



GENTAMİSİN YÜKLÜ POLİ(VİNİL ALKOL)/JELATİN NANOFİBERLERİN ELEKTROEĞİRME YÖNTEMİYLE YARA ÖRTÜSÜ MALZEMESİ OLARAK ÜRETİLMESİ

Sümeyye CESUR

Marmara Üniversitesi, Nanoteknoloji ve Biyomalzeme Uygulama ve Araştırma Merkezi, İstanbul, TÜRKİYE
sumeyye.cesur@marmara.edu.tr

Geliş/Received: 02.06.2022; Kabul/Accepted in Revised Form: 01.09.2022

ÖZ: İyi antimikrobiyal performansa ve cilt yenileme kabiliyetine sahip nanofiber polimer yapı iskelelerine dayalı yara örtüleri, yara enfeksiyonunu önlemek ve yara iyileşmesini hızlandırmak için umut verici seçeneklerdir. Bu çalışmada, yara örtüsü uygulamaları için Gentamisin (GEN) yüklü polivinil alkol ve jelatin (PVA/JEL) nanofiberleri elektroegirme yöntemi ile başarıyla üretilmiştir. Üretilen nanofiberlerin mekanik mukavemetini arttırmak ve hızlı bozulmalarını önlemek için glutaraldehit (GA) buharı ile çapraz bağlama yapılmıştır. Nanofiberlerin taramalı elektron mikroskopu (SEM) görüntüleri incelendiğinde, boncuksuz düzgün bir yapıya sahip oldukları ve yüzeyde ilaç kristalleri ve kümeleri görülmediği gözlemlendi. Ayrıca PVA/JEL, PVA/JEL/0.25GEN ve PVA/JEL/0.5GEN nanofiberlerinin ortalama çapları sırasıyla 278 ± 40 nm, 373 ± 68 nm ve 493 ± 105 nm olarak ölçüldü. Nanofiber içerisindeki ilaç miktarındaki artış fiber çaplarında az bir artışa neden olsa da fiber morfolojilerini olumsuz etkilememiştir. Fourier-dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (FTIR) ile PVA, JEL ve GEN arasındaki etkileşim kanıtlanmıştır. Çekme testine göre, PVA/JEL nanofiberi, 6.31 ± 0.23 MPa'lık bir gerilme mukavemetine sahiptir. Ağırlıkça %0.25 ve %0.5 GEN, bu PVA/JEL nanofiberlerine ayrı ayrı yüklendiğinde, gerilme mukavemetleri sırasıyla 4.30 ± 0.58 ve 3.95 ± 0.24 MPa idi. GEN miktarı arttıkça mekanik mukavemetinin saf nanofibere göre zayıfladığı gözlemlenmiştir. Antimikrobiyal aktivite sonuçlarına bakıldığında, PVA/JEL/0.25GEN nanofiberinde herhangi bir antibakteriyel etki görülmezken PVA/JEL/0.5GEN nanofiberinde antibakteriyel etki görülmüştür. Antibakteriyel etki görülen PVA/JEL/0.5GEN nanofiberinde ilaç salım çalışmaları gerçekleştirilmiştir. İlaç salım sonuçlarına göre, GEN' in nanofiberden 264 saate kadar uzayan bir salım profili sergilediği gözlemlenmiştir. Tüm sonuçlar değerlendirildiğinde, GEN içeren nanofiberler, doku mühendisliği ve yara örtüsü uygulamalarında umut verici bir potansiyele sahip olabilir.

Anahtar Kelimeler: Yara örtüsü, Nanofiber, Polimerler, Elektroegirme, Gentamisin

Production of Gentamycin-Loaded Poly(Vinyl Alcohol)/Gelatin Nanofiber by Electrospinning Method as Wound Dressing Material

ABSTRACT: Wound dressings based on nanofiber polymer scaffolds with good antimicrobial capacity and skin regeneration ability are hopeful alternatives for hindering wound infection and speeding wound healing. In this study, Gentamicin (GEN) loaded polyvinyl alcohol and gelatin (PVA/GEL) nanofibers were successfully produced by electrospinning for wound dressing applications. In order to increase the mechanical strength of the produced nanofibers and to prevent their rapid deterioration, crosslinking was done with glutaraldehyde (GA) vapor. When the scanning electron microscopy (SEM) images of the nanofibers were examined, it was observed that they had a smooth structure without beads and no drug crystals and clusters were observed on the surface. In addition, the mean diameters of PVA/JEL, PVA/JEL/0.25GEN and PVA/JEL/0.5GEN nanofibers were measured as 278 ± 40 nm, 373 ± 68 nm and 493 ± 105 nm, respectively. Although the increase in the amount of drug in the nanofiber caused a slight increase in the fiber diameters, it did not adversely affect the fiber morphologies. The interaction between Fourier-transform infrared spectroscopy (FTIR) and PVA, GEL, and GEN has been proven. According to the tensile

test, the PVA/JEL nanofiber has a tensile strength of 6.31 ± 0.23 MPa. When 0.25% and 0.5% by weight GEN were loaded into these PVA/JEL nanofibers separately, their tensile strengths were 4.30 ± 0.58 and 3.95 ± 0.24 MPa, respectively. It was observed that as the amount of GEN increased, its mechanical strength weakened compared to the pure nanofiber. Considering the antimicrobial activity results, no antibacterial effect was observed in the PVA/GEL/0.25GEN nanofiber, while the antibacterial effect was observed in the PVA/GEL/0.5GEN nanofiber. Drug release studies have been carried out on PVA/GEL/0.5GEN nanofibers with antibacterial effects. Based on the drug release results, it was observed that GEN exhibited a release profile extending from nanofiber up to 264 hours per hour. Considering all the results, GEN-containing nanofibers may have promising potential in tissue engineering and wound dressing applications.

Keywords: Wound dressing, Nanofiber, Polymers, Electrospinning, Gentamicin

GİRİŞ (INTRODUCTION)

Deri, yumuşak doku olarak sınıflandırılan vücudun en büyük organıdır. Nemi korumaktan, vücut ısısını düzenlemekten, mikroplara ve yara, yanık, travma gibi zararlı dış etkenlere karşı korumaktan ve duyuları aktarmaktan sorumludur (Foroutan Koudehi ve Zibaseresht, 2020; Konop ve diğ., 2018). Kendini yenileme özelliği gösterir ancak ağır, yoğun yaralanmalarda ve derin yaralarda iyileşme süreci zordur (Ahlawat ve diğ., 2019). Yara örtüleri, belirli türdeki yaraların iyileşmesini desteklemede önemli bir işleve sahiptir (Bakhsheshi-Rad ve diğ., 2020). İdeal bir yara örtüsü nemli bir ortamı destekleme, gaz alışverişine izin verme, mikroorganizmalara engel olma, aşırı eksüdalara ortadan kaldırma ve geniş spektrumlu bir antimikrobiyal ajan ekleyerek düşük bakteri maruziyeti sağlama gibi belirli özelliklere sahip olmalıdır (Xi ve diğ., 2018). Ayrıca yaraya yapışmamalıdır, böylece pansuman değişiminde granülasyon dokusuna zarar vermezler. Deri yaralarının acil bakımının da mikrobiyal enfeksiyon ve trans-epidermal su kaybının önlenmesi için önemli olduğu iddia edilmektedir (Sikareepaisan ve diğ., 2011). Birincil pansumanların çok sınırlı kullanıma sahip olması ve ideal bir yara örtüsü özelliklerinin çok azını yerine getirmesi, yeni interaktif pansumanların iyileşme sürecini hızlandırabilir (Pásztor ve diğ., 2017). Şu anda polimerik malzemelerden hazırlanan nanofiberler mevcut yara tedavilerine ilgi çekici alternatiflerdir. Ultra ince, lifli yapı, yüksek yüzey alanı ve nano gözeneklilik ile karakterize edilen bu fiberler, yara iyileştirme uygulamaları için araştırılmakta ve kullanılmaktadır (Abrigo ve diğ., 2014). Nano yapıları üretmek için dondurarak kurutma, elektroçirime ve 3D baskı gibi birçok yöntem vardır. Tüm bu yöntemler arasında elektro çirime, en kolay ve uygun maliyetli yöntemdir (Kumar ve diğ., 2018).

Elektroçirime, polimer çözeltilerinden veya eriyiklerden birkaç mikrometre ile birkaç yüz nanometre aralığında çaplara sahip fiberler üretmek için yaygın olarak kullanılan bir tekniktir (Abrigo ve diğ., 2014). Bir jetten püskürtülen polimer solüsyonunu elektrik alanı altında nanofibere dönüştürür (Reneker ve diğ., 2007). Nanofiber oluşumu, voltaj, akış hızı, kollektör tipi, iğne ile kollektör arasındaki mesafe ve çözeltili özelliklerine bağlıdır (Angammana ve Jayaram, 2016). Yara örtüleri olarak kullanım için fiberlerin göze çarpan yönleri, ilaç moleküllerinin sürekli olarak yayılmasını sağlayan yüksek yüzey-hacim oranına sahip birbirine bağlı gözenekli yapılarıdır. İlaçların sürekli salımı, taşıyıcı olarak fiberler kullanılarak sağlanabilir. Nanofiberlere dayalı ilaç dağıtım sistemleri, terapötik etkinliği, biyoyararlanımı iyileştirebilir, toksisiteyi azaltabilir ve ilaçları belirli bir süre boyunca etki alanına kontrollü bir oranda vererek hasta uyumunu artırabilir (Wutticharoenmongkol ve Samanmak, 2021). Doğal ve sentetik polimerlerden üretilen nanoliflerin, ilaç taşıma sistemleri olarak yara iyileştirme tedavilerinde umut verici olduğu bulunmuştur.

Doğal ve sentetik polimerler arasında polivinil alkol (PVA) ve jelatin (JEL) gibi polimerler ve bunların karışımları yara örtüleri ve doku mühendisliği alanında yaygın olarak kullanılmaktadır. PVA, uygun kimyasal ve termal stabiliteye sahip yarı kristalize hidrofilik bir polimerdir. Fizyolojik ortamlarda biyolojik olarak parçalanabilirliği, PVA'nın en büyük avantajlarından biridir (Koudehi ve Pourmortazavi, 2018). Ayrıca toksik olmayışı, iyi oksijen geçirgenliği ve ilaç yükleme etkinliği nedeniyle de tercih edilmektedir (Cesur ve diğ., 2022). Cilt ile temasında herhangi bir hasara neden olmaz. Bu nedenle, doku mühendisliği ve yara örtüsü alanlarında yaygın olarak kullanılmaktadır (Aadil ve diğ., 2018). PVA'nın

çapraz bağlanması, kullanım sırasında fiziksel stabiliteyi iyileştirmek ve şişme derecesini kontrol etmek için borik asit, diizosiyanat, glioksal ve glutaraldehit kullanılarak gerçekleştirilebilir (Wutticharoenmongko ve diğ., 2021). JEL, toksik olmaması, biyolojik uyumluluğu, biyolojik olarak parçalanabilirliği ve hücre dışı bir doku matrisi olan kollajene benzer yapısı nedeniyle doku mühendisliği, hedefe yönelik ilaç dağıtımı ve yara örtüsü gibi biyomedikal uygulamalarda yaygın olarak kullanılmaktadır (Ohyabu ve diğ., 2014). JEL, literatürde özellikle inflamatuvar ilaçlar, antineoplastik bileşikler, antibakteriyel ajanlar, nükleik asitler ve hidrofobik materyaller için bir ilaç taşıyıcı sistem olarak kullanılmaktadır.

Polimerlerin üstün sitouyumluluğu olmasına rağmen, antibakteriyel özellikleri yaralardaki enfeksiyonları önleme açısından yetersizdir (Bakhsheshi-Rad ve diğ., 2019). Bu nedenle, yara iyileşme süresini kısaltmak için yara örtüsü malzemeleri için ek bir temel gereksinim, ilaçların yara bölgesine hedefli olarak verilmesidir (Lv ve diğ., 2018). Polimerler, enfeksiyonların önlenmesi için sürekli ve kontrollü antibiyotik salım sistemleri oluşturmak için ilaç taşıyıcıları olarak uygulanmıştır (Tao ve diğ., 2019). Bu bağlamda, gentamisin (GEN), çok çeşitli (Gram-pozitif ve Gram-negatif) bakterilere karşı etkili olduğu için çok sayıda bakteriyel enfeksiyonun tedavisinde güçlü bir antibiyotik olarak kullanılmaktadır. Kondaveeti ve diğ. PVA bazlı bir yara örtüsüne GEN eklenmesinin, GEN'in olası etkisinden dolayı geleneksel ürünlere kıyasla yara iyileşmesini arttırdığını ve ardından yaranın enfeksiyonunu azalttığını göstermektedir (Kondaveeti ve diğ., 2018).

Bu çalışmada, yara örtüsü uygulamalarında geleneksel yöntemlerin dezavantajlarını baskılayarak yara kapanmasını hızlandıran, GEN ilacı ile yüklenmiş PVA/JEL nanofiberleri elektroğirme yöntemi ile üretilmiştir. Nanofiberlerin taramalı elektron mikroskopu (SEM), Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (FT-IR), mekanik özellikleri, salım davranışları ve antibakteriyel aktivitesi incelenmiştir.

MATERYAL VE YÖNTEM (MATERIAL AND METHOD)

Polivinil alkol (PVA, Molekül ağırlığı = 89.000–98.000, %99 hidrolize), jelatin (JEL, sığır derisinden, B tipi), fosfat tamponlu tuzlu su (PBS, pH=7.4), glutaraldehit (GA) solüsyonu (H₂O içinde ağırlıkça %25, Mw~100.12) ve gentamisin (GEN) solüsyonu Sigma Aldrich (Saint Louis, MO, ABD) firmasından satın alındı. Tween 80, Merck'ten (Merck KGaA, 64271, Almanya) satın alındı.

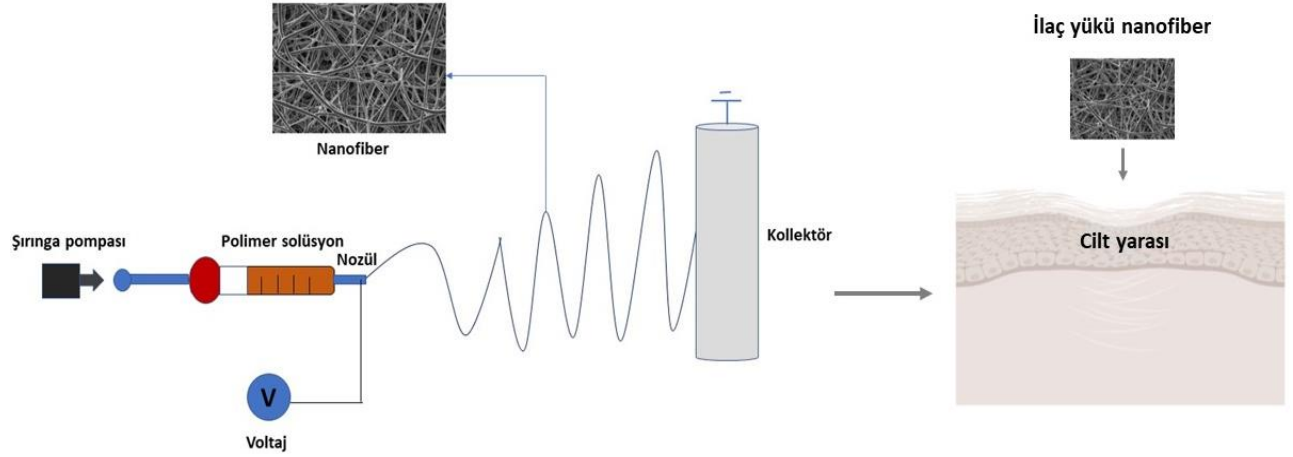
Çözeltinin Hazırlaması ve Karakterizasyonu (Preparation and Characterization of Solution)

%13 PVA (w/v) tozu 20 ml saf su içinde 90°C'de ve yaklaşık 1 saat manyetik karıştırıcıda (Wise Stir®, MSH-20 A, Almanya) karıştırılarak çözüldürüldü. Yüzey gerilimini azaltmak için, PVA çözeltisine damla damla ağırlıkça %3 Tween 80 ilave edildi ve çözelti, 15 dakika daha karıştırıldı. Bunu takiben çözeltiye sığır derisinden elde edilen ağırlıkça %0.5 JEL eklendi ve çözelti 60 °C'de 15 dakika karıştırıldı. Son olarak iki farklı oranda ağırlıkça %0.25 ve %0.5 GEN çözeltilere ayrı ayrı eklenmiş ve 1 saat karıştırıcıda karıştırılmıştır. Çapraz bağlama malzemesi olarak GA kullanılmıştır. Hazırlanan elektroğirme çözeltilerinin fiziksel karakterizasyonunu belirlemek için yoğunluk, elektriksel iletkenlik, yüzey gerilimi ve viskozite değerleri ölçülmüştür. Yoğunluk standart 10 ml'lik bir şişe kullanılarak ölçüldü. Elektrik iletkenliği Cond 3110 SET 1, WTW, Almanya kullanılarak ölçüldü. Yüzey gerilimi, bir kuvvet gerilim ölçer Sigma 703D, Attention, Almanya kullanılarak ölçülmüştür. Viskozite, bir DV-E, Brookfield AMETEK, ABD cihazı kullanılarak belirlendi. Tüm deneyler, ortam koşulunda (23 °C) gerçekleştirilmiştir.

Elektroğirme Prosesi (Electrospinning Process)

Çalışmada, elektroğirme cihazı kullanılarak nanofiber üretim süreci Şekil 1'de gösterilmektedir. Elektroğirme işlemi için laboratuvar ölçekli bir elektroğirme cihazı (NS24, Inovenso Co., Türkiye) kullanıldı. Elektroğirme işlemine başlamadan önce hazırlanan solüsyon şırıngaya aktarıldı. Çözeltinin akış hızını kontrol altında tutmak için şırınga pompası kullanıldı. Elektriksel potansiyel farkını sağlamak için iğnenin ucuna ve kollektöre yüksek voltajlı bir güç kaynağı bağlanmıştır. Nanofiberlerin toplanması

için zeminden 12 cm yüksekte konumlandırılan silindirik kollektörün etrafına yağlı kâğıt sarılmıştır. Şırınga pompasından gönderilen solüsyon 0.5 ml/saat akış hızında ve 25 kV voltaj değerindedir.



Şekil 1. Elektroğirme cihazının şematik gösterimi ve yara örtüsü uygulaması

Figure 1. Schematic presentation of the electrospinning device and wound dressing application

Nanofiberlerin Karakterizasyonu (Characterization of the Nanofibers)

Üretilen nanofiberlerin özelliklerini incelemek için karakterizasyon testleri yapılmıştır. Nanofiberlerin morfolojisini karakterize etmek için taramalı elektron mikroskobu (SEM, EVO LS 10, Zeiss) kullanıldı. Numunelerin yüzeyleri, analizden önce Quorum SC7620 püskürtme cihazı ile 120 saniye boyunca altın-paladyum ile kaplandı. Ortalama fiber çapları ve dağılımları, her numuneden rastgele seçilen 100 fiberin ölçümü kullanılarak görüntüleme yazılımı Olympus AnalySIS, ABD) kullanılarak hesaplandı.

Fourier-dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (FTIR) analizi, bir Jasco FT/IR-4700 model makine ile gerçekleştirilmiştir. Tüm spektrumlar, 4000–400 cm^{-1} tarama aralığında iletim modunda kaydedildi ve 4 cm^{-1} çözünürlükte 32 taramanın ortalaması alındı.

Nanofiberlerin mekanik özelliklerini belirlemek için bir çekme testi cihazı kullanıldı (Shimadzu Corporation, EZ-LX, Kyoto, Japonya). Bunun için nanofiberler 10 × 50 mm dikdörtgen boyutunda kesildi. Teste başlamadan önce nanofiberlerin kalınlığı bir dijital mikrometre (Mitutoyo MTI Corp., ABD) kullanılarak ölçüldü. Test hızı 5 mm/dk olarak ayarlandı ve test sırasında 0.1 N' luk kuvvet uygulandı. Her bir grup için ölçüm 3 kez tekrarlanmıştır.

GEN içeren nanofiberlerin antimikrobiyal aktivitesi, iki patojenik bakteriye (*Staphylococcus aureus* ATCC 29213 ve *P. aeruginosa* ATCC 27853) karşı agar disk difüzyon yöntemi kullanılarak belirlendi. Gece boyunca Mueller Hinton broth (Sigma Aldrich, ABD) içinde bekletilen bakteri kültürleri, aynı broth içindeki bakteriyel süspansiyonları hazırlamak için kullanıldı ve 0.5 McFarland türbidite standartına (1-2 × 10⁸ CFU/mL) ayarlandı. Elde edilen bakteriyel süspansiyonlar, otomatik inokülatör cihazı (Retro c80, AB Biodisk, Sweden) kullanılarak Mueller-Hinton agar plakalarına ekildi. Çapı 5 mm olacak şekilde fiberlerden kesilen diskler sterilizasyon için 1 saat UV ışığına (254 nm) maruz bırakıldı. Sterilize diskler, bakteri ile inoküle edilmiş Mueller-Hinton agar plakalarının yüzeyine yerleştirildi. Ampisilin içeren diskler (2 μg ve 10 μg), *S. aureus* ATCC 29213 ve *E. coli* ATCC 25922 için pozitif kontrol olarak kullanıldı. Plakalar 37 °C'de 18-20 saat inkübe edildi. İnkübasyondan sonra, disk etrafındaki büyüme inhibisyonunun zon çapı mm olarak ölçülmüştür.

İlaç yüklü nanofiberlerin *in vitro* salım çalışması, pH 7.4'te PBS içinde gerçekleştirilmiştir. İlaç salım testinin ilk adımı, GEN'in doğrusal kalibrasyon eğrisini elde etmektir. Beş farklı ilaç miktarı kullanılmış ve UV spektroskopisi (Shimadzu UV-3600, Kyoto, Japonya) kullanılarak 190-300 nm'de absorbans değerleri tespit edilmiştir. İlaç salım testini başlatmak için, PVA/ JEL nanofiberlerine yüklenen ~5 mg GEN yüklü

nanofiber tartıldı ve 1 mL PBS (pH 7.4) ile eppendorf tüplerine yerleştirildi. Ölçümler farklı zaman aralıklarında yapıldı. Test sırasında taze PBS kullanıldı.

SONUÇ ve TARTIŞMALAR (RESULTS and DISCUSSIONS)

Polimer Çözeltilerinin Fiziksel Karakterizasyonları (Physical Characterizations of Polymer Solutions)

Elektroçirime çözeltilerinin yoğunluk, yüzey gerilimi, elektriksel iletkenlik ve viskozite gibi fiziksel özellikleri, eğirme sürecini etkileyen en önemli parametrelerden biridir. Bu parametrelerin nanofiber oluşumunu ve elektrospun polimer lif homojenliğini etkilediği bulunmuştur. Eelektriksel iletkenlik ve viskozite, fiber çaplarını en çok etkileyen parametrelerdir. Elektriksel iletkenlik, üretilen fiberlerin yapısı için çok önemlidir. Çünkü yüksek elektriksel iletkenliğe sahip çözeltilerin fiber çapları üzerinde azaltıcı bir etkiye sahip olduğu bilinmektedir (Cesur ve diğ., 2020). Elektroçirmeye kullanılan çözeltilerin fiziksel özellikleri çizelge 1'de gösterilmiştir. PVA/JEL çözeltisinin yüzey gerilimi ve viskozitesi sırasıyla 30.2 (mN/m) ve 5.30 ($\mu\text{S}/\text{cm}$)'dir Yang ve diğ., 2007). PVA/JEL çözeltisine farklı miktarlarda GEN ilavesi çözeltinin viskozitesini arttırmış elektiriksel iletkenliğini azaltmıştır.

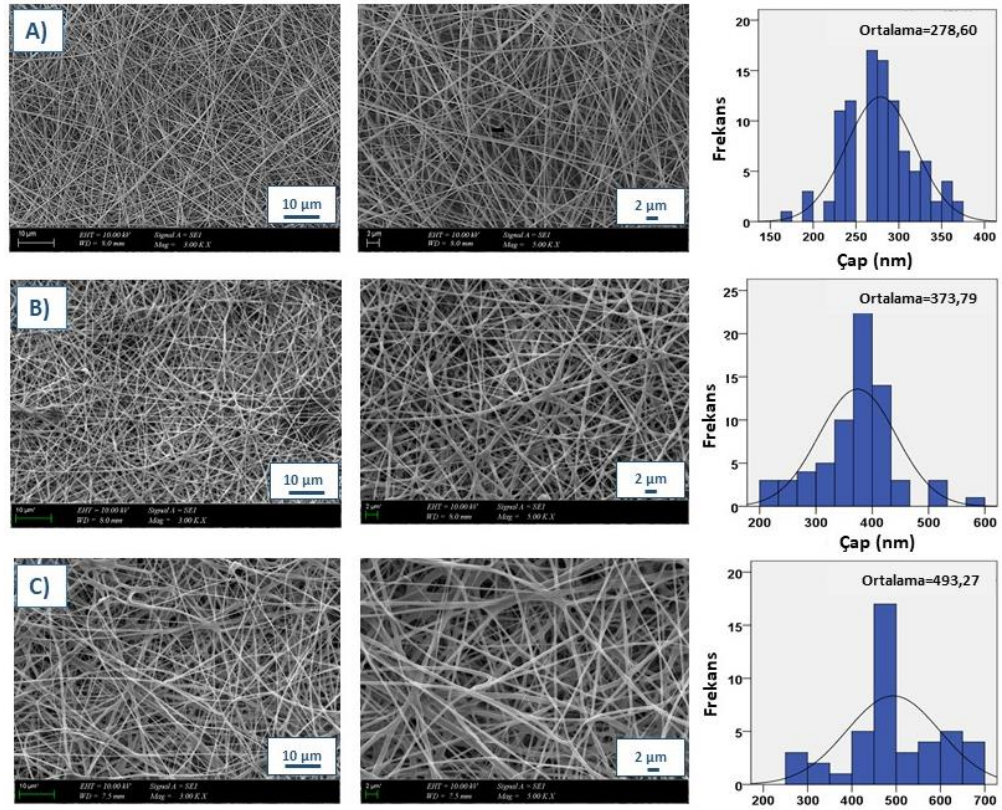
Çizelge 1. Solüsyonların Fiziksel Karakterizasyonları

Table 1. Physical characterization of solutions

Çözeltiler	Yoğunluk (kg/m ³)	Yüzey gerilimi (mN/m)	Viskozite (mPa.s)	Elektriksel iletkenlik ($\mu\text{S}/\text{cm}$)
PVA/JEL	1.4	30.2	780	5.30
PVA/JEL/0.25GEN	1.5	31.5	784	5.20
PVA/JEL/0.5GEN	1.6	33.4	790	5.01

Nanofiberlerin Morfolojik Karakterizasyonu (Morphological Characterization of Nanofibers)

Üretilen nanofiberlerin yüzey morfolojileri SEM kullanılarak analiz edildi. Nanofiberlerin SEM görüntüleri ve çap dağılımları Şekil 2'de gösterilmiştir. İlaç yüklü olmayan ve ilaç yüklü nanofiberler için herhangi bir boncuk olmadan oldukça homojen ve pürüzsüz nanofiberler elde edilmiştir. PVA/JEL, PVA/JEL/0.25GEN ve PVA/JEL/0.5GEN nanofiberlerinin ortalama çapları sırasıyla 278 ± 40 nm, 373 ± 68 nm ve 493 ± 105 nm olarak ölçüldü. İlaç yüklü nanofiberlerin çaplarında saf nanofiberlere göre artış olduğu gözlemlendi. Bu, elektroçirme çözeltisine, GEN yüklemenin elektriksel iletkenliği ve viskoziteyi artırarak daha büyük çaplı nanofiberlerin oluşumuna yol açacağı gerçeğine bağlanabilir. Araştırmalar, saf nanofiberlere yüklenen ilacın çaplarında artışa neden olmasının bu durumu desteklediğini göstermiştir (Cam ve diğ., 2021). Bunun yanısıra Ceylan ve diğ. farklı oranlarda (%2.5 ve %10) GEN yüklü PCL nanofiberlerin çaplarında, GEN yüklü olmayan PCL nanofiberine kıyasla daha yüksek bir artış gözlemlenmiştir (Ceylan ve diğ., 2017). Bu muhtemelen GEN konsantrasyonu arttıkça çözeltilerin viskozitesindeki artıştan kaynaklanabilir.

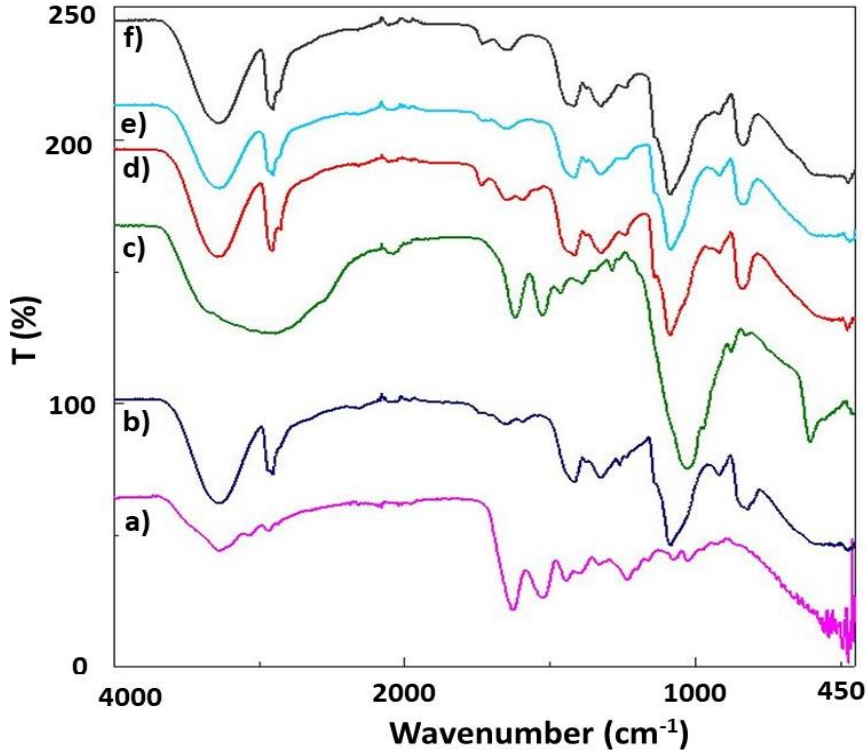


Şekil 2. Nanofiberlerin SEM görüntüleri ve çap dağılımları; (a) PVA/JEL, (b) PVA/JEL/0.25GEN ve (c) PVA/JEL/0.5GEN

Figure 2. SEM images and diameter distributions of nanofibers; (a) PVA/GEL, (b) PVA/JEL/0.25GEN, and (c) PVA/JEL/0.5GEN

FTIR Analizi (FTIR Analysis)

Nanofiberlerin fonksiyonel gruplarını araştırmak için FTIR analizi yapıldı (Şekil 3). Saf JEL için (Şekil 3(a)), 3277 cm^{-1} 'de N-H uzanan, 2933 cm^{-1} 'de C-H uzanan, 1525 cm^{-1} 'de N-H bükülen ve 1626 cm^{-1} 'de C-O uzanan karakteristik absorpsiyon bantları gözlemlendi (Ahlawat ve diğ., 2019). Saf PVA için (Şekil 3 (b)), $\sim 3268.75\text{ cm}^{-1}$ (O-H grubu, N-H amino grubu), $\sim 2910\text{ cm}^{-1}$ (C-H germe titreşimi), $\sim 1646.91\text{ cm}^{-1}$, $\sim 1417.42\text{ cm}^{-1}$ (C-O), $\sim 1326.79\text{ cm}^{-1}$ (C-H bükme), $\sim 1261.22\text{ cm}^{-1}$ (C=O titreşimi), $\sim 1085.73\text{ cm}^{-1}$ (C-O grubu), $\sim 917.95\text{ cm}^{-1}$ (C-C germe) ve $\sim 821.53\text{ cm}^{-1}$ (C-O germe)'de keskin bantlar gözlemlendi (Cesur ve diğ., 2021). (Şekil 3 (c))'de GEN, 1619 cm^{-1} ve 1519 cm^{-1} 'de (birincil aromatik aminlerin NH bükülme titreşimleri) ana tepe noktalarına sahipti. 1031 ve 605 cm^{-1} 'de gözlenen diğer tepe noktaları, S-O eğilme titreşimi ve S-O gerilmesi şeklindeki kükürt içeriğinden kaynaklanmaktadır (Mosselhy ve diğ., 2018). Şekil 3(d)'de, PVA/JEL'in FTIR spektrumu, saf PVA'nın tepesini belirleyen 1261 cm^{-1} 'deki tepesinin yanı sıra saf PVA ile hemen hemen eşit bir spektruma sahipti. 3270 cm^{-1} 'deki absorpsiyon bandınının JEL ilavesi ile 3278 cm^{-1} 'e kaydığı görülmektedir. Şekil 3 (e, f), PVA/JEL'e iki farklı oranda GEN ilavesini gösteren absorptans spektrumudur. Spektrumda GEN ilavesi ile çok az kaymalar meydana gelmiş ve PVA/JEL'in absorptans spektrumunu etkilemiştir.



Şekil 3. (a) Saf JEL, (b) saf PVA, (c) GEN (d) PVA/JEL, (e) PVA/JEL/0.25GEN, (f) PVA/JEL/0.5GEN 'in FTIR spektrumları

Figure 3. FTIR spectra of (a) pure GEL, (b) pure PVA, (c) GEN, (d) PVA/JEL, (e) PVA/JEL/0.25GEN, (f) PVA/JEL/0.5GEN

Nanofiberlerin Mekanik Özellikleri (Mechanical Properties of Nanofibers)

Üretilen nanofiberlerin hem gerilme mukavemeti hem de kopma uzaması araştırıldı ve sonuçlar çizelge 2'de gösterildi. Sonuçlar incelendiğinde PVA/JEL nanofiberinin, 6.31 ± 0.23 MPa'lık bir gerilme mukavemetine ve 11.00 ± 4.48 'lik bir kopma uzama değerine sahip olduğu görüldü. Ağırlıkça %0.25 ve %0.5 GEN, bu PVA/JEL nanofiberlerine ayrı ayrı yüklendiğinde, gerilme mukavemetleri sırasıyla 4.30 ± 0.58 ve 3.95 ± 0.24 MPa idi. Kopmadaki uzama ise sırasıyla 7.58 ± 0.16 , ve 6.61 ± 3.07 'dir. GEN' in PVA/JEL nanofiberlerine yüklenmesinin gerilme mukavemetini ve uzama miktarını azalttığı görülüyor. Cam ve diğ., ilacı nanofiberlere yüklediklerinde mekanik özelliklerin azaldığını gözlemlediler (Cam ve diğ., 2021). Sonuç olarak farklı miktardaki GEN, PVA/JEL nanofiberine yüklendikçe, fiber çapında ve dispersiyonunda artış gözlemlendi.

Çizelge 2. Nanofiberlerin Çekme Özellikleri

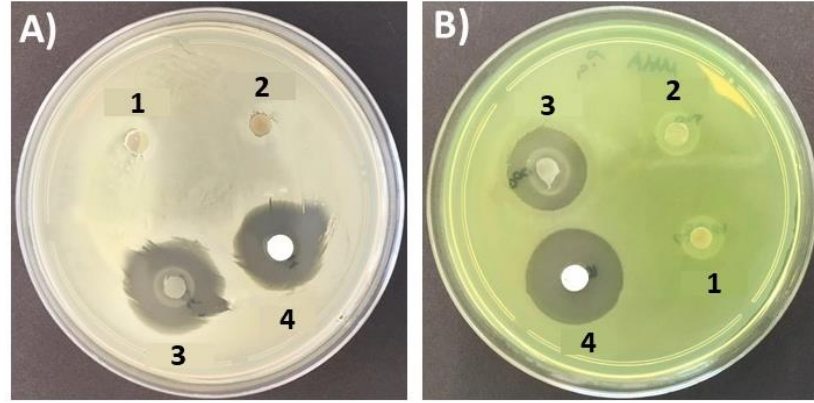
Table 2. Tensile properties of the nanofibers

Nanofiber	Çekme Dayanımı (MPa)	Kopma uzaması(%)
PVA/JEL	6.31 ± 0.23	11.00 ± 4.48
PVA/JEL/0.25GEN	4.30 ± 0.58	7.58 ± 0.16
PVA/JEL/0.5GEN	3.95 ± 0.24	6.61 ± 3.07

Nanofiberlerin Antimikrobiyal Özellikleri (Antimicrobial Properties of the Nanofibers)

Numunelerin antimikrobiyal aktivitesi, yara iyileşme performansında önemli bir unsurdur. Yara yüzeyindeki bakteriyel aktivite, iltihaplanma ve enfeksiyona neden olur ve iyileşmeyi geciktiren toksik metabolitler üretir (Hajikhani ve diğ., 2021). Nanofiberlerin antimikrobiyal aktivite sonuçları Şekil 4 ve

Çizelge 3'de verilmiştir. Nanofiberler *P. aeruginosa* (ATCC 27853), *S. aureus* (ATCC 29213)'e karşı test edildi. Sonuçlar incelendiğinde PVA/JEL/0.25GEN nanofiberlerin *P. aeruginosa* ve *S. aureus*'a karşı antibakteriyel aktiviteye sahip olmadığı görülmüştür. Öte yandan PVA/JEL/0.5GEN nanofiberlerinin, *P. aeruginosa* ve *S. aureus*'a karşı inhibisyon zonu oluşturduğu gözlemlendi ve *S. aureus*'a ve *P. aeruginosa* karşı antibakteriyel aktivitesi sırasıyla 23 ± 2 mm ve 17 ± 2 mm'dir. Sonuç olarak, GEN konsantrasyonunun artması ile nanofiberlerin antibakteriyel özelliklerinin önemli ölçüde iyileştiği bulunmuştur (Ceylan ve diğ., 2017).



Şekil 4. Nanofiberlerin antimikrobiyal aktivitesinin, (A) *S. aureus* ve (B) *P. aeruginosa* 'a karşı sonucudur. (1) PVA/JEL, (2) PVA/JEL/0.25GEN, (3) PVA/JEL/0.5GEN ve (4) GEN (kontrol)

Figure 4. It is the result of the antimicrobial activity of the nanofiber against (A) *S. aureus* and (B) *P. aeruginosa*. (1) PVA/JEL, (2) PVA/JEL/0.25GEN, (3) PVA/JEL/0.5GEN, and (4) GEN (control).

Çizelge 3. Örneklerin inhibisyon zonu değerleri

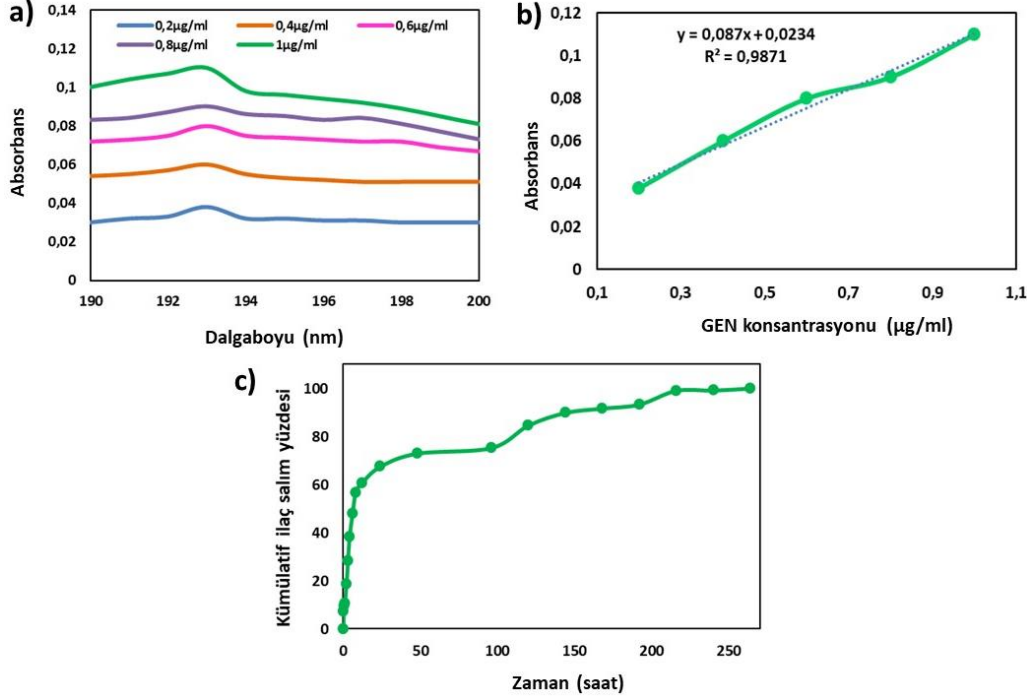
Table 3. The inhibition zone values of the samples

Örnekler	<i>Staphylococcus aureus</i> İnhibisyon zonu (mm)	<i>P. aeruginosa</i> İnhibisyon zonu (mm)
PVA/JEL	0	0
PVA/JEL/0.25GEN	0	0
PVA/JEL/0.5GEN	23 ± 2	17 ± 2
GEN (kontrol)	22 ± 1	21 ± 2

In Vitro İlaç Salım Çalışması (In Vitro Drug Release Study)

PVA/JEL/0.5GEN nanofiberinin *P. aeruginosa* ve *S. aureus*'a karşı antibakteriyel aktiviteye sahip olduğu görülmüştür. Bu yüzden ilaç salım çalışmaları bu grupta gerçekleştirilmiştir. GEN'in nanofiberden salım özelliklerini araştırmak için *in vitro*, ilaç salım testleri yapılmıştır. PVA/JEL/0.5GEN nanofiberinden GEN'in salım profili 37°C'lik bir çalkalayıcıda incelendi ve sonuçlar Şekil 5'te verildi. Şekil 5a, beş farklı solüsyonla (0.2, 0.4, 0.6, 0.8 ve 1 µg/mL) belirlenen kalibrasyon eğrisini temsil ediyor. Şekil 5b ise, GEN için 196 nm'de kalibrasyon eğrisinden elde edilen absorbans grafiğini göstermektedir. Şekil 5c, GEN'in nanofiberlerden kümülatif salım grafiğini göstermektedir. Grafiğe göre ilk 1 saatte salım yüzdesi %10.76'e ulaştı. Daha sonra ilacın %67.5'inin ilk 24 saat içinde, % 75.26'sının ise 96 saatte salındığı görülmektedir. Toplam kümülatif salım grafiği incelendiğinde, PVA/JEL/0.5GEN nanofiberinden ilaç salımının %100'e tamamlanması 264. saate kadar uzayan bir salım profili sergilediği gözlemlenmiştir. Sonuç olarak GEN yüklü nanofiberlerde 11 güne kadar süren kontrollü salım sağlandığı söylenebilir. Elde edilen sonuçlara göre suda çözünür ve hidrofilik olan GEN ilk 24 saatte fiberden hızlı salım profili sergilemiştir. GEN'in hidrofilik doğası ve suda çözünürlüğünün, PVA/JEL nanofiberleri içinde daha iyi entegrasyona neden olduğu ve çapraz bağlamanın etkisiyle salınımı uzattığı fark edilebilir. PVA nanofiberlerin GA buharı ile çapraz bağlandığında, GA'nın uçları ile nanofiberlerin hidroksil grupları

arasında suda çözünürlüklerini azaltan asetil köprüleri oluşur. Bu çalışmada, PVA/JEL/0.5GEN nanofiberi 3 saat boyunca GA buharı ile çapraz bağlanmıştır ve bu, ilacın daha kontrollü bir salımı ile sonuçlanmıştır (Cui ve diğ., 2018).



Şekil 5. PVA/JEL/0.5GEN nanofiberlerinin in vitro ilaç salım profilleri: (a) GEN' in farklı konsantrasyonlarda absorpsiyon spektrumları, (b) GEN kalibrasyon eğrisi, (c) PVA/JEL/0.5GEN nanofiberden ilaç salım profilleri. Tüm ölçümler üç kez tekrarlandı ve hatalar %5'ten azdı.

Figure 5. In vitro drug release profiles of PVA/JEL/0.5GEN nanofibers: (a) Absorption spectra of GEN at different concentrations, (b) GEN calibration curve, (c) drug release profiles from the PVA/JEL/0.5GEN nanofiber. All the measurements were repeated three times, and the errors were less than 5%.

SONUÇ (CONCLUSION)

Bu çalışmada, yara örtüsü uygulamaları için PVA/JEL, PVA/JEL/0.25GEN, ve PVA/JEL/0.5GEN nanofiberleri elektroçizme yöntemi ile başarıyla üretilmiştir. Üretilen nanofiberlerin mekanik mukavemetini arttırmak ve hızlı bozulmalarını önlemek için GA buharı ile çapraz bağlama yapılmıştır. Nanofiberlerin SEM görüntüleri incelendiğinde, boncuksuz düzgün bir yapıya oldukları ve yüzeyde ilaç kristalleri ve kümeleri görülmediği gözlemlendi. Ayrıca nanofiber içerisindeki ilaç miktarındaki artış fiber çaplarında az bir artışa neden olsa da lif morfolojilerini olumsuz etkilememiştir. FTIR ile PVA, JEL ve GEN arasındaki etkileşim kanıtlanmıştır. Çekme testine göre, GEN miktarı arttıkça mekanik mukavemetinin saf nanofibere göre zayıfladığı gözlemlenmiştir. Antimikrobiyal aktivite sonuçlarına bakıldığında, PVA/JEL/0.25GEN nanofiberinde herhangi bir antibakteriyel etki görülmezken, PVA/JEL/0.5GEN nanofiberinde *P. aeruginosa* ve *S. aureus*'a karşı inhibisyon zonu oluşturduğu gözlemlendi ve *S. aureus*'a ve *P. aeruginosa* karşı antibakteriyel aktivitesi sırasıyla 23 ± 2 mm ve 17 ± 2 mm'dir. Sonuç olarak, GEN konsantrasyonunun artması ile nanofiberlerin antibakteriyel özelliklerinin önemli ölçüde iyileştiği bulunmuştur. Antibakteriyel etki görülen PVA/JEL/0.5GEN nanofiberinde ilaç salım çalışmaları gerçekleştirilmiştir. İlaç salım sonuçlarına göre, GEN' in nanofiberden 264 saate kadar uzayan bir salım profili sergilediği gözlemlenmiştir. Tüm sonuçlar değerlendirildiğinde, GEN içeren nanofiberler, doku mühendisliği ve yara örtüsü uygulamalarında umut verici bir potansiyele sahip olabilir.

KAYNAKLAR (REFERENCES)

- Aadil, K. R., Mussatto, S. I., Jha, H., 2018, "Synthesis and characterization of silver nanoparticles loaded poly (vinyl alcohol)-lignin electrospun nanofibers and their antimicrobial activity" *International journal of biological macromolecules*, Cilt 120, ss. 763-767.
- Abrigo, M., McArthur, S. L., Kingshott, P., 2014, "Electrospun nanofibers as dressings for chronic wound care: advances, challenges, and future prospects", *Macromolecular bioscience*, Cilt 14, Sayı 6, ss. 772-792.
- Ahlawat, J., Kumar, V., Gopinath, P., 2019, "Carica papaya loaded poly (vinyl alcohol)-gelatin nanofibrous scaffold for potential application in wound dressing", *Materials Science and Engineering: C*, Cilt 103, ss. 109834.
- Angamma, C. J., Jayaram, S. H., 2016, "Fundamentals of electrospinning and processing technologies", *Particulate Science and Technology*, Cilt 34, Sayı 1, 72-82.
- Bakhsheshi-Rad, H. R., Ismail, A. F., Aziz, M., Hadisi, Z., Omidi, M., Chen, X., 2019, "Antibacterial activity and corrosion resistance of Ta₂O₅ thin film and electrospun PCL/MgO-Ag nanofiber coatings on biodegradable Mg alloy implants", *Ceramics International*, Cilt 45, Sayı 9, ss. 11883-11892.
- Bakhsheshi-Rad, H. R., Hadisi, Z., Ismail, A. F., Aziz, M., Akbari, M., Berto, F., Chen, X. B., 2020, "In vitro and in vivo evaluation of chitosan-alginate/gentamicin wound dressing nanofibrous with high antibacterial performance", *Polymer Testing*, Cilt 82, ss. 106298.
- Cam, M. E., Ertas, B., Alenezi, H., Hazar-Yavuz, A. N., Cesur, S., Ozcan, G. S., ..., Edirisinghe, M., 2021, "Accelerated diabetic wound healing by topical application of combination oral antidiabetic agents-loaded nanofibrous scaffolds: An in vitro and in vivo evaluation study", *Materials Science and Engineering: C*, Cilt 119, ss. 111586.
- Cesur, S., Ulag, S., Ozak, L., Gumussoy, A., Arslan, S., Yilmaz, B. K., ..., Gunduz, O., 2020, "Production and characterization of elastomeric cardiac tissue-like patches for Myocardial Tissue Engineering", *Polymer Testing*, Cilt 90, ss. 106613.
- Cesur, S., Cam, M. E., Sayin, F. S., Su, S., Harker, A., Edirisinghe, M., Gunduz, O., 2021, "Metformin-Loaded Polymer-Based Microbubbles/Nanoparticles Generated for the Treatment of Type 2 Diabetes Mellitus", *Langmuir*. Cilt 38, Sayı 17, ss. 5040-5051.
- Cesur, S., Cam, M. E., Sayin, F. S., Gunduz, O., 2022, "Electrically controlled drug release of donepezil and BiFeO₃ magnetic nanoparticle-loaded PVA microbubbles/nanoparticles for the treatment of Alzheimer's disease", *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, Cilt 67, ss. 102977.
- Ceylan, M., Yang, S. Y., Asmatulu, R., 2017, "Effects of gentamicin-loaded PCL nanofibers on growth of Gram positive and Gram negative bacteria", *Cilt 5*, ss. 40-51.
- Cui, Z., Zheng, Z., Lin, L., Si, J., Wang, Q., Peng, X., Chen, W., 2018, "Electrospinning and crosslinking of polyvinyl alcohol/chitosan composite nanofiber for transdermal drug delivery", *Advances in Polymer Technology*, Cilt 37, Sayı 6, ss. 1917-1928.
- Foroutan Koudehi, M., Zibaseresht, R., 2020, "Synthesis of molecularly imprinted polymer nanoparticles containing gentamicin drug as wound dressing based polyvinyl alcohol/gelatin nanofiber", *Materials Technology*, Cilt 35, sayı 1, ss. 21-30.
- Hajikhani, M., Emam-Djomeh, Z., Askari, G., 2021, "Fabrication and characterization of mucoadhesive bioplastic patch via coaxial polylactic acid (PLA) based electrospun nanofibers with antimicrobial and wound healing application", *International Journal of Biological Macromolecules*, Cilt 172, ss. 143-153.
- Kondaveeti, S., de Assis Bueno, P. V., Carmona-Ribeiro, A. M., Esposito, F., Lincopan, N., Sierakowski, M. R., Petri, D. F. S., 2018, "Microbicidal gentamicin-alginate hydrogels", *Carbohydrate polymers*, Cilt 186, ss. 159-167.
- Konop, M., Czuwara, J., Kłodzińska, E., Laskowska, A. K., Zielenkiewicz, U., Brzozowska, I., ..., Rudnicka, L., 2018, "Development of a novel keratin dressing which accelerates full-thickness skin wound healing in diabetic mice: In vitro and in vivo studies", *Journal of Biomaterials Applications*, Cilt 33, Sayı 4, ss. 527-540.

- Koudehi, M. F., Pourmortazavi, S. M., 2018, "Polyvinyl alcohol/polypyrrole/molecularly imprinted polymer nanocomposite as highly selective chemiresistor sensor for 2, 4-DNT vapor recognition", *Electroanalysis*, Cilt 30, Sayı 10, ss. 2302-2310.
- Kumar, V., Naqvi, S., Gopinath, P., 2018, "Applications of nanofibers in tissue engineering", In *Applications of nanomaterials*, Woodhead Publishing, ss. 179-203.
- Lv, X., Zhang, W., Liu, Y., Zhao, Y., Zhang, J., Hou, M., 2018, "Hygroscopicity modulation of hydrogels based on carboxymethyl chitosan/Alginate polyelectrolyte complexes and its application as pH-sensitive delivery system", *Carbohydrate polymers*, Cilt 198, ss. 86-93.
- Mosselhy, D. A., He, W., Hynönen, U., Meng, Y., Mohammadi, P., Palva, A., ..., Linder, M. B., 2018, "Silica-gentamicin nanohybrids: combating antibiotic resistance, bacterial biofilms, and in vivo toxicity", *International journal of nanomedicine*, Cilt 13, ss. 7939.
- Ohyabu, Y., Hatayama, H., Yunoki, S., 2014, "Evaluation of gelatin hydrogel as a potential carrier for cell transportation", *Journal of bioscience and bioengineering*, Cilt 118, Sayı 1, ss. 112-115.
- Pásztor, N., Rédei, E., Szabó, Z. I., Sipos, E., 2017, "Preparation and characterization of levofloxacin-loaded nanofibers as potential wound dressings", *Acta Marisiensis-Seria Medica*, Cilt 63, Sayı 2, ss. 66-69.
- Reneker, D. H., Yarin, A. L., Zussman, E., Xu, H., 2007, "Electrospinning of nanofibers from polymer solutions and melts" *Advances in applied mechanics*, Cilt 41, ss. 43-346.
- Sikareepaisan, P., Ruktanonchai, U., Supaphol, P., 2011, "Preparation and characterization of asiaticoside-loaded alginate films and their potential for use as effectual wound dressings", *Carbohydrate Polymers*, Cilt 83, Sayı 4, ss. 1457-1469.
- Tao, G., Wang, Y., Cai, R., Chang, H., Song, K., Zuo, H., ..., He, H., 2019, "Design and performance of sericin/poly (vinyl alcohol) hydrogel as a drug delivery carrier for potential wound dressing application", *Materials Science and Engineering: C*, Cilt 101, ss. 341-351.
- Wutticharoenmongkol, P., Samanmak, V., 2021, "Electrospun centella asiatica leaf extract-loaded poly (vinyl alcohol)/gelatin fiber mats as potential wound dressings", *Interdisciplinary Research Review*, Cilt 16, Sayı 6, ss. 38-46.
- Yang, D., Li, Y., Nie, J., 2007, "Preparation of gelatin/PVA nanofibers and their potential application in controlled release of drugs", *Carbohydrate Polymers*, Cilt 69, Sayı 3, ss. 538-543.