan ve lenf damarları, duyu ve motor sinirleri ile yağ bezleri, ter bezleri, kıl folikülleri vb. pek çok yapılar bulunur(Mutlu, 2014). Şekil2.3’te olduğu gibi dermis, 2 tabakadan oluşur: Papillary ve reticular.



Şekil 2.3. Dermisde bulunan tabakalar verilmiştir. Papillary tabakası ince gevşek bağ doku, fibroblast, kolajen içerirken; reticular tabakada daha kalın lif yapısı görülmektedir.(Kaya, 2019)

2.1.3. Hipodermis Katmanı (Deri Altı Katman)

Derinin en iç katmanıdır. Şekil 2.4'te verildiği gibi bu katmanda sinir, lenf damarı, makrofajlar, fibroblastlar, kan damarı yer alır. Vücutta enerji depolama, ani sıcaklık değişimlerini engelleme, derin dokuları mekanik yaralanmadan koruma gibi görevleri vardır(Graham, Eckersley, Ozols, Mellody, & Sherratt, 2019; Mutlu, 2014).



Şekil 2.4. Hipodermis katmanı ve içinde bulundurduğu yapılar .

2.2. İNSAN DERİSİNDE MEYDANA GELEN YARALANMALAR

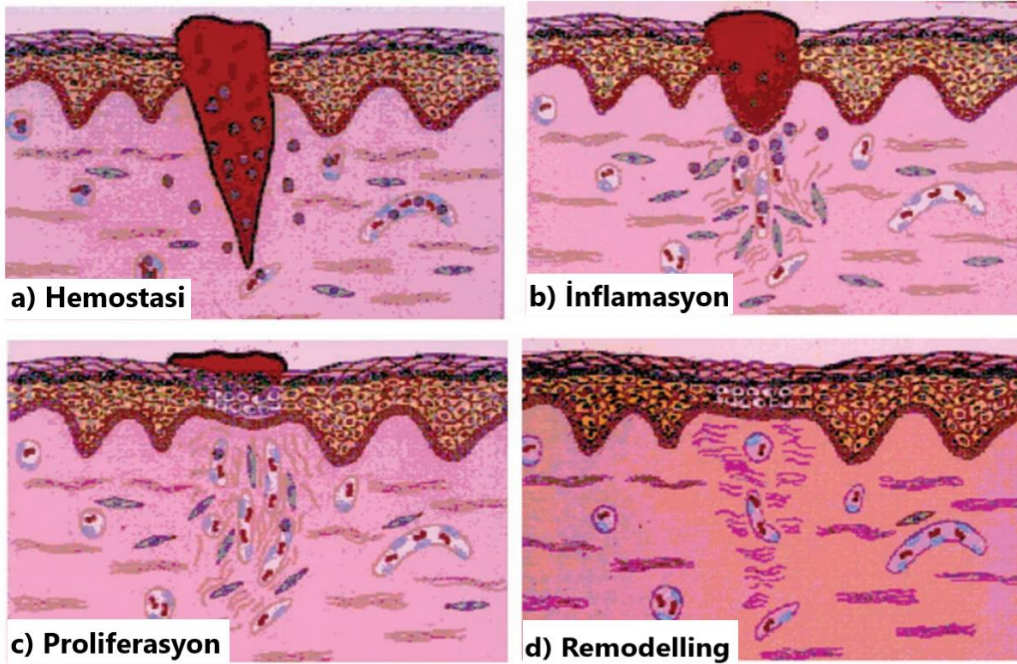
Yara, dokunun kimyasal, fiziksel, termal etmenlerden kaynaklanarak anatomik yapısının hasar görmesidir(Zahedi et al., 2010). Yara iyileşmesinde yara çeşidi bu süreci etkiler. 2 temel yara çeşidi vardır: akut ve kronik. Yırtık, yanık, tahriş gibi yaralanma durumları akut yara grubuna girerken; diyabet, ülser, tümör gibi hastalıklardan kaynaklanan yaralar kronik yara grubuna dahil edilir(Moore, McCallion, Searle, Stacey, & Harding, 2006). Tablo 1'de akut ve kronik yara için önemli özellikler verilmiştir.

Tablo 2.1 Yara Çeşitleri

AKUT YARALAR	KRONİK YARALAR
Primer iyileşme görülür.	Sekonder iyileşme görülür.
Aniden meydana gelir.	Aniden meydana gelmez.
Normal iyileşme süreci oluşur.	İyileşme yavaşlamış haldedir.
Yara, yeni meydana gelmiştir.	Zaman içinde tekrarlanır.

2.2.1. Yara İyileşmesi

Yara iyileşmesi, çeşitli hücresel bileşenlerin hasarlı dokunun onarımı için bir dizi aşamalardan geçerek dokunun işlevselliğini geri kazanmasıdır(J. S. Boateng et al., 2008). Bir yaranın iyileşme süreci Şekil2.5'te verilen 4 aşamada gerçekleştirilir: hemostasi, inflamasyon, proliferasyon ve remodelling(yeniden şekillenme). İyileşme sürecinin son iki aşamasında ECM, epitel hücre proliferasyonunu destekleyen ve teşvik eden bir çerçeve sağladığı için önemli bir rol oynar(Kanani & Bahrami, 2010).



Şekil 2.5. Yara İyileşme Aşamaları.(J. S. Boateng et al., 2008)

2.2.1.1. Hemostasi Fazı

Yara iyileşmesi, dokunun bütünlüğü bozulduğu anda başlar. Yaralanmadan hemen sonra yara bölgesindeki kanamanın durdurulması amacıyla ilk geçici pıhtı oluşumuna fizyolojik yanıt olarak 'hemostasi' denir(Werner & Grose, 2003). Yaralanmanın gerçekleştiği ilk birkaç dakika içerisinde başlayan hemostasi fazının amacı, kanamanın durdurulmasıdır. Fibrinojenin fibrin haline geçmesiyle yara üzerinde pıhtı oluşturulur, yara kenarları birbirine yaklaştırılır ve kuruma sonrası yaranın dış ortamla ilişkisi kesilir(Murphy & Evans, 2012; Mutlu, 2014).

2.2.1.2. İnflamasyon Fazı

Bu evrede iltihap adı verilen ödemin içinde zararlı maddeler yok edilir. İnflamasyon evresinin gerçekleşmemesi durumunda enfeksiyon oluşumu artar ve yara iyileşme hızı azalır(Serinçay, 2014).

2.2.1.3. Proliferasyon(Hücre Çoğalma) Fazı

Bu aşamada granülasyon dokusu yeniden oluşarak iyileşme süreci hızlanır. Makrofajlar, fibroblastlar ve kan damarları yara bölgesine doğru geçiş yapar ve yeniden oluşum aşamasına geçilir(Zahedi et al., 2010).

2.2.1.4. Remodelling(Yeniden Oluşum) Fazı

Son aşama olan ‘yeniden oluşum’ evresinde fibroblastlar yara yüzeyini kaplar ve yeni bir cilt katmanı olarak şekillenir(Zahedi et al., 2010).

2.3. YARA ÖRTÜLERİ

Geçmişte yara tedavileri için pamuk/gazlı bez gibi yara örtüleri kullanılırdı. Ancak bu yara örtüleri nemli bir ortam sağlayamama, enfeksiyona karşı koruyucu olmama gibi sebeplerle yara iyileşme sürecini yavaşlattı(J. S. Boateng et al., 2008). Yara iyileşme sürecini daha sağlıklı koşullarda ilerletmek için geliştirilmiş yara örtüleri üretilmiştir.

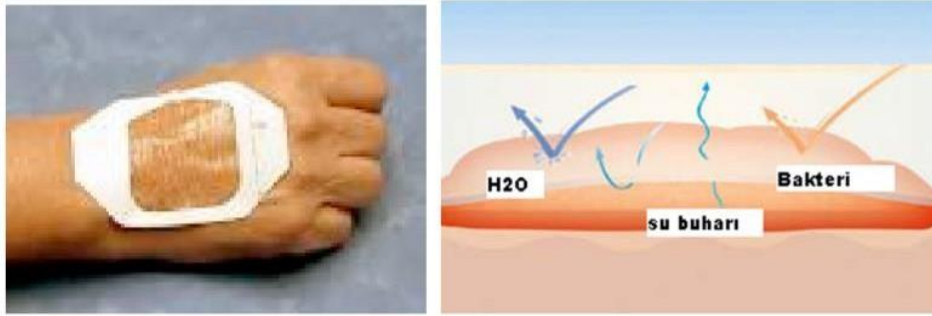
2.3.1. Geliştirilmiş Yara Örtüleri

Geliştirilmiş yara örtüleri başlıca hidrojeller, köpükler, filmler, hidrokolloidler olarak sınıflandırılabilir. Buna ek olarak yara bölgesine aktif madde salınımı yaparak yara iyileştirmesini hızlandıran biyoaktif yara örtüleri de bulunmaktadır(Strecker-McGraw, Jones, & Baer, 2007).

2.3.1.1. Yarı geçirgen Film Yara Örtüleri

Esnek, gaz değişimine izin veren, bakteri geçişini engelleyen bu tip yara örtüleri poliüretandan üretilir. Sınırlı absorplama özelliğinden dolayı aşırı eksüdanslı yaralarda kullanılmamaktadır(Dhivya, Padma, & Santhini, 2015). Bu yara örtüleri az sıvı birikimi

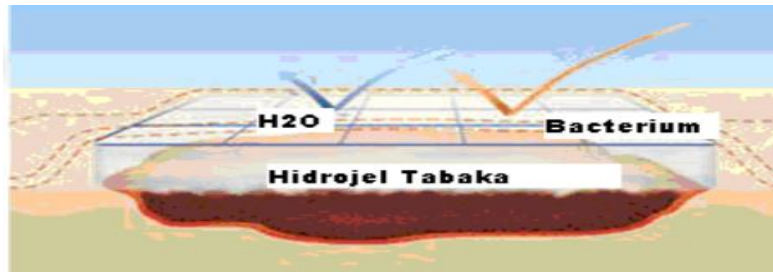
olan yara çeşitlerinde kullanılır(Seaman, 2002). Şekil2.6'da film yara örtüsü çeşidine örnek verilmiştir.



Şekil 2.6. Yarı geçirgen film(Erdem, 2013)

2.3.1.2. Hidrojel Yara Örtüleri

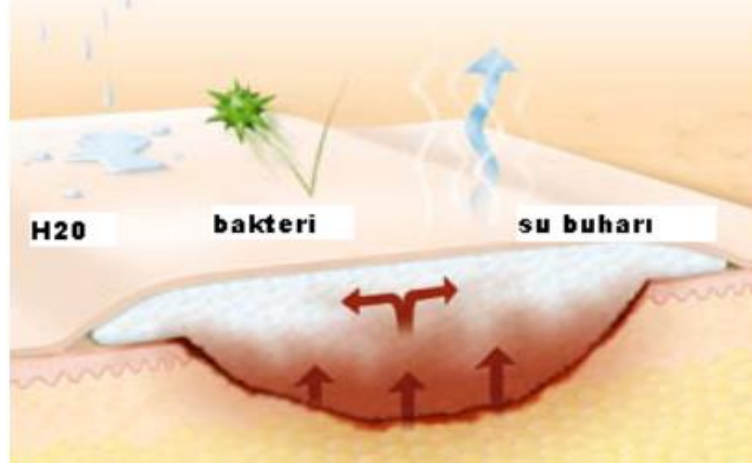
Hidrojel yara örtüleri kolajen, jelatin, PLGA, kitosan gibi doğal/sentetik polimerlerden üretilir(J. S. Boateng et al., 2008). Kullanımı kolay olan hidrojeller hastaya zarar vermeden çıkarılabilir(Dhivya et al., 2015). Şekil2.7'de verildiği gibi nemli bir ortam sağlayarak yara iyileşmesini hızlandırırlar. Mekanik mukavemetinin düşük ve üretim zorluğunun olması dezavantajlarıdır(Koç, 2019).



Şekil 2.7. Hidrojel tabaka, kurumuş nekrotik dokuyu çözer ve bakterilerin yaraya girişini engeller(Erdem, 2013).

2.3.1.3. Köpük Yara Örtüleri

Hidrofilik ve hidrofobik yapıda oluşan köpükler, yara bölgesini sıvıdan korurken Şekil2.8'de gösterilen gözenekli yapısı sayesinde su buharı ve gaz değişimini de izin verir(Koç, 2019). Yaranın üzerine yerleştirildikleri zaman şişme kapasiteleri nedeniyle yaraya kolayca adapte olurlar ve granülasyon oluşumunu hızlandırırlar(Değer, 2019).



Şekil 2.8 Köpük yara örtüsü(Erdem, 2013)

2.3.1.4. Hidrokolloid Yara Örtüleri

Hidrokolloid yara örtüleri 2 katmandan oluşur. İç katman kolloid yapıda, dış katman su geçirmez yapıdadır. Yara pH dengesini ayarlama, yara eksüdansını emme, yara için uygun nemli ortamı oluşturma, gaz geçirgenliğini sağlama gibi görevleri yerine getirir(Dhivya et al., 2015; Stashak, Farstvedt, & Othic, 2004). Şekil2.9’da hidrokolloid yara örtüsü çeşitine örnekler verilmiştir.



Şekil 2.9 selüloz içerikli hidrokolloid yara örtüsü(Erdem, 2013; Kaya, 2019)

2.3.1.5. Nanofiber Yara Örtüleri

Nanofiberler yüksek yüzey alanlarına sahip olmaları ile kanamayı durdurucu özellikte olmakta, ince fiber çaplarında olduklarından doğal ECM yapısını taklit edebilmekte ve yara iyileşme evrelerinde hücrelerin tutunması, gelişmesi, çoğalması için elverişli ortam sağlamaktadır(Kim, Park, & Park, 2007). Doğal ve sentetik yapıda polimerlerden

nanofiber üretimleri gerçekleştirilebilir. Yöntemler içerisinde elektro-eğirme yönteminin, üretim kolaylığı, ekonomik ve birçok polimerle çalışılabilir olması tercih edilme sebeplerindedir(Preedy, 2012).

Elektro-eğirme yöntemiyle elde edilen nanofiberlerden oluşan yara örtülerinin, geçmişte kullanılan yara örtülerine göre avantajları vardır. Bunlar; kanamayı dindirme (hemostasiz) özelliğini hızlandığını(Zhang, Lim, Ramakrishna, & Huang, 2005), yüksek sıvı emme (absorpsiyon) kapasitesi(Dabney, 2002), gaz geçirgenliği(Zahedi et al., 2010), uygulanma rahatlığıdır. İyileştirmeyi hızlandıran bileşenlerin nanofiber yapısına eklenebilmesi diğer avantajlarındanır.

2.3.2. İdeal Yara Örtüsü

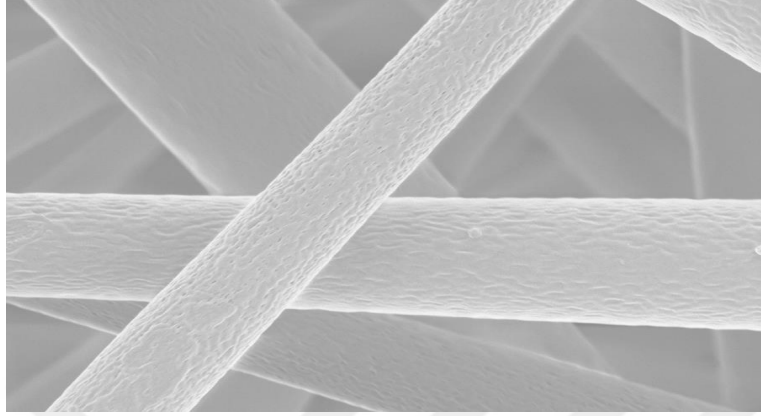
Yara örtüsünün temel görevi, yaralı bölgeye optimum koşulları sağlamaktır. İdeal bir yara örtüsü aşağıdaki özellikleri taşımalıdır(Aruan, Sriyanti, Edikresnha, Suciati, & Munir, 2017; Panichpakdee, Pavasant, & Supaphol, 2016):

- Biyoyumlu ve biyobozunur
- Alerjik etki oluşturmamak(Panichpakdee et al., 2016)
- Mekanik dayanıklılığı yüksek(Cai et al., 2016)
- Enfeksiyon oluşumuna izin vermemek
- Gerekli nemli ortamı sağlamak
- Elastikiyetini korumak
- İyileşme sürecinden sonra bölgeden kolay çıkarılmak(Dumont et al., 2018)
- Yaralı bölgede gaz alışverişine izin vermek
- Doku sıcaklığını korumak
- Yara iyileşmesini hızlandırmak
- Yara izi oluşumunu önlemek
- Tahriş edici olmamak

2.4. NANOFİBER YAPILARIN ÖZELLİKLERİ VE KULLANIM ALANLARI

Nanofiberler uzunluk/çap oranı ve yüzey alanı/hacim oranı yüksek, küçük gözenek yapısı ve gözenek sayısı fazla, birbirine bağlı ağ yapısı oluşturabilme, tek boyutlu morfolojik özelliklere sahip yapılardır(Lim, 2017; Mutlu, 2014). Nanofiberlerin çap boyutu 1000 nm altındadır. Yara örtü malzemesi uygulamalarında sıklıkla kullanılan bu yapıların gözenek

boyutu 500-1000 nm arasındadır. Esnek özellikte olan bu nanofiberlere etken madde katkısı yapılabilir(Arthanari et al., 2016; Gomes et al., 2015; Lakshminarayanan et al., 2014). Şekil2.10’da PLGA polimerinden üretilmiş örnek fiber yapısı verilmiştir.



Şekil 2.10 PLGA polimerinden elde edilen nanofiber yapısı

2.4.1. Nanofiber Uygulama Alanları

Nanofiberler yüzey alanı, gözeneklilik esneklik, mekanik dayanıklılık gibi avantajlara sahip olduğu için geniş kullanım alanlarına sahiptir. Bu kullanım alanları Şekil2.11’de verildiği gibi genel başlıklar halinde şu şekildedir: doku mühendisliği, yara örtü malzemesi, ilaç salınım uygulamaları, koruyucu giysiler, filtrasyon uygulamaları, kompozitler, sensörler, tarımsal uygulamalar.



Şekil 2.11 Nanofiberlerin birçok özelliği bir arada bulundurmasıyla uygulama alanları genişlemektedir.

2.4.1.1 Nanofiberlerin Biyomedikal Alanda Uygulamaları

Nanofiberlerin biyomedikal alanda birçok uygulaması vardır. Bunlar; yara örtüleri, ilaç salınımı, tıbbi protezler, teletıp, doku iskeleleridir.

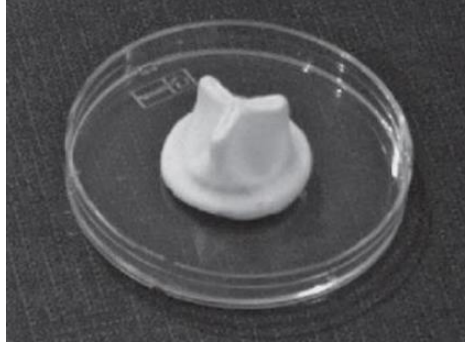
Yara örtüsünün görevi, yarayı koruyup yara bölgesinden sızıntının vücut dışına atılmasını, dış mikroorganizmaların yaraya girişini önlemeyi, yaranın görünümünün düzeltilmesini ve yaranın daha hızlı iyileşmesini sağlamaktır. Bu görevler için yara örtüsü fiziksel bir bariyer olmasının yanında aynı zamanda da oksijen ve nemin geçişine izin vermelidir. Gözenekli yapısıyla yara sızıntısını vücuttan uzaklaştırma, oksijen ve nemin girişine elverişli olma, mikroorganizmaları önlemesi gibi avantajlı durumlar nanofiberlerin yara iyileştirme çalışmalarında kullanımı genişletmektedir(Zeytuncu, 2014). Şekil2.12’de verilen örnek yara örtüsü uygulamasıdır.



Şekil 2.12 Nanofiber yara örtüsü (OctaMed)

Nanofiberlerin geniş yüzey alanları, ilaç salınım uygulamalarında önemli avantajlar sağlamaktadır. Genellikle nanofiber üretim öncesi polimer çözeltisine ilaçlar karıştırılmakta, karışımdan elde edilen nanofiberlerin geniş yüzey alanlarına çok küçük parçacıklardan oluşan ilaçlar tutundurularak, ilaç polimer arasındaki etkileşime bağlı olarak değişik yapılar oluşturabilmektedirler(Suepueren et al., 2007).

Kan damarları gibi tıbbi protez uygulamalarında nanofiberler kullanılabilir. Biyoyumlu olan nanofiberler sert doku protezi üzerine gözenekli film şeklinde yerleştirilebilirler ve insan vücudu içine implante edilebilirler. Bu kaplama film ile insan dokusu ve protez aleti arasında bir ara faz olarak çalışır(Dinç, 2013). Şekil2.13’de verilen kalp kapakçığı nanofiber yapıda üretilmiş tıbbi protez uygulamasıdır.



Şekil 2.13 Nanofiber ile üretimi gerçekleştirilen kalp kapakçığı(Zeytuncu, 2014)

Sağlık gözetimi için temel fonksiyonlara sahip olan ve yaşam gömleği olarak bilinen biyomedikal bir giysi solunum hızı, bedenin genel duruşu, kalp sesi veya kasılması gibi fonksiyonlar hakkında anlık veriler ölçülerek, ilgili sağlık birimine rapor edilebilmektedir. Tanımlanan bu süreç, elektrik iletkenliğine sahip nanofiberler yardımıyla gerçekleştirilebilmektedir(Söylemez, 2016).

Doku mühendisliği, yaşayan hücreler kullanılarak vücut içi implantasyonlar için biyolojik değiştirilebilir parçalar geliştirmeyi ve/veya dokuların daha etkin bir şekilde büyütülmesini içerir. Doku mühendisliğinde amaç onarmak, yenilemek, doku veya organın özelliklerini iyileştirmektir. Doku iskeleleri, hücre büyüme teknolojileri gibi alanlarda çalışmalar gerçekleştirilir. Nanofiberlerin gözenek boyutu ve sayısı, yüzey alanının genişliği ve biyoyumlu özelliklerde olabilmesi bu çalışmalarda kullanılabilir olmasını sağlamıştır(Zeytuncu, 2014).

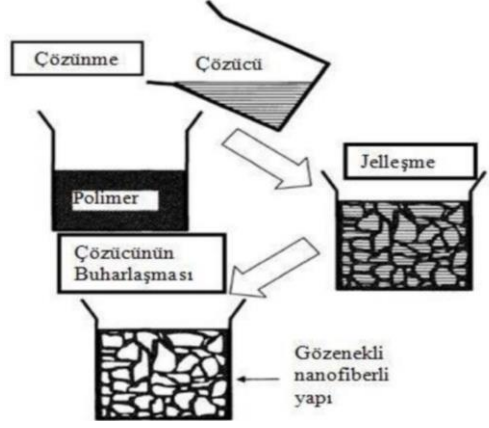
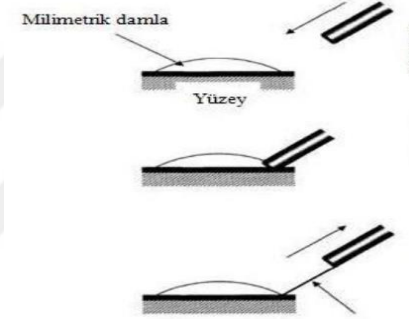
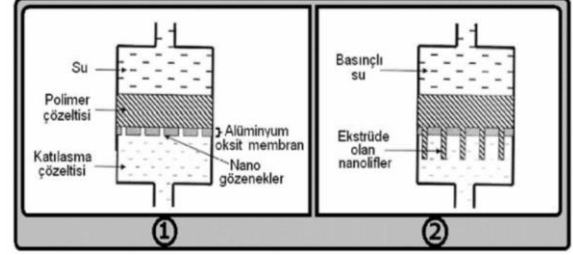
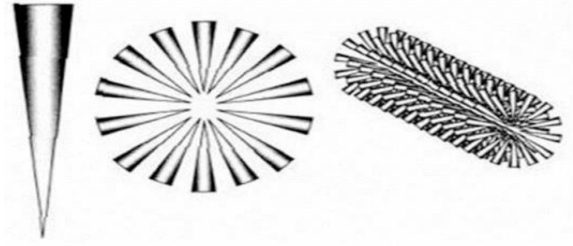
2.4.2. Nanofiber Üretim Yöntemleri

Nanofiber üretimi için birçok teknik kullanılmaktadır. Bu tekniklerden bir kısmı laboratuvar ortamlarında(Tablo2.3) gerçekleşirken, bir kısmı da endüstriyel ortamlarda(Tablo2.4) gerçekleşir. Bu çalışmada kullanılan elektro-eğirme tekniği ile hem laboratuvar ortamında hem de endüstriyel ortamda nanofiber üretimi gerçekleştirilebilmektedir(Karahan, 2017). Nanofiber üretim teknikleri Tablo 2.2’de verilmiştir.

Tablo 2.2 Nanofiber Üretim Teknikleri

LABORATUVAR	ENDÜSTRİYEL
Faz ayırma	Fibrilasyon
Çekme	Bikomponent
Şablon Sentezi	Meltblowing
Kendiliğinden düzenlenme	Spunbond

Tablo 2.3 Laboratuvar Ölçekli Üretim teknikleri ve özellikleri

ÜRETİM TEKNİĞİ	ÖZELLİKLER	ŞEMATİK GÖSTERİM
FAZ AYIRMA	<p>*5 adımda gerçekleştirilir:</p> <ol style="list-style-type: none"> 1. Polimer çözme 2. Jelleşme 3. Çözücü uzaklaştırma 4. Dondurma 5. Soğuk kurutma <p>*Üretim tekniği uzun ve karmaşıktır. Fiber çapı ayarlanamaz(Mutlu, 2014).</p> <p>*Kullanılabilecek polimer çeşitliliği azdır(Ramarkrishna, Fujihara, Teo, Lim, & Ma, 2005).</p>	 <p>Şekil 2.14 Faz ayırma yöntemiyle nanofiber üretimi(Ramarkrishra et al.)</p>
ÇEKME	<p>*Yüzeyde bulunan polimer damlacığına mikropipet daldırılır ve çekilir. Nanofiberler toplanır.</p> <p>* Her çekme işleminde bir fiber oluştuğu için seri üretim zordur(Esentürk, Erdal, & Güngör, 2016).</p>	 <p>Şekil 2.15 Çekme yöntemi(Ramarkrishra et al.)</p>
ŞABLON SENTEZİ	<p>*Polimer çözeltisi su basıncının etkisiyle membran içerisine zorlanır, polimer çözeltisi membranın diğer ucundan çıkarken katılaşır ve nanofiber yapı oluşur(Kiremitler, 2016).</p>	 <p>Şekil 2.16 Şablon sentezi yöntemi(Karahan, 2017)</p>
KENDİLİĞİNDEN DÜZENLENME	<p>*Moleküllerin kendi aralarında kurdukları hidrojen bağları, iyonik bağları gibi etkileşimlerle müdahale olmaksızın kendiliğinden nanofiber üretim tekniğidir (Kiremitler, 2016; Mutlu, 2014)</p>	 <p>Şekil 2.17 Kendiliğinden düzenlenme yöntemiyle oluşturulan nanofiber yapı</p>

Tablo 2.4 Endüstriyel Ölçekli Üretim Teknikleri ve Özellikleri

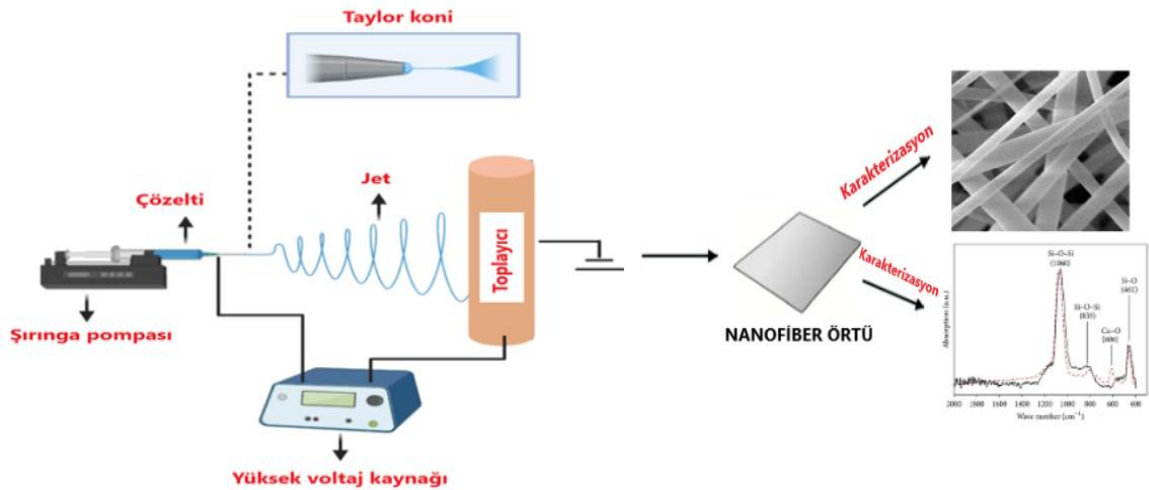
ÜRETİM TEKNİĞİ	ÖZELLİKLER	ŞEMATİK GÖSTERİM
FİBRİLASYON	*Selüloz yapıdaki fiberler 1 mikrondan daha küçük çaplı fiberciklere dönüşür(Serinçay, 2014).	
BİKOMPONENT	*İki farklı polimerden aynı çeşit nanofiber oluşturulmasıdır(Zeytuncu, 2014). *Kesit şekillerine göre adlandırılırlar(Karahan, 2017).	<p>denizde adacık ayırma tipi dilimli pasta</p> <p>dilimli pasta çoklu tabaka</p> <p>Şekil 2.18 Bikomponent üretim tekniği</p>
MELTBLOWİNG	*Polimerin ekstruderde eritilme işlemiyle başlayan üretim süreci, filtrasyon adımından sonra pompayla fişkırtılmakta ve hava üfleme ile inceltilmektedir(Karahan, 2017). *Yüksek miktarda hava akımı kullanılarak nanofiber yapılar inceltilir.	<p>ham madde</p> <p>ekstruder filtre pompa karıştırıcı</p> <p>hava ısıtıcı hava üretim kafası hava emişi</p> <p>toplayıcı kalender sarıcı</p> <p>Şekil 2.19 Meltblowing tekniği</p>
SPUNBOND	*Meltblowing yöntemiyle benzer olan bu yöntemde tek farklılık kullanılan havanın hacmi ve sıcaklık değeridir. *Üretim sırasında fiberler germe işlemine tabi tutulmaz(Karahan, 2017).	<p>Polimer Filtre Pompa</p> <p>Ekstruder İnceltme Sıkıştırma Silindirleri Sarım</p> <p>Şekil 2.20 Spunbond tekniği</p>

2.5. ELEKTRO-EĞİRME YÖNTEMİ

Elektro-eğirme yöntemiyle üretilen nanofiberler biyomedikal alanda ilaç dağıtım sistemlerinde(Sridhar et al., 2015), kemik doku(Naskar et al., 2017), sinir doku(J. Hu et al., 2017), yara iyileştirme çalışmalarında(J. Hu et al., 2017) yer almaktadır. Diğer nanofiber üretim tekniklerine göre bu yöntemle üretilmiş nanofiberler; cilt ECM yapısını taklit edebilme, yara iyileşme sürecinde meydana gelen hücre büyümesini/hücre göçünü destekleyebilme gibi özellikleri taşır(Braghirolli, Steffens, & Pranke, 2014). Ayrıca elektro-eğirme sürecinde nanofiber yapılar biyoaktif moleküller de eklenebilir(Norouzi, Shabani, Ahvaz, & Soleimani, 2015).

2.5.1. Elektro-eğirme Cihazı

Elektro-eğirme cihazı şırınga pompası, Şekil2.21’ de verildiği gibi yüksek voltaj kaynağı ve toplayıcı olmak üzere 3 ana bileşenden oluşur(X. Hu et al., 2014). Polimer çözeltisiyle dolu bir şırıngaya metalik bir iğne bağlanır ve bir şırınga pompası kullanılarak polimer çözeltisi iğneye doğru sabit bir besleme hızında beslenebilir. 1-30 kV aralığında uygulanan yüksek voltajla polimer çözeltisi elektriklenir. İğne ucundan çıkan polimer damlası elektrik alan etkisiyle Taylor koni formuna dönüşecektir. Belirli bir eşik değeri aşıldığında toplayıcıya yönelen çözeltide çözücü buharlaşır ve katı fiber formunda toplayıcı üzerinde birikir(Çolpankan, 2019; X. Hu et al., 2014). Toplayıcı üzerinde oluşan nanofiber örtünün morfolojik, mekanik, antibakteriyel özelliklerinin durumu test edilir.



Şekil 2.21 Elektro-eğirme cihazının bileşenleri

2.5.2 Elektro-eğirme Sürecini Etkileyen Parametreler

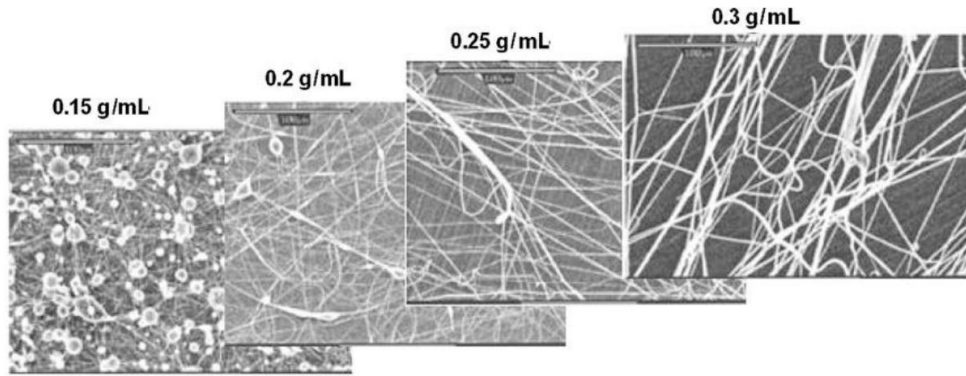
Elektro-eğirme yöntemiyle elde edilen nanofiberlerin fiber çapları, homojenliği, boncuk oluşumu gibi özellikleri bu sürece etki eden parametrelerin değiştirilmesinden etkilenir.

Bu parametreler 3 grupta incelenir: polimer çözeltisine ait değişkenler, yapılan işleme ait değişkenler ve çevresel faktörlerdir(Tort & Acartürk, 2015).

2.5.2.1. Polimer Çözeltisine Ait Değişkenler

Konsantrasyon, yüzey gerilimi, homojenlik, moleküler ağırlık, çözelti iletkenliği gibi polimer çözeltisine ait parametreler değiştirilerek nanofiber kalitesinin derecesi artılabilir(X. Hu et al., 2014).

Konsantrasyon düştükçe boncuksu yapılar meydana gelirken konsantrasyon artışıyla düzgün fiber yapılar oluşur. Çok yüksek konsantrasyonda çalışmak üretimi zorlaştırır(Bhardwaj & Kundu, 2010). Şekil2.22’de verilen SEM görüntülerinde konsantrasyon artışıyla nanofiberlerde meydana gelen boncuksu yapıda azalma görülmüştür.



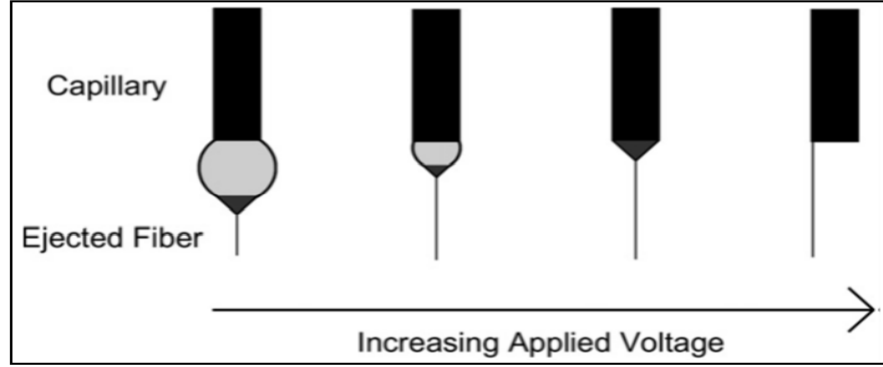
Şekil 2.22 Farklı konsantrasyonlarda PLGA nanofiberlerin SEM görüntüleri(Kumbar, James, Nukavarapu, & Laurencin, 2008)

Çözelti viskozitesi arttıkça çözücü moleküllerinin polimer molekülleriyle etkileşimi artar ve boncuksu yapılar azalır. Daha düzenli nanofiber yapılar oluşur. Yüzey geriliminin azaltılması da boncuksu yapıları azaltır(Eminoğlu, 2013).

Moleküler ağırlık, çözelti içindeki polimer yapıların uzunluğunun göstergesidir. Elektro-eğirme işlemi sırasında, nanofiber oluşumu için gereken yeterli viskozitenin sağlanması hedefiyle yüksek moleküler ağırlığa sahip polimerlerle çalışılır. Düşük moleküler ağırlığa sahip polimerler ile çalışıldığında boncuksu yapılar artmıştır(Erdem, 2013).

2.5.2.2. İşlem Parametrelerine Ait Değişkenler

Uygulanan voltaj arttıkça iğne ucunda bulunan çözelti damlacığı Taylor konisi oluşumundan sonra toplayıcıya daha hızlı ilerler ve daha ince fiberler elde edilir. Şekil 2.23’de artan voltaj değerleriyle jette meydana gelen değişimler verilmiştir.



Şekil 2.23 uygulanan voltajdaki artışla jette meydana gelen değişim(Sill & Von Recum, 2008)

Düşük akış hızı ile besleme yapıldığında Taylor konisinde bozulmalar meydana gelir. Çok yüksek akış hızında ise nanofiber yapıların çapı ve gözenek büyüklüğü artar ve boncuksu yapılar gözlemlenir(Bhardwaj & Kundu, 2010; Subbiah, 2004).

Toplayıcı ile iğne ucu arası mesafe azaldıkça yeterince çözücü buharlaşması için zaman olamayacağından boncuk oluşumları ve kalın çapta fiberler meydana gelir(Geng, Kwon, & Jang, 2005).

2.5.2.3. Çevresel Faktörler

Sıcaklık artışıyla viskozitede ve yüzey geriliminde meydana gelen düşüş ile daha ince fiberler elde edilir(Casper, Stephens, Tassi, Chase, & Rabolt, 2004). Bağıl nem artışı ile buharlaşma hızının azalması sonucu fiber çaplarında artış olmuştur(Karahan, 2017). Atmosfer basıncından düşük basınçlarda kararsız jet oluşumu meydana gelmiştir(Zeytuncu, 2014).

2.6. GÜMÜŞ NANOPARTİKÜL

Gümüş nanopartikülün anti-bakteriyel, anti-fungal, stabil fiziksel ve kimyasal özelliklere sahip olması bilimsel çalışmalarda ilgi odağı haline getirmiştir(Beyene, Werkneh, Bezabh, Ambaye, & technologies, 2017; Singh, Mehta, Rawat, & Basu, 2018). AgNP üzerine yapılan çalışmaların bir kısmında farklı boyut ve şekillerde istenen etkinin de farklı olduğu görülmüştür. Örneğin küçük nanopartiküllerin anti-bakteriyel etkisinin büyük nanopartiküllere göre daha fazla olduğunun ve bu durumun sebebi olarak küçük nanopartiküllerin bakteri hücre zarına daha kolay girebilmelerinden kaynaklandığı düşünülmektedir(Pal, Jana, Manna, Mohanta, & Manavalan, 2011). AgNP'nin geniş yüzey alanlarına sahip olmaları bakterilerle temasını artırarak gelişmiş anti-bakteriyel etki göstermektedir. Anti-bakteriyel etki göstermesiyle tıbbi alanda geniş kullanım yerlerine sahip olmuştur. Yara örtüleri, kataterler, protezler, cerrahi malzemeler bu alanlardan bazılarıdır(Tolaymat et al., 2010).

2.6.1. Gümüş Nanopartikül Üretim Metotları

Yapısal olarak üretim metotlarına bakıldığında, nanopartiküllerin üretim yöntemlerinde “*yukarıdan aşağı (top down)*” ve “*aşağıdan yukarı (bottom up)*” olmak üzere iki yaklaşım vardır. Nanopartiküllerin kimyasal ve yeşil sentez metoduyla üretimi, küçük malzemelerden büyük malzemeler oluşumunu sağlayan aşağıdan yukarıya (bottom up) yöntemine girmektedir. Nanopartiküllerin fiziksel sentez metoduyla üretimi ise, büyük malzemelerden küçük malzemeler oluşumunu sağlayan yukarıdan aşağı (top down) yöntemine girmektedir(Bhagyaraj & Oluwafemi, 2018; De Matteis, Rinaldi, & nanoparticles, 2018; Singh, Kaur, Kaur, Bajaj, & Rawat, 2016). AgNP üretimi fiziksel, kimyasal veya biyolojik sentez(yeşil sentez) metotlarıyla gerçekleştirilebilir(Şekil2.24).

AgNP fiziksel sentez metoduyla üretimi atmosferik basınç altında tüp fırında gerçekleştirilir. Buharlaştırma ve yoğunlaştırma işlemine tabi tutulur(Ünal, 2019). Fiziksel sentez metodunda alev sentezi, termal buharlaşma, Plazma arkı gibi yaklaşımlar bulunur(Siavach Iravani, Korbekandi, Mirmohammadi, & Zolfaghari, 2014). Üretimin hızlı ve tehlikeli kimyasal maddeler içermemesi bu yöntemi avantajlı hale getirirse de verimin düşük, enerji tüketiminin fazla, ekipmanın pahalı olması bu yöntemin dezavantajlı kısımlarıdır(Shameli et al., 2010).

Kimyasal sentez metodunda indirgeme araçları olarak gümüş tuzu, kaplama maddeleri veya indirgeyiciler kullanılır. Gümüş tuzu olarak kimyasal stabilitesi ve düşük maliyeti ile ön plana çıkan gümüş nitrat tercih edilir(Tien et al., 2008). Sitrat, askorbat, hidrojen

gazı, borohidrit indirgeyiciler olarak kullanılır(Pyatenko, Yamaguchi, & Suzuki, 2007). Bu sentezde kimyasal buhar biriktirme, sol-jel prosesi, kimyasal çökeltme gibi yaklaşımlar bulunur(Rajput & Technology, 2015).

Fiziksel ve kimyasal sentez metotlarının yanı sıra daha ucuz, güvenli ve toksik maddelere ihtiyaç duymadan bitki ve mikroorganizmaları kullanarak AgNP üretimi gerçekleştirilen 'Yeşil Sentez' adlı üretim metodu üzerinde çalışmalar yoğunlaşmıştır(Khan et al., 2013).

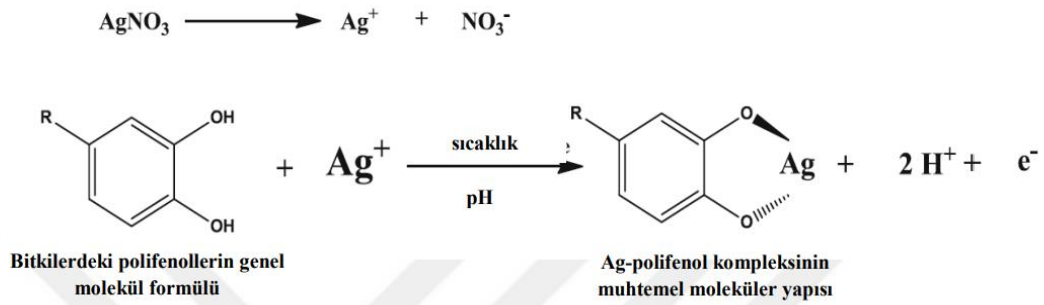


Şekil 2.24 Gümüş Nanopartikül Üretim Metotları

2.6.2. Yeşil Sentez

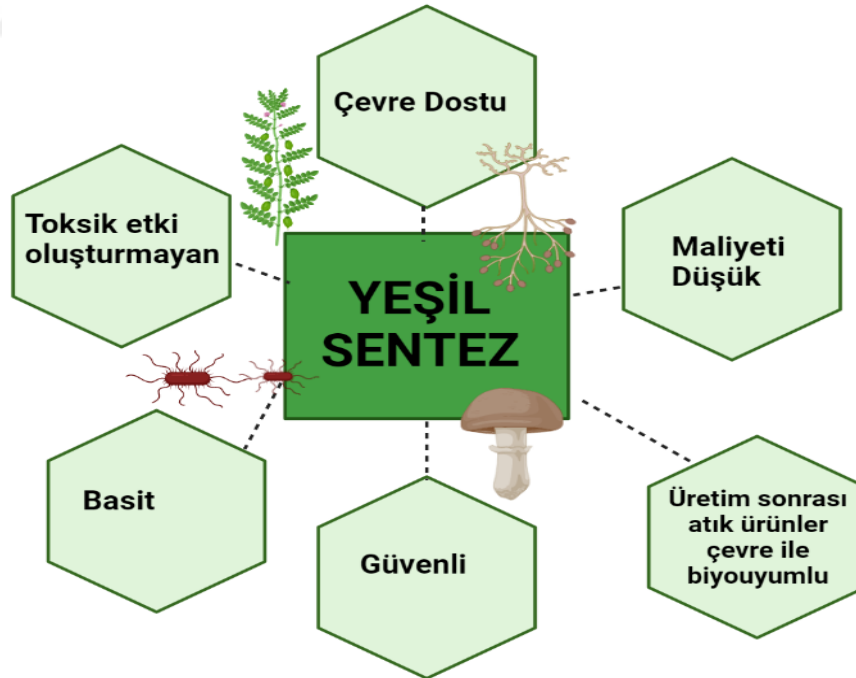
Yeşil sentezde temel olarak 4 ana odak noktası vardır: güvenli çözücüler kullanmak, biyolojik işlemler uygulamak, çevre dostu olmak ve verimli dönüşüm sürecini kullanmak(Das & Chatterjee, 2019). Nanopartikül üretimi için yeşil sentezde indirgeyici ajanlar olarak bitkiler, mantarlar, mikroorganizmalar ve biyolojik parçalanabilen polimerler kullanılabilir(Kharissova, Dias, Kharisov, Pérez, & Pérez, 2013). Nanopartiküller bitkinin kök, gövde, yaprak gibi belirli kısımlarının özütü kullanılarak sentezi sağlanabilir. Bitki özütünde suda çözülmüş halde bulunan flavonoidler, aldehitler, terpenoidler, ketonlar, amitler, karboksilik asitler, organik asitler, kinonlar,

fenol türevleri gümüşün indirgenmesinde rol alan kimyasallardır(K. J. Rao & Paria, 2013). Ek olarak bitki özütünde bulunan kimyasalların metal iyonlarını indirgemesi dışında oluşan stabilize ettiği de düşünülmektedir(Siavash Iravani, 2011). AgNP için oluşum mekanizması Şekil2.25’de verilmiştir. Bitki özütünde bulunan kimyasallar, Ag⁺ indirgemesiyle AgNP oluşumunu sağlamaktadır(Singh et al., 2016).



Şekil 2.25 AgNP üretim sürecinde indirgeme mekanizması(Annavaram, Posa, Uppara, Jorepalli, & Somala, 2015)

Yeşil sentezin fiziksel ve kimyasal metotlara göre birçok avantajlı durumları vardır. Bu avantajlar Şekil2.26’da verilmiştir.



Şekil 2.26 Yeşil sentezin avantajları(Gan, Li, & Bio/Technology, 2012; Mboniyirivuze et al., 2015)

2.7. TARÇIN BİTKİSİ

Tarçın dünya genelinde sağlık alanında kullanılan bir baharat çeşididir. Srilanka ve Güney Hindistan'da yetişen bu baharat *Cinnamomum* cinsinden bir ağacın kabuk kısmından elde edilir(Shreaz et al., 2016). Yaprak dökmeyen bu ağaç 10-15 metre yüksekliğe ulaşabilir(Jakhetia et al., 2010). Tarçın cinnamaldehyde, cinnamate, cinnamic acid gibi bileşikler içerir(Tablo2.5). Çalışmada kullanılan tarçın bitkisinin Şekil2.27'de verilen kabuk kısmında en çok bulunan bileşik %80 oranında cinnamaldehyde'dir(P. V. Rao, Gan, & Medicine, 2014).

Tablo 2.5 Tarçın Kısımlarının Kimyasal Bileşenleri(Hamidpour & Shahlari, 2015)

Kısımlar	Baskın Bileşen
Yapraklar	Eugenol (%70 - %95)
Kabuk	Cinnamaldehyde (%65 - %80)
Meyve	trans-cinnamyl acetate (%42 - %54)
Çiçekler	Cinnamyl acetate % 42



Şekil 2.27 Tarçın bitkisi ve kabuk hali

Çok geniş kullanım alanlarına sahip olan tarçın çeşitli biyolojik aktivitelere yardımcı olabilmektedir. Doku yenilenmesini ve rahimdeki kan dolaşımını artırır(Shreaz et al., 2016), kan pıhtılaşma süresini azalttığı(Hossein, Abolfazl, Mahdi, & Ali, 2013), anti-diyabetik(Krishnakumar et al., 2014), anti-inflamatuvar(Tung, Yen, Lin, & Chang, 2010), anti-fungal(Mollazadeh & Hosseinzadeh, 2016), anti-bakteriyel(Dorri, Hashemitabar, Hosseinzadeh, & toxicology, 2018; Parthasarathy & Thombare, 2013), anti-anjiyogenez(Hamidpour & Shahlari, 2015), anti-HIV1 aktivitesi(Connell et al., 2016), anti-Alzheimer gibi etkili olduğu alanlar yapılan çalışmalarla desteklenmiştir.

2.8. POLİMER

Polimerler, birbirini tekrar eden çok sayıdaki monomerlerin dizilmesiyle oluşan molekül topluluğudur. Genel olarak 3 gruba ayrılırlar: Termoplastikler, Termosetler ve Elastomerlerdir.

Termoplastik; belirli sıcaklık altında şekil değiştirebilen, soğutulduğunda ise eski haline dönebilen polimerlerdir. Termoplastik polimerler lineer moleküllere sahiptir ve bu moleküller arasında kovalent bağlar bulunmaktadır. Bir termoplastik polimer ısıtıldığında moleküller arası bağlar zayıflar ve polimere kolayca şekil verilebilir. Malzeme soğuduğunda ise moleküller arası kuvvet artar ve eski haline döner. Termoplastik polimer örnekleri içinde Polipropilen(PP), Polietilen(PE), Poly(lactic-co-glycolic acid)(PLGA) verilebilir. Bu polimerler geri dönüştürülebilir, darbe dayanımı yüksek, yeniden şekillendirilebilme gibi özelliklere sahiptir(Tekno, 2019).

Termoset; sıcaklık değişimi sonrasında verilen şekle göre sertleşen ve katılaştıran polimerlerdir. Bu sertleşme işlemi polimerin molekül zincirleri arasında geri dönüşü olmayan bir işlemdir. Termoset polimerler tekrardan eritilememektedir ve geri dönüşümü olmayan malzemelerdir. Başlıca termoset polimerlere epoksi reçinesi, poliüretanlar, kauçuk örnek verilebilir. Bu polimerler, termoplastik polimerlere göre mekanik özellikler ve ısıl dayanıklılık bakımından daha üstün malzemelerdir. Ancak bu özelliklerinin yanında termoset polimerler kırılgan yapıya sahiptirler(Fusun, 2013).

Elastomer; esnek ve elastik yapıda olan bu polimer çeşitleri, düşük gerilim altında(oda sıcaklığı) uzunluğunun en az iki katı kadar uzarlar ve gerilimin kaldırılmasıyla hemen eski boyutuna dönerler. Elastomer malzemelerde polimer zincirleri belli seviyede hareket serbestliğine sahiptirler. Elastomer polimerlere polibütadien(PB), stiren bütadien(SBR), nitril kauçuk örnek verilebilir(Beşergil, 2003)

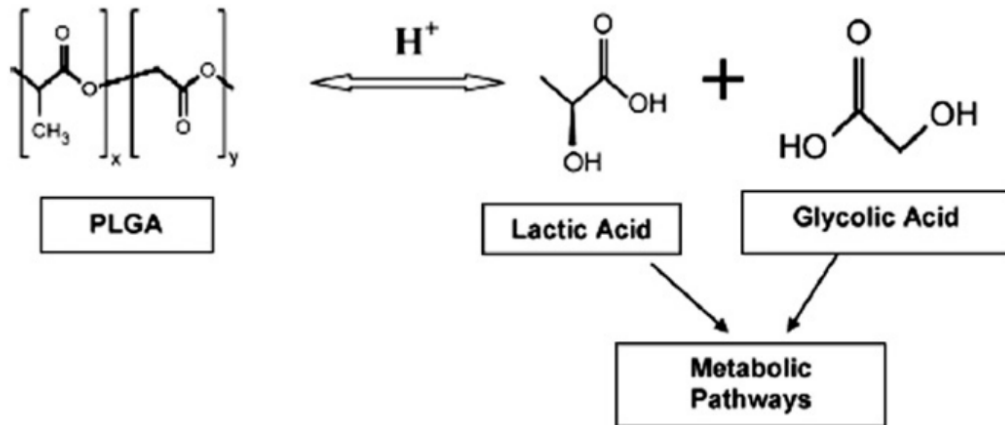
Oluşum yapılarına göre doğal ve sentetik olmak üzere 2 grupta incelenirler. Doğal polimerler grubunda polisakkaritler(selüloz, kitin), DNA, RNA, proteinler(kolajen, jelatin) yer almaktadır. Sentetik polimer grubunda poli-L-laktik asit (PLLA), polietilen glikol, polivinil alkol, poli(ϵ -kaprolakton) (PEC), poli(laktik-co-glikolik asit) (PLGA), polivinil prolidon (PVP), poliüretan (PU) örnek verilebilir(Mutlu, 2014).

2.8.1 PLGA Polimeri ve Kimyasal Özellikleri

PLGA, poli laktik asit(PLA) ve poli glikolik asit(PGA) monomerlerinden oluşan termoplastik özellikte sentetik bir kopolimerdir(Mir, Ahmed, ur Rehman, & Biointerfaces, 2017). Şekil2.28’de PLGA polimerinin hidrolizi sonucu açığa çıkan monomer yapılar gösterilmektedir. Amorf yapıya sahip olan PLGA, 45 ila 55°C aralığında camsı geçiş sıcaklığına sahiptir. Dimetilformamid, diklorometan, kloroform gibi çözücülerde çözünebilir.

Polimer zincirindeki laktit ve glikolid molar oranı, kristallik derecesi, camsı geçiş sıcaklığı, mekanik mukavemet, şişme davranışı ve hidrolize etme yeteneği gibi PLGA'nın birçok özelliğini doğrudan etkiler. PGA, metil yan zinciri içermez ve PLA'ya göre oldukça kristallidir. PLA, PGA'nın aksine metil yan zinciri nedeniyle daha hidrofobiktir, bu nedenle yüksek laktit içeriğine sahip PLGA kopolimerleri daha az hidrofildir ve daha yavaş bozunur(Mir et al., 2017).

PLGA; biyoyumlu, biyobozunur, mekanik dayanıklılığı yüksek, elektro-eğirme süreci daha kolay olması, klinik deneyimin yapılan çalışmalarla kazanılmış olması, FDA ve EMA tarafından onaylı olması medikal çalışma alanlarını genişletmiştir(Danhier et al., 2012; Locatelli & Franchini, 2012; Makadia & Siegel, 2011; Peres et al., 2017).



Şekil 2.28 PLGA hidrolizinin sonucunda PLA ve PGA ortaya çıkar(Danhier et al., 2012).

Bu çalışma için kaynak araştırması yapılmıştır. Araştırma sonuçlarından yara iyileştirme üzerine PLGA polimeri, AgNP ve tarçın bitkisinin yer aldığı çalışmalar verilmiştir.

2.9. PLGA Polimerinin Yara İyileştirme Çalışmalarına Katkısı

PLGA-PEG-PLGA iki triblok kopolimerinden oluşan, glikopeptid antibiyotik olan teikoplanin (TPN) yüklü termojel geliştirilmiştir. In vitro çalışmalar, TPN yüklü termojel sisteminin istenen doku yapışkanlığını sergilediğini ve üç haftadan fazla bir süre boyunca hızlı ardından yavaş bir şekilde TPN'nin sürekli salınımını gerçekleştirdiğini göstermiştir. Ayrıca, TPN yüklü termojel formülasyonunun etkinliğini değerlendirmek için Sprague-Dawley (SD) sıçanlarında yara modeli oluşturulmuştur. Genel ve histopatolojik gözlemler, termojel formülasyonu ile tedavinin, enflamasyon tepkisini azalttığını, kollajen dağılımını desteklediğini, anjiyogenezi geliştirdiğini ve SD sıçanların yara kapanmasını ve olgunlaşmasını hızlandırdığını ortaya çıkarmıştır(Xu et al., 2019).

PLGA/ipek fibroin (SF) nanofiber bazlı çinko oksit Nanoparçacıkları(ZnO NP) olan ve olmayan PLGA/SF membranlar üretilmiştir ve bunları çeşitli fizikokimyasal ve biyolojik özellikler için kapsamlı bir şekilde karakterize edilmiştir. Taramalı elektron mikroskopu (SEM), pürüzsüz lifler ve lif çapında ZnO derişimine bağlı artış ortaya çıkarmıştır. İpek fibroinin varlığından dolayı hafif bir antioksidan aktivite kaydedilmiştir. In vitro antibakteriyel testler, antibakteriyel aktivitede ZnO derişimine bağlı bir artış ortaya çıkarmış ve PLGA/SF/%3 ZnO (PSZ3), E. coli ve S. aureus'a karşı tamamen aktif kalmıştır. PSZ3 membranı yaranın erken kapanmasını kolaylaştırmıştır. Yeniden epitelizasyon, granülasyon dokusu oluşumu, kollajen birikimi ve anjiyogenez, ZnO yüklü kompozit membranları tarafından önemli ölçüde arttırılmıştır(K. Huang et al., 2021).

Diyabetik sıçanlarda yara iyileşmesini hızlandırmak için PLGA nanofiber membranlar(NFM) , kurkumin/PLGA nanofiber membranlar(PC NFM) ve heparin katkılı kurkumin/PLGA nanofiber membranlar (PCH NFM) üretilmiştir. PCH NFM'ler daha hızlı kurkumin salınımı göstermiştir. PCH'nin hızlandırılmış yeniden epitelizasyon oranı, daha yüksek anjiyogenez oranı ve yara bölgesinde daha fazla kolajen birikimi ile tüm membranlar arasında en hızlı yara kapanma oranını sergilediğini göstermiştir(Liao, Lai, Kuo, Chen, & C, 2021).

Güdümlü Kemik rejenerasyonu(GBR) için elektro-eğirme yöntemiyle PLGA/poli(kaprolakton) (PCL) katkılı oktakalsiyum fosfat (OCP) nanofiber membranlar üretilmiştir ve kemik iliği mezenkimal kök hücrelerinin (MSC) membranlar üzerindeki osteojenik davranışı araştırılmıştır . OCP'nin PLGA/PCL'ye farklı oranları ayarlanarak, PLGA/PCL, PLGA/PCL/OCP(%2), PLGA/PCL/OCP(%4) dahil olmak üzere üç hibrit stent hazırlanmıştır. PLGA/PCL/OCP membranları, PLGA/PCL ile karşılaştırıldığında fiber çapında bir azalma göstermiş ve bu da gelişmiş mekanik mukavemete yol açmıştır. In vitro çalışmalar, PLGA/PCL/OCP membranlarının hücre yapışmasını, yayılmasını ve çoğalmasını PLGA/PCL'den daha iyi desteklediğini göstermiştir(Wang et al., 2019).

Sürekli glukofaj salınımı sağlayan nanolifli ilaç yüklü kolajen/ PLGA iskele zarları geliştirilmiştir. PLGA, glukofaj ve kolajen ilk olarak 1,1,1,3,3,3 heksafloro-2-propanol içinde çözündürülmüş ve elektro-eğirme yöntemi ile nanofiber membranlara dönüştürülmüştür. Farmasötiklerin membranlardan in vivo ve in vitro salım hızlarını karakterize etmek için yüksek performanslı sıvı kromatografi deneyi kullanılmıştır. Nanofiber zarlardan üç haftadan fazla bir süre boyunca yüksek konsantrasyonlarda glukofaj salınmıştır. Glukofaj yüklü kolajen/PLGA nanofiber zarları, kolajen/PLGA nanofiber zarlarından daha hidrofilik çıkmıştır. Glukofaj yüklü membranları kullanan diyabetik sıçanların kolajen içeriği, kontrol sıçanlarınınkinden daha yüksek çıkmıştır. Glukofaj yüklü kolajen/PLGA membranları, diyabetik yaraların iyileşmesini belirgin şekilde desteklemiştir(Lee et al., 2015).

2.10. Gümüş Nanopartiküllerin Yara İyileştirme Çalışmalarına Katkısı

Diyabetik hastalarda yara iyileşmesini hızlandırmak için gümüş nanoparçacık emdirilmiş kitosan-poli etilen glikol (PEG) hidrojel geliştirilmiştir. Çalışmada, kronik diyabetik yaraların tedavisi için kitosan-PEG-Gümüş Nitrat bazlı hidrojel kullanarak gümüş nanopartikülün sürekli ve yavaş salınımı formüle edilmiştir. Kitosan-PEG ön polimer çözeltisi içeren gümüş nanoparçacık, gümüş nitratın PEG ve kitosan çözeltisi ile indirgenmesi ve böylece gümüş iyonlarının gümüş nanoparçacıklara dönüştürülmesiyle sentezlenmiştir. Elde edilen ön polimer solüsyonu daha sonra istenen hidrojel oluşturmak için glutaraldehit kullanılarak çapraz bağlanmıştır. Geliştirilen gümüş nanoparçacık emdirilmiş kitosan hidrojel, daha yüksek bir gözeneklilik, daha yüksek derecede şişme ve daha yüksek su buharı geçiş oranı, daha iyi antimikrobiyal ve antioksidan özellikler ve in vitro olarak geliştirilmiş yara iyileştirme kapasitesi göstermiştir(Masood et al., 2019).

Polivinil alkol, kitosan ve AgNP'den sentezlenen jelin antibakteriyel aktivitesi ve biyoyumluluğu incelenmiştir. Farklı konsantrasyonlarda AgNP'ye (15 ppm, 30 ppm ve 60 ppm) sahip hidrojeller, antibakteriyel aktivitelerini, nanopartiküllerin boyutlarını ve in vivo davranışlarını karşılaştırmak için değerlendirilmiştir. In vitro sonuçlar, tüm numunelerin antibakteriyel etkilerinin karşılandığını kanıtlamıştır. Bununla birlikte, in vivo sonuçlar, 30 ppm'lik hidrojelin en iyi yara iyileşme oranını göstermiştir(Nguyen et al., 2019).

Doku mühendisliği pansumanları için asimetrik modifikasyona uğramış AgNP içeren kitosan-ipek fibroin kompozit yapı iskeleleri üretilmiştir. İskeleler, bir liyofilizasyon yaklaşımı kullanılarak eklenmiş AgNP'ler ile bir kitosan-ipek-fibroin emülsiyonu içeren ve bir tarafının yüzeyinde asimetrik bir kaplama bulunan bir çözeltiden hazırlanmıştır. Fiziksel ve mekanik özellikler ölçülerek yüksek gözeneklilik, iyi nem tutma kabiliyeti ve uygun çekme mukavemeti görülmüştür. İn vitro antibakteriyel etki analizi ile çeşitli bakterilere karşı iyi antimikrobiyal özellikler ortaya çıkmıştır. MTT tahlil deneyi ve deri altı duyarlılaştırma testi ile yüksek düzeyde biyoyumlu bir örtü olduğu düşünülmektedir(Liu et al., 2017).

Gümüş nanoparçacıklara sahip PLGA nanokompozit filmler, solvent döküm işlemi ile hazırlanmıştır. Farklı gümüş miktarları eklenerek filmler üretilmiştir(ağırlıkça %1, ağırlıkça %5 ve ağırlıkça %7). Nanokompozitin E.coli bakteri çeşitinde antibakteriyel davranış gözlenmiştir. Nanokompozit yüzey özellikler bakteri yapışmasını güçlü bir şekilde etkilemiş ve tamamen inhibe edilmesiyle sonuçlanmıştır(I Armentano et al., 2010).

2.11. Tarçın Bitkisinin Yara İyileştirme Çalışmalarına Katkısı

Tarçın, poli(ϵ -kapolakton)/jelatin (PCL/Jel) nanolifli matrislere yüklenmiştir. Matlar, %1, 5 ve %25 (a/h) tarçın içeren PCL/COLL [1:1 (a/a)] çözeltisinden üretilmiştir. Tarçınlı ve tarçınsız üretilen matlar, Wistar sıçanlarında tam kalınlıktaki eksizyon yaralarını tedavi etmek için kullanılmıştır. Sonuçlar tarçın miktarının gözeneklilik, mekanik özellikler, su alma kapasitesi, su temas açısı, su buharı iletim hızı ve hücre çoğalması üzerinde doğrudan etkisi olduğunu göstermiştir. Ayrıca, in vivo çalışmanın

sonuçları, 14 gün sonra PCL/Jel %5tarın ile tedavi edilen yaraların diğer gruplar arasında daha iyi yara kapanmasına (%98) sahip olduğunu göstermiştir(Salehi et al., 2020).

Protein yapıda olan zein ile tarçın yağının elektro-eğirme cihazında üretimi sonucu yara örtüsü geliştirilmiştir. Hazırlanan zein/tarçın yağı yara örtüsü, (76.1–5.45) mm/s'lik gaz geçirgenliği, sıfır vücut sıvısı temas açısı ile hidrofilitiklik, 24 saat sonra şişme stabilitesinin yanı sıra hem E. coli hem de S.aureus'a karşı 5 cm'nin üzerinde antibakteriyel bölgeler göstermiştir(Qin et al., 2021).

İmplantasyon bölgesine tarçın z (CE) vererek enfeksiyonu önlemek için sürekli salım kapasitesine sahip kitosan/jelatin nanofiber membranlar geliştirilmiştir. CE içeriğinin (%2–6) dahil edilmesinin nanoliflerin özellikleri üzerindeki etkileri değerlendirilmiştir. Sonuçlar, özütün nanoliflere dahil edilmesinin, bozunma davranışlarını, antibakteriyel aktivitelerini ve biyoyumluluğu arttırdığını göstermiştir. Kültürlenmiş hücreler, CE içeriği %4'e ulaşana kadar yüksek hücre canlılık kapasitesine sahip nanofiber membrana tutunmuş ve çoğalmıştır(Ahmadi, Hivechi, Bahrami, Milan, & Ashraf, 2021).

3. MATERYAL VE YÖNTEM

3.1. Kullanılan Kimyasal Malzemeler

3.1.1. Poly (L-lactic-co-glycolic acid)(PLGA)

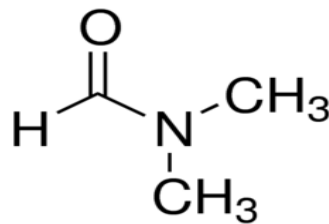
Jilin Folialux Bio-Tech firmasından temin edilen PLGA polimeri, iyi bir biyouyumluluğa ve biyolojik olarak parçalanabilirliğe sahiptir. Şekil3.1’de verildiği gibi beyaz renkte, kokusuz ve ipliksi yapıdadır. Laktik ve glikolik asit monomerlerinden oluşur. Bu çalışmada LA:75, GA:25 oranında PLGA polimeri kullanılmıştır. İlaç taşınımı, ortopedi gibi kullanım alanları vardır.



Şekil 3.1 PLGA polimerinin çözelti oluşturmada önceki hali

3.1.2. N,N-Dimethylformamide (DMF)

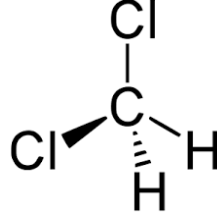
C_3H_7NO kimyasal formülüne sahip(Şekil3.2), renksiz, sıvı halde çözücüdür. Moleküler ağırlığı 73.09 g/mol, erime sıcaklığı $-61^{\circ}C$, yoğunluğu 0.944 g/ml’dir. Sigma-Aldrich firmasından temin edilmiştir.



Şekil 3.2 DMF çözücünün molekül yapısı

3.1.3. Dichloromethane (DCM)

CH_2Cl_2 kimyasal formülüne sahip(Şekil3.3) renksiz çözücünün molekül ağırlığı 84.93 g/mol, yoğunluğu 1.32 kg/l, kaynama noktası 39.3°C 'dir. VWR Chemical firmasından temin edilmiştir.



Şekil 3.3 DCM çözücünün molekül yapısı

3.1.4. PBS

Su molekülleri ve Na^+ , Cl^- , K^+ , HPO_4^- iyonlarından oluşan fosfat tampon çözeltinin pH derecesi 7.4'tür. Doğal biyolojik ortama yakın olarak pH değerine sahip olması ve ozmotik basıncı korumak için bu çözelti çalışmalarda kullanılmıştır. Deneysel çalışmada Gündüz Kimya firmasından temin edilen fosfat tampon çözeltisi Şekil3.4'te verilmiştir.



Şekil 3.4 Fosfat Tampon Çözelti

3.1.5. Saf Gümüş Nanopartikül (AgNP)

Nanokar Nanoteknoloji firmasından temin edilen gri, 20 nm boyutlarında , %99.99 oranında saflık derecesinde bulunan gümüş nanopartikül Şekil3.5'te verilmiştir. AgNP/PLGA nanofiber üretiminde kullanılmıştır.

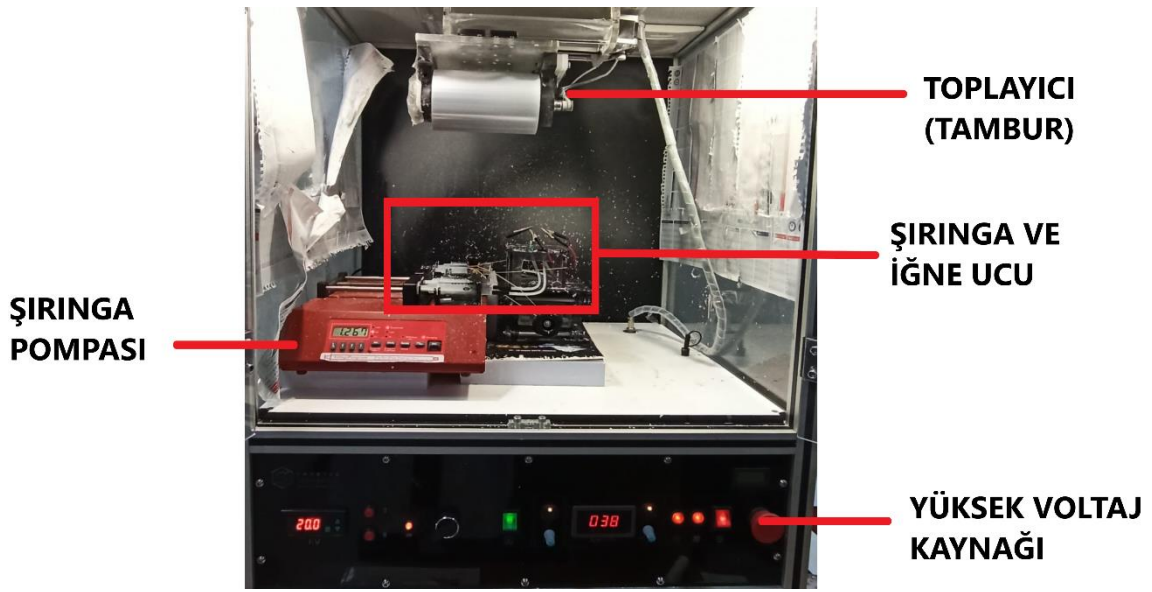


Şekil 3.5 Gümüş tozu

3.2. Kullanılan Cihazlar

3.2.1. Laboratuvar Ortamında Kullanılan Cihazlar

Deneyisel çalışmada kullanılan Eraktek İnovasyon marka elektro-eğirme cihazı 0-30 kV voltaj aralığı kapasitesine sahip bir cihazdır. Şırınga pompası, güç kaynağı, toplayıcı ve iğne ucu olmak üzere 4 kısımdan oluşur. Şekil 3.6’da verilen elektro-eğirme cihazında nanofiber üretimleri gerçekleştirilmiştir.



Şekil 3.6 Elektro-eğirme cihazı

Çözeltilerin manyetik alan etkisiyle homojen hale getirilmesi için ISOTEX marka manyetik karıştırıcı, çözücü içinde gümüş nanopartikülleri çözmek için BANDELIN Sonoplus marka ultrasonic karıştırıcı kullanılmıştır.

eAgNP üretiminde buharlaştırma işlemi ve PBS içinde bekletilen numune kurutma işlemleri BINDER VD23 marka etüv cihazında gerçekleştirilmiştir.

Antibakteriyel test öncesi numuneleri sterilize etme işlemi Fytronix marka UV Sterilizasyon cihazında gerçekleştirilmiştir.

Katı malzemelerin tartımı Radwag AS220,R2 marka hassas terazide yapılmıştır.

3.2.2. Analiz için Kullanılan Cihazlar

Üretilen nanofiberlerin yüzey morfolojisini belirlemede ZEISS GeminiSEM 500 marka Alan Emisyonlu Taramalı Elektron Mikroskobu(FE-SEM), nanofiberlerin ve nanopartiküllerin içyapısını görüntülemek için kullanılan Zeiss-EM900 marka Geçirimli

Elektron Mikroskopu(TEM), molekül yapısında bulunan bağların titreşim frekanslarının ölçümünü yaparak yapıda bulunan fonksiyonel grupların tespiti için Thermo Scientific/ Nicolet İS-20 marka Fourier Dönüşümlü Kıızıl ötesi Spektrometresi (FTIR) cihazı, malzemenin yapısal analizi için PANalytical EMPYREAN marka X Işını Difraktometre (XRD) cihazı, artan sıcaklığa bağlı olarak kütlede meydana gelen değişimi ölçmek için Seteram-Labsys Evo marka TermoGravimetrik Analiz (TGA) cihazı kullanılmıştır.

Nanofiberlerin hidrofilik/hidrofobik özelliğini belirlemek amacıyla damla görüntülerini kaydederek zamanla damladaki değişimi analiz etmek için Biolin Scientific Attension-Theta Lite marka temas açısı ölçüm cihazı, belirli bir çekme kuvveti altında malzemenin oluşturduğu gerilme mukavemeti, şekil değişimi, elastiklik modülü gibi değerlerin tespiti için SHIMADZU AGS-X marka çekme test cihazı kullanılmıştır. Mekanik analizlerde 'Trapezium' adlı yazılım kullanılarak grafikler elde edilmiştir.

eAgNP sentezi için tarçın özütü ve gümüş nitrat çözelti oranlarını belirlemede ve biyobozunurluk sonrası PBS'den alınan örnek numunelerdeki AgNP / eAgNP varlığını tespit etmede HITACHI U-3900 marka UV-Vis Spektrofotometre kullanılmıştır.

3.3. Yeşil sentez Yöntemiyle Gümüş Nanopartikül Üretimi

eAgNP üretimi için 1.adım tarçın özütü elde etmektir. Tarçın özütü elde etmek için toz haldeki tarçın miktarı hassas terazi yardımıyla 15 gr olarak belirlendi. 1000 ml saf suya toz tarçın eklendi ve 24 saat oda sıcaklığında bekletildi. Ardından filtre kâğıdı ile süzme işlemi gerçekleştirildi. Geride kalan posasız sıvı olan tarçın özütü, yeşil sentez ile eAgNP üretimi için muhafaza edildi(Şekil3.7).

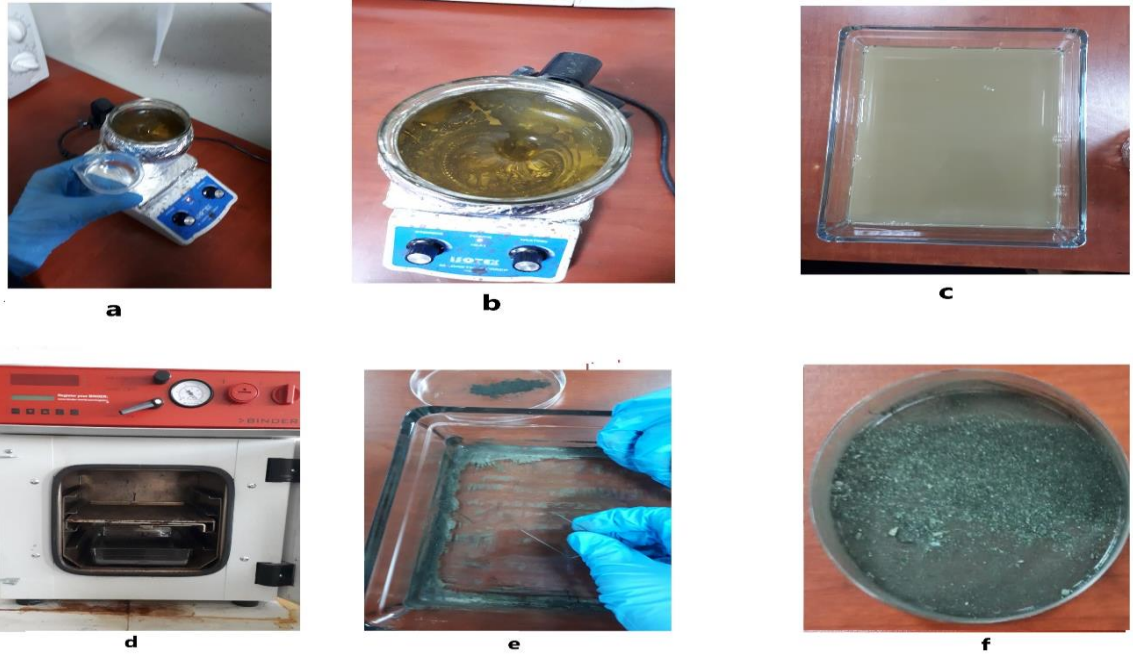
eAgNP eldesi için kullanılacak olan AgNO_3 (Gümüş Nitrat) çözeltisi hazırlandı. 0.1 M AgNO_3 çözeltisi için 250 ml saf suya 4.22 gr AgNO_3 eklendi ve manyetik karıştırıcıda 20 dk karıştırıldı.

Yeşil sentezde iyonik gümüşün indirgenmesini sağlayan tarçın özütü ile AgNO_3 çözelti oranları belirlendi. Bu oranları belirlerken önce tarçın özütü kontrol grubu iken AgNO_3 değişken olarak, daha sonra AgNO_3 kontrol grubu iken tarçın özütü değişken olarak kabul edilip oranlar hazırlandı. Daha sonra UV-vis Spektrofotometre cihazında alınan sonuçlara göre AgNO_3 ve tarçın özütü miktarı belirlendi.



Şekil 3.7 Tarçın özütü elde etme işlem basamakları. 1) 15 gr toz tarçın, 2) saf su ve toz tarçın birleştirme, 3) 24 saat bekletme, 4) filtreleme işlemi.

eAgNP için 3 ml tarçın özütüne 6 ml saf su eklendi ve karıştırıldı. Karışımın üzerine 1 ml AgNO_3 çözeltisi damlacık şeklinde eklendi. Bu solüsyon manyetik karıştırıcıda 15 dk karıştırıldı. Daha sonra karanlık ortamda 24 saat bekletilen karışım cam kaba dökülerek etüvde $200\text{ }^\circ\text{C}$ ' de buharlaştırılmaya bırakıldı. Cam yüzeyde kalan tortu eAgNP yapısıdır(Şekil 3.8).



Şekil 3.8 Tarçın ile enkapsüle edilmiş gümüş nanopartiküllerin üretim süreci. a) tarçın özütü+ saf su karışımına $AgNO_3$ çözeltisinin damla damla verilmesi, b) manyetik karıştırıcıda homojen hale getirme, c) karışımın cam kaba aktarılması, d) etüvde buharlaştırma işlemi, e) cam lamellerle kalan tortuyu kazıma işlemi, f) tarçın ile enkapsüle edilmiş gümüş nanopartiküller

3.4. Nanofiber Üretimi için Çözelti Hazırlama

PLGA nanofiber üretimi için çözücü ve polimer oranı DCM(%50), DMF(%50) ve PLGA(%20) olarak belirlenmiştir. PLGA çözeltisi için DCM ve DMF çözücüleri ile PLGA polimeri manyetik karıştırıcıda 730 rpm hızda oda sıcaklığında homojen kıvam haline gelene Şekil3.9'da verildiği gibi karıştırıldı.

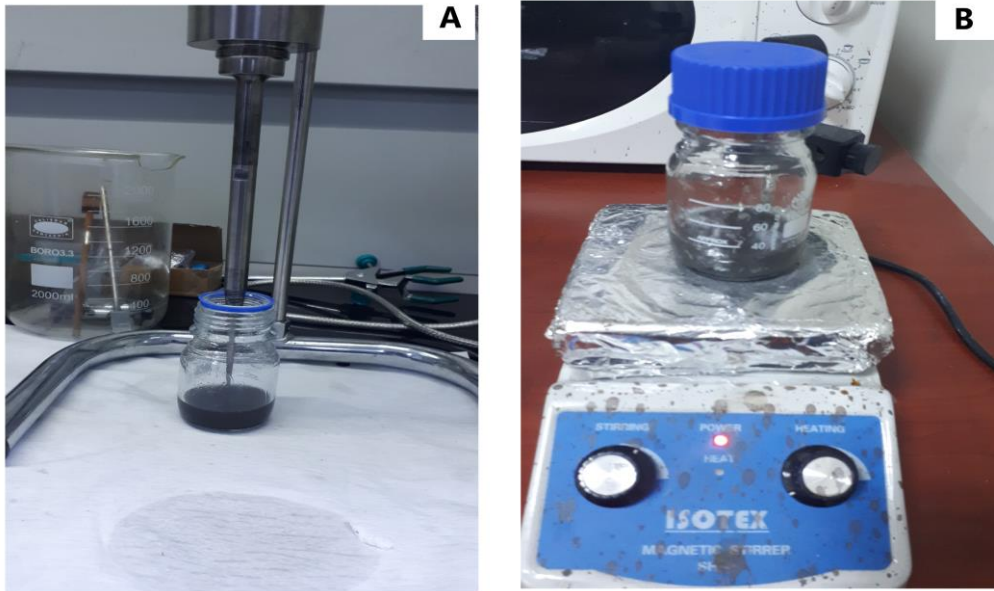


Şekil 3.9 Manyetik karıştırıcı üzerinde PLGA nanofiber çözeltisi

AgNP/PLGA nanofiber solüsyonu için DMF/DCM çözücüleri ile AgNP ultrasonik karıştırıcıda 30 dk karıştırıldı ve daha sonra manyetik karıştırıcıda PLGA polimeri(%20) eklendi. AgNP oranı, PLGA polimer miktarının %1'i kadar belirlendi.

eAgNP/PLGA nanofiber solüsyonunu hazırlamak için DMF ve DCM çözücüleri ve PLGA oranına bağlı olarak belirlenen eAgNP(%1) ultrasonik karıştırıcıda 30 dk boyunca çözünmeye bırakıldı. Daha sonra PLGA polimeri(%20) eklendi ve çözelti homojen hale gelene kadar manyetik karıştırıcıda karıştırıldı.

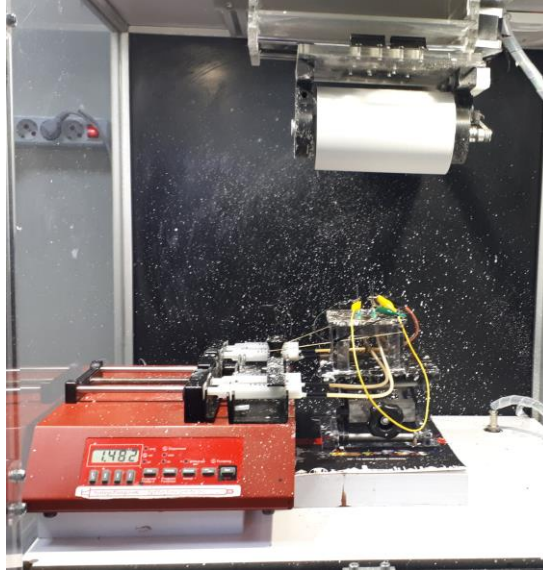
Şekil3.10'da verildiği gibi genel olarak AgNP/ eAgNP ultrasonik karıştırıcıda çözücüde çözdürüldü. Daha sonra PLGA polimeri manyetik karıştırıcıda eklendi.



Şekil 3.10 A) ultrasonik karıştırıcıda gümüş nanopartiküllerin çözdürülmesi, B) manyetik karıştırıcıda PLGA polimerinin eklenmesi

3.5. Elektro-eğirme Yöntemiyle Nanofiber Üretimi

Elde edilen homojen çözeltiler elektro-eğirme cihazında üretim için şırıngalara çekildi ve şırınga pompasına yerleştirildi. Şekil3.11'de verilen elektro-eğirme cihazının parametreleri çözelti akış hızı 0.3 ml/h, uygulanan voltaj aralığı 20-25 kV, tambur-iğne ucu arası mesafe 13 cm olarak ayarlandı. Tambur üzerine yerleştirilen alüminyum folyo ölçüsü 16*33 cm ölçülerindedir. İşlem sonucunda tambur üzerinde oluşan nanofiber tabaka(Şekil3.12) alüminyum folyodan ayrıldı ve oda sıcaklığında muhafaza edildi.



Şekil 3.11 Elektro-eğirme süreci



Şekil 3.12 Elektro-eğirme yöntemiyle üretilen nanofiberler

3.6. Nanofiberlerin Karakterizasyon Analizleri

Nanofiberlerin karakterizasyon testleri FE-SEM, TEM, FTIR, TGA, XRD cihazlarıyla yapıldı.

FE-SEM görüntüleme cihazında test öncesi nanofiber yapıları argon gazı altında 5.31 nm boyutunda altın paladyum ile kaplandı. Biyobozunma sonrası nanofiber yapılarına 4.27 nm iridyum kaplama yapıldı ve FE-SEM cihazı yardımıyla nanofiberlerin yüzey görüntüsü alındı. Nanofiber çapları ImageJ yazılımıyla (version 1.53e, USA) ile ölçüldü.

FTIR cihazının spektrum aralığı 400-4000 cm^{-1} olarak belirlendi. Bu cihazla nanofiberlerin yapılarındaki bileşiklerin analizi/bağ durumu gibi özelliklerin analizleri yapıldı.

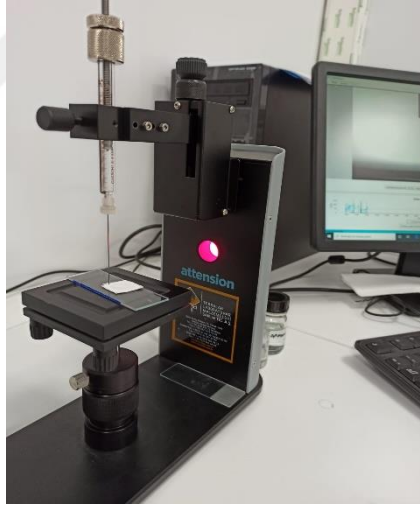
Numunelerin kristal yapı analizi için XRD cihazıyla ölçüm alındı. Ölçüm 0-80° aralığında, 0.05 ° adım boyutu ile 1 °/dakika tarama hızında kaydedildi.

TGA analizinde artan sıcaklığa bağlı olarak kütle değişimini 0-500 °C sıcaklık aralığında, azot atmosferi altında, 20 °C/dk ısıtma değerinde 15 dakika ölçüm yapıldı.

Nanofiberlerin içyapısının görüntülenmesi TEM cihazıyla yapıldı.

3.7. Temas Açısı Ölçümü

Nanofiberlerin hidrofilik/hidrofobik özelliğini belirlemek amacıyla damla görüntülerini kaydederek zamanla damladaki değişimi analiz etmek için Şekil3.13’de verilen Biolin Scientific Attension- Theta Lite marka temas açısı ölçüm cihazı kullanılmıştır(BİTAM, 2020). Numunelerin (1x1 cm) üstüne 5 mikrolitre saf su damlatılarak 10 saniyelik zaman diliminde temas açısı ölçümü yapıldı.

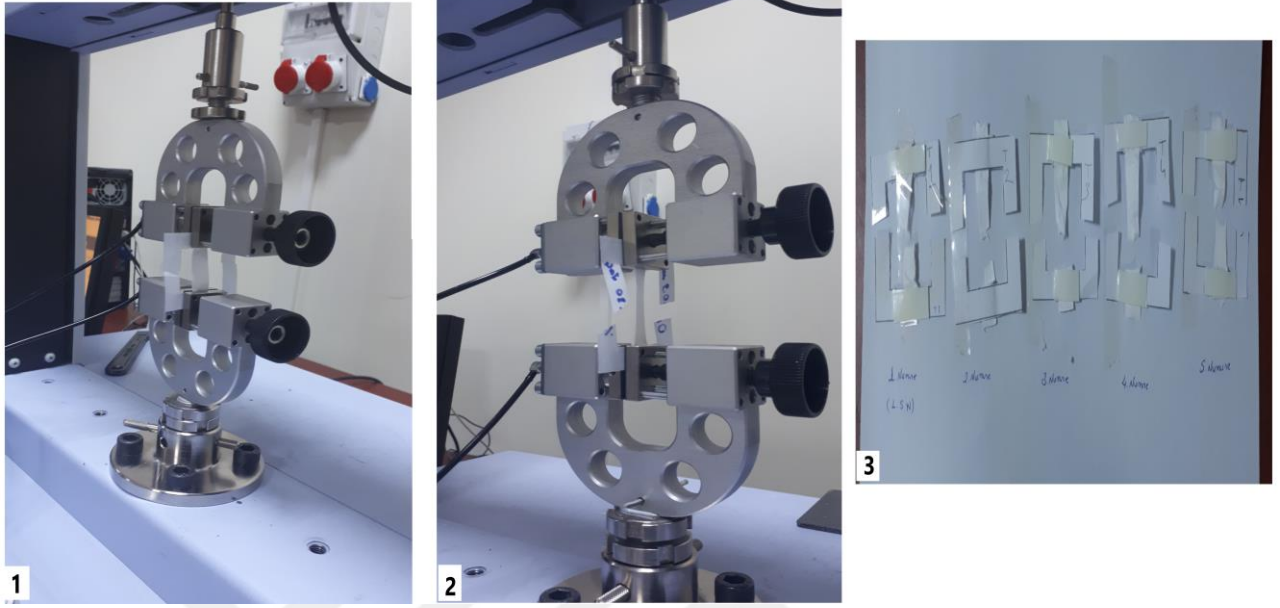


Şekil 3.13 Temas Açısı Ölçüm Cihazı

3.8. Mekanik Test Analizi

Elde edilen nanofiberlerin maksimum çekme dayanımı ve uzama değerleri, TRAPEZIUM yazılımı kullanılarak çekme test cihazı(10 kN) ile yapıldı(Şekil3.14). 5 mm/min test hızı ve oda sıcaklığı (25°C), gerçekleştirilen testlerin ana parametreleridir. Numunelerin kesiti 1x5 cm dikdörtgen boyutundadır. Numuneleri cihaza monte etmek

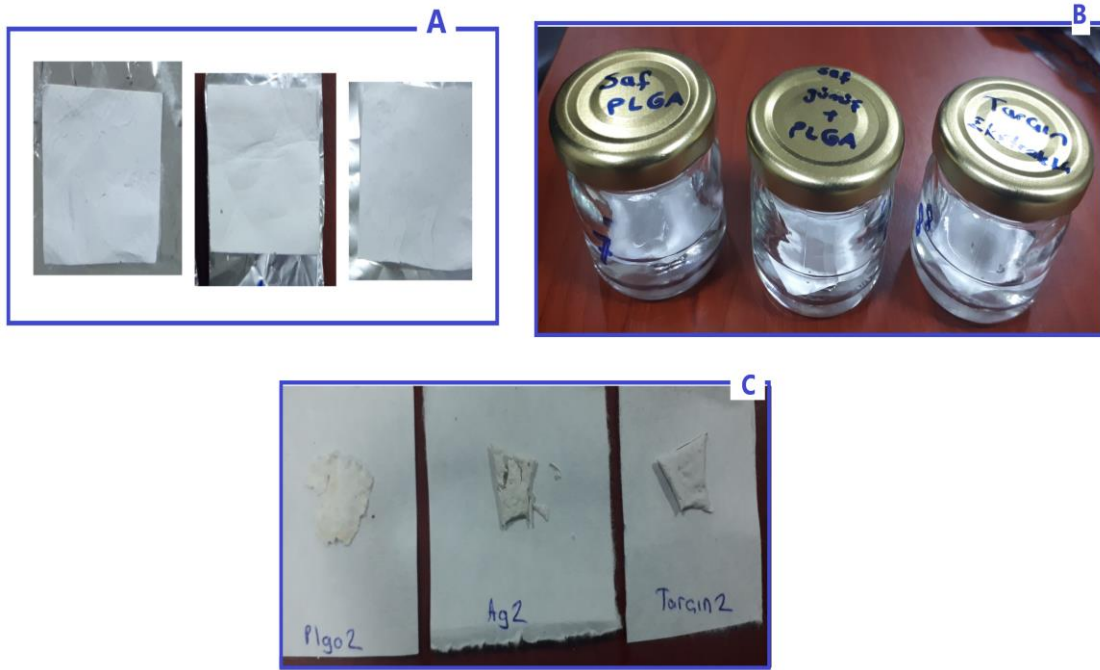
için kulplar arasındaki mesafe 10 mm olarak ayarlandı. Numunelerin kalınlığı mikrometre kullanılarak ortalama 0.105 mm olarak ölçüldü.



Şekil 3.14 Nanofiber yapının mekanik test analizi. 1) çekme test cihazına yerleştirme, 2) uygulanan çekme kuvvetiyle meydana gelen gerilme, 3) numunelerde meydana gelen kopma

3.9. Biyobozunurluk Analizi

PLGA, AgNP/PLGA ve eAgNP/PLGA nanofiberlerden 3 cm x 3 cm lik en ve boy uzunluğunda kare numuneler kesildi(Şekil3.15A). Numunelerin ağırlığı 30 mg olarak tartıldı. Numuneler pH değeri 7.4 olan PBS içine daldırıldı(Şekil3.15B). 7 günlük periyotlarla PBS içinden alınan numuneler saf suda yıkandı. Yaş ağırlığı ölçülen numuneler 37 °C sıcaklıktaki etüvde 24 saat bekletildi ve kuru ağırlığı tartıldı(Şekil3.15C).



Şekil 3.15 PBS içinde Biyobozunurluk analizi. A) Numunelerin PBS içine daldırılmadan önceki hali, B) PBS daldırma süreci, C) PBS sonrası numunelerde meydana gelen değişme.

Ağırlık kaybı verilen Denklem 1 ile hesaplandı(Jannesari, Varshosaz, Morshed, & Zamani, 2011).

$$\text{Ağırlık kaybı (\%)} = \frac{M_b - M_k}{M_b} \times 100 \quad (1)$$

Denklemden M_b başlangıçtaki kuru ağırlık, M_k 37 °C sıcaklıktaki etüvde 24 saat bekletilmiş kuru ağırlığı ifade etmektedir.

3.10. Antibakteriyel Aktivite Analizi

Antibakteriyel test sürecinden önce nanofiberler disk şeklinde kesildi ve UV dezenfektan cihazında (FYTRONIX) 40 dk bekletildi. Nanofiber yapıların antibakteriyel testi için disk difüzyon yöntemiyle *Escherichia coli* ve *Staphylococcus Aureus* bakterilerinde çalışma yapıldı. Besiyeri olarak Mueller Hinton Agar(MHA) hazırlandı ve bakteriler ekildi. Bakteri sayısı McFarland 0.5 (10⁸ cfu/ml)'e göre ayarlandı. Besiyeri oluşturulan alanda 10 mm çapında disk şeklinde kesilmiş nanofiber yapıları 37°C 'de 24 saat inkübe edildi. İnkübasyon sonunda nanofiber disk etrafında oluşan inhibisyon çapları ImageJ yazılımıyla ölçüldü.

3.10.1. Mueller Hinton Agar (MHA) Hazırlama

Mueller Hinton Agar (MHA) hazırlanabilmesi için 38 g toz besiyeri terazide tartıldı. Şişe içerisinde tartılan besiyeri üzerine 1 lt saf su eklendi. Hazırlanan karışım 50°C'ye ayarlanmış olan ısıtıcılı manyetik karıştırıcı üzerine koyuldu ve homojen karışım

sağlanana kadar bekletildi. Homojen karışım oluştuktan sonra şişe otoklava koyuldu ve 121°C’de 15 dakika steril edildi. Uygun sıcaklığa gelmiş olan besiyeri steril petrilere 25 ml olacak şekilde döküldü ve agarın donması için beklendi(Şekil 3.16).



Şekil 3.16 Bakteri ekimi için hazırlanan donmuş agar

3.10.2. Bakteri Ekimi

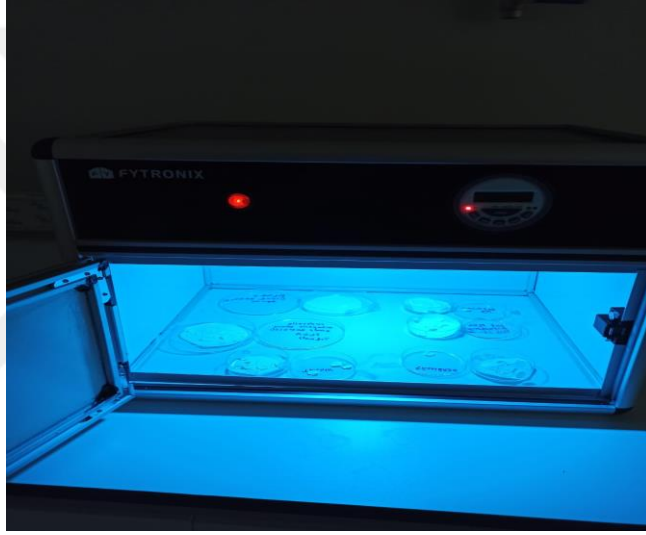
Her bir bakteri türü için MHA içeren 3 petri kabı hazırlandı. Petri kapaklarına bakteri çeşidi ve numune adı yazıldı. 0.5 McFarland standardına ayarlanmış(Şekil 3.17) olan bakteri süspansiyonundan pamuklu eküvyon çubuğuyla alınarak agar içeren petrinin yüzeyine sürüldü(Şekil 3.18). Pens ile disk şeklinde kesilmiş numuneler bu petrilerin içerisine 4 adet olacak şekilde yerleştirildi(Şekil 3.20). Disk yerleştirilmiş olan petriler 37°C’de ye ayarlanmış olan inkübatörde 24 saat inkübe edildi. Bu işlem PLGA, AgNP/PLGA ve eAgNP/PLGA nanofiber yapılar için ayrı ayrı tekrarlandı.



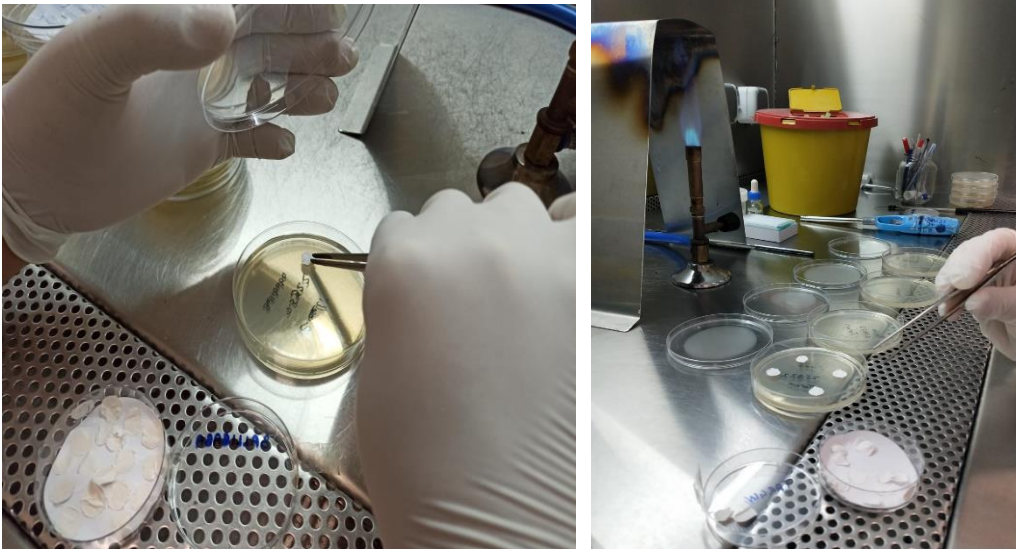
Şekil 3.17 0.5 McFarland standardında bakteri süspansiyon hazırlanışı



Şekil 3.18 Eküvyon çubuğuyla bakteri ekimi



Şekil 3.19 Numunelerin UV dezenfektan cihazında sterilize edilmesi



Şekil 3.20 Disk şeklindeki numunelerin pens yardımıyla bakteri ortamına yerleştirilmesi

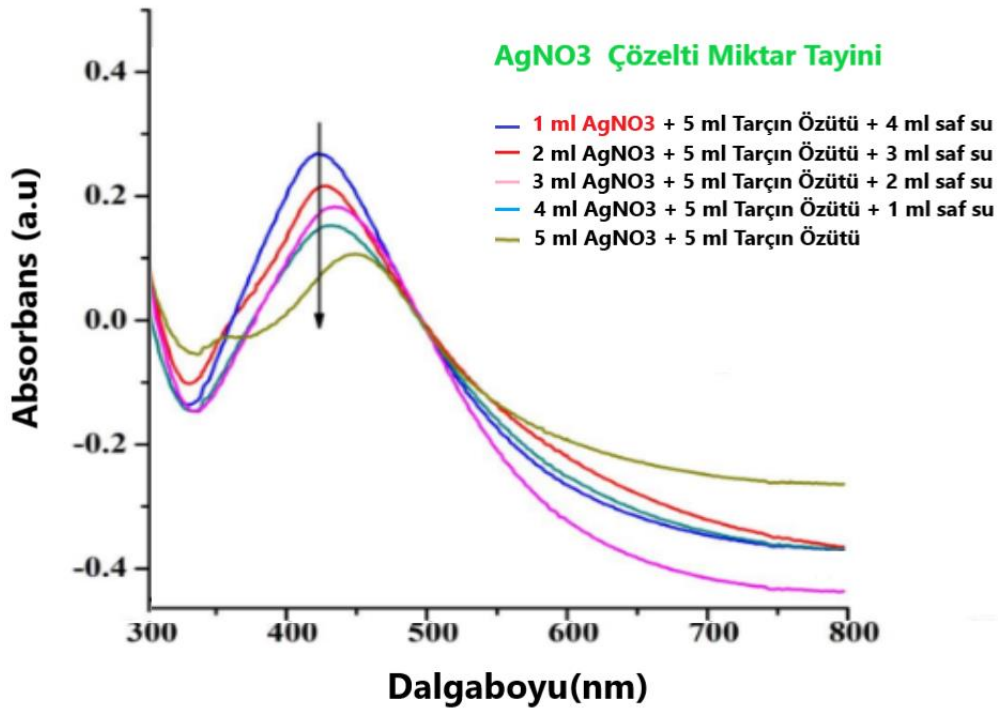
4. ARAŞTIRMA SONUÇLARI VE TARTIŞMA

Nanofiberlere uygulanan morfolojik, mekanik, biyobozunurluk test sonuçları incelenmiştir. Sonuçlar PLGA, AgNP/PLGA ve eAgNP/PLGA nanofiberleri için karşılaştırılmıştır.

4.1. Enkapsüle Gümüş Nanopartikül Sonuçları

4.1.1. UV-vis Spektrofotometrede Miktar Tayini

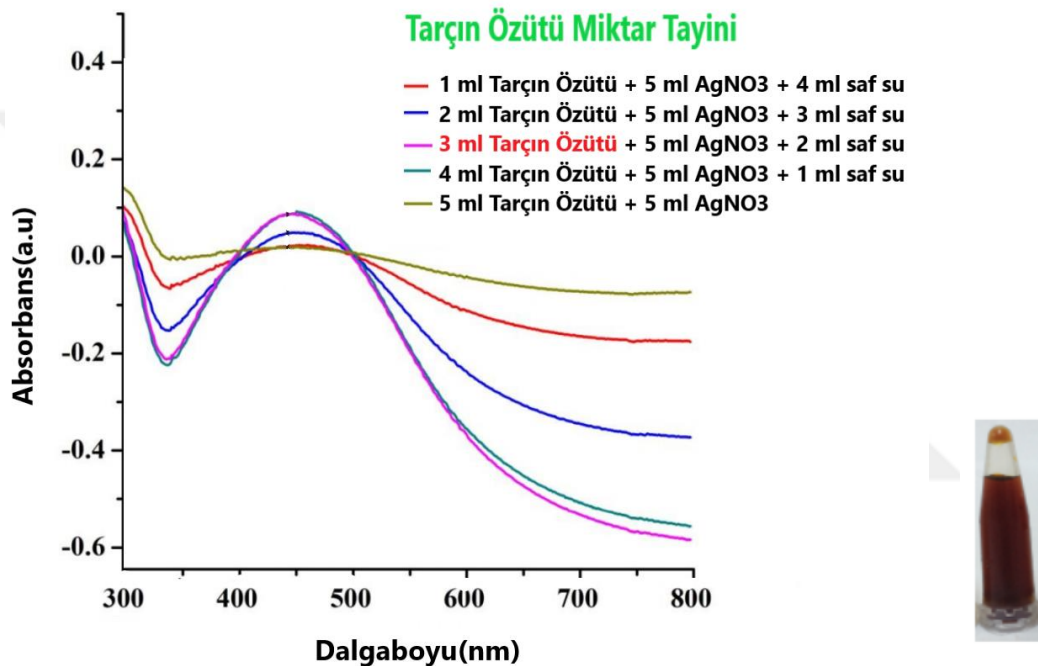
eAgNP üretimi için tarçın özütü ve AgNO₃ çözelti miktarları belirli oranlarda karıştırılarak UV-Vis spektrofotometrede analiz edilmiştir. Şekil4.1'de AgNO₃ çözelti miktarındaki artış ile absorbans değerinde azalma meydana gelmiştir. Pik değerleri gözlemlenen oranlardan en uygun miktar 1 ml AgNO₃ çözelti olarak uygun bulunmuştur.



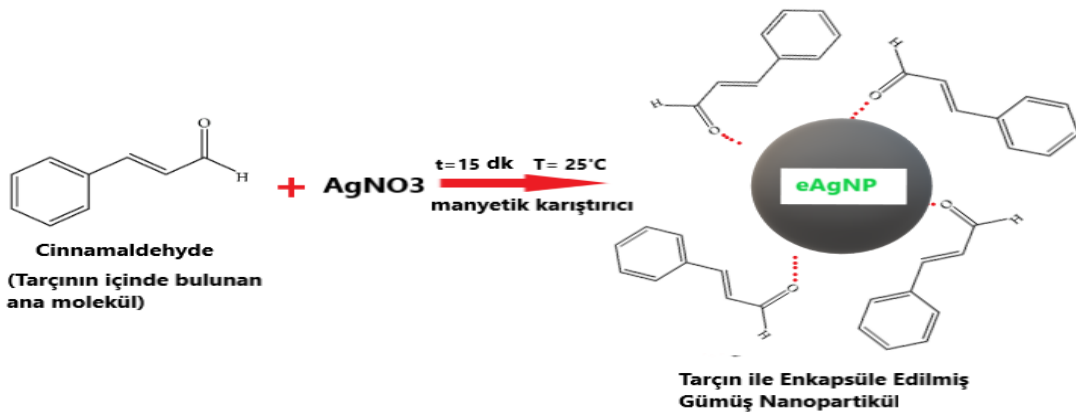
Şekil 4.1 eAgNP için AgNO₃ çözelti oranlarının UV-VIS Spektrofotometrede tayin edilmesi

Tarçın özütü için verilen analiz sonuçları Şekil4.2'de verilmiştir. Pik noktasına 3 ml miktarda bulunan tarçın özütünde ulaşılmıştır. Bazı oranlarda pik noktalarına ulaşılamamıştır. En uygun tarçın özütünün 3 ml olarak kullanılmasına karar verilmiştir. Uygun oranlar olarak belirlenen 3 ml tarçın özütü ve 1 ml AgNO₃ çözeltiler karıştırılmış ve UV-Vis spektrofotometrede ölçüm yapıldığında 425 nm'de pik değerine ulaşılmıştır.

Ayrıca bu oranlarda karıştırılan çözeltinin kırmızı-kahverengi renk göstermesinin sebebi AgNO_3 'ün Ag^0 iyonlarına indirgenmesidir (Premkumar et al., 2018). Bir çalışmada farklı oranlarda tarçın özütü ve AgNO_3 çözelti kullanılarak UV-Vis spektrofotometrede yapılan ölçümde 423.2 nm'de değer alınmıştır. Literatürle uyumlu sonuç alınmış eAgNP üretimi gerçekleştirilmiştir (Premkumar et al., 2018). Şekil 4.3 'te AgNO_3 ve tarçın özütünün kimyasal etkileşimi verilmiştir. Tarçın özütünde bulunan ana bileşiğin oksijen atomları gümüş iyonlarıyla bağ kurarak Ag^+ iyonlarının Ag^0 nötr durumuna geçmesinde rol oynamaktadır (Singh et al., 2016).



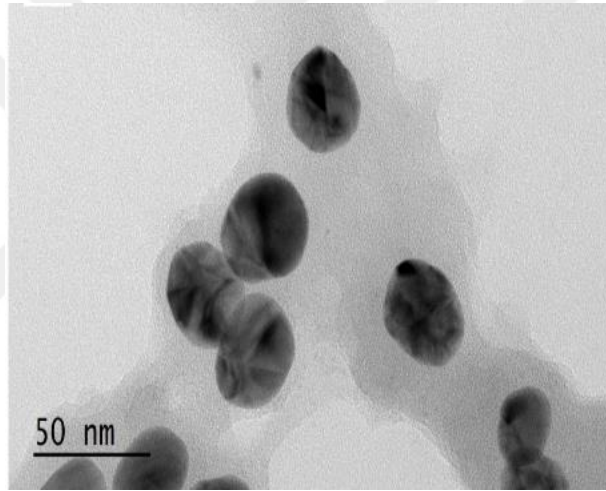
Şekil 4.2 eAgNP için tarçın özüt miktarının UV-VIS Spektrofotometrede tayin edilmesi



Şekil 4.3 Tarçın özütü ile gümüş nitrat çözeltisinin kimyasal etkileşimi

4.1.2. TEM Analizi

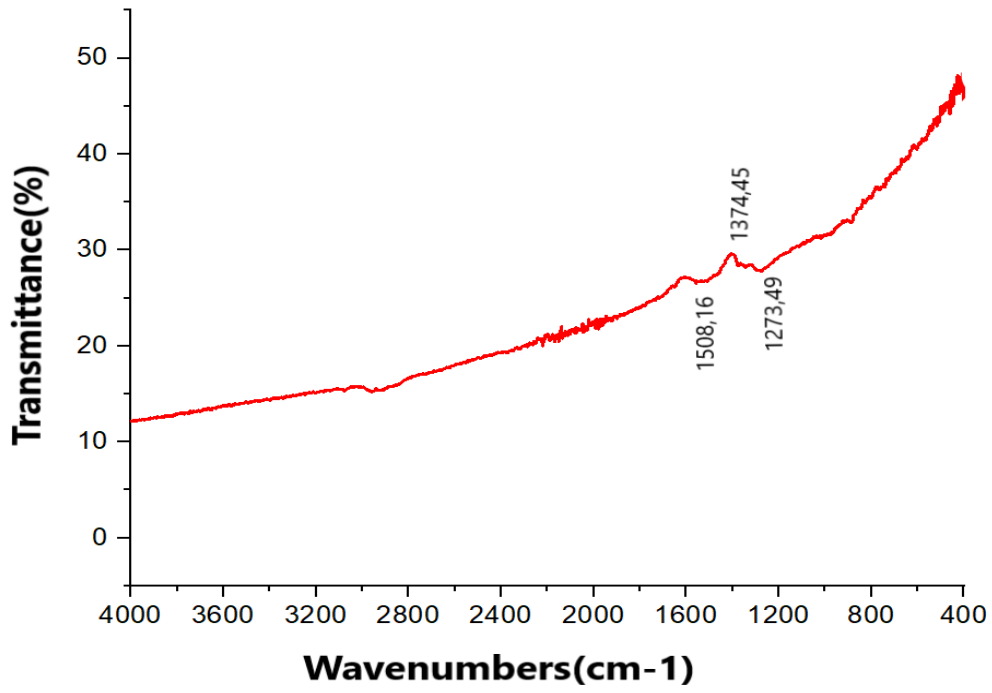
Yeşil sentez metodu ile üretilen enkapsüle gümüş nanopartiküllerin TEM görüntüsü Şekil 4.4'de verilmiştir. Partikül çapları 50 nm'nin altında, ortalama 28.45 ± 10 nm olarak ölçülmüştür. Enkapsüle gümüş nanopartiküllerin şekil olarak daha küresel ve aglomerasyon durumunun az olduğu görüldü. Nanopartiküllerin etrafında bulunan açık tonda gri renkler enkapsüle işleminin gerçekleştiğini göstermektedir. Yapılan bir çalışmada 64.8 nm çap boyutuna sahip eAgNP yapıları sentezlenmiştir (J. Huang et al., 2007). Üretmiş olduğumuz eAgNP, diğer çalışmalara göre daha nano ölçekli yapıdadır. eAgNP büyüklüğünün azalmasıyla bakteri etkileşimi artar ve hücre ölümleri gerçekleşerek enfeksiyon ortadan kalkar (Khurana, Vala, Andhariya, Pandey, & Chudasama, 2014). Çalışmamızda nano boyutlu eAgNP üretimi antibakteriyel özelliği artırmıştır.



Şekil 4.4 eAgNP TEM görüntüsü

4.1.3. FTIR Analizi

eAgNP'lerin FTIR spektroskopisi incelendiğinde (Şekil 4.5) tarçının FTIR karakteristik noktaları 1273.49 cm^{-1} noktasında CH_2 alken gruplarının yüzeyinde meydana gelen dönmeyi ve aromatik halka olan $=\text{C}-\text{H}$ bağının düzlem içi bükülmesini, 1374.45 cm^{-1} noktasında C-H düzlem dışı bükülmeyi, 1508.16 cm^{-1} noktasında C=C titreşimini temsil eder (Alomar et al., 2020; Li, Kong, Wu, & Products, 2013).

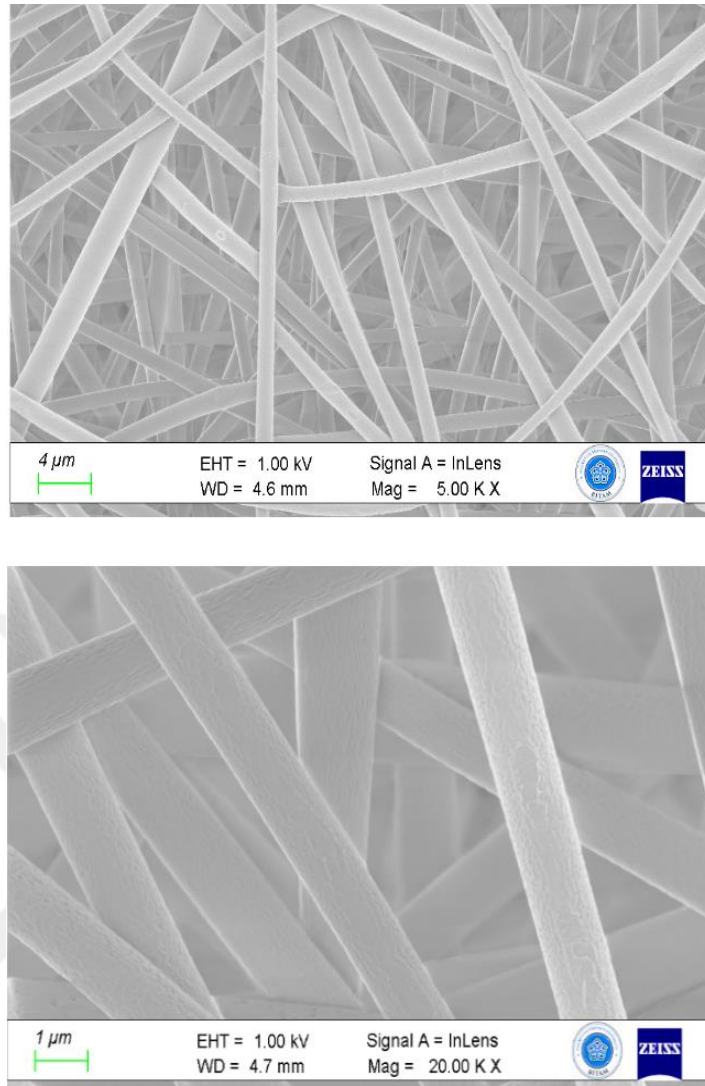


Şekil 4.5 eAgNP FTIR analizi

4.2. Nanofiber Analiz Sonuçları

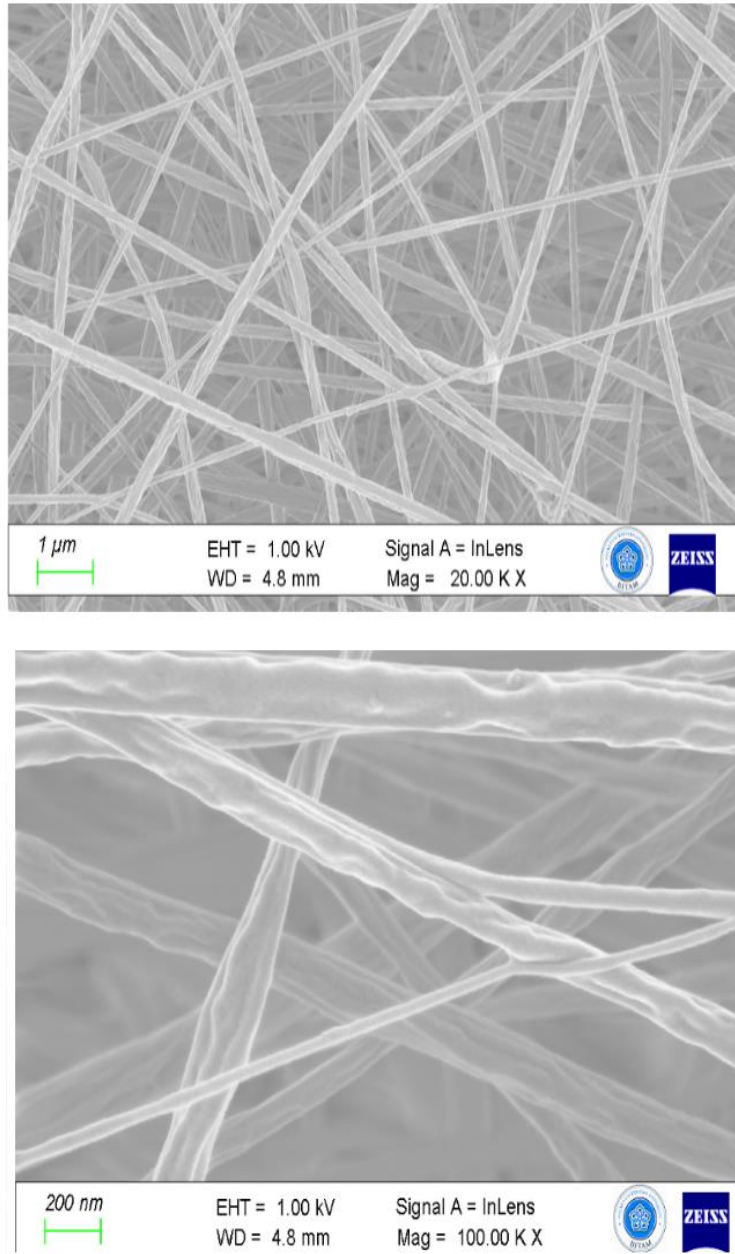
4.2.1. FE-SEM Analizi

Hücre çoğalmasını ve yapışmasını etkileyen parametrelerden biri olan fiber yüzey morfolojisi (Fouad, Elsarnagawy, Almajhdi, & Khalil, 2013) FE-SEM cihazıyla görüntülendi. Şekil 4.6'da 5 KX ve 20 KX büyütme oranlarıyla PLGA nanofiber yapısı yer almaktadır. Ortalama fiber çapı 1157.391 ± 360 nm olarak ölçüldü. Pürüzsüz ve boncuksuz fiber yapısı gözlemlendi.



Şekil 4.6 PLGA nanofiber FE-SEM görüntüsü.

Şekil 4.7’de AgNP/PLGA nanofiberlere ait FE-SEM görüntüsü 20 KX ve 100 KX büyütme oranlarında verildi. Ortalama fiber çapı 129.601 ± 120 nm olarak ölçüldü. PLGA yapısına eklenen AgNP’ler fiber çapını azaltmıştır. Fiber yüzeyinde pürüzlülük oluşmuştur. Literatürdeki bazı çalışmalarda fiberdeki pürüzlülük, hücre çoğalması ve bağlanması için avantajlı bir durum olduğu vurgulanmıştır(Naseri et al., 2016; Sultan & Mathew, 2018).



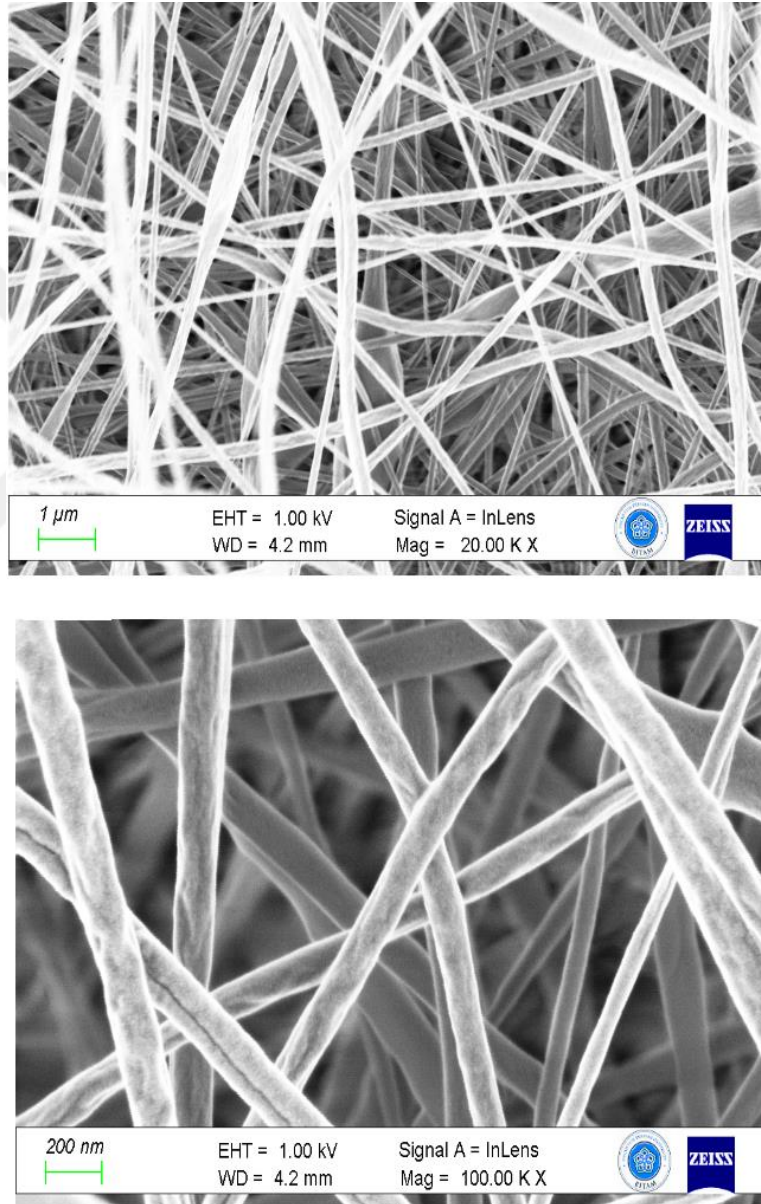
Şekil 4.7 AgNP/PLGA nanofiber FE-SEM görüntüsü

Yeşil sentez metoduyla üretilen gümüş nanopartiküllerin katkılı olduğu PLGA nanofiberlerine ait fiber görüntüsü 20 KX ve 100 KX büyütme oranlarında Şekil 4.8’de verilmiştir. Ortalama fiber çapı 116.062 ± 109 nm olarak ölçülen nanofiberler, üretilen diğer nanofiberlerin içinde en ince fiber yapısına sahip olmuştur. eAgNP’lerin varlığı fiberlerde oluşan pürüzlülük ile ortaya çıkmıştır.

PLGA çözeltisinin elektrik iletkenliği az miktarda serbest iyon içerdiğinden düşüktür. PLGA’ya katkılanan gümüş nanopartiküllerin önce çözücülerde çözündürülmesiyle serbest iyon içeriği artırılmış ve elektrik iletkenliği yükseltilmiştir. Bu durum elektro-eğirme

cihazında üretim yaparken elektrik alan altında daha ince fiber yapısının oluşmasını sağlamıştır(Khalil, Fouad, Elsarnagawy, & Almajhdi, 2013).

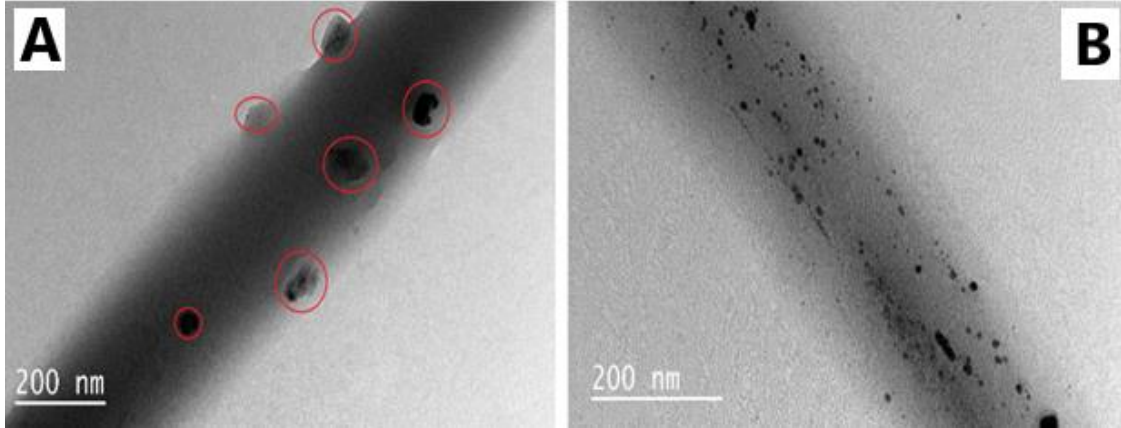
eAgNP/PLGA nanofiberlerin daha ince fiber yapısına sahip olması yara iyileştirme çalışmalarında avantajlı bir durumdur. Eklediğimiz eAgNP, kalın fiber çaplı nanofiberlere göre daha kolay salınabilir(Ahmed et al., 2019) ve fiber yüzeyine sağladığı pürüzlülük sayesinde daha iyi hücre tutunması/çoğalması ile yara iyileştirme sürecini hızlandırır.



Şekil 4.8 eAgNP/PLGA nanofiber FE-SEM görüntüsü

4.2.2. TEM Analizi

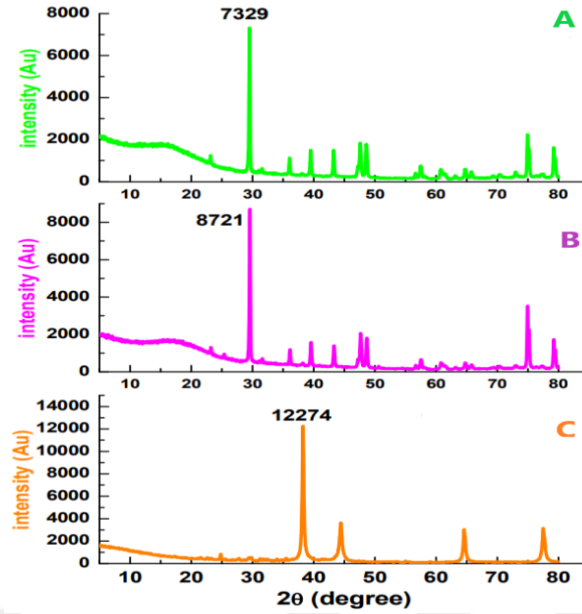
Şekil4.9’da verilen TEM görüntülerinde AgNP/PLGA ve eAgNP/PLGA nanofiber yapılarının içinde/yüzeyinde gümüş nanopartiküllerin yer aldığı görüldü. FE-SEM görüntüsünde bu durum pürüzlülük olarak ortaya çıktı. AgNP/PLGA nanofiber yüzeyinde (Şekil4.9(B)) gümüş nanopartiküllerin yoğunluğunun eAgNP/PLGA nanofiber yüzeyinden daha fazla olduğu tespit edildi.



Şekil 4.9 TEM görüntüleri. A) eAgNP/PLGA nanofiberi, B) AgNP/PLGA nanofiber

4.2.3. XRD Analizi

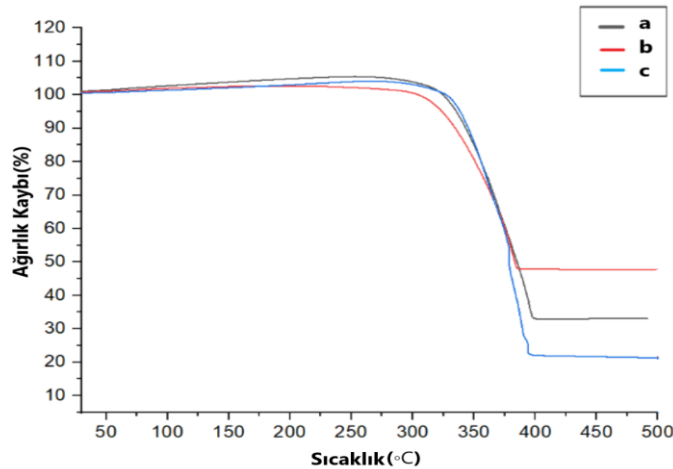
Şekil 4.10’da verilen XRD grafiğinde eAgNP, AgNP/PLGA nanofiber ve eAgNP/PLGA nanofiber için sırasıyla $\theta=38.25^\circ$, 29.56° ve 29.49° açılarında zirve değerlerini verdi. Yoğunluk olarak karşılaştırma yapıldığında nanopartikül yapıda olan eAgNP en yüksek değeri verirken, nanofiber yapıda olan AgNP/PLGA ve eAgNP/PLGA daha düşük yoğunluk değeri verdi. Nanopartikül yapıda olan gümüş ile nanofiber yapıların XRD açılarında kayma olmasının sebebi PLGA’nın amorf bir yapı göstermesinden kaynaklandığı düşünülmektedir(Martins, Sousa, Araujo, & Sarmiento, 2018; Mir et al., 2017). Literatürde yer alan bir çalışma ile benzer XRD açılarına sahip eAgNP üretimi başarılı bir şekilde gerçekleştirilmiştir(Sathishkumar et al., 2009).



Şekil 4.10 XRD grafiği. A) eAgNP/PLGA nanofiber, B) AgNP/PLGA nanofiber, C) eAgNP

4.2.4. TGA Analizi

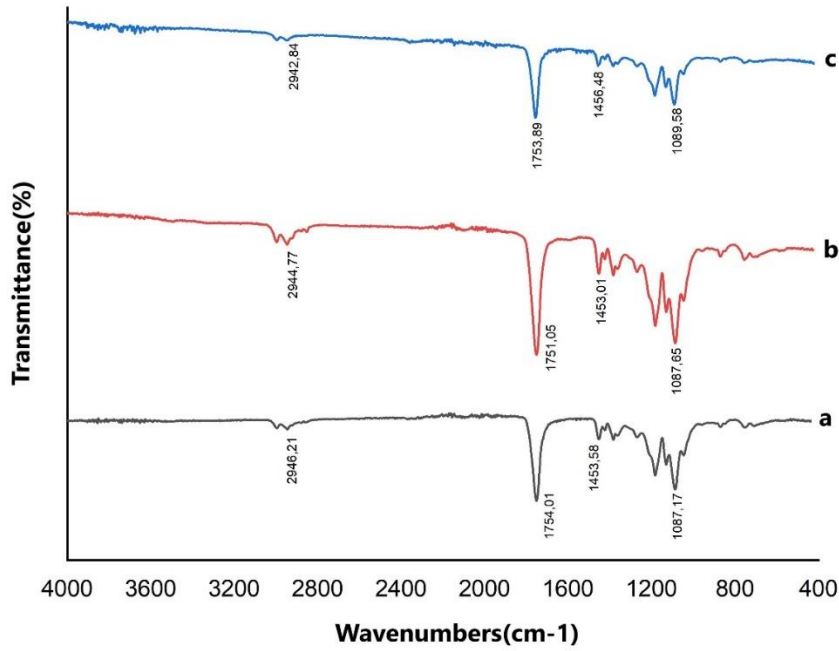
Şekil 4.11’de verilen TGA analizinde 25-500 °C sıcaklıkları arasında nanofiberlerin yüzdece ağırlık kayıplarına yer verildi. Nanofiberler 300°C ‘ye kadar termal kararlılık gösterirler(Khalil et al., 2013). PLGA, AgNP /PLGA ve eAgNP/PLGA nanofiberleri için sırasıyla ağırlık kayıpları 325-400°C, 300-390°C ve 327-395°C sıcaklıklarında gerçekleşti. Sıcaklık artışına bağlı olarak gerçekleşen ağırlık kayıpları PLGA, AgNP/PLGA ve eAgNP/PLGA nanofiberleri için sırasıyla %33.11, %47.63 ve %21.19 seviyelerine düştü. Yani en çok ağırlık kaybı eAgNP/PLGA’da gerçekleşti. PLGA’ya eklenen AgNP termal direnci artırırken, eAgNP eklenmesi termal direnci düşürmüştür. Vücut sıcaklığında(36-38°C) nanofiberlerde herhangi bir bozunma gerçekleşmeden kullanılabilir olduğu termal analizle ortaya çıkmıştır.



Şekil 4.11 Nanofiberlerin TGA analizi. a) PLGA nanofiber, b) AgNP/PLGA nanofiber, c) eAgNP/PLGA nanofiber

4.2.5. FTIR Analizi

Nanofiberlerde ve enkapsüle gümüş nanopartiküllerde fonksiyonel grupları tayin etmek için FTIR spektroskopisi kullanıldı. Nanofiber yapılarında (Şekil 4.12a,b,c) $1753\pm 2\text{ cm}^{-1}$ civarı C=O bağının gerilmesini, $1088\pm 1\text{ cm}^{-1}$ bandında C-O bağının gerilmesini, $2944\pm 2\text{ cm}^{-1}$ bandında C-H bağının gerilmesinin varlığı gözlemlendi (Ilaria Armentano, Dottori, Puglia, & Kenny, 2008). PLGA, AgNP/PLGA ve eAgNP/PLGA nanofiberlerde benzer dalga sayılarında (cm^{-1}) zirve noktalarına ulaşıldı. PLGA nanofiber yapısına gümüş nanopartiküllerin eklenmesiyle dalga sayılarında (cm^{-1}) kayma meydana gelmiştir.

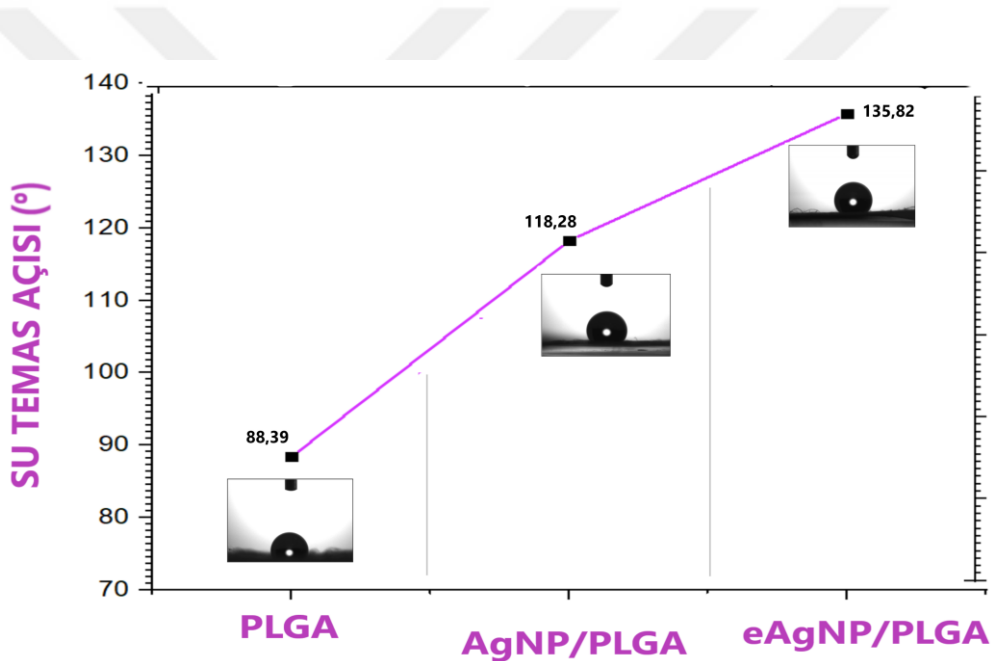


Şekil 4.12 Nanofiber yapılarında FTIR spekturumu. a) PLGA nanofiber, b) AgNP/PLGA nanofiber, c) eAgNP/PLGA nanofiber

PLGA polimerine katılan gümüş nanopartiküller FTIR spektroskopisinde bariz bir farka yol açmamıştır. Yapılan çalışmalardan bir örnekte PLGA polimerine katılan AgNP'nin FTIR spektrometresinde dalga sayılarında herhangi bir değişikliğe neden olmamış ancak geçirgenlik yüzdesinde farklılıklar meydana gelmiştir (Khalil et al., 2013).

4.2.6. Temas Açısı

Nanofiberlerin hidrofilik/hidrofobikliğini ölçmek için gerçekleştirilen su temas açısı ölçüm grafiği Şekil 4.13’de verilmiştir. Hidrofobikliğı düşük olan PLGA nanofibere AgNP eklenmesiyle oluşan temas açısı %33.81 artarken, eAgNP eklenmesiyle temas açısı %53.66 artmıştır. PLGA nanofiberlerine gümüş nanopartiküllerin eklenmesiyle ortaya çıkan yüzeydeki pürüzlülük daha hidrofobik bir yapı olmasını sağlamıştır(Scavone et al., 2016). Su temas açısının artması nanofiberin biyobozunma süresinde de etkili olmuştur. Su temas açısının etkisi, eAgNP/PLGA’da gerçekleşen biyobozunmanın en yavaş ve ağırlık kaybının en az gerçekleşen nanofiber yapısı olmasının kanıtıdır. Hidrofobik özelliğı yüksek nanofiber yara örtüsünün, yaralı bölgede meydana gelen iltihap sıvısını o bölgede bekletmemesi yara iyileştirme sürecine katkı sunacaktır.



Şekil 4.13 Nanofiberlerin temas açısı analizi.

4.2.7. Mekanik Test

Yara örtüsü için üretilen malzemenin esnek, gerilme mukavemetine dayanıklı, elastik özelliğinin iyi derecede olması, dokuya zarar vermemesi beklenir(Zahedi et al., 2010). Bu değerlerin tespiti için numuneler test sürecinden geçirildi. Şekil 4.14’de 3 grup numuneye uygulanan gerilmeye karşı numunenin gösterdiği şekil değişimi % cinsinden verilmiştir. Bu grafikte PLGA, AgNP/PLGA ve eAgNP/PLGA nanofiberleri için sırasıyla 1.32 MPa, 2.18 MPa ve 1.66 MPa max gerilme değerlerine ulaşıldı.

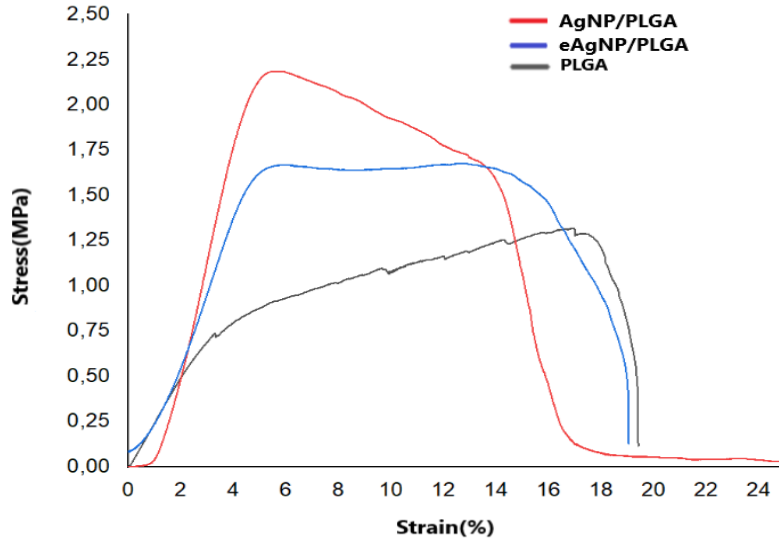
Şekil değiştirmelere bakıldığında PLGA nanofiber ile eAgNP/PLGA nanofiberde yakın değerde Şekil değişimi görüldü. En düşük Şekil değiştirme AgNP/PLGA nanofiberlerde %17 olarak ortaya  ıktı. Gümüş nanopartiküllerin PLGA nanofiberin içine gömüldüğü zaman nanofiber mukavemetinde meydana gelen artışın sebebi; PLGA nanofiberin sürekliliğini azaltıp, PLGA molekülleri arasındaki kayma hareketlerine direnç sağlamasıdır.

eAgNP/PLGA nanofiberlerin mukavemet değeri AgNP/PLGA'ya göre % 23.68 düşük çıkmasının sebebi; eAgNP'ler PLGA içine girdiğinde PLGA molekülleri ile gümüş iyonları arasında zayıf bir bağ oluşur. PLGA arasındaki bağın zayıflamasına sebep olan gümüşün etrafındaki tarçının ana molekülü olan Cinnamaldehyttir. Bu molekül ile termoplastik olan PLGA içerisinde iyi bir bağ oluşmadığından yabancı bir malzeme gibi davranır. Böylece PLGA nanofiberin içerisinde hasar varmış gibi işlem görerek daha düşük mukavemet elde edilmesine sebep olmaktadır.

Nanofiberlerin elastiklik modülü incelendiğinde(Tablo 4.1) en yüksek elastiklik katsayısı AgNP/PLGA nanofiberlerinde ve en düşük katsayı PLGA nanofiberlerinde bulundu. PLGA'ya eklenen gümüş nanopartiküller esneklik kat sayısını artırdı. Bir insan cilt esneklik modülü ortalama 60-70 MPa'dır(Pawlaczyk, Lelonkiewicz, Wieczorowski, & Alergologii, 2013). Cilt formuna en yakın esneklik değeri AgNP/PLGA nanofiberde elde edildi.

Tablo 4.1 Elastiklik Modülü

Nanofiber �eşidi	Stress (MPa)	Strain (%)	Elastiklik Modülü(MPa)
PLGA	1.32	19.42	24.69
AgNP/PLGA	2.18	17.0	57.16
eAgNP/PLGA	1.66	19.03	32.21



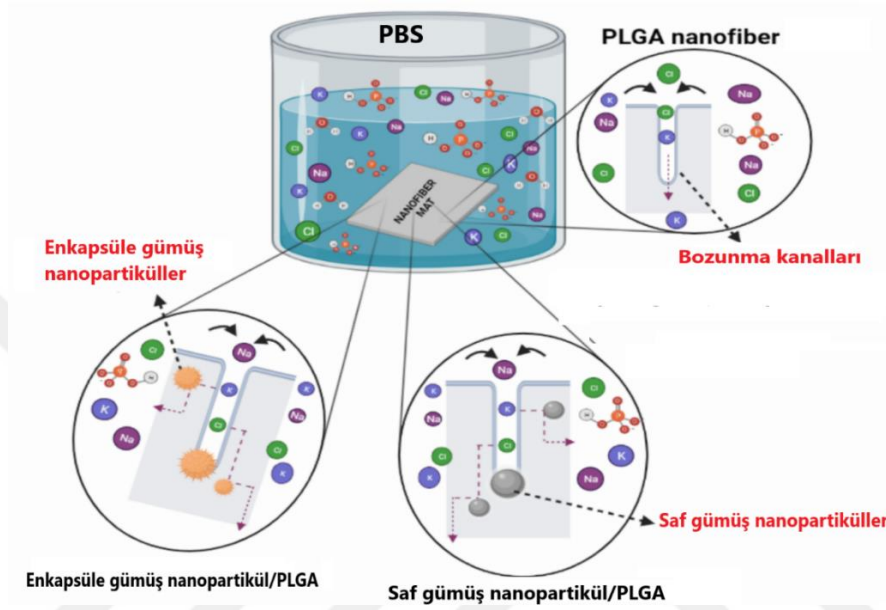
Şekil 4.14 Nanofiberlerin Gerilme- Şekil değişimi grafiği.

4.2.8. Biyobozunurluk Analizi

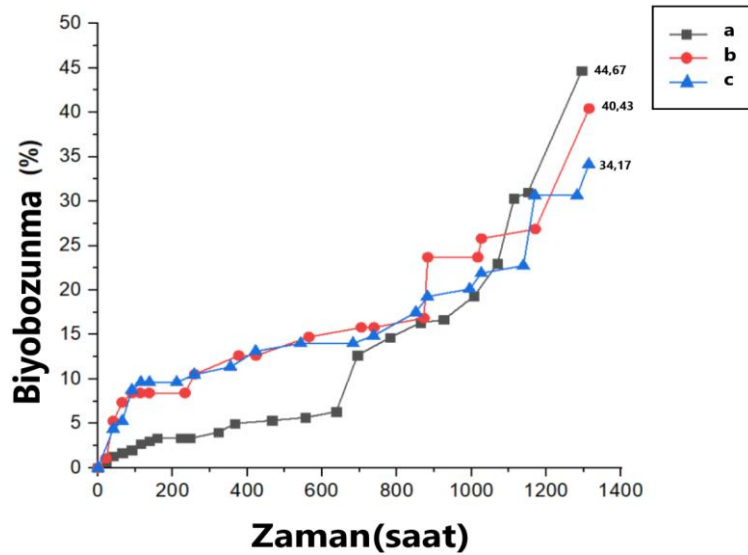
Biyobozunma aktivitesi için PBS içine bırakılan nanofiber numunelerin 1315 saat sonunda ağırlık kayıpları ölçüldü. Başlangıç ağırlıklarından itibaren Şekil 4.16'da verilen en yüksek ağırlık kaybı PLGA nanofiberde %44.7 olarak gözlemlenirken, en düşük ağırlık kaybı eAgNP/PLGA nanofiberde %34.17 gözlemlendi. Bu durumun sebebi Şekil 4.15'de şu şekilde açıklanır: PBS içinde yer alan su molekülleri numunedeki hidrojen bağlarını zayıflatır. Bu bağların zayıflamasıyla nanofiber yapının biyobozunma evresi başlar. Zamana bağlı olarak PBS içinde yer alan diğer iyonlar (Na^+ , Cl^- , K^+ , $\text{HPO}_4^- \dots$) bozunma kanalları oluşturur. Bu kanalların genişlemesiyle bozunma hızlandırılır (Ulus, Kaybal, Eskizeybek, Avcı, & Polymers, 2019). Ancak PLGA yapısına eklenen gümüş nanopartiküller bu kanalların genişlemesini sınırlandırarak bozunmayı geciktirdi.

eAgNP/PLGA nanofiberde meydana gelen ağırlık kaybı AgNP/PLGA nanofiberde meydana gelen ağırlık kaybından daha azdır. Çünkü gümüş nanopartikülün tarçın ile enkapsüle edilmesi bozunma kanallarının genişlemesini daha çok sınırlandıracağından biyobozunma daha yavaş gerçekleşmiştir. Literatürdeki bazı çalışmalarda da gümüş nanopartikülün etkisiyle biyobozunmanın daha yavaş gerçekleştiğine ulaşıldı. Bu çalışmalardan birinde PLGA nanokompozit filmlerine polivinilpirolidon(PVP) ile stabilize edilmiş gümüş nanopartiküller katılmıştır. Eklenen AgNP'ler su difüzyonunu azalttığı gerekçesiyle bozunma hızını düşürdüğü sonucuna ulaşılmıştır (Rinaldi et al., 2013).

eAgNP/PLGA nanofiberlerin bozunma hızı en yavaş olması yara iyileştirme süreci için avantajlı bir durum oluşturmaktadır. Daha geç bozunma ile daha çok eAgNP salınımı gerçekleştirecek ve salınan eAgNP bakteri oluşumunu engellemiş olacaktır. Bu durumda uzun süre yara bölgesini enfeksiyondan koruma ve iyileştirme sürecini hızlandırma faaliyetleri yerine getirilecektir.

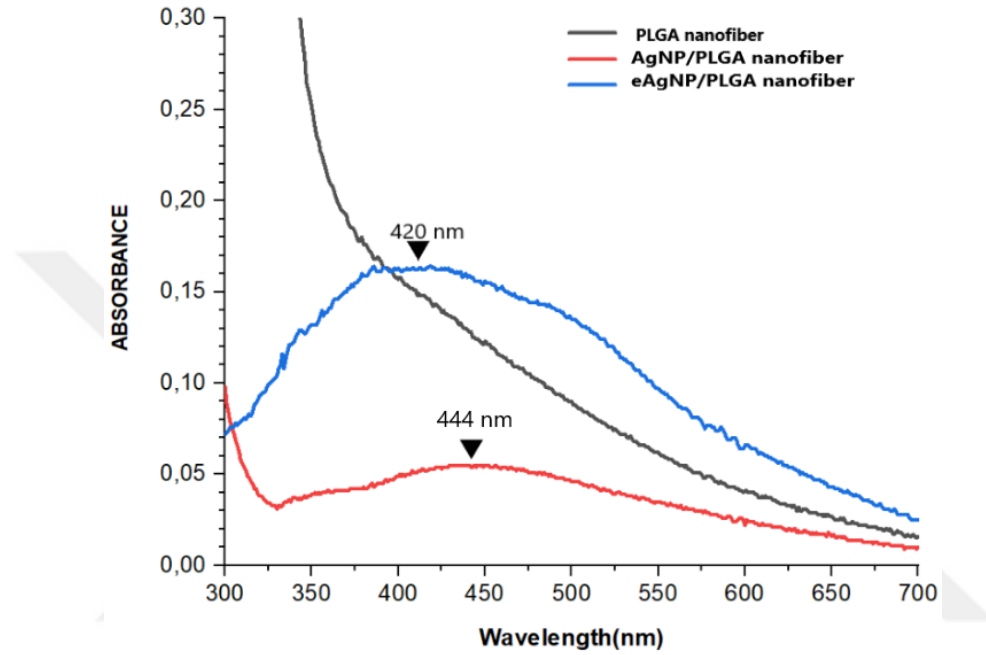


Şekil 4.15 PBS içerisinde yer alan nanofiberlerin biyobozunurluk mekanizması



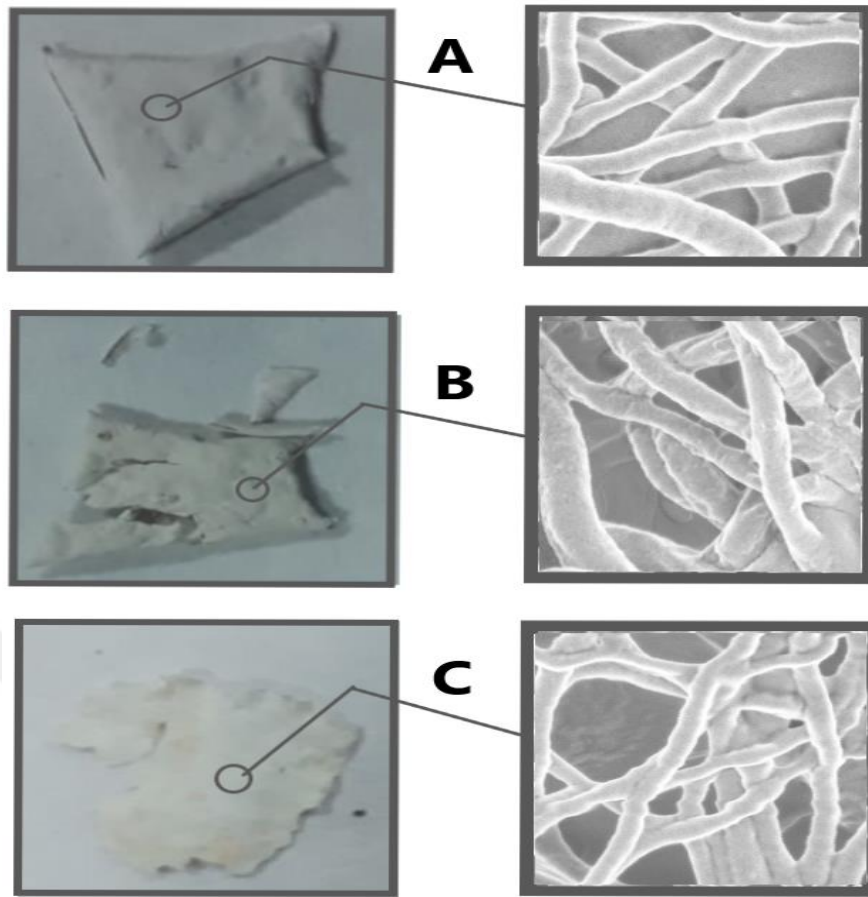
Şekil 4.16 PBS içinde bekletilen nanofiber yapıların biyobozunma grafiği. a) PLGA nanofiber, b) AgNP/PLGA nanofiber, c) eAgNP/PLGA nanofiber

Biyobozunma sonrası PBS'den alınan örnek sıvı numunenin UV spektrometrede alınan ölçüm sonucu Şekil 4.17'de verilmiştir. Gözlemlenen absorbans pik değerleri PLGA, AgNP/PLGA ve eAgNP/PLGA nanofiberleri için sırasıyla 300 nm, 440 nm ve 420 nm'dir. Bu durum biyobozunma sonrası ortama gümüş nanopartiküllerin salındığını doğrular niteliktedir.



Şekil 4.17 Numunelerin bekletildiği PBS içinden alınan örnek PBS sıvısının UV Spektrofotometrede analizi

Şekil 4.18'de verilen biyobozunma sonrası FE-SEM görüntülerinde biyobozunma ile nanofiberlerde; fiber çapında artış, fiberler arası derin boşluklar ve parçalanma görülmüştür. eAgNP/PLGA'da meydana gelen biyobozunma hızındaki yavaşlık, nanofiber örtünün çekilmiş görselinde ve biyobozunurluk sonrası alınan FE-SEM görüntüsünde ortaya çıkmıştır. eAgNP/PLGA nanofiber yavaş bozunarak yara iyileşme sürecinde daha etkili olacaktır.



Şekil 4.18 Biyobozunma sonrası FE-SEM görüntüleri. A) eAgNP/PLGA, B) AgNP/PLGA, C) PLGA

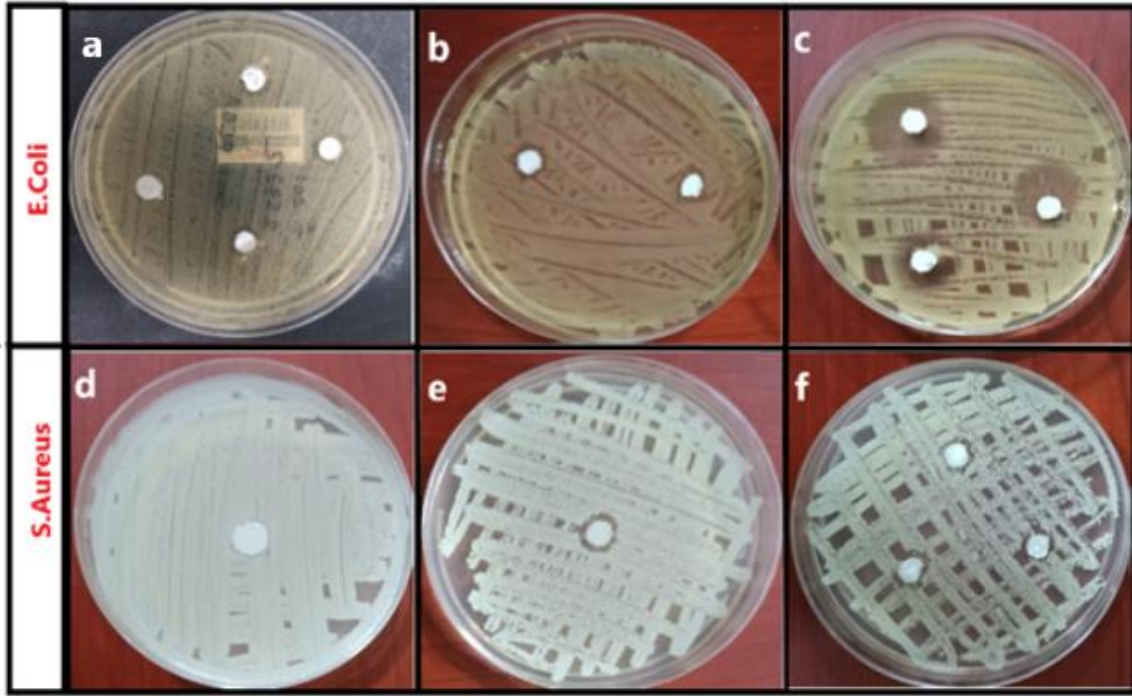
4.2.9. Antibakteriyel Aktivite

Antibakteriyel testi gerçekleştirilen disk şeklindeki PLGA, AgNP/PLGA ve eAgNP/PLGA nanofiberleri bakterilere karşı etki mekanizmasını gerçekleştirerek Şekil 4.18’de verilen inhibisyon çaplarını oluşturdu. Bu etki mekanizmasında gümüş nanopartiküller hücre zarına etki ederek hücre zarının bütünlük özelliğinin azalmasına hücre savunma sistemini engellemeye neden olurlar. Bu etkileşimin sonucunda bakterilerin hücre ölümleri meydana gelir(Bajpai, Baek, & Kang, 2012; Saad, Muller, Lobstein, & Journal, 2013).

PLGA nanofiber diskleri E.Coli ve S.Aureus bakteri çeşitlerinde antibakteriyel etki göstermemiştir ve bu yüzden inhibisyon çap oluşumu gözlemlenmemiştir. Gümüş nanopartiküllerin antibakteriyel etkisi disk etrafında meydana gelen çap oluşumuyla ölçülmüştür. AgNP/PLGA nanofiber diskleri E.coli bakteri çeşitinde 14,28 mm ve S.aureus bakteri çeşitinde 13,22 mm inhibisyon çapları oluşturmuştur. eAgNP/PLGA nanofiber diskleri E.coli bakteri çeşitinde 21,72 mm ve S.aureus bakteri çeşitinde 13,15 mm inhibisyon çapları oluşturmuştur. Nanofiberlerin antibakteriyel aktivitesi E.coli

bakteri çeşitinde daha çok etki göstermiştir. eAgNP katkıli PLGA nanofiberlerin daha büyük inhibisyon çapı oluşturma sebebi tarçın ekstraktının ana bileşeni olan Cinnamaldehyde molekülünden kaynaklanmaktadır(Ahmadi et al., 2021).

Antibakteriyel aktivitesi yüksek çıkan eAgNP/PLGA nanofiber yara örtüsü yara iyileştirme sürecini hızlandırmada etkili olacaktır. Çünkü yaralı bölgede antibakteriyel ajan olarak görev alan eAgNP yaralı bölgeye salınacak ve bakteri oluşumunu engelleyecektir.



Şekil 4.18 PLGA, AgNP/PLGA ve eAgNP/PLGA nanofiber örtülerinin E.Coli ve S.Aureus bakterilerinde antibakteriyel aktivitesinin gözlemlenmesi. (a,d) PLGA; (b,e) AgNP/PLGA; (c,f) eAgNP/PLGA

5. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

5.1 Sonuçlar

Bu tez çalışmasında yara iyileştirmesine yönelik eAgNP katkılı PLGA nanofiberlerin geliştirilmesi hedeflenmiştir. Bu doğrultuda ilk olarak yeşil sentez metoduyla gümüş nanopartiküllerin üretimi yapılmıştır. Bitki özütü çıkarma, gümüş nitrat çözeltisi ile belirli oranlarda bitki özütünü homojen hale getirme, etüvde 200°C'de buharlaştırma işlemlerinin ardından eAgNP elde edilmiştir.

Elektro-eğirme süreci için katkısız PLGA çözeltisi için çözücülerden DCM(%50) ve DMF(%50) oranlarında belirlenip manyetik karıştırıcıda polimer PLGA(%20) eklenmiştir. Gümüş nanopartikül katkılı PLGA çözeltisi için aynı oranlar kullanılmıştır. Gümüş nanopartikül oranı olarak, eklenen PLGA miktarının %1'i kadar belirlenmiştir. Katkılı PLGA nanofiberler için ilk olarak çözücüler ve gümüş nanopartiküller ultrasonik karıştırıcıda çözdürülüp manyetik karıştırıcıda PLGA polimeri eklenmiştir. Elektro-eğirme sürecinde uygun parametrelerle(20-25 kV, 0.3 ml/h, 13 cm) çalışılmıştır.

Üretilen nanofiberlerin morfolojik özellikleri FE-SEM görüntüleriyle incelendi. Katkısız PLGA nanofiberlerin daha kalın çapta ve pürüzsüz olduğu görülürken, AgNP/eAgNP eklenmesi çapta azalmaya ve pürüzlülüğe neden olmuştur. eAgNP/PLGA nanofiber çapının ortalama 116nm'lere düşmesi sağlanmıştır.

FTIR spektrumları incelendiğinde nanofiber yapılarında C=O bağının, C-O bağının, C-H bağının gerilmelerinin, ayrıca tarçının FTIR karakteristik noktalarından CH₂ alken gruplarının yüzeyinde meydana gelen dönme ve aromatik halka olan =C-H bağının düzlem içi bükülmesi, C-H düzlem dışı bükülme, C=C titreşimi gözlemlendi.

XRD grafiğinde, enkapsüle gümüş nanopartikül en yüksek yoğunluk değerini vermiştir. Nanofiber yapılarda $\theta = 29.59^\circ$ ve 29.49° noktalarında pik yapmıştır. Enkapsüle gümüş nanopartikül $\theta = 38.25^\circ$ noktasında pik değeri vermiştir. Nanofiber yapıdaki malzemelerin daha düşük açılarda pik değeri vermesini PLGA'nın amorf yapıda olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir.

TGA analizinde PLGA'ya katılan eAgNP termal direnci düşürmüş ve yüksek sıcaklıkta ağırlık kaybı en çok bu nanofiberlerde meydana gelmiştir.

TEM görüntülerinde eAgNP çapının 50 nm altında olduğu görülmüştür. Nanofiber yapılarda gümüş nanopartiküllerin varlığı kanıtlanmıştır. FE-SEM görüntülerinde eAgNP ve AgNP'nin varlığı pürüzlülük olarak ortaya çıkmıştır.

Katkısız PLGA nanofiberlerin temas açıları 94° seviyelerinden eAgNP'nin eklenmesiyle 135° seviyelerine yükselmiştir. Bu durumda temas açısının artmasıyla bozunma hızı azalmıştır.

Mekanik test ile nanofiber mukavemetleri ölçülmüştür. PLGA'ya eklenen AgNP ile en iyi mukavemet göstermiştir. eAgNP/PLGA nanofiberin daha düşük mukavemette çıkmasının sebebi PLGA molekülleri ile eAgNP'nin içindeki Cinnamaldehit'ten(tarçının ana maddesi) kaynaklanan bağın zayıf olmasıdır.

Biyobozunurluk analizinde eAgNP'nin bozunma kanallarının genişlemesini daha çok sınırlaması biyobozunmanın daha yavaş gerçekleşmesine neden olmuştur. Deneysel sonuçlarda da eAgNP/PLGA nanofiberdeki ağırlık kaybı en düşük çıkmıştır.

Antibakteriyel etkisine bakılan nanofiberlerin E.coli bakteri çeşitinde daha etkili olduğu görülmüştür. AgNP ve eAgNP eklenmesiyle bakterilere karşı direnç göstererek inhibisyon çapları oluşturmuştur. En çok çap oluşumu eAgNP/PLGA nanofiberinde görülmüştür. Bu durumun sebebi tarçının içindeki ana molekül olan Cinnamaldehitin varlığıdır.

Üretimi gerçekleştirilen eAgNP/PLGA nanofiberlerin mekanik, biyobozunma, antibakteriyel, su temas açısı ve morfolojik özelliklerinin incelenmesinin ardından yara örtüsü olarak kullanılabileceği sonucuna ulaşılmıştır.

5.2 Öneriler

İn-vitro testleri tamamlanan eAgNP/ PLGA nanofiberlerin yara iyileşmesi için olumlu sonuçlar verdiği görülmüştür. İn-vivo testlerine geçilerek canlı ortamında testlere devam edilebilir.

eAgNP katkı oranları artırılarak PLGA nanofiberleri üretilebilir. Bu nanofiberlerin morfolojik, mekanik, antibakteriyel, biyobozunurluk analizleri yapılarak yara iyileşmesine katkısı araştırılabilir.

İlaç uygulaması eklenerek ilaç salınım testleri, antibakteriyel etki testleri yapılarak çalışma ilerletilebilir.

6. KAYNAKLAR

- Abrigo, M., McArthur, S. L., & Kingshott, P. J. M. b. (2014). Electrospun nanofibers as dressings for chronic wound care: advances, challenges, and future prospects. *14*(6), 772-792.
- Ahmadi, S., Hivechi, A., Bahrami, S. H., Milan, P. B., & Ashraf, S. S. J. I. J. o. B. M. (2021). Cinnamon extract loaded electrospun chitosan/gelatin membrane with antibacterial activity. *173*, 580-590.
- Ahmed, J., Altun, E., Aydogdu, M. O., Gunduz, O., Kerai, L., Ren, G., & Edirisinghe, M. J. I. w. j. (2019). Anti-fungal bandages containing cinnamon extract. *16*(3), 730-736.
- Alipour, R., Khorshidi, A., Shojaei, A. F., Mashayekhi, F., & Moghaddam, M. J. M. J. P. T. (2019). Skin wound healing acceleration by Ag nanoparticles embedded in PVA/PVP/Pectin/Mafenide acetate composite nanofibers. *79*, 106022.
- Alomar, T. S., AlMasoud, N., Awad, M. A., El-Tohamy, M. F., Soliman, D. A. J. M. C., & Physics. (2020). An eco-friendly plant-mediated synthesis of silver nanoparticles: Characterization, pharmaceutical and biomedical applications. *249*, 123007.
- Annavaram, V., Posa, V. R., Uppara, V. G., Jorepalli, S., & Somala, A. R. J. B. (2015). Facile green synthesis of silver nanoparticles using *Limonia acidissima* leaf extract and its antibacterial activity. *5*(2), 97-103.
- Armentano, I., Dottori, M., Puglia, D., & Kenny, J. M. J. J. o. M. S. M. i. M. (2008). Effects of carbon nanotubes (CNTs) on the processing and in-vitro degradation of poly (DL-lactide-co-glycolide)/CNT films. *19*(6), 2377-2387.
- Armentano, I., Fortunati, E., Latterini, L., Rinaldi, S., Saino, E., Visai, L., . . . Nanocomposites. (2010). Biodegradable PLGA matrix nanocomposite with silver nanoparticles: material properties and bacteria activity. *6*(4), 110-117.
- Arthanari, S., Mani, G., Jang, J. H., Choi, J. O., Cho, Y. H., Lee, J. H., . . . biotechnology. (2016). Preparation and characterization of gatifloxacin-loaded alginate/poly (vinyl alcohol) electrospun nanofibers. *44*(3), 847-852.
- Aruan, N. M., Sriyanti, I., Edikresnha, D., Suciati, T., & Munir, M. M. J. P. e. (2017). Polyvinyl alcohol/soursop leaves extract composite nanofibers synthesized using electrospinning technique and their potential as antibacterial wound dressing. *170*, 31-35.
- Aytaç, Z. (2012). *Electrospinning of biocompatible polymeric nanofibers functionalized with cyclodextrin inclusion complex*. Bilkent University,
- Bajpai, V. K., Baek, K.-H., & Kang, S. C. J. F. R. I. (2012). Control of Salmonella in foods by using essential oils: A review. *45*(2), 722-734.
- Beşergil, B. (2003). Polimer Kimyası. Retrieved from <http://bilsenbesergil.blogspot.com/>
- Beyene, H. D., Werkneh, A. A., Bezabh, H. K., Ambaye, T. G. J. S. m., & technologies. (2017). Synthesis paradigm and applications of silver nanoparticles (AgNPs), a review. *Elsevier, 13*, 18-23.
- Bhagyaraj, S. M., & Oluwafemi, O. S. (2018). Nanotechnology: the science of the invisible. In *Synthesis of inorganic nanomaterials* (pp. 1-18): Elsevier.
- Bhardwaj, N., & Kundu, S. C. J. B. a. (2010). Electrospinning: a fascinating fiber fabrication technique. *28*(3), 325-347.
- BİTAM, B. v. T. A. v. U. M. (2020). On-Line Katalog Retrieved from <https://bitamkatalog.erbakan.edu.tr/>

- Boateng, J., & Catanzano, O. J. J. o. p. s. (2015). Advanced therapeutic dressings for effective wound healing—a review. *104*(11), 3653-3680.
- Boateng, J. S., Matthews, K. H., Stevens, H. N., & Eccleston, G. M. (2008). Wound healing dressings and drug delivery systems: a review. *J Pharm Sci*, *97*(8), 2892-2923. doi:10.1002/jps.21210
- Braghirolli, D. I., Steffens, D., & Pranke, P. J. D. d. t. (2014). Electrospinning for regenerative medicine: a review of the main topics. *19*(6), 743-753.
- Brown, T. M., & Krishnamurthy, K. J. S. (2020). Histology, dermis.
- Cai, N., Li, C., Han, C., Luo, X., Shen, L., Xue, Y., & Yu, F. J. A. S. S. (2016). Tailoring mechanical and antibacterial properties of chitosan/gelatin nanofiber membranes with Fe₃O₄ nanoparticles for potential wound dressing application. *369*, 492-500.
- Casper, C. L., Stephens, J. S., Tassi, N. G., Chase, D. B., & Rabolt, J. F. J. M. (2004). Controlling surface morphology of electrospun polystyrene fibers: effect of humidity and molecular weight in the electrospinning process. *37*(2), 573-578.
- Connell, B. J., Chang, S.-Y., Prakash, E., Yousfi, R., Mohan, V., Posch, W., . . . Clayette, P. J. P. O. (2016). A cinnamon-derived procyanidin compound displays anti-hiv-1 activity by blocking heparan sulfate-and co-receptor-binding sites on gp120 and reverses T cell exhaustion via impeding tim-3 and PD-1 upregulation. *11*(10), e0165386.
- Çolpankan, O. (2019). *PRODUCTION OF ANTIBACTERIAL, BIODEGRADABLE AND BIOCOMPATIBLE MATERIALS FOR TISSUE ENGINEERING APPLICATIONS*. (Doktora tezi (604520)), Dokuz Eylül Üniversitesi, İzmir.
- Dabney, S. E. (2002). *The use of electrospinning technology to produce wound dressings*: The University of Akron.
- Danhier, F., Ansorena, E., Silva, J. M., Coco, R., Le Breton, A., & Pr at, V. J. J. o. c. r. (2012). PLGA-based nanoparticles: an overview of biomedical applications. *161*(2), 505-522.
- Das, M., & Chatterjee, S. (2019). Green synthesis of metal/metal oxide nanoparticles toward biomedical applications: Boon or bane. In *Green Synthesis, Characterization and Applications of Nanoparticles* (pp. 265-301): Elsevier.
- Davidson, J. R. J. V. C. N. A. S. A. P. (2015). Current concepts in wound management and wound healing products. *45*(3), 537-564.
- De Matteis, V., Rinaldi, R. J. C., & nanoparticles, m. t. o. (2018). Toxicity assessment in the nanoparticle era. 1-19.
- Değer, S. (2019). *Preparation And Characterization Of Herbal Extract Loaded Bilayer Sponges For Wound Dressing Applications*. (Yüksek Lisans (561055)), İzmir Institute of Technology, İzmir.
- Dhivya, S., Padma, V., & Santhini, E. (2015). Wound Dressings—A Review. *Biomedicine (Taipei)*, *5*, 22. In.
- Dinç, H. (2013). *Polivinil borat sentezin; elektrospin yöntemiyle nanofiber hazırlanması ve karakterizasyonu*. Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü,
- Dorri, M., Hashemitabar, S., Hosseinzadeh, H. J. D., & toxicology, c. (2018). Cinnamon (*Cinnamomum zeylanicum*) as an antidote or a protective agent against natural or chemical toxicities: a review. *41*(3), 338-351.
- Dumont, M., Villet, R., Guirand, M., Montembault, A., Delair, T., Lack, S., . . . Laurent, F. J. C. p. (2018). Processing and antibacterial properties of chitosan-coated alginate fibers. *190*, 31-42.
- Edwards, R., & Harding, K. G. J. C. o. i. i. d. (2004). Bacteria and wound healing. *17*(2), 91-96.

- Eminoğlu, E. M. (2013). *Çapraz bağlı tiyofen esaslı nanofiberlerin hazırlanması ve karakterizasyonu*. (Yüksek Lisans Tezi), Marmara Üniversitesi,
- Erdem, R. (2013). *Nanolif Bazlı Yara Örtüsü Yüzeyi Geliştirilmesi*. (Doktora Tezi), Marmara Üniversitesi, İSTANBUL.
- Es-Saheb, M., Sherif, E.-S. M., El-Zatahry, A., El Rayes, M. M., & Khalil, A. J. I. J. E. S. (2012). Corrosion passivation in aerated 3.5% NaCl solutions of brass by nanofiber coatings of polyvinyl chloride and polystyrene. *7*(11), 10442-10455.
- Esentürk, İ., Erdal, M. S., & Güngör, S. J. İ. Ü. E. F. D. (2016). Electrospinning method to produce drug-loaded nanofibers for topical/transdermal drug delivery applications. *46*(1), 49-69.
- Fonder, M. A., Lazarus, G. S., Cowan, D. A., Aronson-Cook, B., Kohli, A. R., & Mamelak, A. J. J. J. o. t. A. A. o. D. (2008). Treating the chronic wound: A practical approach to the care of nonhealing wounds and wound care dressings. *58*(2), 185-206.
- Fouad, H., Elsarnagawy, T., Almajhdi, F. N., & Khalil, K. A. J. I. J. E. S. (2013). Preparation and in vitro thermo-mechanical characterization of electrospun PLGA nanofibers for soft and hard tissue replacement. *8*(2), 2293-2304.
- Füsun, Ş. (2013). Polimer Malzemeler ve Özellikleri Nelerdir? Retrieved from <http://teknikbil.blogspot.com/2013/11/polimer-malzemeler-ve-ozellikleri.html>
- Gan, P. P., Li, S. F. Y. J. R. i. E. S., & Bio/Technology. (2012). Potential of plant as a biological factory to synthesize gold and silver nanoparticles and their applications. *11*(2), 169-206.
- Geng, X., Kwon, O.-H., & Jang, J. J. B. (2005). Electrospinning of chitosan dissolved in concentrated acetic acid solution. *26*(27), 5427-5432.
- Golchin, A., Hosseinzadeh, S., & Ardeshiryajimi, A. J. J. o. c. b. (2018). The exosomes released from different cell types and their effects in wound healing. *119*(7), 5043-5052.
- Golchin, A., Hosseinzadeh, S., Jouybar, A., Staji, M., Soleimani, M., Ardeshiryajimi, A., & Khojasteh, A. J. P. f. A. T. (2020). Wound healing improvement by curcumin-loaded electrospun nanofibers and BFP-MSCs as a bioactive dressing. *31*(7), 1519-1531.
- Gomes, S. R., Rodrigues, G., Martins, G. G., Roberto, M. A., Mafra, M., Henriques, C., . . . C, E. (2015). In vitro and in vivo evaluation of electrospun nanofibers of PCL, chitosan and gelatin: A comparative study. *46*, 348-358.
- Graham, H. K., Eckersley, A., Ozols, M., Mellody, K. T., & Sherratt, M. J. (2019). Human skin: composition, structure and visualisation methods. In *Skin Biophysics* (pp. 1-18): Springer.
- Hamidpour, R., & Shahlari, M. (2015). Cinnamon from the selection of traditional applications to its novel effects on the inhibition of angiogenesis in cancer cells and prevention of Alzheimer's disease, and a series of functions such as antioxidant, anticholesterol, antidiabetes, antibacterial, antifungal, nematocidal, acaracidal, and repellent activities. *Journal of Traditional and Complementary Medicine*, *5*(2), 66-70.
- Homaeigohar, S., & Boccaccini, A. R. J. A. b. (2020). Antibacterial biohybrid nanofibers for wound dressings. *107*, 25-49.
- Hossein, N., Abolfazl, M., Mahdi, S., & Ali, K. J. J. o. M. P. R. (2013). Effect of Cinnamon zeylanicum essence and distillate on the clotting time. *7*(19), 1339-1343.

- Hu, J., Kai, D., Ye, H., Tian, L., Ding, X., Ramakrishna, S., . . . C, E. (2017). Electrospinning of poly (glycerol sebacate)-based nanofibers for nerve tissue engineering. *70*, 1089-1094.
- Hu, X., Liu, S., Zhou, G., Huang, Y., Xie, Z., & Jing, X. (2014). Electrospinning of polymeric nanofibers for drug delivery applications. *J Control Release, 185*, 12-21. doi:10.1016/j.jconrel.2014.04.018
- Hua, N., Ti, V. L., Xu, Y. J. C. b., & biophysics. (2014). Biodegradable effect of PLGA membrane in alveolar bone regeneration on beagle dog. *70(2)*, 1051-1055.
- Huang, J., Li, Q., Sun, D., Lu, Y., Su, Y., Yang, X., . . . Chen, C. (2007). Biosynthesis of silver and gold nanoparticles by novel sundried Cinnamomum camphoraleaf. *Nanotechnology, 18(10)*. doi:10.1088/0957-4484/18/10/105104
- Huang, K., Jinzhong, Z., Zhu, T., Morsi, Y., Aldabahi, A., El-Newehy, M., . . . Mo, X. J. J. o. M. C. B. (2021). Exploration of the antibacterial and wound healing potential of a PLGA/silk fibroin based electrospun membrane loaded with zinc oxide nanoparticles. *9(5)*, 1452-1465.
- Hussain, I., Singh, N., Singh, A., Singh, H., & Singh, S. J. B. I. (2016). Green synthesis of nanoparticles and its potential application. *38(4)*, 545-560.
- Iravani, S. (2011). Green synthesis of metal nanoparticles using plants. *Green Chemistry, 13(10)*, 2638-2650.
- Iravani, S., Korbekandi, H., Mirmohammadi, S. V., & Zolfaghari, B. J. R. i. p. s. (2014). Synthesis of silver nanoparticles: chemical, physical and biological methods. *9(6)*, 385.
- Jakhetia, V., Patel, R., Khatri, P., Pahuja, N., Garg, S., Pandey, A., & Sharma, S. J. J. o. a. s. r. (2010). Cinnamon: a pharmacological review. *1(2)*, 19-23.
- Jannesari, M., Varshosaz, J., Morshed, M., & Zamani, M. J. I. j. o. n. (2011). Composite poly (vinyl alcohol)/poly (vinyl acetate) electrospun nanofibrous mats as a novel wound dressing matrix for controlled release of drugs. *6*, 993.
- Kabashima, K., Honda, T., Ginhoux, F., & Egawa, G. J. N. R. I. (2019). The immunological anatomy of the skin. *19(1)*, 19-30.
- Kanani, A. G., & Bahrami, S. H. J. T. B. A. O. (2010). Review on electrospun nanofibers scaffold and biomedical applications. *24(2)*, 93-115.
- Karahan, G. (2017). *Elektrospinleme yöntemi ile poliakrilik asit/polietenimin (PAA/PEI) nanoliflerin hazırlanması ve çeşitli termal spektroskopik ve mikroskopik özelliklerinin incelenmesi*. Hitit Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü,
- Kaya, A. (Producer). (2019). techWorm. Retrieved from <https://www.tech-worm.com/deri-nedir-derinin-yapisi-fonksiyonlari-ve-katmanlari-nelerdir/>
- Khalil, K. A., Fouad, H., Elsarnagawy, T., & Almajhdi, F. N. J. I. J. E. S. (2013). Preparation and characterization of electrospun PLGA/silver composite nanofibers for biomedical applications. *8(3)*, 3483-3493.
- Khan, A. A., Fox, E. K., Górzny, M. Ł., Nikulina, E., Brougham, D. F., Wege, C., & Bittner, A. M. J. L. (2013). pH control of the electrostatic binding of gold and iron oxide nanoparticles to tobacco mosaic virus. *29(7)*, 2094-2098.
- Kharissova, O. V., Dias, H. R., Kharisov, B. I., Pérez, B. O., & Pérez, V. M. J. J. T. i. b. (2013). The greener synthesis of nanoparticles. *31(4)*, 240-248.
- Khil, M. S., Cha, D. I., Kim, H. Y., Kim, I. S., Bhattarai, N. J. J. o. B. M. R. P. B. A. B. A. O. J. o. T. S. f. B., The Japanese Society for Biomaterials,, Biomaterials, T. A. S. f., & Biomaterials, t. K. S. f. (2003). Electrospun nanofibrous polyurethane membrane as wound dressing. *67(2)*, 675-679.

- Khurana, C., Vala, A. K., Andhariya, N., Pandey, O., & Chudasama, B. J. J. o. B. M. R. P. A. (2014). Antibacterial activity of silver: the role of hydrodynamic particle size at nanoscale. *102*(10), 3361-3368.
- Kim, G., Park, J., & Park, S. J. J. o. P. S. P. B. P. P. (2007). Surface-treated and multilayered poly (ϵ -caprolactone) nanofiber webs exhibiting enhanced hydrophilicity. *45*(15), 2038-2045.
- Kiremitler, N. (2016). *Elektroçirime Yöntemiyle Nano Gümüş Katkılı Polikaprolakton Hidroksiapatit (Pcl/Ha-Ag) Nanolif Üretimi Ve Karakterizasyonu*. (Yüksek Lisans Tezi), Erciyes Üniversitesi, Kayseri.
- Koç, N. (2019). *Centella Asiatica Extract Containing Bilayered Electrospun Wound Dressing*. (Yüksek Lisans (606276)), Abdullah Gül University, Kayseri.
- Krishnakumar, I., Issac, A., Johannah, N., Ninan, E., Maliakel, B., Kuttan, R. J. F., & function. (2014). Effects of the polyphenol content on the anti-diabetic activity of *Cinnamomum zeylanicum* extracts. *5*(9), 2208-2220.
- Kumbar, S., James, R., Nukavarapu, S., & Laurencin, C. J. B. m. (2008). Electrospun nanofiber scaffolds: engineering soft tissues. *3*(3), 034002.
- Lakshminarayanan, R., Sridhar, R., Loh, X. J., Nandhakumar, M., Barathi, V. A., Kalaipriya, M., . . . Ramakrishna, S. J. I. j. o. n. (2014). Interaction of gelatin with polyenes modulates antifungal activity and biocompatibility of electrospun fiber mats. *9*, 2439.
- Lee, C.-H., Chang, S.-H., Chen, W.-J., Hung, K.-C., Lin, Y.-H., Liu, S.-J., . . . science, i. (2015). Augmentation of diabetic wound healing and enhancement of collagen content using nanofibrous glucophage-loaded collagen/PLGA scaffold membranes. *439*, 88-97.
- Li, Y.-q., Kong, D.-x., Wu, H. J. I. C., & Products. (2013). Analysis and evaluation of essential oil components of cinnamon barks using GC-MS and FTIR spectroscopy. *41*, 269-278.
- Liao, H. T., Lai, Y.-T., Kuo, C.-Y., Chen, J.-P. J. M. S., & C, E. (2021). A bioactive multi-functional heparin-grafted aligned poly (lactide-co-glycolide)/curcumin nanofiber membrane to accelerate diabetic wound healing. *120*, 111689.
- Lim, C. T. J. P. i. P. S. (2017). Nanofiber technology: current status and emerging developments. *70*, 1-17.
- Liu, J., Qian, Z., Shi, Q., Yang, S., Wang, Q., Liu, B., . . . Liu, H. J. R. a. (2017). An asymmetric wetttable chitosan-silk fibroin composite dressing with fixed silver nanoparticles for infected wound repair: in vitro and in vivo evaluation. *7*(69), 43909-43920.
- Locatelli, E., & Franchini, M. C. J. J. o. N. R. (2012). Biodegradable PLGA-b-PEG polymeric nanoparticles: synthesis, properties, and nanomedical applications as drug delivery system. *14*(12), 1-17.
- Makadia, H. K., & Siegel, S. J. J. P. (2011). Poly lactic-co-glycolic acid (PLGA) as biodegradable controlled drug delivery carrier. *3*(3), 1377-1397.
- Martins, C., Sousa, F., Araujo, F., & Sarmiento, B. J. A. h. m. (2018). Functionalizing PLGA and PLGA derivatives for drug delivery and tissue regeneration applications. *7*(1), 1701035.
- Masood, N., Ahmed, R., Tariq, M., Ahmed, Z., Masoud, M. S., Ali, I., . . . Hasan, A. J. I. j. o. p. (2019). Silver nanoparticle impregnated chitosan-PEG hydrogel enhances wound healing in diabetes induced rabbits. *559*, 23-36.
- Mbonyiriyuze, A., Zongo, S., Diallo, A., Bertrand, S., Minani, E., Yadav, L. L., . . . Maaza, M. (2015). Titanium dioxide nanoparticles biosynthesis for dye sensitized solar cells application.

- McIntosh, C. J. W. E. (2007). Are hydrocolloid dressings suitable for diabetic foot ulcers? , 2, 170-172.
- Mir, M., Ahmed, N., ur Rehman, A. J. C., & Biointerfaces, S. B. (2017). Recent applications of PLGA based nanostructures in drug delivery. *159*, 217-231.
- Mollazadeh, H., & Hosseinzadeh, H. J. I. j. o. b. m. s. (2016). Cinnamon effects on metabolic syndrome: a review based on its mechanisms. *19*(12), 1258.
- Moore, K., McCallion, R., Searle, R. J., Stacey, M. C., & Harding, K. G. J. I. w. j. (2006). Prediction and monitoring the therapeutic response of chronic dermal wounds. *3*(2), 89-98.
- Murphy, P. S., & Evans, G. R. J. P. s. i. (2012). Advances in wound healing: a review of current wound healing products. *2012*.
- Mutlu, G. (2014). Doku Rejenerasyonunda Kullanılmak Üzere Etken Madde Yüklü Nanofibriler Yapıların Hazırlanması ve Karakterizasyonu.
- Naseri, N., Poirier, J.-M., Girandon, L., Fröhlich, M., Oksman, K., & Mathew, A. P. J. R. A. (2016). 3-Dimensional porous nanocomposite scaffolds based on cellulose nanofibers for cartilage tissue engineering: tailoring of porosity and mechanical performance. *6*(8), 5999-6007.
- Naskar, D., Ghosh, A. K., Mandal, M., Das, P., Nandi, S. K., & Kundu, S. C. J. B. (2017). Dual growth factor loaded nonmulberry silk fibroin/carbon nanofiber composite 3D scaffolds for in vitro and in vivo bone regeneration. *136*, 67-85.
- Nguyen, T. D., Nguyen, T. T., Ly, K. L., Tran, A. H., Nguyen, T. T. N., Vo, M. T., . . . Nguyen, D. H. J. I. J. o. P. S. (2019). In vivo study of the antibacterial chitosan/polyvinyl alcohol loaded with silver nanoparticle hydrogel for wound healing applications. *2019*.
- Norouzi, M., Shabani, I., Ahvaz, H. H., & Soleimani, M. J. J. o. B. M. R. P. A. (2015). PLGA/gelatin hybrid nanofibrous scaffolds encapsulating EGF for skin regeneration. *103*(7), 2225-2235.
- OctaMed. Nonwoven Yara Örtüsü. Retrieved from <https://www.octamed.com/c/yara-ortuleri/6>
- Pal, S. L., Jana, U., Manna, P. K., Mohanta, G. P., & Manavalan, R. J. J. o. a. p. s. (2011). Nanoparticle: An overview of preparation and characterization. *1*(6), 228-234.
- Panichpakdee, J., Pavasant, P., & Supaphol, P. J. C. M. J. S. (2016). Electrospun cellulose acetate fiber mats containing emodin with potential for use as wound dressing. *43*(1), 1249-1259.
- Parthasarathy, H., & Thombare, S. J. A. J. o. E. S. (2013). Evaluation of antimicrobial activity of Azadirachta indica, Syzygium aromaticum and Cinnamomum zeyalnicum against oral microflora. *27*(2), 13-16.
- Pawlaczyk, M., Lelonkiewicz, M., Wieczorowski, M. J. A. i. D., & Alergologii, A. P. D. i. (2013). Age-dependent biomechanical properties of the skin. *30*(5), 302.
- Peres, C., Matos, A. I., Conriot, J., Sainz, V., Zupančič, E., Silva, J. M., . . . Florindo, H. F. J. A. b. (2017). Poly (lactic acid)-based particulate systems are promising tools for immune modulation. *48*, 41-57.
- Preedy, V. R. (2012). Drug Loaded Nanofiber Matrices as Diabetic Wound Dressings. In *Nanotechnology and Nanomedicine in Diabetes* (pp. 337-356): CRC Press.
- Premkumar, J., Sudhakar, T., Dhakal, A., Shrestha, J. B., Krishnakumar, S., Balashanmugam, P. J. B., & biotechnology, a. (2018). Synthesis of silver nanoparticles (AgNPs) from cinnamon against bacterial pathogens. *15*, 311-316.

- Pyatenko, A., Yamaguchi, M., & Suzuki, M. J. T. J. o. P. C. C. (2007). Synthesis of spherical silver nanoparticles with controllable sizes in aqueous solutions. *111*(22), 7910-7917.
- Qin, M., Liu, D., Dai, Z., Meng, X., Liu, G., Liu, H., . . . Chen, S. J. C. R. i. C. U. (2021). One Step Fabrication and Application of Antibacterial Electrospun Zein/Cinnamon Oil Membrane Wound Dressing via In situ Electrospinning Process. *37*(3), 464-469.
- Rajput, N. J. I. J. o. A. i. E., & Technology. (2015). Methods of preparation of nanoparticles-a review. *7*(6), 1806.
- Ramakrishna, S., Fujihara, K., Teo, W.-E., Lim, T.-C., & Ma, Z. (2005). An Introduction to Electrospinning and Nanofibers. In: World Scientific.
- Ramarkrishra, S., Fujihara, K., Teo, W., & Lim, T. M. Z., 2005. An introduction to electrospinning and nanofibers. In: World Scientific, Singapore.
- Rao, K. J., & Paria, S. J. M. R. B. (2013). Green synthesis of silver nanoparticles from aqueous Aegle marmelos leaf extract. *48*(2), 628-634.
- Rao, P. V., Gan, S. H. J. E.-B. C., & Medicine, A. (2014). Cinnamon: a multifaceted medicinal plant. *2014*.
- Rinaldi, S., Fortunati, E., Taddei, M., Kenny, J. M., Armentano, I., & Latterini, L. J. J. o. A. P. S. (2013). Integrated PLGA–Ag nanocomposite systems to control the degradation rate and antibacterial properties. *130*(2), 1185-1193.
- Russell, A., & Hugo, W. J. P. i. m. c. (1994). 7 antimicrobial activity and action of silver. *31*, 351-370.
- Saad, N. Y., Muller, C. D., Lobstein, A. J. F., & Journal, F. (2013). Major bioactivities and mechanism of action of essential oils and their components. *28*(5), 269-279.
- Salehi, M., Niyakan, M., Ehterami, A., Haghi-Daredeh, S., Nazarnezhad, S., Abbaszadeh-Goudarzi, G., . . . Mousavi, S. R. J. B. e. l. (2020). Porous electrospun poly (ϵ -caprolactone)/gelatin nanofibrous mat containing cinnamon for wound healing application: in vitro and in vivo study. *10*(1), 149-161.
- Sathishkumar, M., Sneha, K., Won, S., Cho, C.-W., Kim, S., Yun, Y.-S. J. C., & Biointerfaces, S. B. (2009). Cinnamon zeylanicum bark extract and powder mediated green synthesis of nano-crystalline silver particles and its bactericidal activity. *73*(2), 332-338.
- Scavone, M., Armentano, I., Fortunati, E., Cristofaro, F., Mattioli, S., Torre, L., . . . Visai, L. J. M. (2016). Antimicrobial properties and cytocompatibility of PLGA/Ag nanocomposites. *9*(1), 37.
- Seaman, S. J. J. o. t. A. P. M. A. (2002). Dressing selection in chronic wound management. *92*(1), 24-33.
- Seriñçay, H. (2014). *ALOE VERA VE SİPROFLOKSASİN İÇEREN ANTİBAKTERİYEL ÖZELLİKTE NANOELYAF YARA SARGI MALZEMELERİNİN ÜRETİMİ VE KARAKTERİZASYONU*. (Yüksek Lisans tezi Yüksek Lisans), Gazi, ankara.
- Shameli, K., Ahmad, M. B., Yunus, W. M. Z. W., Rustaiyan, A., Ibrahim, N. A., Zargar, M., & Abdollahi, Y. J. I. j. o. n. (2010). Green synthesis of silver/montmorillonite/chitosan bionanocomposites using the UV irradiation method and evaluation of antibacterial activity. *5*, 875.
- Shreaz, S., Wani, W. A., Behbehani, J. M., Raja, V., Irshad, M., Karched, M., . . . Hun, L. T. J. F. (2016). Cinnamaldehyde and its derivatives, a novel class of antifungal agents. *112*, 116-131.
- Sill, T. J., & Von Recum, H. A. J. B. (2008). Electrospinning: applications in drug delivery and tissue engineering. *29*(13), 1989-2006.

- Singh, J., Kaur, G., Kaur, P., Bajaj, R., & Rawat, M. J. W. J. P. P. S. (2016). A review on green synthesis and characterization of silver nanoparticles and their applications: a green nanoworld. *7*, 730-762.
- Singh, J., Mehta, A., Rawat, M., & Basu, S. J. J. o. e. c. e. (2018). Green synthesis of silver nanoparticles using sun dried tulsi leaves and its catalytic application for 4-Nitrophenol reduction. *6*(1), 1468-1474.
- Song, D. W., Kim, S. H., Kim, H. H., Lee, K. H., Ki, C. S., & Park, Y. H. J. A. b. (2016). Multi-biofunction of antimicrobial peptide-immobilized silk fibroin nanofiber membrane: Implications for wound healing. *39*, 146-155.
- Söylemez, E. (2016). *Polivinil alkol/polietilenimin (PVA/PEI) kompozit nanoliflerinin elektrosplinleme yöntemi ile üretimi, karakterizasyonu ve çeşitli kullanım alanlarına uygulanması*. Hitit Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü,
- Sridhar, R., Lakshminarayanan, R., Madhaiyan, K., Barathi, V. A., Lim, K. H. C., & Ramakrishna, S. J. C. S. R. (2015). Electrospayed nanoparticles and electrospun nanofibers based on natural materials: applications in tissue regeneration, drug delivery and pharmaceuticals. *44*(3), 790-814.
- Stashak, T. S., Farstvedt, E., & Othic, A. J. C. T. i. E. P. (2004). Update on wound dressings: Indications and best use. *3*(2), 148-163.
- Strecker-McGraw, M. K., Jones, T. R., & Baer, D. G. J. E. m. c. o. N. A. (2007). Soft tissue wounds and principles of healing. *25*(1), 1-22.
- Subbiah, T. (2004). *Development of nanofiber protective substrates*. (Yüksek Lisans Tezi), Texas Tech University,
- Suepueren, G., KANAT, Z. E., Ahmet, Ç., Kirci, T., Gueluemser, T., & TARAKÇIOĞLU, I. (2007). Nano fibres (Part 2). *Tekstil ve Konfeksiyon*, *17*(2), 83-89.
- Sultan, S., & Mathew, A. P. J. N. (2018). 3D printed scaffolds with gradient porosity based on a cellulose nanocrystal hydrogel. *10*(9), 4421-4431.
- Tchemtchoua, V. T., Atanasova, G., Aqil, A., Filée, P., Garbacki, N., Vanhooetghem, O., . . . Nusgens, B. J. B. (2011). Development of a chitosan nanofibrillar scaffold for skin repair and regeneration. *12*(9), 3194-3204.
- Tekno. (2019). Termoplastik Ve Termoset. Retrieved from <https://www.teknoresin.com/blog/Termoplastik-Ve-Termoset>
- Terriza, A., Vilches-Pérez, J. I., González-Caballero, J. L., Orden, E. D. I., Yubero, F., Barranco, A., . . . Salido, M. J. M. (2014). Osteoblasts interaction with PLGA membranes functionalized with titanium film nanolayer by PECVD. In vitro assessment of surface influence on cell adhesion during initial cell to material interaction. *7*(3), 1687-1708.
- Tien, D., Liao, C., Huang, J., Tseng, K., Lung, J., Tsung, T., . . . Yu, B. J. R. A. m. s. (2008). Novel technique for preparing a nano-silver water suspension by the arc-discharge method. *18*, 750-756.
- Tolaymat, T. M., El Badawy, A. M., Genaidy, A., Scheckel, K. G., Luxton, T. P., & Suidan, M. J. S. o. t. t. e. (2010). An evidence-based environmental perspective of manufactured silver nanoparticle in syntheses and applications: a systematic review and critical appraisal of peer-reviewed scientific papers. *408*(5), 999-1006.
- Tort, S., & Acartürk, F. (2015). Yara Tedavisi ve Nanolif Yapısındaki Yara Örtüleri. *Türkiye Klinikleri J Pharm Sci*, *4*(2), 68-78. doi:doi: 10.5336/pharmsci.2015-45768

- Tung, Y.-T., Yen, P.-L., Lin, C.-Y., & Chang, S.-T. J. P. b. (2010). Anti-inflammatory activities of essential oils and their constituents from different provenances of indigenous cinnamon (*Cinnamomum osmophloeum*) leaves. *48*(10), 1130-1136.
- Ulus, H., Kaybal, H. B., Eskizeybek, V., Avcı, A. J. F., & Polymers. (2019). Enhanced salty water durability of halloysite nanotube reinforced epoxy/basalt fiber hybrid composites. *20*(10), 2184-2199.
- Ünal, İ. (2019). *Rheum Ribers (Işgın) Ve Paeonia Kesraunensis (Ayıgülü) Bitkilerinin Ekstraktından Gümüş Nanopartikül Sentezi, Karakterizasyonu Ve Sitotoksitesinin Belirlenmesi*. (Doktora tezi (594271)), Gaziosmanpaşa Üniversitesi, Tokat.
- Wang, Z., Liang, R., Jiang, X., Xie, J., Cai, P., Chen, H., . . . C, E. (2019). Electrospun PLGA/PCL/OCP nanofiber membranes promote osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells (MSCs). *104*, 109796.
- Werner, S., & Grose, R. J. P. r. (2003). Regulation of wound healing by growth factors and cytokines. *83*(3), 835-870.
- Wright, J. B., Lam, K., & Burrell, R. E. J. A. j. o. i. c. (1998). Wound management in an era of increasing bacterial antibiotic resistance: a role for topical silver treatment. *26*(6), 572-577.
- Xu, W.-K., Tang, J.-Y., Yuan, Z., Cai, C.-Y., Chen, X.-B., Cui, S.-Q., . . . Ding, J.-D. J. C. J. o. P. S. (2019). Accelerated cutaneous wound healing using an injectable teicoplanin-loaded PLGA-PEG-PLGA thermogel dressing. *37*(6), 548-559.
- Yousef, H., Alhajj, M., & Sharma, S. (2017). Anatomy, skin (integument), epidermis.
- Zahedi, P., Rezaeian, I., Ranaei-Siadat, S. O., Jafari, S. H., & Supaphol, P. J. P. f. A. T. (2010). A review on wound dressings with an emphasis on electrospun nanofibrous polymeric bandages. *21*(2), 77-95.
- Zeytuncu, B. (2014). *Elektrospinning Tekniği ve Uv Işımasının Eşzamanlı Olarak Uygulanması ile Nanofiber Membranların Hazırlanması ve Kıymetli Metallerin Adsorpsiyonunda Uygulanması*. (Doktora Tezi), İstanbul Teknik Üniversitesi,
- Zhang, Y., Lim, C. T., Ramakrishna, S., & Huang, Z.-M. J. J. o. m. s. m. i. m. (2005). Recent development of polymer nanofibers for biomedical and biotechnological applications. *16*(10), 933-946.