

**GÜMÜŞ NANOPARTİKÜL İÇEREN POLİ VİNİL ALKOL
VE KİTOSAN NANOLİFLERİNİN ANTİMİKROBİYAL
AKTİVİTE VE AMOKSİSİLİN SALINIM ÖZELLİKLERİNİN
İNCELENMESİ**

Kardelen ECEVİT

Yüksek Lisans Tezi

Eskişehir, 2018

**GÜMÜŞ NANOPARTİKÜL İÇEREN POLİ VİNİL ALKOL VE KİTOSAN NANOLİFLERİNİN
ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTE VE AMOKSİSİLİN SALINIM ÖZELLİKLERİNİN
İNCELENMESİ**

Kardelen ECEVİT

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Analitik Kimya Anabilim Dalı

Danışman: Doç.Dr. Sibel EMİR DİLTEMİZ

Eskişehir

Anadolu Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Ağustos, 2018

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

Kardelen ECEVİT'in "Gümüş Nanopartikül İçeren Poli Vinil Alkol Ve Kitosan Nanoliflerinin Antimikrobiyal Aktivite Ve Amoksisilin Salınım Özelliklerinin İncelenmesi" başlıklı tezi 10/08/2018 tarihinde aşağıdaki jüritarafından değerlendirilerek "Anadolu Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği"nin ilgili maddeleri uyarınca, **Kimya** Anabilim dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri Üyeleri

Unvanı Adı Soyadı

İmza

Üye (Tez Danışmanı)	: Doç. Dr. Sibel EMİR DİLTEMİZ
Üye	: Doç. Dr. Duygu YENİCELİ UĞUR
Üye	: Doç. Dr. Ayça ÖZCAN

Prof.Dr. Ersin YÜCEL
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ÖZET

GÜMÜŞ NANOPARTİKÜL İÇEREN POLİ VİNİL ALKOL VE KİTOSAN NANOLİFLERİNİN ANTİMİKROBİYAL AKTİVİTE VE AMOKSİSİLİN SALINIM ÖZELLİKLERİNİN İNCELENMESİ

Kardelen ECEVİT

Kimya Anabilim Dalı

Anadolu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Ağustos, 2018

Danışman: Doç. Dr. Sibel EMİR DİLTEMİZ

Polimer temelli ilaç verme sistemleri, iyileştirilmiş terapötik etki, azaltılmış toksisite gibi avantajlara sahip olduğu için biyomedikal uygulamalarda kullanımı oldukça umut vericidir. Amoksisilin, bakteriyel enfeksiyonların tedavisinde kullanılan, gram negatif ve gram pozitif bakterilere karşı bakterisidal etki gösteren geniş spektrumlu bir β -laktam antibiyotiktir. Kitosan, yara iyileştirme özelliği, antimikrobiyal ve antiinflamatuvar aktivite gibi özelliklere sahip doğal bir polimerdir. Poli vinil alkol (PVA) ise suda çözünabilirlik, kimyasal direnç, yüksek erime noktası ve biyolojik uyumluluk gibi iyi kimyasal ve fiziksel özelliklere sahip toksik olmayan bir polimerdir. Antibiyotik içeren yara sargılarının tedavisi ile yara enfeksiyonu azaltılabilir. Gümüş nanopartikülleri çok etkili bir antimikrobiyaldır ve yara sargılarında kullanılmaktadır. Bu tez çalışmasının ilk aşamasında Amoksisilin içeren nanolifler hazırlanmış ve uygun çapraz bağlanma süresi ve ilaç miktarı tespit edilmiştir. İkinci aşamada, elektro çekim yöntemi için uygun gümüş miktarı belirlenmiş ve gümüş yüklü Amoksisilin nanolifleri hazırlanmıştır. Son aşamada ise salınım ve antimikrobiyal aktivite çalışmaları yapılmıştır. Nanoliflerden salınan ilaç miktarı HPLC yöntemi kullanılarak belirlenmiştir. Nanoliflerin karakterizasyonu, Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM), Kızılötesi Spektrometre (IR), Enerji Difraksiyon X-ışını Analizi (SEM / EDX) ve X-ışını difraksiyonu (XRD) ile yapılmıştır.

Anahtar Kelimeler: Elektro çekim, İlaç salınımı, Amoksisilin, Gümüş Nanopartiküller, Antimikrobiyal Aktivite

ABSTRACT

INVESTIGATION OF ANTIMICROBIAL ACTIVITY AND AMOXICILLIN RELEASE PROPERTIES OF POLYVINYL ALCOHOL AND CHITOSAN NANOFIBERS CONTAINING SILVER NANOPARTICLES

Kardelen ECEVİT

Department of Chemistry

Anadolu University, Graduate School of Sciences, August, 2018

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. Sibel EMİR DİLTEMİZ

Polymer-based drug delivery systems as they have advantages such as improved therapeutic efficacy, reduced toxicity are quite promising to use in biomedical applications. Amoxicillin is a broad-spectrum β -lactam antibiotic that is used in the treatment of bacterial infections and has a bactericidal action against gram-negative and gram-positive bacteria. Chitosan is a natural polymer with properties such as wound healing properties, antimicrobial and antiinflammatory activity. Poly vinyl alcohol (PVA) is a non-toxic polymer with good chemical and physical properties such as water solubility, chemical resistance, high melting point and biological compatibility. The treatment of wound dressings containing antibiotics can decrease wound infection. Silver nanoparticles are highly effective antimicrobials and are used in wound dressings. In the first step of this thesis, amoxicillin-containing nanofibers were prepared and the optimum cross-linking time and drug amount were determined. In the second step, the optimum amount of silver for the electrophoresis method was determined and silver loaded amoxicillin nanofibers were prepared. Finally, the drug releasing and antimicrobial activity studies have been carried out. The amount of drug released from nanofibers was determined using the HPLC method. Characterization of nanofibers was performed by Scanning Electron Microscopy (SEM), Infrared Spectroscopy (IR), Energy Diffraction X-ray Analysis (SEM / EDX) and X-ray Diffraction (XRD).

Keywords: *Electrospinning, Drug release, Amoxicillin, Silver nanoparticles, Antimicrobial activity*

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam boyunca değerli bilgilerini benimle paylaşan, desteğini ve ilgisini her zaman kalbimde hissettiğim, güzel kalbiyle ve güler yüzüyle bana her daim destek olan, gelecekteki hayatımda da bana öğrettiklerinden her zaman faydalanacağımı bildiğim değerli danışmanım Sayın Doç. Dr. Sibel EMİR DİLTEMİZ'e sonsuz teşekkürü bir borç bilirim.

Tezimin değerlendirilmesi aşamasında jüri üyesi olarak yer alan Sayın Doç.Dr. Duygu YENİCELİ UĞUR ve Sayın Doç. Dr. Ayça ÖZCAN'a değerli vakitlerini ayırdıkları için teşekkür ederim.

Tez çalışmam sırasında bilgisini ve yardımlarını esirgemeyen Doç. Dr. Ayça ÖZCAN'a ve biyoloji bölümü öğretim üyesi Doç. Dr. Mehmet Burçin MUTLU ve Seval ÇINAR'ateşekkürü bir borç bilirim.

Bu süreçte katkılarını ve yardımlarını esirgemeyen başta Prof. Dr. Arzu ERSÖZ olmak üzerebiyokimya laboratuvarındaki tüm hocalarım ve arkadaşlarıma teşekkürü bir borç bilirim.

Bir araya geldiğimiz günden itibaren gerek özel gerekse eğitim hayatımda her an yanımda olan, sıcakkanlılıklarını, sevgi, destek ve iyi niyetlerini hiçbir zaman esirgemeyen çok sevgili Özlem KALABAK, Fatma DUMAN, Özlem YAVUZ, Sevgi MİL, Okan USLU, Serçin CEVİZLİDERE, Semra Özgün KÖSE, Zuhale Arzu ŞENER, ve Fatma Betül KALKAN 'a sonsuz teşekkür ederim.

Gerek deneysel aşamalarda gerekse manevi olarak her zaman yanımda olan ve bana güç veren değerli arkadaşlarım Duygu TOPÇUOĞULLARI ve Sema Nur ÇİĞDEM'e çok teşekkür ederim.

Lisans ve yüksek lisans eğitim hayatımda bana her zaman destek olan Canım Anneannem ve Dedem başta olmak üzere Asuman ŞAHİN PİŞİREN, Uğur PİŞİREN, ŞÜKRAN YALÇINKAYA' ya çok teşekkür ederim.

Tüm hayatım boyunca bana inanan, zorluklarla mücadele etmeyi öğreten, koşulsuz her zaman yanımda olan ve maddi manevi desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen Canım Annem Kezban ŞAHİN TAYSUN ve Canım Manevi Babam Alaettin TAYSUN'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Kardelen ECEVİT

10/08/2018

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Bu tezin bana ait özgün bir çalışma olduğunu, çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı; bu çalışma kapsamında elde edilemeyen tüm veri ve bilgiler için kaynak gösterdiğimi ve bu kaynaklara kaynakçada yer verdiğimi; bu çalışmanın Anadolu Üniversitesi tarafından kullanılan “bilimsel intihal tespit programı”yla tarandığını ve hiçbir şekilde “intihal içermediğini” beyan ederim. Herhangi bir zamanda, çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçlara razı olduğumu bildiririm.

Kardelen ECEVİT

İÇİNDEKİLER

BAŞLIK SAYFASI	i
JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI.....	iii
ÖZET	iii
ABSTRACT.....	iv
TEŞEKKÜR	v
ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	x
TABLOLAR DİZİNİ.....	xiii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xivv
1.GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. Antibiyotikler	4
2.1.1. Antibiyotiklerin sınıflandırılması	4
2.1.2. β -Laktam antibiyotikler	5
2.1.2.1. Penisilin	6
2.1.2.2. Amoksisilin.....	7
2.1.3. β -Laktamların etki mekanizması.....	7
2.1.4. β -Laktamlara karşı direnç gelişim mekanizması	10
2.1.5. Antibiyotiklerin yan etkileri.....	10
2.1.6. Antibiyotiklerin hedefi.....	11
2.2. Kontrollü İlaç Salınımı	12
2.3. Yara İyileştirici Bantlar.....	14
2.4. Nanolifler	16
2.5. Elektro Çekim Yöntemi.....	19
2.5.1. Elektro çekim yönteminin tarihi.....	20
2.5.2. Çalışma prensibi.....	22
2.5.3. Nanolif üretimini etkileyen parametreler	22
2.5.3.1. Çözelti parametreleri	23
2.5.3.1.1. Derişim	23
2.5.3.1.2. Moleküler ağırlık.....	24
2.5.3.1.3. Viskozite.....	24

2.5.3.1.4. Yüzey gerilimi.....	25
2.5.3.1.5. İletkenlik	25
2.5.3.2. İşlem parametreleri.....	25
2.5.3.2.1. Voltaj	25
2.5.3.2.2. Akış hızı.....	26
2.5.3.2.3. Toplayıcı.....	26
2.5.3.2.4. Toplayıcı ve şırınga ucu arasındaki uzaklık	26
2.5.3.3. Ortam parametreleri	27
2.5.3.3.1. Nem.....	27
2.5.3.3.2. Sıcaklık.....	27
2.5.4. Elektro çekim yönteminde kullanılan polimerler	27
2.5.4.1. Doğal polimerler	28
2.5.4.2. Sentetik polimerler	29
3. METARYAL VE METOT.....	31
3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	31
3.2. Kullanılan Araç ve Gereçler	31
3.3. Elektro Çekim için Polimer Çözeltilerinin Hazırlanması	32
3.3.1. PVA/Kitosan/Amoksisilin çözeltilerinin hazırlanması	32
3.3.2. PVA-Kitosan/Amoksisilin/Ag çözeltilerinin hazırlanması	32
3.4. Elektro Çekim İşlemi	33
3.4.1. Nanoliflerin çapraz bağlanması	33
3.5. Karakterizasyon Çalışmaları	33
3.5.1. FTIR analizi.....	33
3.5.2. Antimikrobiyal çalışmalar.....	33
3.5.2.1. Nanolif disklerin hazırlanması.....	33
3.5.2.2. Bakteri kültürlerinin geliştirilmesi.....	34
3.5.2.3. Besiyerinin hazırlanması	34
3.5.3. Şişme testi.....	34
3.5.4. Temas açısı ölçümleri.....	35
3.5.5. X-ışını kırınımı (XRD) analizi.....	35
3.5.6. Morfolojik çalışmalar	36
3.5.7. Kalibrasyon grafiğinin oluşturulması	36
3.5.8. İlaç salınımı çalışmaları.....	37

4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	39
4.1. FTIR Analizi	39
4.2. X-ışını Kırınımı (XRD) Analizi	42
4.3. Temas Açısı	44
4.4. Şişme Testi	46
4.5. Kalibrasyon Grafiği	47
4.6. Antimikrobiyal Çalışmalar	47
4.7. İlaç Salınımı Çalışmaları	55
4.7.1. Çapraz bağlanma süresinin ilaç salınımı üzerine etkisi	55
4.7.2. Amoksisilin miktarının ilaç salınımı üzerine etkisi.....	57
4.7.3. pH'ın ilaç salınımı üzerine etkisi	58
4.8. Gümüş yüklü PVA/Kitosan/Amoksisilin Nanoliflerinin Morfolojileri	59
4.9. Gümüş yüklü PVA/Kitosan/Amoksisilin Nanoliflerinin İlaç salınımı	60
5. SONUÇLAR	63
KAYNAKÇA.....	65
ÖZGEÇMİŞ	

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1. β -Laktam halkası	5
Şekil 2.2. Amoksisilin'in moleküler yapısı	7
Şekil 2.3. β -Laktamlara karşı etki mekanizması.....	9
Şekil 2.4. Etki mekanizmalarına göre bazı antibiyotiklerin şematik gösterimi.....	12
Şekil 2.5. Nanoliflerin uygulama alanları.....	18
Şekil 2.6. Elektro çekim cihazının şematik gösterimi	19
Şekil 2.7. Elektro çekim cihazı.....	20
Şekil 2.8. Taylor konisi oluşumu.....	20
Şekil 2.9. Verilen yıllarda 'Electroçekim' anahtar kelimesiyle yayınlanan makale sayısı.....	21
Şekil 2.10. Elektro çekim şematik gösterimi	22
Şekil 2.11. Elektro çekim sırasında artan derişim ile ürünlerin SEM görüntüleri.....	24
Şekil 2.12. Kitosanın moleküler yapısı.....	29
Şekil 2.13. PVA'nın moleküler yapısı.....	30
Şekil 3.1. 80 μ g/ml Amoksisilin çözeltisi HPLC kromatogramı.....	37
Şekil 3.2. Amoksisilin kalibrasyon grafiğı	37
Şekil 4.1. Nanoliflerin IR spektrumları	40
Şekil 4.2. PVA/Kitosan/Amoksisilin ve PVA/Kitosan/Amoksisilin/Ag nanoliflerinin IR spektrumları.....	40
Şekil 4.3. Nanoliflerinin XRD spektrumları.....	43
Şekil 4.4. Nanoliflerin temas açıları	44
Şekil 4.5. Gluteraldehit ile kitosanın çapraz bağlanma mekanizması	45

Şekil 4.6. Gluteraldehit ile PVA'nın çapraz bağlanma mekanizması	45
Şekil 4.7. Nanoliflerin şişme oranı-zaman grafiği.....	46
Şekil 4.8. 250 µl Amoksisilin içeren PVA/Kitosan nanoliflerinin S. Aureus bakterisine ve E.coli bakterisine karşı antibakteriyel aktivitesi.....	48
Şekil 4.9. 1000 µl Amoksisilin içeren nanoliflerin antibakteriyel aktivitesi.....	48
Şekil 4.10. PVA ile gümüşün reaksiyon mekanizması.....	52
Şekil 4.11. Kitosan ile gümüşün reaksiyon mekanizması	53
Şekil 4.12. Amoksisilin ile gümüş arasındaki reaksiyon mekanizması.....	54
Şekil 4.13. PVA, kitosan ve Amoksisilin ile gümüş arasındaki öngörülen etkileşimler....	54
Şekil 4.14. Nanoliflerin SEM görüntüleri ve çap histogramları.....	55
Şekil 4.15. PVA/Kitosan/Amoksisilin nanoliflerinin SEM görüntüleri	56
Şekil 4.16. Farklı sürelerde çapraz bağlanan 250 µl Amoksisilin içeren PVA/Kitosan nanoliflerinin salınım grafiği	56
Şekil 4.17. Farklı miktarlarda Amoksisilin içeren PVA/Kitosan nanoliflerinin ilaç salınım grafiği	57
Şekil 4.18. Farklı pH'larda 1000 µl Amoksisilin içeren PVA/Kitosan nanoliflerinin ilaç salınım grafiği	58
Şekil 4.19. PVA/Kitosan/Amoksisilin/Ag nanoliflerinin çapraz bağlanma öncesi (a); çapraz bağlanma sonrası (b) SEM görüntüleri.....	59
Şekil 4.20. PVA/Kitosan/Amoksisilin/Ag nanoliflerinin çapraz bağlanma öncesi (a); çapraz bağlanma sonrası (b) çap histogramları.....	59
Şekil 4.21. Nanoliflerin EDX spektrumu	60
Şekil 4.22. PVA/Kitosan/Amoksisilin/Ag nanoliflerinin sudaki ilaç salınım grafiği	61

Şekil 4.23. Farklı pH’larda PVA/Kitosan/Amoksisilin/Ag nanoliflerinin ilaç salınım grafiği.....	62
--	----

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 2.1. Enfeksiyon bölgesine göre β -Laktam antibiyotiklerin kullanımı	6
Tablo 2.2. Elektro çekim nanoliflerinin morfolojisini etkileyen faktörler	23
Tablo 3.1. Tez çalışması kapsamında kullanılan cihazların adı, marka ve modeli ve kullanım amaçları.....	31
Tablo 4.1. Nanoliflerin temas açısı ölçümleri	43
Tablo 4.2. S. Aureus bakterisine karşı Amoksisilin ve gümüş içerikli disklerin inhibisyon halkası çapları	49
Tablo 4.3. E. Coli bakterisine karşı Amoksisilin ve gümüş içerikli disklerin inhibisyon halkası çapları	49
Tablo 4.4. Disklerde bulunan Amoksisilin ve gümüş miktarının karşılaştırılması	50

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

PVA	: Poli vinil alkol
Ag	: Gümüş
SEM	: Taramalı Elektron Mikroskobu
FT-IR	: Fourier Dönüşümlü Kızılötesi
UV-Vis	: Mor Ötesi-Görünür Bölge
HPLC	: Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
EDX	: Enerji yayımlı X-ışını analizi
E. Coli	: Escherichia Coli
S. Aureus	: Staphylococcus Aureus
µl	: Mikrolitre
µg	: Mikrogram
ng	: Nanogram
PBP	: Penisilin bağlayıcı proteinler
PBS	: Fosfat tamponlu tuz çözeltisi
O.D	: Optik yoğunluk değeri

1.GİRİŞ

Nanotıp, yeni ilaçları, ilaç salınım sistemlerini, biyosensörleri ve moleküler teşhis sistemlerini geliştirmek için ilaçları ve nanoteknolojiyi birbirine yaklaştıran bir alandır [1]. Biyoaktif malzemeler kullanılarak geliştirilen yara sargıları, kronik olarak iyileşmeyen yaraların tedavisi için güncel bir araştırma alanıdır [2]. Yara iyileşmesi, kayıp veya yaralanmış bir dokuyu onarmayı amaçlayan, hasardan hemen sonra tüm dokularda meydana gelen karmaşık bir süreçtir [3]. İdeal bir yara sargısı, gaz değişimine izin vermeli, nemli bir ortam sağlamalı, yarayı mikroorganizmalardan korumalı, fazla sıvıyı ve yara eksüdasını sızıntı veya yapışma olmaksızın absorbe etmelidir [4]. Faz ayırma ve elektro çekim gibi farklı teknikler yara sargısı olarak kullanılmak üzere mikro ve ya nano boyutta lifler üretmek için kullanılmaktadır.

Bir ilaç verme sistemi, vücutta terapötik bir maddenin sokulmasını sağlayan ve vücut içindeki serbest bırakma hızını, zamanını ve bölgesini kontrol ederek etkinliğini ve güvenliğini arttıran bir formülasyon veya bir cihazdan oluşur. Bu sistem, yeterli bir süre boyunca yeterli miktarda ilacın verilmesini ve tutulmasını amaçlamaktadır ve ayrıca, vücutta serbest bırakılmamış ilaçların bozulmasını önlemesi beklenmektedir. Son yıllarda, polimerik mikro ve nano yapıları ilaç dağıtım sistemleri olarak büyük ilgi görmektedir. Polimerik mikro/nano yapıları kullanarak ilaç salınımı, ilaç taşıyıcısının arttırılmış yüzey alanının ilaç çözünme hızını arttırdığı prensibine dayanmaktadır [5].

İlaç salınımında, iskeleler ilaç salınım oranını kontrol etmek, hücre davranışını düzenlemekve yaralanmış dokuları yeniden oluşturmak için çok önemli bir rol oynamaktadır. Elektro çekim yöntemiyle oluşturulan lifli iskeleler geniş yüzey alanı-hacim oranı, yüksek gözeneklilik, elyaf boyutunda homojenlik, bileşimdeki çeşitlilik, birleştirilmiş yapıdaki esneklik ve biyoaktif moleküller ile fonksiyonelleştirme kolaylığı gibi farklı özellikleri nedeniyle ilaç salınım sistemlerinde büyük avantajlar sunmaktadır [6].

β -laktam antibiyotikler, hem gram-pozitif hem de gram-negatif organizmalara karşı antimikrobiyal aktiviteleri göstermektedir. Bu antibiyotikler, cilt, kulak, solunum yolu ve idrar yollarının bakteriyel enfeksiyonlarının tedavisi için yaygın olarak kullanılmaktadır [7]. Antibiyotikler genellikle çeşitli cerrahi müdahalelerden önce ve

sonra hastalara sistemli olarak verilir. Alternatif bir yaklaşımla, antibiyotiklerin lokal olarak uygulanmasıdır. Böylece ilaç cerrahi bölgeye hedeflenir ve bu alandaki mevcut bakterileri yok etmek için başlangıçta yüksek derişimde ilacı serbest bırakarak uzatılmış serbest bırakma süresi ile yeniden enfeksiyonu önlemek için antibiyotik kontrollü bir şekilde serbest bırakılır [8].

Amoksisilin, β -laktam ailesine ait geniş spektrumlu yarı sentetik bir penisilindir ve geniş bir antimikrobiyal aktivite, bakterisidal etki, yüksek bir terapötik indekse sahiptir. Ayrıca tonsillit, pnömoni, bronşit, gonore, kulak enfeksiyonları, idrar yolu enfeksiyonları ve cilt enfeksiyonları gibi çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır. Bu hastalıklara *Helikobakter pilori* adı verilen gram negatif türü bir bakteri neden olmaktadır. Genel olarak, bu bakteri mide mukozası tabakasında veya epitel hücre yüzeylerinde bulunur. Bu nedenle, midede Amoksisilin derişimi ve bulunma süresi, *Helikobakter pilori* bakterisinin tamamen yok edilmesi için etkili olmalıdır [9].

Geleneksel Amoksisilin kapsülleri, kısa biyolojik yarı ömrü nedeniyle ve mide kanında daha az derişimle sonuçlanan mide asidinde parçalanabileceğinden antibiyotik etkili miktarlarda ve tam aktif formlarda enfeksiyon yerine ulaştırılamayabilir. Bu problemlerin üstesinden gelmek için Amoksisilin tipik olarak, sistemik toksisiteleri, yan etkiyi ve tedavi maliyetini arttırdığı düşünülen yüksek dozda ve sıklıkla uygulanır. Bu nedenle, gastrik epitel hücre yüzeylerinde Amoksisilin'in etkinliğinin artırılması ve bulunma süresinin uzatılması oldukça istenen bir özelliktir [10,11].

Sürekli salınım, uzun bir süre boyunca ilaç veren bir çeşit kontrollü salınım sistemidir. Başka bir deyişle, sürekli salınım sistemi hedef dokudaki ilaç derişimini kontrol eder [12]. Amoksisilin'in sürekli ve kontrollü salınımı, kısa biyolojik yarı ömrü nedeniyle istenir. Amoksisilin hızlı bozunması nedeniyle, kanda terapötik dozunu daha uzun bir süre muhafaza eden sürekli salınımlı bir dozaj formu gerekmektedir. Farmasötiklerin formülasyonunda, ilaçların salınımını kontrol etmede polimerin kullanımı bu yüzden giderek daha önemli hale gelmiştir [13].

Gümüş iyi bilinen bir metaldir ve benzersiz özelliklerinden dolayı tıbbi amaçlar için kullanılmaktadır. Gümüşün terapötik yararları uzun yıllardan beri bilinmektedir. Gümüş bazlı lokal kremler, yara iyileşmesinde patolojik enfeksiyonlara karşı etkili bir

antimikrobiyaldir. Nano boyutlu gümüş lokal uygulamalarda makro boyuta göre daha etkilidir. Bu durum mikroorganizmaların daha büyük yüzey alanlarına maruz kalmasından kaynaklanır [14]. Nano gümüş polivalent bağlanmada konformasyonel entropi özelliklerine sahiptir. Bu da esnek polimerik zincirlerle antibiyotiklere bağlanmasını kolaylaştırır [15]. Kimyasal olarak, metalik halindeki gümüş inerttir, ciltten nemle ve ya bir yaradan sıvı ile etkileştiği zaman, gümüş iyonize olur ve antimikrobiyal etkilere yol açar. İyonize gümüş yüksek oranda reaktiftir, doku proteinlerine bağlanır ve bakteriyel hücre duvarı ile hücre içi ve çekirdek membranlarında yapısal değişikliklere neden olur, sonuçta hücrel bozulmaya ve canlılık kaybına yol açar. Ayrıca gümüş iyonu bakteriyel DNA ve RNA'ya bağlanarak ve denatüre edilerek bakteriyostatik özelliklerini sergiler ve böylece bakteriyel replikasyonu inhibe eder [16].

Elektro çekim yöntemi, mikro ve ya nano boyutta çaplara sahip polimerler de dahil olmak üzere çeşitli materyallerin elektrik yüklü bir jet kullanılarak lif oluşmasını sağlayan bir işlemdir. Nanolifler yüksek gözenekliliğe ve çok küçük gözenek boyutlarına sahip olduğu için geniş bir yüzey alanına sahiptirler [17]. Bu lifli yapılar çeşitli uygulamalarda özellikle yara sargıları, ilaç verme sistemleri ve antibakteriyel uygulamalar gibi biyomedikal uygulamalar için büyük potansiyel göstermektedir. Elektro çekim yöntemi polimer çözeltilerinden nanolifler üretmek için nispeten basit ve düşük maliyetli bir yöntemdir [18]. Bu yöntemde kullanılan polimerler, biyo-uyumlu, biyo-bozunur ve mekanik olarak sağlam özellikleri nedeniyle yara sargılarında kullanılmaktadır.

Bu tez çalışmasının ilk aşamasında Amoksisilin içeren PVA/Kitosan nanolifleri elektro çekim yöntemiyle hazırlanmış ve antimikrobiyal aktivite ve salınım için uygun ilaç miktarı belirlenmiştir. Daha sonra nanoliflerin salınım ortamındaki mekanik dayanıklılığını sağlamak için uygun çapraz bağlanma süresi bulunmuştur. İkinci aşamada, elektro çekim yöntemi için Amoksisilin içeren PVA/Kitosan çözeltisindeki uygun gümüş miktarı belirlenmiş ve gümüş yüklü Amoksisilin nanolifleri hazırlanmıştır. Son aşamada ise bu nanoliflerin farklı pH değerlerinde salınım ve antimikrobiyal aktivite çalışmaları yapılmıştır. Nanoliflerden salınan ilaç miktarı HPLC yöntemi kullanılarak belirlenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Antibiyotikler

Antibiyotikler çoğunlukla bitki mikroorganizmaları tarafından üretilen doğal bileşiklerdir. Mikroorganizmalara karşı seçici biyolojik aktiviteleri ve düşük toksisiteleri nedeniyle mikropları yok etmek için antibiyotikler kullanılmaktadır [19]. Antibiyotikler bakterilerin büyümesini yavaşlatan veya onları öldüren ilaçlardır. Antibiyotikler; anti-viral, anti-fungal ve anti-parazitik ilaçları da içeren daha büyük bir grup olan antimikrobiyallerin bir sınıfıdır [20].

Bakteriler, virüsler ve mantarlar dahil olmak üzere, patojenik mikroorganizmaların neden olduğu bulaşıcı ve paraziter hastalıklar, insan sağlığına yönelik büyük tehditlerdir. Genellikle hastalıklar *Staphylococcus aureus* ve *Streptococcus pneumoniae* gibi gram pozitif bakterilere ve *Escherichia Coli* ve *Helicobacter pylori* gibi gram negatif bakterilere maruz kalmaktan kaynaklanır [21].

Antibiyotikler, modern tıbbın en sık reçeteli ilaçları arasındadır. Bazı antibiyotikler 'bakterisidal', yani bakterileri öldürerek çalışırlar. Diğer antibiyotikler ise bakteriyostatiktir, yani bakterilerin çoğalmalarını durdurarak etki ederler. Her farklı antibiyotik türü farklı şekillerde farklı bakterileri etkiler. Örneğin bir antibiyotik, bir bakterinin glikozu enerjiye çevirme kabiliyetini veya hücre duvarını oluşturma kabiliyetini engelleyebilir. Bu olduğunda bakteri üremek yerine ölür. Bazı antibiyotikler ise çok çeşitli enfeksiyonları tedavi etmek için kullanılabilir ve 'geniş spektrumlu' antibiyotikler olarak bilinir. Diğerleri sadece birkaç bakteri türüne karşı etkilidir ve “dar spektrumlu” antibiyotikler olarak adlandırılır [22].

2.1.1. Antibiyotiklerin sınıflandırılması

Antibiyotiklerin elde edildiği üç ana kaynak vardır.

1. Mikroorganizmalar: Örneğin, bazı *Bacillus* türlerinden bakitramin ve polimiksin elde edilir; *Streptomyces* türlerinden streptomisin, tetrasiklinler; *Micromonospora Purpurea*'dan gentamisin; griseofulvin ve *Aspergillaceae* familyasının bazı cinslerinden bazı penisilinler ve sefalosporinler elde edilir
2. Sentez: Kloramfenikol genellikle sentetik bir işlemle üretilir.

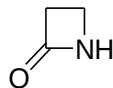
3. Yarı sentetik: Molekölün bir kısmının, uygun mikroorganizma kullanılarak bir fermantasyon işlemi ile üretildiği ve ürünün daha sonra bir kimyasal işlemle daha da modifiye edilmediyle elde edilir. Birçok penisilin ve sefalosporin bu şekilde üretilmektedir.

Günümüzde yüzlerce farklı türde antibiyotik var, ancak bunların çoğu geniş bir şekilde 10 gruba ayrılabilir;

1. β -Laktam antibiyotikler
2. Tetrasiklin grubu antibiyotikler
3. Rifamisinler
4. Aminoglikozid-aminosiklitol antibiyotikler
5. Makrolidler
6. Linkozamidler
7. Streptograminler
8. Polipeptit antibiyotikler
9. Glikopeptit antibiyotikler
10. Antifungal antibiyotikler [23].

2.1.2. β -Laktam antibiyotikler

Penisilinler gibi β -laktam antibiyotikler, fermantasyon ile üretilen en eski ve en geniş kullanıma sahip endüstriyel ürünler arasındadır [24]. β -Laktam halkasına sahip çoğu bileşik antimikrobiyal aktiviteye sahiptir [25]. β -laktam antibiyotikler, insanlardaki çeşitli bakteriyel enfeksiyonların önlenmesi ve tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Penisilin, sefalosporin, karbapenem ve monobaktam alt sınıfları olarak sınıflandırılabilirler. Rağmen, hepsi β -laktam halkası olarak adlandırılan kimyasal bir yapıya sahiptir ve penisilin bağlayan proteinlere bağlanarak ve bakteriyel peptidoglikan hücre duvarının sentezini inhibe ederek bakterisit aktivitesi gerçekleştirirler [26].



Şekil 2.1. β -Laktam halkası

Tablo 2.1’de görüldüğü gibi β -Laktam antibiyotikler faranjit, sinüzit, kemik ve karın içi enfeksiyonları gibi çeşitli enfeksiyonların tedavisinde kullanılmaktadır.

Tablo 2.1. *Enfeksiyon bölgesine göre β -Laktam antibiyotiklerin kullanımı* [27]

Enfeksiyon Bölgesi	β -Laktam Kullanımı
Cilt ve yumuşak doku enfeksiyonları	Penisilin, karbapenem
Diş enfeksiyonları	Penisilin
Faranjit	Penisilin, sefalosporin
Menenjit	Sefalosporin,karbapenem
Sinüzit	Sefalosporin, penisilin
Alt solunum yolu enfeksiyonları	Sefalosporin,karbapenem, penisilin
İdrar yolu enfeksiyonları	Sefalosporin,karbapenem (Özellikle çok ilaca dirençli gram negatif basiller nedeniyle gelişen enfeksiyonlar için), penisilin, monobaktam
Karın içi enfeksiyonlar	Sefalosporin (anaerobik aktivitesi olan bir madde ile kombinasyon halinde), karbapenem, β -Laktam inhibitörlü ureidopenisilin
Kemik ve eklem enfeksiyonları	Sefalosporin, penisilin
Enfektif endokardit	Sefalosporin, penisilin

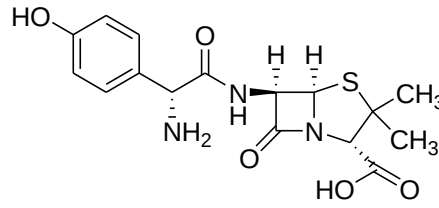
2.1.2.1. Penisilin

Penisilin ve ilgili β -laktam ilaçlar en eski ve en yaygın kullanılan antibiyotik sınıflarından biridir. β -laktamların öldürücü aktivitesinin, esas olarak hücre parçalanmasıyla birlikte duvar bütünlüğünün kaybından kaynaklandığı düşünülmektedir. En yaygın olarak kabul edilen modele göre, beta-laktam tedavisini takiben hücre duvarı hasarı, hücre duvarı sentezleri ve hidrolazların aktiviteleri arasındaki ilaca bağlı bir dengesizlikten kaynaklanmaktadır. Hücre parçalanması için engellenen genetiği değiştirilmiş *Streptococcus pneumoniae*’larda β -laktam tedavisi parçalanmış hücrelere benzer kinetikleri ile hücre ölümüne neden olmaktadır.

Escherichia Coli'de β -laktamlar, beklenmedik bir şekilde, hücre parçalanmasından önce lipid bağlantılı hücre duvarı öncüllerinin tükenmesine neden olduğu gösterilmiştir [28].

2.1.2.2. Amoksisilin

Amoksisilin, kimyasal olarak α -amino hidroksil benzil penisilin, β -laktam ailesine ait geniş spektrumlu yarı sentetik bir penisilindir ve geniş bir antimikrobiyal aktivite, bakterisidal etki ve yüksek bir terapötik indekse sahiptir.



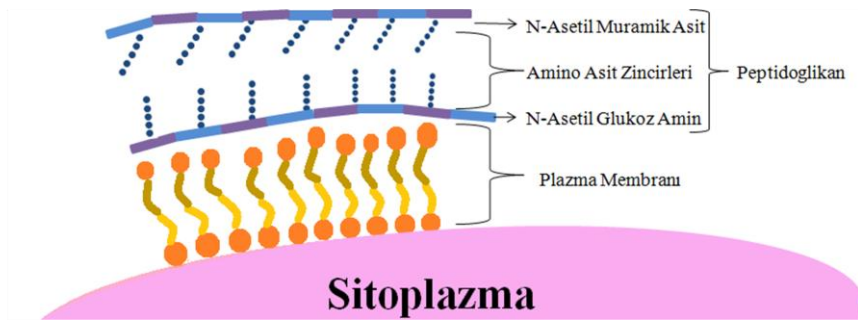
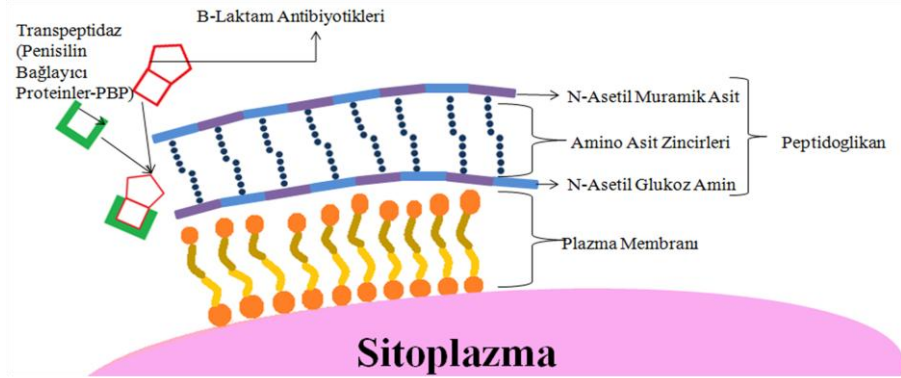
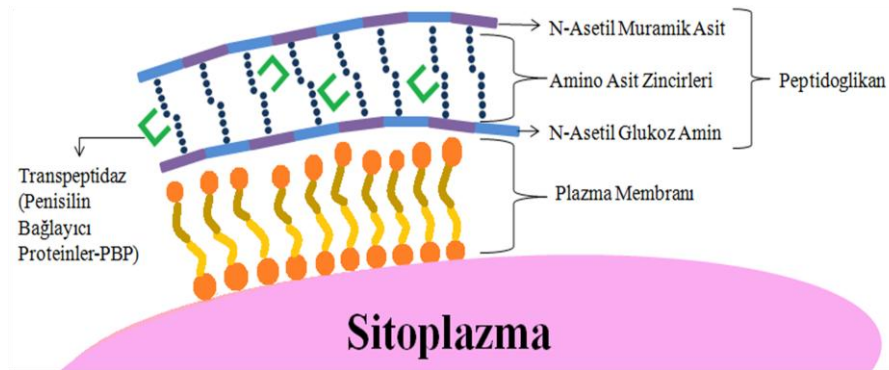
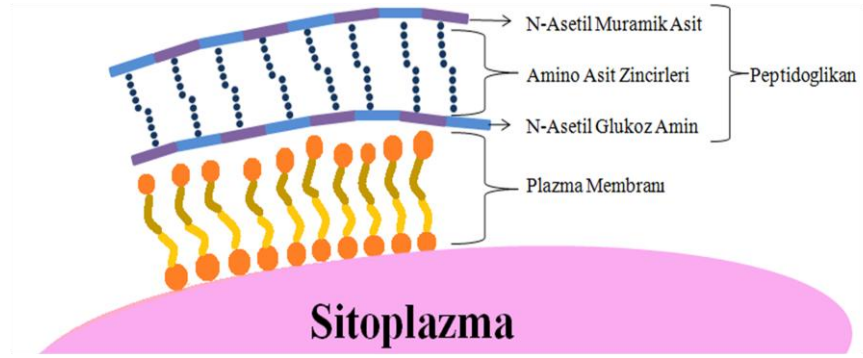
Şekil 2.2. Amoksisilin'in moleküler yapısı

Amoksisilin nispeten ucuzdur, Dünya Sağlık Örgütü'nün temel ilaçlar listesinde yer alır ve insan vücuduna oral, kas içi veya intravenöz uygulama yoluyla sokulursa güvenlidir. Aynı zamanda vücut dokularında ve akışkanlarında da çoğu zaman kabul edilebilir düzeyde antibakteriyel aktiviteye sahiptir ve ilaç dağıtım sistemlerinde kullanılmak üzere Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) tarafından onaylanmıştır. Amoksisilin'in dezavantajları ise serumun içine eklendiğinde 1 saat kadar kısa biyolojik yarı ömürlerivardır. Ayrıca sulu ve tamponlu çözeltilere eklendiğinde kararlı değildir. Amoksisilin, sulu çözeltilerdeki ve tamponlardaki bozunma oranı farklı pH değerleri (1,0-9,0) arasında değişebilmektedir ve 4,0-7,0 pH aralığında en kararlı halindedir [29,30].

2.1.3. β -Laktamların etki mekanizması

Beta-laktam antibiyotikler duyarlı bakterileri öldürebilir. Bakterilerin hücre duvarları normal büyüme ve gelişme için önemlidir. Peptidoglikan, bakteriyel hücrelere karşı sert mekanik kararlılık sağlayan hücre duvarının önemli bir bileşenidir. Peptidoglikan, N-Asetil glukozamin içeren glikan zincirleri ve peptit zincirleriyle çapraz bağlanan N-Asetil muronik asitten oluşur. Peptidoglikanlar 3 aşamada oluşur. Birinci aşamada peptidoglikan öncülleri üridin difosfat (UDP)-Asetil muramil penta peptit hücrede birikir. İkinci aşamada UDP-Asetil muramil penta peptit ve UDP-Asetil

glukozamin uzun polimer zincirleri oluşturur. Üçüncü aşamada çapraz bağlanmanın tamamlanması ve transpeptidasyon reaksiyonları gerçekleşir. Yani transpeptidaz enzimi amino asitleri çapraz bağlayarak peptidoglikanları oluşturur. Bu son aşamada β -Laktam antibiyotikleri tarafından hücre duvarının inhibisyonu gerçekleştirilir. Transpeptidaz enzimi, penisilin bağlayıcı proteinler olarak da bilinir. β -Laktam antibiyotikleri bakteriyal hücre membranıyla ilişkili çeşitli penisilin bağlayıcı proteinlere (PBP) sıkıca bağlanır. Bu proteinler, bakteriyal hücre duvarı sentezindeki bazı terminal reaksiyonları katalize eden transpeptidaz ve karboksipeptidazlardır. β -Laktam antibiyotikler, reseptörlere eklendiğinde transpeptidaz reaksiyonu inhibe ederek peptidoglikan sentezini engeller [31]. Hücre duvarı sentezini inhibe ederek, bakteri hücresi zarar görür. Gram pozitif bakteriler yüksek iç ozmotik basınca sahiptirler. Normal, rijit bir hücre duvarı olmaksızın, bu hücreler, çevredeki ortamların düşük ozmotik basıncına maruz kaldıklarında patlar. Aynı zamanda, antibiyotik-penisilin bağlayıcı protein kompleksi, mevcut hücre çeperini sindirebilen otolisinlerin salınmasını uyarır. Beta-laktam antibiyotikler bu nedenle bakterisidal ajanlar olarak kabul edilir [31,32].



Şekil 2.3. β -Laktamlara karşı etki mekanizması

2.1.4. β -Laktamlara karşı direnç gelişim mekanizması

β -Laktam antibiyotikler, penisilin bağlayıcı proteinler (PBP'ler) olarak bilinen hücre duvarı sentez enzimlerine bağlanarak etki ederler, böylece peptidoglikan sentezini inhibe ederler. PBP'lerin inhibisyonu hücre duvarını zayıflatır. Hücre büyümesinin inhibe edilmesine ve sıklıkla hücre ölümüne neden olur. β -laktam direnci üç mekanizmaya sahiptir.

1. PBP'lere erişimi azaltmak,
2. PBP bağlanma afinitesini azaltmak
3. β -laktamaz (β -laktamları bağlayan ve hidrolize eden enzimler) ekspresyonu yoluyla antibiyotiğin tahrip edilmesidir.

Pozitif bakteriler, antibiyotikler PBP'lerin bulunduğu bakteriyel sitoplazmik membrana serbest erişime sahiptir. Gram-negatif bakterilerde, bakteriyel dış zar (gram-pozitif bakterilerde bulunmayan) hem β -laktam girişini kısıtlayabilir hem de β -laktamaz moleküllerini deriştirebilir. Eğer β -laktam molekülleri, bu periplazmik alandan, kısıtlı giriş veya fazla akıntı ile yeterince dışarıda bırakılırsa ve β -laktamaz molekülleri yoğunlaşırsa, nispeten zayıf bir β -laktamaz bile yüksek düzeyde direnç sağlayabilir [33].

2.1.5. Antibiyotiklerin yan etkileri

Antibiyotikler mikrobik kaynaklı bulaşıcı hastalıklara karşı bir ön tedavidir. Birçok antibiyotiğin insanlarda çeşitli yan etkilere neden olduğu bilinmektedir. Ribozomal RNA (rRNA), protein sentezini inhibe eden ana antibiyotiklerdir. Endosymbiont teorisine göre, mitokondriler, bakteriyel orijinlidir ve protein ekspresyon sisteminin moleküler ve yapısal bileşenleri hemen hemen aynıdır. Mitokondriyal rRNA'daki mutasyon oranının çekirdek rRNA'ninkine kıyasla daha yüksek olduğu gözlenmiştir. Bu mutasyonların varlığı prokaryotik rRNA yapısını taklit edebilir ve bakterilerin ribozomlarını hedef alan antibiyotiklere bağlanabilir. Mitokondriyal fonksiyonlar tehlikeye girer ve bu nedenle antibiyotik tedavisi sırasında yan etkiler gözlenebilir [34].

Her bireyin farklı genetik yapısı nedeniyle, antibiyotik yan etkileri her hasta için farklı olabilir ve reaksiyonlar hafif alerjik reaksiyonlardan zayıflatıcı tıbbi sorunlara kadar değişebilmektedir.

Ortak Yan Etkiler

- İshal
- Mantar enfeksiyonları
- Hafif mide rahatsızlıkları
- Kusma
- Karın krampları
- Alerjik reaksiyon (nefes darlığı, kurdeşen, dudakların şişmesi, bayılma)
- Dil üzerinde beyaz lekeler

Nadir Yan Etkiler

- Böbrek taş oluşumu
- Anormal kan pıhtılaşması
- Güneşe duyarlılık
- Kan hastalıkları
- Sağırılık [35,36].

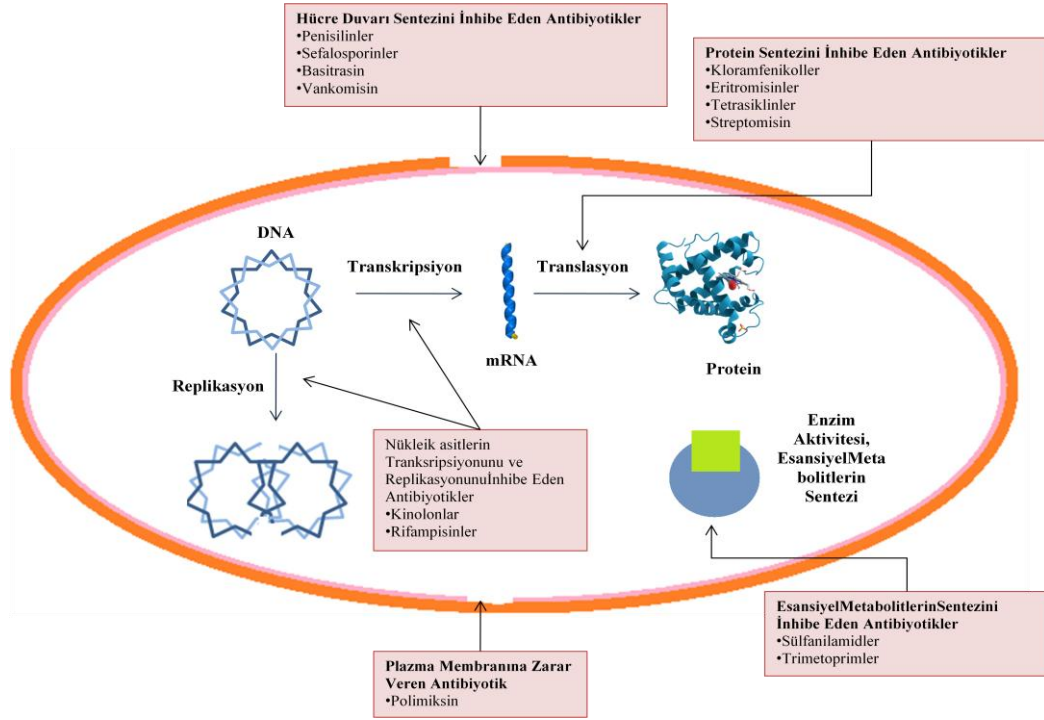
2.1.6. Antibiyotiklerin hedefi

Antibiyotikler, bakteriyel fizyoloji ve biyokimyayı hedef alır, mikrobiyal hücre ölümüne veya büyümenin durmasına neden olur. Antibiyotiklerin beş ana hedefi vardır. Bunlar;

1. Bakterinin hücre duvarı,
2. Hücre zarı,
3. Protein sentezi
4. DNA ve RNA sentezi
5. Folik asit (vitamin B9) metabolizmasıdır.

Bu bakteriyel hedefler, ökaryotik hücrelerde (insanlar dahil olmak üzere) farklı olanlar veya bulunmayanlardır. Örneğin penisilinler, sefalosporinler ve karbapen gibi β -

laktam antibiyotikler, bakteriyel hücre duvarının sentezini bloke eder. Bu yapı, daha yüksek organizmalarda yoktur, ancak bakteriyel sağkalım için gereklidir. Bakteriyel ribozom tetrasiklin, aminoglikozit, makrolid ve diğer antibiyotiklerin hedefidir ve çapraz inhibisyonun meydana gelmediği ökaryotik ribozomdan yeterince farklıdır[37].



Şekil 2.4. Etki mekanizmalarına göre bazı antibiyotiklerin şematik gösterimi

2.2. Kontrollü İlaç Salınımı

Günümüzde ilaçların klinik uygulamada kullanılmasını sağlayan zorunlu kriterler şunlardır:

- Etkinlik
- Güvenlik
- Kalite

Bu parametreler, örneğin biyoeşdeğerlik, farmakolojik, toksikolojik ve klinik araştırmalar ve in vitro araştırmalar gibi uygun araştırmaların sonuçlarıyla belirlenir. Farmasötiklerin etkinliği ve güvenliği, belirli bir hücresel hedef üzerindeki etkilerinin etkinliği ve yüksek düzeyde in vivo aktivitelerini sürdürebilmeleriyle ilgilidir [38]

Polimerik bir ilaç verme sisteminden ilaç salınım hızı, ilaç maddesinin partikül büyüklüğü, polimerin hidrofilik ve hidrofobik özellikleri, oral dozaj formundaki diğer fonksiyonel yardımcı maddeler ve son dozaj formunu üretmek için uygulanan metot gibi birçok faktörden etkilenebilir [39].

Kimyasal olarak kontrollü ilaç salınım sistemlerinde, farmakolojik olarak aktif bir maddenin salınması genellikle sulu ortamda bir veya daha fazlası mekanizma ile gerçekleşir. Bunlar;

- Bir ilacı içeren polimer matrisinin aşamalı olarak biyodegradasyonu,
- İlacın polimer matrisine bağlandığı kararsız bağların biyodegradasyonu
- Enjekte edilebilir ve biyo-bozunabilir mikro yapılardan bir ilacın difüzyonudur.

Mekanik ve ozmotik sistemlerin aksine, bu tür biyolojik olarak parçalanabilen sistemlerin avantajları, cerrahi müdahaleyle çıkarılmaya gerek kalmaması, küçük boyutları ve düşük maliyetleridir. Ayrıca, tüm biyolojik olarak çözünebilen ürünler ve bunların metabolitleri toksik, kanserojen, teratojenik olmamalıdır. Bütün bunlar kolayca karşılanamamaktadır ve dikkatli bir incelemeye tabi tutulmalıdır.

Birinci tipte bir sistemde, ilaç ya biyobozunabilir polimer matrisinde dağılır ya da içinde kapsüllenir, bunun içinden kontrollü oranlar ile biyolojik ortama salınır. Bu kinetik aktivite, polimerin kimyasal bileşimine, ilacın polimerin içindeki çözünürlüğüne ve polimer matrisinin preparatif yönlerine bağlıdır. Polimerin, biyobozunma ürünlerinin hiçbirinin toksik olmaması önemlidir. Ayrıca, tüm bozunma ürünleri vücutta aşırı veya sürekli birikim olmaksızın tamamen metabolize edilmeli ve atılmalıdır. Bu gereksinimler, özellikle ilaç salınımı parametreleriyle birleştirilmesi gerektiğinde, çeşitli zorluklar doğurmaktadır [40].

Elektro çekim yöntemiyle elde edilen ilaç yüklü nanolifler antibiyotikler ve diğer antimikrobiyal ajanlar için taşıyıcı matriks olarak kullanımı son yıllarda artmıştır. Nanolifler, yüksek ilaç yükleme kapasitesi, yüksek kapsülleme verimliliği, çeşitli terapötiklerin eşzamanlı uygulanması, çalışma kolaylığı ve uygun maliyet sağlar. Benzer şekilde, yüksek yüzey alanı ve nanoliflerin kısa difüzyon süresi diğer sistemlere göre daha yüksek ilaç salınım hızı sağlar. Ayrıca, nanoliflerin modifiye edilmesiyle, tek

ve ya çoklu ilaçların lifli yapılara kolaylıkla yüklenebilmesi ve ilaç salınımının kontrol edilebilmesi mümkündür [41].

2.3. Yara İyileştirici Bantlar

Yara, normal anatomik yapı ve işlevde hasar veya bozulma olarak tanımlanır. Yaralar, ilgili organa dışarıdan veya içeriden başlayan patolojik süreçlerden kaynaklanabilir. Kazara veya kasıtlı bir etiyojiye sahip olabilirler ya da bir hastalık sürecinin sonucu olabilirler. Yaralanma, sebebi ne olursa olsun dokuya zarar verir ve içindeki doğal ortamı bozar [42]. Yara iyileşmesi süreci karmaşık olan ve bir takım faktörler tarafından tehlikeye sokulabilen bir süreçtir. Bakteriyel enfeksiyonlar yaraların iyileşme sürecini önemli ölçüde tehlikeye atabilir ve bazı durumlarda yara iyileşmesini önleyebilir. Enfeksiyonları tedavi yöntemlerinden biri de antibiyotik kullanımıdır. Her ne kadar antibiyotiklerin, yara enfeksiyonlarına karşı çok yararlı olduğu kanıtlanmış olsa da, bunların kullanımı böbrek ve karaciğerde toksisitesi ve ilaca dirençli bakterilerin ortaya çıkması gibi komplikasyonlara neden olabilir. Kronik yara yaralanmalarına sahip hastalar; Genellikle, sistemik antibiyotiklerle, yara içerisinde mevcut olan bakteriyel yükü azaltma girişimi ile tedavi edilir. Bununla birlikte, granülasyon dokusunda bol miktarda kan kaynağına rağmen, sistemik uygulamaların, granüle edici dokuda genellikle kayda değer miktarda antibiyotik üretmediği bilinmektedir. Dahası, küçük granülasyon dokusu olan iskemik yaralar da sistemik olarak uygulanan antibiyotiklerle zayıf penetrasyona sahiptir. Bu nedenle, topikal uygulamanın etkili bir yaklaşım olduğu kanıtlanmıştır. İdeal durumda, antibiyotik, enfeksiyon yerinde ve enfeksiyon süresi boyunca uygun miktarlarda kullanılır [43].

Bir yara sargısının amacı, doku rejenerasyonu sürecini teşvik ederken, aynı zamanda çevresel tehditlerden ve mikroorganizmaların yaraya nüfuz etmesini engellemektir [29]. Geçmişte, yaraların iyileşmesi için değişik derecelerde emicilik gösteren doğal veya sentetik bandajlar, pamuk yünü, tiftik ve gazlı bezler gibi geleneksel sargı bezleri kullanıldı. Temel işlevleri, yara eksüdanlarının buharlaşmasına ve yara içine zararlı bakterilerin girmesini önleyerek yarayı kuru tutmaktır. Bu pansumanlar, sağlıklı dokuların yumuşayarak soyulmasından korunmak için sık sık değiştirilmelidir.

Gazlı bez sargıları daha az maliyetlidir ancak aşırı yara drenajına bağlı olarak, pansumanlar ıslanır ve çıkarıldığında ağırlı hale getirerek yaraya yapışır. Geleneksel pansumanlar yaraya nemli ortam sağladığından, daha gelişmiş formülasyonlarla modern pansumanlarla değiştirilmiştir [44,45].

İdeal bir yara pansumanı, nemi muhafaza etme, mikroorganizmalara karşı hareket etme, toksik olmayan, yapışkan olmayan ve yara iyileşmesini destekleme yeteneğine sahip olmalıdır. Modern yara pansumanları, yara yüzeyinde eksüda emilimi ve optimal yüzey nemi arasında dinamik dengeyi sağlamalıdır. Ayrıca, yaraya yeterli oksijeni sağlamak için gaz değişimi yapabilmelidir [46].

İdeal bir yara pansumanının özellikleri şöyle olmalıdır;

- Yüksek nemlilik sağlamalı
- Aşırı yara eksüdasının çıkarılması
- Isı yalıtımına ve gaz değişimine izin vermeli
- Yara yüzeyine uygun olmalı
- Gerekğinde ölü dokunun temizlenmesini kolaylaştırmalı
- Yara izi kalmasını en aza indirmeli
- Yabancı bakterilere karşı geçirgen olmamalı
- Toksik olmamalı
- Yapışkan olmamalı, rahat ve uyumlu olmalıdır [47].

Polimerik nanoliflerin üretim yöntemleri üzerine araştırmalar, yara pansumanlarındaki en önemli konulardan biri olmaya devam etmektedir. Elektro çekim, eriyik üfleme, faz ayrımı gibi çeşitli teknikler, yara pansumanları için uygun polimer nanoliflerinin üretilmesinde kullanılmıştır. Bunlar arasında elektro çekim en popüler olanıdır. Elektro çekim, hem doğal hem de sentetik kökenli polimerlerden kontrollü gözenekli yapıya sahip nano ölçekli lifli matlar üretmek için basit ve etkili bir yöntemdir. Bu teknik, çok yönlülüğü, tekrarlanabilirliği, hacim-yüzey oranı ve mikron altı aralığı nedeniyle çok dikkat çekmektedir [48].

Yara sargıları kökenleri sentetik veya doğal olan farklı tiplerde polimerler kullanılarak geliştirilmiştir. Poli (Metakrilatlar), polivinil pirolidin vb.'den yapılmış sentetik pansumanlar vardır. Bu pansumanlar, hastaların işlem yapmasını zorlaştıran

düşük mekanik dayanıklılık sağlarlar. Sentetik pansumanlar iyi bir anti enfeksiyöz özellik kazandırsa da, bozunma ürünleri cilde zarar vermemelidir. Bu durum sentetik polimerler ile karşılanamamaktadır. Enfekte yaralar, uygunsuz iyileşme ile aşırı eksüda formasyonu varlığı ile karakterizedir. Enfeksiyon, etkilenen parçaların cerrahi olarak çıkarılmasına yol açan hızlı bir şekilde diğer doku parçalarına yayılır. Bu tür yaraların tedavisi, yara bakımı alanında büyük bir güçlütür. Bu nedenle, doğal polimerlerden geliştirilen pansumanları öne çıkarmak için çok fazla araştırma yapılmıştır. Doğal polimerlerden elde edilen pansumanlar, sadece mikrobiyal yükü ortadan kaldırmakla kalmayıp aynı zamanda yara izi kontrolü, iltihaplı aktivitelere aracılık etme, vb. diğer iyileştirici faaliyetlere de yardımcı olan etkili yöntemlerdir [49].

İlaç salıcı yara pansumanları, yara iyileşmesi sürecine doğrudan veya dolaylı etkilerinden dolayı geleneksel olanlara göre tercih edilir. Onlar, yaraya antibiyotik verilmesi için daha iyi seçenekler ve sistemik antibiyotik verilmesiyle ilişkili bazı dezavantajların üstesinden gelirler. Verimli dozda antibiyotik dozlarını azaltırlar ve bu da sistemik toksisite riskini azaltır ve diyabetik ayak ülserleri gibi zayıf kan dolaşımı olan yaralara antibiyotik sağlarlar [50]. Genellikle, enfekte olmuş yaraların çoğunluğu polimikrobiyaldir ve genellikle çevrede bulunan patojenler, yani mukoza zarlarında yaşayan endojen mikroplar ve bitişik deri üzerinde bulunan mikroflora tarafından kirletilir. Kronik yara oluşumunun ilk aşamalarında, gram-pozitif organizmalar, özellikle *S. aureus* baskındır. Daha sonraki aşamalarda, gram-negatif *E. coli* ve *Pseudomonas* türleri gözlenir ve derin doku katmanlarına nüfuz etme eğilimi gösterir ve bu da önemli doku hasarına neden olur. Günümüzde, pansumanların antimikrobiyal özelliklerini geliştirmek için, yapılarına farklı ajanlar dahil edilmiştir. Bu antimikrobiyal maddeler esasen antibiyotikler (örneğin tetrasiklin, siprofloksasin, gentamisin ve sülfadiazin), nanopartiküller (örneğin gümüş nanopartiküller) ve doğal ürünler (örneğin bal, esansiyel yağlar ve kitosan) dir [51,52].

2.4. Nanolifler

Nanomalzeme dünyası, olağanüstü fiziksel ve kimyasal özellikleri olan çok çeşitli ilgi çekici materyaller içerir. Bu materyaller, sıfır boyutlu nanopartiküller veya kuantum noktaları, tek boyutlu nanoteller, nano çubuklar, nanolifler ve nanotüpler ve iki boyutlu nanolevhaları içerir. Geniş potansiyel uygulamalara sahip nanomalzemeler olarak kabul

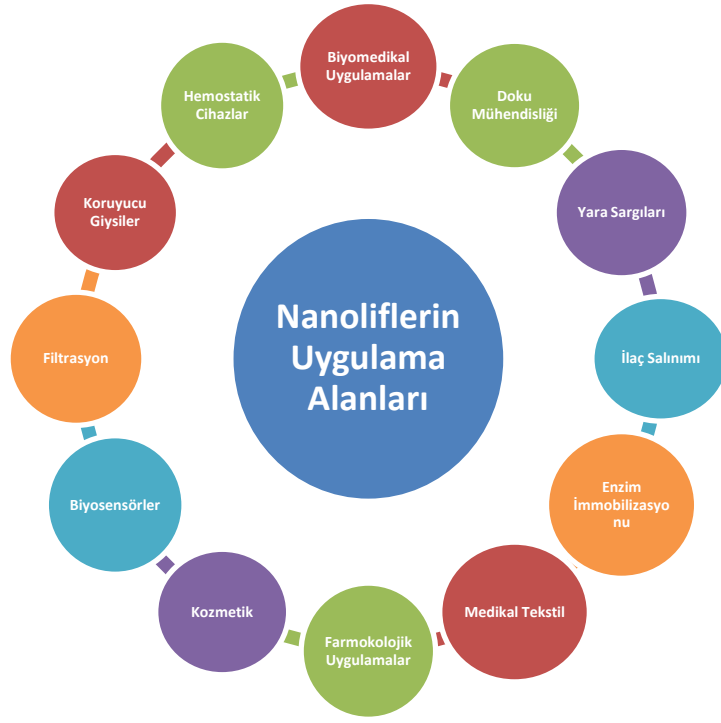
edilen nanolifler, nanomateryallerin geri kalanı arasında öne çıkmaktadır. Nanoliflerin en dikkat çekici özelliklerinden biri, son derece yüksek yüzey alanından hacim oranına ve yüksek gözenekliliğe sahip olmalarından dolayı, birçok gelişmiş uygulama için sağlam ve çekici bir aday haline gelmektedir. Bugüne kadar nanolifler, doğal polimerler, sentetik polimerler, karbon bazlı nanomateryaller, yarı iletken nanomalzemeler ve kompozit nanomateryaller gibi çeşitli malzemelerden hazırlanmıştır [53].

Nano ölçeği literatürde 1-100 nm aralığında bir ölçüm seviyesi olarak tanımlanmıştır [54]. Nanolifler, ekstrasellüler matriks (ECM) ile benzerliklerinden dolayı nanotıp alanında özel ilgi göstermektedir. Nanopartiküller gibi, daha yüksek yüzey-hacim oranı ve sentezde kullanılan polimerlerin ayarlanabilirliği üstün özellikleridir [55].

Nanoliflerin üretim yöntemleri;

- Elektro çekim,
- Çizim tekniği
- Kendiliğinden montaj (Self-assembly),
- Şablon sentezi
- Lif örgü tekniği
- Lif-bağlama tekniği
- Eriyik üfleme tekniği
- Faz ayrımı gibi çeşitli teknikler kullanılarak üretilebilir.

Bunlar arasında elektro çekim yöntemi, büyük ölçekli üretim, nispi imalat kolaylığı ve ayarlanabilir yapıya sahip olma yeteneğinden dolayı, en yaygın kullanılan yöntemdir [56].



Şekil 2.5. Nanoliflerin uygulama alanları

Nanolifler, biyouyumluluk, biyobozunabilirlik, mükemmel mekanik özellik ve sterilite gibi benzersiz özelliklerinden dolayı kontrollü salınım şekli, ilacın yanı sıra hücre dağıtımı için ideal bir adaydır. Nanolifler ayrıca mükemmel gözeneklilikleri ve gözenekler arası bağlantılarından dolayı hücre yapışmasını destekler, bu nedenle doku rejenerasyonu ve doku mühendisliğinde yaygın olarak kullanılır. Nanoliflerin yerlerini diğer dağıtım sistemlerinden ayıran bazı eşsiz ve önemli özellikleri vardır. Bunlar;

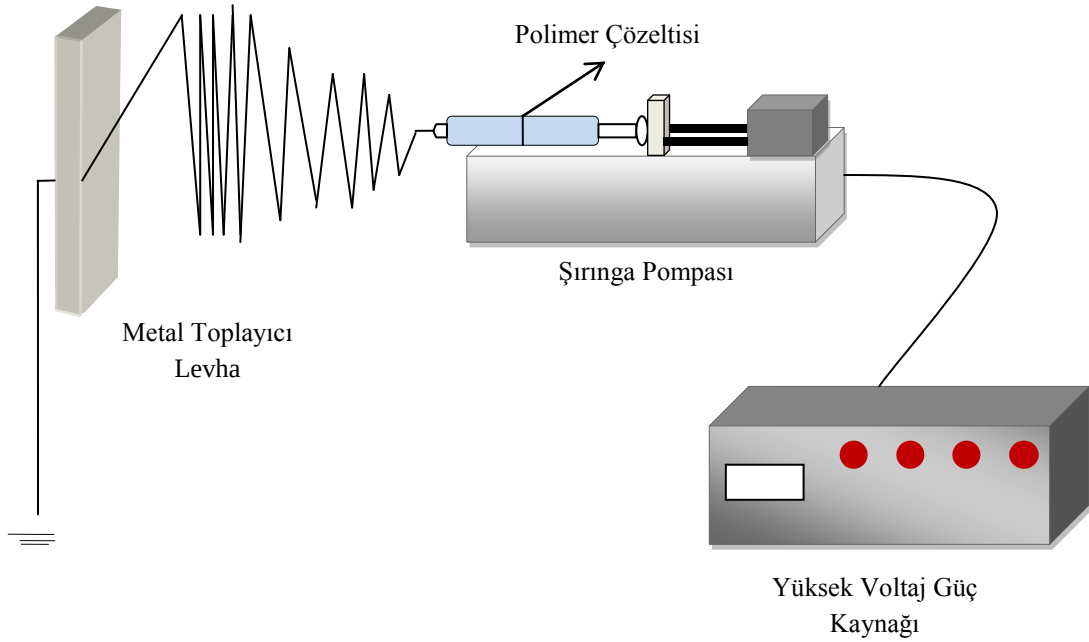
- Biyouyumluluk
- Biyobozunabilir
- Gözeneklilik
- Hedeflendirilebilme
- Toksisite
- Bağlanma afinitesi
- Kararlılık
- Sterilite
- Tutunma ve yükleme verimliliği
- Koruma yeteneği
- Esneklik
- Mekanik özellik
- Uygulanabilirlik
- Ekonomik

- İşlenebilirlik
- Kontrollü salınım davranışdır [57].

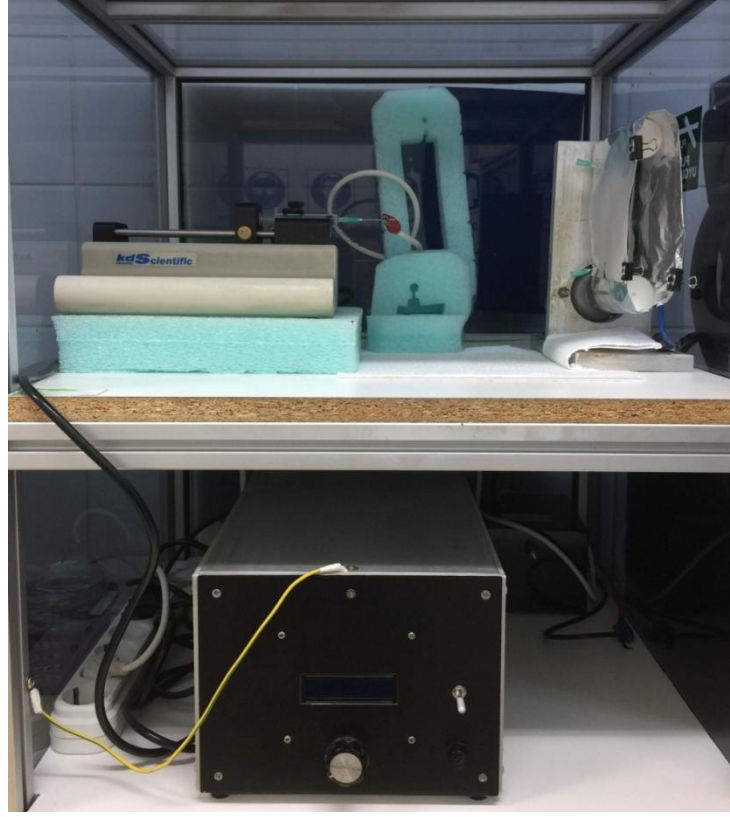
2.5. Elektro Çekim Yöntemi

Günümüzde nanolifler, nanoteller, nanotüpler ve nanorodlar gibi tek boyutlu (1D) nanoyapılı malzemeler, benzersiz fiziksel ve kimyasal özelliklerinden dolayı yoğun ilgi görmektedir. Nano elyaflı malzemelerin hazırlanmasında şablon destekli sentez, kimyasal buhar biriktirme, kendinden montajlı, ıslak kimyasal sentez ve elektro çekim gibi çeşitli yöntemler uygulanmıştır. Diğer yöntemlerle karşılaştırıldığında, elektro çekim yöntemi basitlik, yüksek verimlilik, düşük maliyet ve yüksek tekrarlanabilirlik esasına sahiptir [58].

Elektro çekim yöntemi, hem doğal hem de sentetik polimerlerin polimer çözeltileri ile elektriksel kuvvet kullanılarak çapları 2 nm ile birkaç mikrometre arasında değişen nanolif üretim yöntemidir [59].



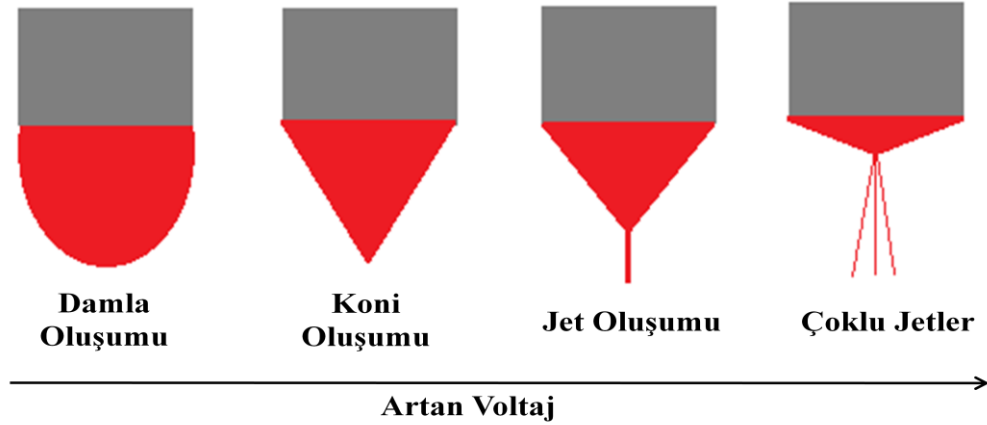
Şekil 2.6. Elektro çekim cihazının şematik gösterimi



Şekil 2.7. Elektro çekim cihazı

2.5.1. Elektro çekim yönteminin tarihi

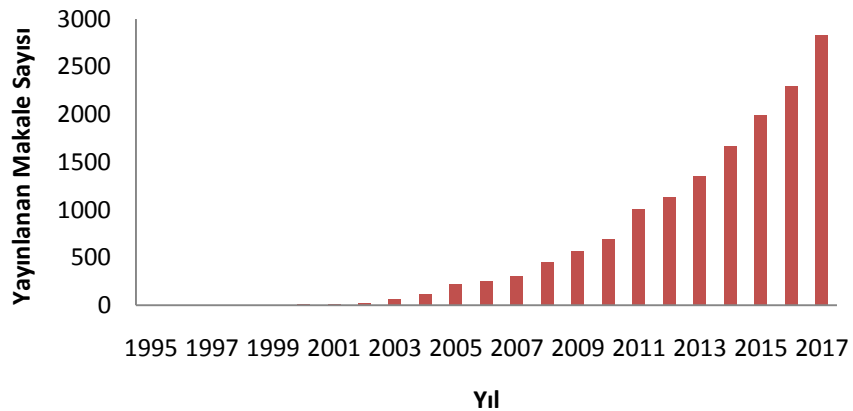
Elektro çekimin bir lif eğirme tekniği olarak kullanılmasının kökeni, 1930'ların başlarına dayanmaktadır. 1934 yılında, Anton Formhals, elektrostatik kuvvet kullanarak polimer filamanlarının üretimi için deneysel bir düzeni tanımlayan bir dizi patent yayınlamıştır. Elektrik alanı kullanarak yapay iplik üretme yöntemi, uzun bir süre denenmiş olmasına rağmen, elyaf kurutma ve toplama gibi daha önceki çekim yöntemlerindeki bazı teknik zorluklardan dolayı Formhals'nin buluşuna kadar önem kazanmamıştır. İlk patentinde Formhals, çözücü olarak aseton kullanarak selüloz asetat liflerinin çekimlenmesini bildirmiştir [60,61]. Sir Geoffrey Ingram Taylor, 1964 ve 1969 yılları arasında elektro çekimin teorik temelini oluşturulmuştur. Araştırmaları, elektrik alanının etkisi altında sıvı damlacıklarının oluşturduğu koninin şeklini matematiksel olarak modellemek suretiyle elektro çekimlemeye katkıda bulunmuştur [62]. Bu karakteristik damlacık şekli artık Taylor konisi olarak bilinmektedir. Taylor konisi elektro çekim, elektrosprey ve hidrodinamik spreysinde gözlenen ve yüklü bir parçacıkların bir eşik voltajının üstünde yayıldığı koniyi ifade etmektedir.



Şekil 2.8. Taylor konisi oluşumu

Elektro çekim yöntemi, 1995 yılında, elektrospreylemeyi incelerken, nanometre ölçeğinde çapları ile kolaylıkla oluşturulabildiğini gözlemleyen Doshi ve Reneker tarafından potansiyel bir nano yapılı malzeme kaynağı şeklinde yeniden keşfedilmiştir [63]. Reneker ve arkadaşı, 5 μm 'den daha küçük çaplı lifler üretmek için polimer dispersiyonunu şarj etmek için yüksek voltaj kullanılmıştır. Çeşitli kesit şekillerine ve boyutlarına sahip olan lifler, farklı polimerlerden üretilmiştir. Bu liflerin çapı 0.05 ile 5 mikron arasındaydı ve çalışmalarında elektro çekim işlemi, işlem koşulları, lif morfolojisi ve elektro çekim liflerinin bazı olası kullanımları açıklanmaktaydı [64].

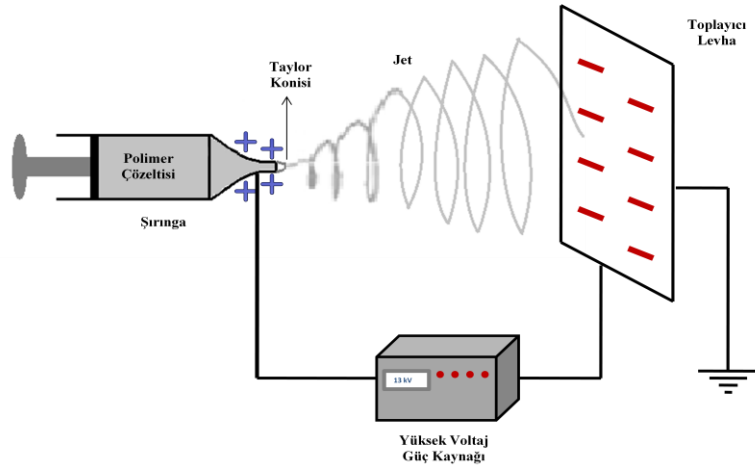
Şekil 2.9'da 1995'den günümüze kadar elektro çekim ile ilgili yayın sayısını göstermektedir. Bu yöntem ile ilgili uygulama araştırma aktivitelerinde önemli bir artış olduğu görülmektedir.



Şekil 2.9. Verilen yıllarda 'Elektro çekim' anahtar kelimesiyle yayınlanan makale sayısı

2.5.2. Çalışma prensibi

Elektro çekim yönteminin temeli, güçlü bir elektrik alanının uygulanmasına dayanır. Polimer çözeltisi veya eriyiği bir şırınga içerisine konur ve besleyici üniteye yerleştirilir. Şırınganın ucuna yüksek voltaj uygulandığında, genellikle 1 ile 30 kV arasında, şırınga ucunda polimer damlası oluşur. İğnenin ucundaki polimer damlası kritik bir voltaj değerine kadar, yüzey geriliminin uyguladığı kuvvetlerden dolayı, küresel bir biçimde bulunur. Uygulanan potansiyel fark bir eşik değerine ulaştığı anda, elektrostatik kuvvetler yüzey gerilimi kuvvetleriyle eşitlenir. Bu noktada polimer damlası şekil değiştirerek koni biçimini alır. Bu koniye “Taylor konisi” denir. Voltaj belli bir eşik değerini geçtiğinde, elektrik kuvveti damlacığın yüzey gerilimini aşar ve çözeltinin bir veya çoklu jetleri elektrik alan şiddeti üzerine bağlı olarak iğnenin ucundan fırlatılır. Jet, topraklanmış ve belli bir uzaklıktaki toplayıcı metal levhaya (karşı elektrot) doğru hareket ederken çözücü buharlaşır ve metal levhada nanolifler oluşur [65,66].



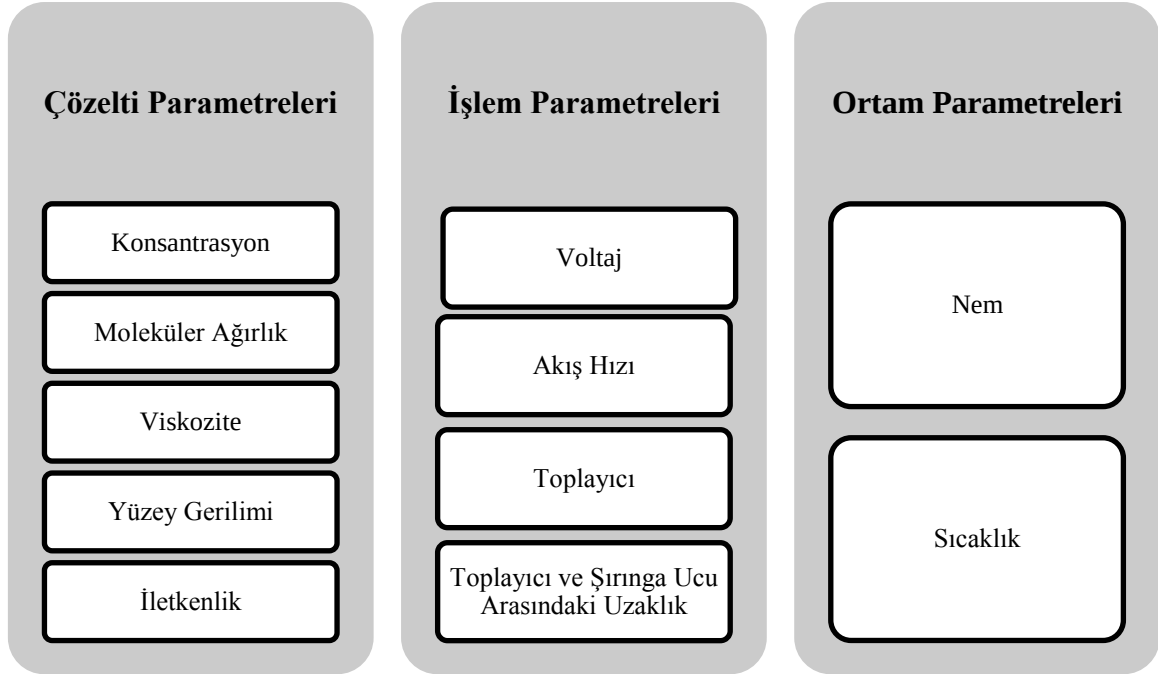
Şekil 2.10. Elektro çekim şematik gösterimi

2.5.3. Nanolif üretimini etkileyen parametreler

Polimer çözeltisinin eğrilmesini etkileyen çeşitli parametreler vardır. Bu parametreler, genel olarak çözelti parametreleri, işlem parametreleri ve ortam parametreleri gibi üç kısma ayrılabilir. Parametrelerin her biri, liflerin morfolojilerini

etkileyebilir ve bu parametrelerin uygun kontrolü sayesinde, istenilen morfolojileri ve çapları olan elektro çekim lifleri üretilebilir.

Tablo 2.2. Elektro çekim nanoliflerinin morfolojisini etkileyen faktörler



2.5.3.1. Çözelti parametreleri

2.5.3.1.1. Derişim

Polimer çözeltisinin derişimi, elektro çekim işlemi sırasında lif oluşumunda önemli bir rol oynar. Düşükten yükseğe doğru dört kritik derişim vardır.

1. Derişim çok düşük olduğunda, polimerik mikro (nano) parçacıklar elde edilir. Bu sırada, düşük viskozite ve çözeltinin yüksek yüzey gerilimleri nedeniyle elektro çekim yerine elektrosprey oluşur [67].
2. Derişim biraz daha yüksek olduğunda, boncuk ve lif karışımı elde edilecektir [68].
3. Derişim uygun olduğunda, düzgün nanolifler elde edilebilir.
4. Derişim çok yüksekse, nanokaliteli olmayan lifler, sarmal şekilli mikro şeritler görülecektir [69].

Genellikle, çözeltinin derişiminin arttırılması, çözelti derişimini elektro çekim için uygun ise lif çapı artacaktır. Ayrıca çözelti viskozitesi de çözelti derişiminin ayarlanması ile ayarlanabilir [70].



Şekil 2.11. Elektro çekim sırasında artan derişim ile elde edilen yapıların SEM görüntüleri [67,71,72]

2.5.3.1.2. Moleküler ağırlık

Belirli moleküler ağırlıktaki polimerin elektro çekim sırasında, lifli yapı sadece kritik bir derişimin üzerinde ve viskoziteyi sınırlayan işlemin altında kararlı olabilmektedir. Moleküler ağırlık ayrıca viskozite, yüzey gerilimi, iletkenlik ve dielektrik dayanım gibi reolojik ve elektriksel özellikler üzerinde de önemli bir etkiye sahiptir [73].

Yüksek moleküllü ağırlıktaki polimerler daha yüksek seviyede zincir dolanması ve dolayısıyla daha düşük eriyik akış indeksine sahiptir. Sonuç olarak, bu polimerlerden daha kalın lif çapları oluşturulacaktır. Yapılan çalışmalarda moleküler ağırlık sürekli olarak azaldıkça, lif çapının azaldığını görülmektedir [74,75].

2.5.3.1.3. Viskozite

Çözelti viskozitesi, lif morfolojisinin belirlenmesinde kritik anahtardır. Yüksek viskoziteli bir çözelti için, elektriksel yükler, lifleri oluşturmak için çözeltiyi germek için yeterli dayanıklılığı sağlamayabilir. Bir çözelti çok viskoz ise, çözeltinin derişimini azaltmak gerekebilir. Bununla birlikte, belirli bir derişimin altında, elektro çekim jeti damlacıklara ayrılabilir ve lif oluşmaz.

Viskozite, polimer derişimi ve polimerin molekül ağırlığı birbiriyle ilişkilidir. Daha yüksek molekül ağırlıklı bir polimerin veya daha yüksek çözelti derişimi viskozitede ve lif çapında artışa yol açar. Viskozite arttıkça, eğirme işlemini başlatan yükler polimer çözeltisinin istenen lif çapına gerilmesi için yetersiz olabilir. Düşük viskozite çözeltisi için, yüzey gerilimi baskın faktördür ve sadece boncuklar veya boncuklu elyaf oluşur. Çözelti uygun viskoziteye sahipse, sürekli lifler elde edilebilir [70,76].

2.5.3.1.4. Yüzey gerilimi

Yüzey gerilimi, birim uzunluk başına yüzey düzleminde uygulanan kuvvet olarak tanımlanır. Elektro çekim işlemi sırasında, uygulanan voltajın, nanolifler üretmek için eğirme çözeltisinin yüzey gerilimini aşacak kadar yüksek olması gerekir. Çözücüler yüzey gerilimini bir dereceye kadar değiştirebilir. Farklı çözücüler farklı yüzey gerilimine neden olur. Daha önceki çalışmalarda derişimi değiştirmeden çözeltinin yüzey gerilimini azaltarak boncuklu liflerin düz liflere dönüşebileceği gösterilmiştir [77,78].

2.5.3.1.5. İletkenlik

Çözeltinin elektro çekim sırasında besleme ünitesinden polimere yük aktarımı çözücünün iletkenliğine bağlıdır. İletkenlik ne kadar yüksek olursa, polimer molekülleri üzerinde o kadar fazla iyon oluşur. Daha sonra itme artışı daha baskın bir etkiye dönüştükçe daha ince lifler oluşmaktadır. İletkenliği geliştirmek için farklı çalışmalar yapılmış ve iyonik tuzların eklenmesiyle iletkenliğin artırılmasının daha küçük bir başlangıç jet çapından daha ince lifler ürettiğini gözlemlenmiştir [79].

2.5.3.2. İşlem parametreleri

2.5.3.2.1. Voltaj

Jet çapları ve lif çapları, uygulanan voltaj ile belirli bir dereceye kadar kontrol edilebilir. Ancak polimer sistemi ile kuvvetli bir şekilde değişir. Örneğin, akrilik nanoliflerinin elektro çekimlenmesi için jet çapının başlangıçta artan voltaj ile azalabildiği, fakat voltajın daha da artmasıyla tekrar arttığı gözlemlenmiştir. Bu durum elektrik alanın şırıngadan çıkardığı polimer çözeltisinin miktarındaki kuvvetli artıştan kaynaklanmaktadır [80,81].

2.5.3.2.2. Akış hızı

Çözeltilerin uygulanan basınçla akışı, akış hızı olarak adlandırılır. Yüksek akış hızlarında, ortalama lif çaplarını ve boncuk boyutunu arttıran daha büyük damlacıklar oluşur. Yüksek akış hızlarında, lif çapının artırılması ile bir sınırlamaya sahiptir, çünkü uygulanan voltaj ve akış oranları eş zamanlı olarak artmamıştır. Diğer yandan, çözücü buharlaşma için yeterli zamana sahip olacağı için, daha düşük akış oranları daha fazla tercih edilmektedir. Bununla birlikte, akış hızı yüksek olduğunda, iğne ucundan daha büyük bir çözelti hacmi çekilir, bu da kuruması için daha uzun bir zamana ihtiyaç duyar. Bu durumda, artık çözücü liflerin bir araya toplanmasını ve lifler yerine ağları oluşturmasını sağlayabilir [82].

2.5.3.2.3. Toplayıcı

Elektro çekim yönteminde toplayıcı malzeme iletken olmalıdır. Toplayıcı, iğne ve toplayıcı arasındaki uygun potansiyel farkı yaratmak için topraklanmış olmalıdır. Ancak toplayıcının değiştirilmesi durumunda, daha yüksek yoğunluğa sahip, sıkı bir şekilde paketlenmiş liflerin oluşması söz konusudur. Gözenekli toplayıcı, gözenekli olmayan plakaya kıyasla daha düşük yoğunluğa sahip lifler sağlar. Gözenekli toplayıcı plakada yüzey alanı arttırılır, böylece artık çözücü molekülleri, gözenekli olmayanlara kıyasla hızla buharlaşır. Döner toplayıcı, çözücünün buharlaşması için daha fazla zaman sağladığı için kuru liflerin elde edilmesini sağlar. Döner toplayıcı için, dönme hızının kuvveti lifleri uzatır, bu da hizalama ve çapta azalma ile sonuçlanır [83].

2.5.3.2.4. Toplayıcı ve şırınga ucu arasındaki uzaklık

Toplayıcı ile şırınganın ucu arasındaki uzaklık lif çapını ve morfolojisini etkilemektedir. İki elektrot arasındaki mesafenin kısaltılması, iğne ile hedef arasındaki elektriksel alan kuvvetinde bir artışa neden olur ve elektro çekim tekniğini hızlandırır. Fakat bu durum çözücü buharlaşması için mevcut olan zamanı azaltır. Mesafe çok fazlaysa, boncuklu lifler elde edilebilir. Ayrıca iki elektrot arasındaki boşluk arttığında nanoliflerin çapı azalır [84].

2.5.3.3.Ortam parametreleri

2.5.3.3.1. Nem

Elektro çekim yönteminin uygulanmasında nem, polimer hidrofobikliğine, çözücü uçuculuğuna ve su ile karışabilirliğine bağlı olarak nanoliflerin çapını ve morfolojisini etkileyen önemli bir parametredir. Polimer çözeltisi şırınga ucundan belli bir uzaklıktaki toplayıcı metal levhaya doğru hareket ederken çözücü buharlaşır ve metal levhada nanolifler oluşur. Düşük nem, hızlı çözücü buharlaşmasına neden olduğu için daha kalın nanolifler oluşur. Yüksek nem ise daha yavaş çözücü buharlaşmasına neden olur ve daha ince nanolifler oluşur [85].

Hidrofilik polimerlerde düşük nem değerlerinde pürüzsüz nanolif yüzeyleri elde edilir. Fakat nem arttıkça yüzeydeki pürüzlülük artar. Çünkü hidrofilik polimerler su moleküllerini kolayca adsorbe ederler. Bu nedenle büyük su damlacıkları gözlenemeyen büyük girintiler oluşturmazlar. Hidrofobik polimerlerde ise düşük nem değerlerinde gözenekli nanolifler oluşmaktadır. Ancak nem arttıkça lifler üzerindeki porozite artar ve yüksek nemde nanoporozite oluşur. Bunun nedeni hidrofobik polimerlerde nanolifler suyla daha az ıslanır. Su molekülü arttıkça bunlar su damlacıklarına dönüşür ve daha sonra lif yüzeyinde nano girintileri bırakacak kadar büyük olurlar [86].

2.5.3.3.2. Sıcaklık

Yüksek sıcaklık, yüzey gerilimini ve viskoziteyi azaltır fakat çözücünün buharlaşma hızını artırır. Çözücünün buharlaşmasındaki artış ve çözeltinin viskozitesindeki azalmanın iki uygulama mekanizması tarafından yapılması, her ikisinin de ortalama lif çapının azalmasına neden olmaktadır [87,88].

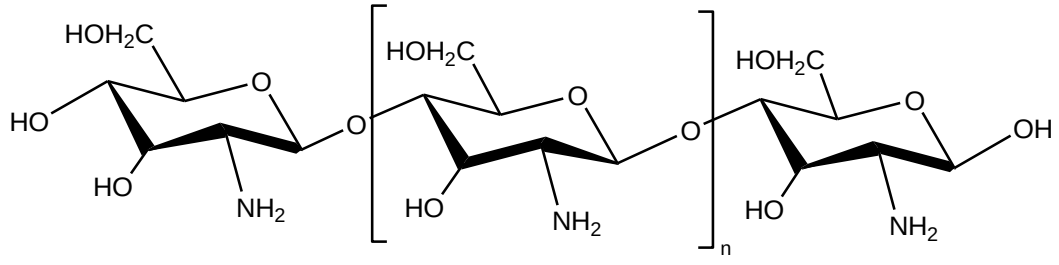
2.5.4. Elektro çekim yönteminde kullanılan polimerler

Elektro çekim yöntemi ilaç salınımı, doku mühendisliği gibi pek çok alanda hem doğal hem de sentetik polimer ve proteinlerden biyomimetik iskeleler üretmek için etkili bir yaklaşım sağlar [89]. Bir ilaç salınım sisteminin tasarlanmasının amacı, ilacın kontrollü bir şekilde istenen süre boyunca salınmasını sağlamaktır. Elektro çekim yöntemi, çeşitli nano yapıları ilaç verme sistemleri üretmek için basit ve çok yönlü bir teknik sunar. İçerdiği nano ölçekli morfoloji, geniş yüzey alanları, düşük ilaç rekristalizasyonu ve çoklu kompleks ilaç sistemlerinin benzersiz yüzey kimyası, yüksek

ilaç yükleme kapasitesi, ince ayarlanmış ilaç salınım profili, hedeflenen veya lokalize ilaç uygulamasına izin verir [90]. Polimerler, biyobozunma dahil olmak üzere çeşitli özelliklere sahip bir matris görevi görebilir. Biyobozunur polimerler doğal polimerler ve sentetik polimerler olmak üzere ikiye ayrılırlar. Doğal polimerler, polisakkaritleri (nişasta, aljinat, kitin / kitosan, hilauronik asit türevleri) veya proteinleri (soya, kollajen, fibrin jelleri, ipek) ve lignoselülozlar gibi çeşitli biyolifleri içeren biyopolimerlerdir. Doğal polimerler çoğunlukla yüksek düzeyde organize edilmiş yapılara sahiptir ve hücre reseptörleri ile bağlanması gereken ligand olarak adlandırılan hücre dışı bir madde içerebilir. Doğal polimerler genellikle hücrelerin gelişimin çeşitli aşamalarında büyümesine yol gösterebilen yüksek düzeyde organize edilmiş yapılara sahiptir [91]. Poliglikolik asit, polilaktik asit, poliakrilik asit, poli-p-kaprolakton, poli vinil pirrolidon, poli vinil alkol, polietilen glikol gibi sentetik polimerler ise in vivo ve in vitro yara iyileştirme özellikleri sergiler ve yeniden epitelizeasyonu güçlendirir. Biyolojik uyumlulukları, biyo-bozunabilirliği, kendine özgü yapısı ve iyi mekanik özellikleri nedeniyle hücre çoğalması, göçü ve farklılaşması için optimal bir mikro ortam sağlarlar [92].

2.5.4.1. Doğal polimerler

Elektro çekim yöntemi, proteinler (jelatin, kolajen ve ipek fibrinojen vb) ve polisakkaritler (aljinat, selüloz, kitin, kitosan, hialuronik asit, nişasta, dekstran ve heparin, ipek, jelatin ve fibrinojen) dahil olmak üzere farklı doğal biyopolimerleri kullanarak nanolifler üretmek için kullanılabilir. Sentetik polimerlerin aksine, bu materyaller, hücre çoğalması için doğal bir yol göstericidir. Biyolojik olarak bozunur olarak kabul edilirler, ancak kullanımlarından önce biyogüvenlik sağlanmalıdır. Diğer taraftan, doğal polimerler polimerlerin bütünlüğünü tehlikeye atmayan sınırlı bir çözücü seçimi olduğundan, daha az çok yönlüdür. Ayrıca mekanik özelliklerin kontrolünü, sonuçta ortaya çıkan iskelenin tasarımını ve biyolojik olarak parçalanabilmesini sınırlar [32]. Kitosan biyobozunabilirlik ve immünolojik, antibakteriyel ve yara iyileştirici aktivite gibi mükemmel biyolojik özellikler sunan kitin alkali deasetilasyonu ile elde edilen doğal bazlı bir polimerdir [93].



Şekil 2.12. Kitosanın moleküler yapısı

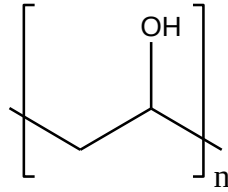
Kitosan bir ilaç taşıyıcı olarak kullanıldığında, kitosan-ilac kompleksleri mevcuttur. Polisakkaritler arasında kitosan, enzimatik depolimerizasyona, katyonikliğe, hücre aktive edici oligomerlerin beslenmesine ve diğer biyopolimerlerin yeniden yapılandırılması için N-asetilglukosamin arzına yatkınlığı bakımından dikkat çekmektedir [94]. Bütün bunların yanında kitosanın sadece birkaç seyreltik asit çözeltisinde çözünmesi uygulamalarını sınırlar. Suda, alkali sistemlerde çözünmez. İnorganik asitlerdeki çözünürlüğü oldukça sınırlı olmasına rağmen, kitosan seyreltik sulu asetik asit, formik asit ve laktik asitler gibi organik asitlerde çözünür. Sınırlı miktarda asit varlığında, kitosan suda, metanol, etanol ve aseton karışımlarında çözünebilir. Kitosan ayrıca, 2 ile 6 arasındaki pH değerinde pozitif yüklü bir polielektrolit olan ve kitin ile karşılaştırıldığında daha yüksek çözünürlüğe katkıda bulunan serbest amino gruplarına sahiptir. Bu özellik kitosan çözeltilerini oldukça viskoz hale getirir ve elektro çekim işlemini zorlaştırır [95]. Bu yüzden polietilen oksit, poli vinil alkol gibi sentetik polimerle birlikte daha kolay nanolif yapıları oluşturabilirler.

2.5.4.2. Sentetik polimerler

Elektro çekim işlemi ilaç salınımı, doku mühendisliği gibi biyomedikal uygulamalar için lif üretiminde kullanılmaktadır. Doğal polimerler hücre büyümesini ve farklılaşmasını sağlamaktadır ancak zayıf mekanik özellikleri klinik kullanımı sınırlandırmaktadır. Poli laktik-ko-glikolik asit (PLGA), polivinil alkol (PVA), polietilen glikol (PEG) gibi sentetik polimer bazlı iskeleler daha etkili mekanik özelliklere sahiptir. Bu iskelelerin mekanik özellikleri, malzemenin kimyası gibi yapısal faktörler ve yapı taşlarının boyutu gibi dışsal faktörler tarafından belirlenir [96]. Sentetik polimerler moleküler yapıya, morfolojiye, ortalama moleküler ağırlığa, vb. bağlı olarak, birkaç hafta ile birkaç ay içinde hidroliz yoluyla toksik olmayan son

ürünlere in vivo olarak degrade olurlar [97]. Sentetik polimerler su gibi çözücülerle kullanılarak elektro çekimlenmesiyle nano boyutta lifler üretilmektedir. Bu durum üretim oranını arttıran önemli bir avantajdır.

Bu çalışmada kullanılan polivinil alkol (PVA) iyi termal ve kimyasal kararlılığa sahip yarı kristal bir polimerdir [98]. PVA suda çözünabilirlik, kimyasal direnç, yüksek erime noktası ve biyolojik uyumluluk gibi iyi kimyasal ve fiziksel özelliklerinden dolayı biyomedikal polimer olarak kullanılır. Ayrıca, hidroksil gruplarına bağlı olarak işlevselliği mümkün kılan yüksek gerilme mukavemetine ve esnekliğe sahip ucuz, toksik olmayan bir malzemedir [99]. PVA, kontakt lensler, yara iyileşmesi, doku mühendisliği ve ilaç salınımı gibi çeşitli alanlarda kullanılmaktadır.



Şekil 2.13. *PVA'nın moleküler yapısı*

3. METARYAL VE METOT

3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

Augmentin® tabletleri (tablet başına 500 mg Amoksisilin ve 125 mg klavulanik asit içerir) GlaxoSmithkline'dan temin edildi. Poly (vinyl alcohol) (PVA- M_w 85,000-124,000), kitosan (karides kabuklarından, >75 deasetile edilmiş), sodyum fosfat monobazik dihidrat ($NaH_2PO_4 \cdot 2H_2O$), Glutaraldehit sulu çözeltisi (%25 kütlece) Aldrich (St. Louis, USA) firmasından temin edildi. HPLC analizi için metanol Merck KGaA firmasından (Darmstadt, Almanya) satın alındı. Gümüş nitrat Merck Millipore; Dipotasyum hidrojen fosfat VWR Chemicals'dan temin edildi.

3.2. Kullanılan Araç ve Gereçler

Tez çalışması kapsamında kullanılan cihazlar ve kullanım amaçları Tablo 3.1'de özetlenmiştir.

Tablo 3.1. Tez çalışması kapsamında kullanılan cihazların adı, marka ve modeli ve kullanım amaçları

Cihaz Adı	Marka ve Model	Kullanım Amacı
Elektro Çekim Cihazı	Plus Electronic	Nanolif üretimi için kullanılmıştır.
pH Ölçümleri	Seven Excellence model Mettler Toledo	pH ölçümleri için kullanılmıştır.
Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi (HPLC)	Agilent 1100 Series	İlaç salınımı analizlerinde kullanılmıştır.
Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM)	Zeiss Ultra Plus	Sentezlenen nanoliflerin morfolojilerini incelemek için kullanılmıştır.
Fourier Dönüştümlü Kızılötesi Spektrometresi (FT-IR)	Perkin Elmer Spectrum 100 FT-IR spektrometresi	Nanoliflerin karakterizasyon çalışmalarında kullanılmıştır.
X-Işını Kırınımı Cihazı (XRD)	XRD Difraktogramı D8 Advance	Nanoliflerin karakterizasyon çalışmalarında kullanılmıştır.
Temas Açısı Ölçümleri	Attension, Biolin Scientific Cihazı	Çapraz bağlanma öncesi ve sonrası hidrofilisiteyle ilgisi bilgi almak için kullanılmıştır.
Saf su	Sartorius (Sartorius Arium Comfort I-1-UV-T)	Ultra-saf su temin edilmesinde kullanılmıştır.
Laminar Hava Kabini	Nükleon-NLF Series	UV sterilizasyon için kullanılmıştır

Tablo 3.1. (Devam) Tez çalışması kapsamında kullanılan cihazların adı, marka ve modeli ve kullanım amaçları

Ultrasonik banyo	Bandelin Sonorex	Çözünürleştirme işlemlerinde kullanılmıştır.
Santrifüj Cihazı	Centrifuge MPW-251	Salınım analizlerinde ve çözeltilerin hazırlanmasında kullanılmıştır.
Manyetik karıştırıcı	ISOLAB	Karıştırma işlemlerinde kullanılmıştır.
Vorteks Karıştırıcı	JEIO TECH VM-96B	İlaç salınım çalışmalarında kullanılmıştır.
Analitik terazi	OHAUS	Tartım işlemlerinde kullanılmıştır.

3.3. Elektro çekim için Polimer Çözeltilerinin Hazırlanması

3.3.1. PVA/Kitosan/Amoksisilin çözeltilerinin hazırlanması

Bu amaçla öncelikle 20 mg/ml Amoksisilin sulu çözeltisi hazırlanmıştır. Amoksisilin çözeltisinin pH'ı 0,1 M HCl çözeltisiyle 1,2' ye ayarlanmıştır. Çözelti 14000 rpm de santrifüjlenerek çözelti kısmı ayrılmıştır. Kütlece %10 PVA sulu çözeltisikapaklı bir şişede manyetik karıştırıcıda 3 saat 60 °C'de karıştırılmıştır. Çözelti oda sıcaklığına geldikten sonra toplam hacim değişmeyecek şekilde 50, 250 ve 1000 µL Amoksisilin çözeltileri eklenmiştir. Kütlece %2,5'luk kitosan %2 (hacimce)'lik asetik asit sulu çözeltisi içerisinde oda sıcaklığında manyetik karıştırıcıda karıştırılmıştır. Son olarak PVA-Amoksisilin:Kitosan çözeltileri hacimce 4:1 oranında 4 saat karıştırılmıştır.

3.3.2. PVA-Kitosan/Amoksisilin/Ag çözeltilerinin hazırlanması

Öncelikle 20 mg/ml Amoksisilin sulu çözeltisi hazırlanmıştır. Amoksisilin çözeltisinin pH'ı 0,1 M HCl çözeltisiyle 1,2' ye ayarlanmıştır. Çözelti 14000 rpm de santrifüjlenerek çözelti kısmı ayrılmıştır. Kütlece %10 PVA sulu çözeltisi kapaklı bir şişede manyetik karıştırıcıda 3 saat 60 °C' de karıştırılmıştır. Çözelti oda sıcaklığına geldikten sonra 5 ve 10 mg AgNO₃ eklenmiştir. Daha sonra toplam hacim değişmeyecek şekilde 50, 250 ve 1000 µL Amoksisilin çözeltileri ilave edilmiştir. Kütlece %2,5'luk kitosan %2 (hacimce)'lik asetik asit sulu çözeltisi içerisinde oda

sıcaklığında manyetik karıştırıcıda karıştırılmıştır. Son olarak PVA-Amoksisilin-Ag:Kitosan çözeltileri hacimce 4:1 oranında 4 saat karıştırılmıştır.

3.4. Elektro Çekim İşlemi

Bu çalışmadaki nanolif üretimi, oda sıcaklığında ve normal atmosfer basıncı altında gerçekleştirilmiştir. Polimer çözeltileri plastik şırıngaya yerleştirildikten sonra, metal şırınga iğnesi 13 kV voltaj ile yüklenmiştir. Toplayıcı levha ve şırınga ucu arasındaki mesafe 14 cm'dir. Akış hızı 0,5 ml/sa olarak belirlenmiştir. Nanolifler alüminyum folyo üzerinde toplanmıştır.

3.4.1. Nanoliflerin çapraz bağlanması

Nanoliflerin suda çözünmesini engellemek veya aşırı çapraz bağlanarak ilaç salınımını azaltmasını engellemek amacıyla farklı çapraz bağlanma süreleri denenmiştir. 50 µL Amoksisilin içeren PVA/Kitosan nanolifleri optimum çapraz bağlanma süresini belirlemek amacıyla 6, 24 ve 48 sa gluteraldehit buharıyla vakum desikatöründe çapraz bağlanmıştır. Belirlenen optimum süre diğer çalışmalarda kullanılmıştır.

3.5. Karakterizasyon Çalışmaları

3.5.1. FTIR analizi

Nanoliflerin Perkin Elmer Spectrum 100 FT-IR spektrometresi ile Fourier dönüşümlü kızılötesi (FTIR) analizi yapılmıştır. IR analizi için, 0,5 mg nanolif 50 mg KBr ile iyice karıştırılmış ve vakum altında pelet haline getirilmiştir. Daha sonra peletler 400 ile 4000 cm⁻¹ arasında analiz edilmiştir. FTIR analizi, elektro çekim yöntemi ile hazırlanan nanoliflerin kimyasal gruplarını karakterize etmek için kullanılmıştır.

3.5.2. Antimikrobiyal çalışmalar

3.5.2.1. Nanolif disklerin hazırlanması

PVA-Kitosan, 1000 µL Amoksisilin içeren PVA-Kitosan, 5 g gümüş içeren PVA-Kitosan ve 1000 g Amoksisilin, 5 g gümüş içeren PVA-Kitosan polimer çözeltilerinin 0,5 ml'si plastik şırıngaya yerleştirilmiş ve nanolifler, elektro çekim yöntemiyle 14×11 cm alüminyum folyo üzerinde toplanmıştır. Alüminyum folyo elektro çekim işleminden önce %70'lik etanol çözeltisiyle yıkanarak sterilize edilmiştir. Daha sonra 12 mm

apındaki diskler haline getirilmiş ve 30 dakika UV sterilizasyonu yapılmıştır. Polimer zeltisi içerisindeki 20 mg/mL derişimindeki Amoksisilin zeltisi polimer çözeltisinin hacmi olan 2,5 ml'ye seyreltilmiş daha sonra bu zeltiden 11 µL alınarak 12 mm çapındaki dairesel süzgeç kâğıdına damlatılmıştır. Aynı prosedür Amoksisilin ve gümüş içeren çözeltiyle tekrarlanarak Amoksisilin/Ag diskli hazırlanmıştır.

3.5.2.2. Bakteri kültürlerinin geliştirilmesi

Staphylococcus aureus (Gram +) ve *Escherichia coli* (Gram -) bakterilerinden 50mL Nutrient Broth besiyerine ekimi yapılmıştır. Ekim yapılan erlenler 37°C'de bir gece çalkalamalı etüvde bekletilmifitir. 50mL Nutrinet Broth besiyerine bakteri kültürlerinden 100 µl ekim yapıldıktan sonra erlenler 37°C'de çalkalamalı etüvde inkübasyona bırakılmıştır. Bakteri kültürlerinin gelişimi spektrofotometri de ölçüm yapılarak takip edilmiştir. Spektrofotometrede 600 nm'de optik yoğunluk değeri (O.D) llmştir. Kr olarak NutrientBroth besiyeri kullanılmıştır. O.D. 0,6-0,8'e ulaşınca bakteri kültürleri ekim için kullanılabılır duruma gelmiştir.

3.5.2.3. Besiyerinin hazırlanması

Nutrient Agar besiyeri hazırlanmış ve 121°C'de 15 dakika otoklavda steril edilmiştir. Sterilizasyon sonrası besiyerinin sıcaklığı 55°C'ye düşünce petrilere ince bir tabaka oluşturacak şekilde dklmştir. Nutrient Broth hazırlanmış ve içerisine derişimi NutrientAgar'ın yarısı olacak şekilde agar eklenmiştir (7,5 g/L agar). Nutrient yumuşak agarbesiyeri ısıtıcıda kaynama noktasına gelene kadar ısıtılmış ve tüplere 5mL olacak şekilde paylaştırılmıştır. Tüpler 121°C' de 15 dakika otoklavda steril edilmiştir. Otoklavdan çıkan tüpler 45°C su banyosuna konmuştur.

Deney tüplerindeki besiyeri 45°C sıcaklığa gelince deney tüpü içerisine ekim yapılacak bakteriden 100 µl aktarılmıştır. Tüpün içeriği, yavaşça, besiyeri içeren petri üzerine dklmştir. Bakteri ekiminden sonra, nanolif diskleri besiyeri üzerine pens yardımıyla yerleştirilmifitir. Petrilere 37°C'de 18 saat etüvde bekletilmifitir.

3.5.3. şişme testi

Fosfat tamponlu tuz çözeltisi, şişme ölçümleri için salınım ortamı olarak kullanılmak üzere seçilmiştir. Çözelti, 8 g NaCl, 0,2 g KCl, 1,44 g Na₂HP0₄ ve 0,24 g KH₂P0₄'ın 800 ml damıtılmış suda çözünüp 0,1 M HCl ile pH 7,4 ayarlanarak 1 L'ye

tamamlanmasıyla hazırlanmıştır. Şişme oranı, 1000 µL Amoksisilin içeren PVA-Kitosan ve gümüşlü 1000 µL Amoksisilin içeren PVA-Kitosan nanoliflerinin çapraz bağlanma öncesi ve sonrası gravimetrik yöntem kullanılarak ölçülmüştür. Önceden tartılan kuru nanolifler tampon çözeltisine konmuştur. Belirli aralıklarla numuneler alınmış ve tartılmadan önce aşırı şişme ortamının uzaklaştırılması için bir filtre kâğıdının üzerine konulmuştur. Bu işlem, tekrar eden üç ölçümde sabit kütleye ulaşılan kadar sürdürülmüştür.

Ölçümler 24 saat arayla yapılmıştır ve şişme oranına (%) zaman grafikleri şeklinde elde edilmiştir. Her bir numunenin şişme oranı (% S) aşağıdaki denklem ile hesaplanmıştır.

$$S(\%) = \frac{(W_t - W_0)}{W_0} \times 100$$

W_t , şişmenin ardından numunenin ağırlığıdır. W_0 başlangıçtaki kuru ağırlıktır.

3.5.4. Temas açısı ölçümleri

Çapraz bağlanma öncesi ve sonrası PVA-Kitosan-Amoksisilin ve PVA-Kitosan-Amoksisilin-Ag nanoliflerinin hidrofilité derecesi, bir video-tabanlı optik temas açısı ölçer (Attension, Biolin Scientific Cihazı) yardımıyla belirlenmiştir. Alüminyum folyo üzerindeki nanoliflerden küçük parçalar (4 × 4 cm) kesilmiştir. Folyo düzenek üzerine yerleştirilmiş ve numune yüzeyine damla su bilgisayar kontrollü bir işlemle nanolif üzerine damlatılmış ve görüntüler hemen alınmıştır. Damlalığın sol ve sağ taraflarındaki temas açısı ölçülmüştür. Her numune için ortalama ölçüm alınmıştır.

3.5.5. X-ışını kırınımı (XRD) analizi

Elektro çekim nanoliflerinin X-ışını kırınımı (XRD) analizi, 40 kV ve 40 mA'da 1,54 nm dalga boyunda Cu K α karakteristik radyasyonu ile bir X-ışını difraktometresi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Tarama hızı 0,4°/dk, tarama aralığı 5° ile 60° aralığında yapılmıştır.

3.5.6. Morfolojik çalışmalar

Elektro çekim nanoliflerinin yüzey morfolojisi, Carl Zeiss marka taramalı elektron mikroskobu (SEM) cihazı ile incelenmiştir. Numuneler 50 mA akım ile 1 dakika

boyunca 15 nm kalınlığında altın ile kaplanmış ve değişen büyütmelemlerde incelenmiştir. Gümüş varlığını belirlemek için EDAX dedektör kullanılmıştır.

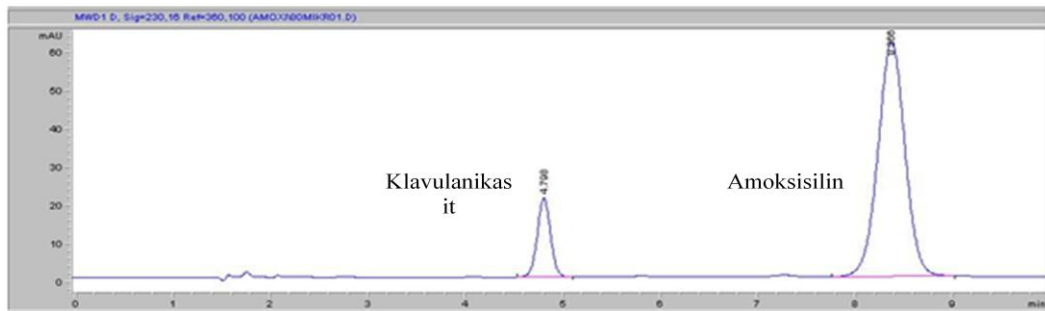
3.5.7. Kalibrasyon grafiğinin oluşturulması

Tüm kromatografik ayrımlar, 20 µl'lik numune haznesi ve UV-vis detektöre sahip Agilent 1100 Serisi HPLC cihazında gerçekleştirilmiştir. HPLC sisteminde kullanılan analitik kolon olarak ters fazlı bir Inertsil ODS-3 (150 x 4 mm I.D, 5 µm) kullanılmıştır. Standart Amoksisilin çözeltileri ultra saf su ile hazırlanmıştır. Mobil faz olarak 0,057 M NaH₂PO₄·2H₂O sulu çözeltisi: Metanol (95:5) kullanılmıştır. Akış hızı 1,0 ml/dk; dalga boyu 230 nm olarak ayarlanmıştır. Toplam analiz süresi 10 dk olarak belirlenmiş ve tüm analizler oda sıcaklığında yapılmıştır.

Standart çözeltilerin hazırlanması için 1000 ppm Amoksisilin olacak şekilde Augmentin® tabletlerinden stok Amoksisilin çözeltisi hazırlanmıştır. Bu stok çözeltiden suyla seyreltilerek 0,08-320 µg/mL derişim aralığında 12 tane standart Amoksisilin çözeltileri hazırlanmıştır.

Amoksisilin salınım miktarı 230 nm'de standart Amoksisilin çözeltileriyle hazırlanan pik alanı derişim kalibrasyon eğrisine dayanılarak kümülatif olarak hesaplanmıştır. 1000 ppm stok Amoksisilin sulu çözeltisi hazırlanmıştır. Kalibrasyon grafiği için 0,08; 0,2; 0,4; 2; 4; 8; 24; 80; 120; 160; 240 ve 320 µg/mL standart Amoksisilin çözeltilerinin HPLC analizi yapılarak kalibrasyon grafiği elde edilmiştir.

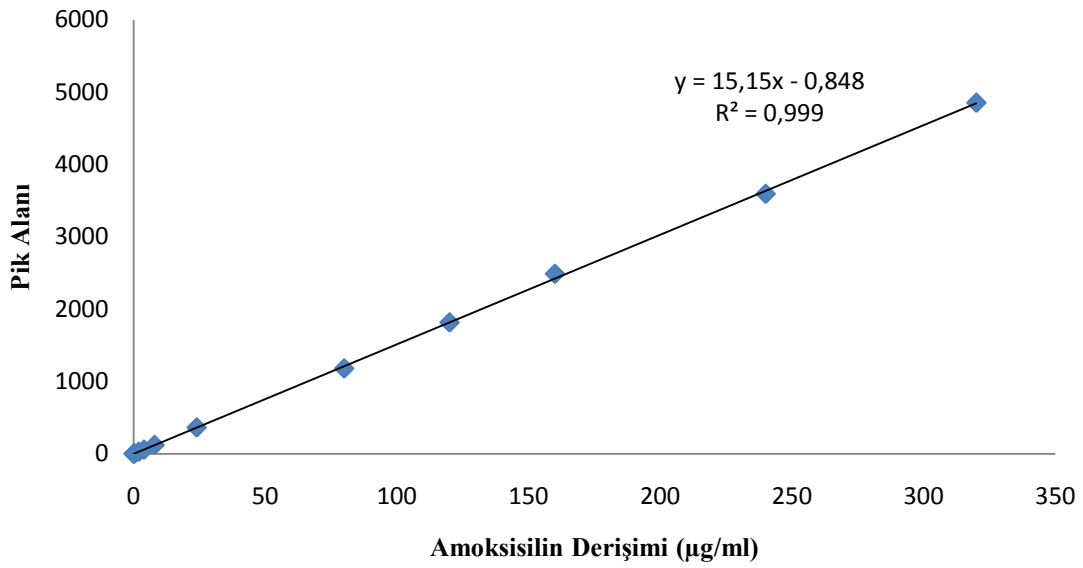
HPLC analizi sonucu elde edilen kromatogram ve standart Amoksisilin çözeltilerinin analizi sonucu elde edilen kalibrasyon grafiği şekil 2.3 de verilmiştir. 4,7 dakikada gelen pik klavulanik asite; 8,3'deki pik ise Amoksisilin'e aittir.



şekil 3.1.80 µg/ml Amoksisilin çözeltisi HPLC kromatogramı

Kantitatif analiz, kalibrasyon grafiği yöntemi kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Amoksisilin'in bilinen derişimlerine karşı pik alanı grafiği ile lineer regresyonu denklemi ile kalibrasyon doğrusu elde edilmiştir. Bilinmeyen numunelerin derişimi, numunenin pik alanı lineer regrasyon denkleminde yerine konularak bulunmuştur.

Kör çözelti olarak deiyonize su kullanılmıştır ve beşer defa analizleri yapılarak gözlenebilme (LOD) ve tayin sınırı (LOQ) belirlenmiştir.



Şekil 3.2. Amoksisilin kalibrasyon grafiği

3.5.8. İlaç salınımı çalışmaları

Salınım deneyleri için tüm nanoliflerden 25 mg tartılmıştır ve 20 ml ultra saf su içinde, 200 rpm'lik bir karıştırma hızıyla oda sıcaklığında vorteks karıştırıcıda karıştırılmıştır. Önceden planlanan zaman aralıklarında, her bir şişeden 500 µl çözelti alınmış ve eşit hacimde taze çözelti eklenmiştir. pH incelemeleri için pH 4, 7 ve 10'lık 0.1 M fosfat tamponları hazırlanmıştır. 0,1 M KH_2PO_4 , 0,1 M H_3PO_4 ile pH=4'e ayarlanmıştır. 0,1 M KH_2PO_4 , 0,1 M KOH ile pH=7'ye; 0,1 M K_2HPO_4 , 0,1 M KOH ile pH=10'a ayarlanmıştır.

Amoksisilin yüklü nanoliflerden ilaç salınımını incelemek için HPLC yöntemi geliştirilmiştir. Amoksisilin miktarı, bilinen derişimlerde Amoksisilin çözeltileri kullanılarak elde edilen bir kalibrasyon eğrisi kullanılarak yapılmıştır. Lineer doğru denklemi: $y = 15,15x - 0,848$ (y = pik alanı; x = ilaç derişimi µg/ml). Doğrusal

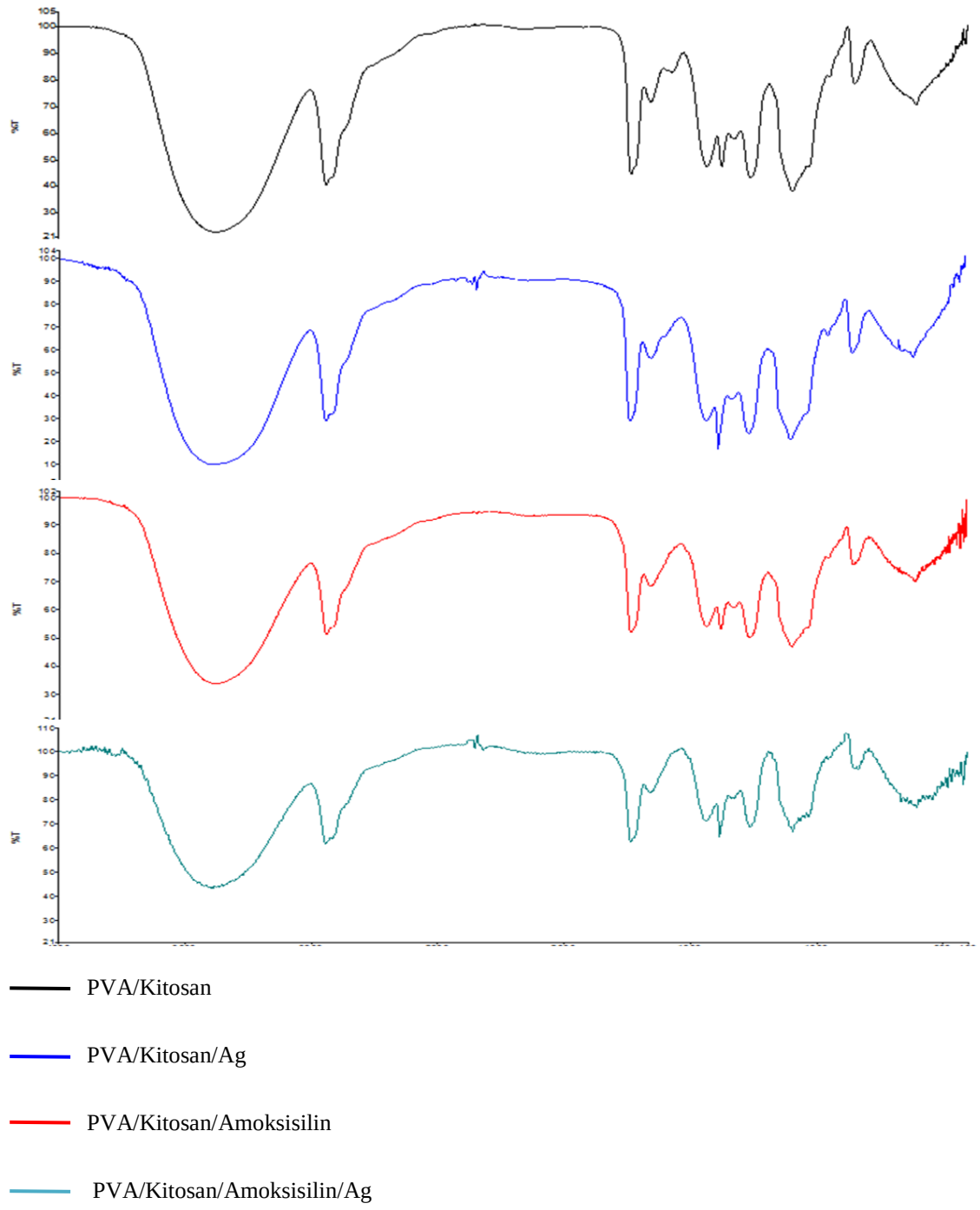
regresyon değeri: $R^2 = 0,999$ 'dur. Çalışma aralığı 0,08-320 µg/ml derişimlerinde incelenmiştir. Salınan ilaç miktarı kümülatif hesaplamalarla belirlenmiştir.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

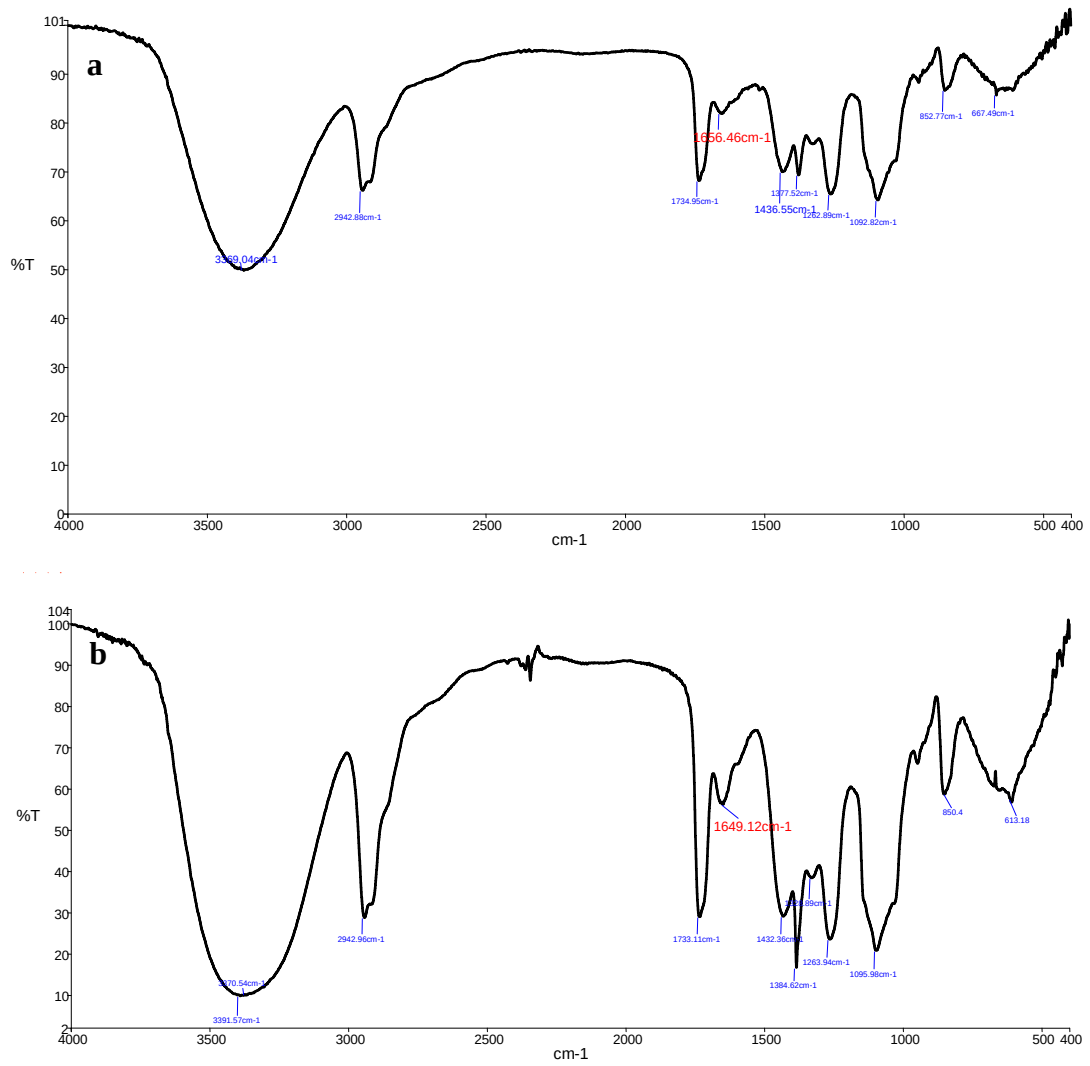
4.1. FTIR Analizi

Kızılötesi spektroskopi, PVA/Kitosan/Amoksisilin ve PVA/Kitosan/Amoksisilin/Ag nanoliflerinin yapısında gümüş varlığını belirlemek için kullanılmıştır. Nanoliflerin FTIR spektrumları, Şekil 4.1'da gösterilmiştir. 3200-3550 cm^{-1} 'deki geniş bantlar molekül içi ve moleküller arası hidrojen bağlarından kaynaklanan O-H gerilmesini, 3462 cm^{-1} civarındaki absorpsiyon bantları N-H gerilme titreşimlerini, 2910 cm^{-1} 'deki zirveleralkil gruplarından gelen C-H gerilmesini, 1730 ve 1660 cm^{-1} arasındaki pikler C=O ve C-O gerilmelerini, 1376-1430 cm^{-1} 'deki pikler, CH_3 simetrik deformasyon titreşimini, 1330-1377 cm^{-1} 'deki pikler C-H grubunu, 1095,57 cm^{-1} 'deki geniş absorpsiyon bantları, kitosanın C-O gerilme titreşimlerini, 1260 ve 1328 cm^{-1} 'deki pikler C-H grubu titreşimlerini göstermektedir. 844 ve 1151 cm^{-1} civarındaki bantlar kitosanın sakkarit yapısına (kitosanın tekrar eden birimi olarak) ilişkin karakteristik zirvelerdir.

Nanolifler için benzer spektrumlar elde edilmiştir. PVA/Kitosan/Amoksisilin/Ag nanoliflerinin spektrumu gümüşün, fonksiyonel gruplarda bozulmaya sebep olmadan nanoliflerde iyi dengelendiğini göstermektedir.



Şekil 4.1. Nanoliğerlerin IR spektrumları



Şekil 4.2. (a)PVA/Kitosan/Amoksisilin; (b)PVA/Kitosan/Amoksisilin/Ag nanoliflerinin IR spektrumları

Şekil 4.2'deki FTIR spektrumlarında PVA/Kitosan/Amoksisilin nanoliflerine gümüş ilave edildiğinde 1656 cm^{-1} 'deki $\text{C}=\text{O}$ pikinin daha düşük dalga boyuna kaydığı göstermektedir (1659 'dan 1649 cm^{-1} 'ye). $\text{C}=\text{O}$ absorpsiyon pikinin daha düşük dalga boyuna kaymasının nedeni gümüş üzerindeki boş orbitallere Amoksisilin yapısındaki oksijenin çiftli elektronlarının verilmesi nedeniyle bağın zayıflamasıdır. $\text{C}=\text{O}$ absorpsiyon bandının kırmızıya kayması, Amoksisilin, PVA ve kitosan moleküllerinde gümüş iyonları veya metalik gümüş ile karbonil grubunun oksijen atomları arasında bir koordinasyonun meydana gelebileceğini göstermektedir.

1263 cm⁻¹ deki C-N absorpsiyon titreşim bandında herhangi bir değişme yoktur. Ag ve O arasındaki kimyasal bağların PVA/Kitosan/Amoksisilin/Ag nanoliflerini bir arada tuttuğunu göstermektedir. Bütün bu sonuçlar gümüşün başarılı bir şekilde PVA/Kitosan/Amoksisilin nanoliflerine yüklendiğini göstermektedir.

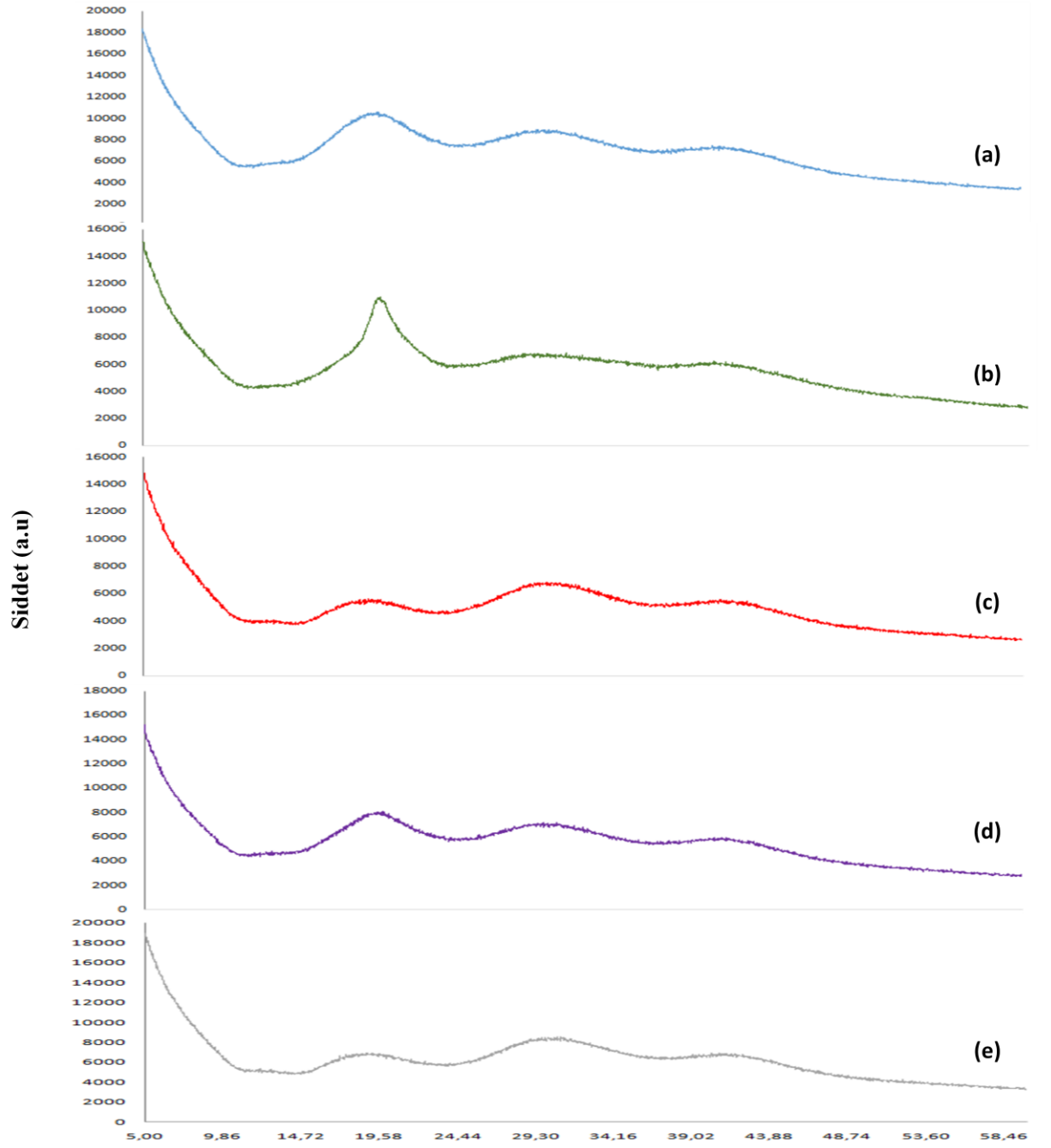
4.2. X-ışını Kırınımı (XRD) Analizi

X-ışını Kırınımı (XRD), gümüş kristal yapısının varlığını doğrulamak için kullanılır. Gümüş nanopartiküllerin oluşumunu doğrulamak için XRD kullanılmıştır.

Elektro çekim yöntemiyle elde edilen nanoliflerin XRD spektrumlarında geniş pikler gözlemlenmektedir. Bunun nedeni elektro çekim yönteminin liflerin kristalli mikro yapısının gelişmesini engelleyen kristalizasyon sürecini engellemesidir. Kristalizasyonun azalmasının nedeni elektro çekim sırasında, liflerin toplayıcı levha üzerinde hızla katılaşmasıdır. Bu durum kristallerin oluşumunu önemli ölçüde engeller çünkü gerilmiş moleküler zincirler, toplayıcı levha üzerinde katılaşmadan önce uygun kristalli mikro yapılar oluşturmak için yeterli zamana sahip değildir.

Şekil 4.3, PVA (a); Kitosan (b); PVA/Kitosan (c); PVA/Kitosan/Amoksisilin (d); PVA/Kitosan/Amoksisilin/Ag (e) Nanoliflerin XRD modellerini göstermektedir. PVA nanolifleri için, güçlü moleküller arası ve molekül içi hidrojen bağlanmasına bağlı yaklaşık 19,5°'lik (2θ) önemli bir kristal piki gözlemlenmiştir. Kitosan nanolifleri 19,8°'de yarı kristalin polimer olarak güçlü bir pik gözlemlenmiştir. PVA/Kitosan nanolifinde ise kitosan ve PVA molekülleri arasında güçlü bir etkileşim olduğunu için kitosan pikinin şiddeti azalmıştır. PVA/Kitosan/Amoksisilin nanolifleri, PVA ve kitosanın spektrumlarının bir kombinasyonudur ve daha düşük bir kristallliği ortaya koymaktadır.

PVA/Kitosan/Amoksisilin/Ag nanolifleri, PVA/Kitosan/Amoksisilin lifleriyle kıyaslandığında 2θ=19,5°'deki pikin şiddetinin azaldığı görülmektedir. Gümüş içeren nanoliflerde PVA, kitosan ve Amoksisilin'in kristalinitesinin azalması temel olarak bunların moleküler zincirlerinin yönelim düzeninin bozulmasından ve gümüş nanopartiküllerin çevresinde şekilsiz bağlı tabakaların oluşmasından kaynaklanır. Böylece, PVA ve kitosan matriksine Amoksisilin ve gümüş dahil edildiğinde kitosanın genel kristallik derecesi azalmaktadır.

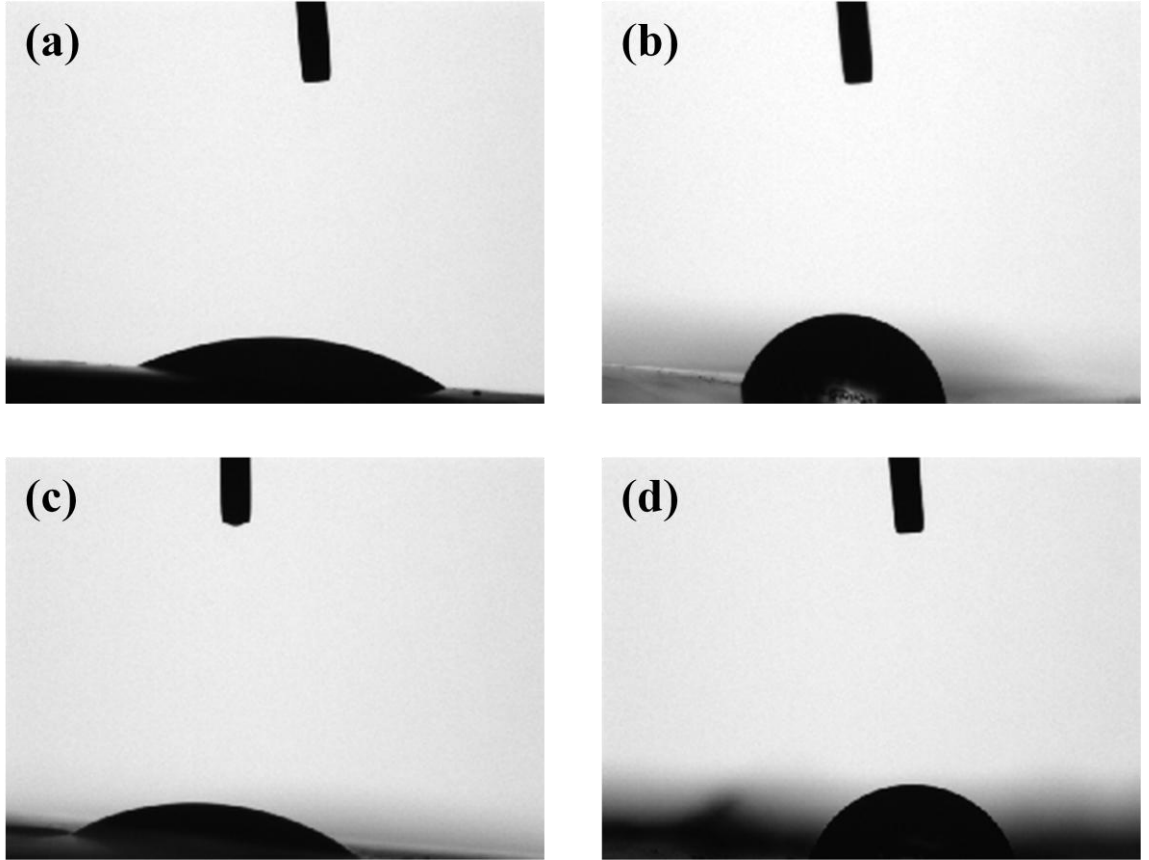


20

Şekil 4.3. (a)PVA; (b)Kitosan; (c)PVA/Kitosan; (d)PVA/Kitosan/Amoksisilin;
(e)PVA/Kitosan/Amoksisilin/Ag nanolişlerinin XRD spektrumları

4.3. Temas Açısı

Nanoliflerinin çapraz bağlanma öncesi ve sonrası hidrofilikliğini gözlemlemek için temas açıları ölçülmüştür. Nanoliflerin temas açısı görüntüleri Şekil 3.4; temas açıları ise Tablo 4.1’de gösterilmiştir. PVA ve kitosan çok fazla hidroksil (-OH) grubu içerdiği için suda çözünabilir polimerlerdir. Çapraz bağlama işleminde bu hidroksil grupları ile gluteraldehit arasında asetal bağları ve imin bağları oluşur ve nanoliflerin suda çözünürlüğü engellenir. Yani nanolif yapılarının suya toleransını artırır. Hem gümüş içeren hemde içermeyen nanoliflerin çapraz bağlanma sonrasında temas açılarında artma görülmektedir. Temas açısındaki artış, elektro çekim liflerinin hidrofobitesindeki artışı gösterir.

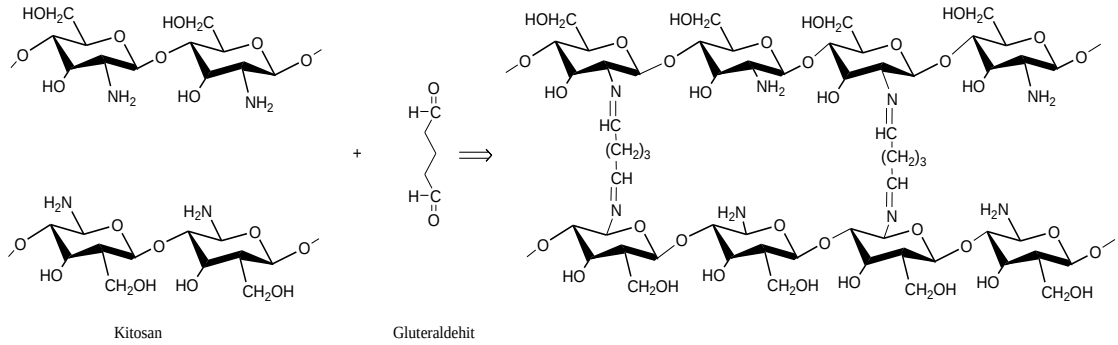


Şekil 4.4. (a) PVA/Kitosan/Amoksisilin nanolifinin çapraz bağlanma öncesi; (b) PVA/Kitosan/Amoksisilin nanolifinin çapraz bağlanma sonrası; (c) PVA/Kitosan/Amoksisilin/Ag nanolifinin çapraz bağlanma öncesi; (d) PVA/Kitosan/Amoksisilin/Ag nanolifinin çapraz bağlanma sonrası temas açıları.

Tablo 4.1. Nanoliğerlerin temas açısı ölçümleri

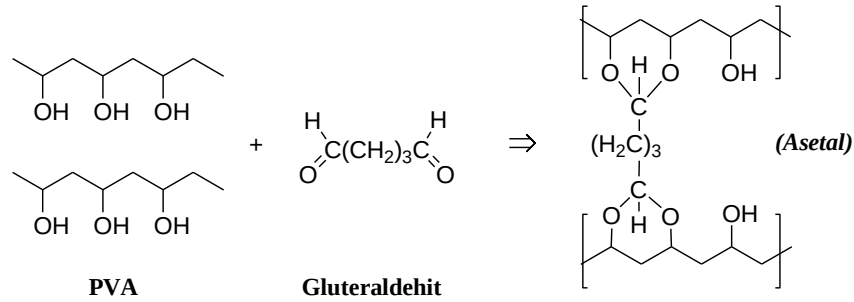
Numune Adı	Temas açısı
PVA/Kitosan/Amoksisilin çapraz bağlanma öncesi	29,1±7,0°
PVA/Kitosan/Amoksisilin çapraz bağlanma sonrası	76,2±8,2°
PVA/Kitosan/Amoksisilin/Ag çapraz bağlanma öncesi	33,5±5,2°
PVA/Kitosan/Amoksisilin/Ag çapraz bağlanma sonrası	57,9±10,9°

Kitosanın glutaraldehit ile çapraz bağlanması, glutaraldehidin aldehit grupları, bir Schiff reaksiyonu yoluyla bitişik çift etilen bağları ile oluşturulan rezonansa bağlı olarak kitosanın amino grupları ile kovalent imin bağları oluşturmasıyla gerçekleşir [100].



Şekil 4.5. Glutaraldehit ile kitosanın çapraz bağlanma mekanizması

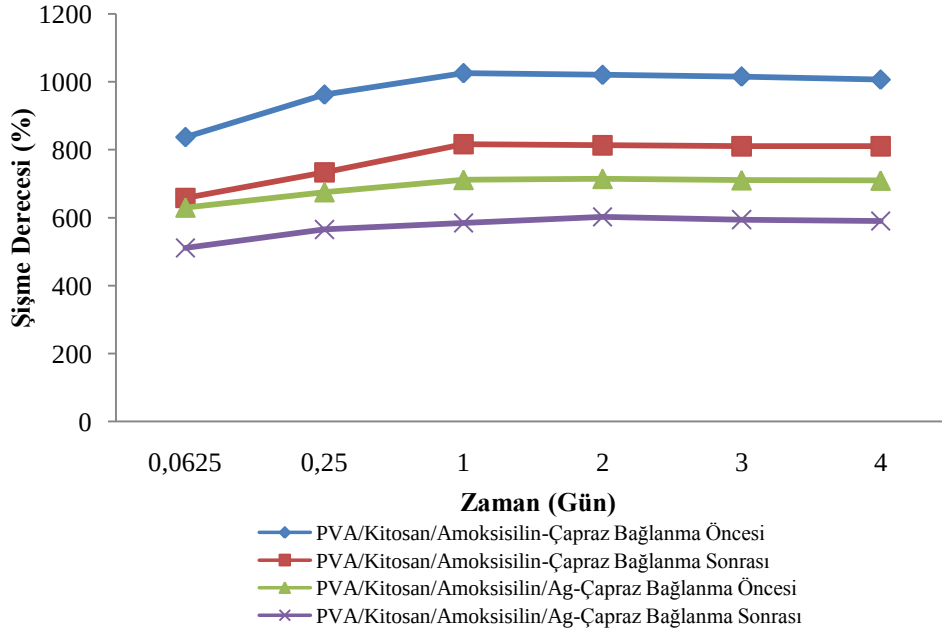
PVA'nın çapraz bağlanması, glutaraldehidin aldehit grupları ile PVA yapısındaki hidroksil grupları arasında asetal bağları oluşmasıyla gerçekleşir.



Şekil 4.6. Glutaraldehit ile kitosanın çapraz bağlanma mekanizması

4.4. Şişme Testi

Nanoliflerin şişme kapasitesi, antibakteriyel aktivitede, yara iyileşme kapasitesinde ve yüksek su/çözücü tutma kapasiteleri nedeniyle biyomedikal uygulamada önemli bir rol oynar. Nanoliflerin şişmesi yaranın hızlı iyileşmesine yardımcı olarak yaradaki eksüdanların bir miktarını emebilir.



Şekil 4.7. Nanoliflerin şişme oranı-Zaman Grafiği

Çapraz bağlanma öncesi PVA/Kitosan/Amoksisilin nanolifleri 4. Günün sonunda %1006; çapraz bağlanma sonrası ise %810 maksimum şişme göstermiştir. PVA/Kitosan/Amoksisilin/Ag nanolifleri ise 4. günde çapraz bağlanma öncesi %709; çapraz bağlanma sonrası %590 maksimum şişme gerçekleştirmiştir. Çapraz bağlanmış nanolifler suda çözünmez ancak sulu ortamda şişerler. Çapraz bağlı nanolifler, çapraz bağlanmamış nanolifler ile karşılaştırıldığında daha az şişme göstermiştir. Çapraz bağlama, hidrofiliteyi azalttığı için belirli bir dereceye kadar su emilimini engellemektedir. Çapraz bağlanma öncesi PVA/Kitosan/Amoksisilin ve PVA/Kitosan/Amoksisilin/Ag nanolifleri hidroksil ve amino grupları içerdiği için suyu kolayca emer. Bu yüzden daha fazla şişerler. Gümüş içeren nanoliflerdeki şişme miktarı gümüş içermeyen nanoliflere göre daha azdır. Bu şişme kapasitesindeki azalma, PVA/Kitosan /Amoksisilin’de bulunan hidroksil ve amin gruplarındaki ‘O’ ve ‘N’

atomlarının elektronları ile gümüş nanopartüküllerin bağlanmasından kaynaklanmaktadır. Bu durum ek bağlar oluşturur ve suyun emilimini azaltır. Dış ortam ve ağ yapısı arasındaki ozmotik basıncı azaltan PBS'deki iyonik kuvvetlerin varlığından dolayı PBS'deki şişme oranı suya göre daha azdır.

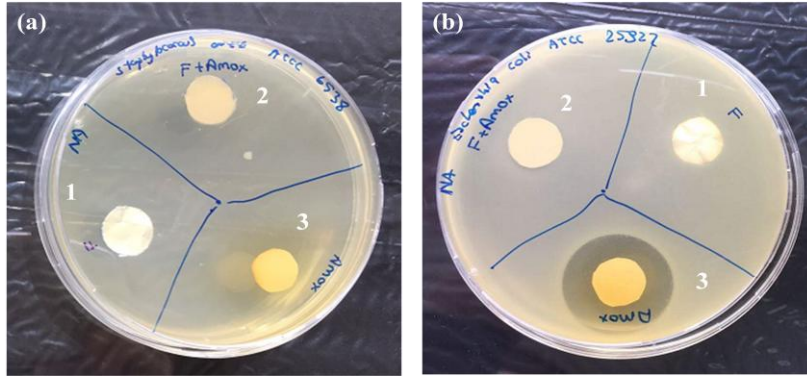
4.5. Kalibrasyon Grafiği

Kalibrasyon grafiği için 0,08; 0,2; 0,4; 2,4; 8; 24; 80; 120; 160; 240 ve 320 µg/mL standart Amoksisilin çözeltilerinin HPLC analizi yapılarak kalibrasyon grafiği elde edilmiştir. Elde edilen doğru denklemi $y=15,15x-0,848$ 'dir. Ortalama pik alanı ve derişim arasındaki kalibrasyon doğrusu, Amoksisilin için 0,999 korelasyon katsayısı ile doğrusal ilişki göstermiştir. Lineer kalibrasyon aralığı 1,35 ng/ml ile 320 µg/ml'dir. Kalibrasyon eğrisinin doğrusallığı, yöntemin geniş bir derişim aralığında uygunluğunu göstermektedir. Bir maddenin tayininde analitik yöntem basit, spesifik ve sağlam olmalıdır. Geliştirilen yöntemde LOD ve LOQ değerleri Amoksisilin için 0,4ng/ml ve 1,35ng/ml'dir. Bu yöntem yayınlanmış diğer metotlara göre çok daha duyarlıdır.

4.6. Antimikrobiyal Çalışmalar

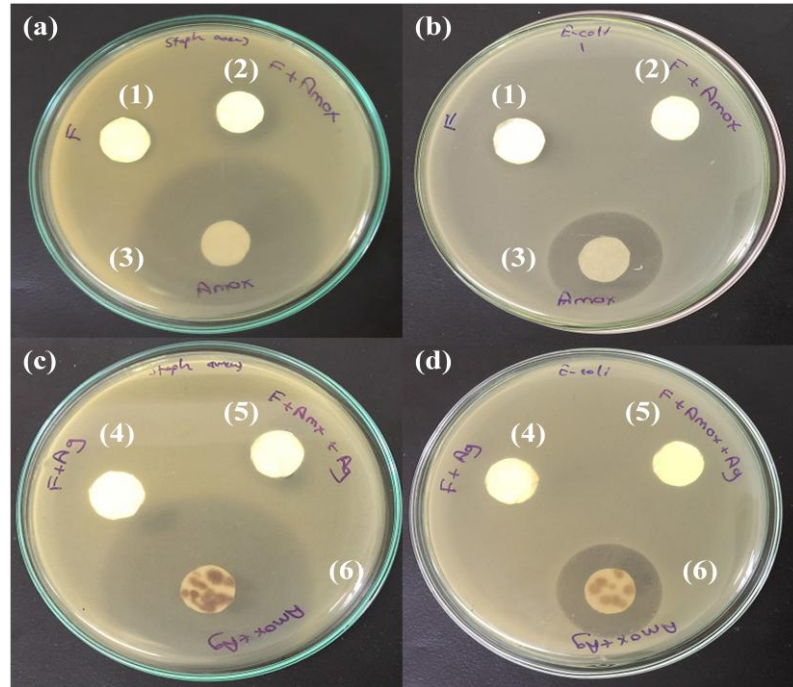
Katı ortamda bir model bakteri olarak *Staphylococcus aureus*(S. Aureus) ve *Escherichia Coli* (E. Coli) kullanılarak Amoksisilin ve gümüş yüklü nanoliflerin in vitro antibakteriyel aktivitesini araştırılmıştır. Farklı miktarlarda Amoksisilin içeren ve gümüş yüklü nanoliflerin bakteriyel inhibisyon etkinliği, disk difüzyon yöntemi kullanılarak (Şekil 4.8) nitel analizle daha ayrıntılı olarak incelenmiştir.

Şekil 4.8, PVA/Kitosan nanoliflerini(1), 250 µl Amoksisilin içeren polimer çözeltilisinden elde edilen PVA/Kitosan/Amoksisilin nanoliflerini (2), Amoksisilin çözeltisi damlatılmış filtre kağıdını (3)göstermektedir. S. aureus gram pozitif; E.coli ise gram negatif bakteri türüdür. Şekil (a) S. Aureus bakterisine (b) E.coli bakterisine ise karşı antimikrobiyal aktivitenin incelenmesi amacıyla yapılmıştır. Amoksisilin içermeyen PVA/Kitosan nanolifi (1) kontrol örneğidir ve bakteriyel inhibisyon halkası göstermesi beklenmez. Fakat deney sonuçlarında lifli disk içeriğinden yaklaşık 3 kat fazla Amoksisilin içeren filtre kâğıtları dışında ilaçlı nanoliflerde bakteri inhibisyon halkası gözlemlenmemiştir. Bu da 250 µL Amoksisilin çözeltisi içeren nanoliflerin bakteri inhibisyonu için yeterli miktarda olmadığını göstermektedir.



Şekil 4.8. 250 µl Amoksisilin içeren PVA/Kitosan nanoliflerinin (a) *S. Aureus* bakterisine ve (b) *E.coli* bakterisine karşı antibakteriyel aktivitesi

Şekil 4.9, 1000 µl Amoksisilin çözeltisi içeren polimer çözeltisinden elde edilen nanolifleri göstermektedir. İlaç içermeyen PVA/Kitosan (1); PVA/Kitosan/Amoksisilin nanoliflerini(2); Amoksisilin çözeltisi damlatılmış filtre kağıdını (3); PVA/Kitosan/Ag (4); PVA/Kitosan/Amoksisilin/Ag (5); Amoksisilin/Ag (6) nanoliflerinin antimikrobiyal aktivitesi *S.Aureus* bakterisine (a ve c) ve *E.coli* bakterisine (b ve d) karşı incelenmiş ve inhibisyon halkalarının çapları belirlenmiştir.



Şekil 4.9. Ag ve Amoksisilin içeren PVA/Kitosan nanoliflerinin (a ve c) *S. Aureus* bakterisine ve (b ve d) *E.coli* bakterisine karşı antibakteriyel aktivitesi

*PVA/Kitosan(1); PVA/Kitosan/Amoksisilin (2); Amoksisilin (3); PVA/Kitosan/Ag (4); PVA/Kitosan/Amoksisilin/Ag (5); Amoksisilin/Ag (6)

S. Aureus bakterisine karşı Amoksisilin ve gümüş içerikli disklerin inhibisyon halkası çapları;

Tablo 4.2. *S. Aureus bakterisine karşı Amoksisilin ve gümüş içerikli disklerin inhibisyon halkası çapları*

Örnek	İç Çap (cm)	Dış Çap (cm)	Çap Farkı (cm)
PVA/Kitosan	1,2	-	-
PVA/Kitosan/Amoksisilin	1,2	2,4	1,2
Amoksisilin	1,2	5	3,8
PVA/Kitosan/Ag	1,2	1,3	0,1
PVA/Kitosan/Amoksisilin/Ag	1,2	1,8	0,6
Amoksisilin/Ag	1,2	5,4	4,2

E.coli bakterisine karşı Amoksisilin ve gümüş içerikli disklerin inhibisyon halkası çapları;

Tablo 4.3. *E.coli bakterisine karşı Amoksisilin ve gümüş içerikli disklerin inhibisyon halkası çapları*

Örnek	İç Çap (cm)	Dış Çap (cm)	Çap Farkı (cm)
PVA/Kitosan	1,2	-	-
PVA/Kitosan/Amoksisilin	1,2	-	-
Amoksisilin	1,2	2,9	1,7
PVA/Kitosan/Ag	1,2	-	-
PVA/Kitosan/Amoksisilin/Ag	1,2	-	-
Amoksisilin/Ag	1,2	2,8	1,6

Tablo 4.4. Disklerde bulunan Amoksisilin ve gümüş miktarının karşılaştırılması

Disk İçeriği	Diskteki Amoksisilin Miktarı (µg)	Diskten Salınan Amoksisilin Miktarı (µg)	Diskten Salınan Gümüş Miktarı (µg)	İnhibisyon Çap Farkı (cm) A	İnhibisyon Çap Farkı (cm) B
PVA/Kitosan	-	-	-	-	-
PVA/Kitosan/Amoksisilin	29	$8,2 \times 10^{-3}$	-	-	1,2
Amoksisilin	88	88	-	1,7	3,8
PVA/Kitosan/Ag	-	-	7,3	-	0,1
PVA/Kitosan/Amoksisilin /Ag	29	$7,7 \times 10^{-3}$	7,3	-	0,6
Amoksisilin/Ag	88	88	22	1,6	4,2

A: *E.coli* bakterisine karşı Amoksisilin ve gümüş içerikli disklerin inhibisyon halkası çapları

B : *S.Aureus* bakterisine karşı Amoksisilin ve gümüş içerikli disklerin inhibisyon halkası çapları

E. Coli bakterisine karşı antibakteriyal aktivitesi Şekil 4.9. a ve c de gösterilmektedir. Amoksisilin içermeyen PVA/Kitosan (1) nanolifi kontrol örneğidir ve bakteriyel inhibisyon halkaları göstermez.

Tablo 4.4’de disklerde bulunan Amoksisilin ve gümüş miktarları ile *S. Aureus* ve *E.Coli* bakterilerine karşı oluşturdukları inhibisyon halkalarının çapları verilmiştir. PVA/Kitosan/Amoksisilin nanolif diskinde 29 µg Amoksisilin bulunmaktadır. Fakat ilaç salınımı çalışmalarından elde edilen sonuçlara göre belirli miktardaki lif suya konduğunda 18 saat sonra Amoksisilin’in %0,029’unu suya vermektedir. Buda disk içeriğindeki Amoksisilin’in tamamının salınmadığını göz önünde bulundurmamızı gerektirir. Aynı şekilde PVA/Kitosan/Amoksisilin/Ag nanolifleride 18 saat sonunda Amoksisilin içeriğinin %0,026’sını sulu ortama vermektedir. Nanoliflerden az miktarda salınan Amoksisilin’in *S.Aureus* bakterisine karşı etkili olduğu görülmektedir. Fakat *E.coli* bakterisine karşı etkili olamamıştır. Bunun nedeni Amoksisilin molekülleriyle

gümüşün metal şelat oluşturarak gümüş iyonlarının ve Amoksisilin'in salınımının azalmasıdır.

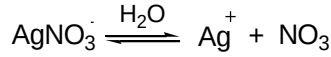
Amoksisilin (3) ve Amoksisilin/Ag (6) çözeltilerini içeren diskler bakterilerle doğrudan etkileştiği ve miktar olarak nanolifli disklerden daha fazla ilaç içerdiği için inhibisyon halkası göstermesi oldukça normaldir. Bu diskler Amoksisilin'in E. Coli'ye kıyasla S.aureus bakterisine karşı daha etkili olduğunu ve gümüşün Amoksisilin'in antibakteriyel etkisini arttırdığını göstermektedir. E. Coli bakterisi Amoksisilin'e karşı yüksek direnç gösteren bir antibiyotik türüdür.

PVA/Kitosan/Ag içeren diskler (Şekil 4.9. c ve d (4))S. Aureus bakterisine karşı antimikrobiyal aktivite göstermiş fakat E.Coli bakterisine karşı etkili olamamıştır.

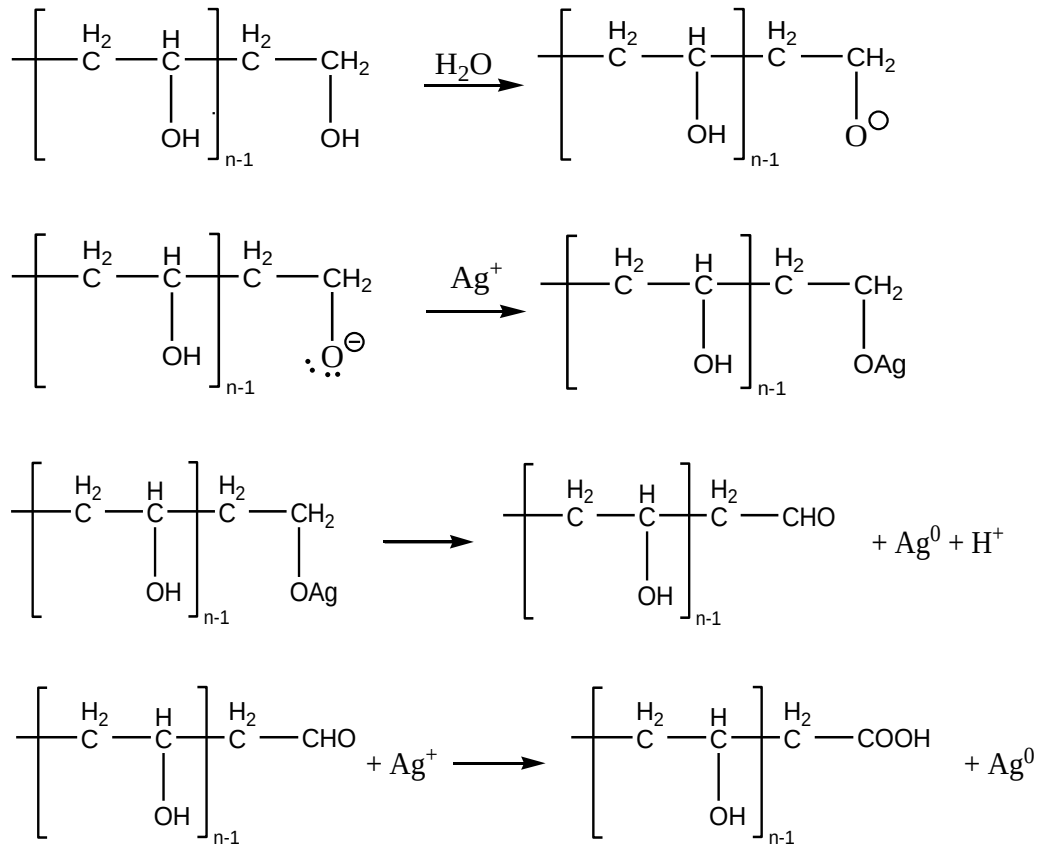
PVA/Kitosan/Amoksisilin/Ag nanolifleri S.Aureus bakterisine karşı antibakteriyel aktivite göstermektedir. PVA/Kitosan/Amoksisilin/Ag nanolif diskinin inhibisyon halkası PVA/Kitosan/Ag ile karşılaştırıldığında gümüş ve Amoksisilin arasında sinerjik etkileşim olduğu ve bu yüzden S. Aureus bakterisine karşı aktivite gösterdiği sonucuna varılabilir. Literatürdeki çalışmalarda gümüş içeren Amoksisilin çözeltilerinin E. Coli bakterisi için antibakteriyel aktivitesinin S. aureus'tan daha düşük olduğu bildirilmiştir [101].

Ag nanopartikülleri güçlü antibakteriyel özelliklere sahiptir. Çünkü Ag nanopartikülleri hücre duvarlarına yapışır ve hücre duvarı geçirgenliğini ve hücresel solunumunu rahatsız eder. Nano boyutlu lifler, bakteri ile temas edecek nispeten daha büyük yüzey alanları sağlar. Gümüş yüklü Amoksisilin nanoliflerin bakteriyel inhibisyon etkinliği sadece Amoksisilin içeren nanoliflere göre azalmıştır. PVA/Kitosan/Amoksisilin/Ag nanoliflerinin bakteriyel inhibisyon halkası, PVA/Kitosan/Amoksisilin nanoliflerinden daha küçüktür, bu da daha düşük derişime bağlıdır. İlaç salınım grafiklerinden de görüldüğü gibi PVA/Kitosan/Amoksisilin/Ag nanoliflerinden salınan Amoksisilin oldukça düşük bir salınım oranına sahiptir. Kantitatif analiz verileri ile birlikte ele alındığında, gümüşün PVA/Kitosan/Amoksisilin nanoliflerin içerisine yüklenmesi, antibakteriyel aktivitesini değiştirmez ve yavaş salınım hızıyla sürekli salınım olması uzun süreli antibakteriyel etkinin korunmasında yardımcı olur.

Sulu çözeltide gümüş tuzu iyonlarına ayrışır ve PVA, kitosan ve Amoksisilin ile etkileşime girer.

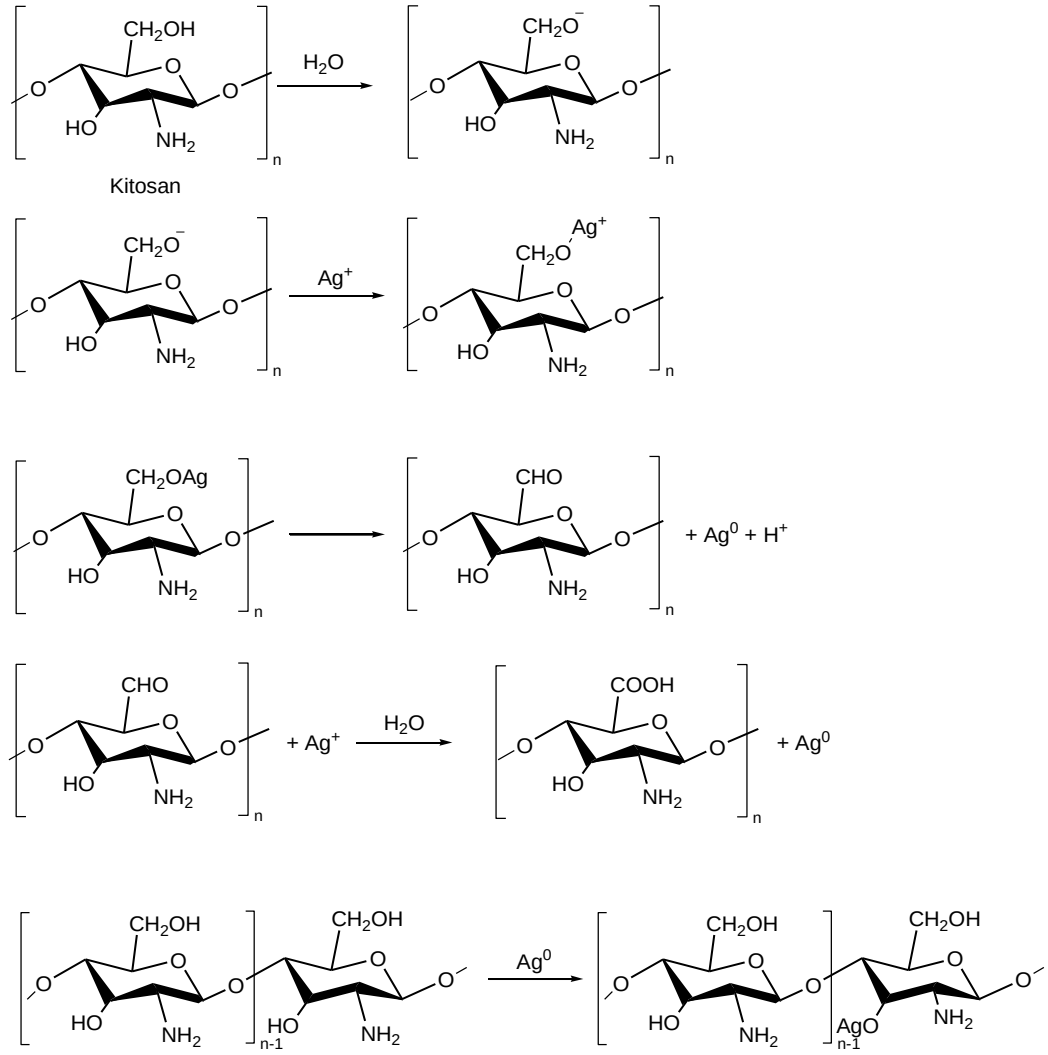


Bu PVA, kitosan ve Amoksisilin bileşikleri AgNO_3 'ü Ag^0 'a indirgeyen elektron verici gruplara sahiptir. PVA ile gümüşün etkileşim mekanizması Şekil 4.10'da gösterilmiştir. Yapısında çok fazla hidroksil grubu bulunduran PVA ortaklanmamış elektrona sahip hidroksil ve oluşturulan karbonil gruplarıyla gümüşün oksidasyon yoluyla indirgenmesini sağlar. Ayrıca PVA molekülleri, AgNO_3 'ün iyonlarına ayrılmasını ve Ag^+ 'dan Ag^0 ya indirgenmesini sağlar [102].



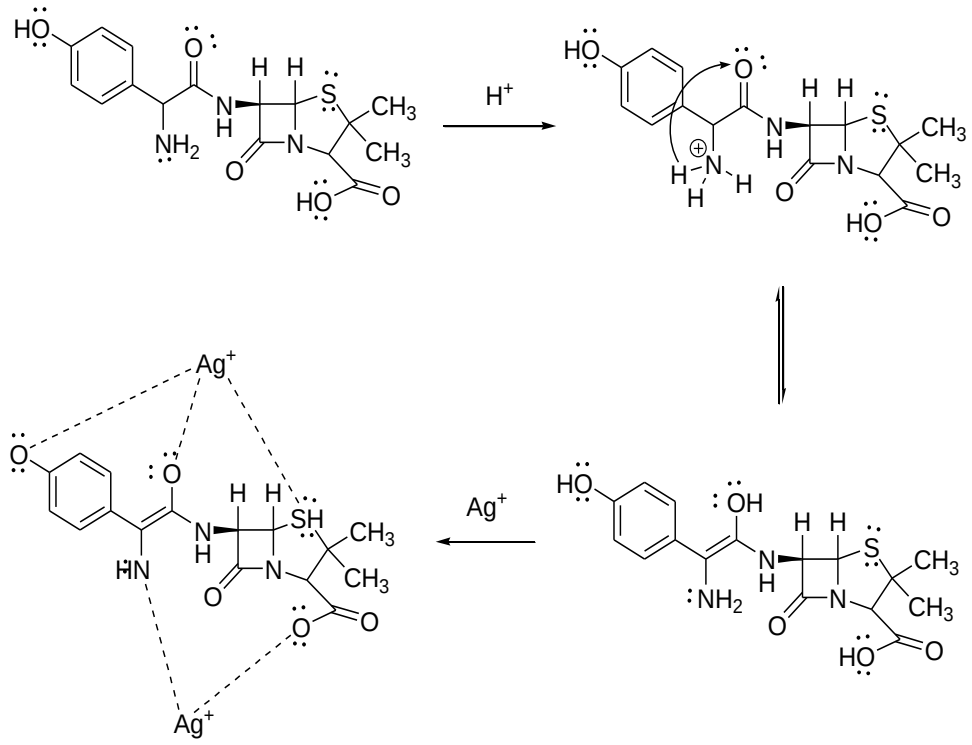
Şekil 4.10. PVA ile gümüşün reaksiyon mekanizması

Oksijen açısından zengin kitosan, elektropozitif metal katyonu Ag^+ ile etkileşerek Ag^0 'ün oluşmasını sağlar. Sulu ortamda elektropozitif Ag^+ ile kitosanın hidroksil grupları arasındaki mekanizma Şekil 4.11 'da gösterilmiştir.



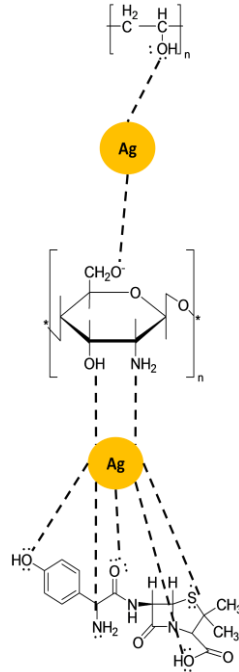
Şekil 4.11. Kitosan ile gümüşün reaksiyon mekanizması

Şekil 4.12’de Amoksisilin ve gümüş arasındaki etkileşim gösterilmiştir. Amoksisilin’in elektro çekim işlemi için hazırlanan çözeltisi pH 1,2’ye ayarlanmıştır. Amoksisilin üzerinde ortaklanmamış elektron bulunduran birçok moleküle sahiptir. Asidik ortamdaki Amoksisilin oksijen ve kükürte göre daha elektropozitif olan azot atomundan protonlanır ve kararsız ara ürün oluşturur. Bu tautomerik halden daha kararlı bir hale geçer. Gümüş iyonları boş d orbitallerine sahip olduğu için ortaklanmamış elektron çifti olan oksijen, azot ve kükürte bağlanır. Amoksisilin çok fazla ortaklanmamış elektrona sahip atoma sahip olduğu için gümüş iyonlarını tutar. Bu yüzden Amoksisilin içeren nanoliflerden az miktarda ilaç salınmaktadır.



Şekil 4.12. Amoksisilin ile gümüş arasındaki reaksiyon mekanizması

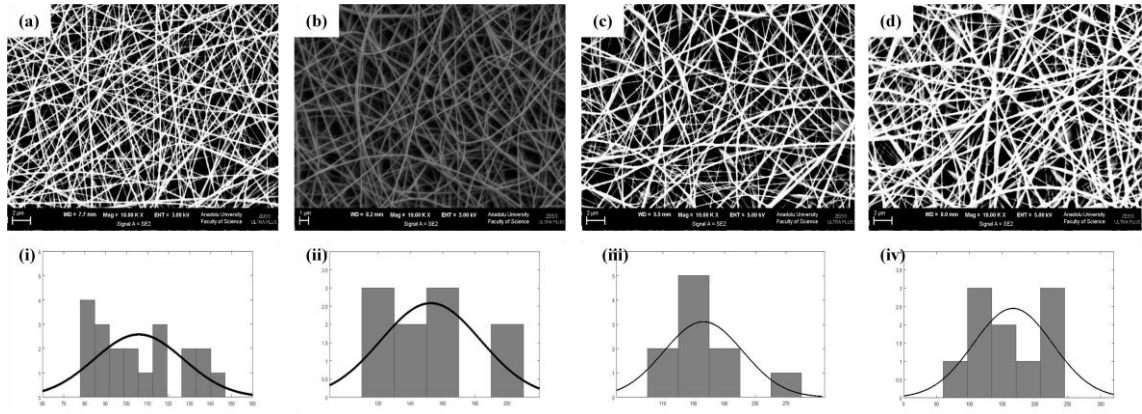
Ag^0 'ın oluşumuna yol açan Ag^+ ile PVA, kitosan ve Amoksisilin arasındaki olası etkileşimler Şekil 4.13'de gösterilmiştir.



Şekil 4.13. PVA, kitosan ve Amoksisilin ile gümüş arasındaki öngörülen etkileşimler

4.7. İlaç Salınımı Çalışmaları

Amoksisilin salınım çalışmaları 50, 250 ve 1000 µl Amoksisilin içeren nanolifler ile yapılmıştır. Çapraz bağlanma öncesi lif morfolojileri ve çapları Şekil 4.14'de verilmiştir. PVA/Kitosan nanoliflerinin lif çapı, 92-137 nm aralığında ortalama 105 nm olarak bulunmuştur. 50 µl Amoksisilin içeren PVA/Kitosan nanoliflerinin lif çapı 116-205 nm aralığında ortalama 150 nm'dir. 250 µl Amoksisilin içeren PVA/Kitosan nanoliflerinin lif çapı 91-285 nm aralığında ortalama 160 nm'dir. 1000 µl Amoksisilin içeren PVA/Kitosan nanoliflerinin lif çapı ise 84-200 nm aralığında ortalama 175 nm'dir. Amoksisilin miktarı arttıkça ortalama lif çapında artış meydana gelmiştir.

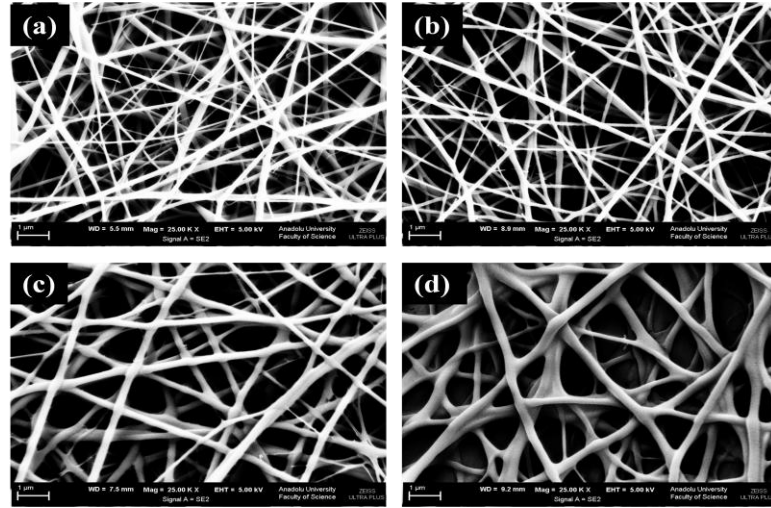


Şekil 4.14. (a) PVA/Kitosan;(b)50;(c) 250 ve (d) 1000µl Amoksisilin içeren nanolifler ve bunların çap histogramları

4.7.1. Çapraz bağlanma süresinin ilaç salınımı üzerine etkisi

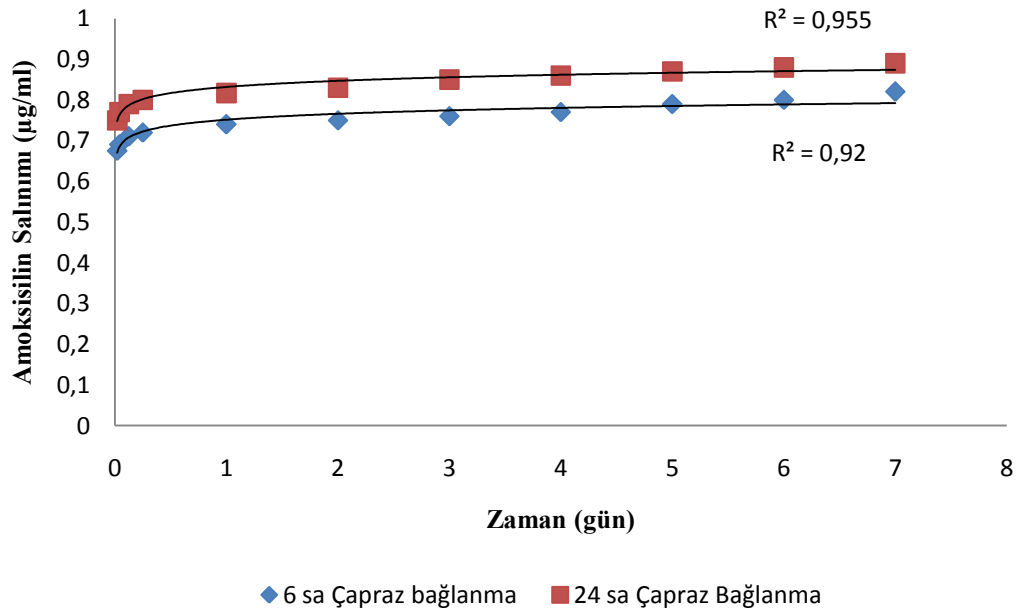
Nanolifleri tüm çözücüler içinde çözünmez hale getirdiği ve mekanik özelliklerini arttırdığı için çapraz bağlanma nanolifler için önemlidir. Nanolifler fazla sürede çapraz bağlayıcı ajana maruz bırakıldığında nanolifleri aşırı derecede çapraz bağlayarak ilaç salınımına engel olabilir. Çok kısa süre maruz bırakma ise çapraz bağlanma işleminin tamamlanmamasına sebep olur.

50 µl Amoksisilin içeren PVA/Kitosan nanolifleri 6, 24 ve 48 saat glutaraldehit buharı ile vakum desikatöründe çapraz bağlanmış ve lif morfolojileri taramalı elektron mikroskopuyla (SEM) incelenmiştir.



Şekil 4.15. PVA/Kitosan/Amoksisilin nanoliflerinin(a) çapraz bağlanma öncesi; (b)6 sa; (c)24 sa; (d) 48 sa çapraz bağlanma sonrası SEM görüntüleri

Şekil 4.15 (a) da çapraz bağlanma öncesi lif morfolojisi görülmektedir. 48 saat sonunda (d)liflerin fazla çapraz bağlandığı görülmektedir. Nanoliflerin çapraz bağlanması için optimum süre 6 (b) ve 24 (c) saat olarak bulunmuş ve ilaç salınım çalışmaları yapılmıştır ve salınım miktarları HPLC’de analiz edilerek belirlenmiştir.

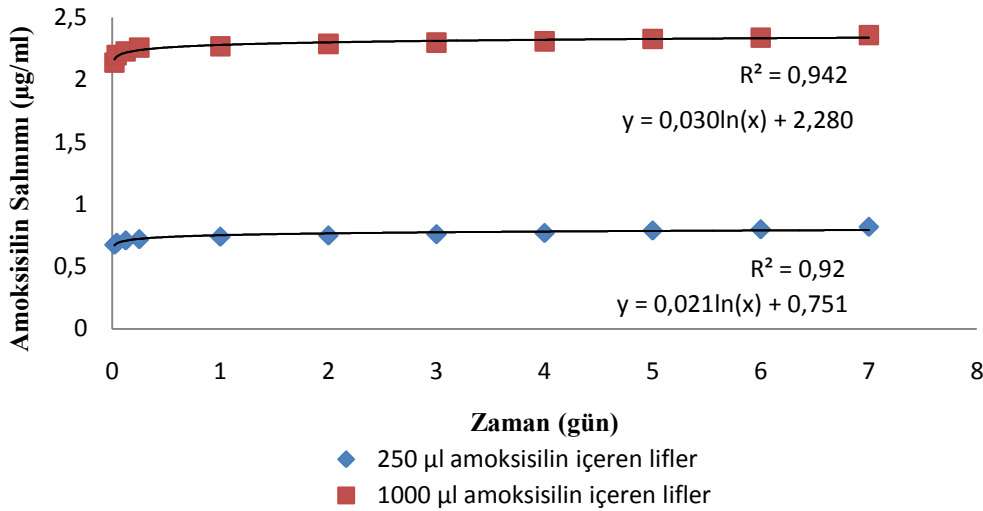


Şekil 4.16. Farklı sürelerde çapraz bağlanan 250 µl Amoksisilin içeren PVA/Kitosan nanoliflerinin salınım grafiği

Çapraz bağlanma süresinin salınım üzerine etkisini değerlendirmek için elde edilen grafiklerden 250 µl Amoksisilin içeren PVA/Kitosan nanoliflerinin 6 saat çapraz bağlanması sonucu maksimum salınımı 0,82 µg/ml; 24 saat çapraz bağlanması sonucu maksimum salınım ise 0,86 µg/ml olarak bulunmuştur. Salınım değerleri birbirine çok yakındır. Bu küçük farklılık lifler içerisindeki Amoksisilin miktarından kaynaklanmaktadır. Daha sonraki salınım çalışmalarında nanolifler 6 saat çapraz bağlanarak yapılmıştır.

4.7.2. Amoksisilin miktarının ilaç salınımı üzerine etkisi

İlaç miktarının salınım üzerine etkisini incelemek ve optimum ilaç miktarını bulmak için 50, 250 ve 1000 µl Amoksisilin çözeltisi içeren PVA/Kitosan nanoliflerinin 6 saat çapraz bağlandıktan sonra ultra saf su ortamında salınımı incelendi. 50µl Amoksisilin liflerinin ultra saf su ortamında yapılan salınım çalışmasında HPLC piklerinin alanı çok küçük gelmiştir. Bunun nedeni ilaç miktarının az miktarda olmasıdır.

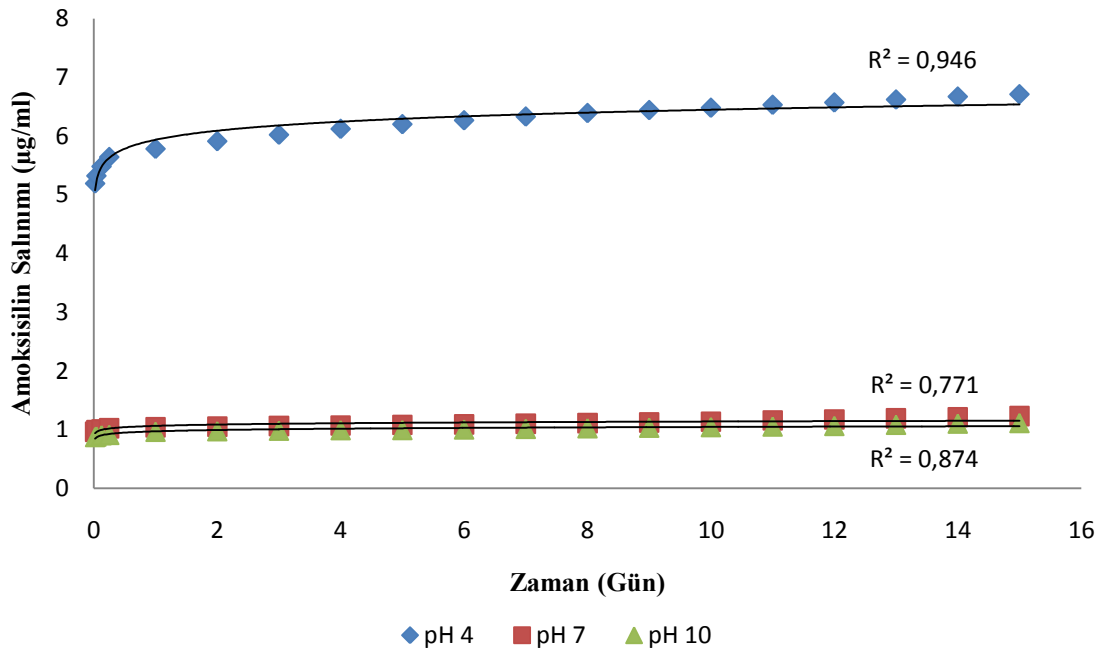


Şekil 4.17. Farklı miktarlarda Amoksisilin içeren PVA/Kitosan nanoliflerinin ilaç salınım grafiği

250 ve 1000 µl Amoksisilin içeren liflerin bir haftalık salınım grafiği Şekil 4.17’de verilmiştir. 250 µl Amoksisilin içeren nanolifler antimikrobiyal çalışmalarda yeterince bakteri inhibisyonu göstermediği için 1000 µl Amoksisilin içeren nanolifler ile çalışmalara devam edilmiştir.

4.7.3. pH'ın ilaç salınımı üzerine etkisi

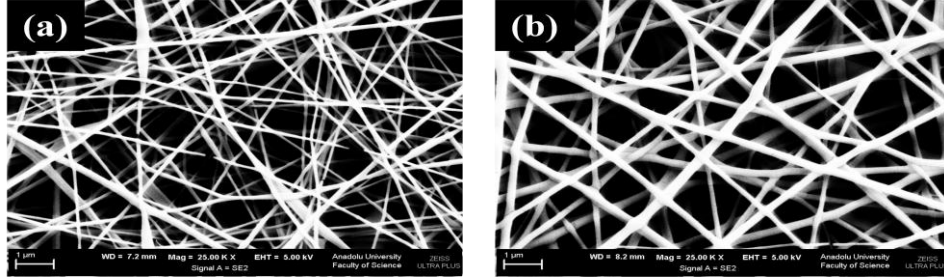
Bu çalışmada, pH'ın, Şekil 4.18'de gösterilen salınım kinetiği aracılığıyla analiz edilen Amoksisilin'in kontrollü salınımı (pH 4, pH 7 ve pH 10) üzerindeki etkisi incelenmiştir. pH 4 için PVA/Kitosan/Amoksisilin nanolifleri, 6,71 µg/ml maksimum salınım göstermiştir. pH 7'de gerçekleştirilen çalışmada bu değer 1,2 µg/ml; pH 10' da ise 1,11 µg/ml'dir. Belirli bir süre sonra ilaç salınım oranının yaklaşık olarak sabit olması beklenir. pH 4'de doygunluğa ulaşan çözelti 15 gün sonunda sabit bir şekilde salınım yapmaktadır. Ancak pH 7 ve 10' da Amoksisilin salınımı az miktarlarda gerçekleştiği için salınım artarak devam etmektedir. Nanolifler pH 4'de en fazla miktarda ilaç salmıştır. PVA/Kitosan/Amoksisilin nanoliflerinin elde edilmesi için hazırlanan polimer çözeltisindeki Amoksisilin çözeltisi pH 1,2'ye ayarlanmıştır. Bu durum "Benzer benzeri çözer" ilkesinden yola çıkarak protonlanmış Amoksisilin asidik ortama daha fazla geçecektir. Bu yüzden Amoksisilin pH 4 ortamında daha fazla salınım gerçekleştirmiştir.



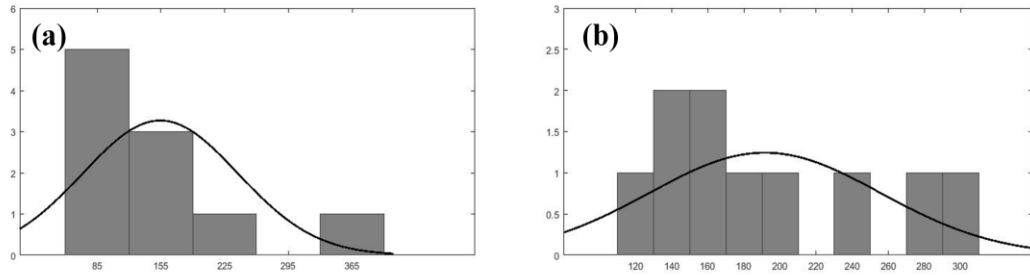
Şekil 4.18. Farklı pH'larda 1000 µl Amoksisilin içeren PVA/Kitosan nanoliflerinin ilaç salınım grafiği

4.9. Gümüş yüklü PVA/Kitosan/Amoksisilin Nanoliflerinin Morfolojileri

Gümüş yüklü PVA/Kitosan/Amoksisilin nanoliflerinin SEM görüntülerine bakıldığında lifli morfolojilerinin çapraz bağlanma sonrası değişmediği görülmektedir.

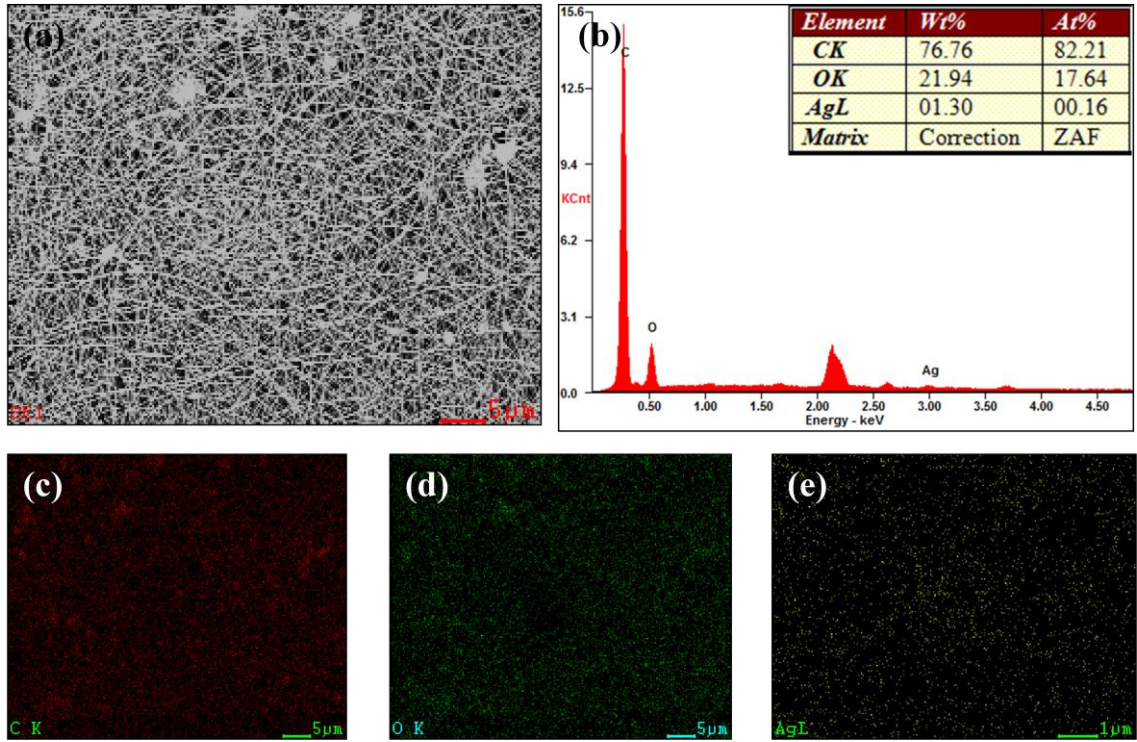


Şekil 4.19. PVA/Kitosan/Amoksisilin/Ag nanoliflerinin (a) çapraz bağlanma öncesi; (b) çapraz bağlanma sonrası SEM görüntüleri



Şekil 4.20. PVA/Kitosan/Amoksisilin/Ag nanoliflerinin (a) çapraz bağlanma öncesi; (b) çapraz bağlanma sonrası çap histogramları

Şekil 4.19(a)'te görülebileceği gibi, PVA/Kitosan/Amoksisilin/Ag nanoliflerinin çapraz bağlanma öncesi lif çapı, 94-376 nm aralığında ortalama 155 nm olarak bulunmuştur; çapraz bağlanma sonrası lif çapı 120-305 nm aralığında ortalama 190 nm'dir. Çapraz bağlanma sonrası nanoliflerin (Şekil 4.19 (b)) ortalama çaplarında artış meydana gelmiştir ancak yine de lifli yapılarında bir değişiklik olmamıştır. Çap artışının nedeni nanoliflerin içindeki gluteraldehit emilimiyle ilişkili olabilir. Bu da gluteraldehit buharıyla çapraz bağlamanın başarılı bir yöntem olduğunu göstermektedir.

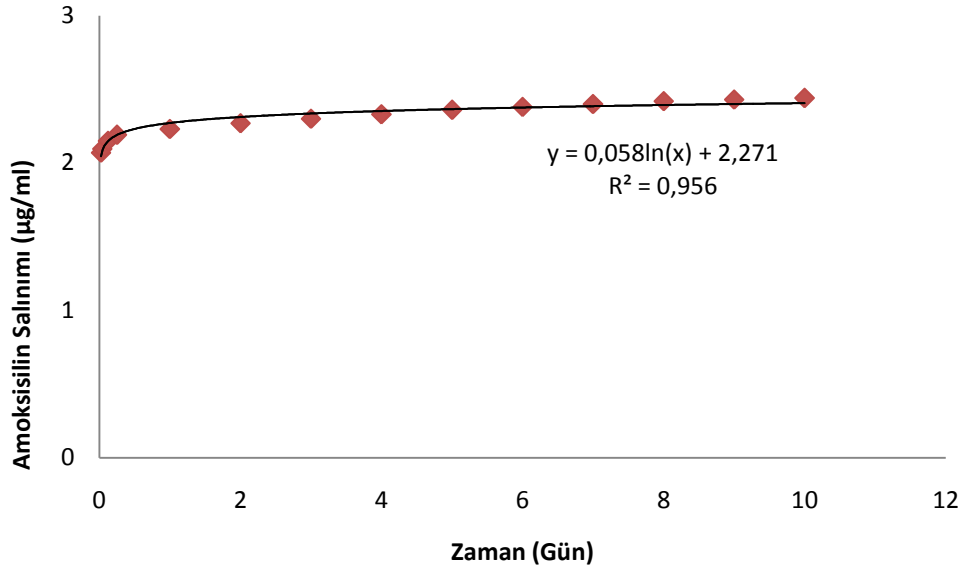


Şekil 4.21. PVA/Kitosan/Amoksisilin/Ag nanoliflerinin (a)SEM görüntüsü, bu nanoliflerin (b)EDX spektrumu, (c)nanoliflerdeki karbon atomları, (d)oksijen atomları, (e)Ag atomları

Şekil 4.21’de, PVA/Kitosan/Amoksisilin/Ag nanoliflerinin SEM görüntüsünü (a), bu nanoliflerin EDX spektrumlarını (b), nanoliflerdeki karbon atomlarını (c), oksijen atomlarını (d), Ag atomlarının (e) homojen bir şekilde lif yüzeyine dağıldığını göstermektedir. Gümüş yüklü Amoksisilin nanolifleri elektro çekim yöntemi ile başarılı bir şekilde elde edildiği görülmektedir.

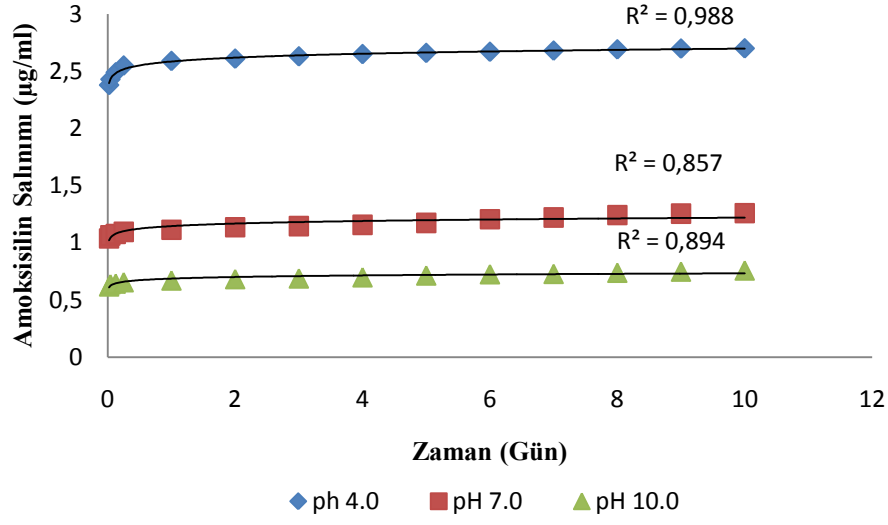
4.9. Gümüş Yüklü PVA/Kitosan/Amoksisilin Nanoliflerinin İlaç Salınımı

PVA/Kitosan/Amoksisilin/Ag nanolifleri su ortamında 2,4 µg/ml maksimum salınım göstermiştir. Salınım çalışması on gün boyunca sürdürülmüştür ve 10 günün sonunda lif içerisindeki Amoksisilin’in %0,03’ü salınmıştır. PVA/Kitosan/Amoksisilin nanoliflerinin sudaki salınımında ise ilacın 10 gün sonunda %0,029’u salınır. Gümüş ilaç salınımı çok az bir miktarda azaltmıştır.



Şekil 4.22. PVA/Kitosan/Amoksisilin/Ag nanoliflerinin sudaki ilaç salınım grafiği

Bu çalışmada, pH'ın, Şekil 4.23'de gösterilen salınım kinetiği aracılığıyla Amoksisilin'in kontrollü salınımı (pH 4, pH 7 ve pH 10) üzerindeki etkisi incelenmiştir. pH 4 için PVA/Kitosan/Amoksisilin/Ag nanolifleri, 2,7 µg/ml maksimum salınım göstermiştir. pH 7'de ise bu değer 1,26 µg/ml; pH 10' da ise 0,76 µg/ml'dir. Salınım çalışmaları 10 gün boyunca yapıldı. Nanoliflerden pH 4'de en fazla miktarda ilaç salınımı gerçekleşmiştir. pH 7 ve 10 da ilaç salınımı artan miktarlarda devam etmektedir. Bunun nedeni PVA/Kitosan/Amoksisilin nanoliflerinde olduğu gibi nanoliflerin elde edilmesi için hazırlanan polimer çözeltisindeki Amoksisilin çözeltisi pH 1,2'ye ayarlanmıştır. "Benzer benzeri çözer" ilkesinden yola çıkarak protonlanmış Amoksisilin asidik ortama daha fazla salınım yapacaktır. Fakat bu salınım PVA/Kitosan/Amoksisilin nanoliflerinin salınımıyla karşılaştırıldığında pH 4'de yaklaşık 3 kat daha az salınım yapmıştır. Bunun nedeni gümüşün Amoksisilin molekülleriyle oluşturduğu güçlü bağlanmalar olabilir.



Şekil 4.23. Farklı pH'larda PVA/Kitosan/Amoksisilin/Ag nanolişlerinin ilaç salınım grafiği

5. SONUÇLAR

Amoksisilin bakteriyel enfeksiyon tedavisi için etkili olan β -Lactam ailesine ait yarı sentetik bir antibiyotiktir. Geleneksel Amoksisilin kapsülleri, kısa biyolojik yarı ömrü nedeniyle ve mide kanında daha az derişimle sonuçlanan mide asidinde parçalanabileceğinden antibiyotik etkili derişimlerde ve tam aktif formlarda enfeksiyon yerine ulaştırılamayabilir. Bu nedenle, gastrik epitel hücre yüzeylerinde Amoksisilin'in etkinliğinin arttırılması ve bulunma süresinin uzatılması oldukça istenen bir özelliktir. İlaçların salınımını kontrol etmede polimerin kullanımı bu yüzden giderek daha önemli hale gelmektedir.

Bu çalışmada Amoksisilin'in asidik mide ortamı gibi ortamlarda bile uzun ve kontrollü salınımı için PVA ve kitosan polimerleri kullanılarak elektro çekim yöntemiyle nanolifleri elde edilmiştir. Salınım çalışmalarında Amoksisilin miktarını belirlemek amacıyla HPLC yöntemi kullanılmıştır. Geliştirilen yöntemde LOD ve LOQ değerleri 4×10^{-4} ng/ml ve 1,35 ng/ml aralığındadır. Bu yöntem yayınlanmış diğer metotlara göre daha duyarlı ve üstündür.

Gümüş nanopartiküller antibakteriyel özelliklere sahiptir. Bu yüzden nanoliflerin antibakteriyel özelliğini arttırmak amaçlanarak gümüş nanopartikül içeren Amoksisilin nanolifleri hazırlanmıştır. Çapraz bağlayıcı ajan olarak gluteraldehit çözeltisi kullanılmıştır. Optimum çapraz bağlanma süresini belirlemek amacıyla nanolifler 6, 24 ve 48 saat gluteraldehit buharına vakum desikatöründe maruz bırakılmıştır. İlaç salınım çalışmalarıyla birlikte değerlendirilerek optimum süre 6 saat olarak bulunmuştur. Etkili bir ilaç salınımı gerçekleştirmek için farklı miktarlarda Amoksisilin içeren nanoliflerin ilaç salınımı incelenmiştir. 50 μ l Amoksisilin içeren nanoliflerin salınım çalışmasında HPLC kromatogramlarında pik şiddeti çok az olduğu için 250 μ l ve 1000 μ l Amoksisilin içeren nanolifler ile çalışmaya devam edilmiştir.

Elde edilen nanoliflerin antibakteriyel özellik göstermesi gerekmektedir. Antibakteriyel aktivite deneylerinde gram pozitif bakteri olarak *Staphylococcus aureus* (S. Aureus); gram negatif bakteri olarak *Escherichia coli* (E. Coli) kullanılmıştır. 250 μ l Amoksisilin içeren PVA/Kitosan nanolifleri her iki bakteri türüne karşı etkili olamamıştır ve inhibisyon halkaları gözlemlenmemiştir. 1000 μ l Amoksisilin içeren PVA/Kitosan nanolifleri ise S. Aureus bakterisine karşı etkili olmuştur. E.coli

bakterisinin, S. Aureus bakterisine kıyasla Amoksisilin'e karşı daha fazla direnç gösterdiği literatürdeki çalışmalarda görülmektedir. Bu yüzden lif içerisindeki Amoksisilin miktarı E. Coli bakterisine karşı aktivite göstermek için yeterli miktarda olmadığı belirlenmiştir.

Gümüş (Ag) nanopartikülleri ve Ag iyonları diğer metallere göre daha yüksek antibakteriyel özelliklere sahiptir. Bu yüzden Amoksisilin yüklü nanoliflerin antibakteriyel özelliklerini arttırmak amacıyla polimer çözeltilerine 5 ve 10 mg AgNO₃ eklenmiştir. 10 mg Ag içeren Amoksisilin polimer çözeltisi çok viskoz olduğu için elektro çekim yöntemiyle nanolifler elde edilememiştir. 5 mg Ag içeren PVA/Kitosan/Amoksisilin nanolifler elektro çekim yöntemiyle başarıyla elde edilmiştir. EDAX spektrumları ile nanolif yapısındaki gümüş nanopartiküllerin homojen bir şekilde dağıldığı tespit edilmiştir.

PVA/Kitosan/Amoksisilin/Ag nanoliflerinin ilaç salınımı çalışmalarında PVA/Kitosan/Amoksisilin salınımına kıyasla daha az salınım yaptığı; antibakteriyel aktivite deneylerinde ise daha az aktivite gösterdiği gözlemlenmiştir. Aynı şekilde PVA/Kitosan/Amoksisilin/Ag nanoliflerinin antibakteriyel aktivitesi E. Coli bakterisine kıyasla S. Aureus bakterisine karşı daha kuvvetlidir. Bu iki bakteri türüne karşı antibakteriyel aktivitesindeki farklılık, hücre membranındaki yapısal ve kimyasal farklılıklar ile ilişkili olabilir. PVA/Kitosan/Amoksisilin/Ag nanoliflerinin salınım çalışması on gün ile sınırlandırılmıştır fakat nanolifler ortama Amoksisilin vermeye devam etmektedir. Amoksisilin yüklü nanoliflere gümüşün dahil edilmesi ilacın ilk anda Amoksisilin'in büyük miktarının serbest bırakılmasını önemli ölçüde zayıflatmaktadır. Uzun süreli terapötik aktivite gerektiren biyomedikal uygulamalar için Amoksisilin'in salınım hızını yavaşlatmak etkili bir stratejidir.

Nanoliflerden ilaç salınım çalışmalarında pH'ın etkisi incelenmiştir. Her iki nanolifde pH 7 ve 10 ile kıyaslandığında pH 4'de daha fazla Amoksisilin salınımı göstermiştir. Bu durum kısa biyolojik yarı ömrü olan Amoksisilin'in gastrik epitel hücre yüzeylerinde yüksek dozlarda uygulanmasına gerek kalmadan sürekli ve kontrollü bir şekilde ilaç salınımı gerçekleştirmesini sağlamaktadır.

KAYNAKÇA

- [1] Madhumathi, K., Sudheesh Kumar, P.T., Abhilash, S., Sreeja, V., Tamura, H., Manzoor, K., et al. (2010) Development of novel chitin/nanosilver composite scaffolds for wound dressing applications. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*. 21 (2), 807–813.
- [2] Gilotra, S., Chouhan, D., Bhardwaj, N., Nandi, S.K., and Mandal, B.B. (2018) Potential of silk sericin based nanofibrous mats for wound dressing applications. *Materials Science and Engineering C*. 90 420–432.
- [3] Pereira, R.F. and Bártolo, P.J. (2016) Traditional Therapies for Skin Wound Healing. *Advances in Wound Care*. 5 (5), 208–229.
- [4] Xie, Y., Yi, Z. xing, Wang, J. xun, Hou, T. gang, and Jiang, Q. (2018) Carboxymethyl konjac glucomannan - crosslinked chitosan sponges for wound dressing. *International Journal of Biological Macromolecules*. 112 1225–1233.
- [5] Zamani, M., Prabhakaran, M.P., and Ramakrishna, S. (2013) Advances in drug delivery via electrospun and electrosprayed nanomaterials. *International Journal of Nanomedicine*. 8 2997–3017.
- [6] Chen, S., Li, R., Li, X., and Xie, J. (2018) Electrospinning: An enabling nanotechnology platform for drug delivery and regenerative medicine. *Advanced Drug Delivery Reviews*.
- [7] Fazli, Y. and Shariatnia, Z. (2017) Controlled release of cefazolin sodium antibiotic drug from electrospun chitosan-polyethylene oxide nanofibrous Mats. *Materials Science and Engineering C*. 71 641–652.
- [8] Cha, J., Yang, S., and Carlson, K.H. (2015) Occurrence of β -lactam and polyether ionophore antibiotics in surface water, urban wastewater, and sediment. *Geosystem Engineering*. 18 (3), 140–150.
- [9] Sahasathian, T., Kerdcholpetch, T., Chanweroch, A., Praphairaksit, N., Suwonjandee, N., and Muangsin, N. (2007) Sustained release of amoxicillin from chitosan tablets. *Archives of Pharmacal Research*. 30 (4), 526–531.
- [10] Tapia-Albarran, M. and Villafuerte-Robles, L. (2004) Assay of amoxicillin sustained release from matrix tablets containing different proportions of Carbopol 971P NF. *International Journal of Pharmaceutics*. 273 (1–2), 121–127.
- [11] Songsurang, K., Pakdeebumrung, J., Praphairaksit, N., and Muangsin, N. (2011) Sustained Release of Amoxicillin from Ethyl Cellulose-Coated

- Amoxicillin/Chitosan–Cyclodextrin-Based Tablets. *AAPS PharmSciTech*. 12 (1), 35–45.
- [12] Juliflora, P. (2015) World Journal of Pharmaceutical Research. 4 (12), 1168–1177.
- [13] Fontana, G., Licciardi, M., Mansueto, S., Schillaci, D., and Giammona, G. (2001) Amoxicillin-loaded polyethylcyanoacrylate nanoparticles: Influence of PEG coating on the particle size, drug release rate and phagocytic uptake. *Biomaterials*. 22 (21), 2857–2865.
- [14] Kumar, S.S.D., Rajendran, N.K., Houreld, N.N., and Abrahamse, H. (2018) Recent advances on silver nanoparticle and biopolymer based biomaterials for wound healing applications. *International Journal of Biological Macromolecules*.
- [15] Li, P., Li, J., Wu, C., Wu, Q., and Li, J. (2005) Synergistic antibacterial effects of ??-lactam antibiotic combined with silver nanoparticles. *Nanotechnology*. 16 (9), 1912–1917.
- [16] Castellano, J.J., Shafii, S.M., Wright, T.E., Mannari, R.J., Di, G., David, J., et al. (2007) Comparative evaluation and drugs Comparative evaluation. *International Wound Journal*. 4 (2), 114–122.
- [17] Hang, A.T., Tae, B., and Park, J.S. (2010) Non-woven mats of poly(vinyl alcohol)/chitosan blends containing silver nanoparticles: Fabrication and characterization. *Carbohydrate Polymers*. 82 (2), 472–479.
- [18] Inagaki, M., Kang, F., Toyoda, M., and Konno, H. (2014) Chapter 8 - Carbon Nanofibers Via Electrospinning. in: *Adv. Mater. Sci. Eng. Carbon*, pp. 165–188.
- [19] Korzybski, T., Gindifer, Z.K., and Kurylowicz, W. (1967) Antibiotics. *Antibiotics: Origin, Nature and Properties. Volume 1*. 1–7.
- [20] Srivastava, A.K. (n.d.) Pharmacology: A Book Of Achieving Knowledge For Drugs. .
- [21] Bakheet, T.M. and Doig, A.J. (2009) Properties and identification of human protein drug targets. *Bioinformatics (Oxford, England)*. 25 (4), 451–7.
- [22] Bayarski, Y. (1928) Antibiotics and Their Types , Uses and Side Effects. 6.
- [23] HARRIS, M. (1964) Pharmaceutical Microbiology. .
- [24] Yang, S., Liu, X., and Zhang, Y. (2007) Chapter 4 . Metabolic Engineering – Applications , Methods , and Challenges. Elsevier B.V., .
- [25] Morin, R.B. and Gorman, M. (1982) Chemistry and Biology of B-Lactam

Antibiotics. in: Biol. B-Lactam Antibiot., p. 2.

- [26] Kuriyama, T., Karasawa, T., and Williams, D.W. (2014) Antimicrobial Chemotherapy: Significance to Healthcare. Elsevier Inc., .
- [27] Watkins, R.R. and Bonomo, R.A. (2017) β -Lactam Antibiotics. Fourth Edi Elsevier Ltd, .
- [28] Cho, H., Uehara, T., and Bernhardt, T.G. (2014) Beta-lactam antibiotics induce a lethal malfunctioning of the bacterial cell wall synthesis machinery. *Cell*. 159 (6), 1310–1311.
- [29] Sofokleous, P., Stride, E., and Edirisinghe, M. (2013) Preparation, characterization, and release of amoxicillin from electrospun fibrous wound dressing patches. *Pharmaceutical Research*. 30 (7), 1926–1938.
- [30] Beg, S., Nayak, A.K., Kohli, K., Swain, S., and Hasnain, M.S. (2012) Antimicrobial activity assessment of time-dependent release bilayer tablets of amoxicillin trihydrate. *Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences*. 48 (2), 265–272.
- [31] Steth, S.D. and Steh, V. (2009) Textbook of Pharmacology. .
- [32] (n.d.) [https://www.imetechnologies.com/electrospinning/electrospinning-materials/No Title](https://www.imetechnologies.com/electrospinning/electrospinning-materials/No%20Title).
- [33] Rice, L.B. (2012) Mechanisms of resistance and clinical relevance of resistance to β -lactams, glycopeptides, and fluoroquinolones. *Mayo Clinic Proceedings*. 87 (2), 198–208.
- [34] Singh, R., Sripada, L., and Singh, R. (2014) Side effects of antibiotics during bacterial infection: Mitochondria, the main target in host cell. *Mitochondrion*. 16 50–54.
- [35] <http://isabellasehyun.wixsite.com/antibiotics/overview>.
- [36] https://www.emedicinehealth.com/antibiotics/article_em.htm#what_are_symptoms_of_an_allergic_reaction_to_an_antibiotic.
- [37] Wright, G.D. (2010) Q&A: Antibiotic resistance: Where does it come from and what can we do about it? *BMC Biology*. 8.
- [38] Galkin, O.Y. and Bondarenko, L.B. (2009) Directed-Drug-Delivery-Systems-Biotechnological-Aspects. *Биотехнология*. 46–58.
- [39] McGinity, J.W. (n.d.) Part Iv.

- [40] Ranade, V. and Cannon, J. (1997) Drug Delivery Systems. .
- [41] Ulubayram, K., Calamak, S., Shahbazi, R., and Eroglu, I. (2015) Nanofibers Based Antibacterial Drug Design, Delivery and Applications. *Current Pharmaceutical Design*. 21 (15), 1930–1943.
- [42] Velnar, T., Bailey, T., and Smrkolj, V. (2009) The Wound Healing Process: An Overview of the Cellular and Molecular Mechanisms. *Journal of International Medical Research*. 37 (5), 1528–1542.
- [43] Katti, D.S., Robinson, K.W., Ko, F.K., and Laurencin, C.T. (2004) Bioresorbable nanofiber-based systems for wound healing and drug delivery: Optimization of fabrication parameters. *Journal of Biomedical Materials Research*. 70B (2), 286–296.
- [44] Boateng, J.S., Matthews, K.H., Stevens, H.N.E., and Eccleston, G.M. (2008) Wound healing dressings and drug delivery systems: A review. *Journal of Pharmaceutical Sciences*. 97 (8), 2892–2923.
- [45] Liu, Y., Wang, L., and Zhu, Z. (2016) Experimental and numerical studies on the effect of inlet pressure on cavitating flows in rotor pumps. *Journal of Engineering Research*. 4 (2), 151–171.
- [46] Venkatasubbu, G.D. and Anusuya, T. (2017) Investigation on Curcumin nanocomposite for wound dressing. *International Journal of Biological Macromolecules*. 98 366–378.
- [47] Vowden, K. and Vowden, P. (2017) Wound dressings: principles and practice. *Surgery (United Kingdom)*. 35 (9), 489–494.
- [48] Felgueiras, H.P. and Amorim, M.T.P. (2017) Functionalization of electrospun polymeric wound dressings with antimicrobial peptides. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*. 156 133–148.
- [49] Ambrozek, B. and Zwarycz-Makles, K. (2014) Theoretical and experimental studies of the recovery of volatile organic compounds from waste air streams in the thermal swing adsorption system with closed-loop regeneration of adsorbent. *Energy Conversion and Management*. 85 646–654.
- [50] Naseri-Nosar, M. and Ziora, Z.M. (2018) Wound dressings from naturally-occurring polymers: A review on homopolysaccharide-based composites. *Carbohydrate Polymers*. 189 (February), 379–398.
- [51] Cardona, A.F. and Wilson, S.E. (2015) Skin and Soft-Tissue Infections: A Critical Review and the Role of Telavancin in Their Treatment. *Clinical*

Infectious Diseases. 61 (May), S69–S78.

- [52] Simões, D., Miguel, S.P., Ribeiro, M.P., Coutinho, P., Mendonça, A.G., and Correia, I.J. (2018) Recent advances on antimicrobial wound dressing: A review. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*. 127 (February), 130–141.
- [53] Kenry and Lim, C.T. (2017) Nanofiber technology: current status and emerging developments. *Progress in Polymer Science*. 70 1–17.
- [54] Albanese, A., Tang, P.S., and Chan, W.C.W. (2012) The Effect of Nanoparticle Size, Shape, and Surface Chemistry on Biological Systems. *Annual Review of Biomedical Engineering*. 14 (1), 1–16.
- [55] Banik, B.L. and Brown, J.L. (2014) Chapter 23 – Polymeric Biomaterials in Nanomedicine. in: *Nat. Synth. Biomed. Polym.*, pp. 387–395.
- [56] Ramalingam, M. (2017) Nanofiber Composites for Biomedical Applications. .
- [57] Garg, T., Rath, G., and Goyal, A.K. (2015) Biomaterials-based nanofiber scaffold: Targeted and controlled carrier for cell and drug delivery. *Journal of Drug Targeting*. 23 (3), 202–221.
- [58] Shi, X., Zhou, W., Ma, D., Ma, Q., Bridges, D., Ma, Y., et al. (2015) Electrospinning of Nanofibers and Their Applications for Energy Devices. *Journal of Nanomaterials*. 2015.
- [59] Bhardwaj, N. and Kundu, S.C. (2010) Electrospinning: A fascinating fiber fabrication technique. *Biotechnology Advances*. 28 (3), 325–347.
- [60] Garg, K. and Bowlin, G.L. (2011) Electrospinning jets and nanofibrous structures. *Biomicrofluidics*. 5 (1),.
- [61] Subbiah, T., Bhat, G.S., Tock, R.W., Parameswaran, S., and Ramkumar, S.S. (2005) Electrospinning of nanofibers. *Journal of Applied Polymer Science*. 96 (2), 557–569.
- [62] Mirjalili, M. and Zohoori, S. (2016) Review for application of electrospinning and electrospun nanofibers technology in textile industry. *Journal of Nanostructure in Chemistry*. 6 (3), 207–213.
- [63] Stanger, J., Tucker, N., and Staiger, M. (1995) Electrospinning. *Journal of Electrostatics*. 75 (6), 218.
- [64] Doshi, J. and Reneker, D.H. (1995) Electrospinning process and applications of electrospun fibers. *Journal of Electrostatics*. 35 (2–3), 151–160.

- [65] Ve, T., Karışımın, P., Gülistan, İ., Çukurova, B., Tekstil, Ü., and Bölümü, M. (2010) PROJE : Nanoliflerin Elektrosppining Yöntemiyle Üretiminde Bazı Uygulamalar İçin Özel.
- [66] Hu, X., Liu, S., Zhou, G., Huang, Y., Xie, Z., and Jing, X. (2014) Electrospinning of polymeric nanofibers for drug delivery applications. *Journal of Controlled Release*. 185 (1), 12–21.
- [67] Costa, L.M.M., Bretas, R.E.S., and Gregorio, R. (2010) Effect of Solution Concentration on the Electrospray/Electrospinning Transition and on the Crystalline Phase of PVDF. *Materials Sciences and Applications*. 1 (4), 247–252.
- [68] Son, W.K., Youk, J.H., Lee, T.S., and Park, W.H. (2004) The effects of solution properties and polyelectrolyte on electrospinning of ultrafine poly(ethylene oxide) fibers. *Polymer*. 45 (9), 2959–2966.
- [69] Ekram, B., Abdel-Hady, B.M., El-Kady, A.M., Amr, S.M., Waley, A.I., and Guirguis, O.W. (2017) Optimum parameters for the production of nano-scale electrospun polycaprolactone to be used as a biomedical material. *Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology*. 8 (4),.
- [70] Li, Z. and Wang, C. (2013) One-Dimensional nanostructures. .
- [71] Khajavi, R. and Abbasipour, M. (2016) Controlling nanofiber morphology by the electrospinning process. in: *Electrospun Nanofibers*, pp. 109–123.
- [72] Darko, G., Chigome, S., Lillywhite, S., Tshentu, Z., Darkwa, J., and Torto, N. (2013) Sorption of toxic metal ions in aqueous environment using electrospun polystyrene fibres incorporating diazole ligands. *Water SA*. 39 (1), 39–46.
- [73] Geng, X., Kwon, O.H., and Jang, J. (2005) Electrospinning of chitosan dissolved in concentrated acetic acid solution. *Biomaterials*. 26 (27), 5427–5432.
- [74] Koski, A., Yim, K., and Shivkumar, S. (2004) Effect of molecular weight on fibrous PVA produced by electrospinning. *Materials Letters*. 58 (3–4), 493–497.
- [75] Afshari, M. (2017) Introduction. .
- [76] (n.d.) <http://electrospintech.com/solution.html#Wx087HszbIU>.
- [77] Thenmozhi, S., Dharmaraj, N., Kadirvelu, K., and Kim, H.Y. (2017) Electrospun nanofibers: New generation materials for advanced applications. *Materials Science and Engineering: B*. 217 36–48.
- [78] Chuangchote, S., Sagawa, T., and Yoshikawa, S. (2009) Electrospinning of poly(vinyl pyrrolidone): Effects of solvents on electrospinnability for the

- fabrication of poly(p-phenylene vinylene) and TiO₂ nanofibers. *Journal of Applied Polymer Science*. 114 (5), 2777–2791.
- [79] Mitchell, G.R. (2015) Electrospinning. .
 - [80] Li, L., Jiang, Z., Li, M., Li, R., and Fang, T. (2014) Hierarchically structured PMMA fibers fabricated by electrospinning. *RSC Adv*. 4 (95), 52973–52985.
 - [81] Wendorff, J., Agarwal, S., and Greiner, A. (2012) Electrospinning. Materials, Processing, and Applications. .
 - [82] Zargham, S., Bazgir, S., Tavakoli, A., Rashidi, A.S., and Damerchely, R. (2012) The Effect of Flow Rate on Morphology and Deposition Area of Electrospun Nylon 6 Nanofiber. *Journal of Engineered Fibers and Fabrics*. 7 (4), 42–49.
 - [83] Kumar, P. (2012) Effect of Collector on Electrospinning To Fabricate Aligned Nanofiber Effect of Collector on Electrospinning To Fabricate Aligned Nanofiber. 1–40.
 - [84] No, V., Mao, S., and Horsfall, A.B. (n.d.) Materials and Applications. .
 - [85] Pelipenko, J., Kristl, J., Janković, B., Baumgartner, S., and Kocbek, P. (2013) The impact of relative humidity during electrospinning on the morphology and mechanical properties of nanofibers. *International Journal of Pharmaceutics*. 456 (1), 125–134.
 - [86] Huang, L., Bui, N.N., Manickam, S.S., and McCutcheon, J.R. (2011) Controlling electrospun nanofiber morphology and mechanical properties using humidity. *Journal of Polymer Science, Part B: Polymer Physics*. 49 (24), 1734–1744.
 - [87] Yang, G.-Z., Li, H.-P., Yang, J.-H., Wan, J., and Yu, D.-G. (2017) Influence of Working Temperature on The Formation of Electrospun Polymer Nanofibers. *Nanoscale Research Letters*. 12 (1), 55.
 - [88] Haider, A., Haider, S., and Kang, I.K. (2015) A comprehensive review summarizing the effect of electrospinning parameters and potential applications of nanofibers in biomedical and biotechnology. *Arabian Journal of Chemistry*.
 - [89] Li, M., Mondrinos, M., Chen, X., and Lelkes, P. (2005) Electrospun Blends of Natural and Synthetic Polymers as Scaffolds for Tissue Engineering. in: *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc*, pp. 5858–5861.
 - [90] Coles, S.. and Woolridge, A. (2015) The Development of Electrospinning Technologies for Commercial Application. .
 - [91] Swetha, M., Sahithi, K., Moorthi, A., Srinivasan, N., Ramasamy, K., and

- Selvamurugan, N. (2010) Biocomposites containing natural polymers and hydroxyapatite for bone tissue engineering. *International Journal of Biological Macromolecules*. 47 (1), 1–4.
- [92] Mogoşanu, G.D. and Grumezescu, A.M. (2014) Natural and synthetic polymers for wounds and burns dressing. *International Journal of Pharmaceutics*. 463 (2), 127–136.
- [93] Alves, N. and Mano, J. (2008) Chitosan derivatives obtained by chemical modifications for biomedical and environmental applications. *International Journal of Biological Macromolecules*. 43 (5), 401–414.
- [94] Muzzarelli, R.A.A. (1997) Human enzymatic activities related to the therapeutic administration of chitin derivatives. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 53 (2), 131–140.
- [95] Homayoni, H., Ravandi, S.A.H., and Valizadeh, M. (2009) Electrospinning of chitosan nanofibers: Processing optimization. *Carbohydrate Polymers*. 77 (3), 656–661.
- [96] Li, W.J., Laurencin, C.T., Caterson, E.J., Tuan, R.S., and Ko, F.K. (2002) Electrospun nanofibrous structure: A novel scaffold for tissue engineering. *Journal of Biomedical Materials Research*. 60 (4), 613–621.
- [97] Agarwal, S., Wendorff, J.H., and Greiner, A. (2008) Use of electrospinning technique for biomedical applications. *Polymer*. 49 (26), 5603–5621.
- [98] Ngadiman, N.H.A., Noordin, M.Y., Kurniawan, D., Idris, A., and Shakir, A.S.A. (2015) Influence of Polyvinyl Alcohol Molecular Weight on the Electrospun Nanofiber Mechanical Properties. *Procedia Manufacturing*. 2 568–572.
- [99] Sasipriya, K., Suriyaprabha, R., Prabu, P., and Rajendran, V. (2013) Synthesis and characterisation of polymeric nanofibers poly (vinyl alcohol) and poly (vinyl alcohol)/silica using indigenous electrospinning set up. *Materials Research*. 16 (4), 824–830.
- [100] Gonçalves, V., Laranjeira, M., and Fávera, V. (2005) Effect of Crosslinking Agents on Chitosan Microspheres in Controlled Release of Diclofenac Sodium. *Polímeros: Ciência E Tecnologia*. 15 (1), 6–12.
- [101] Shahverdi, A.R., Fakhimi, A., Shahverdi, H.R., and Minaian, S. (2007) Synthesis and effect of silver nanoparticles on the antibacterial activity of different antibiotics against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *Nanomedicine: Nanotechnology, Biology, and Medicine*. 3 (2), 168–171.

- [102] Liang, K.L., Wang, Y.C., Lin, W.L., and Lin, J.J. (2014) Polymer-assisted self-assembly of silver nanoparticles into interconnected morphology and enhanced surface electric conductivity. *RSC Advances*. 4 (29), 15098–15103.