

**BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOMEDİKAL MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI
BİYOMEDİKAL MÜHENDİSLİĞİ TEZLİ YÜKSEK LİSANS
PROGRAMI**

**DIYABETİK YARA İYİLEŞMESİNDE KULLANILMAK ÜZERE
GELİŞTİRİLEN ÇOK KATMANLI AKILLI YARA ÖRTÜSÜ**

HAZIRLAYAN

AYŞENUR ACUNER

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ANKARA- 2023

**BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOMEDİKAL MÜHENDİSLİĞİ ANABİLİM DALI
BİYOMEDİKAL MÜHENDİSLİĞİ TEZLİ YÜKSEK LİSANS
PROGRAMI**

**DİYABETİK YARA İYİLEŞMESİNDE KULLANILMAK ÜZERE
GELİŞTİRİLEN ÇOK KATMANLI AKILLI YARA ÖRTÜSÜ**

HAZIRLAYAN

AYŞENUR ACUNER

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TEZ DANIŞMANI

PROF. DR. EMİR BAKİ DENKBAŞ

ANKARA- 2023

BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Biyomedikal Mühendisliği Anabilim Dalı Biyomedikal Mühendisliği Tezli Yüksek Lisans Programı çerçevesinde Ayşenur ACUNER tarafından hazırlanan bu çalışma, aşağıdaki jüri tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 09 / 01 / 2023

Tez Adı: Diyabetik Yara İyileşmesinde Kullanılmak Üzere Geliştirilen Çok Katmanlı Akıllı Yara Örtüsü

Tez Jüri Üyeleri (Unvanı, Adı - Soyadı, Kurumu)

İmza

Doç. Dr. ULVIYE BUNYATOVA, Başkent Üniversitesi

.....

Prof. Dr. Pınar YILGÖR HURİ, Ankara Üniversitesi

.....

Prof. Dr. Emir Baki DENKBAŞ, Başkent Üniversitesi

.....

ONAY

Prof. Dr. Faruk ELALDI

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Tarih : ... / ... /

BAŞKENT ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLER ENSTİTÜSÜ
YÜKSEK LİSANS TEZ ÇALIŞMASI ORJİNALLİK RAPORU

Tarih: 09 / 01/ 2023

Öğrencinin Adı, Soyadı: Ayşenur ACUNER

Öğrencinin Numarası: 22010608

Anabilim Dalı: Biyomedikal Mühendisliği

Programı: Biyomedikal Mühendisliği

Danışmanın Unvanı/Adı, Soyadı: Prof. Dr. Emir Baki DENKBAŞ

Tez Başlığı: Diyabetik Yara İyileşmesinde Kullanılmak Üzere Geliştirilen Çok Katmanlı Akıllı Yara Örtüsü

Yukarıda başlığı belirtilen Yüksek Lisans tez çalışmamın; Giriş, Ana Bölümler ve Sonuç Bölümünden oluşan, toplam 59 sayfalık kısmına ilişkin, 09/ 01/ 2023 tarihinde şahsım/tez danışmanım tarafından Turnitin adlı intihal tespit programından aşağıda belirtilen filtrelemeler uygulanarak alınmış olan orijinallik raporuna göre, tezimin benzerlik oranı % 3'tür.

Uygulanan filtrelemeler:

1. Kaynakça hariç
2. Alıntılar hariç
3. Beş (5) kelimedenden daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç

“Başkent Üniversitesi Enstitüleri Tez Çalışması Orijinallik Raporu Alınması ve Kullanılması Usul ve Esaslarını” inceledim ve bu uygulama esaslarında belirtilen azami benzerlik oranlarına tez çalışmamın herhangi bir intihal içermediğini; aksinin tespit edileceği muhtemel durumda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve yukarıda vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim.

Öğrenci İmzası:

ONAY

09 / 01/ 2023

Prof. Dr. Emir Baki Denkbaş

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans sürecim boyunca sadece akademik değil aynı zamanda hayat dersleri de aldığım, bilgi ve tecrübesine sonsuz güvendiğim, bu zor yolda desteğini her zaman hissettiğim, o bitmez tükenmez enerjisiyle ve çalışma aşkıyla hayran kaldığım sayın danışman Hocam Prof. Dr. Emir Baki DENKBAŞ'a saygılarımı ve teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmalarım boyunca yardım aldığım ve sabrı sayesinde her soruma karşılık bulduğum, akademik bilgisiyle yol gösteren sayın Hocam Dr. Öğr. Üyesi FİLİZ KARA'ya, yardımları ve desteği için sayın Dr. Büşra AKAY HACAN'a saygılarımı ve teşekkürlerimi sunarım.

Deneysel çalışmalarımı yürütebilmem için laboratuvar olanaklarını sunan Biyotek TEKMER Genel Müdürü sayın Ali İhsan ÜNLÜ'ye, güler yüzü, samimiyeti ve her türlü yardımlarıyla yanımda olan Laboratuvar Sorumlusu Arzu GÖZAR'a saygılarımı ve teşekkürlerimi sunarım.

Bu zorlu sürece beraber girdiğim, kendisiyle beraber çalışmaktan gurur duyduğum, hayatımı neşelendiren ve her zaman yanımda hissettiğim canım arkadaşım Şeyma Nur YILMAZ'a teşekkürlerimi sunarım.

Yüksek lisans sürecimi, deneysel çalışmalarımı ve laboratuvar ortamımı keyifli hale getiren, üzüldüğümde üzülen sevindiğimde sevinen, yardımlarını hiç esirgemeyen can arkadaşlarım Rümeysa EKİCİ, Name PERKTAŞ, Betül ÇİMEN, Beyza Nur ÇAKAR, Aşkın ÖZDEMİR ve Nurbanu ALPARSLAN'a teşekkürlerimi sunarım.

Hayatımın baş kahramanları, fedakarlıklarıyla, sevgileriyle, her daim destekçilerim, her zaman yanımda hissettiğim ve onların çocuğu olmaktan gurur duyduğum biricik annem Elif ACUNER'e ve babam Mustafa ACUNER'e, bu hayattaki en büyük destekçim, arkadaşım, canım abiciğim Emre ACUNER'e ve sevgili eşi Emine YETİMOĞLU ACUNER'e ve bu süreçte yanımda oldukları için can kuzenlerime teşekkürlerimi sunarım.

ÖZET

AYŞENUR ACUNER

DİYABETİK YARA İYİLEŞMESİNDE KULLANILMAK ÜZERE GELİŞTİRİLEN ÇOK KATMANLI AKILLI YARA ÖRTÜSÜ

Başkent Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyomedikal Mühendisliği Anabilim Dalı

2023

Önümüzdeki on yıl içerisinde sayıları yarım milyarı aşacak olan diyabet hastaları, bu hastalık nedeniyle oluşan kronik yaralardan büyük zarar görmekte ve gelecekte uygun tedavi sağlanmazsa, yaranın bulunduğu uzvun bir kısmının veya tamamının ampute edilmesi söz konusu olmaktadır. Bahsedilen amputasyondan sonra hastaların kaybedilme olasılığı da artmaktadır. Bu nedenle bu tür yaraların iyileşmesinde tedavinin etkinliğini artırmak için yeni nesil akıllı yara örtü malzemelerine ihtiyaç duyulmaktadır. Sunulan tezin temel amacı; diyabetik ayak yaralarının tedavisinde etkinliği artırmak, uzvun işlevini geri getirmek, geliştirmek ve korumak için gerekli olan terapötik ajanları bünyesinde barındıran ve doğal polimerin ihtiyaç duyulduğunda terapötik ajanı istenen bölgeye kontrollü salmasını sağlayan yeni nesil/akıllı yara örtüsünün geliştirilmesidir. Çok katmanlı ve her katmanın farklı fonksiyona sahip olduğu yapılar yara iyileşmesine katkıda bulunmaktadır. Yeni nesil diyabetik yara örtüsü malzemesinin çok katmanlı akıllı örtüler olarak hazırlanmasında iki farklı yöntem kullanılmıştır. Burada, ilk olarak yara bölgesine temas edecek olan alt katman ve kararlı bir yapı sağlanması için koruyucu üst katman, ipek proteini olan fibroin kullanılarak elektroegirme yöntemi ile üretilmiştir. İpek proteinlerinin yara örtüsü oluşturulmasında kullanılması için ipek kozaları piyasadan temin edilmiş ve kimyasal çözücüler kullanılarak ekstrakte edilmiştir. Etkili tedavi sunabilmek adına yara kısmına temas edecek katmanda kontrollü salım yapabilen ilaç taşıyıcı sistemler oluşturularak (Polidopamin, Sığır Serum Albümini) antibiyotiklerin (Gentamisin, Siprofloksasin) lokal olarak salımı gerçekleştirilmiştir. İlaç taşıyıcı sistemlerin farklı enfeksiyon seviyelerindeki farklı pH değerlerine duyarlı etken madde salımı sağlanmıştır. Orta katmanı oluşturmak için ise kriyojenik jel matris hazırlama yöntemi kullanılmıştır. Aljinat ve kondroitin sülfat katkılı antiinflamatuvar etken madde (Metformin) yüklü orta katman için kullanılacak yapı dondurarak kurutma yöntemi ile elde edilmiştir. Değişen sıcaklığa bağlı olarak ilaç salımı gerçekleştirilmiştir. Sonuç olarak hem sıcaklık hem de pH duyarlı çok katmanlı akıllı, yeni

nesil bir yara örtüsü malzemesi geliştirilmiştir. Diyabetik yara örtü malzemesi için elde edilen katmanlar, morfolojik olarak (Taramalı elektron mikroskobu (SEM) kullanılarak) karakterize edilmiştir, orta katmanın hidrojel yapısından dolayı su alma kapasitesi ve biyolojik uyumluluk (sitotoksosite) testi gerçekleştirilmiştir. İlaç taşıyıcı sistemlere yüklenmiş ilaçların salım deneyleri yapılmıştır.

Anahtar kelimeler: Diyabetik yara tedavisi, çok katmanlı akıllı yara örtüsü, nanofiber, sünger tip yara örtüsü.

ABSTRACT

AYŞENUR ACUNER

MULTILAYERED SMART WOUND DRESSINGS TO BE USED IN DIABETIC WOUNDS THERAPIES

Baskent University Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Biomedical Engineering

2023

Diabetes patients, whose number will exceed half a billion in the next ten years, suffer greatly from chronic wounds caused by this disease, and if appropriate treatment is not provided in the future, part or all of the injured limb will be amputated. After the mentioned amputation, the probability of losing patients increases. Therefore, a new generation of smart dressing materials is needed to increase the effectiveness of the treatment in the healing of such wounds. The main purpose of the presented thesis; It is the development of a new generation/intelligent dressing that contains the therapeutic agents necessary to increase the effectiveness in the treatment of diabetic foot wounds, restore, improve and protect the function of the limb, and that allows the natural polymer to release the therapeutic agent into the desired area when needed. Multi-layered structures with different functions contribute to wound healing. Two different methods were used in the preparation of the new generation diabetic dressing material as multilayer smart dressings. Here, the bottom layer that will first contact the wound area and the protective top layer to provide a stable structure were produced by electrospinning using silk protein fibroin. Silk cocoons were commercially available and extracted using chemical solvents for the use of silk proteins in dressings. In order to provide effective treatment, local release of antibiotics (Gentamicin, Ciprofloxacin) has been achieved by creating controlled release drug carrier systems (Polidopamine, Bovine Serum Albumin) in the layer that will contact the wound. The release of active substance sensitive to different pH values of drug delivery systems at different infection levels has been achieved. Cryogenic gel matrix preparation method was used to form the middle layer. The structure to be used for the middle layer loaded with alginate and chondroitin sulfate added anti-inflammatory active substance (Metformin) was obtained by freeze-drying method. In the case of inflammation, drug release was performed depending on the changing temperature. As a result, a smart, new generation wound dressing material with both temperature and pH sensitivity has been developed. The layers obtained for the diabetic

dressings were characterized morphologically (using scanning electron microscopy (SEM), water absorption capacity due to the hydrogel structure of the middle layer and the release of drugs loaded into drug delivery systems, biocompatibility (cytotoxicity) test were performed.

Keywords: Diabetic wounds therapy, multi-layered smart dressing, nanofibrillar, spongy type dressing.

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	i
ÖZET	ii
ABSTRACT	iv
İÇİNDEKİLER.....	vi
TABLolar LİSTESİ	x
ŞEKİLLER LİSTESİ	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xiii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Deri ve Yapısı.....	3
2.1.1. Epidermis	3
2.1.2. Dermis.....	3
2.1.3. Hipodermis.....	4
2.2. Yara ve Tipleri.....	4
2.2.1. Yara Tipleri.....	4
2.2.1.1. Diyabetik Yaralar	5
2.3. Diyabetik Yara Tedavisinde Kullanılan Yöntemler.....	5
2.4. Yara İyileşme Mekanizması	6
2.4.1. Homeostaz Fazı.....	6
2.4.2. İnflamasyon Fazı	7
2.4.3. Proliferasyon	7
2.4.4. Yeniden Şekillenme	7
2.4.5. Diabetes Mellitus'da İyileşme Süreci.....	8
2.5. Diyabetik Yaralar ve Doku Mühendisliği Yaklaşımı.....	9
2.6. Yara Örtüleri	9
2.6.1. Geleneksel Yara Örtüleri.....	9

2.6.2. Akıllı/ Yeni Nesil Yara Örtüleri.....	10
2.6.2.1. pH Duyarlı Yara Örtüleri.....	11
2.6.2.2. Sıcaklık Duyarlı Yara Örtüleri	11
2.6.2.3. Glikoz Duyarlı Yara Örtüleri.....	12
2.6.2.4. Reaktif Oksijen Türlerine Duyarlı Yara Örtüleri.....	12
2.7. Biyomalzeme Esaslı Yara Örtüleri	12
2.7.1. Aljinat	12
2.7.2. Kondroitin Sülfat.....	15
2.7.3. İpek Proteinleri.....	16
2.8. Yara Örtülerinde İlaç Taşıyıcı Sistemler ve İlaç Salımı	20
2.8.1. BSA (Sığır Serum Albümini).....	20
2.8.2. Polidopamin	21
2.8.3. Metformin	22
2.8.4. Gentamisin	23
2.8.5. Siprofloksasin.....	24
2.9. Nanofiber Yapılar.....	25
2.10. Elektroçirme Yöntemi ve Sistemi.....	25
3. MATERYAL METOD.....	28
3.1. Kullanılan Kimyasallar ve Cihazlar	29
3.2. İpek Proteinleri Kullanılarak Nanofiber Formdaki Üst Katmanın Oluşturulması	29
3.2.1. İpek Saflaştırma Aşamaları.....	29
3.2.2. İpek Fibroin Çözeltisi Hazırlama	31
3.2.3. Elektroçirme Sistemi Kullanılarak Nanofiber Formların Oluşturulması.....	32
3.3. Kriyojel Matrix Formda Oluşturulan Orta Katmanın Hazırlanması	33
3.3.1. Aljinat Köpüklerin Oluşturulması ve Çapraz Bağlanması.....	33
3.3.2. Kondroitin Sülfat ve Metforminin Matrikse Dahil Edilmesi	34

3.4. Antibiyotik Yüklü Alt Katmanın Oluşturulması	34
3.4.1. Polidopamin Mikro/nano Taşıyıcı Sistemin Oluşturulması	34
3.4.2. Gentamisin Polidopamin Mikro/nano Taşıyıcıya Yüklenmesi	35
3.4.3. Siprofloksasin Polidopamin Mikro/nano Taşıyıcıya Yüklenmesi	36
3.4.4. BSA Mikro/Nano Partikül Sisteminin Oluşturulması	36
3.4.5. BSA Mikro/Nano Partikül Sistemine Siprofloksasinin Formülasyona Dahil Edilmesi	37
3.4.6. BSA Mikro/Nano Partikül Sistemine Siprofloksasinin Emdirilmesi....	37
3.4.7. Nanofiber Yapılara İlaç Yüklü Partikül Sisteminin Yüklenmesi.....	37
3.5. Çok Katmanlı Akıllı Yara Örtüsü Formunun Oluşturulması	38
3.6. Karakterizasyonlar	39
3.6.1. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM)	39
3.6.2. Su Alım Kapasitesi	39
3.6.3. İlaç Salımı Deneyleri	40
3.6.3.1. Aljinat ve Kondorit Sulfat Katkılı Orta Katmandan Metformin Salımı.....	40
3.6.3.2. Polidopamin Partikülden Gentamisin Salımı	41
3.6.3.3. Polidopamin Partikülden Siproflaksasin Salımı.....	41
3.6.3.4. Formülasyona Dahil Edilen CF'nin BSA MNPS'den Salımı .	42
3.6.3.5. Emdirilen CF'nin BSA MNPS'den Salımı.....	42
3.6.4. Biyolojik Uyumluluk (Sitotoksite) Testi	43
4. DENEYSEL BULGULAR.....	44
4.1. İpek Fibroin Nanofiber Yapıların Fiziksel Karakterizasyonu.....	44
4.2. Aljinat Köpüklerinin Fiziksel Karakterizasyonu	47
4.3. Su Alım Kapasitesi	49
4.4. Dopamin Mikro/Nano Partikülden Gentamisin Salımı	51
4.5. Dopamin Mikro/Nano Partikülden Siprofloksasin Salımı	52
4.6. BSA MNPs'den Formülasyona Dahil Edilmiş Siprofloksasin Salımı.....	53

4.7. BSA MNPs'den Emdirilmiş Siprofloksasin Salımı	54
4.8. Aljinat ve Kondroitin Sülfat Katkılı Orta Katmandan Metformin Salımı....	55
4.9. Biyolojik Uyumluluk (Sitotoksisite) Testi	56
5. SONUÇLAR.....	58
KAYNAKLAR.....	60
EKLER	

TABLULAR LİSTESİ

Sayfa

Tablo 2.1. Diyabetik yaralarda kullanılan aljinat temelli ticari yara örtüleri [84]..... 15

Tablo 2.2. Elektroğirme sistem parametreleri 32

ŞEKİLLER LİSTESİ

Sayfa

Şekil 2.1. Yara ve tipleri [13][14][15].....	4
Şekil 2.2. Yara iyileşmesi basamakları [40].....	8
Şekil 2.3. Normal ve diyabetik yara iyileşmesi karşılaştırması [24].....	8
Şekil 2.4. Aljinik asitin yapısı [75].....	13
Şekil 2.5. Jel formun oluşumunda yumurta kutusu modeli şematik çizimi [76][78]	14
Şekil 2.6. CS'nin yapısı [95]	16
Şekil 2.7. İpek fibroin yapısı [106].....	18
Şekil 2.8. İpek kozasından SF eldesi ve biyomedikal uygulamalar için SF'nin kullanımı [106].....	19
Şekil 2.9. Midyeden ilham alan dopamin kimyası [117].....	21
Şekil 2.10. Uluslararası kimyasal madde indekslerinde metformin ile ilgili açıklamalar [121]	23
Şekil 2.11. Uluslararası kimyasal madde indekslerinde gentamisin ile ilgili açıklamalar [124]	24
Şekil 2.12. Uluslararası kimyasal madde indekslerinde siprofloksasin ile ilgili açıklamalar [124].....	25
Şekil 2.13. Elektroğirme Sistemi. (A) Dikey konumlanmış, (B) yatay konumlanmış sistem [133].....	26
Şekil 3.1. Sunulan tez özeti	28
Şekil 3.2. İpek saflaştırma adımları	30
Şekil 3.3. İpek Saflaştırma Adımları. (A) İpek kozaları ticari olarak temin edilmiştir. (B) Kozaların içi temizlenmiş ve işlem kolaylığı için küçük parçalar haline getirilmiştir. (C) Elde edilen ipek fibroin topağı. (D) İpek fibroinden uzaklaştırılan ipek serisin	31
Şekil 3.4. Elektroğirme ile nanofiber üretim adımları	33
Şekil 3.5. Polidopamin Mikro/nano partikül hazırlama aşamaları	35
Şekil 3.6. Polidopamin Mikro/nano partiküle gentamisin eklenmesi aşamaları	36
Şekil 3.7. SEM-EDX cihazı.....	39

Şekil 4.1. Saf İpek Fibroin Nanofiber Yapıların SEM Görüntüleri (A) 5 µm (12000 x), (B) 10 µm (6000 x), (C) 30 µm (3000 x), (D) 50 µm (1500 x)	45
Şekil 4.2. Elde edilen ipek fibroin (%15 w/v) nanofiber yapılar (A) aliminyum folyoya kaplanmış fiberler, (B) Aliminyum folyodan sıyrılmış ve çapraz bağlanıp kurutulmuş fiber görüntüsü.....	47
Şekil 4.3. Aljinat Köpüğün (%3 w/v) SEM Görüntüleri (A) 200 µm (400 x), (B) 100 µm (800 x), (C) 50 µm (1600 x).....	48
Şekil 4.4. Dondurularak kurutulmuş aljinat köpükler (A) %1 (w/v), (B) %3 (w/v), (C) %5 (w/v).....	49
Şekil 4.5. Farklı çapraz bağlama süresine sahip köpükler (A) 2 saat çapraz bağlı, (B) 4 saat çapraz bağlı, (C) 6 saat çapraz bağlı köpük	50
Şekil 4.6. Farklı çapraz bağlama süresine bağlı değişen su alım kapasitesi.....	50
Şekil 4.7. Farklı pH değerlerinde Gentamisin salımı	51
Şekil 4.8. Farklı pH değerlerinde siprofloksasin salımı	53
Şekil 4.9. Farklı pH değerlerinde BSA MNPs sisteminden formülasyona dahil edilmiş siprofloksasin salımı	54
Şekil 4.10. Farklı pH değerlerinde BSA MNPs sistemine emdirilmiş siprofloksasin salımı	54
Şekil 4.11. Metformin miktarına bağlı ilaç salımı.....	56
Şekil 4.12. Farklı Sıcaklıklarda SA/CS katkılı köpüğün Metformin Salımı	56
Şekil 4.13. Aljinat köpük yapısının MTT test grafiği.....	57

SİMGELER VE KISALTMALAR

Ca ⁺²	Kalsiyum İyonu
CaCl ₂	Kalsiyum Klorür
EDX	Elektron Dağılım Spektroskopisi
g/mL	Mililitre Başına Gram
M	Molar
m	Metre
mg/mL	Mililitre Başına Miligram
mL	Mililitre
mm	Milimetre
cm	Santimetre
NaOH	Sodyum Hidroksit
nm	Nanometre
PBS	Fosfat Tamponlu Salin
pH	Potansiyel Hidrojen
SEM	Taramalı Elektron Mikroskobu
WHO	Dünya Sağlık Örgütü
°C	Derece
DFU	Diyabetik Ayak Ülseri
FDA	Gıda ve İlaç İdaresi
ECM	Hücre Dışı Matris
MSC	Mezenkimal Kök Hücre
EGF	Epidermal Büyüme Faktörü
NIPA	N-İzopropilakrilamid
PVA	Poli (vinil alkol)
PHEMA	Poli (hidroksietil metakrilat)
PLGA	Poli (laktik-ko-glikolik asit)
CS	Kondroitin sülfat
SF	İpek Protein Fibroin
BSA	Sığır Serum Albümin
PDA	Polidopamin
NP	Nanoparçacık
DOPA	3,4-dihidroksi-L-fenilalanin
Mfp-5	Mitilus Ayak Proteini 5
TFA	Trifloraasetik Asit
SA	Sodyum Aljinat
DIW	Deiyonize Su
CF	Siprofloksasinin
SEM	Taramalı Elektron Mikrosko
EDX	Elektron Dağılım Spektroskopisi
Met	Metformin
Gent	Gentamisin
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
MNPs	Mikro/Nano Partikül Sistemi

NIPAM	N- izopropilakrilamid
IL-6	İnterlökin-6
TNF- α	Tümör nekrozis faktör-alfa
GAG	Glikozaminoglikanlar
LDL	Düşük yoğunluklu lipoprotein
Na ₂ CO ₃	Sodyum karbonat
HCl	Hidroklorik Asit
mg	miligram
w/v	Hacim Başına Ağırlık
ml/h	Saat başına mililitre
No	Numara

1. GİRİŞ

Halk söyleminde şeker hastalığı veya diyabet olarak da bilinen “diabetes mellitus” önümüzdeki on yıl içerisinde dünya genelinde hasta sayısının yarım milyarı geçmesi beklenen metabolik bir hastalıktır. Diyabetin önemli ve dikkate alınması gereken komplikasyonları arasında potansiyel görme kaybı olan retinopati; böbrek yetmezliğine yol açan nefropati, ayak ülserleri, amputasyon, periferik nöropati ve gastrointestinal, genitoüriner ve kardiyovasküler semptomlar yer almaktadır. Bu hastalıklar arasında özellikle diyabete bağlı kronik yaralar hareket kabiliyetinde azalmaya, uzuvların kesilmesine ve hatta ölüme yol açmaktadır. Bu hastalıkların tedavileri çok zor ve pahalıdır, ayrıca bu hastalıklarda enfeksiyon riski yüksek ve sıklıkla cerrahi işlemler gerektiren bir hastalık grubudur ve dolayısıyla bu hastalık grubu hastaların yanı sıra sağlık sistemlerine de önemli bir yük getirmektedir. Yara gelişimini sınırlandıracak ve tedavi edecek sistemler ile yüksek riskli bölgenin erken tanınması ve zamanında tedavi diyabetik ülserlerini önleyebilir, uzuvları kurtarabilir, potansiyel olarak hayat kurtarabilir ve hastanın yaşam kalitesini iyileştirebilmektedir. Diyabetik yaraların tedavisinde cerrahi girişimler, enfeksiyon oluşumunda antibiyotik tedavisi, yeniden damarlanma, mekanik yük boşaltma, ortez uygulamaları gibi çok disiplinli yaklaşımlar uygulanmaktadır. Diyabetik yara tedavilerinde geleneksel olarak kullanılan bu yöntemler hastaya önemli faydalar sağlamakla birlikte fizyolojik olarak karmaşık olan yaraların tedavisinde alternatif çözümlerin geliştirilmesi gerekmektedir. Bu kapsamda son yıllarda yara iyileşmesini kolaylaştıran ve geleneksel pansumanlardan/sargılardan önemli derecede farklılaşan yeni nesil yara örtüsü sistemleri geliştirilmektedir. Yeni nesil diyabetik yara örtüsü geliştirilmesinde kullanılacak olan malzemelerin öncelikle canlı sistem ile uyumlu (biyolojik uyumlu) olması, tedavi sürecinden sonra canlı sistem tarafından absorbe edilebilen (biyobozunur) türden olması, içerisinde diyabetik yara tedavisi için etken madde bulunduran ve bu maddeleri ihtiyaç duyulduğunda ortama salabilen (örneğin; enfeksiyon durumunda antibiyotik salımı ile tedaviye kendiliğinden başlayabilen, enflamasyon durumunda antienflamatuvar salımı yapabilen gibi) gibi özelliklere sahip olması gerekmektedir.

Sunulan tez kapsamında; yukarıda sözü edilen özelliklere sahip fonksiyonel, yeni nesil/akıllı bir yara örtü malzemesi geliştirilmesi planlanmıştır. Yara örtüsü malzemesi çok katmanlı olarak tasarlanıp her bir katman farklı özelliklere ve fonksiyonlara sahip olacaktır. Alt ve üst katman elektroegirme yöntemiyle nanofiber formların oluşturulması için kullanılacaktır. Yaraya temas edecek olan alt katman farklı pH seviyelerine duyarlı ilaç

taşıyıcı partikül sistemleri sayesinde bünyesinde bulundurduğu antibiyotiğin salımını sağlayacaktır. Üst katman alt katmanın etken madde ve partikül sistemi bulundurmadığı yapıdır ve sistemin karalı kalmasını ve korumayı sağlayacaktır. Orta katman ise kriyojel matrix formda dondurarak kurutma işlemiyle elde edilecektir. Sıcaklık değişikliğine duyarlı olarak hazırlanacak orta katman, içerisindeki antienflamatuar etken maddenin salımını sağlayacaktır. Böylelikle çok katmanlı yeni nesil, akıllı bir yara örtü malzemesi geliştirilecektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Deri ve Yapısı

Deri, vücudun en büyük organı olarak tanımlanmaktadır. Vücudu fiziksel, kimyasal ve biyolojik tehditlerden korumak, vücuttan aşırı su kaybını önlemek ve vücut ısısını düzenlemeye yardımcı olmak gibi çeşitli temel görevleri yerine getirir [1]. Üç katmana sahiptir, bunlar; epidermis, dermis ve hipodermistir.

2.1.1. Epidermis

Bazal membran epidermis ve dermisin arasında bulunan lifli yapıdır. İletişimden sorumludur ve sitokinler, büyüme faktörleri için rezervuar görevi görür. Epidermis bazal membranda yer alan keratinositlerden, melanositlerden, Merkel hücrelerinden ve Langerhans hücrelerinden oluşur [2]. Keratinositler farklılaştıkça çok katlı yassı epiteli oluşturur ve hücre sel anlamda bağlantılar ile hücre dışı matrisin oluşumuna katkı sağlarken, mekanik kuvvet veren keratin proteinleri ve lipidlerin salgılanmasında görev alırlar [1], [3]. Epidermisteki hücrelerin yaklaşık %2-4'ünü oluşturan melanositler, doğal bir pigment olan melanin sentezinde bulunurlar [4], [5]. Melanin güneşten, radyasyondan koruma, metal iyonları ve serbest radikal temizliğinden sorumludur. [6], [7]. Epidermal dentritik hücreler olarak bilinen Langerhans hücreleri, cilt yüzeyi konumundan dolayı hücre sel ağlar oluşturarak dış ortama karşı ilk immünojenik aktiviteyi gerçekleştirir [8]. Merkel hücreleri mekanoreseptör görevi görür ve Merkel hücrelerinde hem nöroendokrin hem de epitelyal özellikler görülür [9].

2.1.2. Dermis

Derinin büyük bir kısmını oluşturur. Epidermis ile etkileşimde olan dermis, onarımdan, embriyogenezden ve cilt yapısını korumadan sorumludur. Termal düzenleyici ve duyu reseptörü olarak görev alır. Fibroblastlar, makrofajlar, mast hücreleri, nötrofiller ve lenfositler, sinir ve damar yapıları içeren lifli bir yapıdır. Makrofajlar, vücut savunmasından sorumludur. Mast Hücreleri, kimyasal, fiziksel, biyolojik etkilerle aktif hale gelip çeşitli salgı salgırlar. Fibroblastlar, ECM'sinin üretimi ve düzenlenmesinde, büyüme faktörleri, sitokin üretiminde ve inflamatuvar tepkide rol alır [9].

2.1.3. Hipodermis

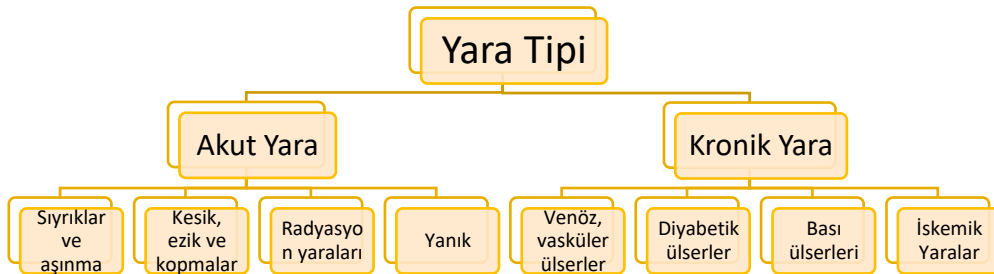
Derinin en derin bölgesinde konumlanmıştır. Damarlar ve sinirler içerir. Hipodermis hücreleri olan adipositler, lipit deposudur. Enerji sağlama, termal düzenleme gibi görevleri vardır [9].

2.2. Yara ve Tipleri

Yara, fiziksel, kimyasal ve biyolojik etkiler sonucu deri yapısının bütünlüğünü koruyamamasıdır. Yara İyileşme Derneği'ne (Wound Healing Society) göre yara, normal anatomik yapının ve işlevin bozulması şeklinde tanımlanmıştır [10]. Yaralar gün geçtikçe artan halk sağlığı problemi olmaya devam etmektedir. Aynı zamanda sağlık sistemlerine de büyük yükler yüklemektedir [11].

2.2.1. Yara Tipleri

İyileşme süresine bağlı olarak yaralar iki kısımda incelenir, bunlar; akut ve kronik yaralar. Akut yaralar, yaralanma nedeniyle ani gelişen yaralardır. İyileşme kısa sürelidir. Yaranın durumuna göre yaklaşık birkaç hafta içerisinde iyileşmeler gözlemlenir [12]. Kronik yaralar, akut yaralarda olduğu gibi normal bir iyileşme süreci göstermez ve iyileşme akut yara iyileşme süresinden fazladır, kronik yaraların tamamen iyileşmesi birkaç ay sürebilmektedir [12]. Sistemik ve düzenli iyileşme gerçekleşmez. Akut yaralar arasında sıyrıklar, aşınma, kesik, ezik, kopmaya bağlı yaralar, radyasyon yaraları ve yanıklar sayılabilir. Kronik yaralara ise venöz vasküler ülserler, bası ülserleri, iskemik yaralar ve diyabetik yaralar örnek verilebilir [13]–[15]. Şekil 2.1'de akut ve kronik yaralar verilmiştir.



Şekil 2.1. Yara tipleri [13]–[15].

2.2.1.1. Diyabetik Yaralar

Halk arasında, diyabet veya şeker hastalığı olarak da bilinen “Diabetes Mellitus” önümüzdeki on yıl içerisinde dünya genelinde hasta sayısının yarım milyarı geçmesi beklenen metabolik bir hastalıktır [16]. İnsülin salgılanmasında eksiklik veya insülin cevabında abnormalite sonucu hiperglisemi ile karakterize edilen bir hastalık grubudur. İnsülin üretimi azlığından kaynaklanan Tip 1 diyabet ve insüline karşı direncin geliştirilmesi sonucu Tip 2 diyabet oluşur. Diyabetin uzun süreli komplikasyonları arasında görme kaybı olan retinopati, böbrek yetmezliğine yol açan nefropati, ayak ülseri, amputasyon periferik nöropati, gastrointestinal, genitoüriner ve kardiyovasküler semptomlar yer almaktadır [17]. Bu hastalıklar arasında özellikle diyabete bağlı kronik yaralar hareket kabiliyetinde azalmaya, uzuvların kesilmesine ve hatta ölüme yol açmaktadır. Bu hastalıkların tedavileri çok zor ve pahalıdır, ayrıca bu hastalıklarda enfeksiyon riski yüksektir ve sıklıkla cerrahi işlemler gerektiren bir hastalık grubudur ve dolayısıyla bu hastalık grubu, hastaların yanı sıra sağlık sistemlerine de önemli bir yük getirmektedir [18].

Dünyanın herhangi bir yerinde her 30 saniyede bir diyabetin sonucu olarak bir uzvun bir kısmında veya tamamında alt uzuv amputasyonu meydana gelmektedir [19]. Diabetes mellitusun yaygın komplikasyonlarından biri de diyabetik ayak ülserleridir (DFU). Özellikle nöropati, DFU'ların patogenezinde ana katkıda bulunan faktörlerden biridir [20], [21]. Diyabetli hastaların %19-34'ünün yaşamları boyunca diyabetik ayak ülserinden etkilenmesi olasılığının olduğu tahmin edilmekte ve Uluslararası Diyabet Federasyonu tarafından, yılda 9,1–26,1 milyon insanın DFU hastası olabileceği bildirilmektedir [22]. Bu rakamlar göz önüne alındığında DFU oluşumu oldukça önemli bir sağlık sorunu olarak karşımıza çıkmaktadır. DFU gelişimini sınırlandıracak ve tedavi edecek sistemler ile yüksek riskli ayağın erken tanınması ve zamanında tedavi ayak ülserlerini önleyebilir, uzuvları kurtarabilir, potansiyel olarak hayat kurtarabilir ve hastanın yaşam kalitesini iyileştirebilmektedir [21].

2.3. Diyabetik Yara Tedavisinde Kullanılan Yöntemler

Multidisipliner bir yaklaşımlarla yara yönetimi; evreleri, çeşitleri ve uygulanacak tedavilerin planlanması şeklinde uygulanmaktadır. Yara bakımları, enfeksiyonların kontrolleri, kan akışı düzeni ve basıncın değerlendirilmesi gibi stratejilerle uygulamalar yapılmaktadır. Örneğin diyabetik periferik nöropati için; pankreas nakilleri yapılmaktadır, iyileşme sağlansa da cevap süresi tutarsızlıkları vardır [23], [24]. Alfa-lipoik asit tedavisi uygulanmaktadır fakat, uzun süreli etkileri araştırılmamıştır [24], [25]. Antikonvülsanlar,

antidepresanlar gibi ilaç gruplarının vücuda oldukça fazla yan etkisi vardır [24], [26]. Mezankimal kök hücre tedavileri araştırılmaktadır fakat bu sistemler hep oldukça pahalı hem de kullanılabilen hücre sayısı azdır [24], [27], [28]. Anjiyoplasti kullanılan bir diğer yöntem fakat bu yöntem amputasyona engel olamamaktadır [29]. Hiperbarik oksijen tedavisi/ozon tedavisi, çok az çalışma vardır ve kullanımda ek maddeler istenir [24], [30]. Periferik arter hastalığında; revaskülerizasyon yöntemleri kullanılmaktadır. Tedavi uygulandıktan sonra hipertansiyon, hiperkolesterolemi ve komplikasyon oluşumu gibi istenmeyen oluşumların kontrol altında tutulması gerekliliği vardır [24], [31]. Debridman yöntemi, yara etrafı nekroz, cansız dokunun alınması, çıkarılması ve yara bölgesindeki diğer sağlıklı dokunun bırakıldığı yöntemdir ama nekrotik dokunun alınması konusunda kullanılacak teknik henüz net değildir [32], [33]. Basınç kontrolü için ayak giyecekleri önerilen tedavi yönteminden biridir fakat hasta konforu ve hastanın önerilere uymama olasılığından dolayı ülser tedavilerinde etkili olabilmemektedir [34]. Enfeksiyon tedavisi için antibiyotikler kullanılmaktadır ama sistemik alınan antibiyotiklerin biyoyararlanımı düşüktür ve antimikrobiyal dirençler gelişmektedir [35]. Antimikrobiyal peptidler, patojen savaşında kullanılacak immun molekülleridir fakat Gıda ve İlaç İdaresi (FDA) tarafından insanlarda kullanımı onaylanmış antimikrobiyal peptid yoktur [24], [36]. Lazer tedavilerinin sınırlı sonuçları vardır ve maliyeti yüksektir [37], [38].

2.4. Yara İyileşmesi

Yaralanma gerçekleştikten sonra cilt bütünlüğünü sağlamak ve devam ettirmek için koordineli, sistematik, hücresel ve biyokimyasal olaylar dizisinden oluşan bir onarım süreci gerçekleşir [39]. Yara iyileşmesi basamakları birbirini takip eder. Süreç dört ayrı fazdan oluşur, bunlar; homeostaz, inflamasyon, proliferasyon ve yeniden şekillenme şeklindedir.

2.4.1. Homeostaz Fazı

İyileşme sürecinin ilk basmağı olan homeostaz fazı, kanamanın durdurulması ile başlar (Şekil 2.2) [40]. Kan damarları görev alır ve büzülme işlemi gerçekleştirerek kanamanın azalmasını ve trombositler damar duvarına yapışarak pıhtılaşmanın oluşmasını sağlar [41]. Trombosit, kanama durdurucu olan ve kan pıhtısı oluşturup protrombin salgılayan fibrin yapıştırıcı ile yapışarak fibrin iskele oluşturur. Fibrin pıhtısı nötrofiller, monositler, fibroblastlar ve endotel hücreleri gibi göç eden hücreler için bir yapı iskelesi görevi görür [39]. Homeostaz hızlı şekilde gerçekleşir.

2.4.2. İnflamasyon Fazı

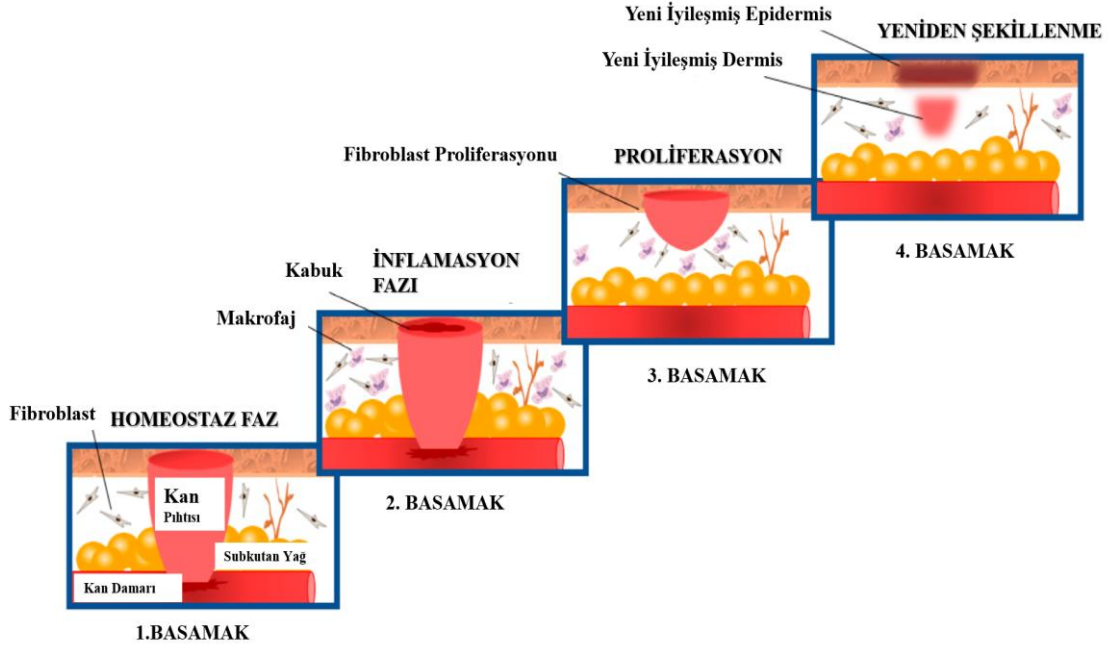
Yara iyileşme sürecinin ikinci basamağı olan inflamasyon fazı, yara iyileşme süresini uzatır ama gerçekleşmesi doğal olan bir süreçtir. İyileşmede görevli hücrelerin aktif hale gelmesi, sitokinler, büyüme faktörlerinin salımı ile başlar [42]. Yara kısmına ilk giden kan lökositleri nötrofillerdir. Nötrofiller artıkların fagosite edilmesini sağlar. Monositlerden köken alan makrofajlar da yara bölgesine göç eder. İyileşme süresince makrofajlar aktif rol alır [39]. Keratinositler de yaralı bölgeye göç eder ve fibroblastlar artmaya başlar (Şekil 2.2.). Ardından lenfositler artar, makrofaj ve lenfositin etkinliği yara iyileşmesi için kritiktir [43].

2.4.3. Proliferasyon

İyileşmenin üçüncü basamağı proliferasyon evresidir. Yara bölgesinde salınan sinyaller ve büyüme faktörleri fibroblast göçü için sinyal anlamındadır. ECM ve fibroblastların ürünü olan kolajen yardımıyla yeni, sağlıklı granül dokunun oluşturulması çalışması başlar [44]. Yeni oluşmuş kan damar ağlarının uygun beslenmesi ve de gerekli, yeterli oksijen ile sağlıklı dokular oluşur (Şekil 2.2.).

2.4.4. Yeniden Şekillenme

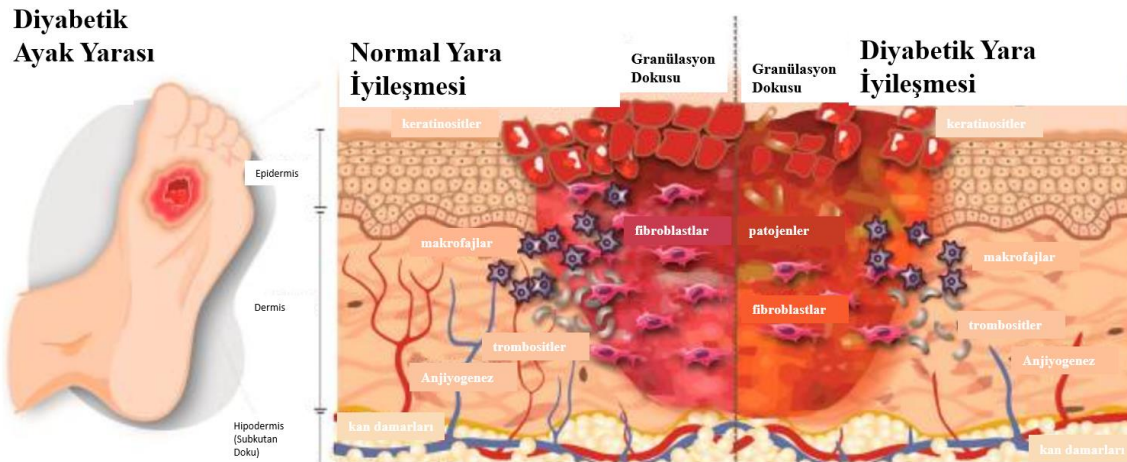
Son olarak dördüncü basamak olan yeniden şekillenme evresinde; epidermis, dermiş, sinirler yeniden şekillenerek işlevsel dokuyu oluşturmaya başlar (Şekil 2.2.). Fibroblastlar ve makrofajlar tarafından salınan kollajenaz enzimleri, Tip III kollajenini (ilk biriken kolajen tipi) bozar ve bunun yerine paralel fibriller halinde yeniden düzenlenen ve bir skar oluşturan kollajen Tip I ile yer değiştirir [45]. Kollajen daha sonra ana skar proteini görevini üstlenir. Kollajen başlangıçta düzensiz dağılırken, kollajen fibrilleri, iyileşen yaradaki stres boyunca yönlendirilmiş düzenli olarak hizalanmış yapılar halinde çapraz bağlanarak yeniden düzenlenir. Matris yapısında değişiklikler olur, kolajen lifler yara izi şeklinde düzenlenir [1].



Şekil 2.2. Yara İyileşmesi Basamakları [40].

2.4.5. Diabetes Mellitus'da İyileşme Süreci

Diyabetik yaralardaki büyük sorunlardan biri dinamik ve sistematik gerçekleşen yara iyileşme sürecinin olması gerektiği gibi gerçekleşmemesidir. Koagülasyon sürecinde hiper pıhtılaşma, fibrinolizde (fibrin pıhtısının parçalanması) azalma [46], nötrofiller tarafından düzensiz sitokin salımı ve sonucunda enfeksiyona yatkınlık [47], hiperglisemi nedeniyle fibroblast ve keratinositlerin göçü ve aktivitesinin yetersiz olması, anjiyogenez ve kan akışında azalmalar, yetersiz fibroblast etkinliği nedeniyle ECM'nin zayıf üretimi yaraların sağlıklı değil kusurlu kapanmasına neden olur (Şekil 2.3) [24].



Şekil 2.3. Normal ve Diyabetik Yara İyileşmesi Karşılaştırması [24].

2.5. Diyabetik Yara ve Doku Mühendisliği Yaklaşımı

Doku mühendisliği karmaşık doku yapılarını oluşturmak için rejeneratif özelliği kullanarak geliştirilen bir yaklaşımdır. Hasar görmüş dokuların, organların işlevini korumak, iyileştirmek ve geliştirmek için uygulanır [48]. Diyabetik yaralarda üretilen mühendislik ürünlerinin yaralanmış derinin yerini alacak olması, yara etki mekanizmasında iyileştirici özelliğe sahip olması gerektiğinde terapötik yaklaşımlar sergilemesi beklenmektedir. Biyomalzemeler, hasarlı dokunun iyileşebilmesi için bu yaklaşımla beraber kullanılarak doku mühendisliği çalışmalarında önemli bir yer edinmektedir. Büyüme faktörleri, hücreler, iskeleler, insan derisi dokuları diyabetik yaralarda kullanılan doku mühendisliği ürünleridir [24]. Epidermal büyüme faktörü (EGF), hücrelerin uyarılmasını ve fibroblast proliferasyonunu artırarak iyileşmeye katkı sağlar [49]. Mezankimal kök hücreler (MSC), farklılaşma potansiyeline sahiptir ve doku onarımı, anjiyogenez için araştırılmaktadır [27]. Yara onarımında matris olarak kullanılan iskeler, biyomalzemelerle yara iyileşmesinde kullanılır. Biyomalzemeler, hasarlı dokunun iyileşebilmesi için bu yaklaşımla beraber kullanılarak doku mühendisliği çalışmalarında önemli bir yer edinmektedir [50]. Biyomalzemeler, hidrojel, köpük, film, bandaj ve yara örtüsü gibi ürünlerin üretiminde kullanılır.

2.6. Yara Örtüleri

Hasar görmüş, yaralanmış cildi korumak ve iyileşmesine yardımcı olmak, hızlandırmak için kullanılan bir örtü malzemesidir. Yara iyileşme sürecinde organizmanın tek başına yetersiz kaldığı durumlarda, ilaç tedavilerine cevabın yetersiz olduğu durumlarda ve tedavi için geleneksel yöntemlere ek alternatif tedavi arayışında yarayı desteklemek için örtüler araştırılmıştır [51]. Tarihsel olarak, milattan önce yağ ve gres ile ıslatılmış keten parçaları, kil tabletler, bal ve reçine pansuman için su ve süt yara temizliği için kullanıldı. 19. yüzyılda enfeksiyon kontrolü için antibiyotikler kullanılmaya başlandı ve 20. yüzyılda modern yara örtülerine geçiş başladı. 1891 yılında pamuklu gazlı bezler, 1980 ortalarında, kuru yara ortamından ziyade nemli ortamın yarayı daha hızlı iyileştirdiği fikriyle beraber ilk nem sağlayan ve sıvı emen yapılar geliştirildi. 1990 yılı ve sonrasında da modern örtüler araştırılmaya başlandı [52]–[54].

2.6.1. Geleneksel Yara Örtüleri

İkincil pansuman olarak kullanılan geleneksel örtüler, kanama ve iyileşme kontrolü sağlamak amacıyla kullanılır. Gazlı bezler, bandajlar, yapıştırıcılar, köpükler, süngerler, hidrokolloid yapılar örnek verilebilir [55]. Yara drenajı nedeniyle örtü yaraya yapışma

eğilimi gösterir ve çıkarılmak istendiğinde dokulara zarar verebilir. Sağlıklı dokuları korumak için değiştirilmesi gerekir. Klinik olarak araştırılmış hatta ticarileşmiş olan geleneksel örtüler yarayı kapatmayı hedeflerken, iyileştirme özelliğinden yoksun olabilmektedir. Geleneksel örtüler yara için nemli ortamı sağlayamadığı için yara iyileşmesini uzatır. Farklı tip ve farklı iyileşme mekanizmasına sahip yaralardaki gereksinimler, yaraya özgü yara örtüleri tasarımını mecbur kılmaktadır. Tek tip üretilen geleneksel örtüler bu gereksinimi karşılamamaktadır. Ortam değişikliğine duyarlılık azdır. Yarada oluşabilecek herhangi bir değişiklik, yarayı kronikleştirebilir ve bu süreci yönetecek, değişikliğe karşı cevap oluşturup uygun yara yönetimini sağlayacak sistemlere ihtiyaç duyulmaktadır [53].

2.6.2. Akıllı/ Yeni Nesil Yara Örtüleri

Yara yönetimi küresel anlamda sağlık sistemlerine ve profesyonellerine büyük yükler yüklemektedir ve tedavi protokolleri geliştikçe yükler hafiflemekte, sağlık sistemleri, profesyoneller, hastalar ve hasta yakınlarına büyük kolaylık ve destek sağlamaktadır. Bu potansiyel tedavi yöntemlerinden biri de akıllı yeni nesil yara örtüsü malzemeleri araştırmalarıdır. Son yıllarda yara iyileşmesini kolaylaştıran ve geleneksel pansumanlardan/sargılardan önemli derecede farklılaşan yeni nesil yara örtüsü sistemleri geliştirilmektedir. Modern yara örtüleri sadece yarayı kapatmak değil aynı zamanda yara iyileşmesine katkıda bulunmak amacıyla kullanılır [56]. Yeni nesil yara örtülerinde olması gereken özellikler şunlardır;

- Yara ortamının belirli bir düzeyde nemli tutulması,
- Yara drenajını emerken aşırı ıslanmaya bağlı olarak yara çevresinin yumuşamasını önlerken bir yandan da yaranın kurummasının önlenmesi,
- Epidermal göçü arttırması, gaz değişimine izin vermesi, anjiyogenezi ve bağ dokusu üretimin uyarması,
- Enfeksiyona karşı koruma sağlamalı ve yabancı maddeler için bariyer görevi görmesi,
- Canlı sistem ile uyumlu (biyouyumlu), toksik, alerjik ya da kanserojen etki göstermemesi,
- Tedavi sürecinden sonra canlı sistem tarafından absorbe edilebilen (biyobozunur) türden olması,
- Yüksek sıvı absorblama yeteneğine sahip olması,
- Gaz alışverişine olanak sağlaması,

- Būnyesinde yara tedavisi için etken madde bulundurması ve bu maddeleri ihtiyaç duyulduğunda ortama salabilmesi (enfeksiyon durumunda antibiyotik salımı, inflamasyon durumunda antenflamatuar ajan salımı gibi) [53], [57].

Yara iyileşmesi dinamik ve sistematik bir dizi süreci içerir ve iyileşme boyunca pH, sıcaklık, oksijen seviyeleri, glikoz seviyeleri gibi faktörler yara iyileşme sürecini etkileyebilir ve değiştirebilir. Bu nedenle olası değişikliklere zamanında ve etkili yanıtlar verebilmek için uyarılara duyarlı yara örtüsü malzeme sistemleri geliştirilmektedir.

2.6.2.1. pH Duyarlı Yara Örtüleri

Fizyolojik ve patolojik bir dizi vücut olayları sonrası pH değerinde değişiklikler meydana gelebilmektedir. pH duyarlı örtüler genel olarak kontrollü salım sistemlerinde uygulama alanı bulur. Sağlıklı bir derinin pH'ı asidik özelliktedir [58], [59]. pH'daki bir değişiklik, malzemenin işlevsel gruplarının iyonizasyon seviyesinde bir değişikliği tetikler ve üzerinde etkide bulunur, böylece parçacıkların veya biyomoleküllerin salınmasını kontrol eder. Kronik yara ve enfeksiyon durumlarında derinin pH değerinde değişiklik gözlemlenmektedir [60]. Hasarlı dokunun pH'ı asidikten baziğe doğru değişmektedir [61]. Bu değişikliğe cevap veren çalışmalar mevcuttur. Örneğin, poli(etilen glikol)-diakrilat/laponit esaslı ilaç yüklü kitosan nanoparçacıkları içeren bir yara sargısı üretilmiş ve pH değişikliğine karşı kitosan nanoparçacıklarından ilaç salımınının gerçekleştiği gözlemlenmiştir [62]. Bir diğer çalışmada asidik koşullarda iyonik çapraz bağlanmanın bozulduğu ve hidrojel ağının gevşemesiyle tannik asidin hidrojelden salımı gerçekleştirilmiştir [63].

2.6.2.2. Sıcaklık Duyarlı Yara Örtüleri

Sağlıklı bir derinin sıcaklığı 36,5 °C-37 °C civarındadır. Ancak yaralanmış, hasar görmüş, enfekte bir derinin sıcaklığı yükselir. Sıcaklığa bağlı olarak yara örtüsünde kullanılacak malzemenin davranışındaki değişiklikle (örneğin hidrojel yapılar büzüşerek içerisindeki ilacı salar.) uyarın cevabı oluşturulabilir. Sıcaklık faktörü kullanılarak, yara iyileşmesi için duyarlı yara örtüleri geliştirilmiştir. Örneğin, N- izopropilakrilamid (NIPAM) polimerinin ısıya duyarlı davranışını nedeniyle sıcaklık artışına bağlı olarak küçülmesi, hidrojen bağlarının kırılması sonucu içerisindeki etken maddenin salımını gerçekleştirilmesi gözlemlenmiştir [64].

2.6.2.3. Glikoz Duyarlı Yara Örtüleri

Diyabetik yaralar gecikmiş yara iyileşmesi ve komplikasyonlara neden olur [65]. Hiperglisemi, yaraların kolay enfekte olmasına neden olduğu için glikoza duyarlı yara örtüsü malzemeleri araştırılmaktadır. Örneğin, fenilboronat bağı glikoza duyarlıdır ve glikoz seviyesi arttığında fenilboronat ester bağı kırılarak malzeme içerisindeki etken maddeyi salması incelenmiştir [66].

2.6.2.4. Reaktif Oksijen Türlerine Duyarlı Yara Örtüleri

Yara iyileşmesi sürecinde hem olumlu hem de olumsuz etkilere sahip olan reaktif oksijen türleri, normal seviyede; bakterilerin yok edilmesi immünoisit toplanmasına sebep olur. Aşırı reaktif oksijen protein, (deoksiribo nükleik asit) DNA gibi moleküllerin hasarına yol açabilir. Oksidatif stres oluşur ve bu da yara iyileşme sürecinin olumsuz etkilenmesine neden olur [67], [68]. Örneğin, hidrojen bağı oluşturabilmek için ortamdaki reaktif oksijenleri tüketen hidrojel, ortamda aşırı reaktif oksijeni azaltırken, yeterli miktara ulaşan reaktif oksijenlerin yara iyileşmesinde görev almasını sağlamıştır [69].

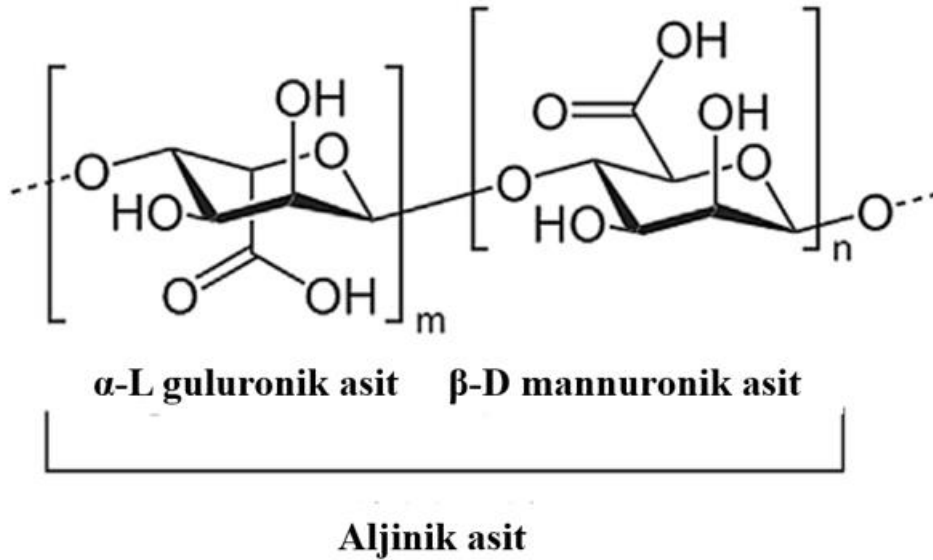
2.7. Biyomalzeme Esaslı Yara Örtüleri

Biyomalzemeler, doku ve organların işlevini yerine getirmek, geri kazandırmak veya yerini almak için kullanılan malzeme grubudur. Malzeme eklendiği bölgede uygun cevap oluşturabilme yeteneğine sahip olmalı, biyoyumlu olmalıdır [70], [71]. Toksik, alerjenik ve kanserojenik etki yaratmamalıdır. Biyomalzemeler metaller, kompozitler, seramikler ve polimerler olmak üzere dört kısımda incelenir. Polimerler, tekrarlı alt birimlerden oluşan makromoleküllerdir. Diyabetik yaralar için geliştirilen yara örtülerinde büyük öneme sahiptir. Doğal ve sentetik olmak üzere iki kısma ayrılır. Doğal polimerlerin mekanik anlamda etkinliğinin artırılması için sentetik polimerlerle beraber kullanılabilir. Yara örtüsü uygulamalarında aljinat, kondroitin sülfat, polydopamin, jelatin, kitosan, selüloz, hyaluronik asit, ipek proteinleri gibi doğal polimerler yüksek biyoyumluluklarından dolayı kullanılır. Sentetik polimerler arasında, poli(vinil alkol) (PVA), poli(hidroksietil metakrilat) (PHEMA), polilaktit (PLA), poli(laktik-ko-glikolik asit) (PLGA) gibi polimerler yer almaktadır [71].

2.7.1. Aljinat

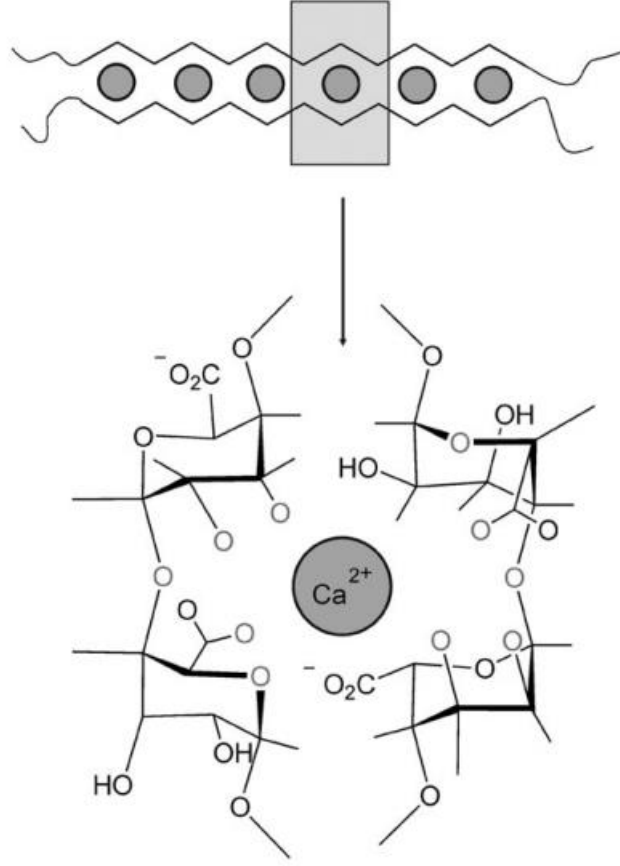
Anyonik özellikteki aljinat polimeri (Alg), kahverengi alglerin hücre duvarlarından, *Pseudomonas* veya *Azotobacter* gibi bakteri suşlarından elde edilen suda çözünür polisakkarittir [72], [73]. Kaynağına bağlı olarak çeşitli oranlarda guluronat ve mannuronattan oluşur. (1,4)-bağlı β - d -mannuronat (M) ve α - 1 -guluronattan (G) oluşan bir

bloktan oluşur. Aljinatlar, fiziksel özelliklerini ve moleküler ağırlıklarını belirleyen farklı oranlarda ve M ve G dizisi içerir. Dizi ardışık G asit (GGGGGG) ve M asit (MMMMMM) ve dönüşümlü M ve G kısımlardan (GMGMGM) oluşur [74] Şekil (2.4). Aljinik asitin suda çözünür forma gelmesi için sodyum aljinat, kalsiyum aljinat ve aljinat esterlerine dönüştürülmelidir.



Şekil 2.4. Aljinik asitin yapısı [75].

Aljinatın önemli özelliğinden birisi de iki değerlikli katyonlarla hidrojel oluşturabilme yeteneğidir. Jel oluşumu, iki değerlikli katyonların varlığında sıkı bağlantılar oluşturmak üzere birleşen G-blokları arasındaki etkileşimler tarafından yönlendirilir. Ca^{+2} gibi iki değerlikli katyonlar, aljinat zincirindeki fonksiyonel gruplar arasında çapraz bağ görevi görür, bu da bir jel ağının oluşumuna yol açar [74]. G-bloğunun yapısal biçiminden dolayı, metal şelasyon-bağlama zinciri, yumurta kutusu (Şekil 2.5) çapraz bağlanma modeli olarak adlandırılır [76]. Katyonların çeşitliliğine rağmen, maliyeti ve toksisite olmaması nedeniyle, aljinat jeli üretmek için en çok kullanılan iyon Ca^{+2} 'dir [77].



Şekil 2.5. Jel formun oluşumunda yumurta kutusu modeli şematik çizimi [76], [78].

Aljinat biyopolimerinde bulunan fonksiyonel gruplar (hidroksil, karboksil) sayesinde kolay işlenebilirliğe sahiptir. Bu nedenle yara örtü malzemelerinde oldukça fazla uygulama alanı bulmaktadır. Yara ortamının nemli kalmasını sağlayan ve enfeksiyon gelişimini sınırlandıran jeller oluşturur, epitelizasyon ve granül dokusunun oluşumunu destekler. Yüksek biyouyumluluğu ve etkili şişme kapasitesi ile yara örtüleri malzemelerindeki etken madde salım uygulamalarında kullanılır [79]. Aljinat temelli yara örtülerine örnek olarak, köpükler, nanofibler, hidrojeller, filmler süngerler verilebilir [73]. Ek olarak aljinat, biyomalzemelerin yapısını kontrol edebilir ve antibiyotiklerin yara pansuman malzemelerinden kontrollü olarak verilmesi için çok uygundur. Bu nedenle, aljinat polimerleri, cilt yara örtüleri dahil olmak üzere farklı türde biyomedikal ürünlerde iyileşmeyi hızlandırmak için kullanılmaktadır ve geleneksel yara örtülerine göre en az ağrı ile çıkarılabilmektedir. Aljinat bazlı antibiyotikler yüksek emme kapasitesi sergilediklerinden, şiddetli eksudalı yaralarda oldukça faydalıdır. Aljinat ve aljinat bileşikleri, yalnızca süper emici özellikler sergilemekle kalmaz, aynı zamanda yapısal bütünlüğü koruyarak iyi bir stabilite gösterir. Yara örtü malzemelerinin klinik uygulamalarda uygulanabilirliğini geliştirmek için, diğer polimerlerle birlikte çeşitli mikrobiyal dirençli yara örtü

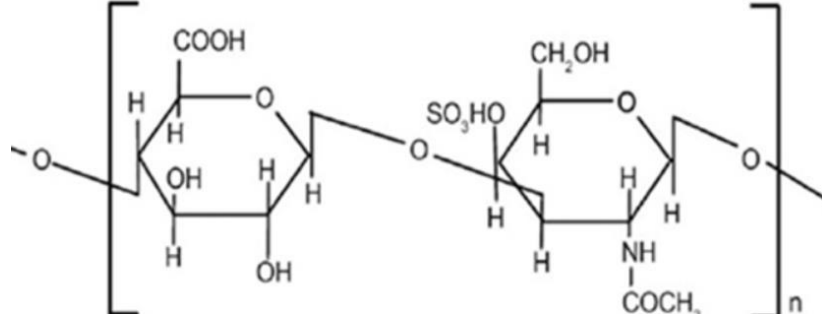
malzemelerinin geliştirilmesi için aljinat kullanılır [80], [81]. Yara iyileşmesindeki rolü: Yara iyileşmesinde aljinatın etkili yüksek emme gücü, eksüdata bulunan sodyum iyonlarının (Na^+) kalsiyum aljinattaki kalsiyum iyonları (Ca^{2+}) ile yer değiştirmesinden ve sonuç olarak bir sodyum aljinat jel oluşmasından kaynaklanmaktadır. Bu jel yara yüzeyine uyum sağlar, büyüme faktörlerini ve iyileşmeyi teşvik eden hücreleri taşır ve doymuş hale gelene kadar eksüdayı emmeye devam eder. Ayrıca, kalsiyum, esasen trombosit aktivasyonunu ve agregasyonunu teşvik eden bir pıhtılaşma faktörü gibi davrandığından aljinatın hemostatik özelliğinden de sorumludur. Aljinatın yüksek M-blok içeriği, iyileşme sürecinde doğrudan rolü olan IL-6 ve TNF- α üretimi için monositleri uyarması nedeniyle kronik yara iyileştirme uygulamaları için de yararlıdır [82], [83]. Diyabetik yaralarda kullanılmak üzere ticari olarak temin edilebilen bazı yara örtüleri Tablo 2.1’de verilmiştir [84].

Tablo 2.1. Diyabetik yaralarda kullanılan aljinat temelli ticari yara örtüleri örnekleri [84].

Aljinat Bazlı Yara Örtüleri	İçerik	Referans
Algicell™	Sodyum aljinat, %1,4 gümüş	[80], [85]
AlgiSite M™	Kalsiyum aljinat	[86]
Kaltostat™	Sodyum aljinat	[87]
Tegagen™	Sodyum aljinat	[88], [89]
Fibracol™ Plus	Kalsiyum aljinat ve Kolajen	[90]
Algivon®	Kalsiyum aljinat ve Manuka balı	[91]

2.7.2. Kondroitin Sülfat

Ekstraselüler matrix (ECM)’nin bileşenleri arasında bulunan glikozaminoglikanlar (GAG) hücre büyümesi, farklılaşması, morfogenez, hücre göçü ve enfeksiyonlarda önemli roller oynayan karmaşık polisakkaritlerdir [92], [93]. Kondroitin sülfat (CS) (Şekil 2.6) sülfatlanmış bir GAG’dır. Bağlarda, tendonlarda, aortta ve omurun kırırdağında bol miktarda bulunur [94].



Şekil 2.6. CS'nin Yapısı [95].

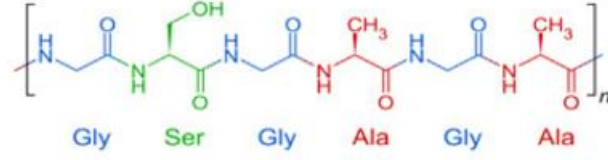
CS doku rejenerasyonu potansiyeli olan bir biyopolimerdir [96]. Fibroblastların ekspresyonu, CS tarafından artırılarak yara iyileşmesi sürecini ve diyabetik yaralarda yara dokularının rejenerasyonunu uyarır [19], [97]. Sitokinler, büyüme faktörleri, kemokinler gibi yapılarla etkileşim kurarak yara kapanma etkinliğini ayarlar [98]–[100]. Hatta bünyesinde CS bulduran gıda takviyelerinin diyabetik yaralarda yara iyileşme sürecine katkıda bulunduğu incelenmiştir [101], [102]. Kondroitin Sülfat (CS), anti-enflamatuar, antioksidan, anti-tümör, antikoagülan ve antitrombojenik aktivitelere sahiptir. CS'nin fizyolojik uyarıcılar, hiyalüronidaz (HAaz) enzimi ve reaktif oksijen türlerinin (ROS) mevcudiyetinde bölgeye özel ilaç salımına yardımcı olarak bozduğu bilinmektedir. CS'nin *Bacteroides thetaiotaomicron* ve *Bacteroides ovatus* gibi kolonik enzimler tarafından bozunması, onu kolonik ilaç iletimi için ideal bir taşıyıcı yapar. CS'nin biyo-aktivitelerinin yanı sıra, fizyolojik durumdaki bozulması da son zamanlardaki araştırmaların bir parçası olmuştur; burada, bozunma oranındaki bölgeye özgü modülasyon, araştırmacılara CS'yi uyarılara duyarlı nanomateryaller geliştirmek için kullanma konusunda ilham vermiştir. Ancak CS oldukça hidrofildir ve istenen mekanik stabiliteden yoksundur, bu nedenle ilaç salımı ve doku mühendisliği uygulamaları için kullanılmadan önce genellikle diğer polimerlerle çapraz bağlanır. Biyouyumluluk, biyobozunurluk, immünojenik olmama ve son derece düşük toksisite gibi olağanüstü özelliklere sahip olmasından dolayı CS ve türevleri biyomedikal uygulamalar için ilgi çekicidir [94].

2.7.3. İpek Proteinleri

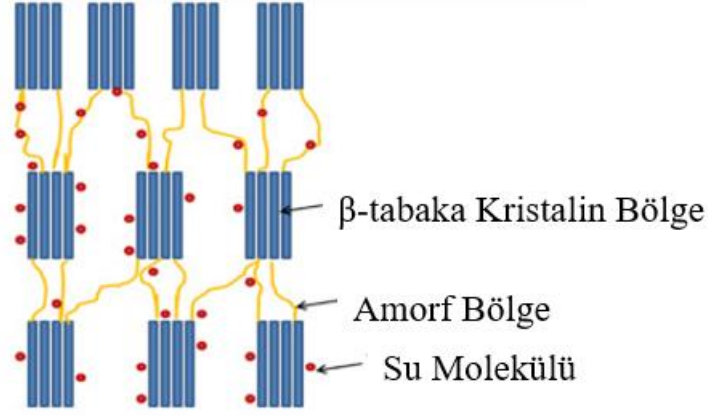
İpek, ipekböcekleri, sinekler, örümcekler, akarlar ve akrepler gibi çeşitli böcekler tarafından üretilen bir protein biyopolimeridir. İpekböcekleri, metamorfizma dönemlerinde onları koruyan ipek liflerini örerek ipek kozaları geliştirir. Örümcekler ağ yapmak, avlarını yakalamak ve hareketleri için ipek lifleri üretirler. Tüm ipek lif çeşitleri, amino asit dizilerindeki önemli değişiklikler nedeniyle türden türe farklılık gösterir. Ayrıca ipekler

bileşimdeki çeşitlilik nedeniyle mekanik özellikler, biyoaktivite ve bozunma davranışı gibi özellikleri bakımından da değişiklik gösterir [103].

İpekböceği ipeğinin doğal formu, ipek proteini fibroin (SF) ve serisin proteininden oluşur ve her iki protein türü de yara pansuman uygulamalarında kullanılır. Bununla birlikte, SF, ipek biyomalzeme kullanımının baskın türüdür. İpek fibroin, ipekböceklerinin kozalarından elde edilen lif kısmıdır. *Bombyx mori* kozasından izole edilen SF, fiziksel özellikler, kimyasal bileşim ve biyolojik özellikler açısından karakterize edilmiş en çok çalışılan ipek çeşididir. Yeşil teknoloji kullanılarak doğrudan ipek kozalarından fibroin bileşeninin çıkarılmasının uygulanabilirliği, onu ideal bir biyomalzeme yapmıştır [104]. SF bazlı biyomalzemeler mükemmel biyouyumluluk sergiler. Ayrıca, bu proteinin benzersiz yapısı, yaygın olarak kullanılan diğer biyopolimer bazlı biyomalzemelerle karşılaştırıldığında dikkate değer mekanik özellikler sağlar. *In vivo* bozunma hızı, kristallenmeye, iskele formuna, çapraz bağlayıcı türü gibi diğer faktörlere bağlı olarak implantasyondan haftalar ila yıllar sonrasına kadar kontrol edilebilir. Bu nedenle SF, doku mühendisliğinde kemik, kıkırdak, sinir, deri gibi çeşitli uygulamalarda yaygın olarak kullanılmaktadır [105]. SF'nin kimyasal yapısı disülfür bağları ile bağlanmış hafif zincirlerden ve ağır zincirlerden oluşur. Ağır zincir, kristal ve amorf bölgelerden oluşur. Kristalin bölgeler, serin ve tirozin amino asitlerle birbirine bağlı glisin-alanin tekrarlarından oluşurken, amorf bölgeler, aspartik asit gibi amino asitlerden oluşur. Kristalin bölgeler, küçük hidrofilik bağlayıcı segmentlerle bağlanan hidrofobik β -tabaka oluşturu yapılar (yüksek mekanik mukavemet ve tokluk sağlayan) açısından zengindir (Şekil 2.7). *B. mori* ipek liflerinin çekme dayanımı 740 MPa'dır. SF, formuna bağlı olarak ya yüksek miktarda β -yaprak ya da α -helis içerir. SF, bir matris görevi gören α -helisler ve bobinlerle çevrili β -tabakaları nedeniyle dayanıklıdır [106].

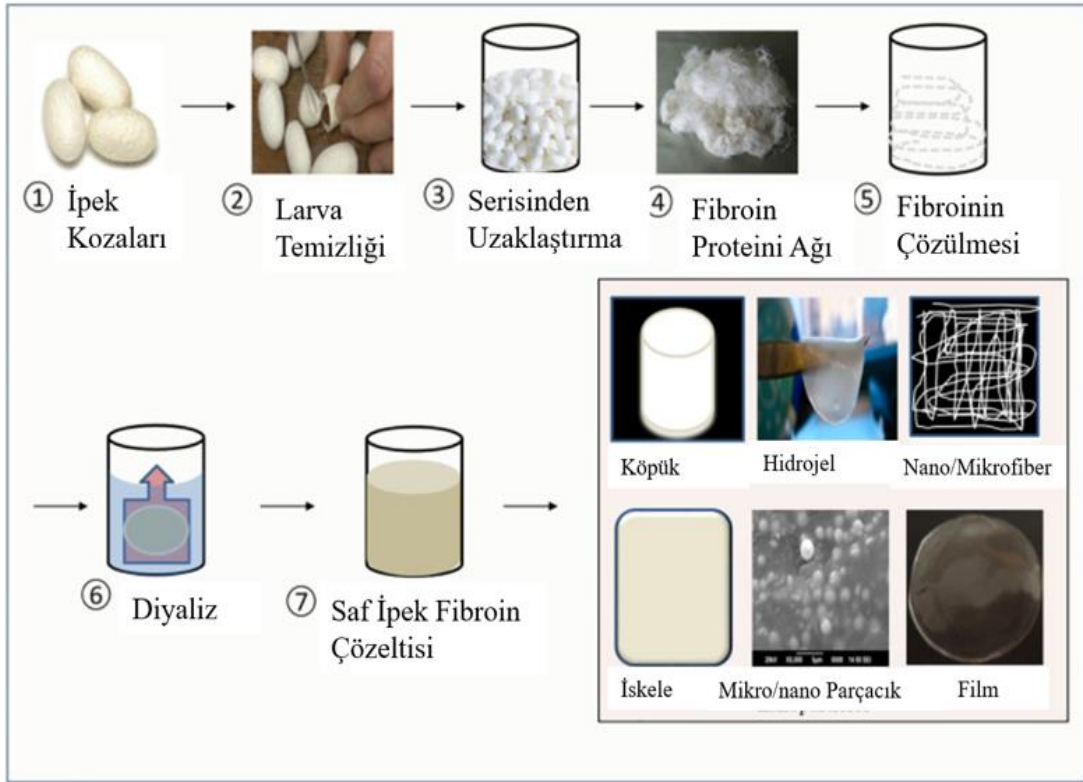


İpek Protein Kimyasal Yapısı



Şekil 2.7. İpek Fibroin Yapısı [106].

SF lifleri, yumuşaklıkları, parlak görünüşleri, nem emme kapasiteleri ve kolay boyanabilmeleri nedeniyle uzun yıllardır tekstil endüstrisinde kullanılmaktadır. Son yıllarda yeni SF kompozit biyomalzemelerin geliştirilmesi sayesinde yara pansumanlarında SF uygulamaları minimum işlem gerektiren, nem emme kapasitesine sahip ve yara iyileşme sürecini destekleyen, kolayca bulunabilen biyomalzemeler olduğu için artmaktadır. Bunun dışında SF, yüksek mukavemet, biyouyumluluk, biyobozunurluk, düşük bakteri yapışması ve iyi kullanım özellikleri gibi arzu edilen özelliklere sahiptir ve bu nedenle tıp alanında yaygın olarak kullanılan bir suture materyalidir. SF, doku mühendisliği, ilaç dağıtımı, kanser tedavisi, cilt yara iyileşmesi ve yara pansuman uygulamaları dahil olmak üzere çeşitli biyomedikal uygulamalar için süngerler, hidrojeller, nanolifli matlar, yapı iskeleleri, mikro-nanopartiküller ve kompozit filmler halinde kolayca üretilebilir (Şekil 2.8). Yara pansuman uygulamalarında SF'nin avantajları, yüksek mukavemeti, esnekliği, sitotoksik olmaması, oksijen geçirgenliği ve migrasyon, proliferasyon ve farklılaşmayı destekleme yeteneğidir [106].



Şekil 2.8. İpek kozasından SF eldesi ve Biyomedikal uygulamalar için SF'nin kullanımı [106].

SF'nin yara iyileştirme uygulamaları için sağladığı temel özellikler aşağıdaki gibidir:

- Hemostatik özellik: SF 'nin fibrinojen ve kan trombositleri ile etkileşimi ile.
- Hücre göçü ve hücre alımı: NF- κ B sinyal yolu ile.
- Eksüda emme kapasitesi: SF'nin yüksek su ve nem tutma kapasitesi ile.
- Mekanik dayanıklılık ve elastikiyet: bir biyopolimer olarak SF 'nin yüksek mekanik dayanımı nedeniyle pansuman malzemesine bütünlük stabilize sağlar, yara yatağının bozulmasını önler ve yara boyutuna ve şekline uyum sağlar.
- Hücre-malzeme etkileşimi: SF, hücre bağlanmasını, göçünü, çoğalmasını ve farklılaşmasını destekler
- Yara iyileştirme işlemi: SF 'nin hücre göçündeki içsel biyoaktif özelliklerinden dolayı, neovaskülarizasyona, gelişmiş yeniden epitelizasyona ve doku iç büyümesine yardımcı olur.
- Cilt dostu (toksik olmayan, alerjik olmayan ve hassaslaştırıcı olmayan): SF'nin biyouyumluluk özelliğinden dolayı [104].
- Uygulama kolaylığı ve yapısal destek: farklı formattaki tasarımları (film / nanofiber / hidrojel / gözenekli sünger / 3D baskılı yapı) üretmesi kolaydır.
- Kolay işlevselleştirme: SF tabanlı matrislerin bir dizi antibiyotik, büyüme faktörü ve diğer biyoaktif moleküllerle çapraz bağlayıcı içermeyen işlevselleştirilmesi.

- Uygun maliyetli: ipeğin doğal bir ham madde olarak ucuz olması.

2.8. Yara Örtülerinde İlaç Taşıyıcı Sistemler ve İlaç Salımı

Fizyolojik süreçlerin zaman ölçeklerindeki farklılıklarından dolayı (pH değişikliği, sıcaklık değişikliği) etkin ve duyarlı bir yara iyileşmesi ve doku rejenerasyonu sağlanması için ilaç dağıtım sistemleri kullanılmaktadır. İlaç dağıtım sistemlerinin, yara içerisindeki eksik vaskülerizasyon, sistemik olarak alınan ilaçların istenilen bölgeye ulaşmasındaki zorluklar, ilaçların yan etkileri, düşük yarılanma ömrü, oral veya intravenöz olarak uygulanan bileşiklerin biyoyararlanımının az olması gibi olumsuzluklar yüzünden ilacın kontrollü salım ile verilmesi yara örtüleri ve transdermal malzemelerin etkinliğinin artırılmasında kullanılan yaklaşımdır [56]. Bu nedenle terapötik ajanların lokal olarak verilmesi toksisite ve optimumun altında uygulama gibi istenmeyen etkileri azaltır. Eczacılık ve mikro/nanoteknoloji alanındaki gelişmeler, ilacın yara ortamında salımının kontrol edilebildiği veya ilacı doğrudan iyileşen doku veya hücrelere iletebilen ilaç dağıtım sisteminin üretilmesi sağlamıştır [107]. Mikro ve nano boyutlu parçacıklar, jeller ve lifler gibi ilaç dağıtım sistemlerinin amacı, ilacın biyoyararlanımını artırmak ve sürdürülebilir bir biyodağılımı sağlamaktır [108]. İlaç dağıtım sistemlerinde, kapsüllenmiş terapötikler, aktif ve pasif dağıtım olarak geniş bir şekilde sınıflandırılabilen farklı mekanizmalar yoluyla salınabilir [109]. Aktif dağıtımda, salınım çevresel uyaranlara (pH, sıcaklık, enzimler, kimyasal reaksiyonlar, redoks reaksiyonları vb.) veya dış uyaranlara (manyetik alan, elektrik alanı, ışık, ultrason vb.) yanıt olarak tetiklenir. Buna karşılık, pasif dağıtım, çevreleyen ortama ulaşmak için ilacın taşıyıcı matris boyunca difüzyonuna dayanır [109]. Metformin, gentamisin, siprofloksasin, gibi ilaçlar kullanılarak yara örtülerine lokal ilaç salımı yapılabilmektedir. BSA (Sığır Serum Albümini), polidopamin gibi mikro/nano taşıyıcılarda ilaç taşıyıcı sistemler olarak karşımıza çıkmaktadır.

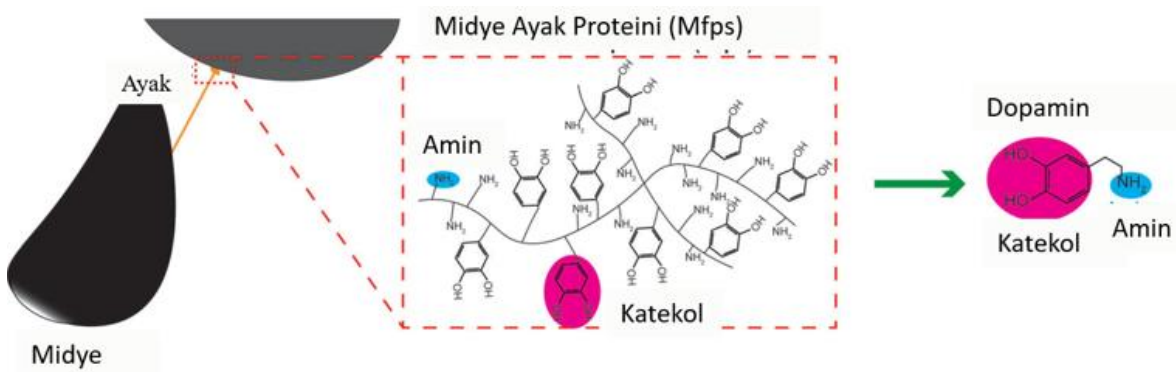
2.8.1. BSA (Sığır Serum Albümini)

Vücutta depo ve taşıyıcı görev görmektedir. Gıda, farmasötik ve biyomedikal gibi alanlarda taşıyıcı olarak kullanılmaktadır. Toksik etkisi yoktur, biyoyumlu ve *in vivo* bozunabilmektedir. Amino, tiyol ve karboksilik gruplar gibi farklı reaktif gruplara sahiptir. Sahip olduğu bu gruplar sayesinde yüzey modifikasyonu kolaylaşır [110], [111]. Serum proteini olan albümin ile ilaç taşıyıcı sistemlerin oluşturulması yaygın olarak kullanılmaktadır [112], [113]. Yüzey yükü özelliğinden dolayı ilaçlar fiziksel olarak protein yüzeyine adsorbe olabilir veya matrise kovalent olarak bağlanabilirler. BSA'nın kullanıldığı

formülasyonlar ile istenilen boyutlarda partikül sistemleri oluşturulabilmektedir. BSA mikro/nano partiküllerinden ilaç salımı, proteaz sindirimi ile oluşmaktadır [111].

2.8.2. Polidopamin

Nano teknolojideki güçlü ilerleme sayesinde, çok sayıda nanoparçacık ilaçları daha düşük yan etkilerle ve çoklu ilaç direncini önlenmeyerek belirli hücrelere ulaştırmak amacıyla umut verici bir platform olarak ortaya çıkmıştır. Son yıllarda, çok yönlü bir biyomateryal olan polidopamin'in (PDA) yenilikçi keşfi, ilaç taşıyıcıları olarak nanopartiküllerin biyomedikal uygulamalarına yeni bir ışık tutmuştur [114]. PDA'nın ilk olarak midyelerin yapışmasında çok önemli bir rol oynadığı tanımlanmış ve ardından artan bir ilgi görmüştür. PDA sadece nanomalzemeleri kaplamak için kullanılmamış, aynı zamanda nanoparçacıkların (NP'ler) sentezlenme yeteneğine de sahiptir [115]. Biyotıp, enerji ve çevre alanlarında yaygın olarak kullanılan yeni bir polimer malzeme olan PDA'nın keşfi, omurgasız midyelerin katı yüzeylere yapışma yeteneğinden ilham almıştır. Bir tür çift kabuklu yumuşakça olan deniz midyeleri, dalgaların muazzam kesme kuvveti altında bile kendilerini kayalara, gövdelere ve diğer katı nesnelere sıkıca sabitleyebilmektedir. Midyelerin, hemen hemen her tür substrata mükemmel yapışma özelliğine sahip olmasının sebebi salgıladığı midye yapışma proteinleridir. Tüm bu midye adezyon proteinleri arasında matriks arayüzünün çevresinde kilit rol oynayan protein midye mitilus ayak proteini 5 (Mfp-5), 3,4-dihidroksi-L-fenilalanin (DOPA) ve süksinik asit açısından zengindir (Şekil 2.9) Dopamin, katekolaminler sınıfına ait L-DOPA'nın bir türevidir ve kimyasal yapısında ayrıca katekol ve bir amino grubu içerir [116].





Şekil 2.9. Midyeden ilham alan dopamin kimyası [117].

PDA'nın ortaya çıkışından bu yana, basit hazırlama prosedürü, olağanüstü biyoyumluluğu ve düşük sitotoksitesi nedeniyle giderek daha fazla ilgi çekmiş ve biyomalzemeler, enerji ve katalizörler alanlarında yaygın olarak kullanılmıştır. Spesifik olarak, PDA'daki aktif katekol grupları ve birincil amino grupları, ona olağanüstü aderans ve

metal koordinasyonu sağlar. Katekol grupları, küçük moleküllerin, biyomoleküllerin ve polimerlerin PDA yüzeylerine aşılmasını kolaylaştıran farklı kimyasal reaksiyonlar yoluyla amino veya tiyol terminal reaktifleri ile kovalent bağlar oluşturabilmektedir. Ayrıca katekol, metal şelasyon etkileri, hidrojen bağı, elektrostatik etkileşimler vb. yoluyla biyomalzemeler için bir yapı taşı görevi görebilir ve verimli modifikasyon bölgeleri sağlar. Bir yandan üstün bir fototermal dönüşüm etkisine sahiptir ve hemen hemen her türlü yüzeye yapışabilmektedir. Öte yandan, çeşitli çok işlevli malzemeler elde etmek için malzeme yüzeylerini işlevselleştirmek için basit ve evrensel bir yöntem sağlar. Bugüne kadar, metal iyonları ve antibakteriyel ilaçlar, antibakteriyel bir arayüz oluşturmak için PDA maddeleri ile bağlanabilir. Sonuç olarak, PDA tabanlı malzemeler, çok işlevli antimikrobiyal platformlar oluşturmak için üstün bir seçimdir [118]. Uzun sirkülasyonlu antibakteriyel materyaller hazırlamak için antibiyotikler kimyasal modifikasyon veya fiziksel adsorpsiyon yoluyla PDA'ya yüklenebilir [114].

2.8.3. Metformin

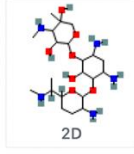



Metformin, tip 2 diyabet tedavisinde birinci basamak ajanı olarak kullanılan, antihiperlipidemik aktiviteye sahip biguanid antidiyabetik sınıfı bir etken maddedir. Tek başına veya sülfonilüreler, tiazolidindionlar, inkretin bazlı ilaçlar, sodyum glukoz ko-transporter-2 inhibitörleri veya diğer hipoglisemik ajanlarla kombinasyon halinde kullanılabilir [119]. Metformin, çok düşük laktik asidoz insidansı ile ilişkilidir ve LDL kolesterol ve trigliserit seviyelerini düşürmeye yardımcı olur ve diyabetin kardiyovasküler komplikasyonlarını önlemeye yardımcı olur. Ayrıca metformin metabolize edilmez ve böbrekler tarafından değişmeden atılır [120]. Uluslararası kimyasal madde indekslerinde metformin ile ilgili açıklamalar Şekil 2.10'da verilmiştir.

PubChem CID	4091
Structure	 2D 3D
	Find Similar Structures
Chemical Safety	 Irritant
	Laboratory Chemical Safety Summary (LCSS) Datasheet
Molecular Formula	$C_4H_{11}N_5$
Synonyms	metformin 657-24-9 1,1-Dimethylbiguanide N,N-dimethylimidodicarbonimidic diamide Fluamine
	More...
Molecular Weight	129.16

Şekil 2.10. Uluslararası kimyasal madde indekslerinde metformin ile ilgili açıklamalar [121]

2.8.4. Gentamisin

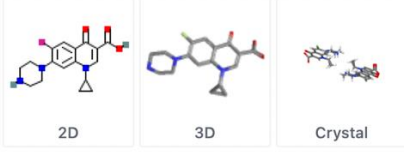

Aminoglikozitler çoğunlukla anaerobik bakteri, mantar ve virüslere karşı etkisizdir. Gentamisin, ilk olarak 1963 yılında keşfedilen ve *Micromonospora purpurea* veya *M. echinospora*'nın fermantasyonu ile üretilen, (C1, C1a, C2 ve C2a) ve birkaç küçük bileşenden oluşan geniş spektrumlu bir aminoglikozit antibiyotik kompleksidir. Gentamisin etken maddesi, bakteriyel 30S ribozomal alt birimine geri dönüşümsüz olarak bağlanır ve spesifik olarak, bu antibiyotik 30S alt birimi içinde 16S rRNA ve S12 proteini arasına yerleştirilir. Bu, translasyon başlatma kompleksi ile etkileşime, mRNA'nın yanlış okunmasına, böylece protein sentezinin engellenmesine ve bakterisidal etkiye neden olur [122]. Gentamisin sahip olduğu geniş spektrumlu etkinlik, düşük maliyet ve kolay ulaşılabilirlikten dolayı sıklıkla kullanılan bir antibiyotiktir. Gentamisin hem gram pozitif hem de gram negatif organizmalara karşı etkili olup özellikle *Pseudomonas aeruginosa*'nın neden olduğu ciddi gram negatif enfeksiyonların tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Gentamisin, beta-laktamlar gibi diğer antibakteriyellerle birlikte uygulandığında sinerjinin ilave faydası olduğu belirlenmiştir. Bu sinerjik aktivite sadece karmaşık enfeksiyonların tedavisinde önemli katkılar sağlamakla kalmaz aynı zamanda doz optimizasyonuna ve yan etkilerin azaltılmasına da katkıda bulunabilir [123]. Uluslararası kimyasal madde indekslerinde gentamisin ile ilgili açıklamalar Şekil 2.11'de verilmiştir.

PubChem CID	3467
Structure	 <p>2D</p> <p>Find Similar Structures</p>
Chemical Safety	   <p>Irritant Health Hazard Environmental Hazard</p> <p>Laboratory Chemical Safety Summary (LCSS) Datasheet</p>
Molecular Formula	$C_{21}H_{43}N_5O_7$
Synonyms	<p>gentamicin Garamycin Gentavet Gentamicins Gentacycol</p> <p>More...</p>
Molecular Weight	477.6

Şekil 2.11. Uluslararası kimyasal madde indekslerinde gentamisin ile ilgili açıklamalar [124].

2.8.5. Siprofloksasin

Siprofloksasin, daha çok belirli idrar yolu (duyarlı organizmaların neden olduğu hafif ya da orta şiddette) enfeksiyonların ve alt solunum yolu enfeksiyonları ile cilt enfeksiyonları gibi belirli bakteri türlerinin neden olduğu değişik enfeksiyonların tedavisinde kullanılmakta olan ikinci nesil bir florokinolon antibiyotiktir. Amerika Birleşik Devletleri, Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) tarafından onaylanmış bir antibakteriyel ajan konumundadır [125], [126]Uluslararası kimyasal madde indekslerinde siprofloksasin ile ilgili açıklamalar Şekil 2.12’de verilmiştir.

PubChem CID	2764
Structure	 <p>2D 3D Crystal</p> <p>Find Similar Structures</p>
Chemical Safety	 <p>Irritant Health Hazard</p> <p>Laboratory Chemical Safety Summary (LCSS) Datasheet</p>
Molecular Formula	$C_{17}H_{18}FN_3O_3$
Synonyms	<p>ciprofloxacin 85721-33-1 Ciprofloxacin Ciprobay Cipro</p> <p>More...</p>
Molecular Weight	331.34

Şekil 2.12. Uluslararası kimyasal madde indekslerinde siprofloksasin ile ilgili açıklamalar [127].

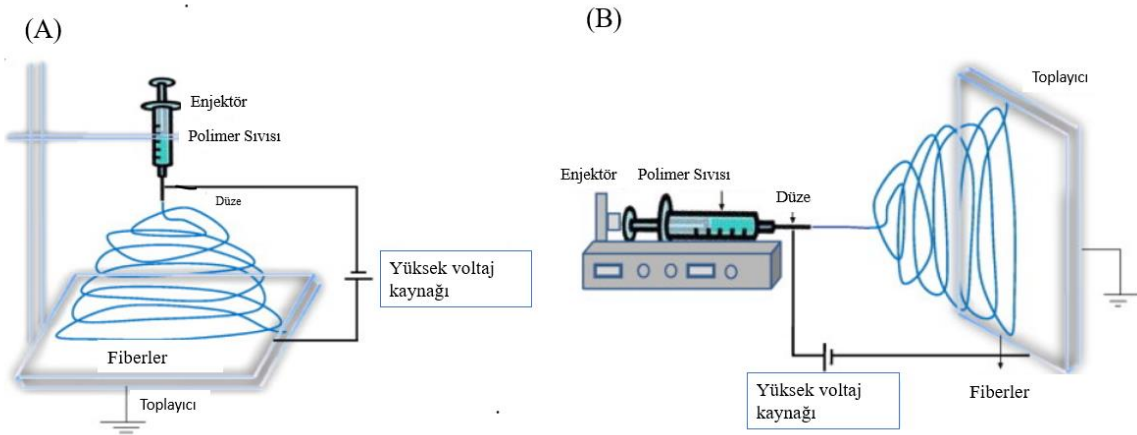
2.9. Nanofiber Yapılar

Nanolifler, çapı 1 μm 'den küçük olan polimerik fiberlerdir. Yüksek yüzey alanı-hacim oranı, yüksek gözeneklilik, yüksek mekanik ve esneklik gibi özelliklere sahiptir [128]. Yara örtü malzemelerinde uygulama alanı bulmaktadır. Nanoliflerin yüksek yüzey alanının, önemli bir parametre olan yara bölgesindeki hücre-matris etkileşimlerini desteklediği gösterilmiştir. Nanolif üzerinde hücrelerin bağlanması ve çoğalmasının, nanofiberlerin morfolojik özelliklerinin derinin hücre dışı matrisine (ECM) benzediğinden kaynaklandığı görülmüştür [129]. Yüksek gözeneklilik sayesinde, hücrelerin büyümesi için ortam sağlama, gaz geçirgenliğine izin verme, nemli bir çevre oluşmasını sağlarken fazla sıvıyı absorblama gibi yeteneklere sahiptir [130]. Nanofiber üretim yöntemleri şu şekilde sıralanabilir; çekme (drawing) tekniği, kendiliğinden düzenleme (self-assembly), kalıp sentezi, elektroğirme yöntemi.

2.10. Elektroğirme Yöntemi ve Sistemi

Elektrospinning yöntemi, mikro veya nanoliflerden dokunmamış bir ağ oluşturmak için kullanılır. Bu yöntemde, sıvı çözeltiye ve bir toplayıcıya yüksek voltaj uygulanır. Bu verilen voltaj sayesinde nozülde jet adı verilen yapının oluşması sağlanır. Polimer sıvısındaki yüzey gerilimi yenmek için yüksek voltajın uygulanması çözeltinin yüzeyinde

yüzey yükü oluşur. Elektrik belli bir eşik değeri aştığında yüzey yüklerinin elektrostatik itme kuvveti yüzey gerilimini yener ve bir polimer sıvısı jeti Taylor konisi adı verilen yapının ucundan toplayıcıyı hedefleyecek şekilde itilir. Jetin kararsızlığı nedeniyle de polimer sıvısının çözücüsü buharlaşarak uzaklaşır [131]. Sonuç olarak toplayıcı zemin üzerinde çözücüsü buharlaşmış nanofiber yapılar elde edilir. Elektroğirme sistemi genel olarak üç temel elemandan oluşur; yüksek voltaj kaynağı, nanofiberleri toplayıcı zemin ve polimer fırlatılan kılcal boru. Elektroğirme sistemi Şekil 2.5’ te gösterildiği gibi dikey (A) ve yatay (B) şekilde konumlanabilir [132].



Şekil 2.13. Elektroğirme Sistemi. (A) Dikey konumlanmış, (B) yatay konumlanmış sistem [133].

Elektrospinning, mikro veya nanopolimer fiberler hazırlamak için basit ve çok yönlü bir yöntemdir. Yüksek yüzey alanı / ağırlık oranı, yüksek gözenek hacmi, küçük gözenek boyutu gibi özellikler sayesinde geniş bir uygulama alanı bulmaktadır. Doku mühendisliği iskeleleri, kan damarları, kemik, kas, sinir, yara örtüleri, ilaç taşıyıcı sistemlerde kullanılabilirler [133].

Elektroğirme ile üretilen nanofiberlerin özelliklerini etkileyen parametreler şu şekildedir;

- **Çözücü cinsi:** Çözücü olarak seçilecek maddeyi seçerken şırıngadan çıkacak liflerin, lifleri toplayacak ünite kısmına ulaşması arasında geçen zamanda çözücünün buharlaşıp yok olması seçim yaparken önemlidir. Eğer ki çözücü uzaklaştırılmazsa ünite kısmında ıslak yapılar oluşur ve lifler istenilen formda elde edilemez [134].
- **Çözelti Viskozitesi:** Konsantrasyon ile viskozite ayarlanabilmektedir. Uygun konsantrasyonda polimer sıvısı hazırlanarak nanofiber yapıların oluşumu sağlanır [134].
- **Çözelti İletkenliği:** Şırınga ucundan toplayıcı üniteye liflerin çekilmesi polimerin çözelti

formunun iletkenlik özelliğinden etkilenir. İletkenlik düştükçe elektrik alan azalır ve lif çekimi zorlaşır [134].

- **Yüzey Gerilimi:** Sıvıların esnekliğiyle alakalı olan bu terim sıvı yüzeyinde gerçekleşir. Şırıngadan nanofiberin çekimiyle yüzey gerilim kuvveti oluşur ve uygulanan voltaj değerinin bu gerilimi aşması gerçekleşirse eğer nanofiberin çekimi gerçekleşir. Sonuç olarak polimerik çözeltinin kendine ait yüzey gerilimi arttıkça uygulanacak voltaj değerini de artırmaktadır [134].

- **Voltaj:** Uygulanan voltaj oluşacak elektrik alanı oluşturacağından dolayı yüzey gerilimini aşması beklenen voltaj değeri nanofiber üretiminde önemlidir [134].

- **Akış Hızı:** Toplama Ünitesinde toplanan nanofiberlerin ne kadar zaman içinde oluştuğu akışın hızıyla alakalıdır. Taylor konisi oluşumu akışın hızının belirlenmesinde önemli bir unsurdur. Akış hızı yeterli değilse koni de oluşmamaktadır. Tam tersi duruma ise daha büyük konu oluşumu olacağından nanliflerin çapı artacak veya nanofiber üretilmeyecektir [134].

- **Toplayıcı Mesafesi:** Şırıngadan çıkış ve toplayıcı ünite arasındaki uzaklık voltaj değeri ve elektrik alanla alakalı olduğundan çekimin gücü etkilenmektedir. Eğer yeterli mesafe ayarlanmazsa polimerik çözeltideki çözücü buharlaşamaz ve ıslak yapılar oluşur veya nanolif üretimi hiç gerçekleşmez [133].

- **Toplayıcı cinsi:** Şırıngadan çıkıp toplayıcı üniteye gelen nanofiberler üniteye yapıştığı anda yüklerini boşaltarak sıfırlamaktadırlar. Toplayıcı ünitenin dielektik sabiti ve geometrisi nanofiberin üniteye tutunup tutunamayacağını etkilemektedir [135].

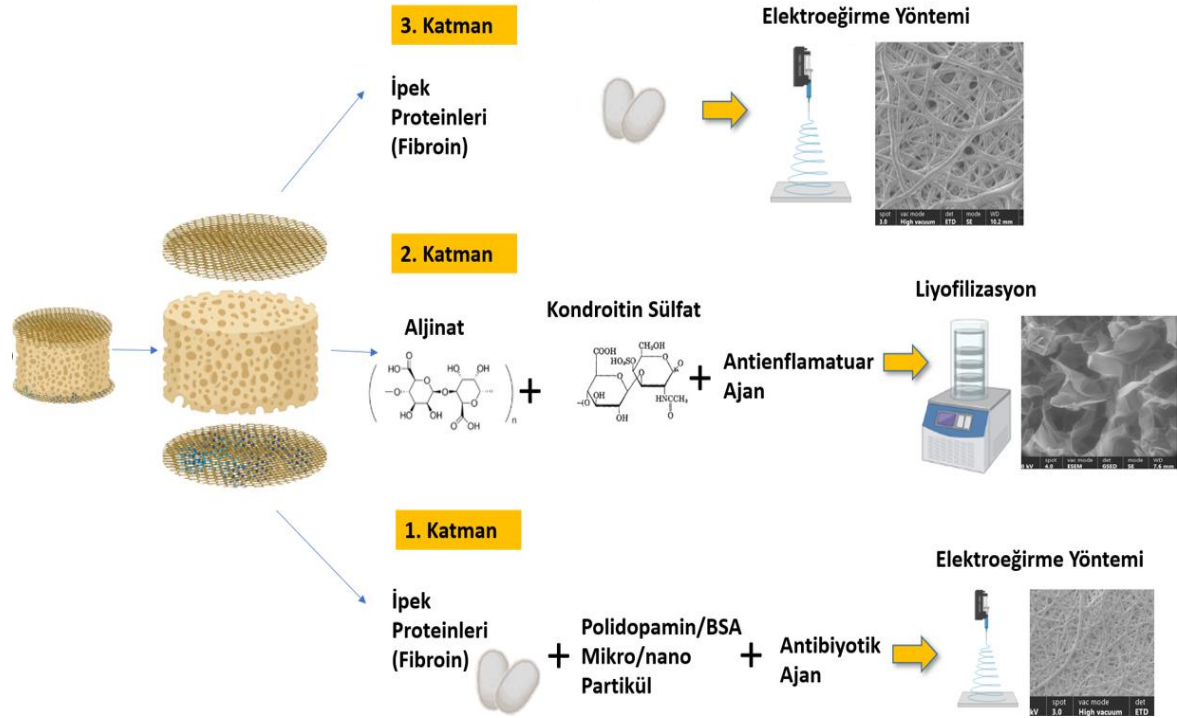
- **Sıcaklık:** Çözücü sistemli polimerik çözeltinin sıcaklığı çözücünün buharlaşmasını etkilemektedir. Kuru fiber üretiminde ayarlanacak sıcaklık değeri önemli hale gelmektedir. Sabit sıcaklık değeri olması gerekmektedir. Ortamın sıcaklığı doğru ayarlanmadığı sürece ağ yapıları istenilen formda oluşmaz ve eriyik hale dönüşebilir [136].

- **Nem:** Nemin üretilen liflerin boyutsal olarak çaplarını etkilemekte ve su buharı doğrudan lifin fiziksel özelliğini değiştirmektedir [137].

3. MATERYAL METOD

Sunulan tez kapsamında; yeni nesil/akıllı, çok katmanlı bir yara örtü malzemesi geliştirilmesi planlanmıştır. Yara örtüsü malzemesi çok katmanlı olarak tasarlanıp her bir katman farklı özelliklere ve fonksiyonlara sahip olacaktır. Katmanlardan yara kısmına temas edecek kısım (alt katman) ipek proteinlerinden (İpek fibroin) elektroğirme yöntemiyle nanofiber formunda ve içerisinde antibiyotik ajan (gentamisin, siprofloksasin) yüklenmiş ilaç taşıyıcı partiküllerden (polidopamin, BSA) oluşturulacaktır. İkinci katman (orta bölüm) kriyojel formunda aljinat ve kondroitin sülfat polimerleri ile oluşturulup içerisinde antiinflamatuvar bir etken madde (metformin) yer alacaktır. Son katman (son katman) ise etken madde olmaksızın yara kısmına bakan ilk katmanın özellikleriyle aynı olacak şekilde geliştirilecektir.

Çok katmanlı akıllı yara örtüsü malzemesi oluşturulurken üç yöntem takip edilecektir; birinci aşama, üst katman ve alt katmanın oluşturulması için elektroğirme sisteminin kullanılması ve nanofiberlerin elde edilmesi, ikinci aşama ise orta katmanın kriyojel matrix formunun oluşturulması ve üçüncü aşama, alt katman ve orta katmana etken madde yüklenerek, oluşturulan katmanların birleştirilmesidir (Şekil 3.1).



Şekil 3.1. Sunulan tez özeti

3.1. Kullanılan Kimyasallar ve Cihazlar

İpek kozaları KOZA firmasından alınmıştır. Sodyum aljinat (A2033, orta viskozite), Sodyum hidroksit (NaOH), Sodyum karbonat (Na_2CO_3), Etanol ($\text{C}_2\text{H}_5\text{OH}$), PBS Sigma-Aldrich firmasından, Albumin (BSA) Amresco firmasından, Kalsiyum klorür (CaCl_2) MERCK firmasından, Trifloro asetik asit (TFA) Turalab firmasından, Gentamisin için GENTA® 160 mg/2 ml enjeksiyonluk çözelti, Metformin için GLİFOR® 1000 mg film tablet, Siprofloksasin için CİPRO® 500 mg film tablet, Kondroitin sülfat için ise Orzax Cosakondrin Msm 60 tablet, Dopamin için Dopasel® 200 Mg/5ml ampul ticari olarak temin edilmiştir.

Weightlab Instruments markalı WL 303L model tartı kullanılmış, deiyonize su ihtiyacı MERCK marka Direct-Q modelinden karşılanmıştır. Milwaukee marka Mi 180 Bench meter modele pH cihazı, Snijder marka 34532 model manyetik karıştırıcı, Inovalab marka BRC-5180T model santrifüj cihazı, Teknosem marka Toros 4/4 DS model liyofilizatör, Weightlab Instruments marka WF-UD6 model ultrasonik banyo (sonikatör) NUVE marka Fn 400 model Kuru Hava Sterilizatörü, NUVE marka NC 90M model buharlı sterilizatör, JMS marka SP-100s 100s model şırınga pompası, Boğaziçi Üniversitesi Kandilli Kampüsünde bulunan Thermoscientific markalı Quattro S ColorSEM modeli taramalı elektron mikroskobu (SEM) cihazı kullanılmıştır, Hacettepe Üniversitesi Kimya Mühendisliği laboratuvarında bulunan DLS (Dinamik Işık Saçılımı) tabanlı ölçüm yapan Malvern Marka cihaz kullanılmıştır, Hacettepe Üniversitesi Kimya Mühendisliği laboratuvarında bulunan Termo SCIENTIFIC marka Nanodrop 1000 model UV-VİS spektrofotometre kullanılmıştır, Elektroğirne Sistemi Başkent Üniveritesi Biyomedikal Mühendisliği tarafından üretilmiştir. Biyolojik uyumluluk (Sitetoksiste) Testi Kırıkkale Üniversitesi Bilimsel ve Teknolojik Araştırmalar Uygulama ve Araştırma Merkezi Müdürlüğü (KÜBTUAM) bünyesinde gerçekleştirilmiştir.

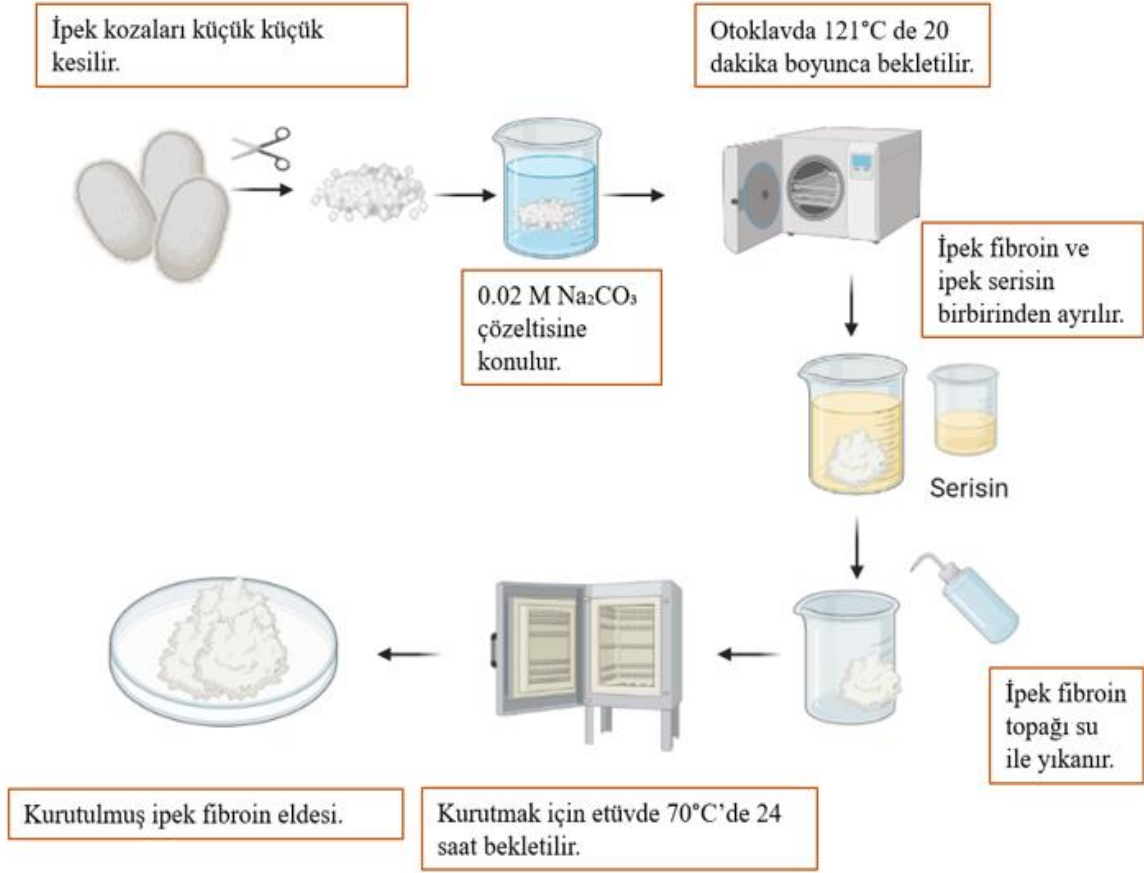
3.2. İpek Proteinleri Kullanılarak Nanofiber Formdaki Üst Katmanın Oluşturulması

İpek proteinlerini nanofiber elde etmek için kullanmadan önce serisinden uzaklaştırmak gereklidir bu nedenle öncelikle ipek saflaştırma adımı uygulanmıştır.

3.2.1. İpek Proteini Saflaştırma

İpek Böceği (*Bombyx mori*) sadece koza kısımları alınarak temizlenmiştir. İşlem kolaylığı için küçük parçalar haline getirilip kesilmiştir. Ufaltılan koza parçaları, 3 kez otoklavda 121°C de 20 dakikada $0.02\text{ M Na}_2\text{CO}_3$ çözeltisi ile berrak bir sıvı elde edilinceye kadar yıkanmıştır. Böylece ipek serisin, ipek fibroinden uzaklaştırılmıştır. Distile su ile

yıkamalar yaparak serisin proteini kalıntıları uzaklaştırılmıştır. Daha sonra ipek fibroin 70°C’de 24 saat etüvde kurutulmuştur [138]. Elde edilen ipek fibroin nanofiber yapımında kullanılmak üzere saklanmıştır. İpek saflaştırma aşamaları Şekil 3.2’de gösterilmiştir.



Şekil 3.2. İpek Saflaştırma Adımları.

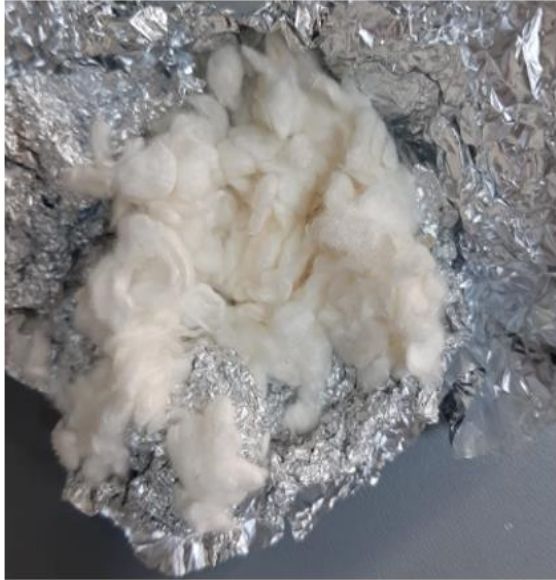
Şekil 3.3.’te (A) temin edilen ipek kozaları görülmektedir, (B) kozalar parçalar halinde kesilmiştir, (C) saflaştırma sonrası elde edilen ipek fibroin topağı verilmiştir, (D) fibroinden serisin eldesi uzaklaştırılmıştır.



(A)



(B)



(C)



(D)

Şekil 3.3.İpek Saflaştırma Adımları. (A) İpek kozaları ticari olarak temin edilmiştir. (B) Kozaların içi temizlenmiş ve işlem kolaylığı için küçük parçalar haline getirilmiştir. (C) Elde edilen ipek fibroin topağı. (D) İpek fibroinden uzaklaştırılan ipek serisin.

3.2.2. İpek Fibroin Çözeltisi Hazırlama

Serisinden ayrılıp elde edilen ipek fibroin ile nanofiber elde etmek için ipek fibroin ve çözücü olarak Trifloraasetik asit (TFA) kullanılmıştır. Öncelikle fibroin %15 (w/v) Trifloraasetik asit (TFA) içerisinde çözülmüştür. Homojenitenin sağlanması için manyetik karıştırıcı altında oda sıcaklığında 1 saat karıştırılarak elektroğirmeye kullanılmak üzere ipek fibroin çözeltisi hazırlanmıştır [138].

3.2.3. Elektroğirme Sistemi Kullanılarak Nanofiber Formların Oluşturulması

Nanofiber formdaki yapıların oluşturulması için elektroğirme sistemi kullanılmıştır. Sistem Başkent Üniversitesi Biyomedikal Mühendisliği bölümü tarafından oluşturulmuştur. Elektroğirme sistemi, koruma amaçlı dış kapaklı kapalı yapıdan, güç kaynağından, stabil akış için pompa, enjektör yuvası, mesafe ayarı için ayaklık, nanofiberlerin toplanmasını sağlamak için toplayıcı levhalar (kolektör) yapılarından oluşmaktadır.

Nanofiberleri oluştururken optimize edilen parametreler şu şekildedir (Tablo 3.1);

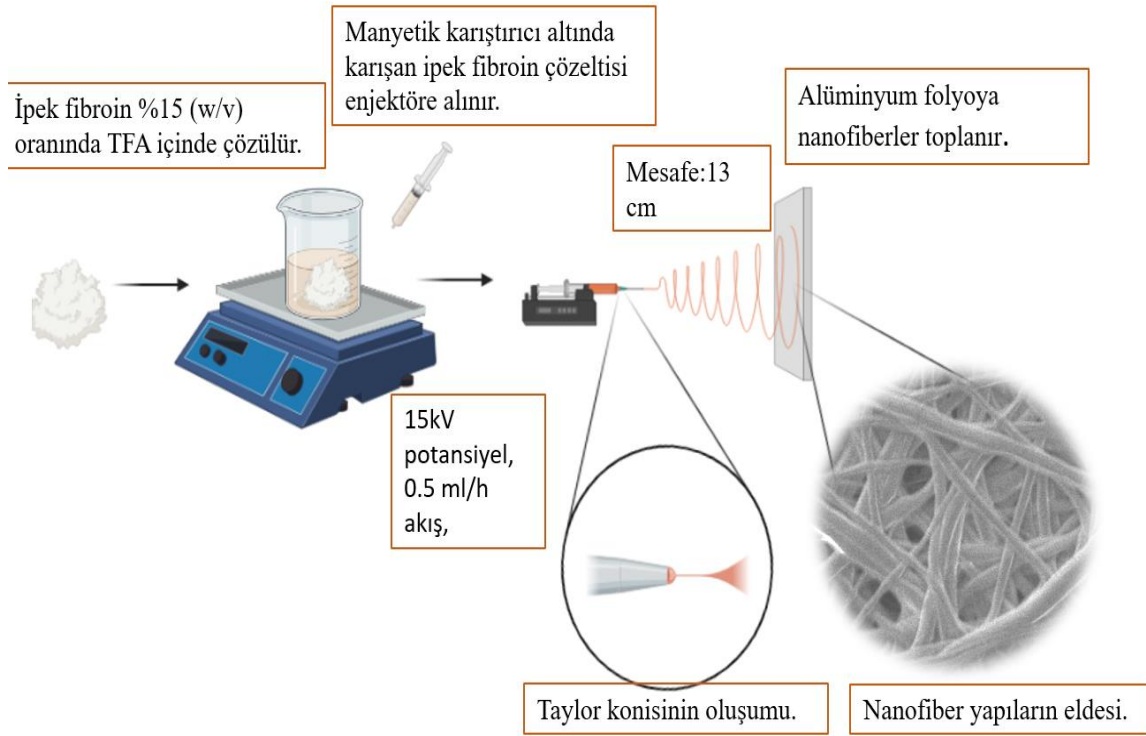
Tablo 3.1. Elektroğirme Sistem Parametreleri.

Süre	2 saat
Kolektör ve enjektör ucu mesafesi	13 cm
Potansiyel	15 kV
Akış hızı	0.5 ml/saat
Kolektör Tipi	Alüminyum
Konsantrasyon	% 15 (w/v)

Elektroğirme sistemi kullanılarak nanofiber yapıların eldesi için kolektör olarak alüminyum folyo kullanılmıştır. Alüminyum folyo toplayıcı levhayı saracak şekilde kaplanmıştır. Polimerin akışında herhangi bir etkinin olmaması için enjektör ucu küt olacak şekilde kesilmiştir. 0.82 mm, 2,7 cm (22 Gauge) enjektör kullanılmıştır. TFA ile hazırlanmış %15 (w/v) oranında ipek fibroin çözeltisi enjektöre dikkatli bir şekilde aktarılmıştır. Ardından stabil bir akış için 0.5 ml/saat ayarlanmış pompaya enjektör bağlanmıştır. Enjektör ucu ve kolektör ucu arasındaki mesafe 13 cm olacak şekilde ayarlanmıştır. Güç kaynağı problemleri, kolektör ve enjektör ucuna takılarak 15 kV potansiyel uygulanmıştır. Kolektör yönü yatay yön olarak seçilmiştir. Aşağı yönlü denenen nanofiber yapılarda yer çekimi etkisinden dolayı damla formu yapıların oluştuğu gözlemlenmiştir. Bu da oluşturulmak istenen nanofiber yapıların formunu bozmaktadır. Bu nedenle yatay yöndeki toplayıcı levha kullanılmıştır. İşleme toplayıcı levhada nanofiberlerin birikene ve sıyrılıp alınacak forma gelene kadar devam edilmiştir (Şekil 3.4).

Yaklaşık 2 saat sonra istenilen forma ulaşan nanofiber yapılar, sistem durdurularak alüminyum folyo üzerinden kaldırılarak alınmıştır. Bir parça halinde kaldırılan nanofiber yapılar daha küçük parçalar haline getirmek için kesilmiştir. İpek fibroin nanofiberlerin suda çözünürlüğünü engellemek için %100 etanolde 15 dakika bekletilmiştir [139]. Oda

sıcaklığında kurumaya bırakılmıştır. Sonuç olarak hidrofobik ipek fibroin nanofiberler elde edilmiştir.



Şekil 3.4. Elektroğrime ile nanofiber üretim adımları.

3.3. Kriyojel Matrix Formda Oluşturulan Orta Katmanın Hazırlanması

3.3.1. Aljinat Köpüklerin Oluşturulması ve Çapraz Bağlanması

Orta katmanın oluşturulması için kullanılacak köpükler, aljinat biyopolimerinin kalsiyum klorür (CaCl_2) ile çapraz bağlanmasıyla oluşturulmuştur. Sodyum aljinat (SA) %3 (w/v) oranında deiyonize suda (DIW) çözülmüş ve 37°C 'de 3 saat boyunca hafif karıştırma altında manyetik karıştırıcıda homojen bir çözelti elde edilene kadar karıştırılmıştır. Elde edilen homojen çözeltideki hava kabarcıklarını yok etmek için, 25°C 'de 30 dakika boyunca ultrasonik banyoda bekletilmiştir. Hava kabarcıkları giderilen sodyum aljinat çözeltisi -20°C 'de gece boyu dondurulmak üzere petri kaplarına dökülmüştür. Ardından donmuş örnekler dondurularak kurutma işlemi için liyofilizatör cihazına konulmuştur. Liyofilize işlemi 24 saat boyunca -80°C 'de devam ettirilmiştir. 24 saatin sonunda kurumuş örnekler liyofilizatörden alınmış ve çapraz bağlama işlemine geçilmiştir [140].

Köpük forma gelmiş örneklerin çapraz bağlanması için CaCl_2 kullanılmıştır. Kurutulan örnekler, 0.1 M CaCl_2 içerisine daldırılarak 6 saat boyunca çapraz bağlanması

sağlanmıştır. Çapraz bağlanmış örnekler CaCl_2 çözeltisinden çıkarılmış ve DIW ile yıkanmıştır [140]. Ardından petri kaplarına alınan örnekler tekrar yukarıda belirtildiği gibi -20°C 'de gece boyu dondurulmak üzere bırakılmıştır. Donmuş örnekler 24 saat boyunca -80°C 'de liyofilize edilmiştir. Sonuç olarak dondurularak kurutulan köpükler kullanıma kadar oda sıcaklığında saklanmıştır.

3.3.2. Kondroitin Sülfat ve Metforminin Matrikse Dahil Edilmesi

Sodyum Aljinat (SA) %3 (w/v) oranında deiyonize suda (DIW) çözülmüş ve 37°C 'de 3 saat boyunca hafif karıştırma altında manyetik karıştırıcıda homojen bir çözelti elde edilene kadar karıştırılmıştır. Elde edilen homojen çözeltideki hava kabarcıklarını yok etmek için, 25°C 'de 30 dakika boyunca ultrasonik banyoda bekletilmiştir. Kondroitin sülfat (CS) (2.4 mg/ml) w/v oranında 25°C 'de deiyonize suda (DIW) çözüldü. Manyetik karıştırıcıda homojen yapı elde edilene kadar karıştırılmıştır. Hava kabarcıklarını yok etmek için ultrason banyosunda bekletilmiştir. Ardından Metformin (Met) (7.8 mg/ml) w/v oranında deiyonize suda (DIW) çözülmüş ve manyetik karıştırıcıda karıştırılmıştır, hava kabarcıklarını yok etmek için ultrason banyosunda bekletilmiştir. Öncelikle SA:CS 1:1(v/v) [141] ve SA:Met (1:0,125,1:0,25,1:0,5) v/v oranında ayarlanarak, sırasıyla önce CS ve Met karıştırılmış ardından belirtilen oranlarda SA ile karıştırılmıştır. Elde edilen karışım homojen yapı elde edilene kadar karıştırıldıktan sonra, -20°C 'de gece boyu dondurulmak üzere petri kaplarına dökülmüştür. Ardından donmuş örnekler dondurularak kurutma işlemi için liyofilizatör cihazına konulmuştur. Liyofilize işlemi 24 saat boyunca -80°C 'de devam ettirilmiştir. 24 saatin sonunda kurumuş örnekler liyofilizatörden alınmış ve çapraz bağlama işlemine geçilmiştir.

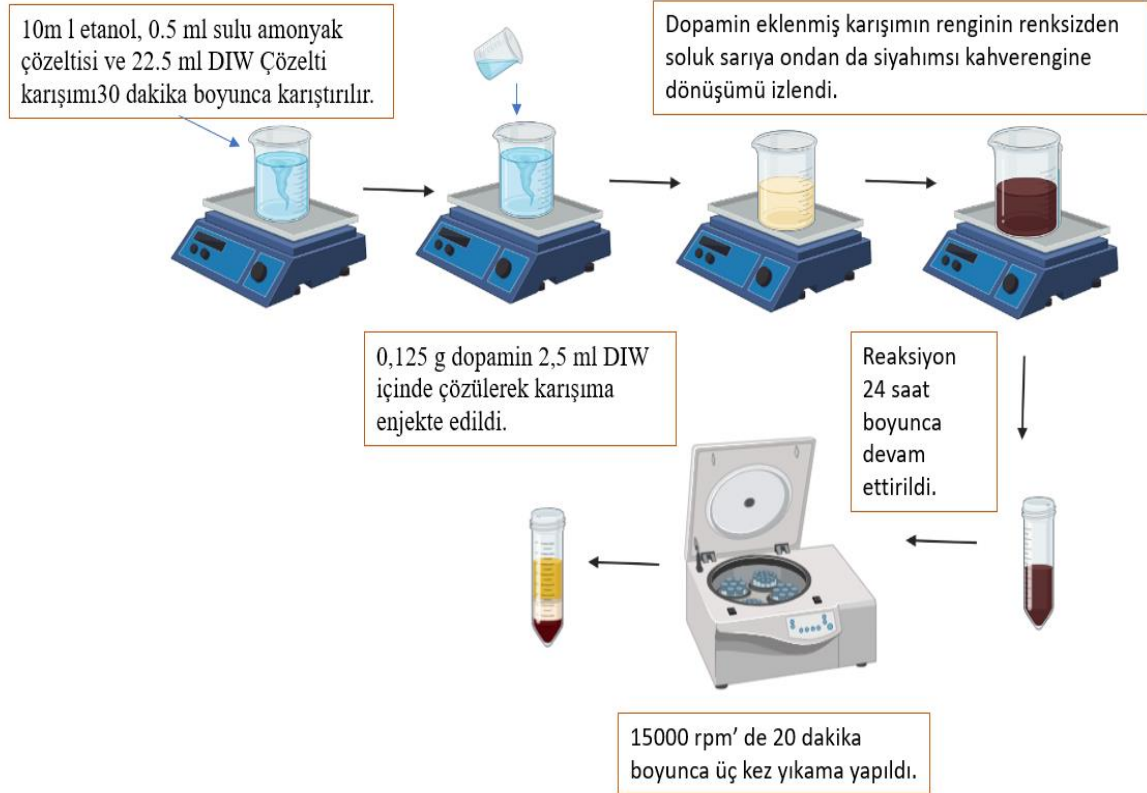
Boş aljinat köpüğün çapraz bağlanmasında kullanılan prosedür SA/CS/Met köpüklerinde de uygulanmış ve ilaç salımında kullanılmak üzere oda sıcaklığında bekletilmiştir.

3.4. Antibiyotik Yüklü Alt Katmanın Oluşturulması

3.4.1. Polidopamin Mikro/nano Taşıyıcı Sistemin Oluşturulması

Yaraya temas edecek olan alt katmanda öncelikle antibiyotiğin yüklenebilmesi için ilaç taşıyıcı partikül sistemi oluşturulmuştur. Bu partikül sistemi su, amonyak ve etanol çözeltisi içinde 24 saat boyunca dopaminin oksidatif kendi kendine polimerizasyonu yoluyla sentezlenmiştir. Öncelikle 10 ml etanol, 0.5 ml sulu amonyak çözeltisi ve 22.5 ml DIW' dan oluşan çözelti karışımı 30 dakika boyunca manyetik karıştırıcıda karıştırılmıştır. Daha sonra 0,125 g dopamin 2,5 ml DIW içerisinde çözülmüştür. Ardından dopamin çözeltisi yukarıda

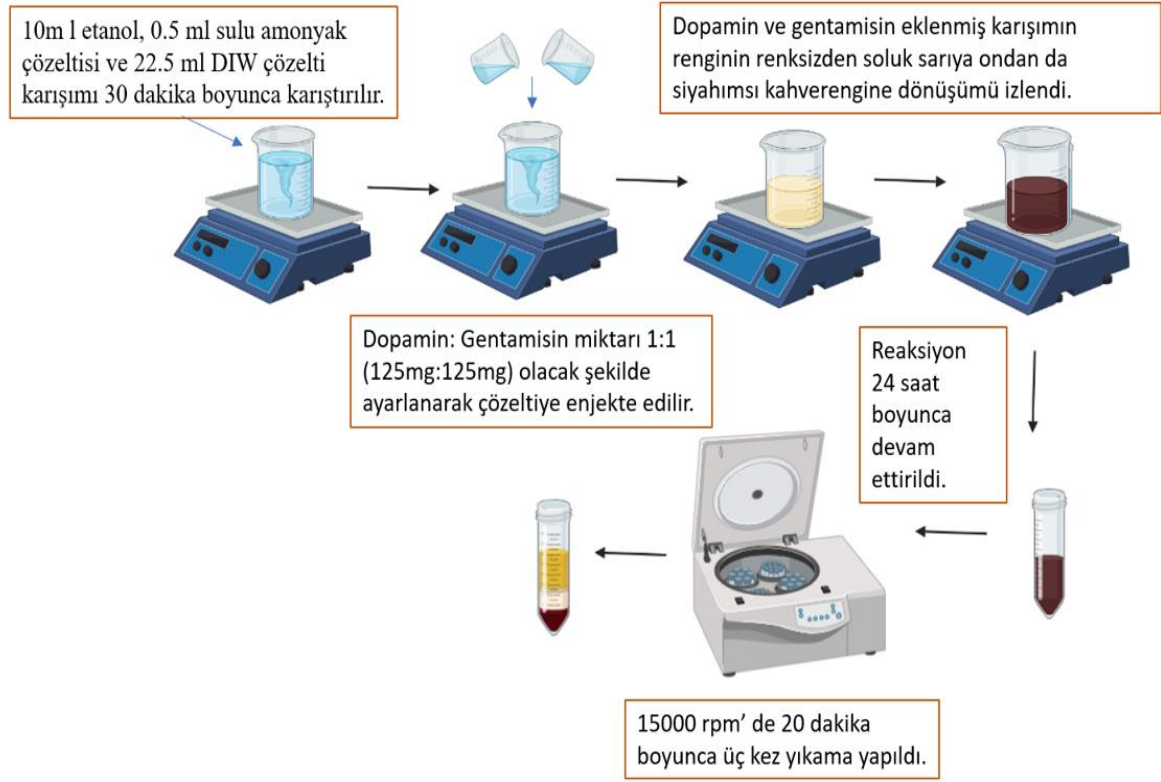
hazırlanan etanol, su, sulu amonyak karışımına enjekte edilmiştir. Reaksiyonun oda sıcaklığında 24 saat boyunca karıştırılarak devam etmesi sağlanmıştır. Çözeltinin renginin ilk önce renksiz halden soluk sarıya ondan da kahverengimsi siyaha dönüşümü izlenmiştir (Şekil 2.10). 24 saat reaksiyonun ardından, 15000 rpm’de 20 dakika boyunca santrifüjleme ve ardından üç kez DIW ile yıkama yapılmıştır [142] (Şekil 3.5). Partikül sistemler kullanıma kadar süspansiyon edilmiştir.



Şekil 3.5. Polidopamin Mikro/nanopartikül hazırlama aşamaları.

3.4.2. Gentamisin Polidopamin Mikro/nano Taşıyıcıya Yükleneşi

İlaç taşıyıcı sistem için polidopamin partikül sistemi oluşturulmuştur. Model antibiyotik olarak Gentamisin seçilmiştir. Gentamisin yüklü partikül sisteminin oluşturulması için, 3.4.1 bölümünde anlatılan ilaç taşıyıcı sistemin elde edilmesine benzer prosedür kullanılmıştır. Kullanılan dopamin ve gentamisinin ağırlık oranları, (mg) 1:1 (125mg:125mg) olacak şekilde ayarlanmıştır. Onun dışında prosedür aynen uygulanmıştır (Şekil 3.6). 15000 rpm’de 20 dakika boyunca santrifüjleme ardından üç kez DIW ile yıkama yapılmıştır [142].



Şekil 3.6. Polidopamin Mikro/nano partiküle gentamisin eklenmesi aşamaları.

3.4.3. Siprofloksasinin Polidopamin Mikro/nano Taşıyıcıya Yükleneşi

Polidopamin mikro/nano taşıyıcı sistemine gentamisin yüklendikten sonra ikinci olarak seçilmiş model antibiyotik Siprofloksasin'dir. Siprofloksasinin taşıyıcı sisteme yüklenmesi için; 3.4.1 bölümünde anlatılan ilaç taşıyıcı sistemin elde edilmesine benzer prosedür kullanılmıştır. Kullanılan dopamin ve siproflaksasin ağırlık oranları, (mg) 1:1 (125mg:125mg) olacak şekilde ayarlanmıştır. Onun dışında prosedür aynen uygulanmıştır. 15000 rpm' de 20 dakika boyunca santrifüjleme ardından üç kez DIW ile yıkama yapılmıştır [142].

3.4.4. BSA Mikro/Nano Partikül Sisteminin Oluşturulması

İlaç taşıyıcı sistem olarak BSA seçilmiştir. Öncelikle boş, etken madde olmayan BSA Mikro/nano partikül sistemi oluşturulmuştur. %2(w/v) oranında 10 ml DIW içerisinde manyetik karıştırıcı altında homojen yapı elde edilene kadar karıştırılmıştır. Daha sonra üzerine BSA'yı çöktürmek amacıyla 30 ml %99,8 saflıkta etanol damla damla karıştırma esnasında eklenerek 800 rpm' de karıştırılmıştır. Karıştırma işlemi bittikten sonra partikülleri solüsyondan ayırmak amacıyla 12.000 rpm de 10 dk boyunca 3 kez yıkama yapılmıştır ve süpernatant uzaklaştırılmıştır [143].

3.4.5. BSA Mikro/Nano Partikül Sisteminde Siprofloksasinin Formülasyona Dahil Edilmesi

Model antibiyotik olarak seçilmiş Siprofloksasinin ilaç taşıyıcı sisteme yüklenebilmesi için formülasyona dahil edilmesi prosedürü uygulanmıştır. Öncelikle %2 (w/v) oranında BSA DIW içerisine eklenmiş, 0.125 gr Siprofloksasin ve 30 ml etanol de karışıma eklenmiş, manyetik karıştırıcı altında 25 dakika boyunca 700 rpm ile karıştırılmıştır. Karışımın üzerine %10 (v/v) oranında 5 ml gluteraldehit eklenmiştir. Karıştırıcıdan alınarak 4 saat boyunca oda sıcaklığında bekletilmiştir. Örnekler üç ayrı santrifüj tüpüne alınmış ve her tüpte 10 ml olacak şekilde ayarlanmıştır. 12000 rpm kullanılarak 10 dakika boyunca santrifüjlenmiş ve süpernatant atılmıştır [143].

3.4.6. BSA Mikro/Nano Partikül Sistemine Siprofloksasinin Emdirilmesi

BSA mikro/nano partikül sistemine Siprofloksasin model antibiyotiğinin emdirilerek yüklenmesi prosedürü uygulanmıştır. Öncelikle %2 (w/v) oranında BSA, DIW içerisinde çözünmüştür. Çözelti homojen olana kadar manyetik karıştırıcı altında karıştırılmıştır. Karışımın üzerine 30 ml saf etanol eklenmiş ve 25 dakika boyunca 700 rpm kullanılarak karıştırılmaya devam edilmiştir. Üzerine %10 (v/v) 5 ml gluteraldehit eklenmiştir. Gluteraldehit eklenmiş çözelti manyetik karıştırıcıdan alınarak oda sıcaklığında bekletilmiştir. 12000rpm kullanılarak 10 dakika boyunca santrifüjlenmiş, 2 defa yıkama yapılmıştır. Üzerine 0.125 gr Siprofloksasin eklenmiştir. 30 ml pH:7.4 değerinde PBS eklenmiş ve 4 saat boyunca oda sıcaklığında bekletilmiştir. Örnekler üç ayrı santrifüj tüpüne alınmış ve her tüpte 10 ml olacak şekilde ayarlanmıştır. 12000 rpm kullanılarak 10 dakika boyunca santrifüjlenmiş ve süpernatant atılmıştır [143].

3.4.7. Nanofiber Yapılara İlaç Yüklü Partikül Sisteminin Yüklenmesi

Alt katman için oluşturulmuş nanofiber yapılara ilaç yüklü partikül sistemlerinin eklenmesinde dört farklı formülasyon kullanılmıştır. Olası enfeksiyon başlangıcında (Evre 1) sağlıklı dokunun pH'ından asidikten bazığe doğru kaymaya başladığı zaman, asidik pH değerlerinde salım yapan Gentamisin ve Siprofloksasin yüklü PDA MNPs sistemlerinin nanofiber yapılara eklenmesi ilk aşamadır. İkinci aşama ise enfeksiyonun artışına bağlı olarak artan pH değerlerinde (Evre 2) salım yapması beklenen formülasyona dahil edilen ve emdirilmiş formdaki Siprofloksasin yüklü BSA MNPs sistemlerinin nanofiber yapılara eklenmesidir [144].

Nanofiber yapılar elde edilirken yukarıda belirtilen dört farklı prosedür, elektroçirime için hazırlanan çözelti oluşturulurken formülasyona dahil edilmiştir. İlk olarak Gentamisin

yüklü PDA MNPS, Siprofloksasin yüklü PDA MNPS, formülasyona dahil edilen ve emdirilmiş formdaki Siprofloksasin yüklü BSA MNPs'den 30 mg alınarak 8 ml TFA içeren tüpe aktarılmıştır. Sonikasyon ile MNPs sistemler dağıtılmıştır. Daha sonra süspansiyona İpek Fibroin (%15 w/v, 1.2 gr) ilave edilmiş ve homojen çözelti elde edilene kadar karıştırılmıştır. Elektroegirme için hazırlanan çözelti kullanılarak belirlenen sistem parametreleri ile nanofiber yapıların eldesi sağlanmıştır. Elde edilen fiberler çapraz bağlanma için %100 etanol içinde 15 dakika daldırılmış ve oda sıcaklığında kurutulmuştur.

3.5. Çok Katmanlı Akıllı Yara Örtüsü Formunun Oluşturulması

Çok katmanlı ve her bir katmanın farklı fonksiyona sahip olduğu yara örtüsü malzemesinin oluşturulması için öncelikle alt katmandan başlayarak orta katman ardından da üst katmanın yerleştirilmesiyle sandviç yapıya benzer formun oluşturulması planlanmıştır.

Petri kabına alt katman olan PDA/BSA içinde Gentamisin/Siprofloksasin yüklü çapraz bağlı nanofiber yapılar yerleştirilmiştir. Kullanıma hazır olarak bekleyen oda sıcaklığında kurutulmuş fiberler burada kullanılmıştır. Alt katmanın yerleştirilmesinden sonra orta katman olan aljinat ve kondroitin sülfat katkılı metformin yüklü hidrojel yapının ıslak biçimde, önceden yerleştirilmiş nanofiber katmanının üzerine dökülmesi sağlanmıştır. Homojen bir şekilde yayılması ve nanofiber yapının üzerini kaplaması sağlandıktan sonra üçüncü ve son katman olan üst katmana geçilmiştir. Üst katmanın içeriği alt katmanın etken madde ve ilaç taşıyıcı partikül sisteminin olmadığı saf ipek fibroinden oluşan nanofiber yapılardır. Saf fibroin nanofiberler önceden hazırlanmış çapraz bağlanmış ve oda sıcaklığında kurutulmuştur. Önceden hazırlanmış bu yapıda homojen dağıtılmış orta katmanın üzerini kaplayacak şekilde serilmiştir. Nanofiber yapının orta katmanın içine çökme yapmamasına dikkat edilmiş ve dikkatli şekilde yerleştirilmiştir. Katmanların birbiriyle birleştirilmesinden sonra -20°C'de gece boyu dondurulmak üzere bekletilmiş ve ardından donmuş örnekler -80°C'de 24 saat boyunca liyofilize edilmiştir [145]. Dondurularak kurutulan örnekler ardından 0.1 M CaCl₂ içerisine daldırılarak 6 saat boyunca çapraz bağlanması sağlanmıştır. Çapraz bağlanmış örnekler tekrar -20°C'de gece boyu dondurulmak üzere bekletilmiş ve sonrasında donmuş örnekler -80°C'de 24 saat boyunca liyofilize edilmiştir.

Sonuç olarak sandviç yapısında çok katmanlı, pH ve sıcaklık gibi uyarılara duyarlı, akıllı, yeni nesil/modern bir yara örtüsü malzemesi elde edilmiştir.

3.6. Karakterizasyonlar

3.6.1. Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM)

Saf ipek fibroin nanofiber formdaki yapılar ile saf aljinat köpüklerin morfolojik özellikleri ThermoScientific markalı Quattro S modeli Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Ayrıca SEM ile elementel bileşim analizi yapabilen Elektron Dağılım Spektroskopisi (EDX) Şekil 3.7 'de gösterilmiştir.



Şekil 3.7. SEM-EDX cihazı

3.6.2. Su Alma Kapasitesi

Aljinat içeren köpüklerin çapraz bağlamaya bağlı olarak su alım kapasiteleri incelenmiştir. Dondurularak kurutulmuş aljinat köpükler, çapraz bağlanmak üzere 0.1 M CaCl_2 çözeltisine daldırılarak çapraz bağlanmıştır. Su alım kapasiteleri belirlenirken gravimetrik yöntem kullanılmıştır. Çapraz bağlanma süresi değiştirilerek, aljinat köpüklerin su alım kapasitesi değerlendirilmiştir. Sırasıyla 2saat, 4 saat ve 6 saat olmak üç farklı zaman belirlenmiş ve köpükler belirtilen zamanlar boyunca 0.1 M CaCl_2 çözeltisine daldırılmıştır. Verilen sürelerin sonunda köpükler alınarak -20°C 'de gece boyu dondurulmuş ve ardından 24 saat boyunca liyofilize edilmiştir. Sonuç olarak 3 farklı zaman boyunca çapraz bağlanmış aljinat köpükler elde edilmiştir. Su alım kapasitesini değerlendirmek için, öncelikle kuru olan başlangıç anı (0.dakika) ağırlıkları ölçülmüştür. Kuru ağırlıkları tartılan farklı sürelerde çapraz bağlanmış örnekler 37°C ' de pH:7.4 PBS çözeltisinde 10, 20, 30, 40, 50, 60.dakika boyunca bekletilmiştir. Belirlenen süre sonunda PBS çözeltilerindeki örnekler çıkarılmış ve

ıslak tartıma alınmıştır. Tartıma alınmadan örnekler üzerindeki fazla sıvının alınması için filtre kağıdı kullanılmıştır. 3.1’de verilen eşitlik kullanılarak farklı çapraz bağlama sürelerine bağlı olarak değişen su alım kapasitelerinin belirlenmesi sağlanmıştır.

$$\text{Su alım Kapasitesi (\%)} = [(W_t - W_0) / W_0] \times 100 \quad (3.1.)$$

Eşitlikte W_0 örneklerin başlangıç anı, kuru ağırlığıdır. W_t ise belirlenen sürelerin sonundaki ıslak ağırlıklardır.

3.6.3. İlaç Salımı Deneyleri

3.6.3.1. Aljinat ve Kondroitin Sülfat Katkılı Orta Katmandan

Metformin Salımı

Aljinat ve kondroitin sülfat katkılı orta katman olarak kullanılacak köpüklere model antiinflamatuar ajan olarak Metformin (Met) eklenmesi planlanmıştır. Öncelikle bu salım çalışmalarının hangi dalga boyunca yapılması gerektiği belirlenmek üzere metforminin kalibrasyon grafiği çıkarılmıştır (EK 1). Kalibrasyon için seyrelti serileri hazırlanmıştır. 1/10, 1/50, 1/100 serilerinden sırasıyla numune alınarak UV-görünür bölge spektrofotometresi ile ölçümler alınmıştır. Ölçümler sonucunda yaklaşık olarak 230 nm dalga boyunda pikler görülmüştür. Farklı ölçümler alınmış ve en uygun absorbans değerleri 230 nm’de okunduğu için salım için bakılacak tüm örneklerdeki absorbans değerleri için 230 nm dalga boyu seçilmiştir.

Kalibrasyon eğrisi çizilebilmesi için öncelikle 1 mg metformin alınarak 10 ml DIW ile çözülmesi sağlanmıştır. Ardından bu çözeltilen 1 ml alınarak 5 ml’ e tamamlanacak şekilde DIW eklenmiştir. Aynı şekilde bu çözeltilen de 1 ml alınarak toplamda 2 ml olacak şekilde DIW eklenmiştir. Böylece seyrelti serileri hazırlanmıştır. Seyrelti serilerinin tek tek absorbans ölçümleri alınarak kalibrasyon grafiği çizilmiştir. Salım profilleri için bu grafikten yararlanılmıştır.

Aljinat ve kondroitin sülfat katkılı köpüklerden metforminin *in-vitro* salım çalışmaları farklı sıcaklıklarda pH:7.4’te PBS ortamında incelenmiştir. Sıcaklıklar 4°C, 25°C, 37°C olarak belirlenmiştir. Dairesel köpüklerden çeyrek parçalar olacak şekilde kesilen örnekler 5ml pH:7.4 PBS içerisinde farklı sıcaklıklardaki ortamlara koyulmuştur. Salım ortamlarından 30, 60, 90, 120. dakikalarda 10 µl numuneler alınarak UV-görünür bölge

spektrofotometresi ile nicel ölçümler alınmıştır. Belirlenen sürelerde farklı sıcaklıklardan alınarak ölçülen örneklerin salım absorbanlarına 230 nm değerinde bakılmıştır.

3.6.3.2. Polidopamin Partikülden Gentamisin Salımı

İlaç taşıyıcı sistem olarak oluşturulmuş polidopamin MNPs sistemi içerisine model antibiyotik olarak Gentamisin eklenmesi planlanmıştır. Öncelikle gentamisin salım ölçümlerinin hangi dalga boyunda yapılması gerektiğini belirlemek üzere kalibrasyon grafiği çıkarılmıştır (EK 2). Kalibrasyon grafiği için seyrelti serileri hazırlanmıştır. 1/10, 1/50, 1/100 serilerinden sırasıyla numune alınarak UV-görünür bölge spektrofotometresi ile ölçümler alınmıştır. Ölçümler sonucunda yaklaşık olarak 220 nm dalga boyunda pikler görülmüştür. Farklı ölçümler alınmış ve en uygun absorban değerleri 220 nm’de okunduğu için salım için bakılacak tüm örneklerdeki absorban değerleri için 220 nm dalga boyu seçilmiştir.

Kalibrasyon eğrisi çizilebilmesi için metformin için uygulanan ölçüm serileri aynen uygulanmıştır.

Polidopamin partikülüne yüklenmiş gentamisinin *in-vitro* salım çalışmaları 37°C’ de farklı pH değerlerine sahip tamponlarda incelenmiştir. Farklı pH değerlerindeki fosfat tampon çözeltileri (PBS) oluşturmak için 1M NaOH ve 1M HCl kullanılmıştır. Sırasıyla pH:4, pH:7.4, pH:9 şeklinde üç farklı tampon çözeltileri hazırlanmıştır. Süspansiyon edilmiş gentamisin yüklü partiküller 10 ml PBS içeren farklı pH değerlerine sahip tampon çözeltilerine koyulmuştur. Salım için 60, 120, 240, 1440. dakikalarda numuneler alınarak UV-görünür bölge spektrofotometresi ile nicel ölçümler alınmıştır. Belirlenen sürelerde farklı pH değerlerinden alınarak ölçülen örneklerin salım absorbanlarına 220 nm değerinde bakılmıştır.

3.6.3.3. Polidopamin Partikülden Siproflaksasin Salımı

İlaç taşıyıcı sistem olarak oluşturulmuş PDA MNPS içerisine yüklenmiş Siprofloksasin salımı incelenmiştir. Öncelikle Siprofloksasinin salım ölçümlerinin hangi dalga boyunda yapılması gerektiğini belirlemek üzere kalibrasyon grafiği çıkarılmıştır (EK 3). Kalibrasyon grafiği için seyrelti serileri hazırlanmıştır. 1/10, 1/50, 1/100 serilerinden sırasıyla numune alınarak UV-görünür bölge spektrofotometresi ile ölçümler alınmıştır. Ölçümler sonucunda yaklaşık olarak 276 nm dalga boyunda pikler görülmüştür. Farklı ölçümler alınmış ve en uygun absorban değerleri 220 nm’de okunduğu için salım için bakılacak tüm örneklerdeki absorban değerleri için 220 nm dalga boyu seçilmiştir.

Kalibrasyon eğrisi çizilebilmesi için metformin ve gentamisin için uygulanan ölçüm serileri aynen uygulanmıştır.

Polidopamin partikülüne yüklenmiş Siprofloksasinin *in-vitro* salım çalışmaları 37°C' de farklı pH değerlerine sahip tamponlarda incelenmiştir. Sırasıyla pH:4, pH:7.4, pH:9 şeklinde üç farklı tampon çözeltileri hazırlanmıştır. Süspansiyon edilmiş Siprofloksasin yüklü partiküller 5 ml PBS içeren farklı pH değerlerine sahip tampon çözeltilerinde bekletilmiştir. Salım için 30, 60, 90, 120.dakikalarda numuneler alınarak UV-görünür bölge spektrofotometresi ile nicel ölçümler alınmıştır. Belirlenen sürelerde farklı pH değerlerinden alınarak ölçülen örneklerin salım absorbanslarına 276 nm değerinde bakılmıştır.

3.6.3.4. Formülasyona Dahil Edilen CF'nin BSA MNPS'den Salımı

İlaç taşıyıcı sistem olarak oluşturulmuş BSA MNPs'den formülasyona dahil edilmiş Siprofloksasinin salımı incelenmiştir. Siprofloksasinin salım ölçümlerinin hangi dalga boyunda yapılması gerektiği belirlenmiştir. Örneklerin salım absorbanslarına 276 nm değerinde bakılmıştır. BSA MNPs'ne yüklenmiş Siprofloksasinin *in-vitro* salım çalışmaları 37°C' de farklı pH değerlerine sahip tamponlarda incelenmiştir. Sırasıyla pH:4, pH:7.4, pH:9 şeklinde üç farklı tampon çözeltileri hazırlanmıştır. Süspansiyon edilmiş Siprofloksasin yüklü partiküller 5 ml PBS içeren farklı pH değerlerine sahip tampon çözeltilerinde bekletilmiştir. Salım için 30, 60, 90, 120.dakikalarda numuneler alınarak UV-görünür bölge spektrofotometresi ile nicel ölçümler alınmıştır. Belirlenen sürelerde farklı pH değerlerinden alınarak ölçülen örneklerin salım absorbanslarına 276 nm değerinde bakılmıştır.

3.6.3.5. Emdirilen Siprofloksasinin BSA MNPS'den Salımı

İlaç taşıyıcı sistem olarak oluşturulmuş BSA MNPs'den emdirilmiş Siprofloksasinin salımı incelenmiştir. 276 nm dalga boyunda salım ölçümlerine bakılmıştır. BSA MNPs'ne yüklenmiş Siprofloksasinin *in-vitro* salım çalışmaları 37°C' de farklı pH değerlerine sahip tamponlarda incelenmiştir. Sırasıyla pH:4, pH:7.4, pH:9 şeklinde üç farklı tampon çözeltileri hazırlanmıştır. Süspansiyon edilmiş Siprofloksasin yüklü partiküller 5 ml PBS içeren farklı pH değerlerine sahip tampon çözeltilerinde bekletilmiştir. Salım için 30, 60, 90, 120.dakikalarda numuneler alınarak UV-görünür bölge spektrofotometresi ile nicel ölçümler alınmıştır. Belirlenen sürelerde farklı pH değerlerinden alınarak ölçülen örneklerin salım absorbanslarına 276 nm değerinde bakılmıştır.

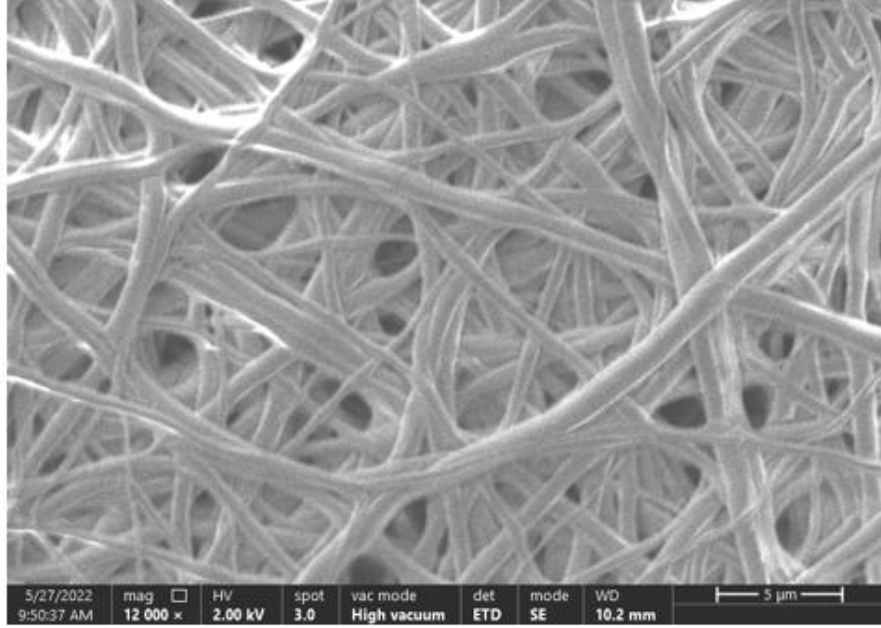
3.6.4 Biyolojik Uyumluluk (Sitotoksosite) Testi

Biyolojik uyumluluğun değerlendirilmesi için, ISO 10993-5 standardına göre MTT testi kullanılmıştır. Hücre çoğalmasının incelendiği bu test, 3,[4,5-dimetiltiazol-2-il]-2,5 difeniletatrazolyum bromürün (MTT) kullanıldığı testtir. Canlılık değerlendirilmesinde bulunurken; %70 değerinin altındaki değerlerde malzemenin sitotoksosite etkisinden bahsedilir. L929 hücreleri, oyuk başına 1.0×10^4 konsantrasyonda 96 oyuklu bir plakaya ekilmiş ve 24 saat (1 ikiye katlama periyodu) kültürde (37°C , %5 CO_2) tutulmuştur. Ekstraksiyon ortamının hacmi, en yüksek konsantrasyon %100 olduğu için kütle/hacim oranına göre hesaplanmıştır. Negatif kontrolde sadece medyum, pozitif kontrolde medyum ve dimetil sülfoksit (DMSO) kullanıldı. Test numunesi ekstraktlarının seri konsantrasyonları, hücrelere maruz bırakılmıştır ve 24 saat boyunca şartlandırılmış bir ortamda tutulmuştur (37°C , %5 CO_2). Numuneler 2 tekrarda çalıştırılmıştır. 24 saat sonra kuyucuklardaki kültür ortamı boşaltılmış ve her kuyucuğa 50 μl MTT(1mg/mL) eklenmiştir. Kuyu plakaları, 37°C 'de 2 saat süreyle inkübe edilmiş ve her oyuğa 100 μl izopropanol eklenmiştir. Kuyulardaki absorbands derecesi, bir mikrolaka okuyucuda 570 nm dalga boyunda ölçülmüştür.

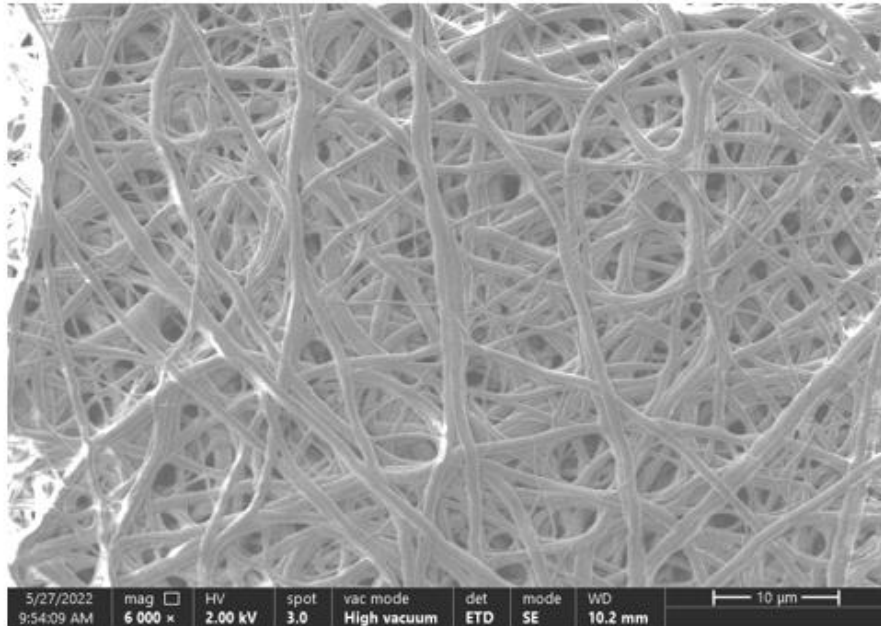
4. DENEYSEL BULGULAR

4.1. İpek Fibroin Nanofiber Yapıların Fiziksel Karakterizasyonu

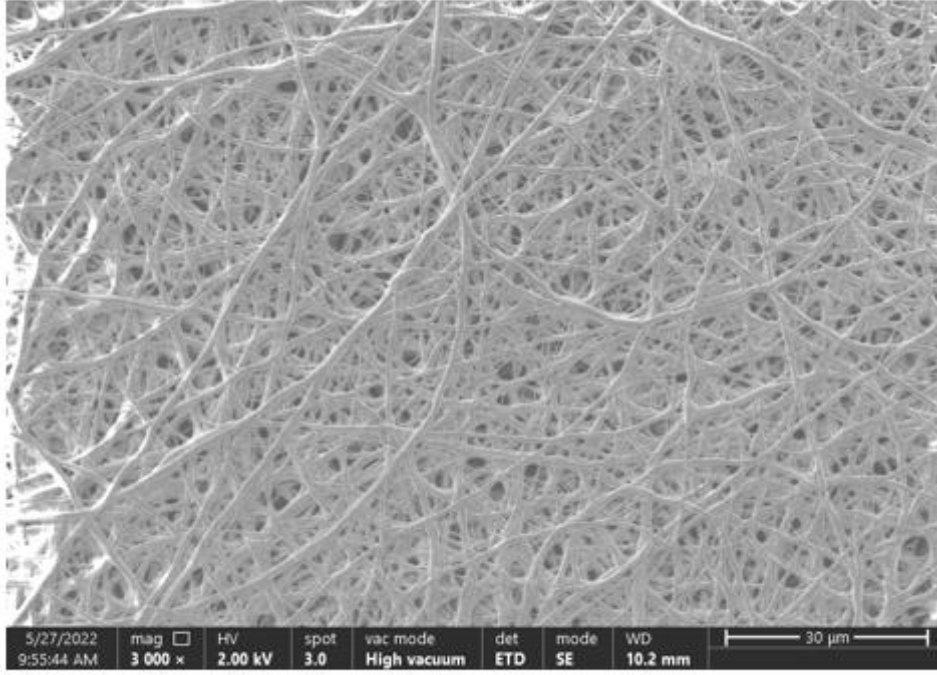
İpek fibroinin elde edilmesiyle, elektroğirme yöntemi ile nanofiber yapıların oluşturulması sağlanmıştır. Elde edilen nanofiber yapılardan, SEM cihazı kullanılarak fiziksel karakterizasyon için görüntüler alınmıştır. Bu görüntülere ait fotoğraflar Şekil 4.1’de gösterilmiştir.



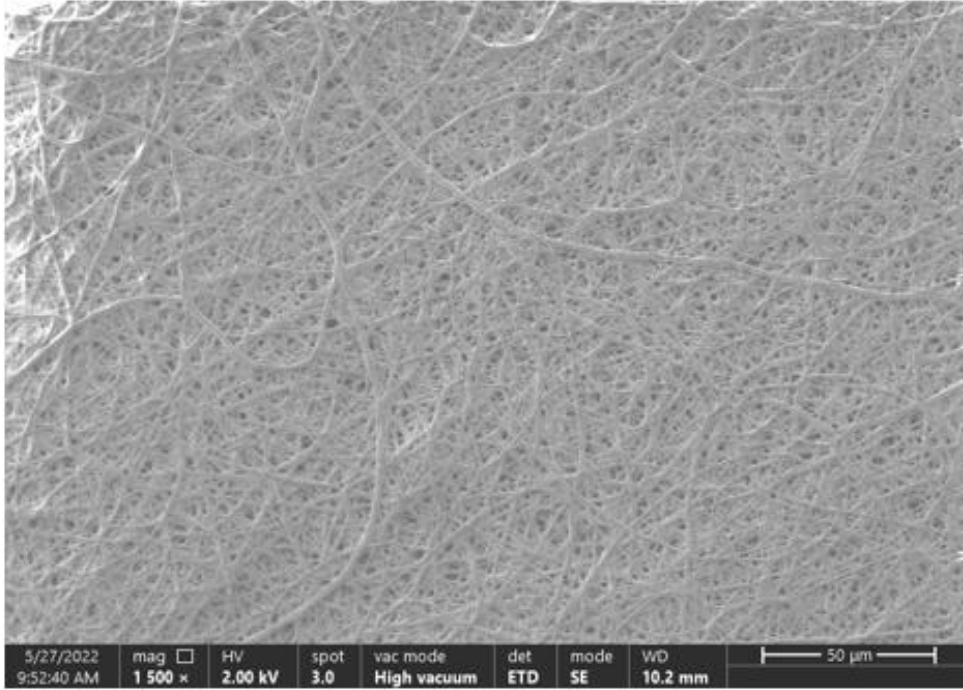
(A)



(B)



(C)



(D)

Şekil 4.1. Saf İpek Fibroin Nanofiber Yapıların SEM Görüntüleri (A) 5 µm (12000 x), (B) 10 µm (6000 x), (C) 30 µm (3000 x), (D) 50 µm (1500 x).

%15 (w/v) oranında ipek fibroin kullanılarak oluşturulmuş nanofiber yapılarında 13 cm olarak enjektör ucu ve toplayıcı plaka arası mesafe, 15kV potansiyel, 0.5 ml/h akış hızı gibi

parametre ayarları yaparak stabil bir nanofiber yapısı elde edilene kadar elektroğirme ile örnekler oluşturulmuştur.

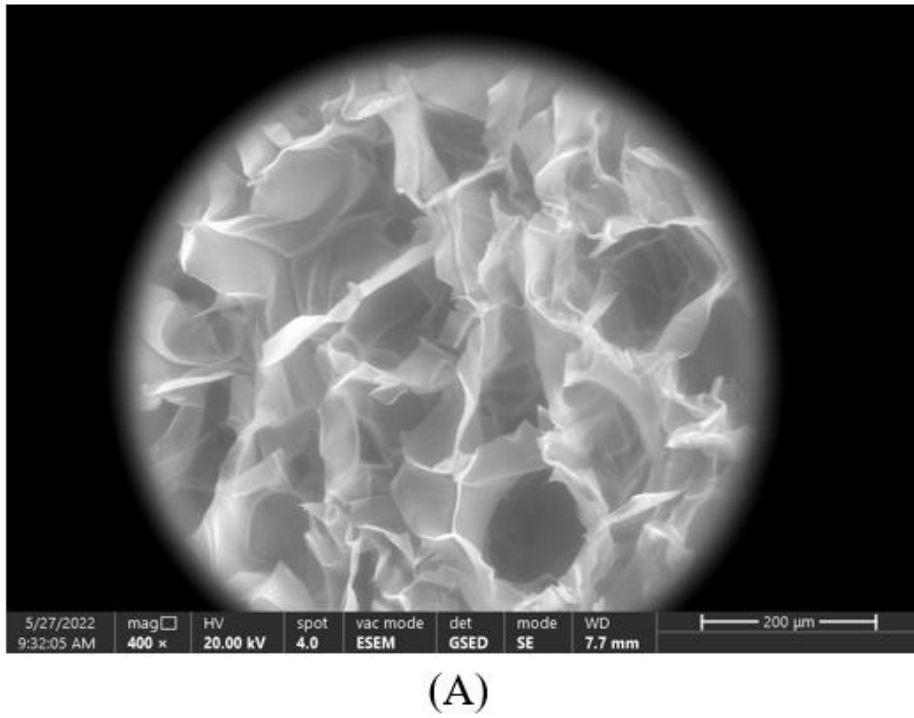
En uygun konsantrasyonun %15 (w/v) olduğu görülmüştür. %15'in altındaki konsantrasyonlarda stabil bir fiber formu elde edilememiştir. Enjektörden kollektöre doğru çıkan jetin oluşumu, Taylor konisinin oluşmadığı gözlemlenmiştir. %15'ten daha yüksek konsantrasyonlarda fiber oluşturmaya çalışılırken, enjektör ucunda polimer çözeltisinin birikme yaptığı ve jelleşmeye neden olduğu gözlemlenmiştir. %15'lik konsantrasyonda üretilen nanofiber yapılar Şekil 4.1.'te gösterilmiştir. Nanoyapılı fiberlerde kopma, boncuk oluşumu ve istenmeyen boşlukların oluşmadığı ve stabil nanofiber formların oluşturulduğu gözlemlenmiştir. Enjektör ucu ve kollektör ucu mesafesi 13 cm olarak belirlenmiştir. 13 cm'den az mesafelerde çözücü olarak kullanılan TFA'nın yeteri kadar buharlaşmadığı ve alüminyum folyo üzerinde kalıntılara rastlandığı ve boşluklar oluşturduğu gözlemlenmiştir. 13 cm'den daha yüksek mesafede ise, enjektörden çıkan jetin alüminyum folyoya ulaşmadığı ve dolayısıyla folyo üzerinde nanofiber yapıların oluşmadığı gözlemlenmiştir. Enjektör ucu ve toplayıcı arasındaki mesafenin azalması fiber çaplarının azalmasına neden olmuştur. Akış hızı 0.5 ml/h olarak belirlenmiştir. Daha yüksek akış hızlarında enjektör ucunda hava birikmesi yaşanmış bu da alüminyum folyo üzerindeki yapılarda da boşluklar oluşmasına neden olmuştur. Uygulanan potansiyel 15kV olarak belirlenmiştir. Nanofiberler yapılar uygulanan potansiyelin eşik değerini aştığı takdirde oluşmaya başlar. Daha yüksek potansiyelerde fiber yapılarda boncukların oluşması gözlemlendiği için potansiyel artırılmamıştır. Fiber oluşturmak için iki adet konum kullanılır; yatay konum ve aşağı konum. Sunulan çalışmada aşağı yönlü konum denenmiş fakat yerçekiminin de etkisiyle akış hızından bağımsız şekilde alüminyum folyoya damlacıkların seri bir şekilde damladığı ve fiber yapılara zarar verdiği gözlemlendiği için deneysel çalışmaya yatay konum ile devam edilmiştir. Enjektörün ucu küt biçimde kesilmiştir çünkü bu işlem nanofiber yapıların homojenliğini etkilemektedir. Şekil 4.1'de yüksek büyütme oranından başlayarak (A) 5 µm (12000x), (B) 10 µm (6000 x), (C) 30 µm (3000 x), (D) 50 µm (1500 x)'e kadar fibroin nanofiberler görüntülenmiştir. Büyütme oranı küçüldükçe nanofiber yapıların pürüzsüz yapısı ortaya çıkmaktadır. Büyütme oranı büyüdükçe nanofiber yapılar arası boşluklar ve yine nano boyuttaki gözenekler ortaya çıkmaktadır. Şekil 4.2.'de alüminyum folyoya kaplanmış (A) nanofiber yapılar ve (B)'de folyodan kaldırılmış ve çapraz bağlanıp kurutulmuş fiber örneği görülmektedir.

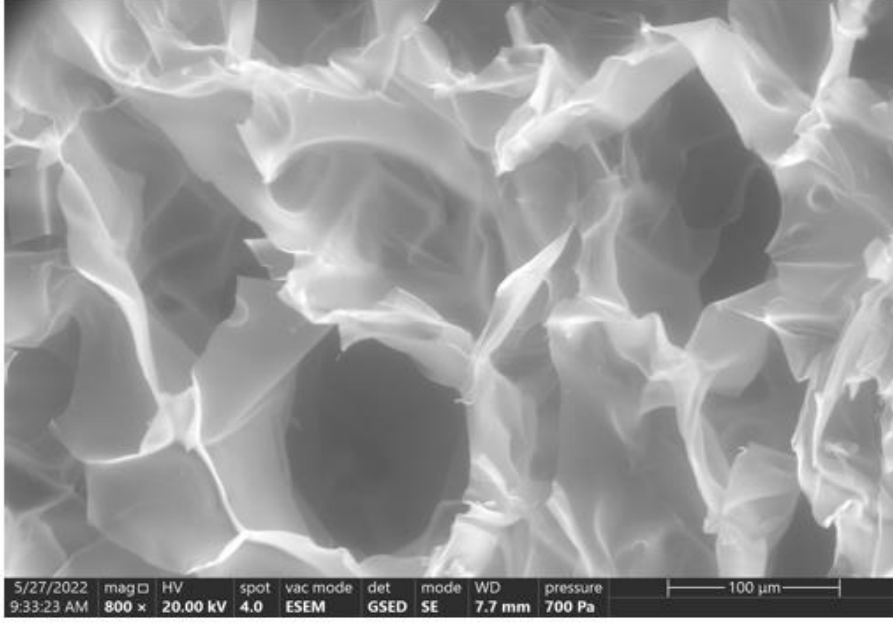


Şekil 4.2. Elde edilen ipek fibroin (%15 w/v) nanofiber yapılar (A) alüminyum folyoya kaplanmış fiberler, (B) Alüminyum folyodan sıyrılmış ve çapraz bağlanıp kurutulmuş fiber görüntüsü.

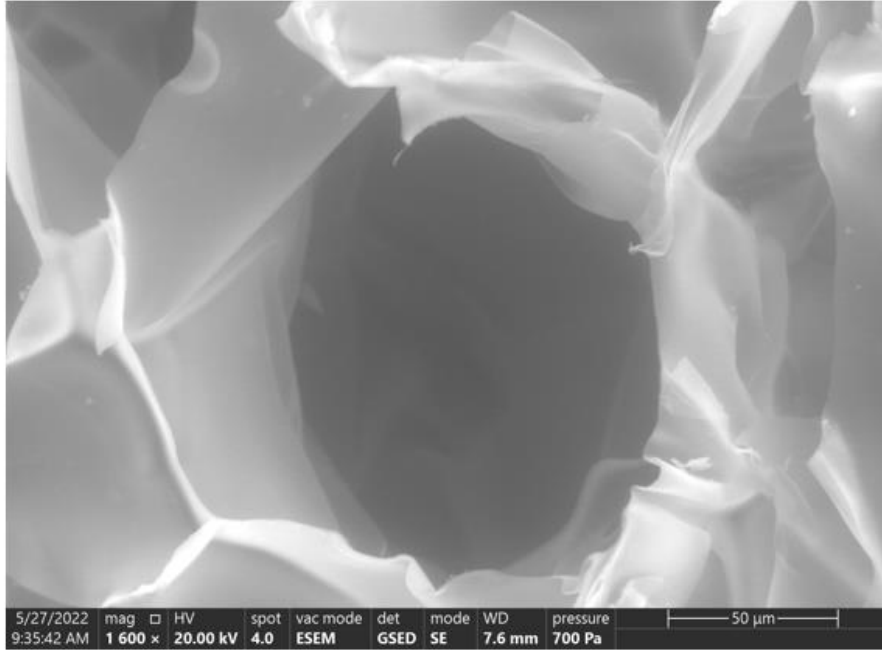
4.2. Aljinat Köpüklerinin Fiziksel Karakterizasyonu

Aljinat köpüklerinin dondurularak kurutulması ardından çapraz bağlama işleminin gerçekleşmesinden sonra tekrar dondurularak kurutulmuş köpüklerin SEM cihazı kullanılarak fiziksel karakterizasyonu için görüntüleri alınmıştır (Şekil 4.3).





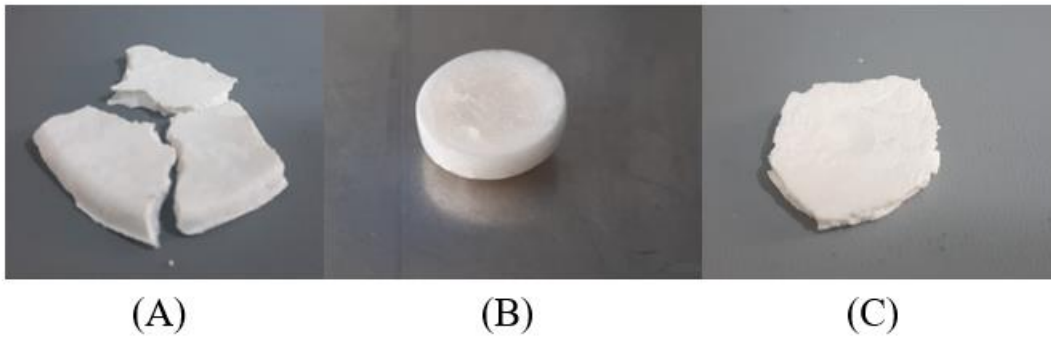
(B)



(C)

Şekil 4.3. Aljnat Köpüğü (%3 w/v) SEM Görüntüleri (A) 200 µm (400 x), (B) 100 µm (800 x), (C) 50 µm (1600 x).

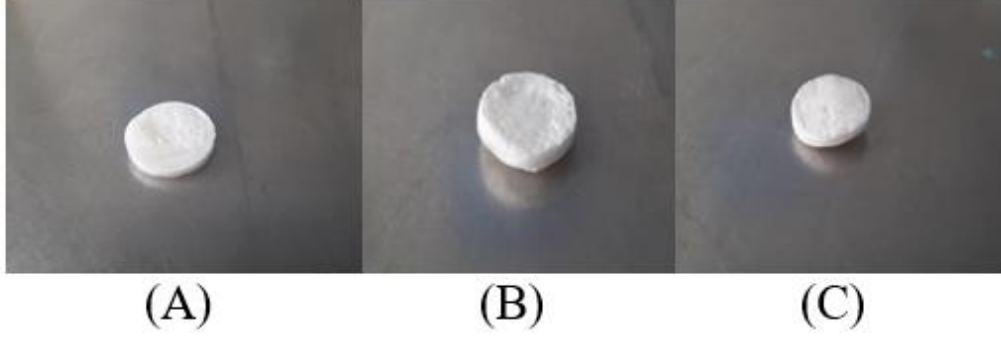
Orta katmanın oluşturulması için aljinat köpüğün dondurularak kurutulması (liyofilizasyon) yöntemi kullanılmıştır. Yüksek gözenekliliğe sahip köpüklerin eldesi için %5, %3 ve %1 (w/v) oranında konsantrasyonlar denenmiştir (Şekil 4.4), %5'lik köpük oldukça sert (C) ve kırılğan bir yapıda olduğu için kullanılmamıştır. %1'lik (A) köpük ufalanarak döküldüğü ve köpük formunu oluşturamadığı için deneysel kısımda %3'lük (B) konsantrasyona sahip köpükler kullanılmıştır (Şekil 4.4). Şekil 4.3'teki görüntülerde %3 konsantrasyona sahip aljinat köpüklerin SEM fotoğrafları verilmiştir. Şekil 4.3' te düşük büyütme oranından başlanarak (A) 200 μm (400 x), (B) 100 μm (800 x), (C) 50 μm (1600 x)'e kadar büyütülmüştür. Şekilde 4.3.'te de görüleceği üzere köpük yapısı mikro gözeneklere sahiptir.



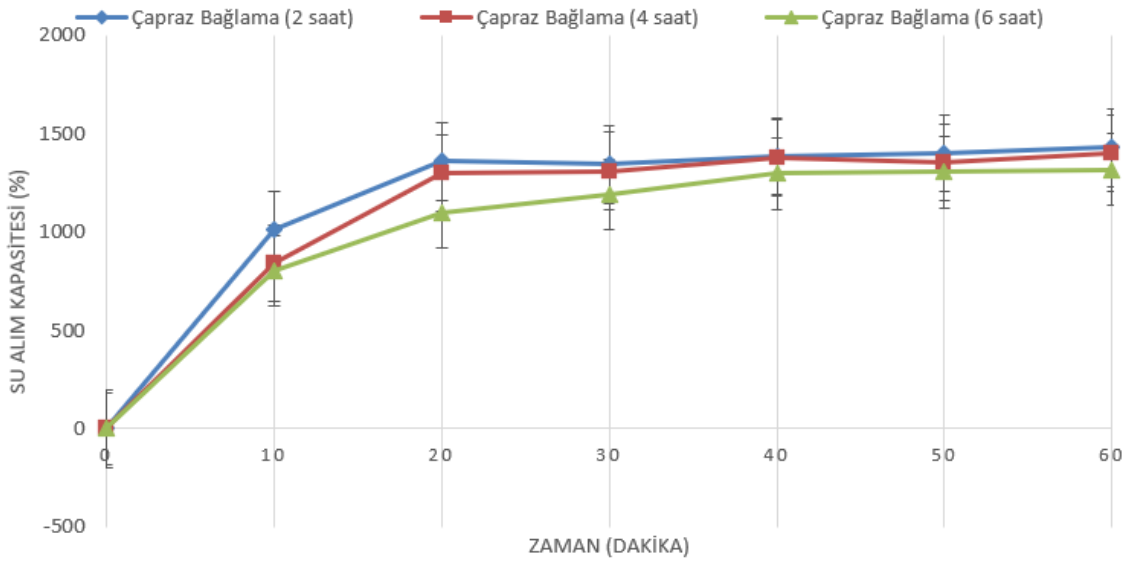
Şekil 4.4. Dondurularak kurutulmuş aljinat köpükler (A) %1 (w/v), (B) %3 (w/v), (C) %5 (w/v)

4.3. Su Alım Kapasitesi

Aljinat köpüğün dondurularak kurutulmasının ardından farklı sürelerde çapraz bağlanması sağlanmıştır. Bu çapraz bağlanma süreleri (Şekil 4.5) (A) 2 saat, (B) 4 saat ve (C) 6 saat şeklinde belirlenmiştir. Belirtilen sürelerde 0.1 M CaCl_2 içerisinde daldırılan aljinat köpüklerin (%3 w/v) su alım kapasiteleri incelenmiştir. Başlangıç anı (0.dakika) ve 10, 20, 30, 40, 50, 60. dakikalarda ıslak tartımları alınmıştır. Ağırlık değerleriyle yüzde su alım kapasiteleri belirlenmiştir. Su alım kapasitesi belirlenirken 3.1 eşitliği kullanılmış ve sonuçlar gravimetrik yöntem ile belirlenmiştir. Farklı çapraz bağlanma süresine bağlı olarak değişen su alım kapasiteleri Şekil 4.6'te gösterilmiştir.



Şekil 4.5. Farklı çapraz bağlama süresine sahip köpükler (A) 2 saat çapraz bağlı, (B) 4 saat çapraz bağlı, (C) 6 saat çapraz bağlı köpük.



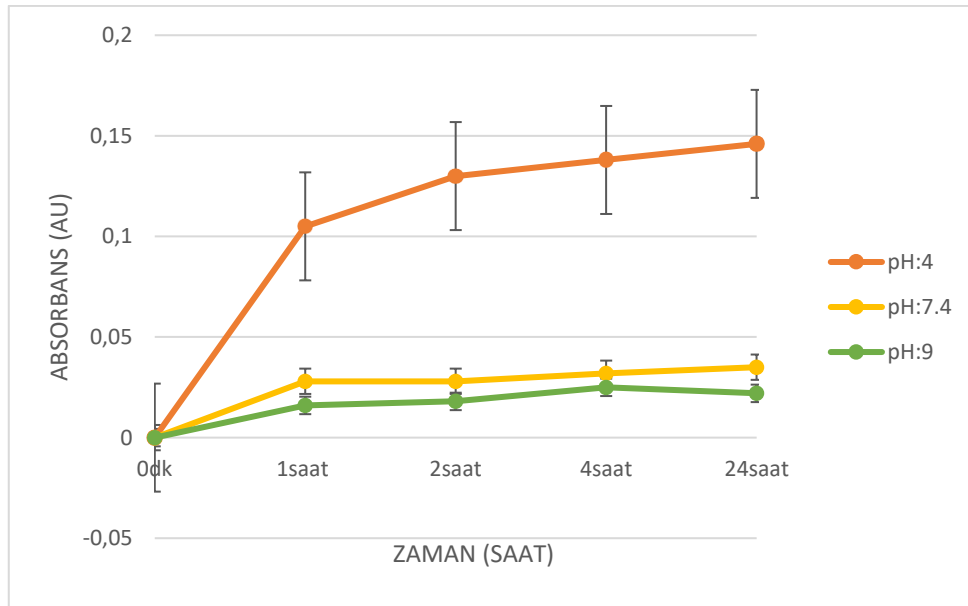
Şekil 4.6. Farklı Çapraz Bağlama Süresine Bağlı Değişen Su Alım Kapasitesi

Köpüklerin farklı çapraz bağlanma sürelerine göre su alım kapasiteleri incelendiğinde; tüm yapıların 50. ve 60. dakikadaki birbirine çok yakın sonuçlar vermesi maksimum su alma kapasitesine ulaştığını gösterir ve 60. dakika denge su alım kapasitesi olarak belirlenmiştir. Maksimum su alma, Saara ve arkadaşlarının [146] yapmış olduğu çalışmada da olduğu gibi çapraz bağlama süresinin artmasıyla köpüğün içerisine su alımı azalmaktadır. Çapraz bağlanma süresinin kısa olması daha zayıf mekanik dayanıma neden olur ve yapının içerisine su alımının kolaylaşmasını sağlar. Keskin bir su alım artışı ile yetersiz çapraz bağlanma, aljinat ve CaCl_2 arasındaki yetersiz bağlar hidrojel yapının çökmesine neden olabilmektedir. Şekil 4.6'de de görüleceği gibi en yüksek su alım %1430 değeriyle, 60.dakikada, 2 saat çapraz bağlanmış köpükte gözlemlenmiştir. Aynı dakikalardaki 4 saat çapraz bağlı köpüğün su alımı %1399 ve 6 saat çapraz bağlanmış köpüğün su alımı %1320 şeklindedir. Her üç köpük için de ilk 10 dakika içerisinde keskin bir su alımı hızı gerçekleşirken, 10. Dakikadan

sonra su alımı hızı azalmaya başlamıştır. Genel olarak üç yapıda da çapraz bağ süresinin artması su alımını azaltmıştır fakat çok büyük farklar oluşturmamıştır, birbirine yakın sonuçlar elde edilmiştir. Elde edilen yüksek su alımı kapasitesi yara örtüsü malzemelerinde yara exüdasının emilmesi konusunda önemli bir sonuçtur.

4.4. Dopamin Mikro/Nano Partikülden Gentamisin Salımı

Yaralanmış derinin enfekte olma olasılığı yüksektir ve enfeksiyonun hafif seyrettiği zaman diliminde (evre 1) enfeksiyonu kontrol edebilme ve enfeksiyonu azaltma gibi stratejiler uygulanmaktadır. Evre 1’de kronik yaraların pH değeri asidik değerde yaklaşık 5.5 civarındadır [147][64]. Bu nedenle enfeksiyonun başlangıcında tedaviye yardımcı olmak amacıyla pH duyarlı dopamin mikro/nano partikül ilaç taşıyıcı sistem oluşturulmuş ve içerisine yara iyileşmesinde kullanılan Gentamisin antibiyotiği yüklenmiştir. Farklı pH değerleri belirlenmiştir ve PBS ortamında bu pH değerleri ayarlanmıştır, bunlar; pH:4, pH:7.4, pH:9 şeklindedir ve pH değerine duyarlı ilaç salımı değerlendirilmiştir (Şekil 4.7.)



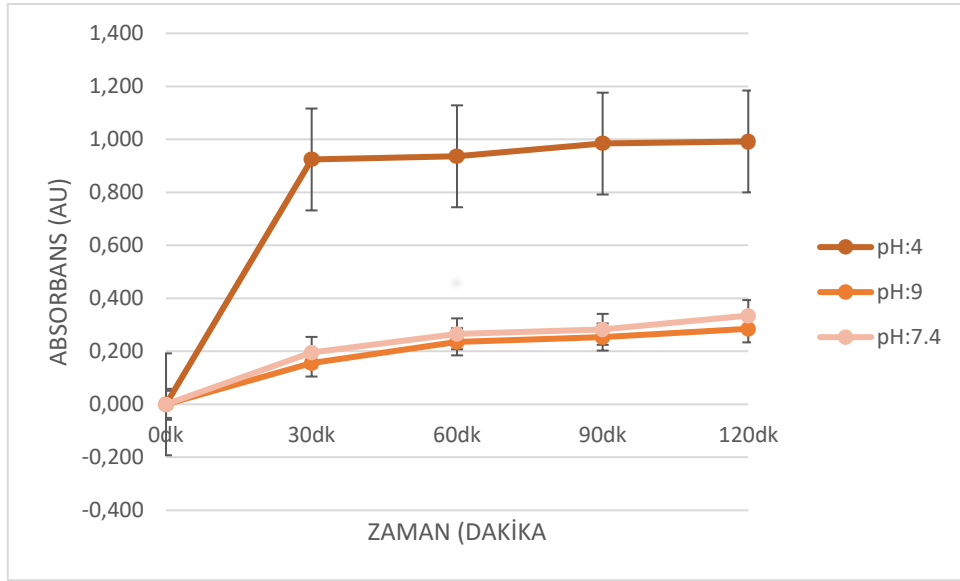
Şekil 4.7. Farklı pH değerlerinde Gentamisin salımı.

Polidopamin MNPs'lerine gentamisin yüklemesi, *in-situ* polimerizasyon yöntemiyle gerçekleştirilmiştir. Gentamisin ve PDA'nın kimyasal etkileşim mekanizması, gentamisin amin grupları ve PDA'nın hidroksil grupları arasında mevcut hidrojen bağından kaynaklanmaktadır. PDA'nın zwitteriyonik doğası, değişken pH koşullarında yüzey yükünü ikame etmesine izin verir. Bu nedenle PDA, alkalın pH'ta negatif yüklü yüzeyi nedeniyle normal fizyolojik koşullarda aminoglikozidlerin salınımını bloke etmelidir. Yüzeyde bakteriyel kolonizasyon sırasında, bakteriyel metabolizmanın neden olduğu yerel asitlenme,

amin gruplarının protonasyonu nedeniyle PDA'nın yapısal özelliklerini değiştirir, dolayısıyla gentamisin salınımını PDA MNPs'lerinden hızlandırmalıdır. İlaç salımının mekanizması, PDA fonksiyonel gruplarının pH'a tepki olarak davranışına bağlı olarak açıklanabilir. Asidik bir pH'de, hem PDA NPs'leri hem de gentamisin, amin gruplarının protonasyonu nedeniyle pozitif olarak yüklenir. Böylece gentamisin molekülleri, itici kuvvetler nedeniyle PDA'dan kolayca kaçar. Ayrıca, PDA'nın değiştirilebilir aktif bölgeleri nedeniyle, PDA MNPs'lerinden gentamisin salımına neden olan PDA ve gentamisin arasındaki hidrojen bağı da asidik bir pH'ta bozulur. PDA MNPs'lerden salım mekanizmasının, gentamisin'in PDA MNPs'lerden PBS solüsyonuna yayılması için bir itici güç görevi gören ortamın pH'ına güçlü bir şekilde bağlı olduğunu göstermektedir. Bu nedenle, yerinde yükleme sırasında alkalın pH'ta, hidroksil grupları, gentamisin amin grupları ile pozitif-negatif kimyasal etkileşim ve/veya hidrojen bağı oluşturur. Böylece, in vitro salım sırasında, PDA yapısal değişikliği asidik bir pH'ta gerçekleşir, pozitif bir yüke doğru kayar ve böylece ilacın salınmasına izin verir [147]. Şekil 4.7'te de görülebileceği gibi, pH:4 değerinde pH:7.4, pH:9 değerlerine göre daha fazla salım gerçekleşmiştir. Alkalın duruma geçtikçe PDA MNPs'lerden gentamisin salımı azalmaktadır. Bu sonuç oluşturulmuş PDA MNPs'lerin pH değişikliğine duyarlı olarak bünyesindeki ilacı saldırdığını göstermektedir.

4.5. Dopamin Mikro/Nano Partikülden Siprofloksasin Salımı

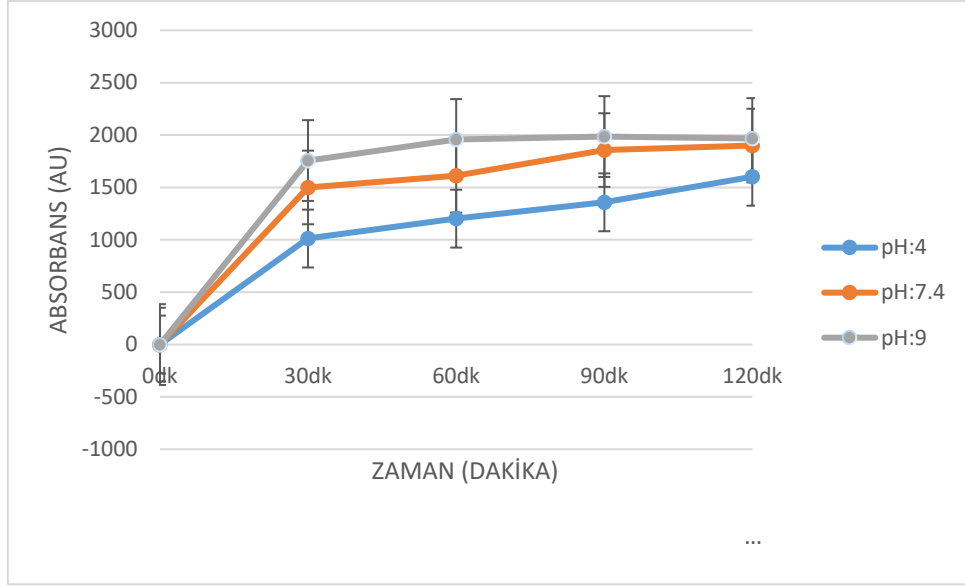
Yara iyileşmesi tedavisinde kullanılacak bir diğer model antibiyotik Siprofloksasindir. 4.3 bölümünde anlatıldığı gibi aynı şekilde Evre 1 durumunda, enfeksiyonun başlangıcında pH:5.5 civarında asidik koşullarda oluşturulmuş PDA MNPs'lerin içerisine yüklenmiş Siprofloksasini uyarana duyarlı şekilde salması incelenmiştir. Farklı pH değerleri kullanılarak oluşturulmuş PBS ortamlarında salım ölçümleri alınmıştır. Siprofloksasinin PDA nanoparçacıklarının aromatik kısmı ile π - π etkileşimleri ve/veya hidrojen bağları yoluyla etkileşime girerek MNPs sistemine yüklenmiş olması tahmin edilmektedir. PDA yapısal değişikliği asidik pH koşullarında değiştiği için gentamisinde olduğu gibi aynı şekilde siprofloksasin salımında da asidik pH değerlerinde (pH:4) salımın daha çok gerçekleşmesi gözlemlenmiştir (Şekil 4.8). PDA MNPs sisteminden etken madenin yine aynı şekilde pH:7.4 ve pH:9 değerlerinde asidik pH:4'e göre daha az salındığı literatürle de paralel olarak doğrulanmıştır [148]–[150]. Hem gentamisin hem de siprofloksasin kullanılarak Evre 1, enfeksiyon başlangıcında değişen pH değerlerine duyarlı ilaç salımı PDA sayesinde gerçekleştirilmiştir.



Şekil 4.8. Farklı pH değerlerinde Siprofloksasin salımı.

4.6. BSA Mikro/nano Partikülden Formülasyona Dahil Edilmiş Siprofloksasin Salımı

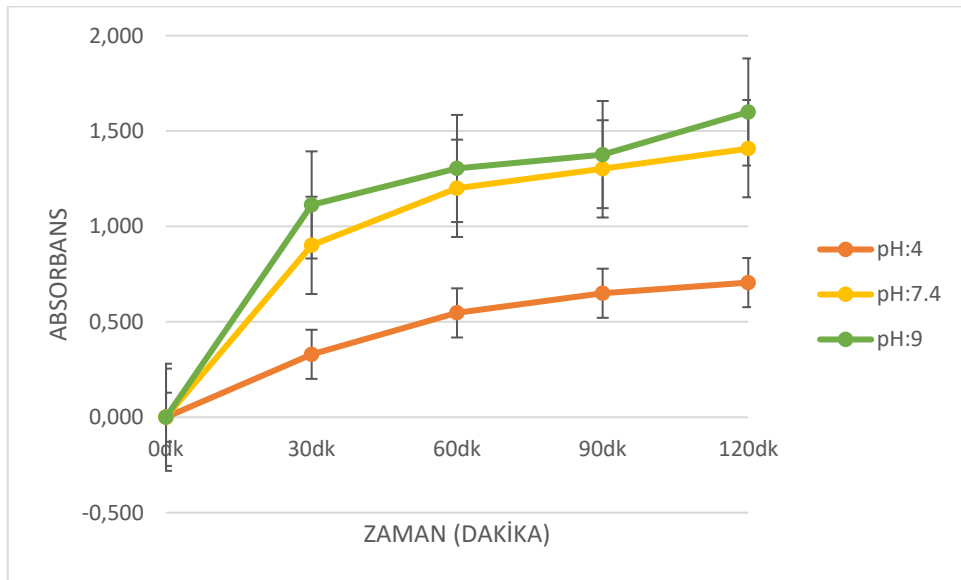
Yaralı bölgenin enfekte olmaya başladığı, enfeksiyon başlangıcı olan Evre 1'den sonra enfeksiyonun daha da arttığı ikinci kısım olan Evre 2 kısmında yara bölgesinde değişiklikler meydana gelmektedir. Değişikliklerden biri de pH değişikliğidir. Kronikleşmeye başlayan yaranın pH değerleri 7 ve üzerine doğru yükselmeye başlar ve sağlıklı cildin veya enfeksiyonun başlangıcındaki pH değerinden farklılık göstermektedir. Tek bir pH değeri aralığına duyarlı oluşturulan yara örtüsü malzemeleri yaranın kronikleşmeye başlaması ve enfeksiyonun yayılması durumunda yetersiz kalmaktadır. Bu nedenle hem enfeksiyon başlangıcı hem de enfeksiyonun artmaya başladığı pH değerlerine duyarlı sistem olarak BSA MNPs sistemi oluşturulmuş ve içerisine Siprofloksasin yüklemesi yapılmıştır. Sistem oluşturulurken model antibiyotik formülasyona dahil edilerek oluşturulmuştur. PDA MNPs sistemi asidik pH koşullarında bünyesindeki ilacın salınması avantajına sahipken BSA kullanılarak oluşturulan ilaç taşıyıcı sistemin tam da enfeksiyonun artmaya başladığı evredeki alkaline pH koşullarında ilacı salması Şekil 4.9.'da verilmiştir. pH:4 değerinde ilaç salımı az iken pH:7.4 ve pH:9 gibi alkaline koşullarda ilaç salımı artmaktadır.



Şekil 4.9. Farklı pH değerlerinde BSA MNPs sisteminden formülasyona dahil edilmiş siprofloksasin salımı.

4.7. BSA Mikro/nano Partikülden Emdirilmiş Siprofloksasin Salımı

Formülasyona dahil edilen siprofloksasinden sonra BSA MNPs sistemine emdirilmiş siprofloksasinin salımı incelenmiştir. İlacın formülasyona dahil edilmesi ve sonradan MNPs sistemine emdirilmesi arasındaki ilaç salım farkı incelenmiştir (Şekil 4.10)



Şekil 4.10. Farklı pH değerlerinde BSA Mikro/nano Partikülden Emdirilmiş Siprofloksasin Salımı

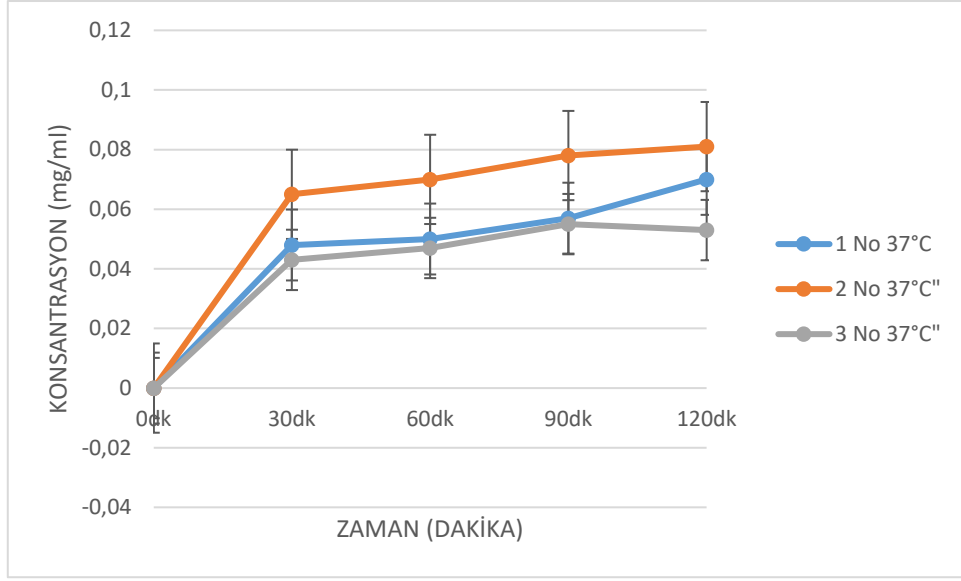
Şekil 4.9 ve Şekil 4.10'da görüldüğü gibi farklı pH değerlerinde formülasyona dahil edilmiş siprofloksasinin salımı emdirilmiş siprofloksasine göre daha fazladır. BSA MNPs'de formülasyona dahil edilen ilaç miktarının daha fazla olması nedeniyle daha fazla salım

gerçekleşmiştir. Her iki sistemde kronikleşmiş, enfeksiyonu artmış yarada pH değerlerine duyarlı salım gerçekleştirmiştir.

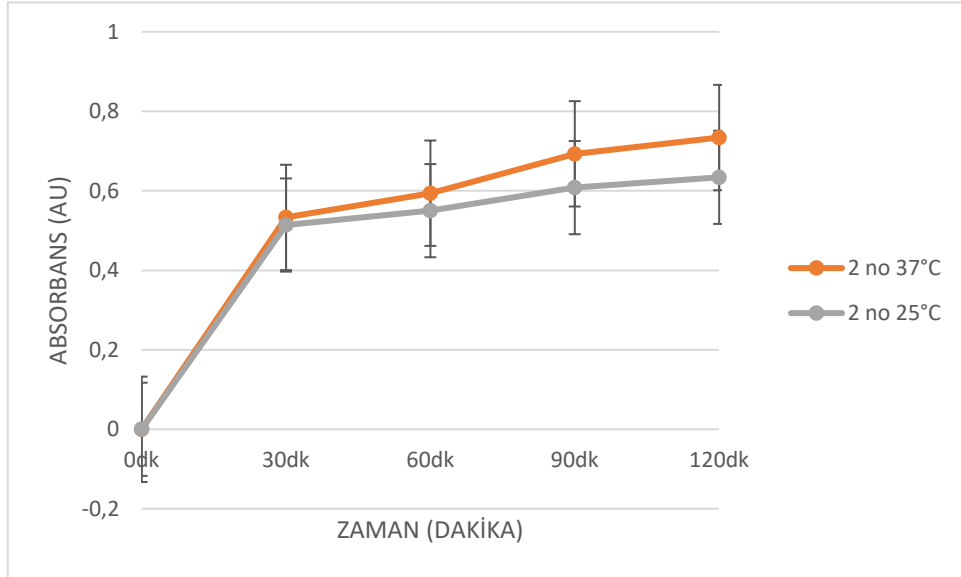
4.8. Aljinat ve Kondroitin Sülfat Katkılı Orta Katmandan Metformin Salımı

Aljinat ve kondroitin sülfat katkılı orta katmandan ilaç salım deneyi için metformin SA:CS 1:1(v/v) ve SA:Met (1:0,125,1:0,25,1:0,5) v/v oranları belirlenmiştir. Farklı ilaç miktarına sahip köpük yapılar numaralandırılmıştır. SA:Met (1:0,125) v/v 3 No'lu örnek, SA:Met (1:0,25) v/v 1 No'lu örnek, SA:Met (1:0,5) v/v ise 2 No'lu örnektir. Aljinat ve kondroitin sülfat miktarları sabitken, metformin miktarına bağlı olarak değişen ilaç salım grafiği Şekil 4.11'de verilmiştir. Beklendiği gibi ilaç miktarı daha çok olan yapıda ilacın salımı daha çok olmuştur. Miktarı göre en fazla ilacın bulunduğu 2 No'lu örnekte ilaç salımı daha çok olurken, ilaç miktarının düşmesiyle sırasıyla 1 No'lu ve 3 No'lu yapıdaki ilaç salımı azalmaya başlamıştır.

Sodyum aljinat ve kondroitin sülfat katkılı yapıya en fazla metformin yüklenmiş yapı olan 2 No'lu örnek üzerinde sıcaklığa bağlı olarak değişen ilaç salım deneyi uygulanmıştır. Olası bir enflamasyon durumunda yara bölgesinde sıcaklığın artışına bağlı olarak yara örtüsü malzemesinin bünyesindeki ilacı salması beklenen bir durumdur. Bu nedenle farklı sıcaklık ortamlarında (25 °C ve 37 °C) 2 No'lu örneğin ilaç salım davranışı incelenmiştir. Sıcaklık arttıkça ilaç salımının artması beklenmektedir. Şekil 4.12'de de görülebileceği gibi ilaç yükleme miktarı en fazla olan 2 No'lu örneğin sıcaklık artışına bağlı olarak bünyesindeki ilacı daha çok saldıgı görülmektedir. 37 °C'de ilaç salımı fazla iken 25 °C'de ilaç salımı azalmaktadır. Bu sonuç oluşturulan orta katmanın olası bir enflamasyon durumunda yara bölgesindeki sıcaklık artışına bağlı olarak içerisindeki ilacı salabileceğini doğrulamaktadır. Böylece sıcaklık duyarlı yara örtü malzemesi oluşturulmuştur.



Şekil 4.11. Metformin miktarına bağlı ilaç salımı

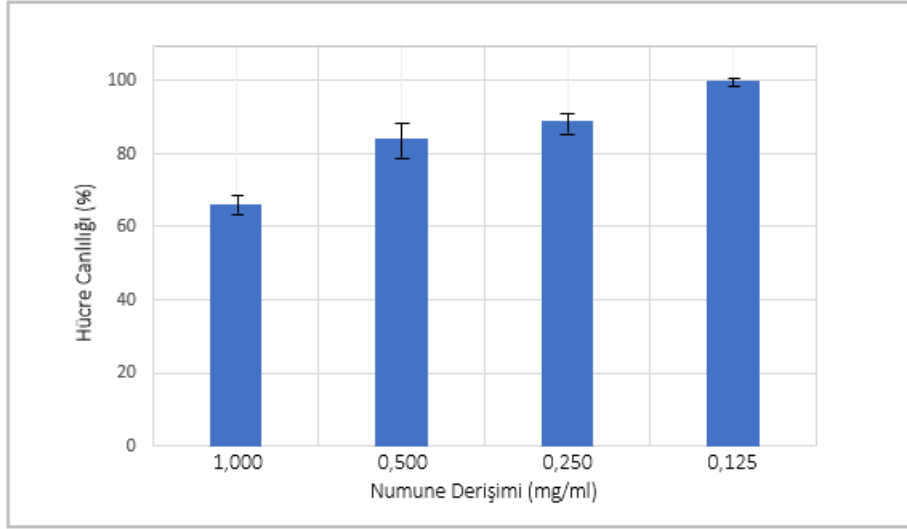


Şekil 4.12. Farklı Sıcaklıklarda SA/CS katkılı köpüğün Metformin Salımı

4.9. Biyolojik Uyumluluk (Sitotoksite) Testi

Orta katmanın oluşturulmasında kullanılacak olan aljinat köpüğün sitotoksite testi gerçekleştirilmiştir. ISO 10993-5 standardına göre gerçekleştirilen MTT test sonucuna göre farklı derişimlerde köpük yapıların yer aldığı ortamlarda ekilen hücreler ile etkileştirilen köpük yapı ekstraktlarının hücre canlılığına etkilerinin sonucu Şekil 4.13'te verilmiştir. Buna göre 0.125 mg/ml derişimindeki örneklerde hücre canlılığı değerlerinin yaklaşık %100'e yakın olduğu ve biyolojik uyumluluğun yüksek bir değerde olduğu görülmektedir. Derişimin artırılarak yapıldığı deneylerde hücre canlılığı değerlerinin bir miktar azaldığı

ancak en düşük derişim değerinin yaklaşık sekiz katına çıkarıldığında dahi hücre canlılığı değerlerinin %65 ve üzerinde olduğu görölmektedir. Bu nedenle aljinat köpüğün sitotoksosite potansiyelinin düşük olduğu ve biyolojik olarak uyumlu olduğu görölmektedir.



Şekil 4.13. Aljinat köpük yapısının MTT test grafiği

5. SONUÇLAR

Sunulan tez kapsamında; çok katmanlı ve her katmanın farklı fonksiyonlara sahip olduğu diyabetik yaraların tedavisinde kullanılmak üzere yara örtüsü malzemesi geliştirilmiştir. Yara örtüsü geliştirilirken iki farklı ana yöntem kullanılmıştır; elektroegirme ile nanofiber yapılar oluşturulmuş ve kriyojel matrix formun eldesi için dondurarak kurutma yöntemi uygulanmıştır. Tedavi etkinliğinin artırılması için orta katman ve alt katmana etken maddeler yüklenerek lokal salımı gerçekleştirilmiştir.

Elektroegirme yöntemi kullanılarak oluşturulan üst katman yara örtüsünün kararlı kalabilmesi ve koruyucu katman olarak hazırlanmıştır. Optimizasyon çalışmalarında %15 (w/v) oranının altında ve üstünde bir konsantrasyonda stabil bir fiber formu yakalanamadığı için çalışmalara %15 (w/v) ile devam edilmiştir. 13 cm enjektör ve kollektör arası mesafesi, 0.5 ml/h akış hızı, kollektör tipi olarak alüminyum folyo ve 15kV potansiyel uygulanarak 2 saat boyunca oluşturulan nanofiber yapıların SEM görüntülerinden de anlaşılacağı üzere boncuksuz, kopmaların olmadığı, düzenli ve 1500x büyütme de bile pürüzsüz yapıların elde edildiği görülmektedir.

Orta katmanın hazırlanmasında kriyojel matrix oluşturularak dondurularak kurutma işlemi uygulanmıştır. Aljinat, kondroitin sülfat katkılı metformin yüklü köpük yapı oluşturulmuştur. %1, %3, %5 (w/v) konsantrasyonlarına sahip yapıların optimizasyon çalışmasında %1 (w/v)'in oldukça kırılğan, %5 (w/v)'in fazla sert bir yapı olmasından dolayı diğer deneysel kısımlara %3 (w/v) konsantrasyon ile devam edilmiştir. Sem görüntülerinden oldukça fazla mikro seviyede gözeneklere sahip olduğu görülmüştür. %3 (w/v)'lük yapının farklı çapraz bağlanma süresine bağlı su alım kapasitesi değerlendirilmiştir. En yüksek su alımının en az süre boyunca çapraz bağlanmış 2 saate ait olduğu ve 60.dakikadaki %1430 değerindeki yüksek su alım kapasitesi ile fazla sıvı drenajına sahip yaralarda exudanın emilimini rahatça sağlayabileceği sonucuna ulaşılmıştır. Aljinat köpüğe ait biyolojik uyumluluk(sitotoksosite) testi uygulanmıştır ve derişimin artırılarak yapıldığı deneylerde 0.125 mg/ml derişimindeki örneklerde hücre canlılığı değerlerinin yaklaşık %100'e yakın olduğu görülmüştür. Derişimin artırılarak yapıldığı deneylerde hücre canlılığı değerlerinin bir miktar azaldığı ancak en düşük derişim değerinin yaklaşık sekiz katına çıkarıldığında dahi hücre canlılığı değerlerinin %65 ve üzerinde olduğu görülmektedir. Bu nedenle aljinat köpüğün sitotoksosite potansiyelinin düşük olduğu ve biyolojik olarak uyumlu olduğu görülmektedir. SA:CS 1:1 v/v ve, SA:Met oranı (1:0.5, 1:0.25, 1:0.125) v/v oranları ayarlanarak metformin konsantrasyonuna bağlı salım deneyi ve sıcaklık artışına bağlı salım

gerçekleştirilmiştir. İlaç miktarının çok olduğu SA:Met 1:0.5 yapıdan daha fazla salım gerçekleşmişken, ilaç miktarı azaldıkça salımında düştüğü sonucu elde edilmiştir. Sistemik alınan ilaçlara göre biyoyararlanımı daha fazla olan lokal uygulama ile ilacın miktarı belirlenerek yaralı bölgeye kontrollü salım yapılabileceği sonucuna ulaşılmıştır. Sıcaklık değişimi ile ilaç salımının arttığı kanıtlanmıştır. 25°C ve 37°C’de yapılan salım deneyinde, sıcaklık arttıkça salımın arttığı görülmüştür. Bu da olası bir enflamasyon durumunda yara bölgesinde artan sıcaklığa bağlı sıcaklık duyarlı bir salımın gerçekleştirilebileceği görülmüştür.

Yaraya temas edecek alt katman için elektroçirme ile nanofiber yapılar elde edilmiştir. Üst katman oluşturulurken kullanılan parametreler aynen uygulanmıştır. Enfeksiyon başlangıcı ve ilerlemesine bağlı olarak değişen pH değerlerine duyarlı partikül sistemleri oluşturularak nanofiber yapılara dahil edilmiştir. Gentamisin ve siprofloksasin yüklü PDA MNPs sistemi ilaç salım mekanizması, PDA’nın asidik bir pH’de yapısal değişikliğe uğraması ve bünyesindeki ilacı salması ile açıklanmıştır. Hem gentamisin hem de siprofloksasin asidik pH:4’te daha fazla salınmış, pH arttıkça salım azalmıştır. Enfeksiyonun arttığı, yaranın kronikleştiği evrede ise yaranın pH değeri artmaktadır, bu nedenle siprofloksasin yüklü BSA MNPs sistemleri oluşturulmuş ve alkalın pH değerlerinde salımın arttığı gözlemlenmiştir. Etkin maddenin formülasyona dahil edildiği ve emdirildiği her iki yapıda da pH değeri arttıkça salım artmıştır. pH:4 değerinde salım PDA MNPs’nin tersine azdır ve pH değeri arttıkça siprofloksasin salımı artmıştır.

Sonuç olarak hem sıcaklık değişimine hem de pH değişimine duyarlı çok katmalı akıllı yara örtüsü malzemesinin üretilmesi gerçekleştirilmiştir.

KAYNAKLAR

- [1] J. Banerjee and C. K. Sen, "Skin Wound Healing," *MicroRNA in Regenerative Medicine*, pp. 631–651, Jan. 2015, doi: 10.1016/B978-0-12-405544-5.00024-1.
- [2] I. C. Mackenzie, "Ordered Structure of The Epidermis," *Journal of Investigative Dermatology*, vol. 65, no. 1, pp. 45–51, Jul. 1975, doi: 10.1111/1523-1747.EP12598037.
- [3] D. Breitkreutz, N. Mirancea, and R. Nischt, "Basement membranes in skin: Unique matrix structures with diverse functions?," *Histochem Cell Biol*, vol. 132, no. 1, pp. 1–10, Jul. 2009, doi: 10.1007/S00418-009-0586-0/FIGURES/5.
- [4] J. Y. Lin and D. E. Fisher, "Melanocyte biology and skin pigmentation," *Nature 2007 445:7130*, vol. 445, no. 7130, pp. 843–850, Feb. 2007, doi: 10.1038/nature05660.
- [5] S. S. Sulaimon and B. E. Kitchell, "The biology of melanocytes," *Vet Dermatol*, vol. 14, no. 2, pp. 57–65, Apr. 2003, doi: 10.1046/J.1365-3164.2003.00327.X.
- [6] R. J. B. Cordero and A. Casadevall, "Melanin," *Curr Biol*, vol. 30, no. 4, pp. R142–R143, Feb. 2020, doi: 10.1016/J.CUB.2019.12.042.
- [7] Y.-Y.; Chen *et al.*, "Recognition of Melanocytes in Immuno-Neuroendocrinology and Circadian Rhythms: Beyond the Conventional Melanin Synthesis," *Cells 2022, Vol. 11, Page 2082*, vol. 11, no. 13, p. 2082, Jun. 2022, doi: 10.3390/CELLS11132082.
- [8] M. Merad, F. Ginhoux, and M. Collin, "Origin, homeostasis and function of Langerhans cells and other langerin-expressing dendritic cells," *Nature Reviews Immunology 2008 8:12*, vol. 8, no. 12, pp. 935–947, Dec. 2008, doi: 10.1038/nri2455.
- [9] E. Dellambra and G. P. Dimri, "Cellular Senescence and Skin Aging," *Skin Aging Handbook*, pp. 129–148, 2009, doi: 10.1016/B978-0-8155-1584-5.50011-9.
- [10] G. S. Lazarus *et al.*, "Definitions and guidelines for assessment of wounds and evaluation of healing," 1994.

- [11] A. Vasconcelos and A. Cavaco-Paulo, “Wound dressings for a proteolytic-rich environment,” *Applied Microbiology and Biotechnology*, vol. 90, no. 2. Springer Verlag, pp. 445–460, 2011. doi: 10.1007/s00253-011-3135-4.
- [12] S. Rajendran and S. C. Anand, “Hi-tech textiles for interactive wound therapies,” *Handbook of Medical Textiles*, pp. 38–79, Jan. 2011, doi: 10.1533/9780857093691.1.38.
- [13] T. Mustoe, “Understanding chronic wounds: a unifying hypothesis on their pathogenesis and implications for therapy,” *The American Journal of Surgery*, vol. 187, no. 5, pp. S65–S70, May 2004, doi: 10.1016/S0002-9610(03)00306-4.
- [14] K. Moreo, “Understanding and overcoming the challenges of effective case management for patients with chronic wounds,” *Case Manager*, vol. 16, no. 2, pp. 62–67, Mar. 2005, doi: 10.1016/J.CASEMGR.2005.01.014.
- [15] M. Irfan-maqsood, “Classification of Wounds: Know before Research and Clinical Practice,” *Journal of Genes and Cells*, vol. 4, p. 1, Jan. 2018, doi: 10.15562/gnc.61.
- [16] D. R. Whiting, L. Guariguata, C. Weil, and J. Shaw, “IDF Diabetes Atlas: Global estimates of the prevalence of diabetes for 2011 and 2030,” *Diabetes Res Clin Pract*, vol. 94, no. 3, pp. 311–321, Dec. 2011, doi: 10.1016/J.DIABRES.2011.10.029.
- [17] A. D. Association, “Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus,” *Diabetes Care*, vol. 37, no. Supplement_1, pp. S81–S90, Jan. 2014, doi: 10.2337/DC14-S081.
- [18] S. A. Shah *et al.*, “Biopolymer-based biomaterials for accelerated diabetic wound healing: A critical review,” *International Journal of Biological Macromolecules*, vol. 139. Elsevier B.V., pp. 975–993, Oct. 15, 2019. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2019.08.007.
- [19] K. Bakker, W. H. van Houtum, and P. C. Riley, “2005: The International Diabetes Federation Focuses on the Diabetic Foot,” *Curr Diab Rep.*, 2005, doi: 10.1007/s11892-005-0051-y

- [20] A. I. Adler, E. J. Boyko, J. H. Ahroni, and D. G. Smith, "Lower-extremity amputation in diabetes. The independent effects of peripheral vascular disease, sensory neuropathy, and foot ulcers.," *Diabetes Care*, vol. 22, no. 7, pp. 1029–1035, Jul. 1999, doi: 10.2337/DIACARE.22.7.1029.
- [21] A. Alavi *et al.*, "Diabetic foot ulcers: Part I. Pathophysiology and prevention," *Journal of the American Academy of Dermatology*, vol. 70, no. 1. Mosby Inc., pp. 1.e1-1.e18, 2014. doi: 10.1016/j.jaad.2013.06.055.
- [22] D. G. Armstrong, A. J. M. Boulton, and S. A. Bus, "Diabetic Foot Ulcers and Their Recurrence," *New England Journal of Medicine*, vol. 376, no. 24, pp. 2367–2375, Jun. 2017, doi: 10.1056/nejmra1615439.
- [23] H. Y. Tang, A. J. Jiang, J. L. Ma, F. J. Wang, and G. M. Shen, "Understanding the Signaling Pathways Related to the Mechanism and Treatment of Diabetic Peripheral Neuropathy," *Endocrinology*, vol. 160, no. 9, pp. 2119–2127, Sep. 2019, doi: 10.1210/EN.2019-00311.
- [24] A. Perez-Favila *et al.*, "Current therapeutic strategies in diabetic foot ulcers," *Medicina (Lithuania)*, vol. 55, no. 11. MDPI AG, Nov. 01, 2019. doi: 10.3390/medicina55110714.
- [25] S. Bartkoski and M. Day, "Alpha-Lipoic Acid for Treatment of Diabetic Peripheral Neuropathy," vol. 93, 2016.
- [26] R. H. Dworkin *et al.*, "Pharmacologic management of neuropathic pain: Evidence-based recommendations," *Pain*, vol. 132, no. 3. pp. 237–251, Dec. 05, 2007. doi: 10.1016/j.pain.2007.08.033.
- [27] Y. Wu, L. Chen, P. G. Scott, and E. E. Tredget, "Mesenchymal Stem Cells Enhance Wound Healing Through Differentiation and Angiogenesis," *Stem Cells*, vol. 25, no. 10, pp. 2648–2659, Oct. 2007, doi: 10.1634/STEMCELLS.2007-0226.

- [28] C. Oses *et al.*, “Preconditioning of adipose tissue-derived mesenchymal stem cells with deferoxamine increases the production of pro-angiogenic, neuroprotective and anti-inflammatory factors: Potential application in the treatment of diabetic neuropathy,” *PLoS One*, vol. 12, no. 5, May 2017, doi: 10.1371/journal.pone.0178011.
- [29] L. Uccioli, M. Meloni, V. Izzo, L. Giurato, S. Merolla, and R. Gandini, “Critical limb ischemia: Current challenges and future prospects,” *Vascular Health and Risk Management*, vol. 14. Dove Medical Press Ltd., pp. 63–74, May 26, 2018. doi: 10.2147/VHRM.S125065.
- [30] J. Liu *et al.*, “Ozone therapy for treating foot ulcers in people with diabetes,” *Cochrane Database of Systematic Reviews*, vol. 2015, no. 10, Oct. 2015, doi: 10.1002/14651858.CD008474.pub2.
- [31] C. Gatti, S. Cecchini, P. Fabbietti, F. Romagnoli, and S. Ricci, “Endovascular treatment of diabetic peripheral arterial disease in older and oldest old patients: a retrospective study,” *Aging Clin Exp Res*, vol. 30, no. 2, pp. 205–207, Feb. 2018, doi: 10.1007/S40520-017-0760-5/TABLES/1.
- [32] S. Chhabra, N. Chhabra, A. Kaur, and N. Gupta, “Wound Healing Concepts in Clinical Practice of OMFS,” *J Maxillofac Oral Surg*, vol. 16, no. 4, pp. 403–423, Dec. 2017, doi: 10.1007/S12663-016-0880-Z/FIGURES/2.
- [33] C. Hirche *et al.*, “Eschar removal by bromelain based enzymatic debridement (Nexobrid®) in burns: An European consensus,” *Burns*, vol. 43, no. 8, pp. 1640–1653, Dec. 2017, doi: 10.1016/J.BURNS.2017.07.025.
- [34] A. Piaggese *et al.*, “Comparison of Removable and Irremovable Walking Boot to Total Contact Casting in Offloading the Neuropathic Diabetic Foot Ulceration,” *Foot Ankle Int*, vol. 37, no. 8, pp. 855–861, Aug. 2016, doi: 10.1177/1071100716643429/ASSET/IMAGES/LARGE/10.1177_1071100716643429-FIG2.JPEG.

- [35] P. M. G. Filius and I. C. Gyssens, “Impact of increasing antimicrobial resistance on wound management,” *Am J Clin Dermatol*, vol. 3, no. 1, pp. 1–7, Aug. 2002, doi: 10.2165/00128071-200203010-00001/FIGURES/TAB3.
- [36] B. A. Lipsky, K. J. Holroyd, and M. Zasloff, “Topical versus systemic antimicrobial therapy for treating mildly infected diabetic foot ulcers: A randomized, controlled, double-blinded, multicenter trial of pexiganan cream,” *Clinical Infectious Diseases*, vol. 47, no. 12, pp. 1537–1545, Dec. 2008, doi: 10.1086/593185/2/47-12-1537-TBL005.GIF.
- [37] A. Kaviani *et al.*, “A randomized clinical trial on the effect of low-level laser therapy on chronic diabetic foot wound healing: A preliminary report,” *Photomed Laser Surg*, vol. 29, no. 2, pp. 109–114, Feb. 2011, doi: 10.1089/pho.2009.2680.
- [38] J. de Alencar Fonseca Santos, M. B. Di. Campelo, R. A. de Oliveira, R. A. Nicolau, V. E. A. Rezende, and E. Â. L. Arisawa, “Effects of low-power light therapy on the tissue repair process of chronic wounds in diabetic feet,” *Photomed Laser Surg*, vol. 36, no. 6, pp. 298–304, Jun. 2018, doi: 10.1089/pho.2018.4455.
- [39] S. Tejiram, S. L. Kavalukas, J. W. Shupp, and A. Barbul, “Wound healing,” *Wound Healing Biomaterials*, vol. 1, pp. 3–39, Jan. 2016, doi: 10.1016/B978-1-78242-455-0.00001-X.
- [40] I. de Luca *et al.*, “Nanotechnology Development for Formulating Essential Oils in Wound Dressing Materials to Promote the Wound-Healing Process: A Review,” *Applied Sciences 2021, Vol. 11, Page 1713*, vol. 11, no. 4, p. 1713, Feb. 2021, doi: 10.3390/APP11041713.
- [41] L. Cañedo-Dorantes and M. Cañedo-Ayala, “Skin Acute Wound Healing: A Comprehensive Review,” *Int J Inflam*, vol. 2019, 2019, doi: 10.1155/2019/3706315.
- [42] S. F. Spampinato, G. I. Caruso, R. de Pasquale, M. A. Sortino, and S. Merlo, “The Treatment of Impaired Wound Healing in Diabetes: Looking among Old Drugs,” *Pharmaceuticals*, vol. 13, no. 4, Apr. 2020, doi: 10.3390/PH13040060.

- [43] S. J. Leibovich and R. Ross, "The role of the macrophage in wound repair. A study with hydrocortisone and antimacrophage serum.," *Am J Pathol*, vol. 78, no. 1, p. 71, 1975, Accessed: Jan. 01, 2023. [Online]. Available: [/pmc/articles/PMC1915032/?report=abstract](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/1915032/)
- [44] T. Velnar, T. Bailey, and V. Smrkolj, "The Wound Healing Process: An Overview of the Cellular and Molecular Mechanisms," *Journal of International Medical Research*, vol. 37, no. 5, pp. 1528–1542, Oct. 2009, doi: 10.1177/147323000903700531.
- [45] K. Haukipuro, J. Melkko, L. Risteli, M. I. Kairaluoma, and J. Risteli, "Synthesis of type I collagen in healing wounds in humans.," *Ann Surg*, vol. 213, no. 1, p. 75, 1991, doi: 10.1097/00000658-199101000-00013.
- [46] C. Erem *et al.*, "Coagulation and Fibrinolysis Parameters in Type 2 Diabetic Patients with and without Diabetic Vascular Complications," *Medical Principles and Practice*, vol. 14, no. 1, pp. 22–30, 2005, doi: 10.1159/000081919.
- [47] L. Pradhan, C. Nabzdyk, N. D. Andersen, F. W. LoGerfo, and A. Veves, "Inflammation and neuropeptides: the connection in diabetic wound healing," *Expert Rev Mol Med*, vol. 11, p. e2, Dec. 2009, doi: 10.1017/S1462399409000945.
- [48] R. Katari, A. Peloso, and G. Orlando, "Tissue Engineering and Regenerative Medicine: Semantic Considerations for an Evolving Paradigm," *Front Bioeng Biotechnol*, vol. 2, Jan. 2014, doi: 10.3389/FBIOE.2014.00057.
- [49] P. H. Joon, D. J. Heun, and W. K. Yun, "Recombinant human epidermal growth factor (EGF) to enhance healing for diabetic foot ulcers," *Ann Plast Surg*, vol. 56, no. 4, pp. 394–398, Apr. 2006, doi: 10.1097/01.sap.0000198731.12407.0c.
- [50] S. Alven, S. Peter, Z. Mbese, and B. A. Aderibigbe, "Polymer-Based Wound Dressing Materials Loaded with Bioactive Agents: Potential Materials for the Treatment of Diabetic Wounds," *Polymers 2022, Vol. 14, Page 724*, vol. 14, no. 4, p. 724, Feb. 2022, doi: 10.3390/POLYM14040724.

- [51] E. Gianino, C. Miller, and J. Gilmore, "Smart Wound Dressings for Diabetic Chronic Wounds," *Bioengineering 2018*, Vol. 5, Page 51, vol. 5, no. 3, p. 51, Jun. 2018, doi: 10.3390/BIOENGINEERING5030051.
- [52] J. B. Shah, "The History of Wound Care," *J Am Col Certif Wound Spec*, vol. 3, no. 3, p. 65, 2011, doi: 10.1016/J.JCWS.2012.04.002.
- [53] S. Dhivya, V. V. Padma, and E. Santhini, "Wound dressings – a review," *Biomedicine (Taipei)*, vol. 5, no. 4, pp. 24–28, Dec. 2015, doi: 10.7603/S40681-015-0022-9.
- [54] G. Broughton, J. E. Janis, and C. E. Attinger, "A brief history of wound care," *Plastic and Reconstructive Surgery*, vol. 117, no. 7 SUPPL. Jun. 2006. doi: 10.1097/01.prs.0000225429.76355.dd.
- [55] J. S. Boateng, K. H. Matthews, H. N. E. Stevens, and G. M. Eccleston, "Wound healing dressings and drug delivery systems: A review," *Journal of Pharmaceutical Sciences*, vol. 97, no. 8. John Wiley and Sons Inc., pp. 2892–2923, 2008. doi: 10.1002/jps.21210.
- [56] R. Dong and B. Guo, "Smart wound dressings for wound healing," *Nano Today*, vol. 41, p. 101290, Dec. 2021, doi: 10.1016/J.NANTOD.2021.101290.
- [57] K. C. Broussard and J. G. Powers, "Wound dressings: Selecting the most appropriate type," *Am J Clin Dermatol*, vol. 14, no. 6, pp. 449–459, Dec. 2013, doi: 10.1007/S40257-013-0046-4/FIGURES/2.
- [58] M. H. Schmid-Wendtner and H. C. Korting, "The pH of the skin surface and its impact on the barrier function," *Skin Pharmacology and Physiology*, vol. 19, no. 6. pp. 296–302, Nov. 2006. doi: 10.1159/000094670.
- [59] L. A. Schneider, A. Korber, S. Grabbe, and J. Dissemond, "Influence of pH on wound-healing: A new perspective for wound-therapy?," *Arch Dermatol Res*, vol. 298, no. 9, pp. 413–420, Feb. 2007, doi: 10.1007/S00403-006-0713-X/FIGURES/2.

- [60] L. Altomare *et al.*, “Biopolymer-based strategies in the design of smart medical devices and artificial organs,” *International Journal of Artificial Organs*, vol. 41, no. 6, pp. 337–359, Apr. 2018, doi: 10.1177/0391398818765323/ASSET/IMAGES/LARGE/10.1177_0391398818765323-FIG2.JPEG.
- [61] S. L. Percival, S. McCarty, J. A. Hunt, and E. J. Woods, “The effects of pH on wound healing, biofilms, and antimicrobial efficacy,” *Wound Repair and Regeneration*, vol. 22, no. 2, pp. 174–186, Mar. 2014, doi: 10.1111/WRR.12125.
- [62] G. Kiaee, P. Mostafalu, M. Samandari, and S. Sonkusale, “A pH-Mediated Electronic Wound Dressing for Controlled Drug Delivery,” *Adv Healthc Mater*, vol. 7, no. 18, p. 1800396, Sep. 2018, doi: 10.1002/ADHM.201800396.
- [63] N. Ninan, A. Forget, V. P. Shastri, N. H. Voelcker, and A. Blencowe, “Antibacterial and Anti-Inflammatory pH-Responsive Tannic Acid-Carboxylated Agarose Composite Hydrogels for Wound Healing,” *ACS Appl Mater Interfaces*, vol. 8, no. 42, pp. 28511–28521, Oct. 2016, doi: 10.1021/acsami.6b10491.
- [64] A. S. Montaser, M. Rehan, and M. E. El-Naggar, “pH-Thermosensitive hydrogel based on polyvinyl alcohol/sodium alginate/N-isopropyl acrylamide composite for treating re-infected wounds,” *Int J Biol Macromol*, vol. 124, pp. 1016–1024, Mar. 2019, doi: 10.1016/J.IJBIOMAC.2018.11.252.
- [65] H. Cho, M. R. Blatchley, E. J. Duh, and S. Gerecht, “Acellular and cellular approaches to improve diabetic wound healing,” *Adv Drug Deliv Rev*, vol. 146, pp. 267–288, Jun. 2019, doi: 10.1016/J.ADDR.2018.07.019.
- [66] L. Zhao, L. Niu, H. Liang, H. Tan, C. Liu, and F. Zhu, “PH and Glucose Dual-Responsive Injectable Hydrogels with Insulin and Fibroblasts as Bioactive Dressings for Diabetic Wound Healing,” *ACS Appl Mater Interfaces*, vol. 9, no. 43, pp. 37563–37574, Nov. 2017, doi: 10.1021/acsami.7b09395.

- [67] T. Yoshitomi and Y. Nagasaki, "Reactive Oxygen Species-Scavenging Nanomedicines for the Treatment of Oxidative Stress Injuries," *Adv Healthc Mater*, vol. 3, no. 8, pp. 1149–1161, Aug. 2014, doi: 10.1002/ADHM.201300576.
- [68] C. Dunnill *et al.*, "Reactive oxygen species (ROS) and wound healing: the functional role of ROS and emerging ROS-modulating technologies for augmentation of the healing process," *Int Wound J*, vol. 14, no. 1, pp. 89–96, Feb. 2017, doi: 10.1111/iwj.12557.
- [69] P. le Thi *et al.*, "In situ forming and reactive oxygen species-scavenging gelatin hydrogels for enhancing wound healing efficacy," *Acta Biomater*, vol. 103, pp. 142–152, Feb. 2020, doi: 10.1016/J.ACTBIO.2019.12.009.
- [70] A. K. Gaharwar, I. Singh, and A. Khademhosseini, "Engineered biomaterials for in situ tissue regeneration," *Nature Reviews Materials* 2020 5:9, vol. 5, no. 9, pp. 686–705, Jul. 2020, doi: 10.1038/s41578-020-0209-x.
- [71] Ş. Yılmaz Güven, "Biyouyumluluk Ve Biyomalzemelerin Seçimi," *Mühendislik Bilimleri ve Tasarım Dergisi*, vol. 2, no. 3, pp. 303–311, Dec. 2014.
- [72] Mushollaeni W, "The physicochemical characteristics of sodium alginate from Indonesian brown seaweeds," *African Journal of Food Science*, vol. 5, no. 6, pp. 349–352, 2011.
- [73] A. Barbu, M. B. Neamtu, M. Zăhan, and V. Mireşan, "Trends in alginate-based films and membranes for wound healing," *Romania. All rights reserved Rom Biotechnol Lett*, vol. 25, no. 4, pp. 1683–1689, 2020, doi: 10.25083/rbl/25.4/1683.1689.
- [74] S. H. Ching, N. Bansal, and B. Bhandari, "Alginate gel particles—A review of production techniques and physical properties," vol. 57, no. 6, pp. 1133–1152, Apr. 2017, doi: 10.1080/10408398.2014.965773.
- [75] Y. Liang *et al.*, "Algal Biorefineries," in *Industrial Biorefineries and White Biotechnology*, Elsevier, 2015, pp. 35–90. doi: 10.1016/B978-0-444-63453-5.00002-1.

- [76] O. Smidsr and G. Skj, “Alginate as immobilization matrix for cells,” 1990.
- [77] T. L. da Silva, J. M. M. Vidart, M. G. C. da Silva, M. L. Gimenes, and M. G. A. Vieira, “Alginate and Sericin: Environmental and Pharmaceutical Applications,” in *Biological Activities and Application of Marine Polysaccharides*, InTech, 2017. doi: 10.5772/65257.
- [78] S. Leick, S. Henning, P. Degen, D. Suter, and H. Rehage, “Deformation of liquid-filled calcium alginate capsules in a spinning drop apparatus,” *Physical Chemistry Chemical Physics*, vol. 12, no. 12, pp. 2950–2958, 2010, doi: 10.1039/b921116k.
- [79] K. Y. Lee and D. J. Mooney, “Alginate: Properties and biomedical applications,” *Prog Polym Sci*, vol. 37, no. 1, pp. 106–126, Jan. 2012, doi: 10.1016/J.PROGPOLYMSCI.2011.06.003.
- [80] M. Maaz Arif *et al.*, “Polymer-based biomaterials for chronic wound management: Promises and challenges,” *International Journal of Pharmaceutics*, vol. 598. Elsevier B.V., Apr. 01, 2021. doi: 10.1016/j.ijpharm.2021.120270.
- [81] K. Varaprasad, T. Jayaramudu, V. Kanikireddy, C. Toro, and E. R. Sadiku, “Alginate-based composite materials for wound dressing application:A mini review,” *Carbohydr Polym*, vol. 236, p. 116025, May 2020, doi: 10.1016/J.CARBPOL.2020.116025.
- [82] T. G. Sahana and P. D. Rekha, “Biopolymers: Applications in wound healing and skin tissue engineering,” *Mol Biol Rep*, vol. 45, no. 6, pp. 2857–2867, Dec. 2018, doi: 10.1007/S11033-018-4296-3/TABLES/2.
- [83] D. Üner Bahar, Y. İyileştirme, Ö. Polimerlerin, Y. Örtülerinde, K. Duygu, and Ü. Bahar, “Yara İyileştirme Özellikli Polimerlerin Yara Örtülerinde Kullanımı,” *İstanbul Gelişim Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, vol. 13, no. 13, pp. 157–181, Apr. 2021, doi: 10.38079/IGUSABDER.857250.

- [84] B. A. Aderibigbe and B. Buyana, “Alginate in Wound Dressings,” *Pharmaceutics*, vol. 10, no. 2, Jun. 2018, doi: 10.3390/PHARMACEUTICS10020042.
- [85] “ALGICELL® Alginate Wound Dressings | Wound Care Alginate Dressing Products.” woundsourc.com/product/algicell-alginate-wound-dressings (accessed Jan. 01, 2023).
- [86] “ALGISITE® M Calcium Alginate Dressing | Wound Care Product.” woundsourc.com/product/algisite-m-calcium-alginate-dressing (accessed Jan. 01, 2023).
- [87] “KALTOSTAT Alginate Dressing.” woundsourc.com/product/kaltostat-alginate-dressing (accessed Jan. 06, 2023).
- [88] O.’ Meara, M.-S. James, and A. Uj, “Alginate dressings for venous leg ulcers (Review),” 2015, doi: 10.1002/14651858.CD010182.pub3.
- [89] “3M 90220- DRESSING ALGINATE TEGAGEN ROPE 5/BX 4BX/CA - CIA Medical.” ciamedical.com/3m-90220-case-dressing-alginate-tegagen-rope-5-bx-4bx-ca (Accessed Jan. 01, 2023).
- [90] “3M™ Fibracol™ Plus Collagen Wound Dressing with Alginate.” woundsourc.com/product/3m-fibracol-plus-collagen-wound-dressing-alginate (Accessed Jan. 01, 2023).
- [91] “Algivon - Activon - Manuka Honey dressings.” uk.advancismedical.com/products/activon-manuka-honey/algivon (accessed Jan. 06, 2023).
- [92] S. Yamada, K. Sugahara, and S. Özbek, “Evolution of glycosaminoglycans,” *Commun Integr Biol*, vol. 4, no. 2, pp. 150–158, Mar. 2011, doi: 10.4161/CIB.4.2.14547.

- [93] H. J. Kwon and Y. Han, "Chondroitin sulfate-based biomaterials for tissue engineering," *Turkish Journal of Biology*, vol. 40, no. 2, pp. 290–299, Jan. 2016, doi: 10.3906/biy-1507-16.
- [94] A. F. Amhare, J. Lei, H. Deng, Y. Lv, J. Han, and L. Zhang, "Biomedical application of chondroitin sulfate with nanoparticles in drug delivery systems: systematic review," vol. 29, no. 3, pp. 259–268, 2020, doi: 10.1080/1061186X.2020.1833018.
- [95] G. Sharma and D. S. Rathore, "Potential Role of Nutraceuticals in the Management of Knee and Hip Joint Osteoarthritis," *Biomedical Science and Engineering*, Vol. 3, 2015, Pages 23-29, vol. 3, no. 1, pp. 23–29, Jun. 2015, doi: 10.12691/BSE-3-1-5.
- [96] T. Ponrasu and L. Suguna, "Efficacy of *Annona squamosa* L in the Synthesis of Glycosaminoglycans and Collagen during Wound Repair in Streptozotocin Induced Diabetic Rats," 2014, doi: 10.1155/2014/124352.
- [97] A. Siméon, Y. Wegrowski, Y. Bontemps, and F. X. Maquart, "Expression of Glycosaminoglycans and Small Proteoglycans in Wounds: Modulation by the Tripeptide–Copper Complex Glycyl-L-Histidyl-L-Lysine-Cu²⁺," *Journal of Investigative Dermatology*, vol. 115, no. 6, pp. 962–968, Dec. 2000, doi: 10.1046/J.1523-1747.2000.00166.X.
- [98] J. Kreuger, D. Spillmann, J. P. Li, and U. Lindahl, "Interactions between heparan sulfate and proteins: the concept of specificity," *J Cell Biol*, vol. 174, no. 3, p. 323, Jul. 2006, doi: 10.1083/JCB.200604035.
- [99] V. Hintze *et al.*, "Sulfated hyaluronan and chondroitin sulfate derivatives interact differently with human transforming growth factor-b1 (TGF-b1)," 2012, doi: 10.1016/j.actbio.2012.03.021.
- [100] S. A. Shah, M. Sohail, S. A. Khan, and M. Kousar, "Improved drug delivery and accelerated diabetic wound healing by chondroitin sulfate grafted alginate-based thermoreversible hydrogels," *Materials Science and Engineering: C*, vol. 126, p. 112169, Jul. 2021, doi: 10.1016/J.MSEC.2021.112169.

- [101] X. H. Zou, Y. Z. Jiang, G. R. Zhang, H. M. Jin, N. T. M. Hieu, and H. W. Ouyang, "Specific interactions between human fibroblasts and particular chondroitin sulfate molecules for wound healing," *Acta Biomater*, vol. 5, no. 5, pp. 1588–1595, Jun. 2009, doi: 10.1016/J.ACTBIO.2008.12.001.
- [102] C. Cintron, J. D. Gregory, j-S. P. Damle, and C. L. Kublin, "Biochemical Analyses of Proteoglycans in Rabbit Corneal Scars," 1990.
- [103] S. Selvaraj and N. N. Fathima, "Fenugreek Incorporated Silk Fibroin Nanofibers - A Potential Antioxidant Scaffold for Enhanced Wound Healing," *ACS Appl Mater Interfaces*, vol. 9, no. 7, pp. 5916–5926, Feb. 2017, doi: 10.1021/acsami.6b16306.
- [104] D. Chouhan and B. B. Mandal, "Silk biomaterials in wound healing and skin regeneration therapeutics: From bench to bedside," *Acta Biomater*, vol. 103, pp. 24–51, Feb. 2020, doi: 10.1016/J.ACTBIO.2019.11.050.
- [105] M. Gholipourmalekabadi, S. Sapru, A. Samadikuchaksaraei, R. L. Reis, D. L. Kaplan, and S. C. Kundu, "Silk fibroin for skin injury repair: Where do things stand?," *Adv Drug Deliv Rev*, vol. 153, pp. 28–53, Jan. 2020, doi: 10.1016/J.ADDR.2019.09.003.
- [106] P. P. Patil, M. R. Reagan, and R. A. Bohara, "Silk fibroin and silk-based biomaterial derivatives for ideal wound dressings," *Int J Biol Macromol*, vol. 164, pp. 4613–4627, Dec. 2020, doi: 10.1016/J.IJBIOMAC.2020.08.041.
- [107] N. S. Bhise, R. B. Shmueli, J. C. Sunshine, S. Y. Tzeng, and J. J. Green, "Drug delivery strategies for therapeutic angiogenesis and antiangiogenesis," *Expert Opinion on Drug Delivery*, vol. 8, no. 4, pp. 485–504, Apr. 2011. doi: 10.1517/17425247.2011.558082.
- [108] L. Fu, "Delivery Systems in Wound Healing and Nanomedicine," in *Wound Healing - New insights into Ancient Challenges*, InTech, 2016. doi: 10.5772/63763.
- [109] S. Saghadzadeh *et al.*, "Drug Delivery Systems and Materials for Wound Healing Applications," *Adv Drug Deliv Rev*, vol. 127, p. 138, Mar. 2018, doi: 10.1016/J.ADDR.2018.04.008.

- [110] N. Karaca, “Albümin Tabanlı Nano Taşıyıcılar Geliştirilmesi” Yüksek Lisans Tezi, Kimya Anabilim Dalı, Eskişehir Anadolu Üniversitesi, Haziran 2018.
- [111] W. Lohcharoenkal, L. Wang, Y. C. Chen, and Y. Rojanasakul, “Protein Nanoparticles as Drug Delivery Carriers for Cancer Therapy,” *Biomed Res Int*, vol. 2014, 2014, doi: 10.1155/2014/180549.
- [112] B. Yedomon, H. Fessi, and C. Charcosset, “Preparation of Bovine Serum Albumin (BSA) nanoparticles by desolvation using a membrane contactor: A new tool for large scale production,” *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, vol. 85, no. 3, pp. 398–405, Nov. 2013, doi: 10.1016/J.EJPB.2013.06.014.
- [113] J. Y. Jun, H. H. Nguyen, S. Y. R. Paik, H. S. Chun, B. C. Kang, and S. Ko, “Preparation of size-controlled bovine serum albumin (BSA) nanoparticles by a modified desolvation method,” *Food Chem*, vol. 127, no. 4, pp. 1892–1898, Aug. 2011, doi: 10.1016/J.FOODCHEM.2011.02.040.
- [114] A. Jin, Y. Wang, K. Lin, and L. Jiang, “Nanoparticles modified by polydopamine: Working as ‘drug’ carriers,” *Bioact Mater*, vol. 5, no. 3, pp. 522–541, Sep. 2020, doi: 10.1016/J.BIOACTMAT.2020.04.003.
- [115] D. Hauser, D. Septiadi, J. Turner, A. Petri-Fink, and B. Rothen-Rutishauser, “From Bioinspired Glue to Medicine: Polydopamine as a Biomedical Material,” *Materials*, vol. 13, no. 7, Apr. 2020, doi: 10.3390/MA13071730.
- [116] C. C. Ho and S. J. Ding, “Structure, properties and applications of mussel-inspired polydopamine,” *Journal of Biomedical Nanotechnology*, vol. 10, no. 10. American Scientific Publishers, pp. 3063–3084, 2014. doi: 10.1166/jbn.2014.1888.
- [117] I. S. Kwon and C. J. Bettinger, “Polydopamine nanostructures as biomaterials for medical applications,” *J Mater Chem B*, vol. 6, no. 43, pp. 6895–6903, 2018, doi: 10.1039/c8tb02310g.

- [118] Z. Xu, T. Wang, and J. Liu, "Recent Development of Polydopamine Anti-Bacterial Nanomaterials," *International Journal of Molecular Sciences* 2022, Vol. 23, Page 7278, vol. 23, no. 13, p. 7278, Jun. 2022, doi: 10.3390/IJMS23137278.
- [119] M. Bethesda, "Metformin," *LiverTox: Clinical and Research Information on Drug-Induced Liver Injury*, pp. 1–9, Jan. 2020, Accessed: Jan. 05, 2023. [Online]. Available: ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK548726/
- [120] "NCI Thesaurus." ncithesaurus.nci.nih.gov/ncitbrowser/ (accessed Jan. 05, 2023).
- [121] "National Center for Biotechnology Information (2023). PubChem Compound Summary for CID 4091, Metformin. Retrieved January 6, 2023"
- [122]"NCIThesaurus." ncithesaurus.nci.nih.gov/ncitbrowser/ConceptReport.jsp?dictionary=NCI_Thesaurus&ns=ncit&code=C61612 (accessed Jan. 05, 2023).
- [123] "Gentamicin," go.drugbank.com/drugs/DB00798. (Accessed: January 6, 2023)
- [124] "National Center for Biotechnology Information (2023). PubChem Compound Summary for CID 3467, Gentamicin. Retrieved January 6, 2023," pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Gentamicin.
- [125]"CiprofloxacinPatientNIH." clinicalinfo.hiv.gov/en/drugs/ciprofloxacin/patient (accessed Jan. 05, 2023).
- [126] "Ciprofloxacin," *LiverTox: Clinical and Research Information on Drug-Induced Liver Injury*, Feb. 2020, Accessed: Jan. 05, 2023. [Online]. Available: ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK548066/
- [127] "National Center for Biotechnology Information (2023). PubChem Compound Summary for CID 2764, Ciprofloxacin. Retrieved January 6, 2023," pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/Ciprofloxacin.

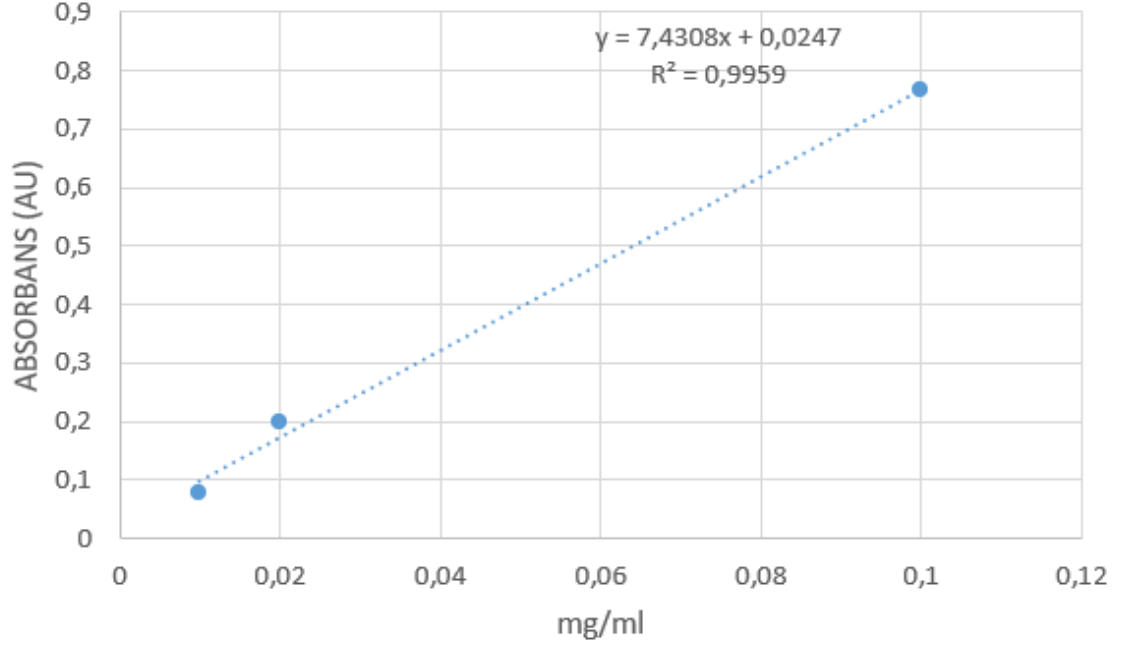
- [128] R. Rasouli *et al.*, “Nanofibers for Biomedical and Healthcare Applications,” *Macromol Biosci*, vol. 19, no. 2, p. 1800256, Feb. 2019, doi: 10.1002/MABI.201800256.
- [129] M. Mohiti-Asli and E. G. Lobo, “Nanofibrous smart bandages for wound care,” *Wound Healing Biomaterials*, vol. 2, pp. 483–499, Jan. 2016, doi: 10.1016/B978-1-78242-456-7.00023-4.
- [130] X. Liu, H. Xu, M. Zhang, and D. G. Yu, “Electrospun Medicated Nanofibers for Wound Healing: Review,” *Membranes (Basel)*, vol. 11, no. 10, Oct. 2021, doi: 10.3390/MEMBRANES11100770.
- [131] Taylor Geoffrey, “Disintegration of water drops in an electric field,” *Proc R Soc Lond A Math Phys Sci*, vol. 280, no. 1382, pp. 383–397, Jul. 1964, doi: 10.1098/rspa.1964.0151.
- [132] R. Jaeger, H. Scho, and G. J. Vancso, “Chain Packing in Electro-Spun Poly(ethylene oxide) Visualized by Atomic Force Microscopy,” 1996.
- [133] N. Bhardwaj and S. C. Kundu, “Electrospinning: A fascinating fiber fabrication technique,” *Biotechnol Adv*, vol. 28, no. 3, pp. 325–347, May 2010, doi: 10.1016/J.BIOTECHADV.2010.01.004.
- [134] A. K. Haghi and M. Akbari, “Trends in electrospinning of natural nanofibers,” in *Physica Status Solidi (A) Applications and Materials Science*, Jun. 2007, vol. 204, no. 6, pp. 1830–1834. doi: 10.1002/pssa.200675301.
- [135] D. Li, Y. Wang, and Y. Xia, “Electrospinning Nanofibers as Uniaxially Aligned Arrays and Layer-by-Layer Stacked Films,” *Advanced Materials*, vol. 16, no. 4, pp. 361–366, Feb. 2004, doi: 10.1002/adma.200306226.
- [136] C. Mit-Uppatham, M. Nithitanakul, and P. Supaphol, “Ultrafine Electrospun Polyamide-6 Fibers: Effect of Solution Conditions on Morphology and Average Fiber Diameter,” *Macromol Chem Phys*, vol. 205, no. 17, pp. 2327–2338, Nov. 2004, doi: 10.1002/MACP.200400225.

- [137] D. Li and Y. Xia, “Electrospinning of nanofibers: Reinventing the wheel?,” *Advanced Materials*, vol. 16, no. 14, pp. 1151–1170, Jul. 19, 2004. doi: 10.1002/adma.200400719.
- [138] E. Yalçın, “Sulardan Ağır Metal Giderimi İçin Nanofibriler Filtrelerin Hazırlanması Ve Karakterizasyonu”, Yüksek Lisans Tezi, Nanoteknoloji ve Nanotıp Anabilim Dalı, Ankara Hacettepe Üniversitesi, 2012.
- [139] W. Zhou *et al.*, “Electrospun scaffolds of silk fibroin and poly(lactide-co-glycolide) for endothelial cell growth,” *J Mater Sci Mater Med*, vol. 26, no. 1, pp. 1–14, Nov. 2015, doi: 10.1007/S10856-015-5386-6/FIGURES/11.
- [140] G. W. Oh, S. Y. Nam, S. J. Heo, D. H. Kang, and W. K. Jung, “Characterization of ionic cross-linked composite foams with different blend ratios of alginate/pectin on the synergistic effects for wound dressing application,” *Int J Biol Macromol*, vol. 156, pp. 1565–1573, Aug. 2020, doi: 10.1016/J.IJBIOMAC.2019.11.206.
- [141] F. Ma, X. Pang, and B. Tang, “Alginate/chondroitin sulfate based hybrid hydrogel with different molecular weight and its capacity to regulate chondrocytes activity,” *Carbohydr Polym*, vol. 206, pp. 229–237, Feb. 2019, doi: 10.1016/J.CARBPOL.2018.10.109.
- [142] R. Batul, M. Bhave, P. J. Mahon, and A. Yu, “Polydopamine Nanosphere with In-Situ Loaded Gentamicin and Its Antimicrobial Activity,” *Molecules 2020*, Vol. 25, Page 2090, vol. 25, no. 9, p. 2090, Apr. 2020, doi: 10.3390/MOLECULES25092090.
- [143] R. Tiwari, K. Viswanathan, V. Gour, S. P. Vyas, and V. Soni, “Cisplatin-loaded albumin nanoparticle and study their internalization effect by using β -cyclodextrin,” vol. 41, no. 4, pp. 393–400, 2020, doi: 10.1080/10799893.2020.1817077.

- [144] F. O. Obiweluozor, G. A. Emechebe, A. P. Tiwari, J. Y. Kim, C. H. Park, and C. S. Kim, “Short duration cancer treatment: inspired by a fast bio-resorbable smart nano-fiber device containing NIR lethal polydopamine nanospheres for effective chemo–photothermal cancer therapy,” *Int J Nanomedicine*, vol. 13, pp. 6375–6390, Oct. 2018, doi: 10.2147/IJN.S180970.
- [145] K. Chen *et al.*, “A novel alginate/gelatin sponge combined with curcumin-loaded electrospun fibers for postoperative rapid hemostasis and prevention of tumor recurrence,” *Int J Biol Macromol*, vol. 182, pp. 1339–1350, Jul. 2021, doi: 10.1016/J.IJBIOMAC.2021.05.074.
- [146] A. SAARAI, v. KASPARKOVA, T. SEDLACEK, and P. SAHA, *A Comparative Study of Crosslinked Sodium Alginate/Gelatin Hydrogels for Wound Dressing*. WSEAS, 2011.
- [147] R. Batul, A. Khaliq, A. Alafnan, M. Bhave, and A. Yu, “Investigation of Gentamicin Release from Polydopamine Nanoparticles,” *Applied Sciences (Switzerland)*, vol. 12, no. 13, p. 6319, Jul. 2022, doi: 10.3390/APP12136319/S1.
- [148] Y. Liu, Q. Fan, Y. Huo, C. Liu, B. Li, and Y. Li, “Construction of a Mesoporous Polydopamine@GO/Cellulose Nanofibril Composite Hydrogel with an Encapsulation Structure for Controllable Drug Release and Toxicity Shielding,” *ACS Appl Mater Interfaces*, vol. 12, no. 51, pp. 57410–57420, Dec. 2020, doi: 10.1021/acsami.0c15465.
- [149] Y. Liu *et al.*, “A physically crosslinked polydopamine/nanocellulose hydrogel as potential versatile vehicles for drug delivery and wound healing,” *Carbohydr Polym*, vol. 188, pp. 27–36, May 2018, doi: 10.1016/j.carbpol.2018.01.093.
- [150] T. N. Pham, C. F. Su, C. C. Huang, and J. S. Jan, “Biomimetic hydrogels based on L-Dopa conjugated gelatin as pH-responsive drug carriers and antimicrobial agents,” *Colloids Surf B Biointerfaces*, vol. 196, Dec. 2020, doi: 10.1016/j.colsurfb.2020.11131

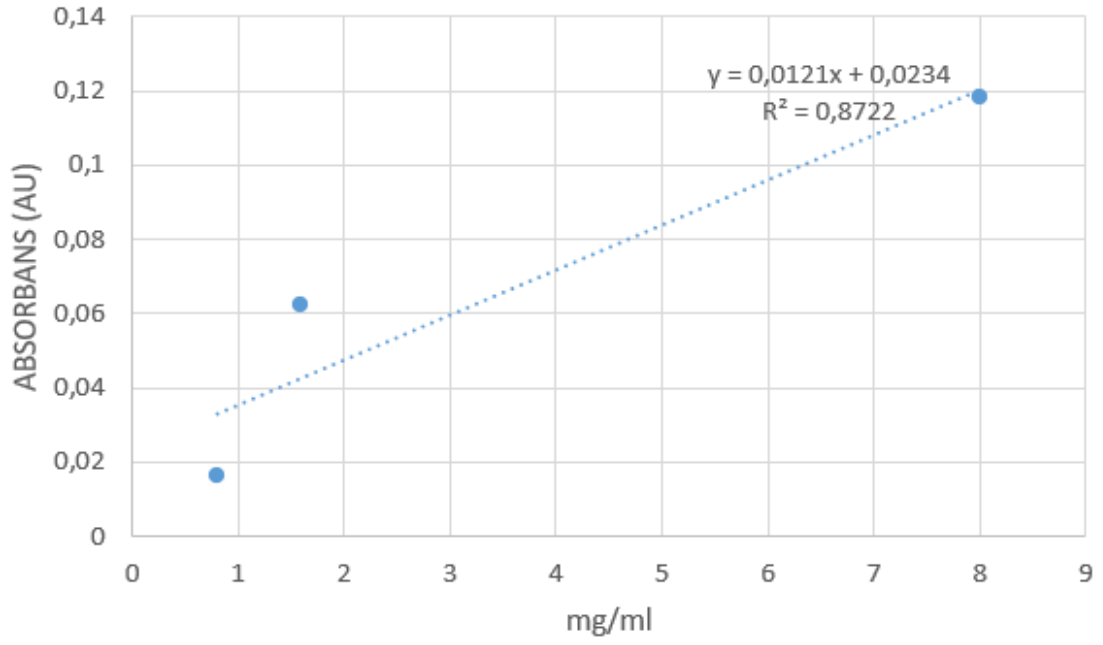
EKLER

EK 1 Metformin Kalibrasyon Eğrisi



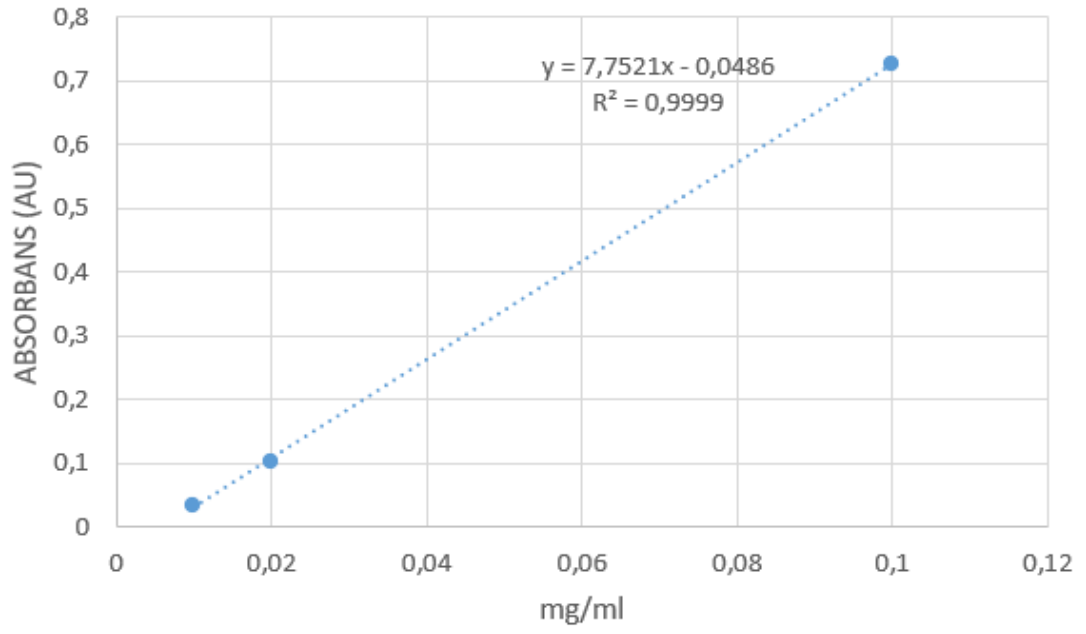
EK 1: Metformin Kalibrasyon Eğrisi.

EK 2 Gentamisin Kalibrasyon Eğrisi



EK 2: Gentamisin Kalibrasyon Eğrisi.

EK 3 Siprofloksasin Kalibrasyon Eğrisi



EK 3: Siprofloksasin Kalibrasyon Eğrisi.