# CDP-KOLİN KATKILI NANOLİFLİ YARA ÖRTÜLERİNİN ÜRETİMİ, KARAKTERİZASYONU VE İN VİVO PERFORMANSLARININ ARAŞTIRILMASI

**Sema IŞIK DOKUZOĞLU**

T.C.
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

# CDP-KOLİN KATKILI NANOLİFLİ YARA ÖRTÜLERİNİN ÜRETİMİ, KARAKTERİZASYONU VE İN VİVO PERFORMANSLARININ ARAŞTIRILMASI

Sema IŞIK DOKUZOĞLU
ORCID: 0009-0004-0640-031X

Prof. Dr. Gökhan GÖKTALAY
(Danışman)

YÜKSEK LİSANS
BİYOMALZEMELER ANABİLİM DALI

BURSA – 2024
**Her Hakkı Saklıdır**

## ÖZET

Yüksek Lisans

CDP-KOLİN KATKILI NANOLİFLİ YARA ÖRTÜLERİNİN ÜRETİMİ, KARAKTERİZASYONU VE İN VİVO PERFORMANSLARININ ARAŞTIRILMASI

**Sema IŞIK DOKUZOĞLU**

Bursa Uludağ Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyomalzemeler Anabilim Dalı

**Danışman:** Prof. Dr. Gökhan GÖKTALAY
**İkinci Danışman:** Doç. Dr. Şebnem DÜZYER GEBİZLİ

Bu tez çalışmasının amacı, elektro çekim yöntemiyle CDP-kolin katkılı nanolifli yüzeylerin üretilip, yara örtüsü olarak kullanım performanslarının incelenmesidir. Bu kapsamda, selüloz asetat (CA) ve polikaprolakton (PCL) polimerlerinden CDP-kolin katkılı nanolifli yüzeyler üretilerek, karakterize edilmiştir. Nanolif yüzeylerin *in vitro* ilaç salıverme performanslarına bakılmıştır, yüzeylerin *in vivo* olarak yara iyileşmesi üzerine olan etkinliği gösterilmiştir. Üretilen yüzeylerin karakterizasyonu için Fourier dönüşüm kızılötesi (FTIR) spektroskopisi, taramalı elektron mikroskobu (SEM) ve temas açısı ölçümleri yapılmıştır. CDP-kolin katkılı nanolifli yüzeylerden, etken madde salıverilmesi ultraviyole-görünür ışık (UV-VIS) spektrofotometre ile ölçülmüştür. Analizler sonunda, en düzgün nanolifli yüzey morfolojisine ve etken madde salıverme potansiyeline sahip numune CA nanolifli yüzey olarak belirlenmiştir. Belirlenen numune ile *in vivo* deneyler gerçekleştirilmiştir. CDP-kolin katkılı CA nanolifli yüzeylerin, yara iyileşmesi üzerine olan etkinliği sıçanlarda yara modeli oluşturularak, ticari bir ürün ve katkısız CA nanolifli yüzey ile karşılaştırılarak gösterilmiştir.

Bu çalışmanın sonucunda; CDP-kolin katkılı nanolifli yara örtülerin, katkısız CA nanolifli yara örtüsünden daha iyi performans sergilediği, ticari yara örtüsüne göre ilk günlerde daha hızlı yara iyileşmesi gerçekleştiği görülmüştür.



**Anahtar Kelimeler:** Biyomalzeme, CDP-kolin, selüloz asetat, polikaprolaktan, elektro çekim, nanolif, yara örtüsü

**2024, viii + 62 sayfa.**

## ABSTRACT

MSc Thesis

PRODUCTION, CHARACTERIZATION AND INVESTIGATION OF IN VIVO PERFORMANCE OF CDP-KOLIN LOADED NANOFIBROUS WOUND DRESSINGS

**Sema IŞIK DOKUZOĞLU**

Bursa Uludağ University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biomaterials

**Supervisor:** Prof. Dr. Gökhan GÖKTALAY
**Second Supervisor:** Assoc. Prof. Dr. Şebnem DÜZYER GEBİZLİ

The aim of this thesis is to produce CDP-choline-loaded nanofiber mats using electrospinning and to investigate their performance as wound dressings. In this context, CDP-choline-loaded cellulose acetate (CA) and polycaprolactone (PCL) nanofibrous mats were produced and characterized. The *in vitro* drug release performance of the nanofibrous mats was evaluated, and the effectiveness of the mats on wound healing was demonstrated *in vivo*. For the characterization of the samples, Fourier Transform Infrared (FTIR) spectroscopy, scanning electron microscopy (SEM), and contact angle measurements were conducted. The release of active substances from CDP-choline-loaded nanofibrous mats was measured using ultraviolet-visible (UV-VIS) spectrophotometry. As a result of the analyses, the sample with the most uniform nanofiber surface morphology and active substance release potential was determined to be the CA nanofiber surface. *In vivo* experiments were conducted with the this sample. The effectiveness of CDP-choline doped CA nanofiber surfaces on wound healing was demonstrated in rats by creating a wound model and comparing it with a commercial product and pristine CA nanofibrous mat.

In conclusion, it was observed that CDP-choline-loaded nanofiber wound dressings performed better than pristine CA nanofiber wound dressings and achieved faster wound healing in the early days compared to commercial wound dressings.



**Keywords:** Biomaterial, CDP-choline, cellulose acetate, polycaprolactone, electrospinning, nanofiber, wound dressing

**2024, viii+ 62 pages.**

## TEŞEKKÜR

Yüksek lisans eğitimim boyunca değerli bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan, yaşadığım her zorlukta güler yüzüyle ve fikirleriyle destek olan, bana yol gösteren, üzerimde çok büyük emeği olan, öğrencisi olmaktan onur duyduğum değerli danışmanım sayın Prof. Dr. Gökhan GÖKTALAY'a

Yüksek lisans eğitimim boyunca yardımlarını, değerli bilgi ve tecrübesini benden esirgemeyen, laboratuvarında çalışma imkânı veren ve yaşadığım tüm zorluklarda deneyimleriyle ve anlayışıyla destekçi olan çok değerli ikinci danışmanım sayın Doç. Dr. Şebnem DÜZYER GEBİZLİ'ye

Çalışmalarımı yapmamı ve tüm olanaklarından yararlanmamı sağlayan Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı'na ve saygıdeğer hocalarıma,

Yüksek lisans eğitimimin ilk gününden son gününe kadar her zaman yanımda olan, tüm bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan, her zaman sabırla ve güler yüzle tüm sorularımı cevaplayan, çalışmam boyunca yol göstericim olan Şule Mergen'e, tecrübeleriyle bana destek olan, bilgisini aktaran, in vivo deneylerde yardımlarını eksik etmeyen biyolog Erkan Ermiş'e, yaşadığım zorluklarda bilgi ve tecrübesiyle her zaman yardımcı olan Dr. Ömer Faruk ÖZDEMİR'e,

Son olarak, hiçbir zaman beni yalnız bırakmayan, üzerimde büyük emekleri olan, her şey için minnettar olduğum sevgili ailem ve eşime sonsuz teşekkür ederim.

Sema IŞIK DOKUZOĞLU
…/…/…….

# İÇİNDEKİLER


| | sayfa |
|---|---|
| ÖZET…… | i |
| ABSTRACT…… | ii |
| TEŞEKKÜR…… | iii |
| SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ…… | vi |
| ŞEKİLLER DİZİNİ…….. | vii |
| ÇİZELGELER DİZİNİ……. | viii |
| 1.GİRİŞ……. | 1 |
| 2.KURAMSAL TEMELLER VE KAYNAK ARAŞTIRMASI…….. | 2 |
| 2.1. Biyomalzemeler……. | 2 |
| 2.1.1 Biyomalzemelerin özellikleri…….. | 3 |
| 2.1.2. Biyomalzeme çeşitleri…… | 4 |
| 2.2. Yara örtüleri…….. | 6 |
| 2.2.1. Yara örtüsü çeşitleri…… | 7 |
| 2.3. Nanolifli yara örtüleri…… | 9 |
| 2.4. Nanolif üretim yöntemleri……. | 10 |
| 2.5. Elektro çekim yöntemi…….. | 13 |
| 2.5.1 Elektro çekim cihazı bölümleri…… | 13 |
| 2.5.2. Elektro çekim yöntemi ile lif oluşumu……... | 14 |
| 2.5.3. Elektro çekim yöntemi parametreleri……. | 15 |
| 2.6. Polikaprolakton (PCL)…….. | 20 |
| 2.7. Selüloz asetat (CA)…… | 21 |
| 2.8. CDP-kolin…….. | 22 |
| 2.8.1. CDP-kolin yapısı ve sentezi……... | 22 |
| 2.8.2. CDP-kolin metabolizması…….. | 23 |
| 3.MATERYAL VE YÖNTEM…… | 24 |
| 3.1. Materyal……. | 24 |
| 3.1.1. Nanolifli yüzey üretiminde kullanılan kimyasal maddeler…… | 24 |
| 3.1.2. Salıverme çalışmasında kullanılan kimyasal maddeler…….. | 24 |
| 3.1.3. *In vivo* çalışmada kullanılan kimyasal maddeler…… | 25 |
| 3.1.4. Çalışmada kullanılan cihazlar ve materyaller…… | 26 |
| 3.2. YÖNTEM…….. | 31 |
| 3.2.1. Nanolifli yara örtüsü yüzeyi üretimi…….. | 31 |
| 3.2.2. Nanolifli yüzeylerin karakterizasyonu……... | 33 |

3.2.3. Nanolifli yüzeylerin sterilizasyonu…… 34
3.2.4. Nanolifli yüzeylerden etken madde salıverme çalışması……... 34
3.2.5. Nanolifli yüzeylerin yara örtüsü olarak *in vivo* uygulamaları…… 35
4. BULGULAR VE TARTIŞMA…… 38
4.1. Polimer çözeltilerinin karakterizasyon sonuçları…….. 38
4.2. Nanolifli yüzeylerin üretim ve karakterizasyon sonuçları…… 39
4.2.1. SEM analizi…… 39
4.2.2. Temas açısı ölçüm sonuçları…….. 41
4.2.3. Gözenek boyutu ve gözeneklilik tayini…….. 42
4.2.4. FTIR analizi sonuçları…… 43
4.3. *In vitro* CDP-kolin salıverilme sonuçları…….. 45
4.4. *In vivo* çalışmaların sonuçları…… 49
5. SONUÇ…… 52
KAYNAKLAR……. 55
ÖZGEÇMİŞ…….. 62

## SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

| Simgeler | Açıklama |
|---|---|
| % | Yüzde |
| μ | Mikro |
| °C | Sıcaklık |
| $m^2$ | Metrekare |
| v | Hacim |
| w | Ağırlık |

| Kısaltmalar | Açıklama |
|---|---|
| CA | Selüloz asetat |
| CCT | Fosfokolin sitidil transferaz |
| CTP | Fosfokolin sitidin-5'-trifosfat |
| DMAc | N,N Dimetilasetamid |
| DMF | Dimetilformamid |
| ECM | Ekstrasellüler matriks |
| FTIR | Fourier transform infrared spektrometresi |
| ISO | Uluslararası Standardizasyon Örgütü |
| PBS | Fosfat tamponu |
| PCL | Polikaprolakton |
| PU | Poliüretan |
| PVA | Polivinilalkol |
| PVP | Polivinilpirolidon |
| SEM | Taramalı elektron mikroskobu |
| THF | Tetrahidrofuran |

# ŞEKİLLER DİZİNİ


| | | Sayfa |
|---|---|---|
| Şekil 2.1. | Nanolif üretim yöntemleri | 11 |
| Şekil 2.2. | Elektro çekim yönteminin şematik gösterimi | 15 |
| Şekil 2.3. | Polikaprolakton kimyasal formülü (C6H10O2)n | 20 |
| Şekil 2.4. | Selüloz asetat polimeri kimyasal yapısı | 21 |
| Şekil 2.5. | CDP-kolinin molekül yapısı | 22 |
| Şekil 3.1. | Hassas terazi | 26 |
| Şekil 3.2. | pH metre | 26 |
| Şekil 3.3. | Manyetik karıştırıcı | 27 |
| Şekil 3.4. | Çalkalamalı su banyosu | 27 |
| Şekil 3.5. | Viskozite ölçüm cihazı | 28 |
| Şekil 3.6. | Temas açısı ölçüm cihazı | 28 |
| Şekil 3.7. | Dijital mikrometre | 29 |
| Şekil 3.8. | Elektro çekim cihazı | 29 |
| Şekil 3.9. | SEM | 29 |
| Şekil 3.10. | UV spektrofotometre | 30 |
| Şekil 3.11. | UV sterilizasyon kabini | 30 |
| Şekil 3.12. | Tegaderm | 30 |
| Şekil 3.13. | Rat | 30 |
| Şekil 3.14. | Açılan yaraların görüntüleri | 36 |
| Şekil 4.1. | Üretilen nanolifli yüzeylere ait SEM görüntüleri | 40 |
| Şekil 4.2. | Üretilen yüzeylerin temas açısı ölçümleri | 42 |
| Şekil 4.3. | Üretilen yüzeylerin FTIR analizi | 45 |
| Şekil 4.4. | CDP-kolin kalibrasyon grafiği | 46 |
| Şekil 4.5. | Katkılı yüzeylerin ilk 60 dakika salınım grafiği | 47 |
| Şekil 4.6. | Katkılı yüzeylerin CDP-kolin salıverme profili | 47 |
| Şekil 4.7. | Yara iyileşme görüntüleri | 49 |
| Şekil 4.8. | Yara modelinde yaraların zamana göre kapanması | 50 |

# ÇİZELGELER DİZİNİ


| | | Sayfa |
|---|---|---|
| Çizelge 2.1. | Polikaprolaktonun kimyasal, fiziksel ve mekanik özellikleri | 20 |
| Çizelge 3.1. | Polimer çözeltisi hazırlamada kullanılan kimyasallar | 24 |
| Çizelge 3.2. | PBS çözeltisi hazırlamada kullanılan kimyasallar | 25 |
| Çizelge 3.3. | *In vivo* çalışmada kullanılan kimyasal maddeler | 25 |
| Çizelge 3.4. | Elektro çekim üretim parametreleri | 32 |
| Çizelge 4.1. | Polimer çözeltileri viskozite ve pH değerleri | 38 |
| Çizelge 4.2. | CA ve PCL yüzeylerin lif çapları | 40 |
| Çizelge 4.3. | Üretilen yüzeylerin gözeneklilikleri | 43 |

# 1. GİRİŞ

Biyomalzeme alanı son yıllarda önemli gelişmelerin yaşandığı bir bilim dalıdır. Biyomalzemeler, vücut içerisinde hasarlı dokuların yerini almak ya da desteklemek için kullanılan doğal veya sentetik malzemelerdir. Biyomalzemelerin sahip olması gereken temel özellikler bulunmaktadır. Mekanik kuvvetlere dayanıklı olmak, vücutta toksik, alerjik etkilere sebep olmamak, uzun ömürlü kullanılabilir olmak, steril edilebilir yapıda olmak bu temel özelliklerin arasındadır (Ratner ve Bryant, 2004). Tüm biyomalzemeler için olması gereken en önemli özellik ise biyouyumluluktur. Biyouyumluluk malzemenin, vücut içerisinde normal işleyişi bozmaması, enfeksiyona neden olmaması, dokularla uyum içerisinde olmasıdır. Biyouyumluluk bir malzemenin biyomalzeme olması için gereken bir şarttır (Ratner ve Bryant, 2004; Langer ve Peppas, 2003). Biyomalzemelerin kullanım alanı oldukça geniştir. Gelişen teknolojiyle birlikte daha da yaygınlaşacağı düşünülmektedir. Protezler, ameliyat iplikleri, yara örtüleri, kalp pili, katater, biyosensörler, biyoçipler biyomalzemelere örnek olarak verilebilir.

Yara iyileşmesinde etkili rol oynayan yara örtüleri üzerinde son yıllarda sıkça araştırma yapılmaktadır. Yara bandajları, hidrojeller gibi geleneksel yara örtülerinin etkileri günümüzde yetersiz görülmektedir. Yara ortamında biyolojik olarak etkileşime giren, ortama kontrollü ilaç salınımı yapabilen, yara ortamını algılayabilen sensörlü malzemeler gibi gelişmiş yara örtüleri tasarlanarak yara tedavisinde çok aşama kaydedilmektedir (Dong ve Guo, 2021).

Nanolif yapıya sahip yara örtüleri, oldukça etkili yeni bir yara örtüsü sınıfı olmuştur. Nanolif yapılar yüksek yüzey alanı, gözenekli yapıları sayesinde ekstrasellüler matrise (ECM) benzer özellik sergileyerek yara ortamında hücrelerle etkileşime girebilmektedirler. Bu sayede yara iyileşme sürecini hızlandırmaktadırlar. Nanolifli yara örtülerinin geniş yüzey alanı, ilaçların malzemeye yüklenmesini sağlar. Böylece, biyoaktif yara örtülerinin geliştirilmesi için potansiyel göstermektedirler. Nanoliflerin bu özelliği, biyomalzeme alanında merak duyulan, geniş bir araştırma konusu olmuştur (Homaeigohar ve Boccaccini, 2020).

# 2. KURAMSAL TEMELLER ve KAYNAK ARAŞTIRMASI

## 2.1. Biyomalzemeler

Biyomalzemeler vücut içerisinde dokularla veya organlarla sürekli veya kısıtlı bir süre için etkileşime girerek hasarlı dokuların işlevlerini yerine getirmeyi veya onarılmasını sağlayan doğal veya sentetik malzemelerdir (Bose ve diğerleri, 2018). Tarihin ilk zamanlarında biyomalzemeler basit yapılı doğal malzemelerken, günümüzde artık mühendislik, tıp, kimya, biyoloji gibi birçok farklı bilimsel alanın ortak çalışmaları sonucunda geliştirilen teknolojik ve karmaşık yapıda ürünler haline dönüşmüştür. Biyomalzemeler multidisipliner bir alandır. Çeşitli mühendislik alanları, tıp, eczacılık, kimya, biyoloji gibi birçok bilimsel alanın ortak çalışmaları ile ortaya bir ürün çıkarmaktadır. Sonda, katater, protezler, kalp kapakçıkları, göz içi lensler, yara örtüleri, biyosensörler gibi çok çeşitli biyomalzemeler sağlık sektöründe kullanılmaktadır (Ajmal ve diğerleri, 2022).

Biyomalzemelerin tarihi çok eski yıllara dayanmaktadır. Tarihte ilk kullanılan biyomalzemelerin altın ve fildişinden olduğu bilinmektedir. Yine bu eski çağlarda ameliyat ipliği olarak at kılı, ağaç kabuğu, deri şeritleri, pamuk gibi malzemeler kullanılmıştır. İlerleyen yüzyıllarda demir, pirinç gibi mukavemeti yüksek metaller kırık femurların tedavisinde protez olarak kullanılmıştır (Ajmal ve diğerleri, 2022). 1938'de ilk metal protez vitalyum alaşımından (Co-Cr-Mo) üretilmiştir. Fakat vücut içerisinde korozyona uğrayarak insan sağlığı açısından ciddi tehlike oluşturmuştur. 19. yüzyılda biyomalzemelerde gelişmeler hız kazanmıştır. Seramiklerin ortopedi uygulamalarında kullanımı başlamıştır. Biyolojik olarak uyumlu olan seramiklerin ilk aşamalarda dokuya bağlanma sorunu ortaya çıkmıştır. Biyoaktif seramiklerin kullanılmaya başlanmasıyla bu sorunun da önüne geçilmiştir. Yakın geçmişte ise çeşitli polimerler, seramikler, metaller ve kompozit malzemeler insan vücudunda çok gelişmiş yapılar olarak kullanılan biyomalzemeler haline gelmiştir (Ajmal ve diğerleri, 2022; Ratner ve Bryant, 2004; Marin ve diğerleri, 2020).

### 2.1.1. Biyomalzemelerin Özellikleri

Biyomalzemelerin kullanılacağı bölgeye, kullanılma amacına ve kullanım süresine göre tasarlanması gerekmektedir. İnsan vücudu içerisinde teşhis, tedavi amacıyla veya kaybedilmiş doku yerine yardımcı olarak kullanılan biyomalzemeler çok kapsamlı özelliklere sahiptirler.

İdeal bir biyomalzemede olması gereken özellikler;

- Alerjik, toksik, korozif, mutajenik teratojenik, kanserojenik olmamalı,
- Yabancı madde reaksiyonuna neden olmamalı,
- İstenen biyolojik bozunurluğa sahip olmalı,
- Uzun ömre sahip olmalı,
- Steril edilebilir özellikte olmalı,
- Üretimi kolay ve maliyeti düşük olmalı,
- Kan ile uyumlu olmalı (Güven, 2014).

Biyomalzemelerin sahip olması gereken özelliklerin en başında biyouyumluluk gelmektedir. Biyouyumluluk biyomalzemenin vücuda fiziksel, kimyasal, biyolojik ve mekanik olarak uyumudur. Tüm biyomalzemeler biyouyumlu olmak zorundadırlar. Kullanıldıkları bölgede alerjik, toksikolojik, kanserojenik ve mutajenik etki oluşturmamalıdırlar (Williams, 2008). Biyouyumluluk yapısal ve yüzey uyumluluğu olarak ikiye ayrılabilir. Biyomalzemenin çevresinde bulunan dokularla mekanik uyum içerisinde olması yapısal uyumluluktur; biyolojik, kimyasal, fiziksel ve morfolojik olarak uyumu ise yüzey uyumluluğudur (Tüylek, 2019). Üretilen bir malzemenin biyouyumluluğunu kontrol etmek için belirli sırada testler yapılmaktadır. Sırasıyla in-vitro testler, in-vivo testler ve klinik çalışmalardan olumlu sonuç alan malzemelerin biyogüvenilir olduğuna karar verilebilir (Kohane ve Langer, 2010).

Biyouyumluluk testi, implante edilen biyomateryallerin nihai onayı için temel bir gerekliliktir ve genellikle Uluslararası Standardizasyon Örgütü (ISO) 10993 serisi gibi yayınlanmış kılavuzlara göre gerçekleştirilir. Bu testlerin temel amacı, insanları tıbbi cihaz veya malzemelerin kullanımından kaynaklanan gelecekteki biyolojik risklerden korumaktır.

Kullanılacakları amaca ve bölgeye göre bazı biyomalzemeler biyoaktif olmalıdırlar. Biyoaktiflik sayesinde biyomalzemeler dokularla etkileşime girerek, doku hücrelerinin biyomalzemeye doğru büyümesi sağlanır. Böylece biyomalzemenin vücut tarafından kabul edilme süreci hızlanır. Biyoaktiflik doku rejenerasyonunu ve belirli biyolojik reaksiyonları destekler. Biyomalzeme ve vücut arasında pozitif etkileşim kurulmasını sağlar.

Her biyomalzemenin kullanılacağı amaca ve bölgeye uygun tasarlanması gerekmektedir. İdeal mukavamet, dayanıklılık, elastikiyet gibi fiziksel özelliklere; ideal gözeneklilik, hidrofilik, hidrofobluk gibi yüzeysel özelliklere sahip olması gerekmektedir. Bu özellikleri termal ve elektriksel iletkenlik gibi daha çok arttırılabilir. Bunlara ek olarak her biyomalzemenin üretiminin kolay ve maliyetinin düşük olması, steril edilebilir özellikte olması gerekmektedir (Mohammed, 2023).

### 2.1.2. Biyomalzeme Çeşitleri

Biyomalzemeler metaller, seramikler, polimerler ve kompozitler olarak 4 ana gruba ayrılırlar.

*Metalik biyomalzemeler*

Metalik biyomalzemeler, iskelet kas sistemine mekanik olarak en iyi uyum sağlayan malzemelerdendir. Güçlü metalik bağları sayesinde oldukça dayanıklıdırlar. Ağır ve uzun süreli yüklere karşı dayanıklılığı, değişken kuvvetlerde de stabilitelerini korumaları iskelet sisteminde kullanılmalarını sağlayan önemli özelliklerindendir.

Ortopedik cerrahide, dişçilikte, ağız, çene ve kalp, damar cerrahi alanlarında implant olarak kullanımı yaygındır. Tıbbi cihaz üretiminde de metaller kullanılır (Balci ve Dağdelen, 2022). Metallerin yüksek dayanıklılık, yüksek direnç ve üretim kolaylıklarının yanı sıra biyomalzeme olarak kullanımları açısından bazı dezavantajları bulunmaktadır. Metaller vücut içerisinde korozyona uğrayabilirler. Korozyon metallerin çevresindeki yapılarla kimyasal reaksiyona girmesi sonucunda ortama farklı bileşiklerin salınmasına sebep olur. Bu durum metallerin biyouyumluluğu açısından sıkıntı oluşturur. Paslanmaz çelik, titanyum ve alaşımları, kobalt esaslı alaşımlar ve tantal esaslı alaşımlar en çok tercih edilen metal ve alaşımlarıdır (Niinomi, 2008; Santos, 2017).

*Seramik biyomalzemeler*

Sağlık alanında kullanılan seramikler biyoseramikler olarak adlandırılmaktadır. Biyoseramikler iyi biyouyumluluğa, korozyon dayanıklılığına, yüksek erime sıcaklığına, sert, kırılgan ve hafif yapıya sahiptirler. Vücut içerisinde kimyasal kararlılık gösterirler. Kolay bulunabilir ve maliyeti düşük malzemelerdir. Sentetik veya doğal yapıda olabilirler (Yadav ve Gangwar, 2018; Punj ve diğerleri, 2021). Biyoseramikler doku ile etkileşim türlerine göre üçe ayrılırlar; biyoinert, biyoaktif, biyobozunur seramikler. Biyoinert seramikler dokularla mekanik bağ oluşturur. Kimyasal ve biyolojik olarak bir etkileşim kurmaz. Biyoaktif seramikler canlı dokularla biyolojik ve kimyasal olarak etkileşim kurarlar. Biyobozunur seramikler ise zaman içerisinde biyolojik olarak bozunur ve yerini canlı dokuya bırakır (Huang ve Best, 2007).

*Polimer biyomalzemeler*

Polimerler, birbirini tekrarlayan alt birimlerden oluşan uzun zincirli maddelerdir. Doğal ve sentetik polimerler olarak ikiye ayrılabilir. Çok çeşitli özelliklere sahip çok sayıda polimer bulunması sayesinde polimerlerin kullanım alanları oldukça büyüktür. Biyomalzeme üretiminde kullanılan polimerlerin biyolojik ortamdaki davranışlarına önem verilmektedir. Vücudun farklı kimyasal ortamından etkilenmemesi için

polimerlere farklı kimyasal madde katkıları yapılabilir. Kullanılan bu kimyasal maddelerin de vücut için biyouyumlu olması önemlidir. Polimer malzemelerin birçok farklı üretim yönteminin olması, üretimlerinin kolay gerçekleşmesi ve polimerlerin kolay bulunabilir maddeler olması sebebiyle günümüz teknolojisinde çeşitli biyomalzemelerin, cihazların ve yapay organların üretiminde tercih edilmektedir (Bonfield ve Taner, 1997).

*Kompozit biyomalzemeler*

Farklı kimyasal yapıdaki birden çok malzemenin birlikte kullanımıyla geliştirilen bir malzeme türüdür. Kompozit malzemelerde kullanılan tüm bileşenler kendi özelliklerini korurlar. Bu sayede istenilen özelliklere sahip kompozit malzemeler geliştirilebilir. Farklı tasarım uygulamalarıyla farklı özelliklere sahip metal, polimer ya da seramik malzemeler bir araya getirilerek istenilen özelliklerde biyomalzemeler üretilir (Güven, 2010).

## 2.2. Yara Örtüleri

Yara örtüleri, yara ortamını korumak, yara iyileşmesini hızlandırmak, yarayı örtmek için kullanılan malzemelerdir. Yarayı çevresel hasarlardan korurlar. Nemli bir yara ortamı sağlarlar. Dış etkenlerden kaynaklanan enfeksiyonlara engel olurlar. Basit yapıdaki yara örtülerinin yerini günümüzde biyomalzeme bilimi, doku mühendisliği gibi alanların çalışmaları sonucu üretilen yara iyileşmesinde aktif görev alan modern yara örtüleri almıştır (Holloway ve Harding, 2022)

Basit yara bakımı için yarayı temiz ve kuru tutacak, mekanik etkilerden koruyacak doğal veya sentetik bandajlar, gazlı bezler gibi geleneksel yara örtüleri kullanılır. Bu yara örtüleri yaralarda oluşan eksüdayı emebilir. Fakat enfeksiyon oluşumuna sebep olmamak için sık sık değiştirilmesi gerekir. Ayrıca bu tür yara örtüleri yaraya yapışma eğilimindedir. Bu da çıkarılması sonucunda yaraya tekrar zarar verebilme ihtimalini doğurur, yara iyileşme süresini uzatabilir. Bu tür geleneksel yara örtüleri doğal pamuk,

selüloz gibi malzemelerden ya da sentetik polimerlerden üretilebilir. Yara iyileşmesi için uygun nemli ortama, enfeksiyonu engelleyebilme özelliğine gibi birçok faktöre ihtiyaç duyulmaktadır. Bu nedenle iyileşme süreci için yetersiz kalan geleneksel yara örtülerinin yerini daha gelişmiş formülasyona sahip modern yara örtüleri almıştır (Kus ve Ruiz, 2020).

Yara örtülerinde bulunması gereken temel özellikler;

- Nemli bir ortam sağlamak
- Doku ve çevre arasında gaz alışverişini sağlamak
- Doku sıcaklığını uygun değerde stabil tutmak
- Yara ortamında oluşan eksudaları emmek
- Yarayı dış ortamdaki etkilerden korumak
- Temiz ve mikroorganizmalardan uzak ortam sağlamak
- Enfeksiyonu engellemek
- Steril olmak, toksik olmamak, alerjik olmamak
- Kolay uygulanabilir ve çıkarılabilir olmak
- Yara ağrısını ve acısını hafifletmek
- Esnek yapıda olmak, yaraya uyum sağlamak
- Düşük maliyete sahip olmak (Kus ve Ruiz, 2020; Tavakoli ve Klar, 2020).

### 2.2.1. Yara örtüsü çeşitleri

Günümüzde kullanılan çok çeşitli modern yara örtüleri bulunmaktadır. Birçok farklı yara türü bulunduğu için her yaraya aynı tip yara örtüsü kullanımı uygun olmamaktadır. Günümüz teknolojisiyle üretilen modern yara örtüsü çeşitlerinden bazılarına aşağıda yer verilmiştir.

*Yarı geçirgen film yara örtüleri*

Bu yara örtüleri, yara ve dış ortam arasında $O_2$, $CO_2$ ve su buharı alışverişine izin veren şeffaf yapıdan oluşurlar. Yara ortamını bakteriyel enfeksiyondan korurlar. Ayrıca yara ortamında otolitik debridmanı (yara yatağındaki ölü dokuların kendi kendini arındırması işlemi) sağlar. Bu yara örtüleri üretiminde özellikle poliüretan olmak üzere polimerler kullanılır. Oldukça esnek yapıya sahip olan bu yara örtülerinin yara yatağına uyum sağlaması kolaydır, yara yatağından çıkarılması gerekmez. Bu yara örtüleri, yüzeysel ve az eksüdalı yaralar için kullanımı önerilir. Ticari olarak Opsite™, Tegaderm™, Biooclusive ™ gibi yara örtüleri hali hazırda kullanılmaktadırlar (Dhivya ve diğerleri, 2015).

*Hidrojel yara örtüleri*

Hidrojeller, sentetik polimerlerden üretilen hidrofilik yapılardır. Hidrojeller %70-90 gibi oldukça yüksek su içeriğine sahiptirler. Bu özellikleri sayesinde yara ortamında rahatlatıcı bir etki gösterir. Yara ortamının sıcaklığının artmasını engeller. Yara üzerinde nemli ortam sağladıkları için dokuların ve epitelin granülasyonuna yardımcı olur. Kuru kronik yaralar, nekrotik yaralar, bası ülserleri ve yanık yaralarında hidrojel yara örtülerinin kullanımı tavsiye edilir. Hidrojeller yumuşak, esnek yapıya sahiptirler. Böylece yara yüzeyinden çıkarılması kolay ve acısızdır, yara yüzeyinde tekrar hasar oluşturmaz. Ciltte tahriş edici etki göstermezler. Metabolitlere karşı geçirgendirler. Bu özelliklerinin dışında, yapılarından kaynaklı olarak dayanıklılıklarının az olması bir dezavantajdır. Ticari olarak Intrasite™, Nu-gel™, Aquaform™ gibi yara örtüleri hali hazırda kullanılmaktadırlar (Martin ve diğerleri, 2002; Dhivya ve diğerleri, 2015).

Hidrokolloid yara örtüleri

Yaygın kullanılan yara örtüsü çeşitlerindendir. Yanık yaraları ve travmatik yaralar gibi hafif ila orta derecede eksüdalı yaralarda kullanılırlar. Yüksek dereceli eksüdalı yaralarda kullanıma uygun değildir. İki katmanlı yapıya sahiptirler. Kolloidal tabaka ve su geçirmeyen bir tabakadan oluşur. Hidrokolloid yara örtüleri gaz alışverişine izin verir. Bakteri geçişine izin vermeyen yapıları sayesinde enfeksiyona karşı koruyucudur.

Yara üzerindeki eksüdaları emer, yara ortamının nemli ama ıslak olmamasını sağlar ve granülasyon dokusunun zarar görmemesini sağlar. Ticari olarak Granuflex™, Comfeel™, Tegasorb™ gibi yara örtüleri kullanılmaktadırlar (Dhivya ve diğerleri, 2015).

*Biyoaktif yara örtüleri*

Modern yara örtüleri arasında daha üstün özelliklere sahip olan, yara iyileşmesinde oldukça etkili olan materyallerdir. Biyouyumlu özellikleriyle bilinirler. Bir polimerden veya kompozit olarak üretilebilirler. Doğal veya yapay malzemelerden üretilebilirler. Büyüme faktörleri ve antimikrobiyallerle birlikte üretimi yapılabilir. Bu katkılar yara iyileşme sürecini hızlandırır (Dhivya ve diğerleri, 2015).

*Kompozit yara örtüleri*

Kompozit yara örtüleri katmanlı yapıya sahiptirler. Genellikle 3 katmandan oluşurlar. Her katman fizyolojik olarak farklı yapıya sahiptir. Yara örtüsünün dış katmanları bakteri geçişini engeller, ortadaki katman yaranın nemli kalmasını sağlar ve emici yapıya sahiptir. Bu emici yapı yaradaki otolitik debridmana yardımcı olur. Dış katmanlar yaraya yapışmayan malzemelerden üretilir. Böylece yaraya yapışma olmaz fakat esnek yapıya sahip olmadıkları için kullanımı zordur. Ve maliyeti yüksek yara örtüleridir (Dhivya ve diğerleri, 2015).

## 2.3. Nanolifli yara örtüleri

Nanolif yapıdaki yara örtüleri yara iyileşmesinde oldukça etkilidirler. Nano yapıları ve yüksek gözeneklilikleri sayesinde gaz alışverişine imkân sağlayabilir, yara ortamını nemli tutabilir, yara eksüdasını emebilir. Nanolif yapıya etken madde olarak biyoaktif bileşikler eklenebilir. Kontrollü salım davranışı ile nanolif yara örtüleri, yara ortamına etken madde salımı gerçekleştirebilir böylece yara iyileştirme sürecini hızlandırıcı, ağrı kesici gibi özellikler sergileyebilir. Nanolif yapısı hücrelerin çoğalması için iyi bir

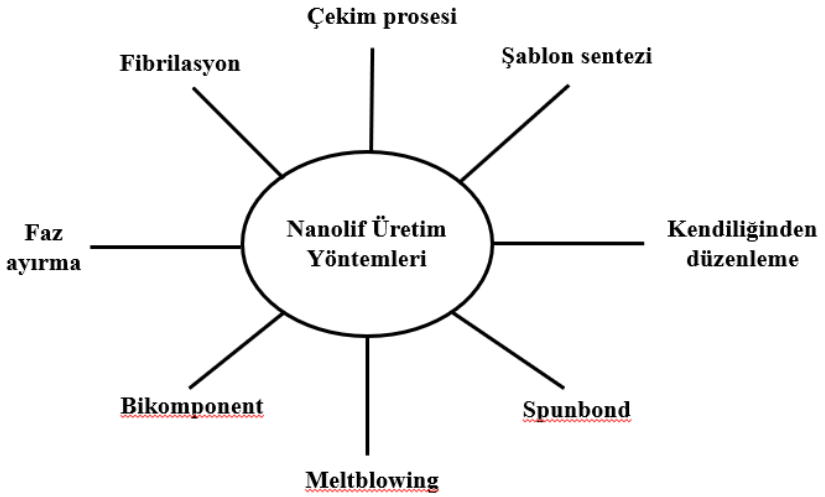
yüzey sağlar. Ekstraselüler matriks (ECM) yapısına benzer özellikler sergiler (Memic ve diğerleri, 2019) Nanoliflerin büyük yüzey alanı, iyi mekanik özellikleri, gözenekli yapısı, biyouyumlulukları, hücrelerle iyi etkileşim sağlayabilmeleri biyomedikal alanda büyük bir potansiyel olarak görülmelerine neden olmuştur (Leung ve Ko, 2011).

Nanolifli yara örtülerinin üretiminde doğal ve yapay polimerler kullanılmaktadır.

Doğal polimerler olan jelatin, kitosan, hyalüronik asit gibi polimerler iyi biyouyumluluğa sahiptirler. Bu polimerlerin sentetik polimerlerle birlikte kompozit olarak üretimi tercih edilmektedir. Böylece yara örtüsü uygulamalarında daha iyi performans sergilerler. Sentetik polimerler nanolif üretiminde daha sık tercih edilirler. Literatürde yara örtüsü uygulamaları ile oldukça çalışma bulunmaktadır. PCL, polivinilpirolidon (PVP), polivinilalkol (PVA), poliüretan (PU) nanolif üretiminde sıklıkla kullanılan sentetik polimerlerdendir. Düşük toksisite, yüksek biyouyumluluğa sahiptirler (Liu ve diğerleri, 2021).

### 2.4. Nanolif Üretim Yöntemleri

Nanolif üretim teknikleri arasında en sık kullanılan yöntem elektro çekim yöntemidir. Bunun yanı sıra şablon sentezi, fibrilasyon, kendiliğinden düzenlenme, faz ayırma gibi farklı yöntemler de mevcuttur. Farklı birçok nanolif üretim yöntemleri vardır fakat elektro çekim yöntemi daha kolay işleyişi, birçok farklı madde üzerinde çalışma potansiyeli sağlaması ve tüm bunları düşük maliyette gerçekleştirebilme olanağı sağlaması sebebiyle tercih edilmektedir. Aşağıdaki Şekil 2.1.'de nanolif üretim yöntemleri gösterilmiştir.




**Şekil 2.1.** Nanolif üretim yöntemleri

*Şablon sentezi ile nanolif üretimi*

Şablon kullanılarak istenilen malzemenin üretilebildiği bir nanolif üretim yöntemidir. Nano boyutta gözenekler içeren bir membran şablon olarak kullanılır. Üretim sonucunda gözenekli yapıya sahip nanolifler elde edilir. Nanoliflerin çapları kullanılan şablondaki gözenek boyutlarına bağlı olarak değişir. Bu sayede istenilen çaplarda nanolif üretimi yapılabilir. Üretim, polimer çözeltisinin su basıncı ile membrandan geçirilerek, katılaşma çözeltisi ile etkileşime girmesi sonucu olur (Wade ve Wegrowe, 2005; Ramakrishna ve diğerleri, 2005).

*Çekim prosesi ile nanolif üretimi*

Çekim prosesi ile nanolif üretimi kısıtlı ve stabil olmayan bir yöntemdir. Nanolif üretimi mikropipet ile birer birer yapılır. Bu sebeple üretim sınırlıdır ve nanoliflerin morfolojisinin standart olması zordur. Bu yöntemde, polimer çözeltisinden oluşturulan bir damlacığa, mikropipet ile girilir ve yavaşça geri çıkılır. Bu işlem birkaç kez tekrarlanır. Çözeltideki çözücü buharlaşarak, nanoliflerin katılaşması sonucu üretim gerçekleşir (Nain, 2006).

*Fibrilasyon yöntemi ile nanolif üretimi*

Bu yöntemde nanolifler selülozik liflerin fibrilasyonu yöntemi ile üretilir.. Bu selülozik nanolifler, ince, mikro gözenekli yapıda ve hidrofildirler. Elde edilen bu nanolif yüzeyler özellikle mikrobiyoloji alanında filtre uygulamaları için tercih edilmektedirler (Süpüren ve diğerleri, 2007).

*Faz ayırma yöntemi ile nanolif üretimi*

Bu üretim yönteminde ilk olarak polimer ve çözücü karıştırılarak bir çözelti hazırlanır. Bu çözelti katılaştırılır ve sonra dondurulur. Donma işlemi sayesinde çözücü uzaklaştırılır. Son olarak dondurarak kurutma işlemi yapılır ve nanolif yapısı elde edilir. Basit bir üretim yöntemidir. Fakat her polimer için uygun bir yöntem değildir (Ramakrishna ve diğerleri, 2005).

*Kendiliğinden düzenleme yöntemi ile nanolif üretimi*

Bu yöntem küçük moleküllerin bir araya toplanması ile nanoliflerin üretilmesini sağlar. Molekülleri bir araya getiren hidrojen bağları, iyonik bağlar, hidrofobik etkileşimler gibi moleküller arası etkileşimlerdir. Üretilen nanoliflerin çapları 7 ile 100 nm arasında değişir (Ramakrishna ve diğerleri, 2005).

*Bikomponent yöntemi ile nanolif üretimi*

Farklı özelliklerdeki birden fazla polimerin tek düzeden geçirilerek üretilen nanolif yapısına bikomponent lif denilmektedir. Üretilen lifler yan-yana, kabuk-çekirdek, eksantrik, dilimli pasta ve denizde olarak adlandırılır. Bu adlandırma lif kesitlerinin görüntülerinden esinlenerek yapılmıştır (Hatiboglu, 2006; Düzyer, 2009).

*Eriyik üfleme (Meltblowing) ile nanolif üretimi*

Polimer eriğinin düzeden saçılarak toplayıcı üzerinde liflerin toplanması sonucunda nanolif yüzeyler oluşur. Bu yöntem ile oldukça büyük nanolif yüzey elde edilebilir. Üretilen nanoliflerin çapları nispeten küçük olur. Maliyeti yüksek olmayan bir üretim yöntemidir. Bu tekniğin bir diğer avantajı da birden çok polimerle çalışabilme imkanı sağlayabilmesidir (Han, 2016, Düzyer, 2009).

*Eğirmeli bağlantı (Spunbond) ile nanolif üretimi*

Bu nanolif üretim yönteminde düzeden çekilen polimer eriğinin soğutulması sonucunda nanolifler üretilir. Üretilen lifler diğer yöntemlere göre daha büyük çaplara sahiptirler (Düzyer, 2009).

## 2.5. Elektro Çekim Yöntemi

Elektroçekim yöntemi nanolif üretmek için en sık kullanılan yöntemdir. Basit, hızlı ve maliyeti düşük bir yöntem olduğu için tercih edilir. Bu yöntemin temel prensibi hazırlanan polimer çözeltisine elektrik kuvvet uygulanarak nanoliflerin üretilmesidir. Kısaca özetlenen bu çalışma sisteminde nanolif üretimini etkileyen ve oluşan nanoliflerin morfolojisini belirleyen birçok parametre bulunmaktadır.

### 2.5.1. Elektro çekim cihazı bölümleri

Elektro çekim cihazı polimer çözeltisinin yerleştirildiği ve cihaz içerisine salındığı besleme bölümü, uygulanan elektrik alan sayesinde polimer çözeltisinden çözücünün uzaklaştırılarak lif üretimini sağlayan güç kaynağı ve üretilen nanoliflerin toplandığı toplayıcı plaka olmak üzere üç bölümden oluşur.

Besleme ünitesi şırınga, pompa ve düzeden oluşmaktadır. Şırınga içine alınan polimer çözeltisi pompa sistemine yerleştirilir. İstenilen zaman aralıklarıyla çalıştırılabilen pompa sistemi, şırınga içindeki çözeltinin düze ucuna ilerlemesini sağlar. Düze ucuna ulaşan polimer çözeltisi güç kaynağının uyguladığı elektriksel kuvvetin etkisine girer.

Polimer çözeltisi düze ucunda damlacık şeklinden sonra uzayarak Taylor konisi diye adlandırılan aşamaya geçer ve daha sonra toplayıcı plakaya doğru ilerlemeye başlar. Güç kaynakları 0-50 kV arasında istenilen yüksek gerilimi uygulayabilir. Toplayıcı plakalar nanoliflerin üzerlerinde toplandığı yapılardır. Bu plakalar dönen hareketli silindir plakalar olabileceği gibi düz durağan plakalar da olabilir. Plaka seçimi nanolif morfolojisini etkiler. Metal yapıdaki bu plakalar üzerinde nanolifler toplanarak bir yüzey oluştururlar (Andrady, 2008; Huang ve diğerleri 2003).

### 2.5.2. Elektro çekim yöntemi ile lif oluşumu

Elektro çekim işlemi

- Düze ucunda polimer damlacığı oluşması,
- Damlacığın Taylor konisine dönüşümü,
- Uygulanan elektriksel kuvvet sonucu polimer jetinin oluşumu,
- Kararlı bölgede polimer jetin toplayıcı plakaya doğru ilerlemesi,
- Düze ucu ve plaka arasında kararsız bölgenin oluşumu,
- Toplayıcı plaka üzerinde lif oluşumu olarak aşamalara ayrılabilir.

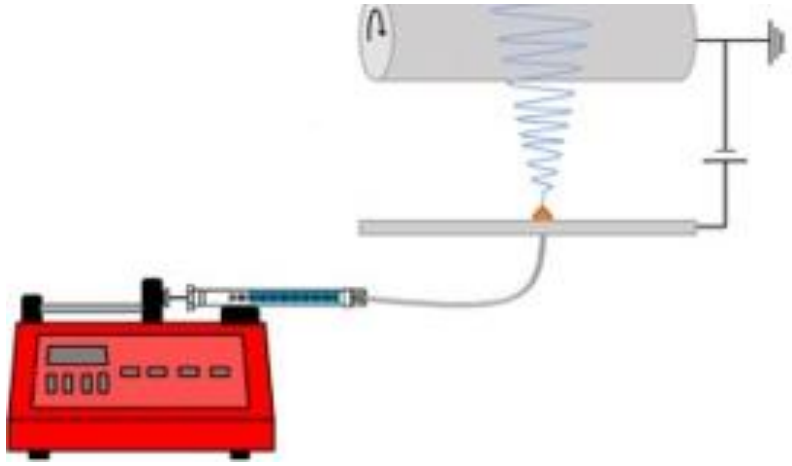
İlk olarak düze ucuna doğru polimer çözeltisi beslenmeye başlanır. Bu düze ucunda çözelti damlacık oluşturur. İlk aşamada bu damlacık üzerinde yüzey gerilimi ($\gamma$) kuvvetinin etkisi bulunmaktadır (Andrady, 2008).

Düze ucundaki bu damlacık formundaki polimer çözeltisine elektriksel kuvvet etki etmeye başlar. Etki eden elektriksel kuvvet ile yüzey gerilimi kuvveti eşitlendiğinde polimer çözeltisi damlacık formundan uzayarak koni şeklini alır. Bu şekile Taylor konisi denmektedir.

Taylor konisi formundayken cihazda elektriksel kuvveti arttırarak polimer jetinin uzaması sağlanır. Uzayan jet ilerlemeye başlar. Düze ucundan toplayıcı plakaya doğru hızlanarak ilerler (Andrady, 2008; Kozanoğlu 2006).

Polimer jeti ilerken kararsız bir hale girer. Polimer jeti 3 kararsızlık hali gösterebilir; klasik Rayleigh kararsızlığı, eksenel simetrik elektrik alan akımlanması, whipping kararsızlığı. Elektro çekim işlemlerinde en sık whipping kararsızlığı oluşmaktadır. Polimer jetinde yüklerin birbirlerini itmesi sonucunda merkezde radyal bir tork oluşmasına whipping kararsızlığı denilmektedir. Polimer jeti toplayıcı plakaya yaklaştıkça ana jetten ayrılan küçük jetler oluşur.

Polimer jeti kararsız bölgede ilerlerken çözelti içerisindeki çözücü buharlaşmaktadır. Hızlı buharlaşan çözücülerin kullanımı sonucunda kalın nanolifler üretilmektedir. Kullanılan çözücünün uçuculuğu, lif çapları üzerinde etkilidir. Çözücü seçimi ile nanolif çapları kontrol edilebilir. Çözücünün buharlaşması sonucunda sadece polimer olarak kalan jet, toplayıcı üzerinde rastgele olarak birikmeye başlar. Üretim sonucunda katı halde nanolifler üst üste konumlanmış olarak gözenekli yapı oluşur (Andrady, 2008; Huang ve diğerleri 2003).



**Şekil 2.2.** Elektro çekim yönteminin şematik gösterimi (Rezaei ve diğerleri, 2018)

### 2.5.3. Elektro çekim parametreleri

Elektro çekim yöntemine etki eden parametreler:

- Çözelti parametreleri

- Üretim parametreleri
- Dış ortam koşullarının etkisi

olmak üzere 3'e ayrılabilir. Bu parametrelerde yapılan değişiklikler ile farklı morfolojik özelliklerde nanolifli yapılar üretilmektedir.

***Çözelti Parametreleri***

Nanolif üretiminde en etkili parametredir. Polimer çözeltisinin kimyasal, fiziksel ve elektriksel özellikleri nanolif morfolojisinin yapısını etkilemektedir.

*Viskozite*

Çözeltinin viskozitesi elektro çekim işleminde oldukça önemli bir parametredir. (Sukigara ve diğerleri, 2003). Düşük viskoziteli çözeltilerle üretimde sürekli lif yapısı gözlenmez. Nanolif yapısında boncuklanmaya sebep olur. Çok yüksek olan viskozite değerleri de üretimi mümkün kılmamaktadır. Yüksek viskozite düze ucunda donmalara sebep olmaktadır. Polimer çözeltisinin uygun viskoziteye sahip olması iyi nanolif üretimi için gereklidir (Haider ve diğerleri, 2015; Fong ve diğerleri, 1999).

*Yüzey Gerilimi*

Nanolif üretiminde polimer çözeltisinin yüzey gerilimi etkili parametrelerden biridir. Yüzey gerilimi kuvveti kullanılan çözücülere göre farklılık göstermektedir. Yüksek yüzey gerilimi nanolif üretimini engellemektedir. Polimer jeti oluşmasını zorlaştırmaktadır. Yüzey gerilim kuvvetinin düşük olduğu çözeltilerde boncuksuz, sürekli ve düzgün nanolif morfolojisi görülmektedir (Yang ve diğerleri, 2004; Ramakrishna ve diğerleri, 2015).

*Molekül Ağırlığı*

Çalışmalarda kullanılan polimerin molekül ağırlığının nanoliflerin morfolojilerini etkilemektedir. Molekül ağırlığı yüksek olan polimerlerin zincir karmaşıklığı yüksektir.

Bu sebeple yüksek molekül ağırlığına sahip polimer kullanılarak hazırlanan çözeltilerin üretimi sonucunda düzgün nanolif yapısı görülmektedir. Molekül ağırlığında azalma sonucunda boncuklu yapılar görülmektedir (Ramakrishna ve diğerleri, 2015).

*Konsantrasyon*

Çözeltinin konsantrasyonu, nanoliflerin morfolojisinde oldukça etkilidir. Elektro çekim ile nanolif üretimi için uygun konsantrasyon değerleri bulunmaktadır. Yüksek konsantrasyon polimer çözeltisinin donmasına sebep olarak nanolif oluşumunu engellemektedir. Düşük konsantrasyonlarda ise boncuk oluşumu görülmektedir. Kararlı bir polimer jeti oluşamaz ve spreylemeye sebep olur. Bu da nanolif oluşumuna engeldir. Uygun konsantrasyon değerlerinde yapılan çalışmalarda ince, sürekli ve uniform lif oluşumu görülür (Ramakrishna ve diğerleri, 2005).

*İletkenlik*

Çözeltinin iletkenliği polimer jeti oluşumunda etkili bir parametredir. İletkenliği az polimerlerin elektro çekim işleminde kullanımı nanolif üretimini zorlaştırmaktadır. Düşük elektrik iletkenliği Taylor konisi oluşumunu engellemektedir. Bunun sonucunda polimer damlacığı uzayıp jet formuna geçemez. Çok yüksek iletkenliklerde polimer jeti oluşumuna engel olabilir. İletkenlik değeri kritik bir değerde olmalıdır. İletkenlik değerindeki farklılıklar ile nanoliflerin çapı, sürekliliği gibi morfolojik özellikleri tasarlanabilir. Yüksek iletkenlik değerlerinde daha küçük çaplı nanoliflerin elde edildiği bilinmektedir. Bazı çalışmalarda çözeltinin iletkenliğini arttırmak amaçlı iyonik tuzlar eklenebilir. Bu sayede ince yapılı nanoliflerin üretimi gerçekleşebilir (Haider ve diğerleri, 2015).

*Çözücü Özellikleri*

Kullanılan çözücülerin nanolif yapısında etkisi bulunmaktadır. Elektro çekim işleminde çözücü için dikkat edilmesi gereken en önemli özellik buharlaşma hızıdır. Polimer jeti

toplayıcı plakaya doğru ilerlerken içerisinde bulundurduğu çözücünün buharlaşması gerekmektedir. Yavaş buharlaşan çözücüler toplayıcı plakadaki nanolif birikimini olumsuz etkilemektedir. Nanoliflerin kurumasına engel olmaktadır. Çok hızlı buharlaşan çözücüler ise düze ucunda damlacık profilindeyken buharlaşmanın başlamasına sebep olarak, düze ucunda kuruma görülmektedir.

## ***Üretim Parametreleri***

### *Voltaj*

Voltaj elektro çekim ile nanolif üretiminde oldukça etkili parametredir. Üretim prosesinde polimer çözeltisine uygulanan voltaj ile Taylor konisi oluşmakta ve polimer jetine dönüşmektedir. Uygulanan voltaj nanolif oluşumunu sağlayan temel bir etkendir. Voltajın kritik değere ulaşması sonucu polimer damlacığı toplayıcı plakaya doğru ilerlemeye başlar. Kritik değerin altındaki ve üstündeki değerlerde jet oluşumu görülmez. Yüksek voltajda, polimer çözeltisi fazla gerilir, çözücü daha hızlı buharlaşır ve daha ince nanolifler üretilebilir (Ramakrishna ve diğerleri, 2005, Li ve Wang, 2013).

### *Besleme oranı*

Polimer çözeltisinin şırıngadan düze ucuna doğru ilerleme hızı besleme oranı olarak adlandırılmaktadır. Besleme oranının kritik bir değerde olması gerekmektedir. Uygun besleme hızı kararlı Taylor konisi oluşumunu sağlamaktadır. Çok yüksek besleme hızlarında çözeltiden çözücünün buharlaşarak uzaklaşması zorlanmaktadır bu da boncuklu nanolif yapısına sebep olmaktadır (Beachley ve Wen, 2009).

### *Mesafe*

Toplayıcı plaka ile düze ucu arasındaki mesafe nanolif yapısı üzerinde etkili olan önemli parametrelerden biridir. Bu mesafe eğer kısa olursa, polimer jetinden çözücünün uzaklaşması için süre yeterli olmaz, nanolifler kuruması gerçekleşemez ve bozuk,

boncuklu nanolif yapısı görülür. Oluşan nanoliflerin de kalın olmasına sebep olur. Toplayıcı plaka ile düze ucu mesafe arttırılarak nanolif çaplarını küçültmek mümkündür (Beachley ve Wen, 2009).

*Toplayıcı tipi*

Elektro çekim işlemlerinde metal yapılı toplayıcı plakalar kullanılmaktadır. Düz plaka, döner silindir plaka gibi çeşitli toplayıcı tipleri bulunmaktadır. Kullanılan toplayıcı plaka üretim hızını ve nanolif morfolojisini etkilemektedir (Ramakrishna ve diğerleri, 2005).

*Düze çapı*

Düze ucunun çapı nanolif morfolojisini etkilemektedir. Büyük çaplı düze uçlarında polimer çözeltisinin kuruması sık görülmektedir. Küçük düze çaplarında boncuksuz, ince nanolif yapısı oluşumu görülmektedir (Ramakrishna ve diğerleri, 2005).

***Ortam Parametreleri***

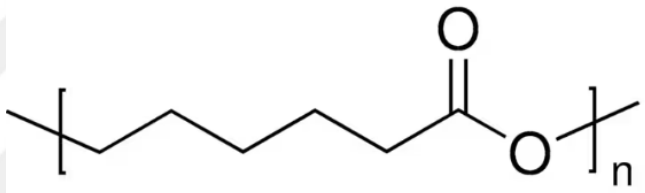
*Nem:* Üretim ortamında düşük nem oranının olması, polimer çözeltisinden çözücünün buharlaşma hızını arttırmaktadır. Bu sayede nanolif çaplarını küçülterek, ince nanolif yapısına sebep olmaktadır. Nem miktarının çok olması da ters etki olarak nanolif çaplarını büyüterek, kalın nanolif yapısına sebep olur.

*Sıcaklık*

Ortam sıcaklığı, polimer çözeltisi üzerine etki ederek üretimde etkili olan bir parametredir. Polimer çözeltisinin viskozitesi ortam sıcaklığından etkilenir. Yüksek sıcaklık değerlerinde viskozite düşer, düşük sıcaklık değerlerinde viskozite artar. Bunlara ek olarak yüksek sıcaklıklarda çözücünün buharlaşma hızı da artmaktadır (Yang ve diğerleri, 2017; Li ve Wang, 2013).

## 2.6. Polikaprolakton (PCL)

PCL sentezlenen en eski polimerlerden biridir (Woodruff ve Hutmacher, 2010). Heksanoat tekrar birimlerinden oluşan alifatik bir poliesterdir. Aşağıdaki Şekil 2.3.'te PCL'in kimyasal yapısı gösterilmiştir. PCL iki farklı üretim tekniği vardır; ε-kaprolaktonun halka açılması polimerizasyonu, 2-metilen-1-3-dioksepanın halka açılması polimerizasyonu. PCL oda sıcaklığında, benzen, tolüen, sikloheksanon ve 2-nitropropan içerisinde yoğun olarak çözünebilir. Aseton, dimetilformamid ve asetonitril gibi çözücülerde az çözünür. Alkoller ve su içerisinde çözünemez. PCL'in kimyasal, fiziksel ve mekanik özellikleri Çizelge 2.1.'de verilmiştir.




**Şekil 2.3.** Polikaprolakton kimyasal formülü $(C_6H_{10}O_2)_n$ (Sigma aldrich, 440752)

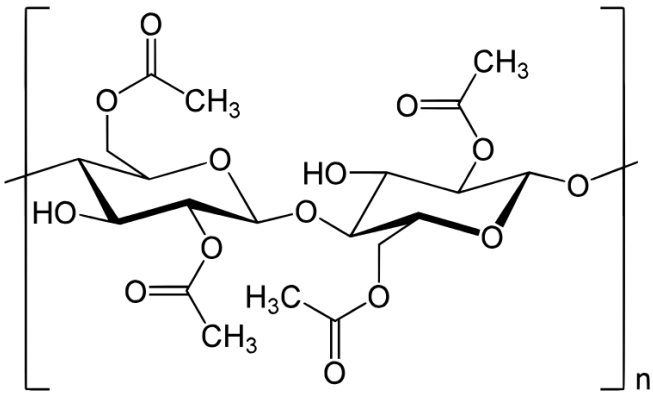
**Çizelge 2.1.** Polikaprolaktonun kimyasal, fiziksel ve mekanik özellikleri (Labet ve Thielemans, 2009)

| Özellik | Değer aralığı |
|---|---|
| Molekül ağırlığı (g/mol) | 3000 - 80 000 |
| Yoğunluk ρ(g/cm3 ) | 1,071 – 1,200 |
| Erime noktası Tm / °C | 56 - 65 |
| Bozunma sıcaklığı (°C) | 350 |
| Camsı geçiş sıcaklığı Tg / °C | (-65)- (-60) |
| Young modülü ( E/GPa) | 0,21 - 0,44 |
| Çekme mukavemeti (σ/MPa) | 20,7 - 42 |
| Gerilme direnci (σ/MPa) | 4–785 |
| Kopma uzaması (ε/100) | 20 - 1000 |

PCL polimerinin iyi çözünürlüğe ve düşük erime noktasına (59-64 °C) sahip olması, kompozit olarak kullanıma uyumlu yapısı, biyolojik olarak parçalanabilirliği biyomalzeme olarak kullanım potansiyeline katkı sağlamıştır. Biyouyumlu bir polimerdir. PCL yaklaşık üç yıl gibi uzun bir bozunma süresine sahiptir. Yapısında bulunan tekrarlanan hidrofobik $CH_2$ birimi sayesinde en uzun sürede bozunan poliesterlerdendir. Fizyolojik ortamda alifatik ester bağlarının hidrolizi sonucu parçalanır.

## 2.7. Selüloz Asetat (CA)

CA, en değerli selüloz türevidir. Doğal olarak elde edilebilen bir polimer çeşididir. Biyouyumlu, biyolojik olarak parçalanabilen, düşük maliyetli, toksik olmayan bir polimerdir. CA biyomedikal uygulamalarda, doku mühendisliği uygulamalarında, ilaç dağıtım sistemlerinde, biyosensörlerde ve yara pansumanlarında kullanımı tercih edilmektedir. Çok iyi elektrik iletkenliğine sahiptir. Bu özelliği sayesinde elektro çekim yöntemiyle nanolif üretimi için oldukça elverişlidir. CA nanolifleri tedavi amaçlı ilaç salımı uygulamalarında tercih edilmektedir. CA nanoliflerinin ilaç salınımda topikal veya transdermal olarak kullanımıyla ilgili çalışmalar yaygın olarak yapılmaktadır (Wsoo ve diğerleri, 2020).



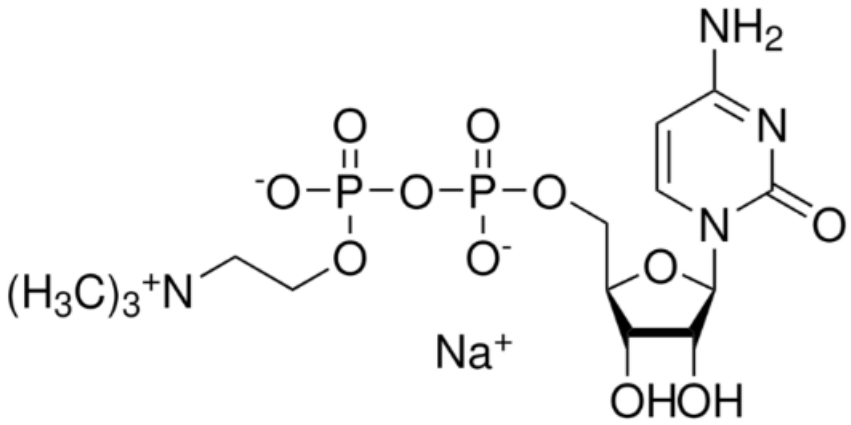

**Şekil 2.4.** Selüloz asetat polimerinin kimyasal yapısı (Sigma aldrich, 180955)

CA, selülozun sülfürik asit varlığında asetik anhidrit ve asetik asit ile reaksiyonundan elde edilen önemli selüloz esterleridir. CA kimyasal yapısı Şekil 2.4.'te gösterilmiştir. CA yapısında her üç hidroksilin yaklaşık 2-2.5'inde bir asetat grubu bulunur. Bu yapı selüloz diasetat, ikincil asetat veya sadece ‘‘asetat "olarak adlandırılır. CA hidrofilik bir polimerdir. Nem çekici özelliğe sahiptir. Bu özelliğinden kaynaklı şişme davranışı gösterir. Organik çözücülerde çözünür (Vatanpour, 2022; Wsoo ve diğerleri, 2020).

## 2.8. CDP-kolin

### 2.8.1. CDP-kolinin kimyasal yapısı ve sentezi

CDP-kolin veya sitikolin, vücut içerisinde doğal olarak üretilen endojen olarak üretilen polar bir bileşiktir. Fosfatidilkolin metabolizmasında önemli bir ara maddedir. CDP-kolin suda iyi çözünen bir maddedir.




**Şekil 2.5.** CDP-kolinin kimyasal yapısı (Sigma aldrich, 33818-15-4)

CDP-kolin, “Kennedy yolağı” nda bir ara ürün olarak üretilir. Kennedy yolağı membran fosfolipidlerinden fosfatidilkolinin üretimini gerçekleştirir. Kennedy yolağı kolinden fosfatidilkolin üretimini 3 aşamada gerçekleştiren bir mekanizmadır.

Kennedy yolağı basamakları:

1- Kolin fosfokoline formuna geçer.
2- Fosfokolin CDP-kolin'in üretilmesini sağlar. Bu basamakta fosfokolin sitidil transferaz görev alır.
3- CDP-kolin'den fosfatidilkolin sentezi meydana gelir.

CDP-kolin miktarı arttırıldığında fosfatidilkolin sentezi gerçekleşir. Bu da CDP-kolinin hücre membranlarının onarılmasında ve yenilenmesinde etkili olacağını göstermektedir (Lopez ve diğerleri, 1995; Secades ve Frontera, 1995, Fagone ve Jackowski, 2013).

### 2.8.2. CDP-kolinin metabolizması

CDP-kolin in vivo ortamda hidroliz edilir. Hidroliz sonucu sitidinmonofosfat ve fosfokolin oluşur. Daha sonra sitidin ve kolin olarak defosforilasyon işlemi sonucu ayrılır. Sitidin ve kolinin tekrar üretimi bu moleküller sayesinde gerçekleşir. Sitidin hücre içinde görev alır. Protein yapılarına katılır. Kolin ise hücre zarında görev alır (Coviella ve Wurtman, 1992; Fagone ve Jackowski, 2013).

# 3. MATERYAL ve YÖNTEM

## 3.1. Materyal

### 3.1.1. Nanolifli yüzey üretiminde kullanılan kimyasallar

Tez çalışmasında nanolifli yüzeylerin üretiminde kullanılan kimyasallar Çizelge 3.1'de gösterilmiştir.

**Çizelge 3.1.** Polimer çözeltisini hazırlarken kullanılan kimyasal maddeler

| **MALZEME** | **MARKA** |
|---|---|
| Polikaprolakton (PCL) | Sigma Aldrich (Mn: 80,000 kDa) |
| Selüloz asetat (CA) | Sigma-Aldrich (Mn: 30 000 kDa) |
| CDP-kolin | Sigma-Aldrich (Mw = 546,34 g/mol) |
| Dimetil formamid (DMF) | Carlo Erba Reagents |
| Tetrahidrofuran (THF) | Carlo Erba Reagents |
| N,N-Dimetilasetamid (DMAc) | Abcr |
| Aseton | Sigma-Aldrich |

### 3.1.2. Salıverilme çalışmasında kullanılan kimyasal maddeler

CDP-kolin katkılı nanolifli yüzeylerden CDP-kolin salıverilmesi deneyi için kullanılacak olan fosfat tamponu çözeltisi (PBS) hazırlamada Çizelge 3.2.'de verilen kimyasal maddeler kullanılmıştır.

**Çizelge 3.2.** PBS çözeltisi hazırlarken kullanılan kimyasal maddeler

| MALZEME | MARKA |
|---|---|
| Sodyum klorür (NaCl), Mw: 58,44 g/mol | Merck 1.06404.1000 |
| Disodyum hidrojenfosfat dihidrat (Na2HPO4.2H2O) Mw: 141,96 g/mol | Merck 6586.0500 |
| Potasyum dihidrojen fosfat (KH2PO4), Mw: 136,086 g/mol | Sigma Aldrich 04243 |
| Potasyum klorür (KCl)Mw: 74,56 g/mol | Merck 4935 |

### 3.1.3. *In vivo* çalışmada kullanılan kimyasal maddeler

Elektro çekim yöntemi ile üretilen yüzeylerin *in vivo* deneylerinde kullanılan kimyasal maddeler Çizelge 3.3.'te verilmiştir.

**Çizelge 3.3.** *In Vivo* çalışmada kullanılan kimyasal maddeler

| MALZEME | KULLANIM AMACI |
|---|---|
| Sevorane anestezik solüsyonu | İnhalasyon çözeltisi |
| Metadem | Ağrı kesici |
| Povidon iyot isosol | Batikon dezenfektan |

### 3.1.4. Çalışmada kullanılan cihazlar ve materyaller

Tez çalışmasında kullanılan tüm cihaz ve materyaller aşağıda verilmiştir.

- Hassas Terazi (Weightlab Instruments WSA-224)



**Şekil 3.1.** Hassas terazi

- pH Metre (ISOLAB Laborgerate GmbH)



**Şekil 3.2.** pH metre

- Manyetik Karıştırıcı (Weightlab Instruments marka WN-H320)



**Şekil 3.3.** Manyetik karıştırıcı

- Çalkalamalı Su Banyosu (KUDOS)




**Şekil 3.4.** Çalkalamalı su banyosu

- Viskozite Ölçüm Cihazı (Brookfield marka RV-DV II + Pro Extra)



**Şekil 3.5.** Viskozite ölçüm cihazı

- Temas Açısı Ölçüm Cihazı (KSV-The Modular CAM 200)



**Şekil 3.6.** Temas açısı ölçüm cihazı

- Dijital Mikrometre



**Şekil 3.7.** Dijital mikrometre

- Elektro Çekim Cihazı (INOVENSO marka NE300 NanoSpinner)



**Şekil 3.8.** Elektro çekim cihazı

- Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) (Carl Zeiss AG-EVO 40 XVP)



**Şekil 3.9.** SEM

- Fourier transform infrared spektrometre (FTIR) (Shımadzu marka IRTracer-100)

- UV Spektrofotometre (UV-1601 SHIMADZU)



**Şekil 3.10.** UV spektrofotometre

- UV Sterilizasyon Kabini: (NUAIRE Class II Type A/B3)



**Şekil 3.11.** UV sterilizasyon kabini

- Steril Operasyon Setleri

- Tegaderm




**Şekil 3.12.** Tegaderm

- Rat



**Şekil 3.13.** Rat

## 3.2. Yöntem

### 3.2.1 Nanolifli yara örtüsü yüzeyi üretimi

*Polimer çözeltilerinin hazırlanması:* Nanolifli yüzey üretiminde CA ve PCL olmak üzere iki farklı polimer kullanılmıştır.

CA yüzey üretiminde ilk aşamada %16 (w/w), %17 (w/w), %18 (w/w) olmak üzere farklı polimer oranlarında çözeltiler hazırlanmıştır. Hazırlanan çözeltiler ile üretim denemeleri yapılmıştır. Yapılan denemeler sonucunda yüksek konsantrasyonda polimer içeren çözeltilerin yüksek viskoziteden kaynaklı üretiminde zorluklar görülmüştür. En iyi nanolif yüzey morfolojisinin %16 (w/w) CA ile hazırlanan polimer çözeltisinden elde edildiği görülmüştür. Bu polimer konsantrasyonu sabit tutularak çözeltiye %1 (w/w) ve %1,5 (w/w) oranlarında CDP-kolin eklemesi yapılarak iki farklı polimer çözeltisi hazırlanmıştır. %1 CDP-kolin içeren CA çözeltisinde üretim yapılmıştır ve düzgün nanolif yapısı görülmüştür. %1,5 CDP-kolin içeren CA çözeltisinde yüksek viskozitede nedeniyle üretim gerçekleşememiştir, nanolif yapısı oluşturulamamıştır. Bu sonuçlara göre %16 (w/w) CA çözeltisi Ac:DMAc (/2:1) ve %1 CDP-kolin kullanılarak hazırlanmıştır. Negatif kontrol olarak CDP-kolin içermeyen katkısız çözelti hazırlanmıştır. Bu çözeltiler 30 °C, 500 rpm hızda manyetik karıştırıcı üzerinde tamamen homojen olana kadar karıştırılıp, sonrasında 15 dakika ultrasonik su banyosuna konulmuştur.

PCL yüzeyin üretiminde %8 (w/w), %10 (w/w), %12 (w/w) olmak üzere farklı polimer oranlarında çözeltiler hazırlanmıştır. Hazırlanan çözeltiler ile üretim denemeleri yapılmıştır. Yapılan denemeler sonucunda %10 polimer içeren çözeltinin uygun viskozitesi nedeniyle üretimi daha kolay gerçekleşmiştir. Düşük konsantrasyonda, düşük viskozite kararlı yapıda Taylor konisi oluşmasını engellemiştir, süreksiz ve kesikli lif yapıları görülmüştür. Yüksek konsantrasyonda ise artan viskozite çözeltinin düze ucunda sık sık donmasına sebep olarak üretimi zorlaştırmıştır. Tüm bunlar

değerlendirildiğinde en iyi yüzey morfolojisi, ideal viskozite değerine sahip olan %10 (w/w) PCL çözeltisinde görülmüştür. Bu polimer konsantrasyonu sabit tutularak çözeltiye %1 (w/w) ve %1,5 (w,w) oranlarında CDP-kolin eklemesi yapılarak iki farklı polimer çözeltisi hazırlanmıştır. Negatif kontrol olarak CDP-kolin içermeyen katkısız çözelti hazırlanmıştır. Bu çözeltiler 30 ℃, 500 rpm hızda manyetik karıştırıcı üzerinde tamamen homojen olana kadar karıştırılıp, sonrasında 15 dakika ultrasonik su banyosuna konulmuştur.

*Çözelti karakterizasyonu:* CDP-kolin katkılı ve katkısız, CA ve PCL çözeltilerinin viskozite ve pH ölçümleri yapılmıştır. Çözeltilerin viskozite ölçümleri, 100 rpm mil (spindle) hızında 3 tekrarlı olarak yapılmıştır. Çözeltilerin pH değerleri, pH metre ile ölçülmüştür.

*Elektro çekim işlemi ile nanolif üretimi:* Nanolif yüzeylerin üretimi için ilk olarak en uygun voltaj, besleme oranı, düze ve toplayıcı arası mesafe gibi proses parametreleri denenerek üretimde kullanılacak parametreler belirlenmiştir. Bu parametreleri belirlemek için literatür taraması yapılmıştır. Daha sonra ön çalışmalar yapılarak üretimde kullanılacak uygun parametrelere karar verilmiştir. Uygun üretim parametreleri Çizelge 3.4.'te verilmiştir.

**Çizelge 3.4.** Elektro çekim üretim parametreleri

| Polimer Konsantrasyonu | CDP-kolin Konsantrasyonu | Besleme Oranı (ml/saat) | Mesafe (cm) | Voltaj (kV) | Toplayıcı Tipi |
|---|---|---|---|---|---|
| %16 CA | - | 0,8 | 18 | 18 | Düz plaka |
| %16 CA | %1 CDP-kolin | 0,8 | 18 | 18 | Düz plaka |
| %10 PCL | - | 0,6 | 22 | 16 | Düz plaka |
| %10 PCL | %1 CDP-kolin | 0,6 | 22 | 16 | Düz plaka |
| %10 PCL | %1,5 CDP-kolin | 0,6 | 22 | 16 | Düz plaka |

### 3.2.2. Nanolifli yüzeylerin karakterizasyonu

Elektro çekim yöntemiyle üretilen katkılı ve katkısız nanolifli yüzeylerin yüzey morfolojisini ve kimyasal özelliklerini karakterize edebilmek amacıyla bazı test ve analizler yapılmıştır.

*SEM analizi:* SEM, üretilen nanolif yüzeylerin yüzey morfolojisi, lif yapıları ve çapları hakkında bilgi edinilmek amacıyla kullanılmıştır. SEM görüntülemesi için ilk olarak tüm yüzeyler altın palladyum alaşım ile kaplanmıştır. Bu sayede yüzeylerin iletken hale gelmesi sağlanmıştır. SEM görüntülerinde liflerin çaplarını hesaplamak için IMAGE-J programı kullanılmıştır. SEM görüntüsünde bulunan farklı liflerin çaplarının ölçümü yapılarak, ortalama lif çapı, standart sapma değerleri bulunmuştur.

*FTIR analizi:* Üretilen CA, PCL, CA/CDP-kolin, PCL/CDP-kolin nanolifli yüzeylerin ve CDP-kolinin kimyasal yapı analizinde FTIR kullanılmıştır. 600 – 4000 $cm^{-1}$ frekans aralığında ve 4 $cm^{-1}$ çözünürlükte 32 tarama yapılarak analiz yapılmıştır.

*Temas açısı ölçümü:* Temas açısı, bir katının sıvıyla ıslatılabilirliğinin nicel bir ölçüsüdür. Sıvının katı yüzeyde dağılmasına bağlıdır. Yüzey analizlerinde malzemenin hidrofilliği ve hidrofobluğu hakkında bilgi vermektedir. Ölçüm cihazı sistemi; sıvı damlatılan şırınga düzeneği, tabla, damlanın görüntüleyen bir kamera, bilgisayar ve değerleri analiz eden bir yazılımdan oluşmaktadır. Temas açısı ölçümü "yerleştirilen damla tekniği" kullanarak yüzey üzerindeki damla şeklini analiz ederek yapılmıştır. Numuneler üzerine saf su damlatılarak ölçüm yapılmıştır. Ölçümler üç tekrarlı olarak yapılmıştır.

*Gözenek boyutu ve gözeneklilik:* Nanolif yüzeylerin gözeneklilik ve gözenek boyutlarını öğrenmek için yüzeyler 1 cm x 1 cm şekilde kesilmiştir. Yüzeyler tartılarak ağırlıkları ölçülmüştür. Dijital mikrometre kullanarak yüzey kalınlıkları ölçülmüştür.

Gözeneklilik değerinin hesaplanmasında aşağıdaki formül kullanılmıştır (Düzyer, 2017).

$$\varepsilon = (1 - \rho_e/\rho_f) \times 100$$

ε nanolifli numunenin yüzey gözenekliliği, $\rho_e$ nanolifli yüzeyin yoğunluğu, $\rho_f$ polimerin yoğunluğudur ($\rho_f$ = 1,14 g/cm$^3$ ).

d ortalama nanolif çapı, D ortalama gözenek çapı hesaplaması için aşağıdaki formül kullanılmıştır (Düzyer, 2017).

$$D = \pi d/4(1-\varepsilon)$$

### 3.2.3. Nanolifli yüzeylerin sterilizasyonu

*In vivo* deneylerde kullanılacak olan CA ve CA/CDP-kolin nanolifli yüzeyler 1 x 1 cm boyutlarında kesilerek UV kabini içerisinde 1 saat bir yüzeyi, 1 saat diğer yüzeyi olmak üzere toplamda 2 saat UV ışık altında tutularak sterilize edilmiştir.

### 3.2.4. Nanolifli yüzeylerden etken madde salıverme çalışması

Nanolifli yüzeyden CDP-kolin salıverilmesinin değerlendirilmesi fosfat tampon çözeltisi içerisinde gerçekleştirilmiştir. Nanolif yüzeyler pH 7.4 ve 36°C'deki fosfat tampon çözeltisi içerisine konularak zamana bağlı olarak salıverme değerleri UV-VIS spektrofotometre ile incelenmiştir.

*Fosfat tamponu çözeltisinin hazırlanması:* PBS çözeltisi hazırlanırken beher içerisine ilk olarak 200 mL saf su konulmuştur. Daha sonra sırasıyla 2 g NaCl, 50 mg KCl, 360 mg Na2HPO4 ve 60 mg KH2PO4 eklenerek, çözelti hacmi 250 mL'ye tamamlanmıştır. Çözelti manyetik karıştırıcı üzerine konularak homojen olana kadar karıştırılmıştır. Çözelti pH'ının 7,4 olduğu kontrol edilmiştir.

*CDP-kolin absorbsiyon yapan dalga boyunun belirlenmesi:* CDP-kolinin absorbsiyon yapan dalga boyunun belirlenmesi için PBS ile 0,2 mg/mL çözelti hazırlanarak UV-VIS

spektrofotometre ile ölçüm yapılmıştır. CDP-kolin absorbsiyon spektrumu λmax değeri literatürde belirtilenle uyumlu olarak 272 nm olarak belirlenmiştir.

*CDP-kolin için kalibrasyon grafiğinin çizilmesi:* Kalibrasyon grafiği katkılı nanolifli yüzeylerden PBS ortamında salıverilen CDP-kolin miktarının tayin edilebilmesi için oluşturulmuştur. 54,63 mg CDP-kolin, 10 ml PBS içine eklenerek karıştırılmıştır. Hazırlanan çözelti verdiği absorbans değerlerine göre seyreltilerek farklı konsantrasyonların absorbans değerleri belirlenmiştir. Hazırlanan çözeltilerin absorbans değerleri UV-VIS spektrofotometre ile ölçülmüştür ve elde edilen absorbans değerleri referans değer olarak kabul edilip kalibrasyon grafiği çizilmiştir.

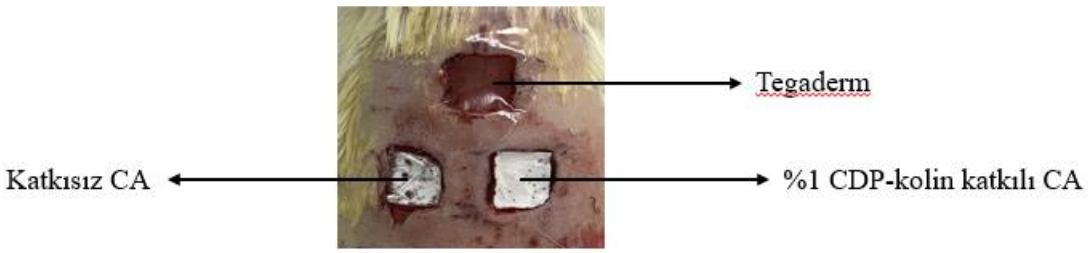
*Nanolifli yüzeylerden salıverilen CDP-kolin miktarının tespit edilmesi:* Hazırlanan PBS çözeltisi cam şişelere 2 mL konulmuştur. 37℃ ve 50 rpm'de çalkalamalı su banyosu içerisine şişeler yerleştirilmiştir. Nanolifli yüzeyler 1,5 cm x 1,5 cm olarak kesilerek hazırlanmıştır. Yüzeyler PBS çözeltisi ile dolu şişelere daldırılarak 168 saat salıverme takibi yapılmıştır. 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 45, 50, 55, 60, 90, 120, 240, 360 dk ve 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168 saatlerinde her defasında yeni bir şişeye daldırılarak salınan etken madde miktarı zamana göre tespit edilmiştir. Her bir şişedeki çözeltinin absorbans değerleri UV-VIS spektrofotometre ile ölçülmüştür. Elde edilen değerler λ=272 nm dalga boyunda takip edilmiştir.

### 3.2.5. Nanolifli yüzeylerin yara örtüsü olarak *in vivo* uygulamaları

Üretilen CA nanolifli yüzeylerin yara örtüsü olarak kullanım performansının araştırılması ve ticari bir yara örtüsü ile karşılaştırılması amacıyla *in vivo* deneyler gerçekleştirilmiştir. Çalışmalar, Bursa Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Farmakoloji Anabilimdalı'nda yapılmıştır. Deneyde 8 adet Sprague Dawley cinsi dişi sıçan kullanılmıştır. Sıçanlar her kafeste bir tane olacak şekilde yerleştirilmiştir. 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık döngüde ve 22-24 ℃ sıcaklıkta tutulmuş, yem ve su alımları serbest bırakılmıştır.

*Yara modeli oluşturulması ve yara örtüsü uygulaması:* Sıçanlarda oluşturulacak tam kalınlıkta deri defekti için, sırt bölgesinde 6 cm x 6 cm büyüklüğünde bir alan tüylerden arındırılmış, antiseptik batikon çözelti ile dezenfekte edilmiştir. Bistüri yardımıyla 1 cm x 1 cm büyüklüğünde deri katmanı kaldırılmıştır. Bu yöntem ile toplam 3 yara modeli sıçanların sırt bölgesinde oluşturulmuştur. Sıçanlara cerrahi işlem boyunca inhalasyon yolu ile sevofluran (%3-4) anestezisi uygulanmıştır.

Açılan yaralardan üstteki Tegaderm ticari yara örtüsü, sağ alttaki katkısız CA nanolifli yüzey, sol alttaki %1 CDP-kolin içeren CA nanolifli yüzey ile kapatılmıştır.




**Şekil 3.14.** Açılan yaraların görüntüleri

Operasyonun sonunda yara bölgesini korunması amacıyla steril spanç ve flaster ile yara bölgesi kapatılmıştır. Deney sonrası sıçanlar kafeslerine konulmuş, su ve yem verilmeye devam edilmiştir. Çalışmalar 8 adet sıçan üzerinde yapılmış, yara kapanma takibi 1, 3, 5, 7, 14 ve 21. günlerde yapılmıştır.

Yara iyileşmesinin değerlendirilmesi

Yara yüzeylerindeki küçülme oranı 0, 1, 3, 5, 7, 14, 21. günlerde ölçülmüştür. Ölçüm günlerinde yara sınırları kaydedilmiştir. Kaydedilen yara alanları bilgisayar Image J yazılımı kullanılarak $cm^2$ cinsinden hesaplanmıştır. Yara küçülme yüzdesi aşağıdaki formül ile hesaplanmıştır. (Bagdas vd., 2014).

$$\text{Yara Küçülmesi (\%)} = 100 - [A_{yara(n)} / A_0] * 100$$

$A_0$: Başlangıçtaki yara alanı (0.gün)

$A_{yara(n)}$: n ölçüm günündeki yara alanı

İstatistiksel analiz

Hayvanlardan alınan ölçümlerin ortalaması hesaplanmış ve standart sapma değerleri bulunmuştur. Sonuçların istatistiksel olarak değerlendirilmesinde, Sigma PLOT 11.0 (Systat Inc, USA) istatistik programı kullanılmıştır. Farklı test alt grupları arasındaki anlamlı farkları belirlemek için çift yönlü ANOVA (two-way ANNOVA) testi kullanılmıştır.

# 4. BULGULAR ve TARTIŞMA

Bu tez çalışmasında CA ve PCL polimeri kullanılarak CDP-kolin katkılı ve katkısız nanolif yapılı yara örtülerinin elektro çekim yöntemiyle üretimi yapılmıştır. Üretilen nanolifli yüzeylerin karakterizasyon ve etken madde salıverme çalışmaları yapılmıştır. Çalışmada son olarak CDP-kolin katkılı CA polimerinden üretilen nanolifli yüzeylerin *in vivo* deneyleri gerçekleştirilmiştir. *In vivo* deneyler sonucunda CDP-kolin katkılı CA yüzeylerin yara kapanması üzerindeki etkinliği görülmüştür.

## 4.1. Polimer Çözeltilerinin Karakterizasyon Sonuçları

Nanolifli yüzeylerin morfolojisi üzerinde polimer çözeltilerin özellikleri büyük rol oynamaktadır. Çizelge 4.1.'de elektro çekim işleminde kullanılan çözeltilerin viskozite ve pH değerleri verilmiştir.

**Çizelge 4.1.** Polimer çözeltileri viskozite ve pH değerleri

| **Polimer Çözeltisi (w/w)** | **Viskozite (cP)** | **pH** |
|---|---|---|
| %16 CA | 563,2 | 7,44 |
| %16 CA + %1 CDP-kolin | 704 | 6,88 |
| %10 PCL | 48 | 8,4 |
| %10 PCL + %1 CDP-kolin | 57,6 | 8,05 |
| %10 PCL + %1,5 CDP-kolin | 64 | 7,65 |

Çizelge 4.1.'de verilen viskozite değerlerine bakıldığında polimer çözeltilere eklenen CDP-kolin katkısı viskozitenin artmasına yol açmıştır. Ek olarak CDP-kolin oranının artışı da viskozite değerini yükseltmiştir. CA çözeltilerinin viskozite değerinin, PCL çözeltilerine göre daha yüksek olduğu görülmüştür. CA çözeltilerinin zincir karmaşıklığının ve akmaya karşı gösterdiği direncin, PCL çözeltilerine göre daha fazla olduğu görülmüştür. Bu viskozite değerleri nanolif üretimini ve morfolojisini

etkilemiştir. Viskozite elektro çekim yönteminde etkili parametrelerden biridir. Düşük viskoziteye sahip polimer çözeltilerinin üretiminde boncuklu yapılar görülür. Düşük viskozitede kararlılık oluşamaz ve polimer jetinden nanolif oluşumu kesikli olarak gerçekleşir. (Fong ve diğerleri; Ramakrishna ve diğerleri, 2005) PCL çözeltilerinde düşük viskozitelerinden kaynaklı düzgün ve sürekli nanolif üretimi gerçekleştirilememiştir. Bu sebeple boncuklu lifler elde edilmiştir. CA çözeltilerinde ise yüksek viskozite üretimin sürekli olmasını sağlamış ve böylece boncuksuz lif üretimi gerçekleşmiştir. Fakat viskozite değerinin lif üretimi için kritik bir değerde olması gerekmektedir. Viskozite değerinin çok yüksek olması sonucunda, düze ucunda donmalar oluşur ve pompalama sistemi çalışamaz. Nanolif üretimi yüksek viskozitede gerçekleşemez (Ramakrishna ve diğerleri, 2005). CA çözeltisine daha yüksek oranda CDP-kolin katkısı yapıldığında çok yüksek viskozite değeri sebebiyle, molekül zincirlerinin hareketi kısıtlanmıştır, zincirlerin birbirleri üzerinden kayma davranışı azalmıştır. Bu sebeple lif üretimi çok yüksek viskozite değerinde gerçekleşememiştir. Çizelge 4.1.'de verilen pH değerlerine bakıldığında CDP-kolin katkısı sonucu değerlerde az miktarda düşme görülmüştür.

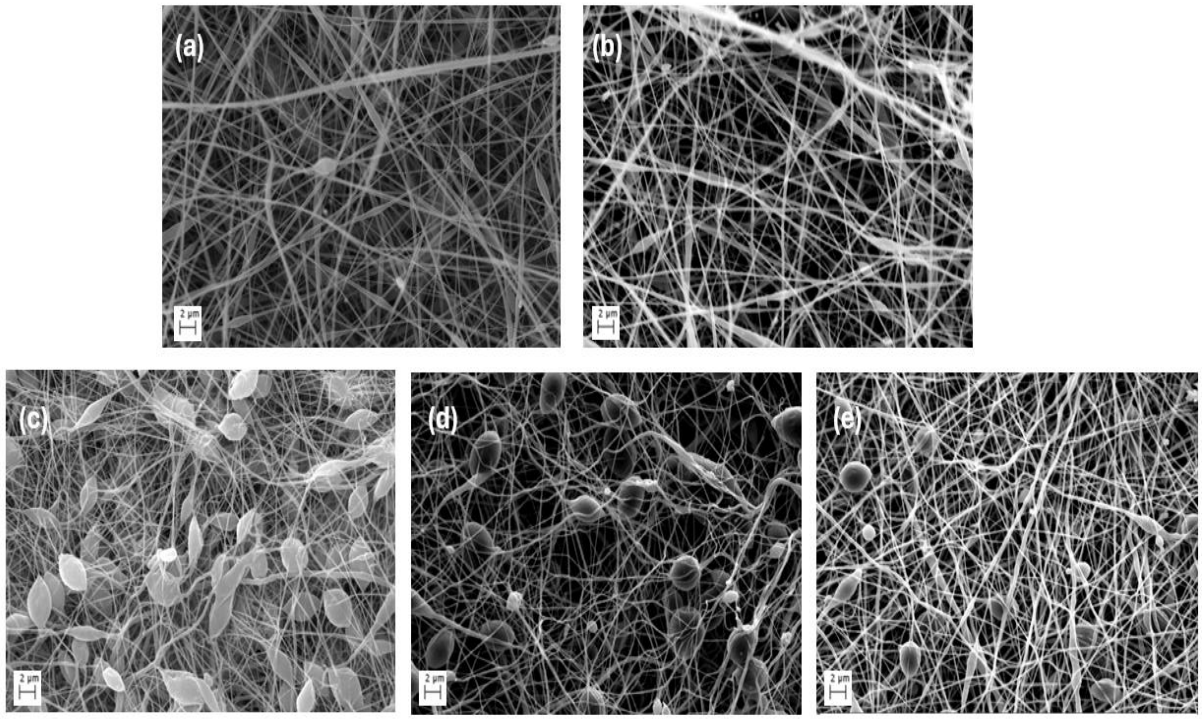
## 4.2. Nanolifli Yüzeylerin Üretim ve Karakterizasyon Sonuçları

### 4.2.1. SEM analizi

CA, CA/CDP-kolin, PCL, PCL/CDP-kolin çözeltilerinden üretime nanoliflerin SEM görüntüleri Şekil 4.1.'de nanoliflerin ölçüm sonuçları Çizelge 4.2.'de verilmiştir

**Çizelge 4.2.** CA ve PCL yüzeylerin lif çapları

| Numune | Ortalama Lif Çapı (nm) | Minimum Lif Çapı (nm) | Maksimum Lif Çapı (nm) | %CV |
|---|---|---|---|---|
| %16 CA | 234 | 125 | 397 | 29,37 |
| %16 CA + %1 CDP-kolin | 292 | 195 | 542 | 23,07 |
| %10 PCL | 234 | 147 | 471 | 24,17 |
| %10 PCL + %1 CDP-kolin | 272 | 187 | 547 | 23,47 |
| %10 PCL + %1,5 CDP-kolin | 280 | 188 | 579 | 25,70 |



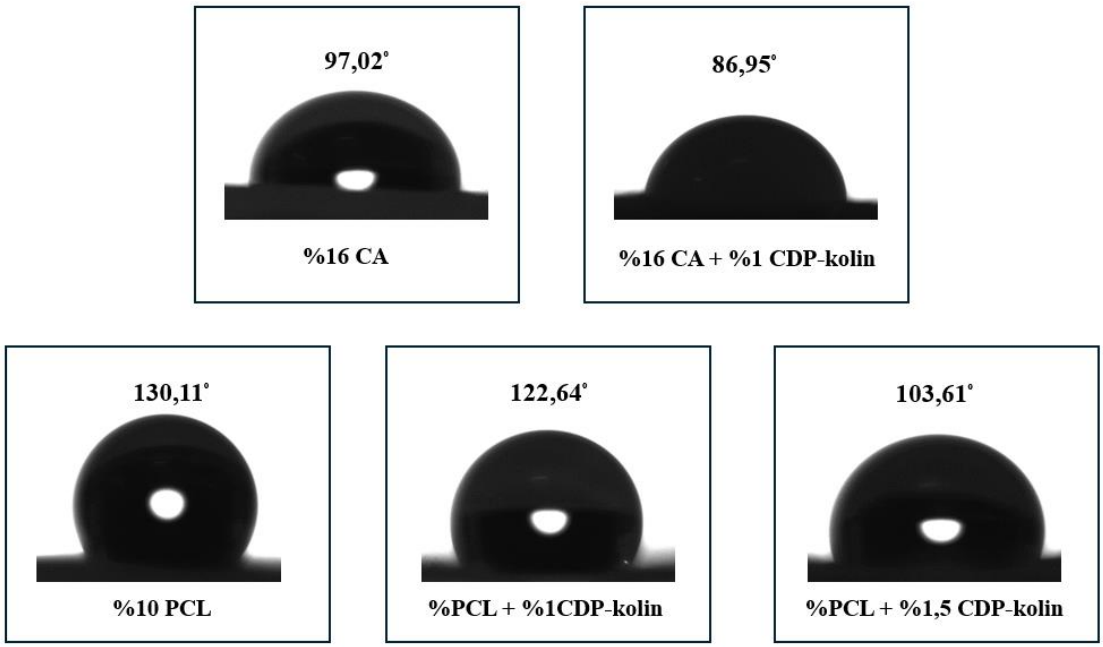

**Şekil 4.1.** Üretilen nanolifli yüzeylere ait SEM görüntüleri ((a) katkısız CA, (b) %1 CDP-kolin katkılı CA, (c) katkısız PCL, (d) %1 CDP-kolin katkılı PCL, (e) %1,5 CDP-kolin katkılı PCL)

Elektro çekim yönteminde düşük viskoziteye sahip çözeltilerde boncuklu ve kesikli lif morfolojisi görülür. İyi yüzey morfolojisi için viskozitenin kritik bir değerde olması

gerekmektedir (Ramakrishna ve diğerleri, 2005). PCL nanolifli yüzeylerden elde edilen görüntülere bakıldığında yüksek viskoziteye sahip CA çözeltisiyle yapılan üretimde daha uniform, boncuksuz ve sürekli nanoliflerin üretildiği görülmüştür. Düşük viskozitedeki PCL çözeltisinden yapılan üretimde uniform olmayan, boncuklu ve kesikli nanolifler elde edilmiştir. PCL nanolifli yüzeylerde görüldüğü üzere artan CDP-kolin konsantrasyonu sonucu viskozitenin artmasıyla boncuk sayısında azalma görülmüştür. Ayrıca artan CDP-kolin konsantrasyonu lif çaplarının artışına neden olmuştur. Düşük viskoziteye sahip çözeltilerden daha ince nanolifler üretilmektedir. Artan viskozite ile nanolif çaplarında artış görülmektedir (Ramakrishna ve diğerleri, 2005). Katkısız CA ve katkısız PCL yüzeylerin lif çapları arasında çok fark bulunmamaktadır.

### 4.2.2. Temas açısı ölçüm sonuçları

Temas açısı, bir yüzeyle yüzeye uygulanan sıvı arasında oluşan açıdır. Sıvı damlatılan yüzeyde damlanın aldığı şekil yüzeyin kimyasal, yapısal ve fiziksel özelliklerine bağlıdır. Sıvının yüzey gerilimi, yoğunluğu ve viskozitesi, yüzeyin pürüzlülüğü ve yüzeyin şekli, ortamın sıcaklığı gibi etkenlere bağlıdır. Temas açısı değeri 90°'den daha büyüdükçe yüzeyin gözeneklerinden sıvı girişi azalır, materyal ıslanmaz özellik kazanır. Hidrofobik davranış sergiler. Temas açısı değeri küçüldükçe hidrofilik davranış sergiler. Islanabilir materyal olarak gözeneklerden sıvı girişi artar (Aydar ve Bağdatlıoğlu, 2014).




**Şekil 4.2.** Üretilen yüzeylerin temas açısı ölçümleri

Şekil 4.2. incelendiğinde PCL yüzeylerin yüksek temas açısı değerine sahip olduğu, hidrofobik davranış gösterdiği görülmektedir. CA yüzeylerin ise 90°'ye yakın değerlerde sonuç vermesi hidrofilik özelliklerini göstermiştir. CDP-kolinin suda çözünebilir özelliğe sahip olması nedeniyle CDP-kolin katkılı yüzeylerin temas açısı değerleri azalmış, ıslanabilirlikleri artmıştır. Özellikle CA yüzeylerin yüksek hidrofilik karakter göstermesi ve damlacıkların yüzeyle temasından kısa süre sonra tamamen emilmesi yara örtüsü olarak kullanım açısından avantaj sağlamaktadır. Ticari olarak kullanılan yara örtüleri hidrofilik karaktere sahiptirler. Hidrofilik özellik yara yüzeylerinde hücre çoğalmasına fayda sağlar (Ehterami ve diğerleri, 2018).

### 4.2.3. Gözenek boyutu ve gözeneklilik tayini

Elektro çekim yöntemiyle üretilen CA ve PCL nanolifli yüzeylerin gözeneklilik sonuçları Çizelge 4.3.'de verilmiştir. CA nanolifli yüzeylerin gözeneklilik değeri, PCL nanolifli yüzeylerin gözeneklilik değerlerine göre daha yüksek olduğu görülmüştür. Bu durumda temas açısı değerleriyle gözeneklilik değerlerinin birbirleriyle uyumlu olduğu

anlaşılmıştır. Temas açısını etkileyen faktörlerden biri yüzeylerdeki pürüzlülüktür. Gözeneklilik değeri arttıkça artan yüzey pürüzlülüğü temas açısını arttırmıştır. CA ve PCL nanolifli yüzeylerde CDP-kolin katkısıyla artan konsantrasyon ve büyüyen lif çapları sonucunda gözenek boyutlarının ve gözenekliliğin azaldığı görülmüştür.

**Çizelge 4.3.** Üretilen yüzeylerin gözeneklilikleri

| Nanolifli Yüzey | Gözenek boyutu (µm) | Gözeneklilik (%) |
|---|---|---|
| %16 CA | 2,9 | 93,84 |
| %16 CA + %1 CDP-kolin | 2,3 | 90,30 |
| %10 PCL | 1,70 | 89,22 |
| %10 PCL + %1 CDP-kolin | 1,65 | 87,10 |
| %10 PCL + %1,5 CDP-kolin | 1,24 | 82,35 |

### 4.2.4. FTIR analizi sonuçları

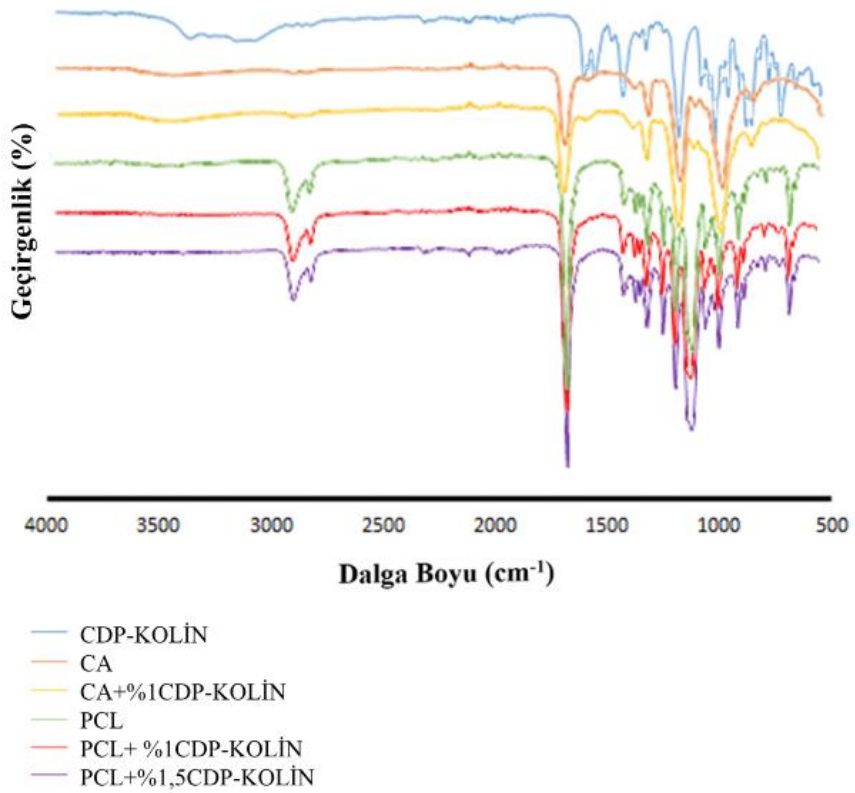
CDP-kolin ile polimer arasındaki etkileşimleri anlamak amacıyla, CDP-kolin, CA, %1 CDP-kolin katkılı CA, PCL, %1 CDP-kolin katkılı PCL ve %1,5 CDP-kolin katkılı PCL nanolifli yüzeylerin FTIR analizleri yapılmıştır. Numunelerin FTIR analizi Şekil 4.3.'te verilmiştir.

Literatürde, CDP-kolinin 2000-400 $cm^{-1}$ bölgesinde güçlü hidrojen bağlarına işaret eden geniş bir spektrum gösterdiği belirtilmektedir. Spektrumda 1700 $cm^{-1}$ civarındaki pik karbonil grubunu (C=O), 3500 $cm^{-1}$ civarındaki geniş pik hidroksil grubunu göstermektedir (Du vd., 2011). Şekil 4.3'teki CDP-koline ait FTIR spektrumu incelendiğinde 3500-3000 $cm^{-1}$ bölgesinde OH gruplarını gösteren geniş bir pik olduğu görülmektedir. C=O gerilimine ait karakteristik pik ise 1655 $cm^{-1}$'de tespit edilmiştir.

CA polimeri için ise, 3700-3100 $cm^{-1}$ bölgesinde görülen geniş pik OH gruplarındaki moleküller arası H bağlarının gerilmesi ile ilişkilidir. Spektrumdaki 2941 $cm^{-1}$'de görülen pik metil (CH3) gruplarının gerilimi, 1735 $cm^{-1}$'de görülen pik karbonil (C=O) gerilimi, 1431 $cm^{-1}$'de görülen pik C-O gerilimi, 1228 $cm^{-1}$'de görülen pik ester grubunun –C-O-C asimetrik gerilim titreşimi, 1037 $cm^{-1}$'de görülen keskin pik C-O gerilimi ve 902 $cm^{-1}$'de görülen pik -C-O-C gerilimi ile $CH_2$ vibrasyonun kombinasyonu ile ilişkilidir. (Şekil 4.3.) (Ibrahim ve diğerleri, 2015; Sudiarti ve diğerleri, 2017).

CDP-kolin ile CA arasındaki etkileşimleri incelemek için yapılan FTIR analizinde, 3700-3100 $cm^{-1}$ bölgesinde görülen geniş pikin derinliğinde bir miktar artış tespit edilmiştir. Bu durumun CDP-kolin içeriğindeki nem ve –OH bağları ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Ayrıca, katkısız CA'da 1735 $cm^{-1}$'de görülen karbonil (C=O) gerilimi pikinin 1739 $cm^{-1}$'a kaydığı, 1037 $cm^{-1}$'de görülen pikin ise bir miktar derinleştiği görülmektedir. Katkılı CA spektrumunda piklerdeki derinleşme ve yerlerindeki kayma yapıdaki CDP-kolin varlığını göstermektedir.

Tez kapsamında, farklı konsantrasyonlarda CDP-kolin (%1 ve %1,5) içeren PCL nanolifli yüzeylerde üretilmiş ve CDP-kolin ile PCL etkileşimini anlamak amacı ile FTIR analizleri gerçekleştirilmiştir. Katkısız PCL'e ait pikler literatürler uyumlu olarak 2943 $cm^{-1}$ (asimetrik C-H gerilmesi), 1722 $cm^{-1}$ (C=O gerilmesi), 1294 $cm^{-1}$ (C-O ve C-C gerilmesi), 1240 $cm^{-1}$ ve 1165 $cm^{-1}$'de (asimetrik ve simetrik C-O-C bağ gerilmesi) görülmüştür (Elzein vd., 2004). CDP-kolin katkılı PCL yüzeylerin spektrumu incelendiğinde CDP-koline ait 3500 $cm^{-1}$ civarında görülen hidroksil pikinin görülmediği tespit edilmiştir. CDP-kolinin 1655 $cm^{-1}$'de görülen C=O gerilimine ait karakteristik piki ise katkılı PCL spektrumunda tespit edilememiştir. Bu durumun yapı içerisindeki CDP-kolin miktarının azlığı ve piklerin üst üste binmesi (overlap) nedeniyle piklerin görülememesi nedeniyle olduğu düşünülmektedir (Şekil 4.3.). Ancak, yapıdaki CDP-kolin varlığını *in vitro* salım analizleri göstermektedir (Başlık 4.3.).



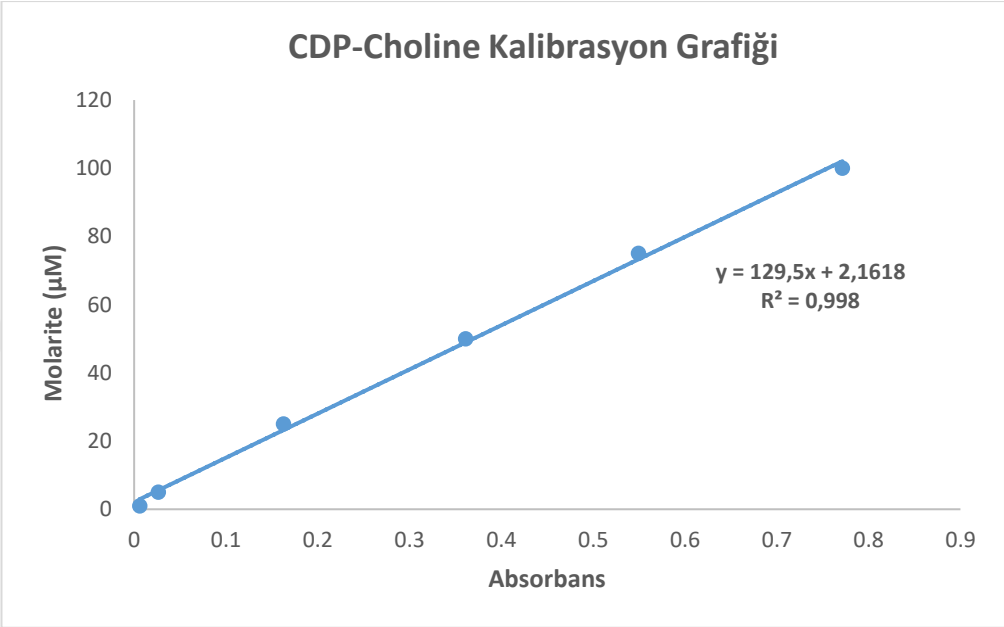

**Şekil 4.3.** Üretilen yüzeylerin FTIR analizi

### 4.3. *In vitro* CDP-kolin Salıverilme Sonuçları

Nanolif yüzeyler sağlık alanında kontrollü ilaç salınımında kullanılan yöntemlerdendir. Nanoliflerin gözenekli yapısı ve yüksek yüzey-hacim oranına sahip olması sayesinde etken madde katkısı yapılarak kontrollü salımı gerçekleştirmek mümkündür (Hu ve diğerleri, 2014).

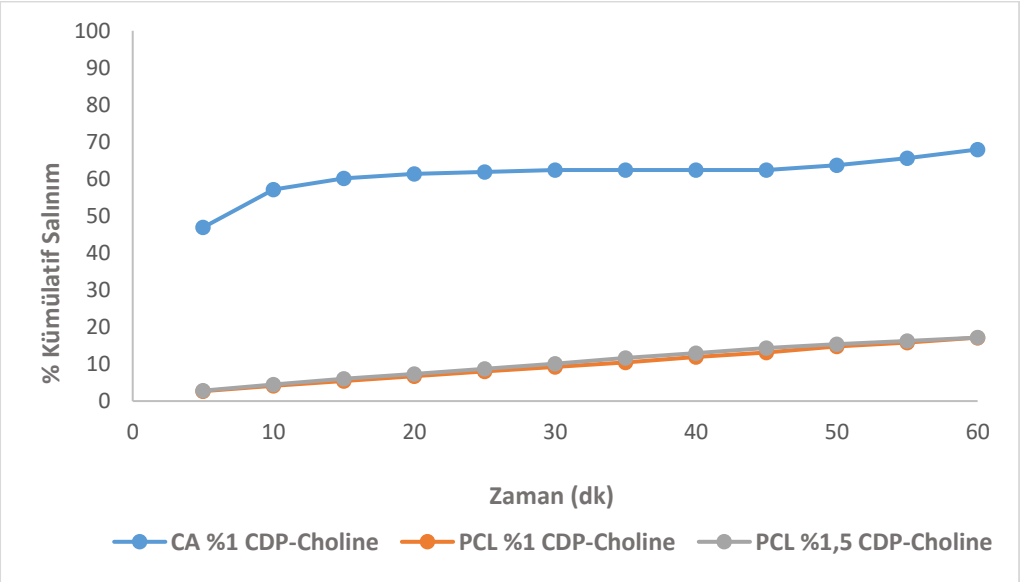
CDP-kolin katkılı CA ve PCL yüzeylerden in vitro ortamda CDP-kolin salıverilme performansı ve mekanizması belirlenmiştir. PBS çözeltisi içine salıverilen CDP-kolin miktarının tayini için ilk olarak kalibrasyon grafiği oluşturulmuştur. Oluşturulan kalibrasyon grafiğinden, CDP-kolin miktarına bağlı olarak değişen absorbans değerini

veren doğrunun denklemi ve $R^2$ değerleri belirlenerek CA/CDP-kolin nanolifli yüzeylerden salıverilen CDP-kolin miktarı hesaplanmıştır.

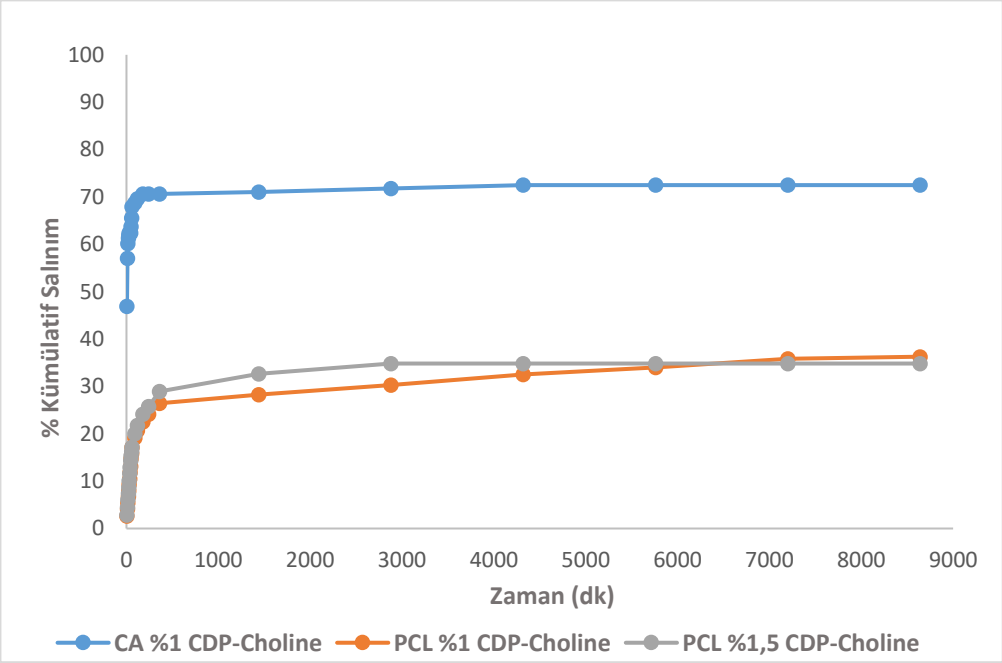



**Şekil 4.4.** CDP-kolin kalibrasyon grafiği

Salınım deneyi 3 tekrarlı olarak yapılmıştır. Salınım deneyi sonucunda elde edilen sonuçlara göre %1 katkılı CA yüzeyin ilk 60 dakikada ortama bıraktığı CDP-kolin miktarı, yüzeyin içerdiği toplam CDP-kolin miktarının %67,95'i, %1 katkılı PCL yüzeyin %17,13'ü, %1,5 katkılı PCL yüzeyin ise %17,14'ü olduğu görülmüştür. Salınım profili 6 gün takip edilmiştir. 6 günün sonunda yüzeylerden salıverilen CDP-kolin miktarı CA nanolifli yüzeyde %72,49, %1 katkılı PCL nanolifli yüzeyde %36,26, %1,5 katkılı PCL nanolifli yüzeyde 34,83 olduğu görülmüştür.




**Şekil 4.5.** Katkılı yüzeylerin ilk 60 dakika salınım grafiği




**Şekil 4.6.** Katkılı yüzeylerin CDP-kolin salıverme profili

CA/CDP-kolin nanolifli yüzeyin salınım profiline bakıldığında ortama verilen % CDP-kolin miktarı katkılı PCL yüzeylere göre çok daha fazla olduğu görülmüştür. CA

nanolifli yüzeylerin stabil, sürekli ve boncuksuz liflere sahip olması, içerisinde bulundurduğu maddenin salınımında olumlu etki göstermiştir.

Boncuklu ve düzgün bir lif yapısına sahip olmayan PCL yüzeylerde CDP-kolin konsantrasyonu fark etmeksizin içerisinde bulundurduğu maddenin çok az miktarını ortama salıverebilmiştir. PCL yüzeylerin her ikisi de ortama az miktarda madde vermesine rağmen, düzenli bir artış gösteren salıverme profiline sahiptir. Sürekli salım için PCL uygun bir polimerdir (Chou ve diğerleri 2015). Daha düşük gözeneklilik, daha küçük gözenek çapı ve daha ince liflere sahip olmaları içerdikleri maddenin yüksek miktarını salınımın ilk dakikalarında ortama verip sonrasında yavaşlamayı yani patlama salınımını engellediği düşünülmüştür. Bu özellikler sayesinde yüzeylerde bulunan maddenin bir miktarı kontrollü bir şekilde salınmıştır fakat yüzeylerdeki boncuklu yapıdan kaynaklı içerdikleri maddenin büyük oranı yüzey içerisinde kalmış ve dışarı çıkamamıştır. Yüzey morfolojisi salım sisteminde büyük bir etkendir. Düzgün morfolojiye sahip olmayan nanolif yüzeylerde etken maddeler yüzeye zayıf etkileşimlerle bağlanarak tutunur. Bu durum sonucunda ilk dakikalarda hızlı bir salım ile bu etken maddeler yüzeyden ayrılır (Chou ve diğerleri 2015). PCL yüzey %1 ve %1,5 olmak üzere iki farklı CDP-kolin oranı ile üretilmiştir. Konsantrasyon farkı salınım profilinde herhangi bir değişiklik oluşturmamıştır. Yalnızca artan konsantrasyon sebebiyle belirli zamanlarda salınan madde miktarı artmıştır.

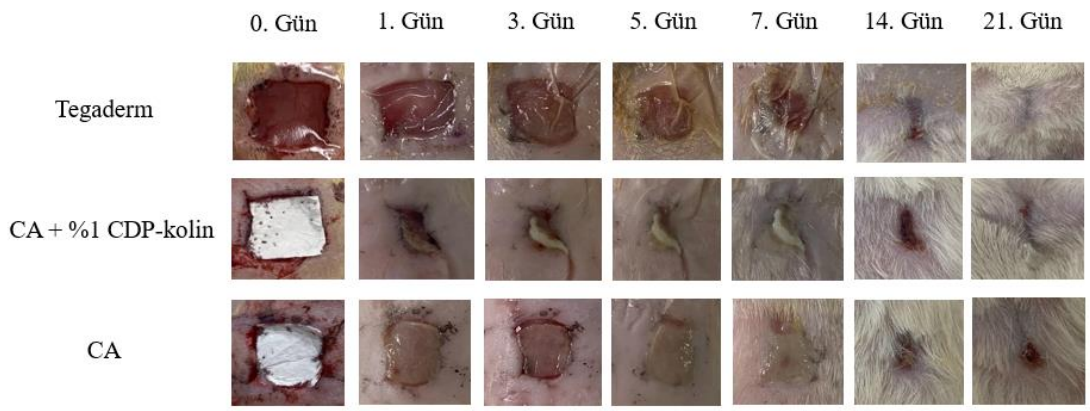
CA/CDP-kolin nanolifli yüzeyin salınım profilinde içerdiği madde miktarının büyük oranını ilk dakikalarda ortama verdiği görülmüştür. CA hidrofilik bir polimerdir. Hidrofilik polimerlerde uzun süreli salınımın gerçekleştirilmesi zordur. Yüksek yüzey-hacim oranına sahip yüzeylerde patlama salınımı görülmektedir (Chou ve diğerleri 2015). CA nanolifli yüzeyin özellikle yüksek gözenekliliğe, büyük gözenek boyutlarına sahip olması nedeniyle bu durumun gerçekleştiği düşünülmektedir. Büyük gözenek boyutu yüzeydeki CDP-kolinin hızlı bir şekilde PBS içerisine geçmesine sebep olmuştur. Fakat CA yüzeyin düzgün yüzey morfolojisi sayesinde içerdiği maddenin yüksek miktarını ortama verebilme yeteneği göz önüne alınarak in vivo deneyler için

CA nanolifli yüzeylerin kullanılmasına karar verilmiştir. PCL yüzeylerdeki düşük salıverilme oranının yara iyileşme süreci için yeterli olamayacağı düşünülmüştür.

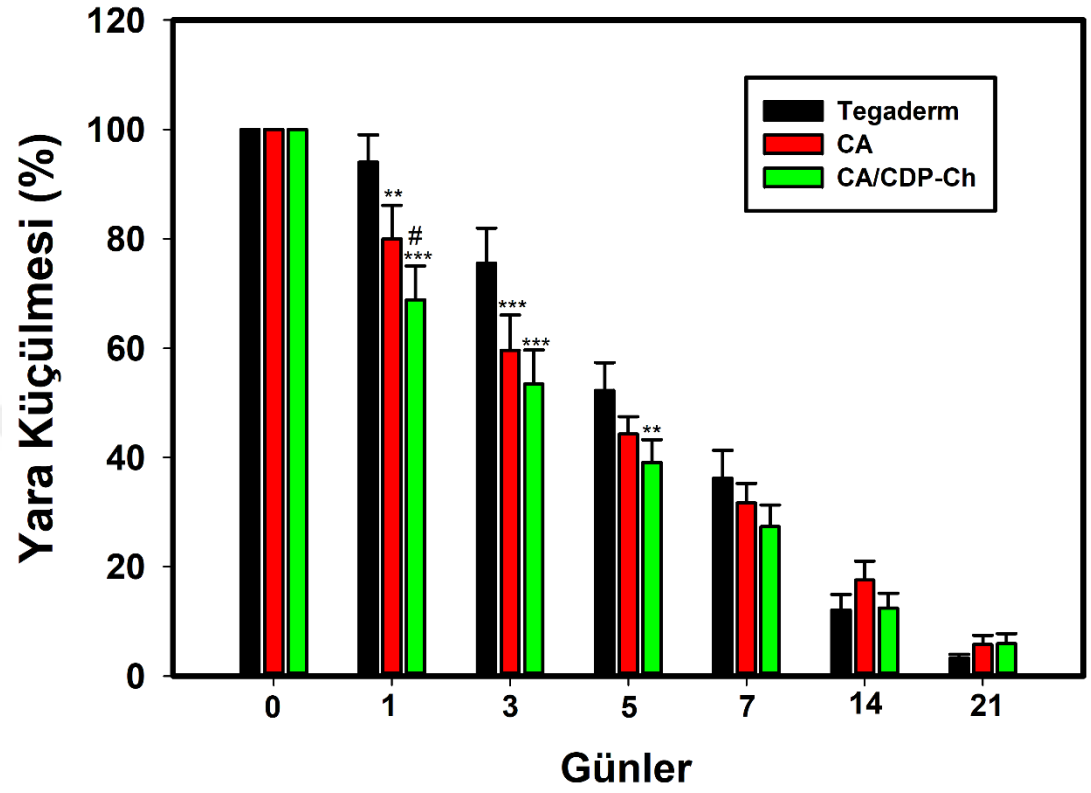
### 4.4. *In vivo* Çalışmaların Sonuçları

Sıçanların sırt bölgelerinde açılan tam kat eksizyon yaraların 21 gün süresince takip edilmesi ile CA nanolifli yüzeylerin yara örtüsü olarak kullanım performansları incelenmiştir. Ticari yara örtüsü (Tegaderm), katkısız CA nanolifli yüzey ve %1 CDP-kolin içeren nanolifli yüzeylerin yara iyileşmesine olan etkileri, yara küçülme yüzdelerinin ortalama ve standart hata değerleri ile hesaplanmıştır.

Yara iyileşmesi takibi süresince, yara kapanmalarının % olarak oranı ve yaraların takip edilen günlerde görüntüleri Şekilde verilmiştir.




**Şekil 4.7.** Yara iyileşme görüntüleri




**Şekil 4.8.** Yara modelinde yaraların zamana göre kapanması

***, p<0.001; **, p<0.01 Tegaderme göre anlamlılığı: #, p<0.01 CA'nın CA-CDP-ch grubuna göre farklılığını ifade etmektedir.

Deney sonucunda yapılan analizlere bakıldığında CDP-kolin katkılı nanolif yara örtüsü kullanımının, katkısız nanolif yara örtüsü ve ticari yara örtüsü Tegaderme kıyasla ilk günlerde hızlı bir iyileşmeye sebep olduğu görülmüştür. Özellikle birinci günde CDP-kolin katkılı yüzey ve diğer gruplar arasında anlamlı bir fark görülmektedir. Bu sonucun birinci gün hızla salınan CDP-kolinden kaynaklı olduğu düşünülmektedir. Ticari yara örtüsü Tegaderm ilk günden 21. Güne kadar düzenli bir yara küçülmesi gerçekleştirmiştir. Katkısız nanolif yüzey de yara kapanma yüzdeleri katkılı yüzey ve Tegaderme kıyasla küçüktür. Nanolif yüzeylerin, yüksek gözenekli yapıya, küçük gözenek çaplarına sahip olması, hücre proliferasyonuna katkıda bulunması, nefes

alabilen bir yapıda olması, yaralarda oluşan eksudaları adsorbe edebilme özellikleri yara örtüsü olarak kullanımları için birçok avantaj sağlar (Ambekar ve Kandasubramanian, 2019).

CA polimeri ile üretilen nanolif yüzeyler hidrofilik yapı, yüksek gözenekliliği sayesinde hava ve nem geçirgenliğini sağlama, sıvıyla temas ettiğinde şişebilme özelliği sayesinde yara ortamında eksudaları adsorbe edebilme gibi özelliklere sahiptir. Bu özellikleri sayesinde yara ortamının nemli ama ıslak olmamasını sağlar. Tüm bunların sayesinde CA polimerinin yara iyileşmesini hızlandırdığı düşünülmektedir (Liu ve diğerleri, 2012).

Yapılan bir çalışmada (Feng, 2022) CDP-kolinin, Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü (VEGF) ekspresyonunu artırdığı, kan akışını hızlandırdığı ve anjiyogenezi uyardığı görülmüştür. VEGF'nin, endotel hücreleri için önemli etkileri vardır. VEGF vücutta yeni damar oluşumunu uyararak, yara iyileşmesine katkı sağladığı düşünülmektedir. CDP-kolin doku inflamasyonunu azaltır, flep iskemi reperfüzyon hasarını inhibe eder ve doku lipit peroksidasyonunu antogonize eder. Kısacası CDP-kolin hücre yenilenmesi ve çoğalması, doku onarımı için önemlidir. Bunların sonucunda CDP-kolinin yara iyileşmesi için potansiyel bir tedavi edici madde olduğu düşünülmektedir (Eid, 2022).

## 5. SONUÇ

Bu tez çalışmasında, CDP-kolin katkılı nanolif yüzeyler üretilmiştir. Üretim sırasında iki farklı polimer CA ve PCL kullanılmıştır. Üretilen CA ve PCL nanolifli yüzeyler karakterize edilerek, yara örtüsü olarak kullanım performanslarına bakılmıştır.

Çalışmanın ilk aşamasında nanolifli yüzeylerin üretimi yapılmıştır. Üretim için ilk olarak uygun polimer konsantrasyonları ve ideal parametrelerin belirlenmesi için ön çalışmalar yapılmıştır. Yapılan ön çalışmaların sonucunda PCL polimeri %10'da sabit tutularak %1 ve %1,5 CDP-kolin içeren çözeltiler hazırlanmıştır. Bir diğer polimer çözeltisi %16 CA içerisine %1 CDP-kolin eklenerek hazırlanmıştır. CA polimer çözeltisinde CDP-kolin katkısını azar azar arttırarak yapılan ön çalışmalarda artan viskozitenin nanolif üretimini engellediği görülmüştür. Bunun sonucunda %16'lık CA polimer çözeltisinde CDP-kolin katkısı tek doz olan %1 üzerinde çalışılmıştır. Belirlenen konsantrasyonlardan sonra elektro çekim sisteminde üretim, en küçük çaplı ve boncuksuz nanolif oluşumunu sağlayan parametrelerde gerçekleşmiştir.

Üretilen katkısız CA, %1 CDP katkılı CA, katkısız PCL, %1 CDP-kolin katkılı PCL ve %1,5 CDP-kolin katkılı PCL nanolifli yüzeylerin karakterizasyonları tamamlanmıştır. İlk olarak tüm yüzeylerin SEM görüntüleri çekilmiştir. Görüntüler incelendiğinde CDP-kolin konsantrasyonun artışı lif çaplarının da artmasına sebep olmuştur. Katkısız CA ve katkısız PCL yüzeylerin lif çapları arasında çok fark bulunmamaktadır. CA ve PCL nanolifli yüzeylerden elde edilen görüntüler karşılaştırıldığında yüksek viskoziteye sahip CA çözeltisiyle yapılan üretimde daha uniform, boncuksuz ve sürekli nanoliflerin üretildiği görülmüştür. Düşük viskozitedeki PCL çözeltisinden yapılan üretimde uniform olmayan, boncuklu ve kesikli nanolifler elde edilmiştir.

Yüzeylerin temas açısı ölçümleri yapılmıştır. Ölçüm sonuçlarına bakıldığında CDP-kolin katkısı temas açısı değerlerini düşürmüştür. CDP-Kolin katkısı sonucunda daha düzgün morfolojiye sahip nanolifli yüzeylerin üretilmesi, temas açısı değerlerine etki ettiği görülmüştür. Yüzeylerin ıslanabilirliği artmıştır. Ayrıca CA yüzeylerin PCL

yüzeylere göre çok daha hidrofilik davranış gösterdiği de görülmüştür. Özellikle yara uygulamalarında hidrofilik materyallerin kullanımının daha uygun olması sebebiyle CA nanolifli yüzeyin yara örtüsü amacıyla kullanımında ıslanabilirliğinin avantaj sağlayacağı düşünülmüştür.

Yüzey gözeneklilik sonuçlarına bakıldığında CA polimer yüzeyin PCL yüzeye göre daha gözenekli yapıya sahip olduğu görülmüştür.

Üretilen yüzeylerde CDP-kolinin kimyasal olarak varlığının tespiti için FTIR analizi kullanılmıştır. FTIR sonuçlarında, PCL ve CA polimerler yüzeylerin yapısına CDP-kolinin başarılı bir şekilde katıldığı elde edilen pikler ile görülmüştür.

Yüzeylerden etken madde salıverme performansına bakmak için in vitro çalışmalar yapılmıştır. İn vitro deneyler 36,5 ℃ sıcaklık ve pH 7,4 fosfat tampon çözeltisi içerisinde çalkalamalı su banyosu içerisinde gerçekleşmiştir. Belirli zaman aralıklarıyla takip edilen çözeltilerin etken madde absorbans ölçümü UV-VIS spektrofotometre kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Ölçülen absorbanslardaki CDP-kolin miktarlarının hesaplanabilmesi için kalibrasyon denklemi oluşturulmuş, yüzeylerden 7 gün boyunca CDP-kolin salıverilmesi takip edilmiştir. PCL yüzeylerin patlama salımı yaptığı ve içerdiği etken maddenin az miktarını dış ortama verebildiği, CA yüzeyin ise içerdiği etken maddenin büyük bir bölümünü salabildiği görülmüştür.

Yapılan karakterizasyon ve in vitro çalışmalar sonucunda in vivo deneylerde CA polimer yüzeyin kullanımına karar verilmiştir. Düzgün yüzey morfolojisine sahip hidrofilik bir yüzey olarak etken madde salım potansiyelinin de daha yüksek olması CA polimerinin yara tedavi sürecinde daha etkili olacağı fikrini oluşturmuştur. İki farklı polimer yüzeyin de in vivo çalışmalarda kullanılamamasının sebebi hayvanlarda açılabilecek yara sayısının kısıtlı olmasıdır. Hem etik olarak hem de deneysel olarak bir polimer yüzeyin in vivo çalışmalarda kullanılmasına karar verilmiştir. Sıçanların sırt bölgesinde üç adet tam ekzisyon yara açılarak, yaralara katkısız CA, %1 CDP-kolin katkılı CA ve ticari yara örtüsü Tegaderm konulmuştur. Yara iyileşmesinin takibi

0,1,3,5,7,14 ve 21. günler boyunca yapılmıştır. Elde edilen verilerden yara küçülme yüzdelerine bakıldığında CDP-kolin katkılı nanolif yüzeyin, katkısız CA nanolifli yüzeyden daha iyi performans sergilediği, ticari yara örtüsüne göre ilk günlerde daha hızlı yara iyileşmesi gerçekleştirdiği görülmüştür

## KAYNAKLAR


Ajmal, S., Hashmi, F. A., & Imran, I. (2022). Recent progress in development and applications of biomaterials. Materials Today: Proceedings, 62, 385-391. https://doi.org/10.1016/j.matpr.2022.04.233

Ambekar, R. S., & Kandasubramanian, B. (2019). Advancements in nanofibers for wound dressing: A review. European Polymer Journal, 117, 304-336.

Andrady, A. L. (2008). Science and Technology of Polymer Nanofibers. In Science and Technology of Polymer Nanofibers. John Wiley & Sons, Inc. https://doi.org/10.1002/9780470229842

Aydar, A. Y. & Bağdatlıoğlu, N. (2014). Yemeklik Yağların Yüzey Gerilimi ve Temas Açılarının Belirlenmesinde Uygulanan Yöntemler. Akademik Gıda, 12 (1) , 108-114. Retrieved from https://dergipark.org.tr/tr/pub/akademik-gida/issue/55791/763718

Bagdas, D., Gul, N. Y., Topal, A., Tas, S., Ozyigit, M. O., Cinkilic, N., Gul, Z., Etoz, B. C., Ziyanok, S., Inan, S., Turacozen, O., & Gurun, M. S. (2014). Pharmacologic overview of systemic chlorogenic acid therapy on experimental wound healing. Naunyn-Schmiedeberg's Archives of Pharmacology, 387(11), 1101–1116. https://doi.org/10.1007/s00210-014-1034-9

Balci, E., & Dağdelen, F. (2022). Biyomalzeme Türleri ve Biyouyumlu Metalik Elementler. Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi, 9(2), 1179-1195.

Beachley, V., & Wen, X. (2009). Effect of electrospinning parameters on the nanofiber diameter and length. Materials Science and Engineering: C, 29(3), 663-668.

Bonfield, W., Taner E., 1997. Hydroxyapatite composite biomaterials – Evolution and applications, Materials World, 5, No.1, 18-20.

Bose, S., Ke, D., Sahasrabudhe, H., & Bandyopadhyay, A. (2018). Additive manufacturing of biomaterials. Progress in materials science, 93, 45-111. https://doi.org/10.1016/j.pmatsci.2017.08.003

Chou, S. F., Carson, D., & Woodrow, K. A. (2015). Current strategies for sustaining drug release from electrospun nanofibers. Journal of Controlled Release, 220, 584-591. https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2015.09.008

Dhivya, S., Padma, V. V., & Santhini, E. (2015). Wound dressings–a review. BioMedicine, 5(4), 22. DOI 10.7603/s40681-015-0022-9

Dong, R., & Guo, B. (2021). Smart wound dressings for wound healing. Nano Today, 41, 101290.

Du, Z., Hu, Y., Wang, P., Zhou, J., Xiong, J., Ying, H., & Bai, J. (2011). Conformers and hydrogen bonds in cytidine 5′-diphosphocholine sodium single crystals grown from a mixture of ethanol and water. Journal of molecular structure, 985(2-3), 227-232.

Düzyer, Ş. (2009). Nanoliflerin Yüzey Özelliklerinin İncelenmesi. Bursa Uludağ Üniversitesi.

Düzyer, Ş. (2014). Elektro Çekim (Elektrospinning) Yöntemiyle Üretilen Poliester Nanoliflerin Medikal Alanda Kullanılabilirliklerinin Araştırılması. Bursa Uludağ Üniversitesi.

Düzyer, Ş. (2017). Fabrication of electrospun poly (ethylene terephthalate) scaffolds: Characterization and their potential on cell proliferation in vitro. Tekstil ve Konfeksiyon, 27(4).

Ehterami, A., Salehi, M., Farzamfar, S., Vaez, A., Samadian, H., Sahrapeyma, H., Mirzaii, M., Ghorbani, S., & Goodarzi, A. (2018). In vitro and in vivo study of PCL/COLL wound dressing loaded with insulin-chitosan nanoparticles on cutaneous wound healing in rats model. International Journal of Biological Macromolecules, 117, 601–609. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.05.184

Eid, H. M., Ali, A. A., Ali, A. M. A., Eissa, E. M., Hassan, R. M., Abo El-Ela, F. I., & Hassan, A. H. (2022). Potential use of tailored citicoline chitosan-coated liposomes for effective wound healing in diabetic rat model. International Journal of Nanomedicine, 555-575.

Fagone, P., & Jackowski, S. (2013). Phosphatidylcholine and the CDP–choline cycle. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular and Cell Biology of Lipids, 1831(3), 523-532.

Feng, X., Chen, Y., Zhang, M., Fang, M., Xiao, C., & Chen, J. (2020). Protective effect of citicoline on random flap survival in a rat mode. International Immunopharmacology, 83, 106448.

Fong H, Chun I, Reneker DH (1999) Beaded nanofibers formed during electrospinning. Polymer 40(16):4585–4592. doi:10.1016/s0032-3861(99)00068-3

G-Coviella IL, Wurtman RJ (1992) Enhancement by cytidine of membrane phospholipid synthesis. J Neurochem., 59(1):338-43

Güven, Ş. Y. (2014). Biyouyumluluk ve Biyomalzemelerin Seçimi. Suleyman Demirel University Journal Of Engineering Sciences And Design, 2(3).

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,-24.

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, -24.

Han, W., Bhat, G. S., & Wang, X. (2016). Investigation of nanofiber breakup in the melt-blowing process. Industrial & Engineering Chemistry Research, 55(11), 3150-3156.

Hatiboglu, B. (2006). Mechanical properties of individual polymeric micro and nano fibers using atomic force microscopy (AFM). Thesis.

Holloway, S., & Harding, K. G. (2022). Wound dressings. Surgery (Oxford), 40(1), 25-32. https://doi.org/10.1016/j.mpsur.2021.11.002

Homaeigohar, S., & Boccaccini, A. R. (2020). Antibacterial biohybrid nanofibers for wound dressings. Acta biomaterialia, 107, 25-49.

Hu, X. Liu, S. Zhou, G. Huand, Y. Xie, Z. Ve Jing, X. (2014) Electrospinning of polymeric nano fibersdrug delivery applications. Journal of Controlled Release. 185, 12-21.

Huang, J., & Best, S. M. (2007). Ceramic biomaterials. In Tissue engineering using ceramics and polymers (pp. 3-31). Woodhead Publishing.

Huang, L., McMillan, R. A., Apkarian, R. P., Pourdeyhimi, B., Conticello, V. P., & Chaikof, E. L. (2000). Generation of Synthetic Elastin-Mimetic Small Diameter 121 Fibers and Fiber Networks. Macromolecules, 33(8), 2989–2997. https://doi.org/10.1021/ma991858f

Ibrahim, M. M., Fahmy, T. Y., Salaheldin, E. I., Mobarak, F., Youssef, M. A., & Mabrook, M. R. (2015). Role of tosyl cellulose acetate as potential carrier for controlled drug release. *Life Science Journal*, *10*(12), 127-133.

Kohane, D. S., & Langer, R. (2010). Biocompatibility and drug delivery systems. Chemical Science, 1(4), 441-446. https://doi.org/10.1039/C0SC00203H

Kozanoğlu, G. S. (2006). Elektrospinning Yöntemiyle Nanolif Üretim Teknolojisi [İstanbul Teknik Üniversitesi]. http://hdl.handle.net/11527/4631

Kus, K. J., & Ruiz, E. S. (2020). Wound dressings–a practical review. Current Dermatology Reports, 9, 298-308. https://doi.org/10.1007/s13671-020-00319-w

Labet, M., & Thielemans, W. (2009). Synthesis of polycaprolactone: a review. Chemical society reviews, 38(12), 3484-3504.

Langer, R., and Peppas, N. A., "Advances in Biomaterials, Drug Delivery, and Bionanotechnology", 49, 12, 2990-3006, (2003).

Leung, V., & Ko, F. (2011). Biomedical applications of nanofibers. Polymers for Advanced Technologies, 22(3), 350-365.

Li, Z., and Wang, C. (2013). One dimensional nanostructures. (First edition). Berlin: Springer-Verlag, 15-28.

Liu, X., Lin, T., Gao, Y., Xu, Z., Huang, C., Yao, G., ... & Wang, X. (2012). Antimicrobial electrospun nanofibers of cellulose acetate and polyester urethane composite for wound dressing. Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials, 100(6), 1556-1565.

Liu, X., Xu, H., Zhang, M., & Yu, D. G. (2021). Electrospun medicated nanofibers for wound healing. Membranes, 11(10), 770. https://doi.org/10.3390/membranes11100770

Lopez-Covıella I, Agut J, Savcı V, Ortız Ja, Wurtman Rj. Evidence that 5'-cytidinediphosphocholine can affect brain phospholipid composition by increasing choline and cytidine plasma levels. J. Neurochem, 65: 889-894, 1995.

Ma, Z., Kotaki, M., Yong, T., He, W., & Ramakrishna, S. (2005). Surface engineering of electrospun polyethylene terephthalate (PET) nanofibers towards development of a new material for blood vessel engineering. Biomaterials, 26(15). https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2004.07.026

Marin, E., Boschetto, F., & Pezzotti, G. (2020). Biomaterials and biocompatibility: An historical overview. Journal of biomedical materials research. Part A, 108(8), 1617– 1633. https://doi.org/ 10.1002/jbm.a.36930

Martin L, Wilson CG, Koosha F, Tetley L, Gray AI, Senel S, et al. The release of model macromolecules may be controlled by the hydrophobicity of palmitoyl glycol chitosan hydrogels. J Control Release 2002; 80: 87–100.

Memic, A., Abdullah, T., Mohammed, H. S., Joshi Navare, K., Colombani, T., & Bencherif, S. A. (2019). Latest progress in electrospun nanofibers for wound healing applications. ACS Applied Bio Materials, 2(3), 952-969.

Mohammed, S. S., Qadir, R. A., Hassan, A., Mohammedamin, A., & Ahmed, A. H. (2023). The development of Biomaterials in Medical Applications: A review. Journal of Physical Chemistry and Functional Materials, 6(2), 27-39. https://doi.org/10.54565/jphcfum.1371619

Naın, A. S., J. C. Wong, C. Amon, M. Sını. 2006. Drawing Suspended Polymer Micro/Nanofibers Using Glass Micropipettes, Applied Physics Letters, 18: 183105-7

Niinomi, M. (2008). Metallic biomaterials. Journal of Artificial Organs, 11, 105-110.

Punj, S., Singh, J., & Singh, K. J. C. I. (2021). Ceramic biomaterials: Properties, state of the art and future prospectives. Ceramics International, 47(20), 28059-28074.

Ramakrıshna, S., K. Fujıhara, W.E. Teo, T.C. Lġm, Z. Ma. 2005. An Introduction to Electrospinning and Nanofibers. World Scientific Publishing Co. Singapore.381 p.

Ratner, B. D., & Bryant, S. J. (2004). Biomaterials: where we have been and where we are going. Annu. Rev. Biomed. Eng., 6, 41-75. https://doi.org/10.1146/annurev.bioeng.6.040803.140027

Rezaei, F., Nikiforov, A., Morent, R., & De Geyter, N. (2018). Plasma modification of poly lactic acid solutions to generate high quality electrospun PLA nanofibers. *Scientific reports*, *8*(1), 2241.

Santos, G. (2017). The importance of metallic materials as biomaterials. Adv Tissue Eng Regen Med Open Access, 3(1), 300-302.

Secades, J. J., & Frontera, G. (1995). CDP-choline: pharmacological and clinical review. Methods and findings in experimental and clinical pharmacology, 17, 1-54.

Sudiarti, T., Wahyuningrum, D., Bundjali, B., & Arcana, I. M. (2017, July). Mechanical strength and ionic conductivity of polymer electrolyte membranes prepared from cellulose acetate-lithium perchlorate. In *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering* (Vol. 223, No. 1, p. 012052). IOP Publishing.

Süpüren, G., Kanat, E., Çay, A., Kırcı, T., Gülümser, T., & Tarakçıoğlu, I. (2007). Nanolifler (Bölüm 2). Tekstil ve Konfeksiyon, 17(2), 83–89.

Tavakoli, S., & Klar, A. S. (2020). Advanced Hydrogels as Wound Dressings. Biomolecules, 10(8), 1169. https://doi.org/10.3390/biom10081169

Tüylek, Z. (2019). Sağlık alanında kullanılan biyomateryallerde biyouyumluluk. Nevşehir Bilim ve Teknoloji Dergisi, 8(2), 154-164. https://doi.org/10.17100/nevbiltek.509269

Vatanpour, V., Pasaoglu, M. E., Barzegar, H., Teber, O. O., Kaya, R., Bastug, M., ... & Koyuncu, I. (2022). Cellulose acetate in fabrication of polymeric membranes: A review. Chemosphere, 295, 133914.

Wade, T. L., & Wegrowe, J. E. (2005). Template synthesis of nanomaterials. The European Physical Journal-Applied Physics, 29(1), 3-22.

Williams, D. F. (2008). On the mechanisms of biocompatibility. Biomaterials, 29(20), 2941-2953. https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2008.04.023

Woodruff, M. A., & Hutmacher, D. W. (2010). The return of a forgotten polymer—Polycaprolactone in the 21st century. Progress in polymer science, 35(10), 1217-1256.

Wsoo, M. A., Shahir, S., Bohari, S. P. M., Nayan, N. H. M., & Abd Razak, S. I. (2020). A review on the properties of electrospun cellulose acetate and its application in drug delivery systems: A new perspective. Carbohydrate research, 491, 107978.

Yadav, S., & Gangwar, S. (2018, August). An Overview on Recent progresses and future perspective of biomaterials. In IOP Conference Series: Materials Science and Engineering (Vol. 404, No. 1, p. 012013). IOP Publishing.

Yang, Q., Li, Z., Hong, Y., Zhao, Y., Qiu, S., Wang, C., and Wei, Y. (2004). Influence of solvents on the formation of ultrathin uniform poly(vinyl pyrrolidone) nanofibers with electrospinning. Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics, 42(20), 3721–26.