



T.C.

HİTİT ÜNİVERSİTESİ

LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

POLİMER BİLİMİ VE TEKNOLOJİSİ ANABİLİM DALI

**YARA ÖRTÜSÜ UYGULAMALARI İÇİN MODİFİYE ALJİNAT/
JELATİN/HYALURONİK ASİT TEMELLİ HİDROJELLERİN
SENTEZİ VE KARAKTERİZASYONU**

Yüksek Lisans Tezi

Gülhanım HANSU

Çorum - 2023

**YARA ÖRTÜSÜ UYGULAMALARI İÇİN MODİFİYE ALJİNAT/
JELATİN/HYALURONİK ASİT TEMELLİ HİDROJELLERİN SENTEZİ VE
KARAKTERİZASYONU**

Gülhanım HANSU

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Polimer Bilimi ve Teknolojisi Anabilim Dalı

Yüksek Lisans Tezi

TEZ DANIŞMANI

Doç. Dr. Bengi ÖZKAHRAMAN

İkinci Danışman: Doç. Dr. Emel TAMAHKAR IRMAK

Çorum 2023

Gülhanım Hansu tarafından hazırlanan “Yara Örtüsü Uygulamaları İçin Modifiye Aljinat/Jelatin/Hyaluronik Asit Temelli Hidrojellerin Sentezi ve Karakterizasyonu” adlı tez çalışması 24/03/2023 tarihinde aşağıdaki jüri üyeleri tarafından oy birliği ile Hitit Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Polimer Bilimi ve Teknolojisi Anabilim Dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Hümeyra MERT BALABAN*

.....

Doç. Dr. Bengi ÖZKAHRAMAN**

.....

Doç. Dr. Zehra ÖZBAŞ

.....

Hitit Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Yönetim Kurulunun 03/04/2023 tarih ve 2023/689 sayılı kararı ile Gülhanım HANSU'nun Polimer Bilimi ve Teknolojisi Anabilim Dalında Yüksek Lisans derecesi alması onanmıştır.

Prof. Dr. Muhammed Asif YOLDAŞ

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Müdürü

* Jüri Başkanının adı yazılmalıdır.

** Tez danışmanının adı yazılmalıdır.

YARA ÖRTÜSÜ UYGULAMALARI İÇİN MODİFİYE ALJİNAT/JELATİN/HYALURONİK ASİT TEMELLİ HİDROJELLERİN SENTEZİ VE KARAKTERİZASYONU

Gülhanım HANSU

ORCID: 0000-0001-8357-6248

HİTİT ÜNİVERSİTESİ

LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

Yüksek Lisans Tezi

Mart 2023

ÖZET

Tez çalışması kapsamında yara örtü malzemesi olarak kullanmak amacıyla antibiyotik yüklü aljinat-jelatin-hyaluronik asit temelli hidrojel geliştirilmiştir. Birinci aşamada, aljinat, jelatin ve hyaluronik asidin metakrilasyon reaksiyonları gerçekleştirilmiştir ve elde edilen ürünler Fourier dönüşümlü kızıl ötesi (FTIR) ve proton nükleer manyetik rezonans (¹H-NMR) spektroskopisi ile karakterize edilmiştir. İkinci aşamada ise aljinat metakrilat-jelatin metakrilat (AG), aljinat metakrilat- hyaluronik asit metakrilat (AH) ve aljinat metakrilat-jelatin metakrilat-hyaluronik asit metakrilat (AGH) hidrojel formülasyonları geliştirilmiştir. Hidrojel yapılar FTIR ve taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile incelenmiştir. Bunların yanında hidrojellerin su tutma kapasiteleri ve *in vitro* hidrolitik bozunma çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Takiben tetrasiklin yüklü hidrojel hazırlanmış ve FTIR ve diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC) ile karakterize edilmiştir. *In vitro* salım çalışmaları 37 °C ve PBS ortamında gerçekleştirilmiştir. Antibakteriyel özellikleri disk difüzyon yöntemi kullanılarak *S. Aureus*, *E. Coli* ve *S. Epidermidis* bakterilerine karşı değerlendirilmiştir. Biyouyumluluk çalışmaları L929 hücre hattı kullanılarak 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolyum bromid (MTT) yöntemiyle belirlenmiştir. Tüm sonuçlar geliştirilen tetrasiklin içeren hidrojel yapıdaki yara örtü malzemesinin umut verici bir potansiyele sahip olduğunu göstermiştir.

Anahtar Kavramlar: Hidrojel, yara örtü malzemesi, antibiyotik salımı

Bilim Kodu: 91218

SYNTHESIS AND CHARACTERIZATION OF MODIFIED ALGINAT/GELATIN/HYALURONIC ACID BASED HYDROGELS FOR WOUND DRESSING APPLICATION

Gülhanım HANSU

ORCID: 0000-0001-8357-6248

HITIT UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL

Master of Science Thesis

March 2023

ABSTRACT

Within the scope of the thesis, antibiotic-loaded alginate-gelatin-hyaluronic acid-based hydrogels were developed to be used as a wound dressing material. In the first step, alginate, gelatin and hyaluronic acid methacrylation reactions were performed and the obtained products were characterized by Fourier transform infrared (FTIR) and proton nuclear magnetic resonance (¹H-NMR) spectroscopy. In the second stage, alginate methacrylate-gelatin methacrylate (AG), alginate methacrylate-hyaluronic acid methacrylate (AH) and alginate methacrylate-gelatin methacrylate-hyaluronic acid methacrylate (AGH) hydrogel formulations were developed. Hydrogel structures were examined by FTIR and scanning electron microscopy (SEM). In addition, water holding capacity of hydrogels and in vitro hydrolytic degradation studies were carried out. Next, tetracycline-loaded hydrogels were prepared and characterized by FTIR and differential scanning calorimetry (DSC). In vitro release studies were performed at 37 °C and in PBS medium. Its antibacterial properties were evaluated against *S. Aureus*, *E. Coli* and *S. Epidermidis* bacteria using the disc diffusion method. Biocompatibility studies were determined by the 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5- diphenyl tetrazolium bromide (MTT) method performed using the L929 cell line. All results showed that the developed tetracycline-containing hydrogel dressing material has promising potential.

Key Terms: Hydrogel, wound dressing material, antibiotic release

Science Code: 91218

TEŞEKKÜR

Tezimde bu aŐamaya kadar yanımnda olan ve desteklerini hiÇ eksik etmeyen hocam DoÇ. Dr. Bengi ÖZKAHRAMAN'a teŐekkürlerimi sunarım.

Bu süreçte yanımızda olan eŐ danışman hocam DoÇ. Dr. Emel TAMAHKAR IRMAK'a teŐekkürlerimi sunarım.

Tez őrıŐmam boyunca desteklerini benden esirgemeyen Polimer Bilimi ve Teknolojisi Anabilim Dalı Hocalarıma teŐekkürlerimi sunarım.

Minnetle.



Gülhanım HANSU

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
SİMGELER VE KISALTMALAR	xi
GİRİŞ.....	1

1. BÖLÜM

LİTERATÜR ÖZETİ

1.1. Derinin Yapısı.....	3
1.1.1. Epidermis tabaka	3
1.1.2. Dermis tabaka.....	3
1.1.3. Hipodermis tabaka	3
1.2. Yaranın Tanımı ve Türleri.....	4
1.3. Yara İyileşme Süreci	4
1.3.1. Hemostaz evresi	5
1.3.2. Enflamasyon evresi	5
1.3.3. Proliferasyon evresi.....	5
1.3.4. Olgunlaşma ve yeniden yapılanma evresi.....	5
1.4. Yara Örtüleri.....	5
1.4.1. Aljinat yara örtüleri.....	6
1.4.2. Hidrokolloid yara örtüleri	6
1.4.3. Köpük yara örtüleri.....	7
1.4.4. Hidrojel yara örtüleri.....	7

	Sayfa
1.5. Gelişmiş Yara Örtüleri.....	8
1.6. Kontrollü İlaç Salımı.....	9
1.6.1. Kontrollü ilaç salımının yararları.....	10
1.6.2. Kontrollü ilaç salımının sakıncaları.....	10
1.6.3. Şişme kontrollü antibiyotik salım sistemleri.....	10

2. BÖLÜM

MALZEME VE YÖNTEM

2.1. Kimyasal Malzemeler.....	11
2.2. Sodyum Aljinat Metakrilatın Sentezi.....	11
2.3. Jelatin Metakrilatın Sentezi.....	11
2.4. Sodyum Hyaluronik Asit Metakrilatın Sentezi.....	12
2.5. Alg-MA/HA-MA Hidrojeli Sentezi.....	12
2.6. Alg-MA/Gel-MA Hidrojel Sentezi.....	12
2.7. Alg-MA/Gel-MA/HA-MA Hidrojel Sentezi.....	13
2.8. İlaç Yüklü Olan Alg-MA, Gel-MA ve HA-MA'dan Hazırlanan Hidrojel Sentezi.....	13
2.9. AH, AG ve AGH Hidrojellerinin Karakterizasyonu.....	14
2.10. AH, AG ve AGH Hidrojellerinin Su Tutma Özelliklerinin İncelenmesi.....	14
2.11. AH, AG ve AGH Hidrojellerinin Hidrolitik Bozunma Özelliklerinin İncelenmesi.....	14
2.12. AGH-TS Hidrojelinin <i>In-vitro</i> İlaç Salım Özelliklerinin İncelenmesi.....	15
2.13. AGH ve AGH-TS Hidrojellerinin Antibakteriyel Özelliklerinin İncelenmesi.....	15
2.14. AGH ve AGH-TS Hidrojellerinin Hücre Canlılık Özelliklerinin İncelenmesi.....	16

3. BÖLÜM

BULGULAR VE TARTIŞMA

3.1. Alg-MA Polimerinin Yapısal Karakterizasyonu.....	17
3.1.1. FTIR Analizi.....	17
3.1.2. ¹ H-NMR Analizi.....	17

	Sayfa
3.2. Gel-MA Polimerinin Yapısal Karakterizasyonu.....	18
3.2.1. FTIR Analizi	18
3.2.2. ¹ H-NMR Analizi	19
3.3. HA-MA Polimerinin Yapısal Karakterizasyonu	20
3.3.1. FTIR Analizi	20
3.3.2. ¹ H-NMR Analizi	21
3.4. Hidrojel Yara Örtüsünün Karakterizasyonu.....	22
3.4.1. FTIR Analizi	22
3.4.2. SEM Analizi	24
3.4.3. Su Tutma Kapasitesi.....	25
3.4.4. Hidrolitik Bozunma Hızı.....	26
3.4.5. Termal Analizi	27
3.5. İlaç Salım Çalışması.....	28
3.6. Antibakteriyel Aktivite Çalışması	29
3.7. Hücre Canlılığı Çalışması.....	31
SONUÇLAR VE ÖNERİLER	32
KAYNAKÇA	33

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil	Sayfa
Şekil 3.1. Saf Alg ve Alg-MA polimerlerine ait FTIR spektrumları	17
Şekil 3.2. (A) Saf Alg ve (B) Alg-MA polimerlerine ait ¹ H-NMR spektrumu	18
Şekil 3.3. Saf jelatin ve Gel-MA polimerlerine ait FTIR spektrumları	19
Şekil 3.4. (A) Saf Gel ve (B) Gel-MA polimerlerine ait ¹ H-NMR spektrumları	20
Şekil 3.5. Saf HA ve HA-MA polimerlerine ait FTIR spektrumu	21
Şekil 3.6. (A) Saf HA ve (B) HA-MA polimerlerine ait ¹ H-NMR spektrumu	22
Şekil 3.7. AH, AG ve AGH hidrojel yara örtü malzemelerine ait FTIR spektrumları	23
Şekil 3.8. AGH ve AGH-TS hidrojel yara örtü malzemelerine ve TS'ye ait FTIR spektrumları	24
Şekil 3.9. AG (A, B, C), AH (D, E, F) ve AGH (G, H, I) hidrojel yara örtü malzemelerine ait SEM görüntüleri (5000X, 2500X ve 1000X büyütme)	25
Şekil 3.10. AH, AG ve AGH hidrojel yara örtü malzemelerine ait su tutma kapasitesi sonuçları	26
Şekil 3.11. AH, AG ve AGH hidrojel yara örtü malzemelerine ait hidrolitik degradasyon sonuçları	27
Şekil 3.12. AGH, AGH-TS ve AGH-TS hidrojel yara örtü malzemelerine ait DSC termogramları	28
Şekil 3.13. AGH-TS hidrojel yara örtü malzemesine ait ilaç salım sonuçları	29
Şekil 3.14. AGH ve AGH-TS hidrojel yara örtü malzemelerine ait antimikrobiyal aktivite sonuçları, (A) <i>S. Aureus</i> , (B) <i>E. Coli</i> , ve (C) <i>S. Epidermidis</i>	30
Şekil 3.15. AGH ve AGH-TS hidrojel yara örtü malzemelerine ait MTT analiz sonuçları	31

SİMGELER VE KISALTMALAR

Kısaltmalar

$^1\text{H-NMR}$	Nükleer Manyetik Rezonans Spektrometresi
Alg	Aljinat
APS	Amonyum Persülfat
DSC	Diferansiyel Taramalı Kalorimetresi
FTIR	Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektrometresi
GMA	Glisidil Metakrilat
HA	Hyaluronik Asit Sodyum Tuzu
Gel	Jelatin
MA	Metakrilik Anhidrit
MTT	3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolyum bromid
MWO	Moleküler Ağırlığı Ayırma Sınırı
NaOH	Sodyum Hidroksit
PBS	Fosfat Tampon Tuz Çözeltisi
SEM	Taramalı Elektron Mikroskobu
TEMED	<i>N,N,N',N'</i> - Tetrametil etilendiamin
TS	Tetrasiklin

GİRİŞ

Yara, vücuttaki doku bütünlüğünün fiziksel veya termal bir hasar sonucu bozulmasıdır (Xu ve ark., 2022). Yaralar etiyojilerine göre akut ya da kronik yara olarak ikiye ayrılır. Akut yaralar kalıcı olmayan sebeplerden oluşan belirli zaman içerisinde iyileşme gösteren yaralardır. Kronik yaralar ise sürekli oluşan ve iyileşmesi yavaş ve zor olan tekrar eden yaralar olarak tanımlanmaktadır (Arif ve ark., 2021). Tüm dünyada yara ve yara örtüsü üzerine birçok araştırmalar yapılmaktadır. Bu araştırmalar sonucunda yara örtülerinin yara iyileşme sürecinde daha kolay sonuca ulaştığı gözlemlenmiştir (Dong ve Guo, 2021). Yaraları iyileştirmek için kullanılan bakım malzemeleri; yaranın olduğu bölgeyi kapatarak, hasar gören dokuyu dışarıdan gelen zararlı etkenlerden koruyarak, konstrüksiyonu elverişli ise hücre üretimini aktif hale getirerek iyileşme sürecini olumlu etkiler (Kurtoğlu ve Karataş, 2009). Yapılan araştırmalara göre yara bakım ve onarımı için birçok doğal ve geleneksel yara örtüleri kullanılmaktadır. Kullanılan yara örtülerinin ilk görevi yara bölgesinde oluşan fazla eksudanın uzaklaştırılmasıdır (Valenta ve Auner, 2004). Yara iyileşmesinin ılık ve nemli bir ortamda daha etkili gerçekleştiği bilinmektedir. Yara tedavisinin etkinliği, epitel hücrelerinin hareketine uygun bir mikroçevrenin sağlanmasına bağlıdır. Yara tedavisi için uygun koşullar, yara çevresinde hücre ve dokuların yenilenmesine ortam sağlayacak kadar nemli bir yer, uygun oksijen sirkülasyonu ve bakteriyel kontaminasyonun engellenmesi olarak sıralanmaktadır (Bal-Öztürk, 2021). Bu işlevlerin ve şartların sunabilen modern yara örtülerinin geliştirilmesi üzerine çalışmalar yapılmaktadır. Diğer taraftan yara iyileşme süreci birbirini takip eden farklı evrelerden oluşmaktadır ve tek tip yara örtüsü bütün evreler için uyumlu ve uygun olmayabilir. Bu noktada etkili bir yara iyileşmesi oluşabilmesi için hastanın içinde bulunduğu sağlık koşulları ve kullanılan yara örtülerinin fiziksel ve kimyasal yapısı dikkati çekmektedir.

Yara iyileşme sürecinin olumlu sonuç elde edilebilmesi için yara örtüsünün aşağıdaki özellikleri bulundurması gereklidir (Bal-Öztürk ve ark., 2021).

- Yarayı dış etkenlerden koruyarak fiziksel bariyer görevi görmeli
- Ortamı sıcak ve nemli tutulmalı
- Fazla eksudayı absorplayabilmeli
- Toksik ve alerjen olmamalı
- Yüksek biyouyumluluğa sahip olmalı
- Kolay uygulanabilmeli
- Kolay hazırlanabilmeli
- Ucuz olmalı

Hidrojeller büyük miktarda su tutabilme özellikleri sayesinde yaraya nemli ortam sağlamakta ve eksudalı yaralarda yara bölgesinde oluşan sıvının uzaklaştırılmasını kolaylaştırmaktadır.

Bununla birlikte, yara bölgesini darbe ve mikroorganizmalara karşı korumaktadırlar. Ayrıca, hidrojel yapılar bünyelerine ilaçlar, ekstraktlar vb. biyoaktif molekülleri hapsetmek mümkündür. Bu sayede yara bölgesinde salım yaparak yara iyileşme sürecine katkı sağlamaktadır. Sahip oldukları bu özellikler nedeniyle yara örtü malzemelerinde hidrojel yapılar sıkça tercih edilmektedir.

Hazırlanan tez çalışması ile yara tedavisinde kullanılmak üzere tetrasiklin antibiyotik etken maddesi yüklü aljinat, jelatin ve hyaluronik asit temelli hidrojellerinin hazırlanması ve antibakteriyel özelliklerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.



1. BÖLÜM

LİTERATÜR ÖZETİ

1.1. Derinin Yapısı

Deri, tüm vücudu kaplayan ve ağırlık olarak en fazla orana sahip olan organdır. Canlının yaşamı ile ilgili pek çok görevi üstlenen deri (Lima ve ark., 2021; Tavakoli ve ark., 2020);

- Organizmayı dış etkilere karşı korur.
- Isı regülasyonu sağlar.
- Yağ ve ter salgısı yapar.
- D vitamininin emilimini sağlar.
- Duyu işlevi gibi değişik görevler yürütür.

Derinin histolojik yapısı 3 ana tabakadan meydana gelir. Bunlar;

- Epidermis Tabaka
- Dermis Tabaka
- Hipodermis Tabaka

1.1.1. Epidermis tabaka

Deriyi meydana getiren 3 ana katmandan en üstte yer alan, en ince tabakadır. Vücudu fiziksel etmenlere karşı korur ve içerdiği pigmentler ile deriye rengini verir.

1.1.2. Dermis tabaka

Temel bağ dokudan oluşan vücudun en kalın tabakasına dermis denir. Vücudu tehlike ve darbelere karşı korur. Epidermisle karşılaştığımızda daha karmaşık ve kompleks bir tabakadır. Duyusal sinir uçları, kıl kökleri, tırnaklar, ter ve yağ bezleri ve kan damarlarında bulunur. Fiziki ve fonksiyonel yapı olarak ikiye ayrılır bunlar; papiller tabaka ve ağsı tabakadır.

1.1.3. Hipodermis tabaka

Dermisin alt kısmında bulunan tabakadır. Dermis ile hipodermisin bir sınır bölgesi yoktur. Yağ doku ve bağ dokudan meydana gelir. Vücuttaki rolü derinin diğer kısımlarına göre daha büyüktür. Temel görevi, enerji depoladıktan sonra vücudun kullanımına sunmak, vücudu her türlü darbeye karşı korumak ve vücut sıcaklık dengesini sağlamaktır. En alt tabaka olmasından ötürü derinin diğer tabakalarıyla ortak olarak çalışır.

1.2. Yaranın Tanımı ve Türleri

İçten ya da dıştan kaynaklanan bir olay nedeniyle hasar ortaya çıkması ve deri doku bütünlüğünün bozulması olayına yara denir. Yapılarına göre yaralar; kronik yara veya akut olmak üzere iki sınıfta incelenebilir. Akut yaralar; geçici etkenin sebep olduğu ve kabul edilebilir sürede iyileşme gösteren yaralardır. Akut yaraların iyileşmesine engel olan faktör sayısı kronik yaralara göre daha azdır. Bu yaralarda iyileşme devamlı haldedir.

Akut yaralar; kontrol edilebilir bir zaman dilimi içinde iyileşir ve tip, derinlik ve kontaminasyon kriterlerine göre sınıflandırılabilir.

- Yanma sonucu oluşan yaralar
- Ameliyat öncesinde veya sonrasında oluşan yaralar
- Deri tahribi sonucu oluşan yaralar
- Hayvan ya da insan ısırıkları sonucunda oluşan yaralar
- Travma sonucu deride oluşan yaralardır.

Kronik yaralar; uzun zaman dilimi içinde iyileşen veyahut hiç iyileşme göstermeyen yaralardır. Bu yaralarda, yara durumu süreklilik gösterir ve iyileşme dönemi uzun sürer.

Kronik yaralar;

- Sürekli yatmaya bağlı oluşan yaralar
- Şeker hastalığı sonucunda oluşan yaralar
- Varis yaralarıdır.

Bunlardan ayrı bir tür olan yanık yaraları kendine özgü patolojisiyle tanımlanır. Yanıklarda kan damarları ile sinirler geri dönüşümsüz olarak zarar görür. Yanıklarda, zayıf sinir iletimi ile zayıf besin ve oksijen akışı iyileşmeyi zorlaştıran ana nedenlerdir. Yanık yaraları enfeksiyona ve skar oluşumuna açıktır, bu da his azalmasına neden olabilmektedir.

1.3. Yara İyileşme Süreci

Yaralı dokunun iyileşmesi; yeni hücrelerin meydana gelmesi sonucunda dokusal bütünlüğün tekrardan kazanılması ile yaralı doku hücrelerinin vücut yapısını, fiziki ve dokusal yapısını yeniden meydana getiren, kompleks, biyokimyasal, hücresel olaylar bütünüdür (Bal-Öztürk ve ark., 2021).

Yara iyileşme evreleri (Ellis ve ark., 2018),

- Hemostaz Evresi
- Enflamasyon Evresi
- Proliferasyon Evresi
- Olgunlaşma ve yeniden yapılanma

1.3.1. Hemostaz evresi

Yaralanma başladıktan sonra yara bölgesinde oluşan kanamanın durdurulması için hemostaz başlamaktadır ve bu durum verilen ilk fizyolojik yanıttır. Hemostaz etkisi farklı birçok evrelerle ifade edilebilir (Altay ve Başal, 2010).

1.3.2. Enflamasyon evresi

Enflamasyon yaralanmadan ve hemostaz aşamasından sonraki 1 ile 3 günü kapsayan bir süreçtir. İki farklı basamaktan meydana gelir. Erken enflamatuvar fazda; nötrofil işlevleri baskın ve ölü dokunun ve yarada meydana gelen bakterilerin parçalanması nötrofiller tarafından salgılanan enzimlerle sağlanırken, geç enflamatuvar fazda ise makrofaj işlevleri fazladır.

1.3.3. Proliferasyon evresi

Bu süreç yaklaşık iki hafta sürer ve granülasyon doku gelişimiyle epitelizasyonun tamamlandığı evredir. Doku hasarı ve çok büyük doku kaybı varsa rejenerasyon durumu yara kenarlarından başlar ve epitel granülasyon doku ile ilerler. Daha sonraki aşama ise kontraksiyondur. Yara büyüklüğü yara kontraksiyonu durumu ile azalır. Proliferasyon aşaması; granülasyon doku meydana gelip epitelizasyon olayı tamamlanınca sona erer.

1.3.4. Olgunlaşma ve yeniden yapılanma evresi

Yıllarca devam eden süreçtir. Bu evrede artık enflamatuvar süreç azalır, kollajen oluşması, mevcut doku kalınlaşması ve sağlamlaşması meydana gelmektedir. Miyofibroblastlar da önemli bir sürece sahiptir.

1.4. Yara Örtüleri

Dünya Sağlık Örgütü'nün verilerine göre, yangın kaynaklı yanıkların bir sonucu olarak her yıl 300.000'den fazla ölüm meydana gelmektedir. Yara enfeksiyonu lokal doku hasarını daha da artıran ve sık görülen bir komplikasyon iken, sistemik enflamatuvar ve immünolojik yanıtlar yaşamı tehdit eden sepsis ve çoklu organ yetmezliğine kadar giden sonuçlara neden olabilmektedir (Hettiaratchy ve ark., 2004). Bu gibi durumlarda erken ve uygun klinik bir tedavi uygulanması, yaralanmayla ilişkili ölüm oranlarının azaltılması için esastır (Atiyeh ve ark., 2005).

İdeal bir yara örtüsünün sahip olması gereken özellikler şunlardır:

- Eksudayı emebilmeli
- Nemli bir ortam oluşturabilmeli
- Gazların alışverişine izin vermeli
- Isıl yalıtım sağlamalı
- Bakterilere karşı kalkan görevi görmeli
- Toksik olmamalı
- Kolaylıkla değiştirilebilmeli

Birçok ülkede hem yara örtüsü uygulamaları hem de araştırmaları önem verilmektedir. Geçmişteki süreçte yara bakımı için farklı sıvı absorpsiyon kapasitesine sahip olan doğal bandajlar, pamuklar, sargı bezleri ve gazlı bezler kullanılmıştır. 1960'lı yıllardan sonra yapılan araştırmalara göre ortamda nem oranı fazla olan yaraların kuru yaralardan daha kolay iyileştiği ön görülmüştür. Diğer taraftan, yara örtülerinin görevi öncelikli görevi yaradaki fazla eksudanın uzaklaşmasını sağlayarak bölgede bakteri oluşmasını engellemektir.

Sargı bezleri, yapışkan bandajlar gibi geleneksel yara örtüleri, fiziksel bir bariyer görevi görür ve yarada oluşan fazla sıvıyı emerler. Ancak yara iyileşmesine katkıları çok azdır. Hatta bu tür yara örtülerinin fiberleri ve fragmentleri yara dokusu ile iç içe geçerek immune cevap oluşmasına neden bile olabilirler. Diğer taraftan bu örtüler değiştirileceği zaman yara dokusu zarar göremesine ve iyileşme süreci sekteye uğratmasına neden olabilmektedir. Bu nedenle, yara iyileşmesini geliştiren ve yara ile fonksiyonel bir etkileşimde bulunan gelişmiş yara örtülerine ihtiyaç her geçen gün artmaktadır.

Yara örtüleri aşağıdaki gibi sınıflandırılabilir:

1.4.1. Aljinat yara örtüleri

Aljinat bazlı yara örtüleri; yaraya yapışmazlar. Enfekte olmuş ve eksuda oranı yoğun olan yaralarda tercih edilir. Yüksek emiş gücü, yumuşak dokusu dolayısıyla yaralı yüzeyi kolay bir şekilde doldurur. Şiddetli yanıklarda, kanaması fazla olan yaralarda ve kuru yaralarda kullanıma uygun değildir.

1.4.2. Hidrokolloid yara örtüleri

Bu örtüler su ve oksijen geçirmezler. Sulu yarayla buluştuğu zaman ortamdaki yoğun eksudayı emer ve jel formuna dönüşür ayrıca yedi gün yara üzerinde kalabilmektedir (Altay ve Başal, 2010).

1.4.3. Köpük yara örtüleri

Poliüretan köpükten yapılmıştır. Birçoğu bakteri ve su geçirmez. Bazıları yapışkan özellik göstermemektedir bu nedenle ikinci bir örtüye ihtiyaç duyulur (Hanna ve Giacomelli, 1997).

1.4.4. Hidrojel yara örtüleri

Hidrojeller sentetik ya da doğal polimerlerden elde edilen hidrofilik, üç boyutlu ağsı yapılardır. Hidrojeller, yapılarında bulunan -OH, -CONH, -CONH₂, ve -SO₃H gibi fonksiyonel gruplar sayesinde hidrofilik karakter kazanırlar. Üç boyutlu yapıları ve hidrofilik özellikleri sayesinde suyu tutarak fazla sıvıyı uzaklaştırıp yaranın nemli kalmasını sağlarlar. Ayrıca hastanın acısının azalmasında ve serinlik hissinin kazandırılmasında da etkilidir. Hidrojel yara örtülerinin değiştirilmeleri yumuşak ve esnek yapılarından dolayı kolaydır. Metabolitlerin ve gazların geçişine izin vererek iyileşme süreci için uyumlu bir ortam sunarlar. Hidrojeller yüksek su tutma kapasiteleri (% 90 ve üzeri) ve doğal dokuya benzer fiziksel yapıları nedeniyle granülasyon dokusunun ve epitelleşmenin gelişimine olanak sağlarlar. Hidrojeller eksudalı yaralar hariç yara iyileşme sürecinin her bir aşaması için uygundur. Intrasite™, Nu-gel™, Aquaform™ gibi ticari ürünler hidrojel yara örtüleridir (Veld ve ark., 2020).

Hidrojel yara örtüsü olarak kullanılan doğal polimerler arasında jelatin, aljinat ve hyaluronik asit dikkat çekmektedir.

1.4.4.1. Aljinat

Aljinat anyonik bir polisakkarittir, bununla birlikte hidrofilik, biyoyumlu ve biyobozunur özelliktedir. Deniz yosunlarından sodyum ve kalsiyum tuzları şeklinde üretilir. Absorpsiyon kapasitesi yüksek hidrofilik jel oluşumu sayesinde fazla sıvının birikimini engeller ve bakteriyel kontaminasyon riskini azaltır. Aljinatın makrofajları aktive ederek iyileşme sürecini hızlandırdığı rapor edilmiştir (Dhivya ve ark., 2015). Aljinat örtüler yaraya uygulandığında aljinatın yapısındaki iyonlar ile kandakiler değişir ve koruyucu bir jel tabakası oluşur. Sun ve ark. tarafından sulfanilamid yüklü aljinat hidrojeller kalsiyum iyonları ve glutraldehit ile çapraz bağlanarak etkin bir yara örtüsü olarak hazırlanmıştır. Elde edilen hidrojellerin yüksek mekanik dayanım, biyoyumluluk ve yüksek sıvı absorplama kapasitesi ile yara örtüsü olarak potansiyeli ortaya konmuştur.

1.4.4.2. Jelatin

Jelatin kollajen hidrolizi ile elde edilen bir biyopolimerdir. Jelatin; yüksek biyoyumluluk, iyi derecede biyobozunurluk, hücre etkileşimine izin veren yapısı ile ucuz, kolay işlenebilen bir biyopolimer olması nedeniyle biyomedikal alanda yaygın kullanıma sahiptir. Jelatin yüksek

biyoyumluluğunun yanında, hücre yapışması ve hücre gelişimine olanak sağlayan üstün özellikleri nedeniyle sıklıkla yara örtüsü tasarımlarında tercih edilmektedir. Çoğunlukla sığır, domuz ve balık gibi hayvansal kaynaklardan elde edilir. Jelatin yara örtüleri iyileşmeyi hızlandıran nemli ortamın sağlanmasında oldukça başarılıdırlar. Bu örtülerin uygun değerde bulunan su buharı geçirgenlik hızları (WVTR) sayesinde hücrelerin yayılması ve gelişmesi için gerekli olan nemlilik sağlanabilir. Ayrıca antibiyotik, nanopartiküller, antioksidanlar gibi biyoaktif ajanların eklenmesi ile özellikle kronik yaraların iyileşmesinde yüksek performans sergilerler (Ndlovu ve ark., 2021; Gaspar-Pintiliscu ve ark., 2019). Jelatin ekstraselüler matriks ile benzer özelliklere sahip olarak doku gelişimi için uygun ortam sağlar. Jelatinin zayıf mekanik dayanımı diğer polimerler ile harman hidrojel yapılarak geliştirilebilir (Lima ve ark., 2021).

1.4.4.3. Hyaluronik asit

Hyaluronik asit, derinin ekstraselüler matrisinin temel elemanlarından biri olan bir glikozaminoglikandır. Hyaluronik asit yara iyileşmesinin enflamatuvar ceavp, anjiyenez ve doku yenilenme proseslerinde görev alır. Hyaluronik asit yüksek biyoyumluluk, biyobozunurluk, hidrofilik karakter gibi önemli özellikleri ile yara örtüsü uygulamalarında sıklıkla kullanılmaktadır. Günümüzde HylaSponge® System, Hyalomatrix® ve Hyalosafe® gibi pekçok hyaluronik asit içerikli ticari ürün bulunmaktadır. Yapılan çalışmalardan birinde hyaluronik asit ile jelatin birlikte kullanılarak hidrojel yapısı oluşturulmuş ve %40-70 gözeneklilik oranına ulaşılmıştır. Yapılan in-vivo çalışmalarda yaranın %95 oranında kapandığı bildirilmiştir. Jelatin ve hyaluronik asidin birlikte fibroblastların göçü ve gelişmesi için uygun bir nemli ortamın sağlanmasıyla iyileşme olmaktadır (Graçe ve ark., 2020; Alven ve ark., 2021).

1.5. Gelişmiş Yara Örtüleri

Yaralar için oluşturulan gelişmiş örtüler yarayı iyileştirmekten çok daha fazla göreve sahiptir. Bu örtüler, yarayı oluşabilecek zararlara karşı koruma sağlamak, kan ve yarada oluşacak sıvıları absorbe etmek, yara iyileşmesinin gerçekleşmesi için yarayı olası zararlara karşı korumak için kullanılan malzemelerdir. Günümüzde kullanılan yara örtülerindeki en büyük gelişmelerden biri yarada oluşan nemi koruma sağlayan "nemli-iyileştirici (moist healing)" ürünlerin geliştirilmesidir. 1980 ve 1990'lı yıllarda hidrokolloid, aljinat, poliüretan köpükler ve hidrojel gibi birçok nemli iyileştirici ürün geliştirilmiştir. İlaç içeren yara örtüleri nekrotik dokuyu uzaklaştırarak doğrudan ya da dolaylı olarak iyileşme prosesinde önemli rol oynarlar. Yaygın olarak kullanılan antibiyotikler örtüye antibakteriyel özellik katarak iyileşme hızının geliştirilmesinde kritik öneme sahiptirler. Yara örtülerinde, yapıya antibiyotik ajanların eklenerek antibakteriyel özelliğin kazandırılması temel yaklaşımlardan biridir ve literatürde

pek çok kontrollü antibiyotik salımı yapan yara örtüsüne rastlanmaktadır (Özbaş ve ark., 2021; Tamahkar ve ark., 2021). Kontrollü ilaç salımı yapan yara örtülerindeki temel amaç, yara bölgesindeki bakteriyel enfeksiyonu önlemek ve kontrol altında tutmaktır. Bu sistemlerde antibiyotik salımını istenilen süre boyunca ve istenilen dozda tutmak ana kriterdir. Yara iyileşme sürecinde yara bölgesini toksik etkiye neden olmadan bakteriyel ataklardan koruyacak antibiyotiklerin salımının yara iyileşmesini hızlandırdığı rapor edilmiştir (Teo ve ark., 2011).

Yapısında farklı özelliklere sahip polimerleri barındırarak kompozit hidrojeller geniş bir kullanım alanına sahiptirler. Möller ve ark. jelatin, hyaluronik asit ve aljinat polimerlerinin metakrilatlanması ile oluşturulan makromerlerin ikili kombinasyonlar halinde harman hidrojellerini hazırlamışlardır. Bu amaçla fotobaşlatıcı kullanılmıştır. Çalışmada tüm hidrojellerin biyouyumlu oldukları sonucuna varılmıştır. Ancak sadece jelatin içeren hidrojellerde seçilen hücre hattı olan yeni doğan sıçan kardiomiset hücrelerinin polimerik yapıya yapışma gösterdiği rapor edilmiştir (Möller ve ark., 2011). Jelatin ve aljinatın metakrilatlanmış formlarının kullanılarak hidrojel hazırlanan bir çalışmada yapıya aljinatın eklenmesinin şişme kapasitesini artırdığı gözlenmiştir. Aljinat bileşiminin hücre yapışmasını artırarak daha iyi bir mekanik dayanıma neden olduğu bildirilmiştir. Jelatin/aljinat oranı değiştirilerek istenen şişme ve bozunma değerlerine sahip hidrojellerin hazırlanabilmesi mümkündür (Stubbe ve ark., 2019).

1.6. Kontrollü İlaç Salımı

Kontrollü ilaç salımı kimyasal, fiziksel farklı uyarılara karşı tepki olarak ilacın istenen dozda ve istenen süre boyunca salımını yapan sistemlerdir. Kontrollü salım ilk olarak 1930-1940 yıllarında ortaya çıkmıştır. Bu yıllardan sonra tarım ilaçlarında taşıyıcı olarak kullanılmaya başlamıştır. 1960-1970 yıllarında tıp alanında da çalışmalar yapılmaya ve ilaç kullanımı için araştırmalar yapılmaya başlamıştır. İlaç salımını denetleyen aracı olarak kullanılan polimerlerin oluşturduğu sisteme "Kontrollü Salım Sistemi" denir. Son dönemlerde kontrollü ilaç salım sistemleri dikkat çeken konulardan biri haline gelmiştir (Gürsoy, A. Z., 2002). Sistemin amacı ilacın vücudun istenen bölgeye uygun oranda, uygun miktarda ve uygun süre zarfında salınmasının sağlanmasıdır. İlacın etkinliğini gösterdiği derişim aralığına terapötik pencere denir. Bu derişim aralığının üstüne çıkıldığında ilaç toksik etki gösterirken altındaki derişim değerlerinde etkinliğini gösterememektedir. Bu nedenle kontrollü ilaç salım sistemleri ile ilaç derişimi ilacın tedavi edeceği aralıkta tutularak sürecin etkinliği sağlanmaktadır.

1.6.1. Kontrollü ilaç salımının yararları

Kontrollü ilaç salımının başlıca görevi ilaç taşınmasıdır. Bu ilaç salımının yararları şunlardır (Başar, H., 2006):

- İlaç derişimini tedavi edici tozda tutması.
- Zararlı yan etkenlerin düşürülmesi.
- İhtiyaç duyulan ilaç oranının azaltılması.
- Hastanın ilaca verdiği uyum durumuna ilaç dozajının azaltılması.

1.6.2. Kontrollü ilaç salımının sakıncaları

Kontrollü ilaç salım sistemlerinin birden fazla hastalık çeşidinin iyileşmesinde olumlu sonuçlarının yanı sıra olumsuz sonuçları da vardır. Kontrollü salım sistemlerinde genellikle polimerler kullanılmaktadır. Polimerler kullanılan ilacın salım hızını ve süresini ayarlar, hedefe ve ilacın tepkilerine göre sistem hazırlanmasını sağlar. Yapım anında veya sonraki aşamalarda meydana gelebilecek kırıklar, çatlaklar sebebiyle güvenilirliği kesin değildir. Bununla birlikte, ilacı uyguladıktan sonra istediğimiz zamanda ve istediğimiz anda durdurulamamasına yol açar. Kısa yarılanma ömrüne sahip olan ilaçlar doğru bir dozlama yöntemi değildir. Yarılanma ömrü çok uzun ise bu işlemi yapmaya gerek yoktur. Sıklıkla kullanılan ilaçların uygun yarılanma süresi 4 ile 5 saat arasındadır.

1.6.3. Şişme kontrollü antibiyotik salım sistemleri

Antibiyotikler en etkili ve yaygın antibakteriyel ajanlardandır. İlaç direnç etkisi antibiyotiklerin önünde en büyük engellerden biridir. Lokal antibiyotik uygulaması enfekte olan bölgeye direkt olarak ilacın uygulanmasıdır. Bu da sistemik toksik etkilerinin bertarafı anlamına gelir. Hidrojeller yüksek yüzey alanı/hacim oranları ve kontrol edilebilir gözeneklilikleri ile istenen bölgede istenen derişimde, ilacın salımını kolaylıkla yapabilirler (Li ve ark., 2018; Yang ve ark., 2018). Hidrojellere yüklenen antibiyotikler aminoglikositler, glikopeptitler ve kuinoionlar olmak üzere üçe ayrılır. Temel bakterisidal mekanizma; glikopeptit antibiyotiklerin bakteriyel hücre duvarını inhibe etmesi, aminoglikosit antibiyotiklerin protein sentez yollarının bloklaması ve kuinoion antibiyotiklerin ise nükleik asit sentezini inhibe etmeleri şeklinde gerçekleşir (Liu ve ark., 2022). Antibiyotik çözeltisine daha önceden ağırlığı bilinen kuru hidrojeller daldırılır ve denge adsorpsiyon değerine ulaşana kadar beklenir. Ardından şişmiş ve antibiyotik yüklü hidrojeller çözeltiden çıkarılarak yıkanır ve kurutulur. Bu ilaç yükleme aşaması ile hidrojelin ilaç yükleme kapasitesi belirlenir. İlaç salım çalışmaları için ilaç yüklü hidrojeller uygun pH ortamında salım ortamına bırakılır ve belirli zaman aralıkları ile salım miktarları analiz edilir (Yang ve ark., 2018).

2. BÖLÜM

MALZEME VE YÖNTEM

2.1. Kimyasal Malzemeler

- *N,N,N',N'*-Tetrametil etilendiamin (TEMED), Sigma-Aldrich
- Amonyum persülfat (APS), Sigma-Aldrich
- Sodyum Aljinat (Alg), Sigma-Aldrich
- Fosfat Tampon Salin (PBS) tablet, Sigma-Aldrich
- Glasiyal asetik asit, Sigma-Aldrich
- Glisidil metakrilik asit (GMA), Sigma-Aldrich
- Jelatin (Gel), Sigma-Aldrich
- Metakrilik anhidrit (MA), Sigma-Aldrich
- Hyaluronik Asit Sodyum Tuzu (HA), Organic Cross
- Sodyum hidroksit (NaOH), Merck
- Tetrasiklin (TS), Sigma-Alrich

2.2. Sodyum Aljinat Metakrilatın Sentezi

Tez çalışması kapsamında kullanılan sodyum aljinat metakrilat (Alg-MA) için sentez yöntemi Araiza-Verduzco ve arkadaşlarının yaptığı çalışmadan uyarlanmıştır (Araiza-Verduzco ve ark., 2020). İlk olarak 2 g Alg tartılmış ve içerisinde 100 mL destile su bulunan cam reaktör içerisine konulmuştur. Karışım mekanik bir karıştırıcıda 60 °C'de 2 sa süresince karıştırılmıştır. Çözünme işlemi tamamlandıktan sonra 5,14 g GMA aynı sıcaklıkta Alg çözeltisi içerisine mikro pipet yardımıyla damla damla ilave edilmiştir. Metakrilatlanma reaksiyonu 60 °C'de 4 sa süresince gerçekleştirilmiştir. Reaksiyon süresince ortam, glasiyal asetik asit yardımıyla pH: 3,0 olacak şekilde ayarlanmıştır (pH metre Ohaus, Almanya). Reaksiyon sonunda elde edilen ürün 500 mL etanolde çöktürülmüş ve reaksiyona girmemiş MA ve diğer safsızlıklar uzaklaştırılmıştır. Takiben kaba süzgeç kâğıdı ile süzölmüş ve hava ortamında kurutulmuştur.

2.3. Jelatin Metakrilatın Sentezi

Tez çalışması kapsamında kullanılan jelatin metakrilat (Gel-MA) Noshadi ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmadan uyarlanmıştır (Noshadi ve ark., 2017). İlk olarak 10 g Gel tartılmış ve içerisinde 100 mL pH: 7,4 PBS çözeltisi bulunan cam reaktör içerisine konulmuştur. Karışım mekanik bir karıştırıcıda 50 °C'de 2 sa süresince karıştırılmıştır. Çözünme işlemi tamamlandıktan sonra 8 mL MA aynı sıcaklıkta Gel çözeltisi içerisine mikro pipet yardımıyla damla damla ilave edilmiştir. Metakrilatlanma reaksiyonu 50 °C'de 3 sa süresince

gerçekleştirilmiştir. Takiben elde edilen reaksiyon karışımına önceden ısıtılmış PBS çözeltisi ilave edilerek seyreltilmiştir. Çözelti diyaliz membrana (MWO 12 000-14 000 Da, Sigma-Aldrich) aktarılmış ve 4 gün süresince 4 °C'de destile suya karşı yıkanarak reaksiyona girmemiş MA ve diğer safsızlıklar uzaklaştırılmıştır. Ardından çözelti liyofilizatörde (-80 °C, 1 gün) kurutulmuştur.

2.4. Sodyum Hyaluronik Asit Metakrilatın Sentezi

Tez çalışması kapsamında kullanılan sodyum hyaluronik asit (HA-MA) Velasco-Rodriguez ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmadan uyarlanmıştır (D'Arrigo ve ark., 2012). İlk olarak 1 g HA tartılmış ve içerisinde 100 mL pH: 7,4 PBS çözeltisi bulunan cam reaktör içerisine konulmuştur. Karışım mekanik bir karıştırıcıda oda sıcaklığında 24 sa süresince karıştırılmıştır. Çözünme işlemi tamamlandıktan sonra 3,5 mL GMA 4 °C'de HA çözeltisi içerisine mikro pipet yardımıyla damla damla ilave edilmiştir. Metakrilatlanma reaksiyonu 50 °C'de 24 sa süresince gerçekleştirilmiştir. Reaksiyon süresince 5 M NaOH yardımıyla pH: 8-10 olacak şekilde ayarlanmıştır (pH metre Ohaus, Almanya). Çözelti diyaliz membrana (MWO 12 000-14 000 Da, Sigma-Aldrich) aktarılmış ve 4 gün süresince 4 °C'de destile suya karşı yıkanarak reaksiyona girmemiş MA ve diğer safsızlıklar uzaklaştırılmıştır. Ardından çözelti liyofilizatörde (-80 °C, 1 gün) kurutulmuştur.

2.5. Alg-MA/HA-MA Hidrojeli Sentezi

Çalışmanın bu aşamasında, Alg-MA ve HA-MA (AH) hidrojel serbest radikal katılma polimerizasyon yöntemi ile sentezlenmiştir (Bencherif ve ark., 2012; Shih ve ark., 2018). Bu kapsamda, Alg-MA (40 mg) polimeri destile su (940 µL) içeren cam vial içerisine konulmuş ve 50 °C'de 1 sa süresince karıştırılmıştır. Eş zamanlı olarak HA-MA (40 mg) polimeri de destile su (940 µL) içeren cam vial içerisine konulmuş ve 50 °C'de 1 sa süresince karıştırılmıştır. Takiben bu iki karışım birleştirilmiş ve 30 dk boyunca oda sıcaklığında karıştırılmıştır. Radikalik başlatıcı olarak APS (40 µL, 140 mg/L) ilave edilmiştir. Karışıma hızlandırıcı olarak TEMED (80 µL, 70 mg/L) eklenmiştir. Ardından, karışım hızlıca pipet yardımı ile 96 kuyulu plakalara alınmış -20 °C'deki buzdolabına yerleştirilmiştir. 24 sa sonunda hidrojeller oda sıcaklığında tutulmuş ve yapılarındaki suyun eriyerek yapıyı terk etmesi sağlanmıştır. Ardından örnekler destile suda yıkanarak reaksiyona girmemiş başlatıcı, hızlandırıcı ve diğer safsızlıklar uzaklaştırılmıştır. Son olarak, hidrojeller etüvde (WiseVen®) kurutulmuştur.

2.6. Alg-MA/Gel-MA Hidrojel Sentezi

Çalışmanın bu aşamasında, Alg-MA ve Gel-MA (AG) hidrojel serbest radikal katılma polimerizasyon yöntemi ile sentezlenmiştir (Bencherif ve ark., 2012; Shih ve ark., 2018). Bu

kapsamda, Alg-MA (40 mg) polimeri destile su (940 µL) içeren cam vial içerisine konulmuş ve 50 °C'de 1 sa süresince karıştırılmıştır. Eş zamanlı olarak Gel-MA (40 mg) polimeri de destile su (940 µL) içeren cam vial içerisine konulmuş ve 50 °C'de 1 sa süresince karıştırılmıştır. Takiben bu iki karışım birleştirilmiş ve 30 dk boyunca oda sıcaklığında karıştırılmıştır. Radikalik başlatıcı olarak APS (40 µL, 140 mg/L) ilave edilmiştir. Karışıma hızlandırıcı olarak TEMED (80 µL, 70 mg/L) eklenmiştir. Ardından, karışım hızlıca pipet yardımı ile 96 kuyulu plakalara alınmış -20 °C'deki buzdolabına yerleştirilmiştir. 24 sa sonunda hidrojeller oda sıcaklığında tutulmuş ve yapılarındaki suyun eriyerek yapıyı terk etmesi sağlanmıştır. Ardından örnekler destile suda yıkanarak reaksiyona girmemiş başlatıcı, hızlandırıcı ve diğer safsızlıklar uzaklaştırılmıştır. Son olarak, hidrojeller etüvde (WiseVen®) kurutulmuştur.

2.7. Alg-MA/Gel-MA/HA-MA Hidrojel Sentezi

Çalışmanın bu aşamasında, Alg-MA, Gel-MA ve HA-MA (AGH) hidrojel serbest radikal katılma polimerizasyon yöntemi ile sentezlenmiştir (Bencherif ve ark., 2012; Shih ve ark., 2018). Bu kapsamda, Alg-MA (40 mg) polimeri destile su (940 µL) içeren cam vial içerisine konulmuş ve 50 °C'de 1 sa süresince karıştırılmıştır. Eş zamanlı olarak HA-MA (40 mg) polimeri de destile su (940 µL) içeren cam vial içerisine konulmuş ve 50 °C'de 1 sa süresince karıştırılmıştır. Ve Gel-MA (40 mg) polimeri de destile su (940 µL) içeren cam vial içerisine konulmuş ve 50 °C'de 1 sa süresince karıştırılmıştır. Takiben bu üç karışım birleştirilmiş 30 dk boyunca oda sıcaklığında karıştırılmıştır. Radikalik başlatıcı olarak APS (40 µL, 140 mg/L) ilave edilmiştir. Karışıma hızlandırıcı olarak TEMED (80 µL, 70 mg/L) eklenmiştir. Ardından, karışım hızlıca pipet yardımı ile 96 kuyulu plakalara alınmış -20 °C'deki buzdolabına yerleştirilmiştir. 24 sa sonunda hidrojeller oda sıcaklığında tutulmuş ve yapılarındaki suyun eriyerek yapıyı terk etmesi sağlanmıştır. Ardından örnekler destile suda yıkanarak reaksiyona girmemiş başlatıcı, hızlandırıcı ve diğer safsızlıklar uzaklaştırılmıştır. Son olarak, hidrojeller etüvde (WiseVen®) kurutulmuştur.

2.8. İlaç Yüklü Olan Alg-MA, Gel-MA ve HA-MA'dan Hazırlanan Hidrojel Sentezi

İlaç yüklü AGH (AGH-TS) hidrojel serbest radikal katılma polimerizasyon yöntemi ile sentezlenmiştir (Bencherif ve ark., 2012; Shih ve ark., 2018). Bu kapsamda, Alg-MA (40 mg) polimeri destile su (940 µL) içeren cam vial içerisine konulmuş ve 50 °C'de 1 sa süresince karıştırılmıştır. Eş zamanlı olarak HA-MA (40 mg) polimeri de destile su (940 µL) içeren cam vial içerisine konulmuş ve 50 °C'de 1 sa süresince karıştırılmıştır. Ve Gel-MA (40 mg) polimeri de destile su (940 µL) içeren cam vial içerisine konulmuş ve 50 °C'de 1 sa süresince karıştırılmıştır. Takiben bu üç karışım birleştirilmiş ve TS (50 µL, 25 mg/L) eklenerek 30 dk boyunca oda sıcaklığında karıştırılmıştır. Radikalik başlatıcı olarak APS (40 µL, 140 mg/L) ilave edilmiştir. Karışıma hızlandırıcı olarak TEMED (80 µL, 70 mg/L) eklenmiştir. Ardından,

karışım hızlıca pipet yardımı ile 96 kuyulu plakalara alınmış -20 °C'deki buzdolabına yerleştirilmiştir. 24 sa sonunda hidrojeller oda sıcaklığında tutulmuş ve yapılarındaki suyun eriyerek yapıyı terk etmesi sağlanmıştır. Ardından örnekler destile suda yıkanarak reaksiyona girmemiş başlatıcı, hızlandırıcı ve diğer safsızlıklar uzaklaştırılmıştır. Son olarak, hidrojeller etüvde (WiseVen®) kurutulmuştur.

2.9. AH, AG ve AGH Hidrojellerinin Karakterizasyonu

Fourier dönüşüm kızılötesi spektroskopisi (ATR-FTIR, Bruker, Almanya) cihazı yardımıyla polimer yapılarının kimyasal spektrum analizi 500-4500 cm⁻¹ dalga boyunda gerçekleştirilmiştir. Proton nükleer manyetik rezonans (¹H-NMR, 600 MHz, Agilent, Almanya) cihazı yardımıyla polimerlerin yapılarının kimyasal spektrum analizi D₂O'da 25 °C'de gerçekleştirilmiştir. Taramalı elektrom mikroskopu (SEM, QUANTA FEG 450, USA) cihazı yardımıyla polimer yapıların morfolojik özellikleri belirlenmiştir. Polimer yapılar analiz öncesinde altın/paladyum karışımı ile kaplanmıştır. Örneklerin termal davranışları diferansiyel taramalı kalorimetre (DSC, Mettler-Toledo/DSC1/700, USA) cihazı yardımıyla belirlenmiştir. Analizler, 30 mL/dk azot akışı altında, -50-600 °C arasında 10 °C/dk ısıtma hızı ile gerçekleştirilmiştir.

2.10. AH, AG ve AGH Hidrojellerinin Su Tutma Özelliklerinin İncelenmesi

Hazırlanan hidrojellerin su tutma özellikleri PBS tamponunda (pH: 7,4) ve 37 °C'de gerçekleştirilmiştir. Başlangıç kuru ağırlığı bilinen örnekler 10 mL PBS tamponu içeren cam vial içerisinde 24 sa süre ile bekletilmiştir. Denge ağırlığına ulaşan hidrojellerin üzerindeki yüzey suyu filtre kâğıdı ile uzaklaştırılıp tartılmıştır. Hidrojel örneklerin şişme miktarları aşağıdaki eşitlik kullanılarak belirlenmiştir (Özbaş ve ark., 2021);

$$\text{Su tutma kapasitesi} = \frac{W_{\text{şişmiş}} - W_{\text{kuru}}}{W_{\text{şişmiş}}} \quad (2.1)$$

Burada, W_{kuru} hidrojel örneklerin kuru haldeki ağırlığı, $W_{\text{şişmiş}}$ ise denge şişme ağırlığına ulaşmış hidrojel örneklerin ağırlığıdır. Her örnek için 3 tekrar çalışılmıştır.

2.11. AH, AG ve AGH Hidrojellerinin Hidrolitik Bozunma Özelliklerinin İncelenmesi

Hazırlanan hidrojellerin hidrolitik bozunma özellikleri PBS tamponunda (pH: 7,4) ve 37 °C'de gerçekleştirilmiştir. Başlangıç kuru ağırlığı bilinen örnekler 10 mL PBS tamponu içeren cam

vial içerisinde belirlenen sürelerde (1, 3 ve 7 gün) bekletilmiştir. Takiben, çıkarılan örnekler kurutulmuş ve tartımları alınmıştır. Kalan kütleleri üzerinden hidrojel örneklerin % hidrolitik bozunma oranları aşağıdaki eşitlik kullanılarak belirlenmiştir (Tamahkar ve ark., 2021);

$$\text{Kalan Kütle (\%)} = 100 - \frac{W_{ilk} - W_{son}}{W_{ilk}} \times 100 \quad (2.2)$$

Burada, W_{ilk} hidrojel örneklerin ilk kuru ağırlığı, W_{son} ise belirlenen süre sonundaki hidrojel örneklerin kuru ağırlığıdır. Her örnek için 3 tekrar çalışılmıştır.

2.12. AGH-TS Hidrojelinin *In-vitro* İlaç Salım Özelliklerinin İncelenmesi

TS yüklü AGH hidrojel örneklerinin *in-vitro* salım çalışmaları PBS tamponunda (pH: 7,4) ve 37 °C'de gerçekleştirilmiştir. AGH-TS hidrojel örneği 200 mg olacak şekilde tartılıp içerisinde 5 mL PBS içeren cam vial içerisine konulmuştur. Takiben salım ortamından 0,5; 1; 2; 3; 5; 7. ve 24. saatlerde 200 µL örnek alınmış ve yerine 200 µL taze fosfat tampon çözeltisi eklenmiştir. Örneğin ilaç salım miktarı spektrofotometrik olarak belirlenmiştir. Bu amaçla öncelikle farklı miktarlarda TS içeren çözeltilerin absorbans değerleri, UV-vis spektrofotometri cihazında (Shimadzu UV-1800) 276 nm dalga boyunda okunarak kalibrasyon eğrisi oluşturulmuştur. Belirli zaman aralıklarında alınan örneklerin absorbans değerleri belirlendikten sonra elde edilen kalibrasyon eğrisi kullanılarak salım miktarları belirlenmiştir. Takiben, kümülatif salım profili oluşturulmuştur. Örnek 3 tekrar çalışılmıştır.

2.13. AGH ve AGH-TS Hidrojellerinin Antibakteriyel Özelliklerinin İncelenmesi

AGH ve AGH-TS hidrojellerinin Gram negatif *Escherichia Coli* (*E. Coli*), ve Gram pozitif *Staphylococcus aureus* (*S. Aureus*), *Staphylococcus epidermidis* (*S. Epidermidis*) referans suşlarına karşı *in-vitro* antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi amacıyla agar disk difüzyon yöntemi kullanılmıştır (Özkahraman ve ark., 2021; Tamahkar ve ark., 2020). İlk olarak, ön canlandırma amacıyla Trypton Soy Brot besiyerinde 37 °C'de 24 sa süre ile kültürler inkübe edilmiştir. Takiben, ortam 0,5 McFarland standart ile $1,5 \times 10^8$ CFU/mL'ye ayarlanmıştır. Hazırlanan bakteri süspansiyonundan Müller Hinton agar besiyeri üzerine yayma plak yöntemi ile ekim yapılmıştır. Örnekler Müller Hinton agar plakalarının yüzeyine yerleştirilmiş ve 37 °C'de 24 sa süre ile inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonucunda örneklerin etrafındaki inhibisyon bölgesi çapı kumpas yardımıyla ölçülmüştür. Antimikrobiyel test için pozitif kontrol olarak antibiyotik yüklü disk, negatif kontrol olarak ilaç yüklü olmayan hidrojel örnek kullanılmıştır. *In-vitro* antibakteriyel aktivite testleri Hitit Üniversitesi Bilimsel Teknik Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde hizmet alımı yöntemiyle gerçekleştirilmiştir.

2.14. AGH ve AGH-TS Hidrojellerinin Hücre Canlılık Özelliklerinin İncelenmesi

Tez kapsamında sentezlenen AGH ve AGH-TS hidrojellerinin *in vitro* hücre canlılığı (3-[4,5-Dimetiltiazol-2-il]-2,5-difenil tetrazolium bromür) (MTT) kolorimetrik yöntemi ile L929 hücre hattı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. %10 Fetal Sığır Serum (FBS), %1 Penisilin-Streptomisin, %1 L-Glutamin içeren Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM) kültür ortamı hazırlanmıştır ve 37 °C'de %5 CO₂'li ortamda 96 kuyucuklu hücre kültür kabında inkübe edilmiştir. Thiazolyl Blue Tetrazolium Bromide PBS içerisinde çözünerek 10 mg/mL olacak şekilde MTT çözeltisi hazırlanmıştır. Hidrojel numunelerin üzerine 1 cm²/mL oranı ile kültür ortamı eklenerek 24 saat 37 °C'de %5 CO₂'li ortamda inkübe edilmesi sağlanmıştır. Takiben, numunelerin bulunduğu kültür ortamı aynı miktarda DMEM ile seyreltilmesi sağlanmıştır. Hücre kültürü ortamı, 100 µL taze ortam ve 50 µL taze MTT çözeltileri ile değiştirilmiş ve 24 sa sürence inkübe edilmiştir. Kuyucuklar ELISA plaka okuyucusu tarafından 570 nm'de bir SpectraMax 190 mikroparka okuyucu (Molecular Devices, Sunnyvale, CA) kullanılarak okunmuştur. Bağıl hücre canlılığı (%) aşağıdaki gibi hesaplanmıştır

$$\text{Hücre yaşayabilirliği \%} = \frac{[A]_{\text{örnek}}}{[A]_{\text{kontrol}}} \times 100 \quad (2.3)$$

In-vitro hücre canlılığı testleri Hitit Üniversitesi Bilimsel Teknik Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde hizmet alımı yöntemiyle gerçekleştirilmiştir.

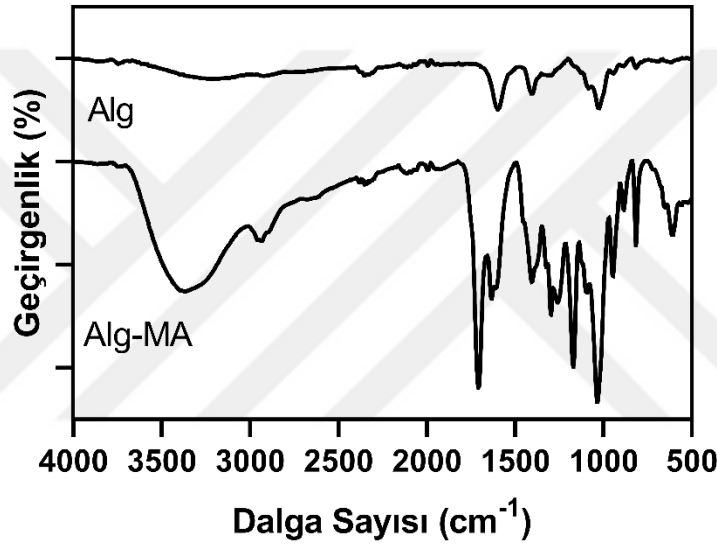
3. BÖLÜM

BULGULAR VE TARTIŞMA

3.1. Alg-MA Polimerinin Yapısal Karakterizasyonu

3.1.1. FTIR Analizi

Sunulan tez çalışması kapsamında, Bölüm 2.2’de anlatıldığı gibi elde edilen Alg’nin GMA ile modifikasyon reaksiyonu sonucu Alg-MA polimerinin kimyasal yapısı FTIR analizi ile aydınlatılmıştır. Şekil 3.1’de saf Alg ve Alg-MA polimerlerine ait FTIR spektrumları sunulmuştur.



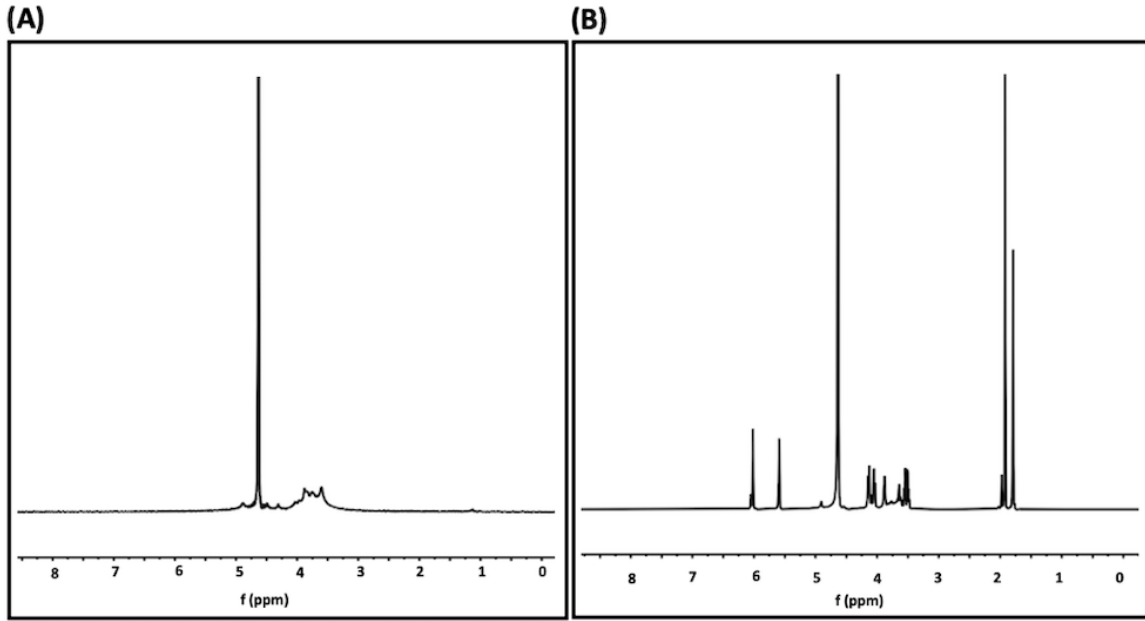
Şekil 3.1. Saf Alg ve Alg-MA polimerlerine ait FTIR spektrumları

Saf Alg polimerine ait FTIR spektrumu incelendiğinde; 3429 cm⁻¹, 1620 cm⁻¹ ve 1421 cm⁻¹e gözlenen gelen pikler sırasıyla hidroksil (O-H) gerilme titreşimi, karbonil (C=O) asimetrik gerilme titreşimi ve karboksil (-COOH) simetrik gerilme titreşiminden kaynaklanmaktadır (Suhail ve ark., 2021). Alg-MA polimerine ait FTIR spektrumu incelendiğinde ise; saf Alg piklerine ek olarak Alg-MA’ya ait spektrumda görülen 1730 cm⁻¹’de ester grubuna ait olan karbonil (C=O) gerilmesi Alg ve GMA arasındaki metakrilasyon reaksiyonunun başarı ile gerçekleştiğini göstermektedir (Cordero ve ark., 2022).

3.1.2. ¹H-NMR Analizi

Sunulan tez çalışması kapsamında, Bölüm 2.2’de anlatıldığı gibi Alg’nin GMA ile modifikasyon reaksiyonu sonucu elde edilen Alg-MA polimerinin kimyasal yapısı ¹H-NMR analizi ile

aydınlatılmıştır. Şekil 3.2’de saf Alg ve Alg-MA polimerlerine ait $^1\text{H-NMR}$ spektrumları sunulmuştur.



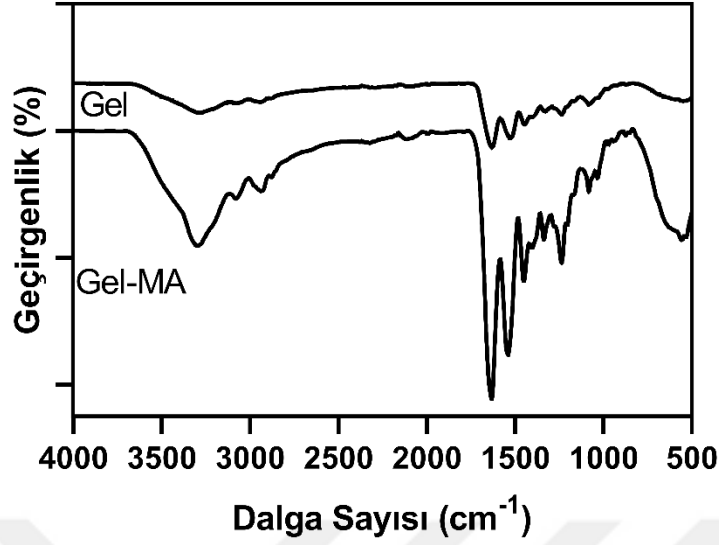
Şekil 3.2. (A) Saf Alg ve (B) Alg-MA polimerlerine ait $^1\text{H-NMR}$ spektrumu

Saf Alg ve Alg-MA polimerlerine ait $^1\text{H-NMR}$ spektrumları karşılaştırıldığında; Alg-MA polimerinde saf Alg polimerinden farklı yeni sinyaller gözlenmiştir. Alg-MA polimer ürününde yer alan vinil gruplarına ait protonlar 5,6 ve 6,1 ppm’de ve metil gruplarına ait protonlar 1,8 ve 2,0 ppm’de gözlenmiştir (Cordero ve ark., 2022; Zhao ve ark., 2021). $^1\text{H-NMR}$ ve FTIR spektrumları incelendiğinde metakrilasyon reaksiyonunun başarılı bir şekilde gerçekleştiği gözlemlenmiştir.

3.2. Gel-MA Polimerinin Yapısal Karakterizasyonu

3.2.1. FTIR Analizi

Sunulan tez çalışması kapsamında, Bölüm 2.3’te anlatıldığı gibi elde edilen Gel-MA polimerinin kimyasal yapısı FTIR analizi ile aydınlatılmıştır. Şekil 3.3’te saf Gel ve Gel-MA polimerlerine ait FTIR spektrumları sunulmuştur.

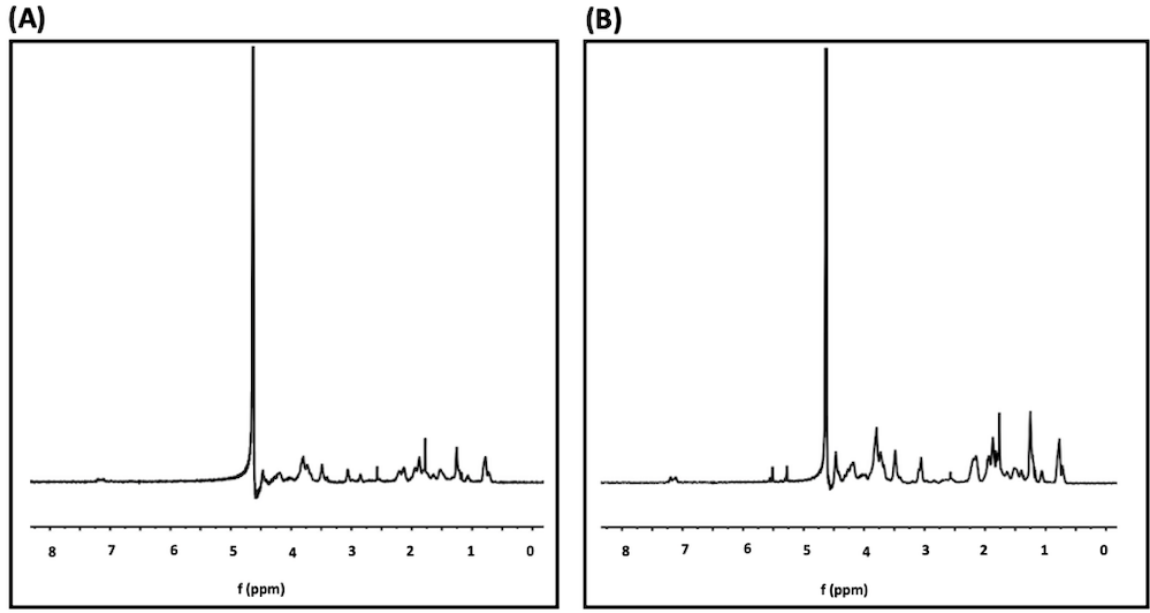


Şekil 3.3. Saf jelatin ve Gel-MA polimerlerine ait FTIR spektrumları

Saf Gel polimerine ait FTIR spektrumu incelendiğinde; 3413 cm^{-1} , 1653 cm^{-1} , 1541 cm^{-1} ve 1238 cm^{-1} 'e gözlenen gelen pikler sırasıyla N-H bağının gerilme titreşimi, C=O bağının gerilme titreşimi (Amid I), N-H bağının eğilme titreşimi (Amid II) ve N-H bağının gerilme titreşiminden (Amid III) kaynaklanmaktadır (El-Aassar ve ark., 2021; Sharma ve ark., 2013). Gel-MA polimerine ait FTIR spektrumu incelendiğinde ise saf Gel'de yer alan amid piklerinin şiddetlerinin arttığı görülmektedir. Bununla birlikte, $3200\text{-}3400\text{ cm}^{-1}$ 'de gözlemlenen geniş band Gel ve MA arasındaki metakrilasyon reaksiyonundan kaynaklanan (-NH) peptit gruplarının gerilme titreşimini göstermektedir (Elkhoury ve ark. 2021; Farasatkia ve ark., 2021).

3.2.2. $^1\text{H-NMR}$ Analizi

Sunulan tez çalışması kapsamında, Bölüm 2.3'te anlatıldığı gibi elde edilen Gel-MA polimerinin kimyasal yapısı $^1\text{H-NMR}$ analizi ile aydınlatılmıştır. Şekil 3.4'te saf Gel ve Gel-MA polimerlerine ait $^1\text{H-NMR}$ spektrumları sunulmuştur.



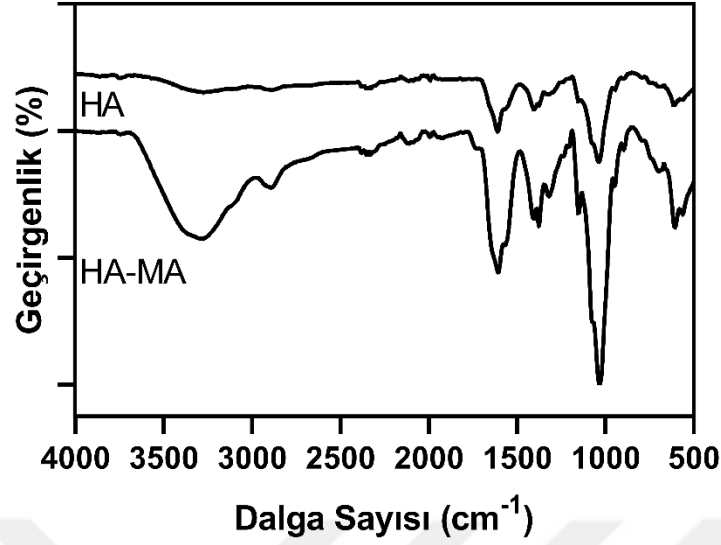
Şekil 3.4. (A) Saf Gel ve (B) Gel-MA polimerlerine ait $^1\text{H-NMR}$ spektrumları

Saf Gel ve Gel-MA polimerlerine ait $^1\text{H-NMR}$ spektrumları karşılaştırıldığında; Gel-MA polimerinde saf Gel polimerinden farklı yeni sinyaller gözlenmiştir. Modifiye edilmiş ürün olan Gel-MA polimerinde 5,5-6,4 ppm ve 1,8-2,1 ppm'de gözlenen sinyaller sırasıyla MA yapısında bulunan metilen fonksiyonel gruplarına ait akrilik ve metil vinil proton çiftlerinden kaynaklanmaktadır (Olate-Moya ve ark., 2020; Tytgat ve ark., 2019). $^1\text{H-NMR}$ ve FTIR spektrumları incelendiğinde metakrilasyon reaksiyonunun başarılı bir şekilde gerçekleştiği gözlemlenmiştir.

3.3. HA-MA Polimerinin Yapısal Karakterizasyonu

3.3.1. FTIR Analizi

Sunulan tez çalışması kapsamında, Bölüm 2.4'te anlatıldığı gibi elde edilen HA-MA polimerinin kimyasal yapısı FTIR analizi ile aydınlatılmıştır. Şekil 3.5'te saf HA ve HA-MA polimerlerine ait FTIR spektrumları sunulmuştur.

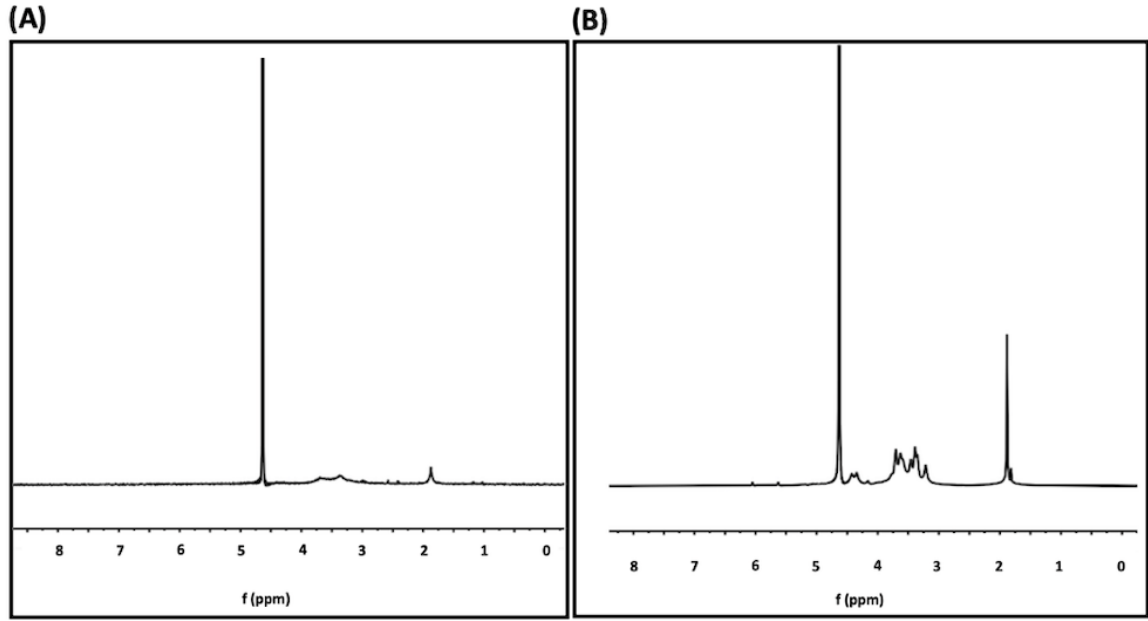


Şekil 3.5. Saf HA ve HA-MA polimerlerine ait FTIR spektrumu

Saf HA polimerine ait FTIR spektrumu incelendiğinde; 1614 cm^{-1} ve 1414 cm^{-1} gözlenen pikler (-COO-) karboksilat gruplarının simetrik ve asimetrik gerilme titreşimine atfedilirken 1048 cm^{-1} 'e gözlenen gelen pik C-O-C gerilme titreşiminden kaynaklanmaktadır (Yin ve ark., 2019). HA-MA polimerine ait FTIR spektrumu incelendiğinde ise; saf HA piklerine ek olarak 1725 cm^{-1} 'de metakrilat grubuna ait olan ester bağı karbonil (C=O) gerilmesi HA ve GMA arasındaki metakrilasyon reaksiyonunun başarı ile gerçekleştiğini göstermektedir (Velasco-Rodriguez ve ark., 2021).

3.3.2. $^1\text{H-NMR}$ Analizi

Sunulan tez çalışması kapsamında, Bölüm 2.4'te anlatıldığı gibi elde edilen HA-MA polimerinin kimyasal yapısı $^1\text{H-NMR}$ analizi ile aydınlatılmıştır. Şekil 3.6'da saf HA ve HA-MA polimerlerine ait $^1\text{H-NMR}$ spektrumları sunulmuştur.



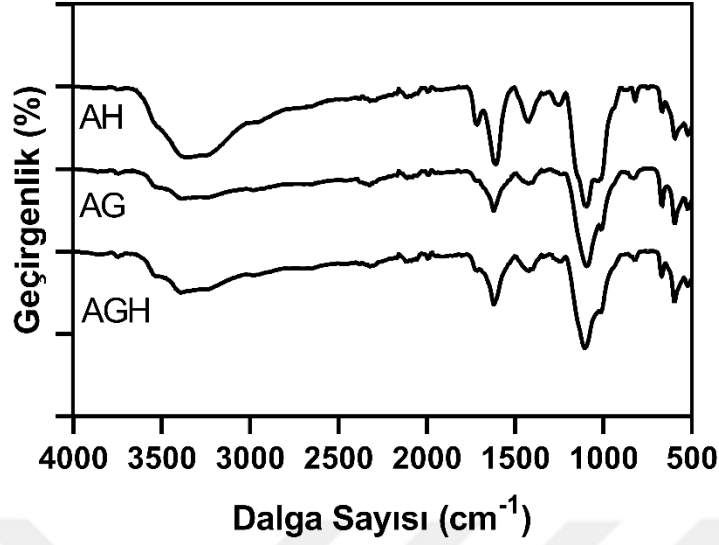
Şekil 3.6. (A) Saf HA ve (B) HA-MA polimerlerine ait ^1H -NMR spektrumu

Saf HA ve HA-MA polimerlerine ait ^1H -NMR spektrumları karşılaştırıldığında; HA-MA polimerinde saf HA polimerinden farklı yeni sinyaller gözlenmiştir. Modifiye edilmiş ürün olan HA-MA polimerinde 5,7-6,1 ppm ve 1,-2,0 ppm'de gözlenen sinyaller sırasıyla GMA yapısında bulunan metilakrilat fonksiyonel gruplarına ait (CH_2) metil ve (CH_3) metilen protonlarından kaynaklanmaktadır (Sang ve ark., 2022; Tücking ve ark., 2018). ^1H -NMR ve FTIR spektrumları incelendiğinde metakrilasyon reaksiyonunun başarılı bir şekilde gerçekleştiği gözlemlenmiştir.

3.4. Hidrojel Yara Örtüsünün Karakterizasyonu

3.4.1. FTIR Analizi

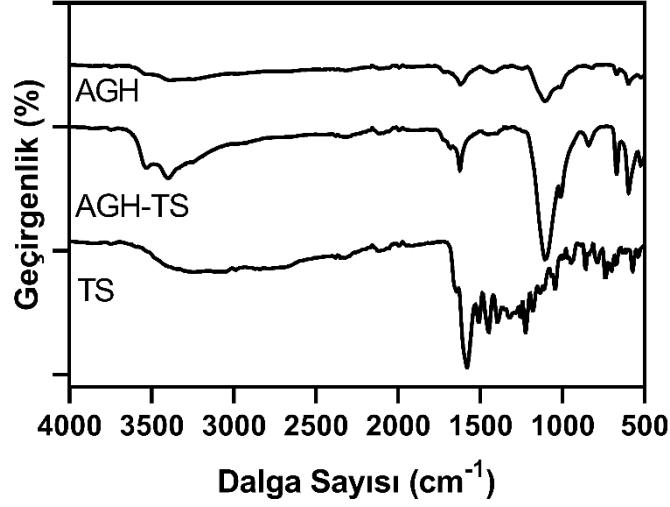
Bölüm 2.6, 2.7 ve 2.8'de ayrıntılı bir şekilde belirtildiği gibi sentezlenen AG, AH ve AGH hidrojel yara örtülerinin FTIR analizleri 2.9'da anlatıldığı şekilde gerçekleştirilmiştir. Elde edilen ürünlerin FTIR spektrumları Şekil 3.7'de sunulmuştur.



Şekil 3.7. AH, AG ve AGH hidrojel yara örtü malzemelerine ait FTIR spektrumları

AH polimerine ait FTIR spektrumu incelendiğinde, Alg-MA ve HA-MA ürününe ait 1730 cm^{-1} ve 1725 cm^{-1} 'de ester grubu (C=O) karbonil gerilmesine piklerinin polimerizasyon sonrası şiddetlerinin azaldığı görülmektedir (Zhao ve ark., 2014; Zhao ve ark., 2015; Kamaraj ve ark., 2021). AG polimerine ait FTIR spektrumuna bakıldığında, benzer şekilde Alg-MA ve Gel-MA ürününe ait 1730 cm^{-1} ester grubu (C=O) karbonil gerilmesine pikinin polimerizasyon sonrası şiddetlerinin azaldığı gözlemlenmektedir (Kamaraj ve ark., 2021; Cordero ve ark., 2022).

Bölüm 2.8 ve 2.9'da ayrıntılı bir şekilde belirtildiği gibi sentezlenen AGH ve ilaç yüklü AGH-TS hidrojel yara örtülerinin ve antibiyotik etken ajan olarak kullanılan TS'nin FTIR analizleri 2.9'da anlatıldığı şekilde gerçekleştirilmiştir. Elde edilen ürünlerin FTIR spektrumları Şekil 3.8'de sunulmuştur.

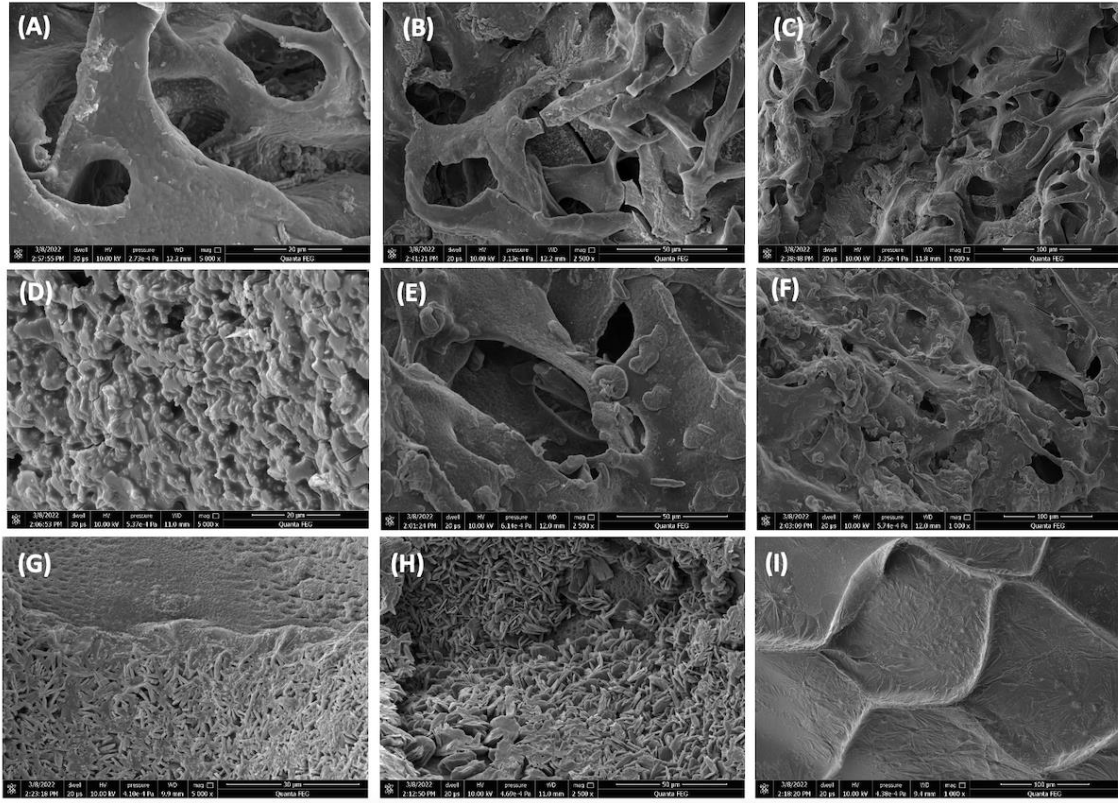


Şekil 3.8. AGH ve AGH-TS hidrojel yara örtü malzemelerine ve TS'ye ait FTIR spektrumları

AGH (ilaç yüksüz hidrojel) ve AGH-TS (ilaç yüklü hidrojel) spektrumları karşılaştırıldığında, AGH-TS spektrumundaki aromatik halkanın 1745 cm^{-1} (C=O) ve $1650\text{-}1600\text{ cm}^{-1}$ (C=C), ve amid grubun $1250\text{-}1200\text{ cm}^{-1}$ (N-H ve C-N) pik yoğunluğunun önemli ölçüde arttığı gözlenmiştir. Bu durum TS'nin aromatik benzen halkasının fonksiyonel grupları ve ilacın amid grubu yapısına atfedilmiştir (Sousa ve ark., 2008; Moghaddam ve ark., 2019). Bu durum TS'nin hidrojel yapıya başarı ile dahil edildiğini göstermektedir.

3.4.2. SEM Analizi

Bölüm 2.6, 2.7 ve 2.8'de ayrıntılı bir şekilde belirtildiği gibi sentezlenen AG, AH ve AGH hidrojel yara örtülerinin SEM analizleri 2.9'da anlatıldığı şekilde gerçekleştirilmiştir. Elde edilen ürünlerin SEM görüntüleri Şekil 3.9'de sunulmuştur.

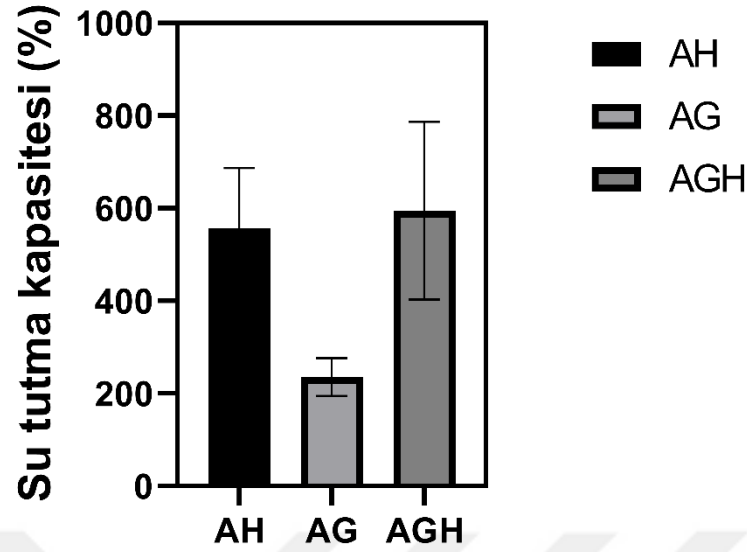


Şekil 3.9. AG (A, B, C), AH (D, E, F) ve AGH (G, H, I) hidrojel yara örtü malzemelerine ait SEM görüntüleri (5000X, 2500X ve 1000X büyütme)

Şekil 3.9'da AG, AH ve AGH hidrojellerinin 5000, 2500 ve 1000 büyütmeli SEM görüntüleri bulunmaktadır. Örneklere ait gözenek çapları SEM fotoğrafları ImageJ adlı program ile belirlenmiştir (<https://imagej.nih.gov/ij/download.html>). Bunun için her bir örnek için en az 3 SEM fotoğrafı ve 20 gözenek kullanılmıştır. AG, AH ve AGH hidrojellerine ait gözenek çapları sırasıyla $2,73 \pm 1,24 \mu\text{m}$; $28,75 \pm 9,84 \mu\text{m}$; $1,74 \pm 0,74 \mu\text{m}$ olarak bulunmuştur. Tez çalışması kapsamında üretilen AG, AH ve AGH hidrojel yara örtülerinden, AH hidrojelinin morfolojik görünümün AG ve AGH hidrojeline göre daha büyük gözeneklere sahip olduğu görülmektedir. AG ve AGH hidrojelleri ise daha küçük gözeneklerden oluşan daha gözenekli bir yapıya sahiptir. Bunun nedeni daha viskoz olan HA polimerinin yapıya dahil olması ile açıklanmaktadır (Ström ve ark., 2015; Bavaresco ve ark., 2020).

3.4.3. Su Tutma Kapasitesi

AG, AH ve AGH hidrojel yara örtülerinin su tutma kapasiteleri Bölüm 2.11'de ayrıntılı bir şekilde belirtildiği şekilde gerçekleştirilmiş ve Eşitlik 2.1 yardımıyla hesaplanmıştır. Elde edilen su tutma kapasite sonuçları Şekil 3.10'da sunulmuştur. Elde edilen veriler ve bu verilerin standart sapma ve bağıl standart sapma değerleri hesaplanmıştır.

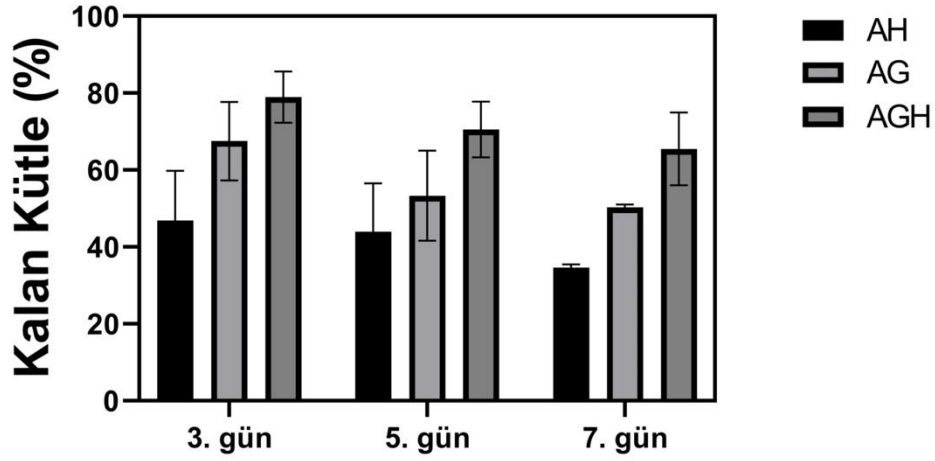


Şekil 3.10. AH, AG ve AGH hidrojel yara örtü malzemelerine ait su tutma kapasitesi sonuçları

Yara örtü malzemesi olarak kullanmak amacıyla geliştirilen hidrojellerin sahip oldukları yüksek oranda su tutma kapasitesi yara eksudalarının absorplanmasını sağlamaktadır (Chen ve ark., 2021). Bununla birlikte, hidrojel yara örtülerinin ideal su tutma özelliğinden dolayı yara iyileşmesi için uygun nem ortamı ve yara bölgesine yüksek esneklik sağlanması nedeniyle önem taşımaktadır (Wu ve ark., 2017; Gorska ve ark., 2021). Şekil 3.10'da görüldüğü gibi, en yüksek su tutma kapasitesi değerine AGH hidrojel yara örtüsü sahiptir, onu sırasıyla AH ve AG hidrojelleri takip etmektedir. Bu hidrojel yara örtülerinin denge su tutma kapasiteleri sırasıyla, $235,18 \pm 40,17$, $556,92 \pm 130,20$ ve $594,68 \pm 192,08$ 'dir. Jellerin şişme davranışlarında yapıdaki hidrofilik grup miktarı, çapraz bağlanma oranı ve poröz yapının etkili olduğu bilinmektedir (Khorshidi ve Karkhaneh, 2016). AG ve AH hidrojel yapıları karşılaştırıldığında, aynı oranda Alg-MA içermelerine rağmen AH hidrojelinde şişme miktarı yaklaşık 2 katı fazla olduğu görülmektedir. Bunun nedeni, yapıdaki HA'nın Gel'e göre daha yüksek oranda hidrofilik karaktere sahip olması ve dolayısıyla su bağlama özelliğinin iyi olması ile açıklanabilir (Zhang ve ark., 2011; Möller ve ark., 2011). Terpolimerik yapıda bulunan AGH hidrojel yara örtüsünün üstün su tutma kapasitesinin ise yapıda bulunan farklı hidrofilik fonksiyonel (-COO-, -OH, -NH₂ ve -CONH) gruplardan kaynaklandığı düşünülmektedir (Noh ve ark., 2019).

3.4.4. Hidrolitik Bozunma Hızı

AG, AH ve AGH hidrojel yara örtülerinin hidrolitik bozunma çalışmaları Bölüm 2.12'de ayrıntılı bir şekilde belirtildiği şekilde gerçekleştirilmiş ve Eşitlik 3.2 yardımıyla hesaplanmıştır. Elde edilen bozunma hızı (%) sonuçları Şekil 3.11'de sunulmuştur. Elde edilen veriler ve bu verilerin standart sapma ve bağıl standart sapma değerleri hesaplanmıştır.



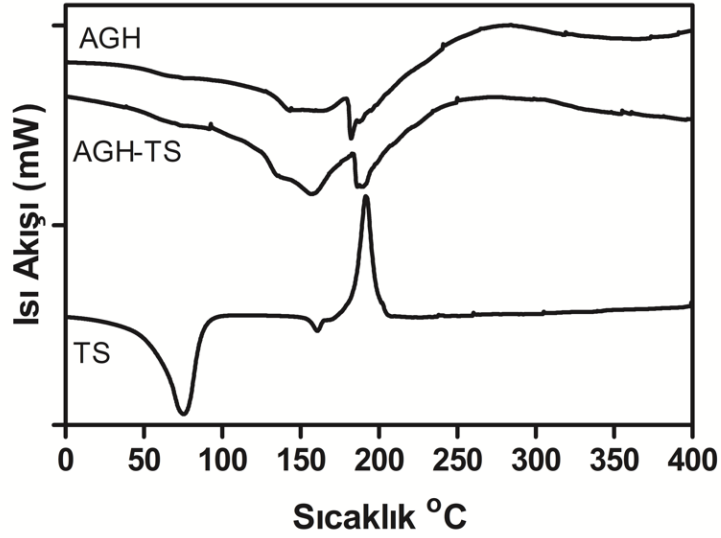
Şekil 3.11. AH, AG ve AGH hidrojel yara örtü malzemelerine ait hidrolitik degradasyon sonuçları

Hidrojel yara örtülerinin *in vitro* koşullarda hidrolitik bozunma profilleri incelendiğinde 3. günde AH, AG, AGH sırasıyla 46,84±12,93; 67,52±10,19 (%); 78,97±6,67; 5. günde AH, AG, AGH sırasıyla 43,93±12,62; 53,32±11,67; 70,51±7,24 8 (%); 7. günde AH, AG, AGH sırasıyla 34,63±0,78; 50,30±0,72; 65,48±9,47 (%) olduğu görülmektedir. HA polimerinin AH hidrojelinin degradasyonunu hızlandırdığı gözlenmektedir, literatür ile uyumlu olan bu bulgunun nedeni HA'nın zayıf mekanik özellikleri ile ilişkilendirilmiştir (Zhou ve ark., 2014; Yang ve ark., 2019; Si ve ark., 2019).

Tez çalışması kapsamında; ideal bir yara örtüsü geliştirmek için yara eksüdasını absorplama özelliği, nemli bir yara bölgesi sağlama yeteneği ve yüksek miktarda su tutma ile hidrolitik bozunma hızı çalışmaları sonucunda seçilen AGH hidrojel yara örtüsü ile ileri analiz ve değerlendirmelere devam edilmiştir.

3.4.5. Termal Analizi

Bölüm 2.8 ve 2.9'da ayrıntılı bir şekilde belirtildiği gibi sentezlenen AGH ve ilaç yüklü AGH-TS hidrojel yara örtülerinin ve antibiyotik etken ajan olarak kullanılan TS'nin DSC analizleri 2.9'da anlatıldığı şekilde gerçekleştirilmiştir. Elde edilen ürünlerin DSC termogramları Şekil 3.12'de sunulmuştur.

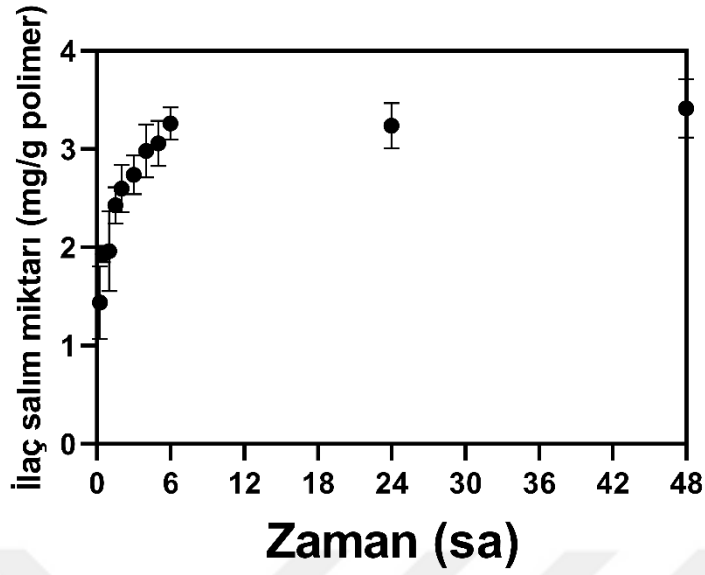


Şekil 3.12. AGH, AGH-TS ve AGH-TS hidrojel yara örtü malzemelerine ait DSC termogramları

Şekil 3.12’de görüldüğü gibi TS’in DSC termogram eğrisinde, 160 °C’de görülen keskin endotermik pik ilacın erime değerine atfedilmektedir ve bu değer literatür bulguları ile uyumlu olduğu belirlenmiştir (Hsiung ve ark., 2022). Polimerik yapıya ilaç ilavesi ile elde edilen AGH-TS hidrojelinin DSC termogramında ise bozunma sıcaklığında küçük bir değişim gözlenmiştir. Bu durum ilacın bir miktar kristal yapısını koruduğunu göstermektedir (Hsiung ve ark., 2022). AGH ve AGH-TS hidrojel yapılarında 50-120 °C’de görülen geniş endoterm pikleri polimerik yapıda gerçekleşen su kaybına atfedilmektedir (Daud ve ark., 2021).

3.5. İlaç Salım Çalışması

Bölüm 2.9’da ayrıntılı bir şekilde belirtildiği gibi sentezlenen ilaç yüklü AGH-TS hidrojel yara örtüsünün ilaç salımı Bölüm 2.13’te belirtildiği gibi gerçekleştirilmiştir. Elde edilen ilaç salım sonuçları Şekil 3.13’te sunulmuştur. Elde edilen veriler ve bu verilerin standart sapma ve bağıl standart sapma değerleri hesaplanmıştır.

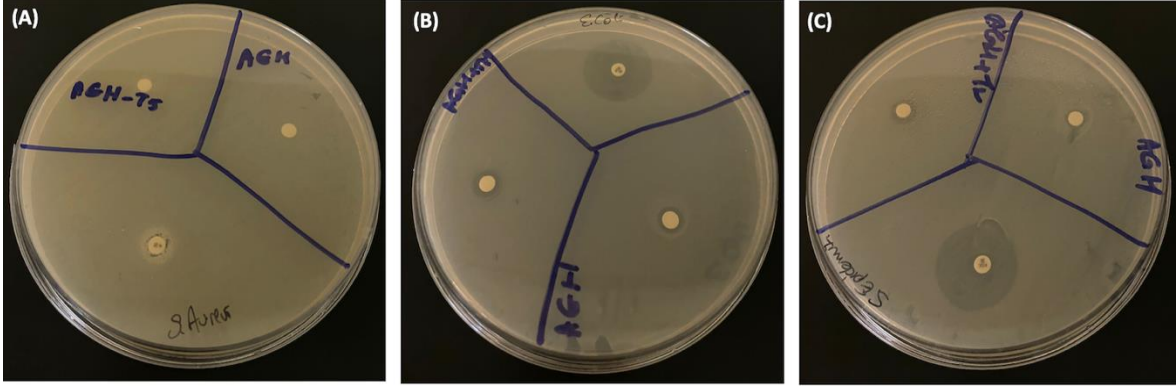


Şekil 3.13. AGH-TS hidrojel yara örtü malzemesine ait ilaç salım sonuçları

AGH-TS hidrojelinin *in vitro* koşullarda salım profilleri incelendiğinde; 0,25, 0,5, 1, 2, 3, 5, 7, 24 ve 48 saat sonunda sırasıyla $1,43\pm0,37$, $1,93\pm0,08$, $1,96\pm0,40$, $2,43\pm0,18$, $2,60\pm0,23$, $2,73\pm0,19$, $2,98\pm0,27$, $3,05\pm0,23$, $3,26\pm0,16$, $3,23\pm0,22$, ve $3,41\pm0,29$ mg ilaç/g polimer salımı gerçekleştiği görülmektedir. İlaç salım miktarı 7. ve 48. saatler arasında çok önemli bir artış göstermemiştir, bu durum 7. saatten sonra ilaç salım sisteminin dengeye ulaştığını göstermektedir. Bu sonuçlara göre AGH-TS hidrojelinin ani salım (burst release) profili sergilediği görülmektedir. Benzer sonuçlar literatürde rapor edilmiştir (Taghizadeh ve ark., 2019; Saha ve ark., 2020; Petrova ve ark., 2019; Anbazhagan ve ark., 2018). Alemdar, 2016 yılında yaptığı çalışmada, Gel/Alg/HA ve kemik külü ile hazırladığı kompozit filmde pH 7,4'te salım sonuçlarının yüksek değerde olmasının nedenini kompozit yapıda bulunan $-COO^-$ anyonlarının elektrostatik itme kuvvetinin yüksek olmasından kaynaklandığını belirtmiştir (Alemdar, 2016).

3.6. Antibakteriyel Aktivite Çalışması

Bölüm 2.8 ve 2.9'da ayrıntılı bir şekilde belirtildiği gibi sentezlenen AGH ve ilaç yüklü AGH-TS hidrojel yara örtülerinin antibakteriyel aktivite testi 2.14'te anlatıldığı şekilde gerçekleştirilmiştir. Elde edilen ürünlerin antibakteriyel test sonuçları Şekil 3.14'te ve Tablo 3.1'de sunulmuştur.

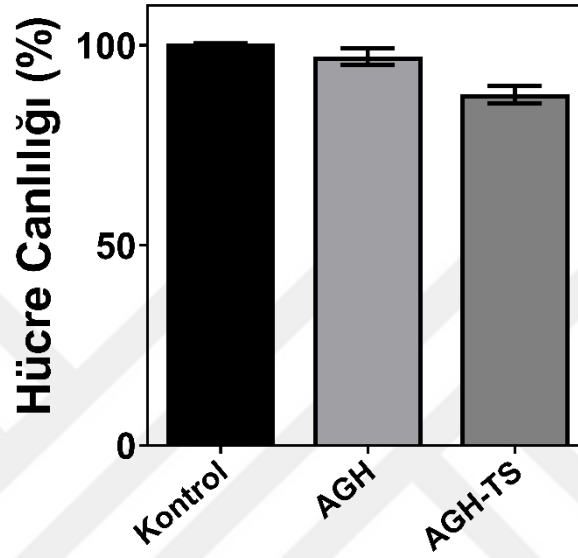


Şekil 3.14. AGH ve AGH-TS hidrojel yara örtü malzemelerine ait antimikrobiyal aktivite sonuçları, (A) *S. Aureus*, (B) *E. Coli*, ve (C) *S. Epidermidis*.

AGH ve AGH-TS hidrojel yara örtü malzemelerinin antibakteriyel aktivitesi disk difüzyon testi ile 37 °C ve 24 saatlik inkübasyon sonucunda *S. Aureus*, *E. Coli* ve *S. Epidermidis* bakterilerine karşı belirlenmiştir. Şekil 3.14-A incelendiğinde gram pozitif bir bakteri olan *S. Aureus* bakterisine karşı örneklerin antibakteriyel aktivite göstermediği saptanmıştır. Buna karşın gram negatif bir bakteri olan *E. Coli* bakterisi için AGH ve AGH-TS hidrojel örnekleri sırasıyla 10,24 ve 11,25 mm inhibasyon zon çapı göstermiştir (Şekil 3.14-B). Aynı örneklerin gram pozitif bir bakteri olan *S. Epidermidis* için 8,55 (AGH) ve 11,66 (AGH-TS) mm inhibasyon zon çapı belirlenmiştir (Şekil 3.14-C). Beklenildiği üzere, antibiyotik etken maddesi olan TS içeren hidrojel örneğin her iki bakteri için de *E. Coli* ve *S. Epidermidis* daha iyi inhibasyon zon çapına sahip olduğu gözlemlenmiştir. Literatürde yer alan çalışmalar elde edilen bulguları desteklemektedir. Javanbakht ve arkadaşları yaptıkları çalışmada TS içeren karboksimetil sellüloz yara örtü malzemelerinin *E. Coli* ve *S. Aureus* bakterilerine karşı sırasıyla 1,3 ve 1,7 cm inhibasyon zon çapı görülmüştür (Javanbakht ve ark., 2021). Moghaddam ve arkadaşlarının 2019 yılında gerçekleştirdiği çalışmada, TS yüklü pektin temelli hidrojeller sentezlenmiştir. İlaç salım sistemlerinde kullanılmak üzere elde edilen hidrojellerin *E. Coli* ve *S. Aureus* bakterilerine karşı sırasıyla 16,56±0,5 ve 14,58±0,4 mm inhibasyon zon çapı gözlemlenmiştir (Moghaddam ve ark., 2019). Parsa ve arkadaşları gerçekleştirdikleri çalışmada TS içeren kitosan nanoparçacıkları PVA hidrojel matris içerisine eklemiş ve biyomedikal uygulamalarda kullanılmak üzere tasarlamışlardır. Etkin antibakteriyel özellik gösterdiği belirtilen çalışmada, hidrojellerin *E. Coli* ve *S. Aureus* bakterilerine karşı sırasıyla 10 ve 13 mm inhibasyon zon çapı tespit edilmiştir (Parsa ve ark., 2019). Elektro-eğirme yöntemi ile hazırlanan farklı miktarda TS yüklü PVA/kitosan yara örtü malzemelerinin *E. Coli* ve *S. Aureus* bakterilerine karşı 3-8 mm inhibasyon zon çapı belirlenmiştir ve TS miktarı arttıkça inhibasyon zon çapının arttığı gözlemlenmiştir (Bakhsheshi-Rad ve ark., 2020).

3.7. Hücre Canlılığı Çalışması

Bölüm 2.8 ve 2.9'da ayrıntılı bir şekilde belirtildiği gibi sentezlenen AGH ve ilaç yüklü AGH-TS hidrojel yara örtülerinin MTT analizi 2.14'te anlatıldığı şekilde gerçekleştirilmiştir. Elde edilen ürünlerin MTT analiz sonuçları Şekil 3.15'te sunulmuştur.



Şekil 3.15. AGH ve AGH-TS hidrojel yara örtü malzemelerine ait MTT analiz sonuçları

L929 hücreleri ile 24 sa inkübe edilen AGH ve AGH-TS yara örtü örneklerinde sırasıyla %97,16±2,06 ve %87,70±2,22 yaşayabilirlik görülmüştür. Etken madde yüklü olan AGH-TS örneğinin sitotoksitesi değerlendirildiğinde toksik olmadığı ancak biyouyumluluğun etken madde yüklü olmayan AGH örneğine göre daha düşük olduğu gözlemlenmiştir.

SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Sunulan tez çalışması kapsamında yara örtü malzemesi olarak kullanmak amacıyla antibiyotik etken maddesi yüklü Aljinat-jelatin-hyaluronik asit sodyum tuzu temelli hidrojel sentezlenmiştir. Gerçekleştirilen çalışmalar ve elde edilen bulgular aşağıda özetlenmiştir.

- Aljinat, jelatin ve hyaluronik asit sodyum tuzu metakrilasyon reaksiyonları sonucunda elde edilen ürünler FTIR ve ¹H-NMR spektroskopisi ile karakterize edilmiştir.
- Aljinat metakrilat-jelatin metakrilat (AG), aljinat metakrilat- hyaluronik asit metakrilat (AH) ve aljinat metakrilat-jelatin metakrilat-hyaluronik asit metakrilat (AGH) hidrojjeleri sentezlenmiş ve takiben tetrasiklin yüklü AGH hidrojel hazırlanmıştır.
- *In vitro* salım çalışmaları 37 °C ve PBS ortamında gerçekleştirilmiştir ve 7. sa sonuna 3,41±0,29 mg ilaç/g polimer salım gerçekleştiği gözlemlenmiştir.
- Antibakteriyel özellikleri *S. Aureus*, *E. Coli* ve *S. Epidermidis* bakterilerine karşı değerlendirilmiş ve antibiyotik etken madde içeren hidrojel örneğinin *E. Coli* ve *S. Epidermidis*'e karşı daha iyi inhibasyon zon çapına sahip olduğu gözlemlenmiştir.
- Biyouyumluluk çalışmaları L929 hücre hattı kullanılarak gerçekleştirilmiş ve AGH ve AGH-TS yara örtü örneklerinde sırasıyla %97,16±2,06 ve %87,70±2,22 hücre yaşayabilirliği tespit edilmiştir.

Tez kapsamında gerçekleştirilen deneylerin sonuçları değerlendirildiğinde, tasarlanan antibiyotik etken maddesi yüklü aljinat metakrilat-jelatin metakrilat-hyaluronik asit metakrilat hidrojel yapıdaki yara örtü malzemesinin bir alternatif olarak değerlendirilebileceği düşünülmektedir.

KAYNAKÇA

- Alemdar, N. (2016). Fabrication of a novel bone ash-reinforced gelatin/alginate/hyaluronic acid composite film for controlled drug delivery. *Carbohydrate Polymers*, 151, 1019-1026.
- Altay, P., and Başal, G. (2010). Yara örtüleri. *Tekstil Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 4(1), 109-121.
- Alven, S., Aderibigbe, B. A. (2021). Hyaluronic Acid-Based Scaffolds as Potential Bioactive Wound Dressings. *Polymers*, 13(13), 2102.
- Anbzhagan, S., and Thangavelu, K. P. (2018). Application of tetracycline hydrochloride loaded-fungal chitosan and Aleo vera extract based composite sponges for wound dressing. *Journal of Advanced Research*, 14, 63-71.
- Araiza-Verduco, F., Rodriquez-Velazquez, E., Cruz, H., Rivero, I. A., Acosta-Martiez, D. R., Pina-Luis, G., and Alatorre-Meda, M. (2020). Photocrosslinked Alginate-Methacrylate Hydrogels with Modulable Mechanical Properties: Effect of the Molecular Conformation and Electron Density of the Methactylate Reactive Group. *Materials*, 13(3), 534.
- Arif, M. M., Khan, S. M., Gull, N., Tabish, T. A., Zia, S., Khan, R. U., and Butt, M. A. (2021). Polymer-based biomaterials for chronic wound management: Promises and challenges. *International Journal of Pharmaceutics*, 598, 120270.
- Asmaz, A. (2010). Polimer kaplı manyetik nanopartiküller üzerinde ilaç salınımının incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Atiyeh, B. S., Gunn, W. S., Hayek, S. N. (2005). State of the Art in Burn Treatment, *World Journal of Surgery*, 29, 131-148.
- Bakhsheshi-Rad, H. R., Ismail, A. F., Aziz, M., Akbari, M., Hadisi, Z., Omid, M., and Chen, X. (2020). Development of the PVA/CS nanofibers containing silk protein sericin as a wound dressing: In vitro and in vivo assessment. *International Journal of Biological Macromolecules*, 149, 513-521.
- Bal-Öztürk, A., Özkahraman, B., Özbaş, Z., Yaşayan, G., Tamahkar, E., Alarçin, E. (2021). Advancements and future directions in the antibacterial wound dressings-A review. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, 109(5), 703-716.
- Başar, H. (2006). Organik kökenli doğal absorbanlarla kontrollü ilaç salınımı. Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Bavaresco, B., Comín, R., Salvatierra, N. A., and Cid, M. P. (2020). Three-dimensional printing of collagen and hyaluronic acid scaffolds with dehydrothermal treatment crosslinking. *Composites Communications*, 19, 1-5.
- Bencherif, S. A., Sands, R. W., Bhatta, D., Arany, P., Verbeke, C. S., Edwards, D. A., and Mooney, D. J. (2012). Injectable preformed scaffolds with shape-memory properties. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(48), 19590-19595.
- Chen, T. Y., Wen, T. K., Dai, N. T., and Hsu, S. H. (2021). Cryogel/hydrogel biomaterials and acupuncture combined to promote diabetic skin wound healing through immunomodulation. *Biomaterials*, 269, 120608.
- Cordero, M., Ruiz, C., Palacio, D. A., Turunen, P., Rowan, A., and Urbano, B. F. (2022). Effect of low aspect ratio one-dimensional nanoparticles on properties of photocrosslinked alginate nanocomposite hydrogels. *International Journal of Biological Macromolecules*, 204, 635-643.
- Cordero, M., Ruiz, C., Palacio, D. A., Turunen, P., Rowan, A., and Urbano, B. F. (2022). Effect of low aspect ratio one-dimensional nanoparticles on properties of photocrosslinked alginate nanocomposite hydrogels. *International Journal of Biological Macromolecules*, 204, 635-643.

- D'arrigo, G., Di Meo, C., Geissler, E., Coviello, T., Alhaique, F., and Matricardi, P. (2012). Hyaluronic acid methacrylate derivatives and calcium alginate interpenetrated hydrogel networks for biomedical applications: physico-chemical characterization and protein release. *Colloid and Polymer Science*, 290(15), 1575-1582.
- Daud, H., Ghani, A., Iqbal, D. N., Ahmad, N., Nazir, S., Muhammad, M. J., and Iqbal, M. (2021). Preparation and characterization of guar gum based biopolymeric hydrogels for controlled release of antihypertensive drug. *Arabian Journal of Chemistry*, 14(5), 103111.
- Davoodi, P., Lee, L. Y., Xu, Q., Sunil, V., Sun, Y., Soh, S., Wang, C-H. (2018). Drug Delivery Systems for Programmed and on-demand Release, *Advanced Drug Delivery Reviews*, 132, 104-138.
- Dhivya, S., Padma, V. V., Santhini, E. (2015). Wound dressings-a review. *BioMedicine*, 5, 22.
- Dong, R., Guo, B. (2021) Smart wound dressings for wound healing. *Nanotoday*, 41, 101290.
- El-Aassar, M. R., Ibrahim, O. M., Fouda, M. M., Fakhry, H., Ajarem, J., Maodaa, S. N., and Hafez, E. E. (2021). Wound dressing of chitosan-based-crosslinked gelatin/polyvinyl pyrrolidone embedded silver nanoparticles, for targeting multidrug resistance microbes. *Carbohydrate Polymers*, 255, 117484.
- Elkhoury, K., Morsink, M., Tahri, Y., Kahn, C., Cleymand, F., Shin, S. R., and Sanchez-Gonzalez, L. (2021). Synthesis and characterization of C2C12-laden gelatin methacryloyl (GelMA) from marine and mammalian sources. *International Journal of Biological Macromolecules*, 183, 918-926
- Ellis, S., Lin, J. E., Tartar, D. (2018). Immunology of Wound Healing. *Curr Dermatol Rep*, 7(4), 350-358.
- Farasatkia, A., Kharaziha, M., Ashrafizadeh, F., and Salehi, S. (2021). Transparent silk/gelatin methacrylate (GelMA) fibrillar film for corneal regeneration. *Materials Science and Engineering: C*, 120, 111744.
- Gaspar-Pintiliescu, A., Stanciuc, A-M., Craciunescu, O. (2019). Natural composite dressings based on collagen gelatin and plant bioactive compounds for wound healing: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 138, 854-865.
- Górska, A., Krupa, A., Majda, D., Kulinowski, P., Kurek, M., Węglarz, W. P., and Jachowicz, R. (2021). Poly (vinyl alcohol) cryogel membranes loaded with resveratrol as potential active wound dressings. *AAPS PharmSciTech*, 22(3), 1-14.
- Graça, M. F. P., Miguel, S. P., Cabral, C. S. D., Correia, I. J. (2020). Hyaluronic acid-Based wound dressings: A review. *Carbohydrate Polymers*, 241, 116364.
- Gürsoy, A. Z., and Sistemleri, K. S. (2002). *Transdermal Sistemler*. Kontrollü Salım Sistemleri Derneği Yayını, İstanbul.
- Hanna, J. R., and Giacomelli, J. A. (1997). A review of wound healing and wound dressing products. *The Journal of Foot and Ankle Surgery*, 36(1), 2-14.
- Hettiaratcy, S., Dziewulski, P. (2004). Pathophysiology and types of burns, *Clinical Review*, 328.
- Hsiung, E., Celebioglu, A., Chowdhury, R., Kilic, M. E., Durgun, E., Altier, C., and Uyar, T. (2022). Antibacterial nanofibers of pullulan/tetracycline-cyclodextrin inclusion complexes for Fast-Disintegrating oral drug delivery. *Journal of Colloid and Interface Science*, 610, 321-333.
- Javanbakht, S., Nabi, M., Shadi, M., Amini, M. M., and Shaabani, A. (2021). Carboxymethyl cellulose/tetracycline@ UiO-66 nanocomposite hydrogel films as a potential antibacterial wound dressing. *International Journal of Biological Macromolecules*, 188, 811-819.
- Kamaraj, M., Sreevani, G., Prabusankar, G., and Rath, S. N. (2021). Mechanically tunable photo-cross-linkable bioinks for osteogenic differentiation of MSCs in 3D bioprinted constructs. *Materials Science and Engineering: C*, 131, 112478.

- Khorshidi, S., and Karkhaneh, A. (2016). A self-crosslinking tri-component hydrogel based on functionalized polysaccharides and gelatin for tissue engineering applications. *Materials Letters*, 164, 468-471.
- Kurtoğlu, A. H., ve Karataş, A. (2009). Yara tedavisinde güncel yaklaşımlar: modern yara örtüleri. *Ankara Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 38(3), 211-232.
- Li, S., Dong, S., Xu, W., Tu, S., Yan, L., Zhao, C., Ding, J. (2018). Antibacterial Hydrogels, *Advances Science*, 5(5), 1700527.
- Lima, T. P. L., Passos, M. F. (2021). Skin wound, the healing process, and hydrogel-based wound dressing: a short review. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, 32(14), 1910-1925.
- Liu, J., Jiang, W., Xu, Q., Zheng, Y. (2022). Progress in Antibacterial Hydrogels Dressing, *Gels*, 8(8), 503.
- Moghaddam, R. H., Dadfarnia, S., Shabani, A. M. H., Moghaddam, Z. H., and Tavakol, M. (2019). Electron beam irradiation synthesis of porous and non-porous based hydrogels for a tetracycline drug delivery system. *Materials Science and Engineering: C*, 102, 391-404.
- Möller, L., Krause, A., Dahlmann, J., Gruh, I., Kirschning, A., and Drager, G. (2011). Preparation and evaluation of hydrogel-composites from methacrylated hyaluronic acid, alginate, and gelatin for tissue engineering. *Int J Artif Organs*, 34(2), 93-102.
- Ndlovu, S. P., Ngece, K., Alven, S., Aderibigbe, B. A. (2021). Gelatin-Based Hybrid Scaffolds: Promising Wound Dressings. *Polymers*, 13(17), 2959.
- Noh, I., Kim, N., Tran, H. N., Lee, J., and Lee, C. (2019). 3D printable hyaluronic acid-based hydrogel for its potential application as a bioink in tissue engineering. *Biomaterials Research*, 23(1), 1-9.
- Noshadi, I., Hong, S., Sullivan, K. E., Sani, E. S., Portillo-Lara, R., Tamayol, A., and Annabi, N. (2017). In vitro and in vivo analysis of visible light crosslinkable gelatin methacryloyl (GelMA) hydrogels. *Biomaterials Science*, 5(10), 2093-2105.
- Olate-Moya, F., Arens, L., Wilhelm, M., Mateos-Timoneda, M. A., Engel, E., and Palza, H. (2020). Chondroinductive alginate-based hydrogels having graphene oxide for 3D printed scaffold fabrication. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 12(4), 4343-4357.
- Özbaş, Z., Özkahraman, B., Bayrak, G., Kılıç-Süloğlu, A., Perçin, I., Boran, F., Tamahkar, E. (2021). Poly(vinyl alcohol)/(hyaluronic acid-g-kappa carrageenan) hydrogel as antibiotic-releasing wound dressing. *Chemical Papers*, 75(12), 6591-6600.
- Özkahraman, B., Tamahkar, E., İdil, N., Kılıç Suloglu, A., and Perçin, I. (2021). Evaluation of hyaluronic acid nanoparticle embedded chitosan-gelatin hydrogels for antibiotic release. *Drug Development Research*, 82(2), 241-250.
- Parsa, P., Paydayesh, A., and Davachi, S. M. (2019). Investigation the effect of tetracycline addition on nanocomposite hydrogels based on polyvinylalcohol and chitosan nanoparticles for specific medical applications. *International Journal of Biological Macromolecules*, 121, 1061-1069.
- Petrova, V. A., Elokhovskiy, V. Y., Raik, S. V., Poshina, D. N., Romanov, D. P., and Skorik, Y. A. (2019). Alginate Gel Reinforcement with Chitin Nanowhiskers Modulates Rheological Properties and Drug Release Profile. *Biomolecules*, 9(7), 291.
- Saha, K., Dutta, K., Basu, A., Adhikari, A., Chattopadhyay, D., and Sarkar, P. (2020). Controlled delivery of tetracycline hydrochloride intercalated into smectite clay using polyurethane nanofibrous membrane for wound healing application. *Nano-Structure&Nano-Objects*, 21, 100418.
- Sang, S., Yan, Y., Shen, Z., Cao, Y., Duan, Q., He, M., and Zhang, Q. (2022). Photo-crosslinked hydrogels for tissue engineering of corneal epithelium. *Experimental Eye Research*, 218, 109027.

- Sharma, A., Bhat, S., Vishnoi, T., Nayak, V., and Kumar, A. (2013). Three-dimensional supermacroporous carrageenan-gelatin cryogel matrix for tissue engineering applications. *BioMed Research International*, 1-15.
- Shih, T. Y., Blacklow, S. O., Li, A. W., Freedman, B. R., Bencherif, S., Koshy, S. T., and Mooney, D. J. (2018). Injectable, tough alginate cryogels as cancer vaccines. *Advanced Healthcare Materials*, 7(10), 1701469.
- Si, H., Xing, T., Ding, Y., Zhang, H., Yin, R., Zhang, W. (2019). 3D Bioprinting of the Sustained Drug Release Wound Dressing with Double-Crosslinked Hyaluronic-Acid-Based Hydrogels. *Polymers*, 11, 1584.
- Sousa, F. B., Oliveira, M. F., Lula I. S., Sansiviero, M. T. C., Cortes, M. E., and Sinsterra, R. D. (2008). Study of inclusion compound in solution involving tetracycline and B-cyclodextrin by FTIR-ATR. *Vibrational Spectroscopy*, 46(1), 57-62.
- Ström, A., Larsson, A., and Okay, O (2015). Preparation and physical properties of hyaluronic acid-based cryogels. *Journal of Applied Polymer Science*, 132(29), 42194.
- Stubbe, B., Mignon, A., Declercq, H., Vlierberghe, S. V., Dubruel, P. (2019). Development of Gelatin-İlgınçte Hydrogels for Burn Wound Treatment. *Macromolecular Bioscience*, 19(8), 1900123.
- Suhail, M., Li, X. R., Liu, J. Y., Hsieh, W. C., Lin, Y. W., and Wu, P. C. (2021). Fabrication of alginate based microgels for drug-sustained release: In-vitro and in-vivo evaluation. *International Journal of Biological Macromolecules*, 192, 958-966.
- Sutradhar, K. B., Sumi, C. D. (2016). Implantable microchip: the futuristic controlled drug delivery system, *Drug Delivery*, 23(1), 1-11.
- Taghizadeh, M. T., Ashassi-Sorkhabi, H., Afkari, R., and Kazempour, A. (2019). Cross-linked chitosan in nano and bead scales as drug carriers for betamethasone and tetracycline. *International Journal of Biological Macromolecules*, 131, 581-588.
- Tamahkar, E. Özkahraman, B., Kılıç-Süloğlu, A., İdil, N., and Perçin, I. (2020) .A novel multilayer hydrogel wound dressing for antibiotic release. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 58, 101536.
- Tamahkar, E., Özkahraman, B., Özbaş, Z., İzbudak, B., Yarımcan, F., Boran, F., Bal-Öztürk, A. (2021). Aloe vera-based antibacterial porous sponges for wound dressings applications, *Journal of Porous Materials*, 28, 741-750.
- Tavakoli, S., Klar, A. S., (2020). Advanced Hydrogels as Wound Dressings, *Biomolecules*, 10(8), 1169.
- Tücking, K. S., Vasani, R. B., Cavallaro, A. A., Voelcker, N. H., Schönherr, H., and Prieto-Simon, B. (2018). Hyaluronic acid-modified porous silicon films for the electrochemical sensing of bacterial hyaluronidase. *Macromolecular Rapid Communications*, 39(19), 1800178.
- Tytgat, L., Van Damme, L., Arevalo, M. D. P. O., Declercq, H., Thienpont, H., Otteveare, H., and Van Vlierberghe, S. (2019). Extrusion-based 3D printing of photo-crosslinkable gelatin and κ-carrageenan hydrogel blends for adipose tissue regeneration. *International Journal of Biological Macromolecules*, 140, 929-938.
- Valenta, C., Auner, B. G. (2004). The use of polymers for dermal and transdermal delivery. *Eur J Pharm Biopharm*, 58(2), 279-289.
- Velasco-Rodriguez, B., Diaz-Vidal, T., Rosales-Rivera, L. C., García-González, C. A., Alvarez-Lorenzo, C., Al-Modlej, A., and Taboada, P. (2021). Hybrid methacrylated gelatin and hyaluronic acid hydrogel scaffolds. Preparation and systematic characterization for prospective tissue engineering applications. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(13), 6758.
- Veld, R. C. O., Walboomers, F., Jansen, J. A., Wagener, F. A. D. T. G. (2020). Design Considerations for Hydrogel Wound Dressings: Strategic and Molecular Advances, *Tissue Engineering Part B: Reviews*, 26, 3.

- Wu, S., Deng, L., Hsia, H., Xu, K., He, Y., Huang, Q., Peng, Y., Zhou, Z., and Peng, C. (2017). Evaluation of gelatin-hyaluronic acid composite hydrogels for accelerating wound healing. *Journal of Biomaterials Applications*, 31(10), 1380-1390.
- Xu, Y., Chen, H., Fang, Y., and Wu, J. (2022). Hydrogel Combined with Phototherapy in Wound Healing. *Advanced Healthcare Materials*, 11(16), 2200494.
- Yang, K. R., Han, Q., Chen, B., Zheng, Y., Zhang, K., Li, Q., Wang, J. C. (2018). Antimicrobial hydrogels: promising materials for medical applications, *International Journal of Nanomedicine*, 13, 2217-2263.
- Yang, W., Xu, H., Lan, Y., Zhu, Q., Liu, Y., Huang, S., Shi, S., Hancharou, A., Tang, B., and Guo, R. (2019). Preparation and characterisation of a novel silk fibroin/hyaluronic acid/sodium alginate scaffold for skin repair. *International Journal of Biological Macromolecules*, 130, 58-67.
- Yin, F., Lin, L., and Zhan, S. (2019). Preparation and properties of cellulose nanocrystals, gelatin, hyaluronic acid composite hydrogel as wound dressing. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, 30(3), 190-201.
- Zhang, F., He, C., Cao, L., Feng, W., Wang, H., Mo, X., and Wang, J. (2011). Fabrication of gelatin-hyaluronic acid hybrid scaffolds with tunable porous structures for soft tissue engineering. *International Journal of Biological Macromolecules*, 48(3), 474-481.
- Zhao, D., Wang, X., Tie, C., Cheng, B., Yang, S., Sun, Z., and Yin, M. (2021). Bio-functional strontium-containing photocrosslinked alginate hydrogels for promoting the osteogenic behaviors. *Materials Science and Engineering: C*, 126, 112130.
- Zhao, L., Gwon, H. J., Lim, Y. M., Nho, Y. C., and Kim, S. Y. (2015). Gamma ray-induced synthesis of hyaluronic acid/chondroitin sulfate-based hydrogels for biomedical applications. *Radiation Physics and Chemistry*, 106, 404-412.
- Zhao, L., Gwon, H. J., Lim, Y. M., Nho, Y. C., and Kim, S. Y. (2014). Hyaluronic acid/chondroitin sulfate-based hydrogel prepared by gamma irradiation technique. *Carbohydrate Polymers*, 102, 598-605.
- Zhou, Z., Chen, J., Peng, C., Huang, T., Zhou, H., Ou, B., Chen, J., Liu, Q., He, S., Cao, D., Huang, H., and Xiang, L. (2014). Fabrication and Physical Properties of Gelatin/Sodium Alginate/Hyaluronic Acid Composite Wound Dressing Hydrogel. *Journal of Macromolecules Science, Part A*, 51(4), 318-325.

