



T.C.

**KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLER ENSTİTÜSÜ**

**GÜMÜŞ VE GLİSİRİZİK ASİT YÜKLENMİŞ POLİ (VİNİL
ALKOL) KRİYOJELLERİNİN YARA ÖRTÜ MALZEMESİ
OLARAK KULLANIMININ İNCELENMESİ**

SELMA USLU

BİYOMÜHENDİSLİK ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Doç. Dr. Murat İNAL

KIRIKKALE-2024



T.C.

**KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLER ENSTİTÜSÜ**

**GÜMÜŞ VE GLİSİRİZİK ASİT YÜKLENMİŞ POLİ (VİNİL
ALKOL) KRİYOJELLERİNİN YARA ÖRTÜ MALZEMESİ
OLARAK KULLANIMININ İNCELENMESİ**

SELMA USLU

BİYOMÜHENDİSLİK ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Doç. Dr. Murat İNAL

KIRIKKALE-2024

Selma USLU tarafından hazırlanan “GÜMÜŞ VE GLİSİRİZİK ASİT YÜKLENMİŞ POLİ(VİNİL ALKOL) KRIYOJELLERİNİN YARA ÖRTÜ MALZEMESİ OLARAK KULLANIMININ İNCELENMESİ” adlı tez çalışması, aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ / OY ÇOKLUĞU ile Kırıkkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyomühendislik Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Doç. Dr. Murat İNAL

Biyomühendislik Anabilim Dalı, Kırıkkale Üniversitesi

İmza.....

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum/onaylamıyorum.

Başkan: Doç. Dr. Aykut Arif TOPÇU

Biyomühendislik Anabilim Dalı, Kırıkkale Üniversitesi

İmza.....

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum/onaylamıyorum

Üye: Doç. Dr. Zehra GÜN GÖK

Biyomühendislik Anabilim Dalı, Kırıkkale Üniversitesi

İmza.....

Tez Savunma Tarihi: 20/09/2024

Jüri tarafından kabul edilen bu tezin Yüksek Lisans Tezi olması için gerekli şartları yerine getirdiğini onaylıyorum.

.....

Prof. Dr. Recep ÇALIN

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYANI

Kırıkkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

(İmza)

(Adı Soyadı)

(Tarih)

ÖZET

GÜMÜŞ VE GLİSİRİZİK ASİT YÜKLENMİŞ POLİ (VİNİL ALKOL) KRİYOJELLERİNİN YARA ÖRTÜ MALZEMESİ OLARAK KULLANIMININ İNCELENMESİ

Kırıkkale Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyomühendislik Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Doç. Dr. Murat İNAL

Mayıs 2024, 77 sayfa

Meyan kökü tıbbi araştırmalar için geçmişten günümüze kadar ilgi odağı olmuştur ve meyan kökünden elde edilen çeşitli ekstraktlar üzerindeki araştırmalar halen devam etmektedir. Meyan kökünün önemli bileşenlerinden biri olan glisirizik asit özellikle antimikrobiyal, antioksidan, antienflamatuvar özellikleri nedeniyle biyomedikal alanda ve farmakolojik çalışmalarda sıklıkla kullanılmaktadır. Glisirizik asit yüklenmiş hidrojel yara yanık tedavisi ve cilt kanseri üzerinde yapılan çeşitli çalışmalarda kullanılmaktadır. Bu alanda yapılan uygulamalar temel olarak, glisirizik asitin etkinliğinin ve işlevselliğinin incelenmesi üzerine yoğunlaşmıştır.

Bu çalışmada biyolojik olarak parçalanabilir olması ve biyouyumluluğu gibi özelliklerinden dolayı sentetik bir polimer poli (vinil alkol) ana bileşen olarak kriyojellerin sentezi amacıyla kullanılmıştır. Gümüş iyonlarının hızlı bir şekilde salınması sonucu sitotoksik etki göstermemesi için ditiyokarbamat kitosan ile kaplanmış formda gümüş nanopartikülleri kriyojellerin içine eklenmiştir. Glisirizik asit ise doğrudan kriyojel yara örtü malzemelerine ilave edilmiştir.

Bu çalışmanın ilk aşamasında meyan kökünden glisirizik asit elde edilmiştir. Elde edilen glisirizik asit fourier dönüşümlü infrared spektroskopisi (FTIR) ile karakterize edilmiştir. İkinci aşamasında ise kitosanın ditiyokarbamat türevi sentezlenmiştir. Daha sonra, karşılaştırma için hem sentezlenmiş ditiyokarbamat kitosan hem de kitosan ile kaplanmış gümüş nanopartiküller elde edilmiştir.

Elde edilen nanopartiküller ultraviyole-görünür bölge (UV-VİS) spektrofotometresi, zeta-sizer analizleri ve taramalı elektron mikroskobu (SEM) çalışmaları ile karakterize edilmiştir. Daha sonra glisirizik asit ve gümüş nanopartikül yüklü poli (vinil alkol) kriyojelleri hazırlanmıştır. Sentezlenen kriyojeller taramalı elektron mikroskobu çalışmaları ve su tutma kapasiteleri ile karakterize edilmiştir.

Elde edilen kriyojellerin antioksidan aktivitesi 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil radikal giderme testi, antibakteriyel etkisi ise modifiye sıvı besiyeri seyreltme metodu ve sitotoksitesi B16-F10 fare melanom hücre hattında 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyumbromür (MTT) testi ile belirlenmiştir.

Meyan kökünün aseton ekstraktından pH 1,2 ve pH 8,3'te meydana gelen çökeltilerin FTIR analizlerine bakıldığında glisirizik asit molekülü ile benzer yerlerde pikler verdiği belirlenmiştir. Sentezlenen kitosan ve ditiyokarbamat kitosan kaplanmış gümüş nanopartiküllerin (AgNP) UV-VİS spektrofotometre sonuçlarında yaklaşık 410 nm'de AgNP'lerin karakteristik piklerini sergilediği görülmüştür. Ayrıca AgNP'lerin hidrodinamik çap ve çoklu dağılım indeksi sonuçlarının birbirine oldukça yakın çıktığı ve zeta potansiyelleri sonuçlarının da nanopartiküllerin kararlı olduğunu doğruladığı belirlenmiştir. Kitosan kaplanmış AgNP'lerin SEM görüntüleri incelendiği zaman görülebilecek düzeyde kümelenme olmadığı fakat ditiyokarbamat kaplanmış AgNP'lerin çubuk benzeri yapılar şeklinde kümelenmeler olduğu açıkça görülmektedir.

Sentezlenen boş PVA ile glisirizik asit ve ditiyokarbamat kaplanmış AgNP yüklü PVA kriyojellerin SEM görüntüleri karşılaştırıldığı zaman eklenen maddelerin kriyojellerin daha yoğun ve daha düzenli bir yapı oluşturmasını sağladığı görülmektedir. PVA kriyojellerin su tutma kapasitesi zamana bağlı olarak incelenmiştir. Kriyojellerin zaman içerisinde su tutma kapasitesinin, glisirizik asit miktarlarının artması ile artış gösterdiği belirlenmiştir. Glisirizik asit içeren kriyojellerin serbest glisirizik asit ile hemen hemen aynı antioksidan aktivite gösterdiği bulunmuştur. Kriyojellerin antibakteriyel aktiviteleri *Staphylococcus aureus* ve *Esheria coli* bakteri türlerine karşı değerlendirilmiştir. Her iki bakteri türü için MIC değerleri sırasıyla 3,84 ve 4,86 µg Ag/mL besiyeri olarak belirlenmiştir. Kriyojellerin *S. aureus* için antibakteriyel etkinliğinin *E. coli*'ye göre daha fazla olduğu görülmüştür.

Kriyojelerin MTT sonuçları incelendiğinde, boş kriyojellerle muamele edilen hücrelerin canlılığını yüksek oranda koruduğu buna karşılık glisirizik asitin ve gümüş nanopartiküllerin kriyojellere ilave edilmesi ile hücre canlılığının azaldığı belirlenmiştir. Özellikle glisirizik asit miktarının artışının sitotoksisiteyi belirgin bir şekilde arttırdığı bulunmuştur.

Bu sonuçlar, ditiyokarbamat kitosan kaplanmış gümüş nanopartiküller ve glisirizik asit yüklenmiş kriyojeller formülasyonlarının yaraların enfeksiyona maruz kalmadan iyileşmesini sağlayacak antioksidan ve antibakteriyel aktivitelere sahip olduğunu göstermektedir. Ayrıca, geliştirilen kriyojel formülasyonları içinde bulunan yüksek miktarda glisirizik asitin B16-F10 fare melanom hücreleri üzerine yüksek oranda sitotoksik etki göstermesi, bu sistemin cilt kanserinin tedavisine yönelik yeni bir yaklaşım tarzı olabileceğini düşündürmektedir.

Anahtar kelimeler: Meyan Kökü, Gümüş, Ditiyokarbamat, Glisirizik asit, Poli (vinil Alkol), Kriyojel, Yara örtüsü

ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE USE OF SILVER AND GLYCYRRHIZIC ACID LOADED POLY (VINYL ALCOHOL) CRYOGELS AS WOUND DRESSING MATERIAL

Kırıkkale University
Graduate School of Natural and Applied
Sciences Department of Defense
Bioengineer, Master's Thesis Supervisor:

Assoc. Doç. Dr. Murat İnal

May 2024, 77 pages

Liquorice root has been the focus of interest for medical research from past to present and research on various extracts obtained from liquorice root is still ongoing. Glycyrrhizic acid, one of the important components of liquorice, is frequently used in biomedical and pharmacological studies, especially due to its antimicrobial, antioxidant and anti-inflammatory properties. Glycyrrhizic acid loaded hydrogels are used in various studies on wound burns treatment and skin cancer. Applications in this field are mainly focused on the investigation of the activity and functionality of glycyrrhizic acid. In this study, a synthetic polymer poly (vinyl alcohol) was used as the main component for the synthesis of cryogels due to its biodegradability and biocompatibility. Silver nanoparticles in the form coated with dithiocarbamate chitosan were added into the cryogels to prevent cytotoxic effect as a result of rapid release of silver ions. Glycyrrhizic acid was added directly to the cryogel wound dressing materials. In the first stage of this study, glycyrrhizic acid was obtained from liquorice root. The obtained glycyrrhizic acid was characterised by Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR). In the second step, dithiocarbamate derivative of chitosan was synthesised. Then, silver nanoparticles coated both with synthesised dithiocarbamate chitosan and chitosan for comparison were obtained.

The obtained nanoparticles were characterised by ultraviolet-visible region (UV-VIS) spectrophotometry, zeta-sizer analysis and scanning electron microscopy (SEM) studies. Then, glycyrrhizic acid and silver nanoparticle loaded poly (vinyl alcohol) cryogels were prepared. The synthesised cryogels were characterised by scanning electron microscopy studies and water retention capacity.

The antioxidant activity of the obtained cryogels was determined by 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl radical scavenging test, antibacterial effect by modified liquid medium dilution method and cytotoxicity by 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5-diphenyltetrazoliumbromide (MTT) test in B16-F10 mouse melanoma cell line.

The FTIR analyses of the precipitates formed from the acetone extract of liquorice root at pH 1.2 and pH 8.3 showed similar peaks with the glycyrrhizic acid molecule. The UV-VIS spectrophotometer results of the synthesised chitosan and dithiocarbamate chitosan coated silver nanoparticles (AgNPs) showed the characteristic peaks of AgNPs at approximately 410 nm. In addition, it was determined that the hydrodynamic diameter and multiple dispersion index results of AgNPs were very close to each other and the zeta potential results confirmed that the nanoparticles were stable. When the SEM images of chitosan coated AgNPs are examined, it is clearly seen that there is no visible clustering, but dithiocarbamate coated AgNPs have clusters in the form of rod-like structures.

When the SEM images of the synthesised empty PVA and glycyrrhizic acid and dithiocarbamate coated AgNP loaded PVA cryogels are compared, it is seen that the added substances provide a denser and more regular structure of the cryogels. The water retention capacity of PVA cryogels was analysed as a function of time. It was determined that the water retention capacity of the cryogels increased with the increase in the amount of glycyrrhizic acid. It was found that glycyrrhizic acid containing cryogels showed almost the same antioxidant activity as free glycyrrhizic acid. The antibacterial activities of cryogels were evaluated against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* bacterial species. MIC values for both bacterial species were determined as 3.84 and 4.86 µg Ag/mL culture medium, respectively. It was observed that the antibacterial activity of cryogels was higher for *S. aureus* than for *E. coli*.

When the MTT results of the cryogels were analysed, it was determined that the cells treated with empty cryogels maintained their viability at a high rate, whereas the cell viability decreased with the addition of glycyrrhizic acid and silver nanoparticles to the cryogels. In particular, it was found that the increase in the amount of glycyrrhizic acid significantly increased the cytotoxicity.

These results show that dithiocarbamate chitosan coated silver nanoparticles and glycyrrhizic acid loaded cryogel formulations have antioxidant and antibacterial activities that will enable wounds to heal without infection. In addition, the high amount of glycyrrhizic acid in the developed cryogel formulations showed a high cytotoxic effect on B16-F10 mouse melanoma cells, suggesting that this system may be a new approach to the treatment of skin cancer.

Key Words: Licorice root, dithiocarbamate chitosan, silver, glycyrrhizic acid, poly (vinyl alcohol), cryogel, dressing.

TEŞEKKÜR

Eğitim hayatım da bana bilgileri ile ışık tutan, tez konumun belirlenmesinden deney alışmalarına kadar her zaman yanımda olup yardımını esirgemeyen, minnet duyduğum yüksek lisans danışmanım sayın Doç. Dr. Murat İnal'a, tez çalışması süresince bize yardımları ile destek veren Doç. Dr. Tuğba Gülsün İnal'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca, Yüksek lisansım ve hayatım boyunca her zaman maddi ve manevi desteklerini hissettiğim babam Kerim Uslu'ya, annem Hatice Uslu'ya, abim Samet Uslu'ya ve ablam Semiha Uslu'ya sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Selma USLU



İÇİNDEKİLER DİZİNİ

ÖZET	iv
ABSTRACT	vii
TEŞEKKÜR.....	x
İÇİNDEKİLER DİZİNİ	xi
ÇİZELGELER DİZİNİ	xiv
ŞEKİLLER DİZİNİ	xv
KISALTMALAR DİZİNİ.....	xvi
1.GİRİŞ.....	1
1.1. DERİ ANATOMİSİ	2
1.2. YARA.....	3
1.2.1. YARA İYİLEŞME SÜRECİ.....	3
1.2.1.1. Eksüdatif Aşama	4
1.2.1.2. Enflamasyon Aşaması.....	4
1.2.1.3. Çoğalma Aşaması.....	5
1.2.1.4. Yeniden Yapılanma:.....	5
1.2.2. Yara Tedavisi	6
1.3. YARA ÖRTÜ MATERYALLERİ.....	7
1.3.1. Yara Örtü Materyallerinin Özellikleri.....	7
1.3.2. Çeşitli Yara Örtü Materyalleri	7
1.3.2.1. Yarı Geçirgen Film Örtüleri.....	8
1.3.2.2. Yarı Geçirgen Köpük Örtüleri	8
1.3.2.3. Hidrojel Örtüler	8
1.3.2.4. Hidrokolloid Örtüler.....	9
1.3.2.5. Biyoaktif Yara Örtüleri	9
1.3.2.6. İlaçlı Örtüler	9
1.4. MEYAN KÖKÜ HAKKINDA GENEL BİLGİLER.....	10
1.5. MEYAN KÖKÜ BİLEŞENLERİ	10

1.6. MEYAN KÖKÜNÜN KULLANIM ALANLARI.....	12
1.7. GLİSİRİZİK ASİT	13
1.8. KİTOSAN	16
1.8.1. Kitosanın Avantajları	17
1.8.2. Kitosanın Dezavantajları.....	18
1.8.3. Ditiyokarbamat Kitosan (DTTC).....	18
1.9. KRİYOJELLER	19
1.9.1. Kriyojellerin Özellikleri.....	20
1.9.2. PVA Kriyojeller	20
1.10. GÜMÜŞ	22
1.10.1. Gümüş Nanopartikül Sentezi.....	22
1.10.1.1. Fiziksel Yöntem	23
1.10.1.2. Kimyasal Yöntem	23
1.10.1.3. Biyolojik Yöntem.....	23
1.10.2. Gümüş Nanopartiküllerin Antimikrobiyal Özellikleri	24
1.11. KONUS İLE İLGİLİ YAPILAN ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	25
2. MATERYAL VE YÖNTEM.....	30
2.1. ÇALIŞMADA KULLANILAN KİMYASAL MADDELER.....	31
2.2. KULLANILAN CİHAZLAR	31
2.3. GLİSİRİZİK ASİT EKSRAKSİYONU.....	31
2.4. DİTİYOKARBOMAT KİTOSAN (DTCC) SENTEZİ	32
2.5. KİTOSAN VE DİTİYOKARBOMAT KİTOSAN İLE STABİLİZE EDİLMİŞ GÜMÜŞ NANOPARTİKÜLLERİN SENTEZİ.....	33
2.6. PVA KRİYOJELLERİN SENTEZİ	34
2.7. NANOPARTİKÜLLERİN VE KRİYOJELLERİN ANTİBAKTERİYEL AKTİVİTE TESTLERİ.....	36
2.8. ANTİOKSİDAN AKTİVİTE TESTİ	37

2.9. KRİYOJELLER İÇİN SU TUTMA KAPASİTESİ TAYİNİ	38
2.10. SİTOTOKSİTE DENEYLERİ	38
2.10.1. Hücrelerin Ekilmesi ve Çoğaltılması.....	38
2.10.2. Hücrelerin Pasajlanması.....	39
2.10.3. Hücre Canlılığının Değerlendirilmesi İçin (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyumbromür) (MTT) Testi.....	39
3. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA	41
3.1. FTIR ANALİZİ	41
3.2. KİTOSAN VE SENTEZLENEN DTCC'NİN C ¹³ -NMR ANALİZİ SONUÇLARI	43
3.3. SENTEZLENEN DTCC'NİN SEM VE EDAX SONUÇLARI	44
3.4. SENTEZLENEN AGNP'LERİN KARAKTERİZASYONU	47
3.5. SENTEZLENEN PVA KRİYOJELLERİN SEM GÖRÜNTÜSÜ	51
3.6. ANTİOKSİDAN AKTİVİTE SONUÇLARI	52
3.7. ANTİBAKTERİYEL AKTİVİTE SONUÇLARI	54
3.8. SU TUTMA KAPASİTESİNİN TAYİNİ	58
3.9. SİTOTOKSİTE	59
4. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	62
KAYNAKÇA.....	64
ÖZGEÇMİŞ	77

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa

3. 1.Kitosan ve DTCC'ye ait C ¹³ -NMR sonuçları	44
3. 2. Elde edilen gümüş nanopartiküllerin hidrodinamik çap, çoklu dağılım indeksi ve zeta potansiyel sonuçları	48
3. 3. Serbest GA, Serbest DTCC-Ag ve Kriyojel içindeki GA'nın µg/mL olarak Antioksidan aktiviteleri	53
3. 4. Chi ve DTCC-AgNP'lerin sıvı kültür ortamında E. coli ve S. aureus için inhibisyon yüzdeleri	55
3. 5.Chi-AgNP ve DTCC-AgNP'lerin MIC100 değerleri	56
3. 6. DTCC-AgNP ve GA içeren kriyojellerin sıvı kültür ortamında E. coli ve S. aureus için inhibisyon yüzdeleri.....	57

ŞEKİLLER DİZİNİ

ŞEKİL

Sayfa

1. 1. YARA İYİLEŞME SÜRECİNİN AŞAMALARI.....	4
1. 2. A) GL VE B) GA.....	14
1. 3. KİTOSANIN MOLEKÜL FORMÜLÜ.....	17
1. 4. DTCC’NİN MOLEKÜL FORMÜLÜ	19
2. 1. GLİSİRİZİK ASİT EKSRAKSİYONU.....	32
2. 2. DTCC SENTEZİ	33
2. 3. KİTOSAN VE DTCC İLE STABİLİZE EDİLMİŞ AGNP'LERİN SENTEZİ ..	34
3. 1. A) PH 1,2’TE ELDE EDİLEN ÇÖKELTİNİN B) PH 8.3’DE ELDE EDİLEN ÇÖKELTİNİN FTIR SPEKTRUMLARI.....	42
3. 2. KİTOSANA AİT C13-NMR GRAFİĞİ	43
3. 3. DTCC'YE AİT C13-NMR GRAFİĞİ.....	44
3. 4.KİTOSANIN X2500BÜYÜTMELİ SEM VE EDAX SONUÇLARI	45
3. 5. DTCC'NİN X2500BÜYÜTMELİ SEM VE EDAX SONUÇLARI.....	46
3. 6. ELDE EDİLEN GÜMÜŞ NANOPARTİKÜLLERİN UV-VİS SPEKTROFOTOMETRE ANALİZLERİ.....	47
3. 7.SENTEZLENEN CHİ-AGNP'LERİN ÇEŞİTLİ BÜYÜTME ORANLARINDAKİ SEM FOTOĞRAFLARI.....	49
3. 8. SENTEZLENEN DTCC-AGNP'LERİN ÇEŞİTLİ BÜYÜTME ORANLARINDAKİ SEM FOTOĞRAFLARI	49
3. 9. BOŞ PVA VE K14 KRİYOJELLERİN SEM GÖRÜNTÜLERİ	51
3. 10.KRİYOJELLERİN SU TUTMA KAPASİTESİ.....	58
3. 11. KRİYOJELLERİN SİTOTOKSİTE SONUÇLARI	60

KISALTMALAR DİZİNİ

DTCC	Ditiokarbamat Kitosan
GA	Glisirizik Asit
GL	Glisirizin
PVA	Polivinil alkol
Chi	Kitosan
AgNP	Gümüş Nanopartikül
SEM	Taramalı Elektron Mikroskobu
TEM	Geçirimli Elektron Mikroskobu
FTIR	Fourier dönüşümlü kızılötesi spektrofotometre
XRD	X-ışını kırınımı
AAS	Atomik absorpsiyon spektroskopisi

1.GİRİŞ

Gelişmiş yara örtüleri, yara mikro ortamını korumak, yeniden epitelleşmeyi kolaylaştırmak ve daha fazla cilt hasarını önlemek için tasarlanmaktadır. Yara örtülerinin gözenekli ve nefes alabilir olması çok önemlidir, bu da dokuların maserasyondan korunmasını ve vücudun doğal süreçlerini kullanarak yara yüzeyindeki ölü dokuların uzaklaştırılmasını teşvik etmek için gaz alışverişine olanak tanımaktadır (Deng, Gould ve Ali 2022).

Yara örtüleri, geleneksel olarak, yara bölgesinde koruyucu bir bariyer eksikliğini telafi etmek ve böylece yarayı dış kontaminasyondan korumak amacıyla uygulanmaktadır. Farklı terapötik komplekslerin birleştirilmesiyle ek fonksiyonellik sağlanarak yara örtü materyallerin özellikleri geliştirilmektedir. Bu nedenle, yalnızca pasif bir bariyer olarak işlev gören klasik yara örtü malzemeleri, aktif bileşenlerin transferine izin verirken koruyucu bir ortam yaratabilen daha teknolojik olarak gelişmiş örtülerle değiştirilmektedir (Mihai, M. Dima, B. Dima ve Holban 2019). Bu amaçla, birçok farklı malzeme kullanılmaktadır, ancak son zamanlarda PVA esaslı kriyojeller yara örtü malzemeleri olarak ilgi görmektedir.

PVA, biyomedikal endüstrisinden büyük ilgi gören özelliklere sahip hidrofilik bir polimerdir. PVA biyoyumlu, biyobozunur ve yarı kristal yapıya sahip bir polimerdir. PVA, kriyojelleşme olarak adlandırılan birkaç donma-çözülme döngüsü kullanılarak fiziksel çapraz bağlanmaya uğrayabilir. Böylece son derece hidrofilik ve kimyasal olarak stabil PVA kriyojelleri üretilebilir. PVA kriyojelleri, yaraları dış çevresel uyarıcılardan ve mekanik kuvvetlerden koruyarak etkili yara örtüleri olarak hizmet eder ve ikincil yaralanma riskini azaltır. Ayrıca, PVA hidrojeller mükemmel oksijen geçirgenliği ve yüksek su tutma kapasiteleri gibi olumlu özellikler sergilerler. Bu özellikler, yeni doku oluşumunu teşvik eden ve genel yara iyileşme sürecini iyileştiren nemli bir ortamın korunmasını kolaylaştırdığı için yara iyileşmesinde özellikle avantajlıdır (Gounden ve Singh 2024).

Doğal bileşikler, özellikle çeşitli bitki türlerinden türetilenler, hayvan modellerinde kutanöz yaraların ve antienflamatuvar değişikliklerin tedavisi üzerine yapılan

Çalışmalarda başarılı bir şekilde kullanılmaktadır. Meyan kökü, Asya ve Güney Avrupa'ya özgü Fabaceae familyasının bir üyesi olan çok yıllık otsu bir bitki olan *Glycyrrhiza glabra*'nın yaygın adıdır. Antik çağlardan beri, özellikle köklerinde bulunan besleyici ve farmakolojik özelliklerinin daha iyi anlaşılması için incelenmiştir. Bu kökler, saponinler, östrojenler, fitosteroller, kumarinler, vitaminler, kalkanlar ve flavonoidler gibi çeşitli biyolojik bileşikler açısından zengindir (Leite vd. 2023).

GA, meyan kökünden elde edilen bir tür doğal farmasötiktir (Zhang vd. 2022). GA, antitümör, antiviral, antibakteriyel ve antienflamatuar dahil olmak üzere çeşitli farmakolojik aktivitelere sahip bir bileşiktir. Kimyasal yapı açısından GA, bir glisiretinik asit molekülü ve iki glukuronik asit molekülünden oluşmaktadır. Bu tür amfifilik yapı, GA'ya misel, vezikül, fibriller ağlar ve hidrojeller gibi farklı yapılarla birleşme yeteneği kazandırmaktadır. Bu birleşmeler arasında, hidrojel formundaki GA enjekte edilebilir ve farklı şekil ve boyutlara uyum sağlayabilir. Bu özellik, GA'yı hidrojellerin yara örtü materyalleri olarak kullanımı için uygun hale getirmektedir (Xu vd. 2023).

Bu tez çalışmasında; yara örtü malzemelerinin önemli bir bileşeni olan PVA kriyojellerinin, gümüş ve glisirik asit yüklemesiyle bu malzemelerin yara iyileşmesi üzerindeki etkilerini ve cilt kanser hücre hattı üzerindeki sitotoksik etkileri araştırılmıştır. Bu çalışma hem tıbbi cihaz endüstrisi hem de tıbbi araştırmalar açısından önemlidir. Çünkü hem yara tedavisine yönelik yeni bir yaklaşım sunarak yara iyileşme sürecini hızlandırmayı hem de içerdiği aktif bileşenler ile cilt kanseri ile etkin bir şekilde mücadele etmeyi hedefleyen bir araştırmadır.

1.1. Deri Anatomisi

Cilt, insanların vücut ağırlığının %12-15'ini oluşturan ve dış etkenlere karşı koruma, bağışıklık ve çevreyle bağlantı kurma gibi bazı hayati işlevleri yerine getiren önemli bir organdır. Cilt, vücudun toplam kan hacminin %30'una kadarını alarak metabolizmayı, sıcaklığı ve kan basıncını düzenleyen yüksek oranda damarlanmış bir dokudur (Garcia-Fernandez vd. 2022). Aynı zamanda termoregülasyonda da rol oynar. Deri üç katmandan oluşur: epidermis, dermis ve hipodermis (deri altı katman). Epiderminin en dış kısmı olan Stratum korneum diğer katmanlara göre nispeten daha fazla su geçirmezdir ve bu nedenle patojenlerin ve diğer yabancı maddelerin vücuda

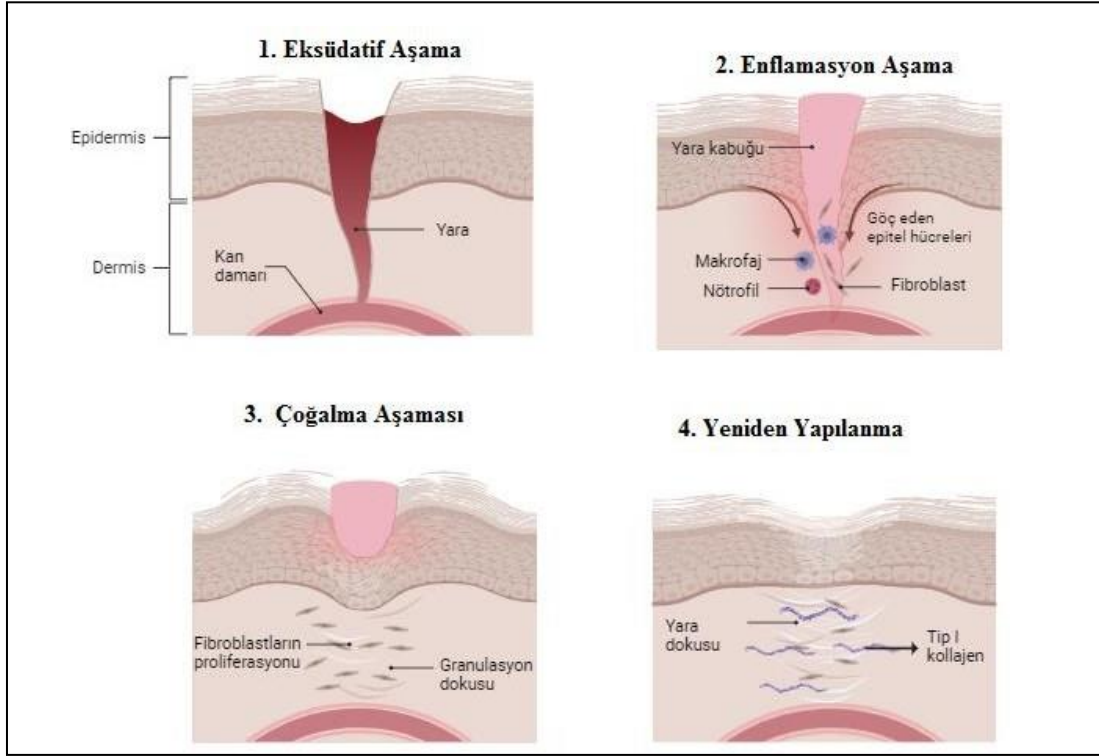
girişini engeller. Bazal membrandan dermise kadar uzanan hücrelerle çok katmanlıdır. Bazal membran, keratinositlere farklılaşan progenitör hücreleri içerir. Epidermis cildin bağışıklık sisteminin bir parçası olan Langerhans hücrelerine sahiptir. Dermis, cildin üç katmanından en kalın olanıdır ve epidermisin hemen altında bulunur. Ekstra hücrel matriks (ECM), fibroblastlar, vasküler endotel hücrelerinin yanı sıra saç folikülleri, ter bezleri, yağ bezleri, kan damarları ve sinir uçlarından oluşan bir bağ dokusudur. Fibroblastlar, kolajen ve elastin salgılayan ve böylece cilde mekanik güç ve elastikiyet sağlayan dermisin ana bileşenidir. Dermisin altında yağ dokusu hipodermis tabakası bulunur. Cilt ile kemik ve kas gibi iskelet yapıları arasında yalıtım ve yastıklama sağlar. Aynı zamanda enerji depolama alanı olarak da hizmet vermektedir (Vig vd. 2017).

1.2. Yara

Yaralar, cilt gibi organlarda ciddi parçalanmalara bağlı olarak anatomik yapı ve fonksiyonlarda meydana gelen herhangi bir bozulma olarak tanımlanabilir. Bu parçalanma, deri altı dokusu, kaslar, tendonlar, sinirler, damarlar ve hatta kemik gibi diğer dokular ve yapılar üzerinde daha fazla yayılabilir. İnsan vücudunun en büyük organı olan cildin, travma veya cerrahi müdahalelerle kolayca yanması veya yaralanması mümkün olduğundan, cilt genellikle hasara maruz kalır. Yaralar genellikle akut veya kronik olarak sınıflandırılır; akut yaralar normal yara iyileşme evrelerinden geçer ve iyileşmenin belirgin işaretlerini dört hafta içinde gösterir, oysa kronik yaralar iyileşme aşamalarında normal ilerleme göstermez ve dört hafta içinde iyileşme belirgin değildir (M.E. Okur, Karantas, Şenyiğit, N.E. Okur, Siafaka 2020)

1.2.1. Yara İyileşme Süreci

Yara iyileşmesi, yapısal ve fonksiyonel cilt dokusu bütünlüğünü yeniden sağlamak için cilt dokusundaki kutanöz hasardan hemen sonra başlayan bir biyolojik süreçtir (Ahmad 2022). Yara iyileşmesi geleneksel olarak dört, aşamaya ayrılır (Şekil 1.1):



Şekil 1. 1. Yara iyileşme sürecinin aşamaları (Biorender ile çizilmiştir)

1.2.1.1. Eksüdatif Aşama

Eksüdatif aşama, aynı zamanda koagülasyon ve hemostaz olarak da adlandırılır, kan kaybını önlemeyi içerir. Bu aşama, hemostatik refleks vazokonstriksiyon ile aşırı kanamanın durdurulması ve çözünmeyen bir fibrin tıkaçı oluşturulması eylemidir ve bu şekilde aşırı kan kaybı önlenir. Kan, kollajen ve diğer ekstraselüler matriks bileşenleri ile temas eder. Bu aşamayı, trombositlerin pıhtılaşma faktörlerini salmak üzere aktive edilmesi izler ve ardından bu faktörlerin birikimi ile bir tıkaç ağ yapısı oluşur, böylece kan kaybı düzenlenir ve önlenir (Kibungu, Kondiah, Kumar ve Choonara 2021)

1.2.1.2. Enflamasyon Aşaması

Bu aşama, kanama kontrol altına alındıktan hemen sonra başlar ve enflamasyonu artırır. Enflamatuar hücrelerin göçü, nötrofiller, lenfositler ve monositlerin infiltrasyonunu içerir. Nötrofiller, hücre kalıntıları ve bakterileri temizlemek ve reaktif oksijen türleri üretmekle sorumludur, böylece yarayı temizlerler. Enflamatuar hücreler ayrıca reaktif oksijen ve azot türlerini özellikle de nötrofilleri üretir. 48 saat sonra, monositlerin infiltrasyonu çevredeki kan damarlarından yaralanma bölgesinde

artar ve daha sonra makrofajlara olgunlaşır. Bu makrofajlar iki tip olabilir: M1 proenflamatuvar ve M2 antienflamatuvar. Bu makrofajlar, yara onarımı için büyüme faktörleri enflamatuvar faktörler ve sitokinler salgılar (Dubey vd. 2022).

1.2.1.3. Çoğalma Aşaması

Çoğalma aşaması, tipik olarak yaralanmadan sonraki 4. ve 21. günler arasında meydana gelir ve kolajen birikimi, çapraz bağlanma ve hücre dışı matrisin yeniden oluşması ile karakterize edilir. Fibroblastlar çoğalır ve büyük sayılarda geçici fibrin matrisine göç eder ve daha sonra yeni doku yapısı için bir iskele görevi görebilecek kolajen, proteoglikanlar ve fibronektinleri sentezlemeye başlar (Goldberg ve Diegelmann 2017).

Yara iyileşmesinin çoğalma aşaması, büyük ölçüde fibroblastların yara yatağına göç etmesine dayanır ve yara bölgesinde kalan trombositler ile makrofajlardan salınan sitokin ve büyüme faktörleri ile gerçekleşir. Fibroblastların ekstraselüler matriks boyunca hareketi, integrin transmembran reseptörlerine, fibronektin, vitronektin ve yaralanma bölgesinde hemostatik tıkaç olarak zaten mevcut olan fibrin üzerindeki spesifik bir amino asit dizisine bağlanmasıyla gerçekleşir. Yara matrisi boyunca daha fazla fibroblast hareketi, hasarlı matris bileşenlerinin daha fazla sindirilmesi ve uzaklaştırılmasını kolaylaştırmak için matriks metalloproteinazların salınmasıyla gerçekleşir. Matriks metalloproteinaz aktivitesinin dengesi ve matris metalloproteinazların doku inhibitörleri tarafından düzenlenmesi hayati önem taşır, böylece doku yıkımından ziyade daha fazla doku birikimi olur. Fibroblastlar, daha sonra yeni ekstraselüler matriks için kolajen, proteoglikanlar, adezyon glikoproteinleri ve diğer önemli bileşenleri üretir (Goldberg ve Diegelmann 2017).

1.2.1.4. Yeniden Yapılanma:

Kollajenin olgunlaşması, yaranın yırtılma direncinde bir artışa yol açar. Bu fazın ana özellikleri epitelyalizasyon ve yara izi oluşumudur. Yeniden şekillenme ve yeniden yapılanma süreçleri bu faz boyunca sürekli olarak devam eder. Örneğin, tip III kollajen daha olgun yarada tip I kollajene dönüşür. Ekstraselüler matriks ve yaranın hücresel yapıları arasındaki etkileşimler, transmembran hücre reseptörleri (integrinler) ve sitokinler tarafından düzenlenir (Kujath ve Michelsen 2008).

1.2.2. Yara Tedavisi

Yara iyileşmesinde yara ortamının nemlendirilmesi yara iyileşme sürecini önemli ölçüde etkilemektedir. Bunun yanında aşırı nem, aşırı hidrasyona neden olur ve cildin normal bariyer fonksiyonuna zarar vererek ülserasyona da sebep olmaktadır. Bu bağlamda, nem seviyelerini optimize etmek ve ideal yara iyileşme ortamını yaratmak için çeşitli yara örtüleri tasarlanmıştır (Nguyen, Le, Nguyen, Le ve Pham 2023).

Yara tedavisinin en yaygın yöntemi, yaranın türüne, derinliğine, konumuna ve büyüklüğüne göre farklı tipte yara örtüleri uygulamaktır. Genel olarak, yara örtüleri, yara ile dış ortam arasında fiziksel bir bariyer oluşturur ve yaranın daha fazla zarar görmesini önleyerek mikroorganizmalara karşı korur ve nihayetinde yara iyileşmesini hızlandırır (Mirhaj, Labbaf, Tavakoli ve Seifalian 2022).

Yara örtüleri genellikle üç kategoriye ayrılır:

- 1- geleneksel,
- 2- pasif ve
- 3- modern yara örtüleri.

Geleneksel yara örtüleri, ağaç ve bitkilerin yapraklarından, örümcek ağlarından ve bal gibi eski zamanlarda kullanılan maddelerden yapılmıştır; bu maddeler kanamayı önlemek ve yara ile dış ortam arasında herhangi bir teması engellemek için kullanılırdı. Pasif yara örtüleri (steril gazlı bez, pamuk pedleri ve sargı bezleri gibi) sadece yara yüzeyini kaplayabilir ve ekstrüdeleri emer, ancak yeni oluşan granüler dokuya yapışabilir ve çıkarıldığında ağrıya neden olabilir. Bununla birlikte, yaşanan sorunlara rağmen düşük maliyeti ve basit üretim süreci nedeniyle, bunlar en yaygın kullanılan klinik yara örtü türleridir. Modern yara bandı çeşitleri arasında köpükler, filmler, hidrokoloidler ve hidrojellet bulunur. Bu yara bandı tipleri, dayanıklılıklarının daha yüksek olması ve maliyetlerinin daha düşük olması nedeniyle sentetik malzemelere dayanabileceği gibi, kollajen gibi yüksek biyobenzerliğe sahip biyolojik malzemelere de dayanabilir (Mirhaj vd. 2022).

1.3. Yara Örtü Materyalleri

Düzensiz yara iyileşmesi, diyabetik ayak ülserleri, venöz bacak ülserleri veya basınç ülserleri gibi kronik yaralar dahil bir dizi klinik soruna neden olabilir. Kronik yaralar; enfeksiyon, diyabet ve malign tümörler gibi sistemik hastalıklar, lokal doku hipoksisi, iskemi-reperfüzyon hasarı, yaşlanma vb. gibi çeşitli faktörler tarafından tetiklenebilir. Bugüne kadar klinikte yara tedavisine yönelik çeşitli biyolojik, kimyasal ve fiziksel tedaviler mevcuttur. Tüm güncel tedaviler arasında malzeme bazlı yara örtü materyalleri en sık kullanılan yaklaşımlardan biridir (Fan vd. 2022)

Yara örtüleri hasarlı cildi örten, iyileşme için gerekli nemli ortamı ve uygun sıcaklığı sağlayan, fiziksel ve mikrobiyolojik korumayı destekleyen, aşırı doku sıvısını emen ve ağrının giderilmesini sağlayan malzemelerdir (Nguyen vd. 2023)

1.3.1. Yara Örtü Materyallerinin Özellikleri (Ghomi vd. 2019):

- Yaranın etrafındaki nem kontrol etmelidir,
- Yara bölgesine gaz akışını sağlamalıdır,
- Fazla ekstrüdeyi ortamdan uzaklaştırmalıdır,
- Yarayı mikroorganizmalardan dolayısıyla enfeksiyonlardan korumalıdır,
- Yaranın yüzey nekrozunu azaltmalıdır,
- Mekanik koruma sağlamalıdır,
- Kolayca değiştirilebilmeli ve çıkarılmalıdır,
- Biyobenzer, biyolojik olarak parçalanabilir, esnek ve toksik olmayan bir malzemeden yapılmış olmalıdır,
- Yara bölgesindeki ağrıyı azaltmalıdır,
- Maliyet açısından kabul edilebilir olmalıdır.

1.3.2. Çeşitli Yara Örtü Materyalleri

Yaranın temizlenmesini sağlamak ve bakteri enfeksiyonunu önlemek amacıyla uzun yıllardan beri pamuk, tiftik, gazlı bez gibi geleneksel yara örtüleri yaygın olarak kullanılmaktadır. Ancak yara örtüleri yaraya kolaylıkla yapışır ve uygun nemli ortam

oluşturmaz. Modern yara örtüleri daha iyi biyouyumluluk, parçalanabilirlik, ağrı giderme ve nem tutma özellikleriyle birlikte geliştirilmiştir. Modern yara örtüleri sadece yaranın kendisini kapatmaktan ziyade yaralı bölgenin iyileşme işlevini kolaylaştırma görevi de görmektedir. Halihazırda klinik uygulamada kullanılan çeşitli modern yara örtüleri arasında hidrokolloid, aljinat, hidrojel, köpük ve film gibi çeşitli yara örtüleri yer almaktadır (Nguyen vd. 2023).

1.3.2.1. Yarı Geçirgen Film Örtüleri

Yarı geçirgen film örtüleri, yapışkan, ince ve şeffaf poliüretandan yapılmıştır, gaz geçirebilir ancak sıvı ve bakteri geçirmez özelliktedir. Filmler elastik, uyumlu ve şeffaftır, bu da yaranın incelenmesine olanak tanır. Filmler emici olmadığından, akıntılı yaralar için uygun değildir, ancak ortasında yapışmaz bir ped bulunan ada pansumanlar mevcuttur ve bu pansumanlar basit filmlerden biraz daha fazla akıntı emebilir. Filmler, köpük gibi birinci pansumanı su geçirmez hale getirmek için ikincil pansuman olarak da kullanılabilir (Weller ve Sussman 2006).

1.3.2.2. Yarı Geçirgen Köpük Örtüleri

Köpükler nemli yara iyileşme yönetiminde yaygın olarak kullanılır ve travma veya akıntılı yaraların oluşma olasılığını azaltmada ve pansuman rahatsızlıklarını en aza indirmede en yardımcı olan malzemelerdir. Köpük örtüler, yaralara en uygun iyileşme için sıcak, uygun nemli bir ortam sağlamak için etkili araçlardır. Köpük örtüler su geçirmezdir ve yapışkan olabileceği gibi yapışmaz özellikte de olabilir ve doğal olarak tüylenmez. Bu tür örtüler iyi emme özelliklerine sahiptir, bu da onları küçük ve büyük yaraların tedavisi için uygun hale getirir. Bu tür köpük örtüler enfeksiyonları önlerken aynı zamanda su buharının geçmesine izin verir ancak herhangi bir kontamine maddeyi geçirmez. Dış ortama karşı bir tür yalıtım sağlar, iç kısımda ise yara sıcak ve nemli kalır (Kumar, Shadab ve Rachna 2022).

1.3.2.3. Hidrojel Örtüler

Hidrojel örtüler %96'ya kadar su içerir ve poli(etilen oksit), poliakrilamidler veya poli(vinilpirolidon) gibi çapraz bağlı hidrofilik polimerlerin bir ağından oluşur. Bu örtüler, önemli bir hacim artışı olmadan daha fazla sıvıyı emme kapasitesine sahiptir. Rahatlatıcı ve emici oldukları için hidrojel örtüler ve jeller, yüzeysel termal yanıklar, sürtünme kabarcıkları, kimyasal peelingler, dermabrazyon, yüz lazer yenileme ve

ülserler gibi kısmi kalınlıktaki yaralar için özellikle değerlidir. Bazı araştırmacılar, bu malzemelerin nekrotik veya ölü dokuların temizlenmesinde faydalı olduğunu öne sürmektedir (Ramos-e-Silva ve Castro 2002).

1.3.2.4. Hidrokolloid Örtüler

Hidrokolloid örtüler, en yaygın kullanılan pansumanlar arasındadır. 'Hidrokolloid' terimi, kolloidal (jel oluşturan ajanlar) malzemelerden ve elastomerler ve yapıştırıcılar gibi diğer malzemelerle birleştirilerek elde edilen yara yönetim ürünleri ailesini tanımlar. Tipik jel oluşturan ajanlar arasında karboksimetilselüloz, jelatin ve pektin bulunur. Hidrokolloid örtüler, diğer örtülerin aksine hem nemli hem de kuru yüzeylere yapıştıkları için klinik olarak kullanışlıdır. Hidrokolloid örtüler, küçük yanıklar ve travmatik yaralanmalar gibi hafif ila orta derecede akıntılı yaralar için kullanılır. Hidrokolloid örtüler sağlam durumdayken su buharına karşı geçirimsizdir, ancak yara akıntısını emdiklerinde fiziksel durumda bir değişiklik meydana gelir ve yaranın üzerini örten bir jel oluştururlar (Boateng, Matthews, Steven ve Eccleston 2008).

1.3.2.5. Biyoaktif Yara Örtüleri

Biyoaktif yara örtülerin oluşturulması, iyileşme süreci için gerekli olan biyomalzemelerin kullanımını gerektirir. Bu örtüler, kollajen, hyaluronik asit, kitosan, aljinat ve elastin gibi doğal ve sentetik malzemelerden yapılır ve biyouyumluluk, biyobozunurluk ve toksik olmayan özellikleri nedeniyle avantajlıdır. Yara türüne bağlı olarak bu malzemelerden biri veya daha fazlası kullanılabilir. Yara iyileşmesini hızlandırmak için bazen büyüme faktörleri ve antimikrobiyal ajanlarda biyolojik yara örtülerine eklenebilir (Bhoyar, Malhotra ve Madke 2023).

1.3.2.6. İlaçlı Örtüler

İlaçlı örtüler, nekrotik dokuların temizlenmesi veya debridmanı yoluyla doğrudan veya dolaylı olarak iyileşme sürecinde önemli bir rol oynar. Bu, nekrotik doku için temizleyici veya debridman ajanlar, enfeksiyonu önleyen ve doku rejenerasyonunu teşvik eden antimikrobiyaller tarafından gerçekleştirilmiştir. Yaygın olarak dahil edilen bazı bileşikler arasında antimikrobiyal ajanlar, büyüme faktörleri ve enzimler bulunur. Gümüş içeren örtüler arasında gözenekli hidrokolloid, poliüretan köpük filmi ve silikon jeller bulunur. Antiseptik iyot örtüleri, proteinin işlevini keserek hücre bileşenlerinin oksidatif bozunması yoluyla bakteriyel hücrelere etki eder ve bu,

patojenlere karşı geniş ölçüde etkilidir (Dhiyya, Padma ve Santhini 2015). Yara örtü malzemelerinin, ilaç taşıyıcıları olarak kullanarak yüksek miktarda ilacı doğrudan yara yatağına teslim etmek mümkündür, böylece uygulanan dozajlar azaltılabilmektedir. Dahası, terapötik ajanların yerinde salınımı, potansiyel yan etkilerin hedeflenmeyen dokularda ortaya çıkmasını da önleyebilir (Laurano, Boffito, Ciardelli ve Chiono 2022).

1.4. Meyan Kökü Hakkında Genel Bilgiler

Meyan kökü (*Glycyrrhiza glabra*), fabaceae familyasından olan ve güney Avrupa ve Asya'da yetişen bir bitki türüdür (Shabkhiz, Eikani, Bashiri ve Golmohammad 2016). Meyan kökü tipik bir otsu çok yıllık bitkidir ve 1 metre yüksekliğe kadar büyüme görülebilir; 7 ila 15 cm uzunluğunda tüylerle kaplı yaprakları bulunmaktadır. Çiçekler mor ila açık mavi renkte olup, hermafrodit bir çiçek demetinde düzenlenmiştir ve meyve ise 2 ila 3 cm uzunluğunda oblong bir baklagil olup birkaç tohum içermektedir (Pastorino, Cornara, Soares, Rodrigues ve Oliveira 2018). Meyan kökü aynı zaman da Çin tıbbi ürünlerinde en yaygın kullanılan bir bitkidir (Fugh-Berman, 2007).

Meyan kökünün kimyasal bileşimi oldukça karmaşıktır; triterpenoidler, flavonoidler, polisakkaritler, kumarinler ve diğer bileşenler gibi çeşitli unsurları içermektedir. Önemli olan, meyan kökünün antioksidan, antienflamatuvar, antiviral, antialerjik, antiülser, antidiyabetik ve diğer etkinliklerinden dolayı geniş bir yelpazede yararlı farmakolojik etkiler sergilediği rapor edilmiştir. Ayrıca, meyan kökünün diğer ilaçların etkilerini modüle ettiği ve bu şekilde klinik etkinliklerini artırabileceği de bildirilmiştir (Zhang vd. 2023).

1.5. Meyan Kökü Bileşenleri

Bugüne kadar, meyan kökünden 400 'den fazla bileşik izole edilmiştir. Bu bileşenler, kimyasal yapılarına göre flavonoidler, saponinler ve kumarinler olarak kategorize edilebilirler, bunların arasında flavonoidler ve triterpenoid saponinler meyan kökünün veya rizomunun zengin olduğu bileşenlerdir. Şimdiye kadar, meyan kökünden 300'den fazla flavonoid ve 60 triterpenoid saponin izole edilmiş ve tanımlanmıştır (Cheng vd. 2021).

Meyan kökünün flavonoidlerine olan ilgi son yıllarda artmaktadır çünkü bunlar antibakteriyel, antioksidan, nörokoruyucu ve antidepresan gibi güçlü aktivitelere sahiptir (Zhu vd. 2016). Yaygın olarak kullanılan flavonoid türleri ise; flavanonlar, kalkonlar, izoflavonlar, izoflavenler, flavonlar ve izoflavonlardır (Mamedov ve Egamberdieva 2019).

Meyan kökünün fitobileşenleri ve etki mekanizmaları Çizelge 1.1’de sergilenmektedir (Wahab vd. 2021).

Çizelge 1.1.Meyan kökünün fitobileşenleri ve etki mekanizmaları (Wahab vd. 2021)

Bileşik Adı	Fitokimya	Hareket mekanizması
Glisirizin	Ana bileşenler triterpen, saponinler ve flavonoidlerdir.	Prostaglandin, özellikle prostaglandin E2 ve siklooksijenaz aktivitesinin yanı sıra trombosit kümelenmesini inhibe etmiştir.
Glisirizik asit	Aktif fitobileşenler 18β-glisirizik asit, izoflavonlar, glabrin A ve B ve glisirizindir.	Glisirizik asit, antienflamatuvar aktivite göstermiş ve 11β-hidroksisteroid dehidrojenazı inhibe etmiştir.
Glabridin	Glabridin bir izoflavandır, bir tür izoflavonoiddir. Bu ürün, bitki kaynaklı moleküllerin daha belirgin bir ailesinin, doğal fenollerin bir parçasıdır.	Glabridin melanogenezi iki mekanizmayla inhibe etmiştir; (1) ROS üretimini inhibe etti (2) tirozini inhibe etti.
Kuersetin	Bitki kaynaklı flavonoid	Flavonoidlerin enzimleri nasıl inhibe ettiği bilinmemektedir. Lipoksijenaz ve siklooksijenaz aktivitelerini inhibe eder ve inflamatuvar metabolitlerin üretimini azaltmaktadır.
Liquiritigenin	Fenolik bileşikler	NLRP3 ve NF-κβ yolları yoluyla inhibe edilmektedir.
İzoliquiritigenin	Fenolik bileşikler	AP-1, NF-κβ ve AP-1 aktivasyonunun inhibisyonu yoluyla makrofajların inflamatuvar yanıtını azaltmaktadır.
Likokalkon C	Fenolik bileşikler	Bakteriyel solunum zincirinde elektron taşınması engellenmektedir.

Çizelge 1. 1. Meyan kökünün fitobileşenleri ve etki mekanizmaları (Wahab vd. 2021)(Devamı)

Bileşik Adı	Fitokimya	Hareket mekanizması
Formononetin	Biyoaktif izoflavonlar	Çok sayıda yolu hedef alarak hücre döngüsünü durduruyor, apoptozu indükliyor, metastazı durduruyorlardır.
Likopiranokumarin	Kumarinler	Sitotoksiste olmadan, HIV ile enfekte hücre kültürlerinde hücrelerin üretimini inhibe etmektedir.
Glabrokumarin	Kumarinler	Herhangi bir sitotoksisteye neden olmadan HIV ile enfekte hücre kültürlerinde hücre oluşumunu engelledi.
Kanzonol Y	Kalkon	<i>Bacillus subtilis</i> H17'ye karşı inhibitör aktivite göstermiştir.
Paratokarpin B	Kalkon	Peroksinitrit antioksidan deneyi antioksidan özelliği göstermiştir. En güçlü antioksidan ajandır.
Gliksiglabron	Kalkon	Güçlü serbest radikal temizleme aktivitesi sergilemiştir
Mannopiranosil-D glusitol	Mannoz	Rapor edilmemiş
Glabridin	İzoflavonlar	Tirozin inhibitörü
Hispaglabridin B	İzoflavonlar	En güçlü antioksidan ajandır. FoxO1 transkripsiyonel aktivitesi, kas spesifik E3 ubiquitin ligazları MuRF1 ve Atrogin1'in ekspresyonu yoluyla inhibe edildi ve Atrogin1 azaldı.
4-O-Metilglabridin	İzoflavonlar	In vitro önemli antimikrobiyal aktiviteye sahiptir.

1.6. Meyan Kökünün Kullanım Alanları

Meyan kökü, çeşitli terapötik özellikleri nedeniyle günümüzde yaygın olarak kullanılmaktadır. Örneğin; endüstriyel tatlandırıcı olarak kullanılmaktadır ve bu nedenle gıda, şekerleme ve öksürük şurupları, bitkisel takviyeler, sakızlar, içecekler ve şekerleme gibi farmasötik ürünlerde kullanılmaktadır (Pastorino vd. 2018). Sağlık sektöründe solunum sistemi, mide bağırsak sistemi, kardiyovasküler sistem, göz ve

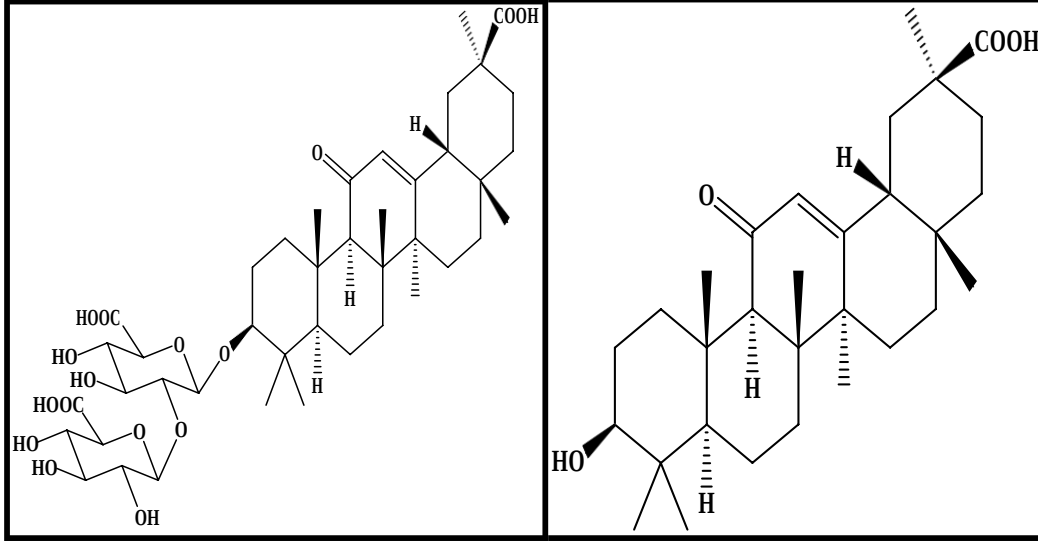
cilt rahatsızlıkları gibi çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır (Fiore, Eisenhut, Ragazzi, Zanchin ve Armanini 2005). Ayrıca hepatotoksitedeye de etkili olduğu kanıtlanmıştır (Ren, Zhang, Wang, Ren, Hua, Wang ve Liu 2024). Yapılan *in vitro* ve *in vivo* çalışmalar sonucunda meyan kökünün anti-viral (Adianti vd. 2014), anti-oksidan (Vlaisavljević vd. 2018), anti-alerjik (Han, Sun, He ve Che 2017) anti-inflamatuar (Yang, Yuan, Ma, Zhou ve Liu 2017) lezyonlarda kullanıldığı da bilinmektedir. Aynı zamanda antikanserojenik, antimutajenik, antimikrobiyal, östrojenik ve androjenik etkilerinin yanında sakinleştirici etkilerinin ve hafıza üzerinde etkileri de bilinmektedir (Pastorino vd.2018).

Meyan kökünün içerdiği çeşitli bileşenler sayesinde günümüzde yara örtü materyallerinin yapımı ve ilaç taşıyıcı sistemlerde de kullanılmaktadır.

1.7. Glisirizik Asit

Meyan kökü ve rizomunun değeri, içindeki kimyasalların çeşitliliğinden kaynaklanmaktadır. Meyan kökü ve köksaptaki en önemli biyolojik olarak aktif madde, gıda ve ilaç endüstrilerinde özellikle önem taşıyan, glisirizik asit adı verilen bir triterpenoiddir (Zabihi vd. 2023).

Glisirizin (GL), meyan kökünün temel bileşenlerinden biridir ve aynı zamanda glisirizik asit olarak da adlandırılır. Beş halkalı triterpenoid saponinler grubuna aittir ve tatlılıktan sorumlu temel bileşen olarak kabul edilir. Kimyasal olarak (Şekil 1.2), GL, bir molekül 18 β -glisiretinik asit ve iki molekül glikuronik asit (18 β -glisiretinik asit-3-O- β -D-glikuronopiranozil-(1-2-)-beta-D-glikuronid) içerir (Husain, Bala ve Khan 2021).



a) Glisirizin (GL)

b) Glisirizik asit (GA)

Şekil 1. 2. a) GL ve b) GA

Meyan kökünün en çok çalışılan etken maddesi olan glisirizik asit (GA), tatlı bir madde içerir. Bu bileşen, şekerden 50 kat daha tatlıdır ve bu nedenle gıda endüstrisinde tatlandırıcı katkı maddesi olarak yaygın bir şekilde kullanılır. GA, diğer ilaçlarla birlikte kullanılarak aktiviteyi artırmak ve yan etkileri azaltmak amacıyla kullanılmaktadır. Diğer ilaçların etkinliğini artıran ve toksisitesini azaltan sinerjik etkisi nedeniyle, GA yeni bir ilaç taşıyıcı sistemi ve ilaç etkinliğini arttırıcı olarak kullanılmaktadır (Mohammed vd. 2022). Birçok ülkede, GA kronik viral hepatit ve alerjik dermatit gibi hastalıkların tedavisinde başlıca bir terapötik ajan olarak kullanılır. Ayrıca, antienflamatuvar, antiülser, antihepatotoksik ve antiviral aktivitelere sahip olduğu bilinmektedir (Tian, Yan ve Row 2008).

Antioksidan özelliklerin antienflamatuvar etkileri, vücutta meydana gelen oksidatif stresin azaltılmasına ve serbest radikallerin neden olduğu hücresel hasarın önlenmesine bağlıdır. Bu sebeple antioksidanlar, antienflamatuvar etkilere sahip olabilmektedir çünkü oksidatif stresin azaltılması inflamasyonun önlenmesine veya azaltılmasına yardımcı olabilmektedir. Bu bağlamda GA'nın antienflamatuvar aktivitesi de antioksidan aktivitesi ile ilişkilendirilmektedir. Özellikle, meyan kökü ekstraktının diğer birleşenleri ile birlikte glisirizin, lipopolisakkaritle uyarılmış mikrogial hücreler modelinde NO ve inflamatuvar sitokinlerin sentezini inhibe ettiği gösterilmiştir. Ayrıca, GA, diğer birçok terpenik asit gibi, insan bronşiyal epitelyum

hücrelerinde H_2O_2 'ye karşıda antioksidan aktivite göstermektedir. GA, H_2O_2 tarafından indüklenen kaspaz-3 üretimini ve oksidasyon ve enflamasyon faktörlerini de azaltmaktadır. GA'nın in vitro olarak nötrofil metabolizmasını inhibe ederek reaktif oksijen türlerinin üretimini, özellikle O_2^- , H_2O_2 ve OH radikallerini önemli ölçüde azalttığı gösterilmiştir. Bu durum özellikle GA'nın antienflamatuvar etkisi ile ilişkilidir (Selyutina ve Polyakov 2019).

Yapılan bir çalışmada 18 -Glisiretinik asit nanokristalleri sentezlenmiş ve sentezlenen nano-GA hidrojelinin inflamatuvar aktivitesi, fare kulaklarında in vivo olarak değerlendirilmiştir. Bu nano-GA'ların, anti- dem yeteneği sergilediğini ve inflamasyon gelişimini daha güçlü bir şekilde inhibe ettiği sonuçları belirtilmiştir. Bu sonuçlar nano GA'nın cilt iltihabı için etkili bir topikal terapötik ajan olabileceğini düşündürmektedir (Quan vd.2021).

Başka bir çalışmada ise, metal koordinasyonu ile jel oluşumunu sağlamak için GA ve metal iyonu (Fe^{2+}) kullanılmıştır. Hazırlanan Fe^{2+} /GA hidrojelleri, enjekte edilebilirlik, yara iyileştirme özelliği ve nispeten daha düşük GA derişimlerinde yüksek dozların neden olduğu sitotoksisteyi azaltarak sürekli salım davranışı göstermiştir. Fe^{2+} , jel oluşumunu sağlayıcı olarak hareket etmenin yanı sıra, *E. coli* ve *S. aureus*'a karşı lipit peroksidasyonu, zar hasarı ve DNA bozulması yoluyla hidrojelin antibakteriyel performansını da arttırdığı belirtilmiştir. Ayrıca, hidrojellerden salınan GA, hücre g  n  önemli ölçüde hızlandırmış ve NF- B sinyal yolunun aracılığıyla lipopolisakkarit ile uyarılan RAW264.7 hücrelerinde önemli enflamatuvar sitokin seviyelerini düşürerek enflamatuvar reaksiyonu engellediği gözlenmiştir. Enfekte fare deri modeli kullanılarak, yaraya uygulanan Fe^{2+} /GA hidrojelin hızlı yara iyileşmesine yol açtığı gösterilmiştir. Elde edilen hidrojelin antibakteriyel ve antienflamatuvar yeteneklerle insanın, şiddetli cilt yaralarının tedavisi için umut verici bir yara örtüsü olarak hizmet etmesine yeni bir ışık tutabileceği düşünülmüştür (Xu vd. 2023).

Diğer çalışmada ise, salyangoz mukusunun ana bileşenlerinden esinlenerek, balık jelatini ve GA içeren hidrojel yara pansumanı üretilmiştir. Elde edilen balık jelatini/GA hidrojel pansumanlar m kemm l mekanik ve yapışma performansları (esneklik, gerilebilirlik, yapışma kabiliyeti ve  ıkarılabilirlik), yüksek şeffaflık ve donmaya karşı dayanıklılık özellikleri sergilemiştir. Daha da önemlisi, bu pansumanlar in vitro deneylerde m kemm l biyoyumluluk, hücre g   ve anjiyogenez yeteneğine

sahip olmuştur. Son olarak, *in vivo* hayvan deneyleri, balık jelatini/GA hidrojel pansumanlarının yara iyileşmesini önemli ölçüde teşvik ettiğini, granülasyon dokusu oluşumunu, kolajen birikimini ve cilt anjiyogenezini teşvik ettiğini ve enflamatuvar yanıtı inhibe ettiğini göstermiştir (Sun vd. 2023).

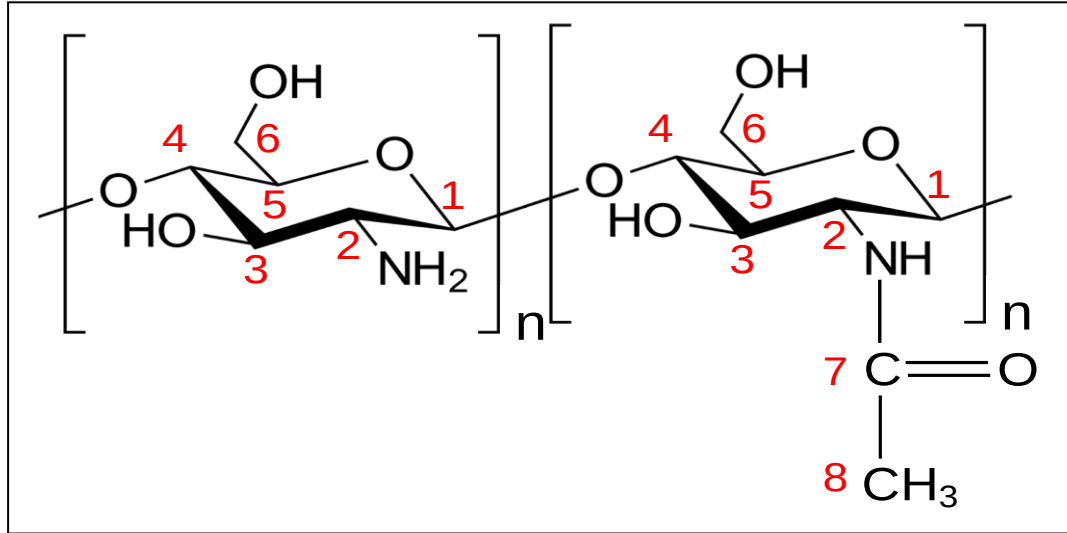
Başka bir çalışmada GA, normal insan keratinositlerine karşı düşük sitotoksikite göstermektedir ve 30 μ M'ın altındaki derişimlerde yaklaşık %80 hücre canlılığı gözlemlenmiştir. GA, insan keratinosit kültürlerini UVB radyasyonu hasarından koruyabilmiş ve oksidatif DNA parçalanmasını ve cilt kanseri oluşumunu önleyebilmiştir. GA'nın hidroksil grubunun oksidasyonu ile üretilen bir türevi olan GA-d, HaCaT keratinositleri ve insan dermal fibroblastları için toksik değildir. Her iki dermal hücre hattının da proliferasyonunu ve göçünü artırmıştır. Ayrıca, GA-d, fibroblastlar ve keratinositlerde aquaporin-3 ekspresyonunu artırmıştır. Bu özellikler, GA'yı yaralar ve dermal kusurlar gibi cilt hastalıklarının tedavisi için iyi bir aday yapmaktadır (Kowalska ve Kalinowska-lis 2019).

1.8. Kitosan

Kitin, selülozdan sonra yeryüzünde en yaygın bulunan polisakkarittir. Kitin, mantarlar ve alglerin hücre duvarlarında, böceklerin ve kabukluların dış iskeletlerinde yapısal malzeme olarak bulunmaktadır. Ancak, ticari çözücülerde çözünmemesi sebebiyle kullanımı sınırlıdır (Ogawa, Yui ve Okuyama 2004).

Bu nedenle, suyla çözünür türevler üretilmiştir. Bunlardan en önemlisi kitosandır. Kitosan, kitinin deasetilasyonu sonucu elde edilmektedir ve tek doğal katyonik polisakkarit olduğu bilinmektedir (Hamed, Özogul ve Regenstein 2016).

Kitosan, tekrarlayan 2-amino-2-deoksi-D-glikopiranoz birimlerinden ve 2-asetamido-2-deoksi-D-glikopiranoz birimlerinden oluşan bir kopolimerdir (Şekil 1.3). Kitosanın, monomerinde birincil amin (NH_2) ve birincil ile ikincil hidroksil grubu (OH) gibi uygun fonksiyonel gruplarının olması nedeniyle polimerizasyon derecesini bozmadan kimyasal olarak kolay bir şekilde modifiye edilebilmektedir (Negm, N. A. vd.2020).



Şekil 1. 3. Kitosanın molekül formülü (Üzerindeki numaralar karbon atomlarının numaralarıdır)

Kimyasal olarak modifiye edilmiş kitosanların, sadece fiziksel ve kimyasal özellikleri geliştirilmekle kalmamış, aynı zamanda kitosanın benzersiz özelliklerini koruyarak kitosan türevlerinin uygulama alanları da genişletilmektedir. Modifiye edilen kitosan türevleri, daha iyi biyouyumluluk, biyoaktivite, biyolojik olarak parçalanabilme ve düşük toksisiteye sahiptirler. Aynı zamanda orijinal kitosanın sahip olduğu antibakteriyel, antikanser ve antiviral etki gibi farmakolojik etkileri de korunmaktadır. Günümüzde, kitosan türevleri hem tıbbi malzemelerde hem de biyomedikal alanlarda geniş bir şekilde kullanılmaktadır. Nanoteknolojinin ilerlemesi ile birlikte, kitosan türevleri nano malzeme olarak, nanopartikül, hidrojel ve mikroküre formlarında, ilaçlar için hedeflenmiş taşıyıcı sistemler olarak kullanılmaktadır (Wang, W. vd.2020).

1.8.1. Kitosanın Avantajları

- Kitosanın kimyasal yapısı, polikasyonik, zararsız, toksik olmayan ve biyolojik olarak parçalanabilir nitelikleri, onu çok çeşitli organ, doku ve hücre ile biyolojik olarak uyumlu hale getirir (Desai vd. 2023).
- Kitosanın antimikrobiyal özellikleri vardır, yani bakteri büyümesini engelleyebilmektedir (Kong, Chen, Xing ve Park 2010).
- Kitosan, hücrelerle etkileşime girme yeteneği sayesinde doku rejenerasyonu ve yara iyileşmesi gibi doku mühendisliği uygulamalarında kullanılabilir (Madni, Kousar, Naeem ve Wahid 2021).
- Kitosan, kimyasal olarak modifiye edilebilir, bu da çeşitli uygulamalarda

mekanik ve biyolojik olarak uygun hale getirilmesini sağlamaktadır (Ruiz ve Corrales 2017).

- Kitosan, ilaç taşıyıcı sistemlerden yara iyileşmesi ürünlerine, gıda ambalajlamasından tarım ilaçlarına, kozmetikten su arıtma sistemine kadar birçok farklı alanda kullanılmaktadır (Shukla, Mishra, Arotiba ve Mamba 2013).

1.8.2. Kitosanın Dezavantajları

- Doğal kitosanın suda düşük çözünürlüğü vardır, bu da bazı uygulamalarda kullanımını sınırlayabilmektedir. Ayrıca organik çözücülerin çoğunda çözünmemektedir (Yadav, Kaushik, Rao, Srivastava ve Vaya 2023).
- Saf kitosanın işlenmesinde bazı zorluklarla karşılaşılabilir, fiziksel ve kimyasal özelliklerini koruyarak istenilen forma getirmekte zordur (Boominathan ve Sivaramakrishna 2021).
- Kitosan yüksek bir adsorpsiyon kapasitesine sahip olmasına rağmen zayıf mekanik özelliği ve tekrar kullanımın düşük olması nedeniyle uygulaması sınırlıdır (Liu, Zhao, Yan Liu ve Zhang 2022)
- Kitosanın elde edildiği bazı kaynakları ve deasetilenme sürecindeki bazı reaksiyon parametreleri son ürünü etkileyebildiği gibi ürünlerin kalitesini de etkileyebilmektedir (Younes ve Rinaudo 2015).

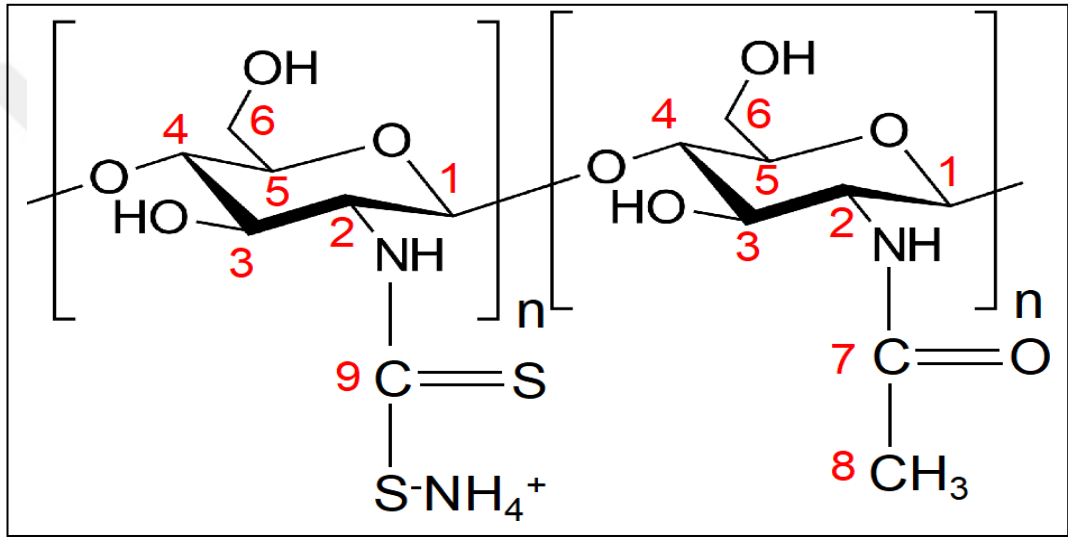
1.8.3. Ditiyokarbamat Kitosan (DTTC)

Ditiyokarbamat kimyası hızlı bir şekilde gelişmektedir. Ditiyokarbamat ligandları metal iyonları ile kompleksler oluşturabilmektedir. Güçlü metal bağlama kapasiteleri ile ditiyokarbamat ligandlar, enzim inhibitörleri olarak hareket etmekte ve biyolojik sistemleri önemli ölçüde etkileyebilmektedirler (Singh ve Bhattacharya 2012). Ditiyokarbamat grupları bazı biyolojik etkiler gösterebildiği gibi antifungal özelliklere sahip olduğu da bilinmektedir.

Ditiyokarbamat kitosan, 2. karbon atomundaki amino gruplarının ditiyokarbamat grupları ile yer değiştirdiği bir kitosan türevidir (Qin vd. 2012). DTCC'lerin moleküler yapısında hidrofilik ve metal atomu şelatlayıcı grupları bulunmaktadır. Bu benzersiz moleküler yapısı nedeniyle, potansiyel olarak mükemmel bir metal iyonlarını kompleksleştirici ajan olmaktadır (Liu, Hao, Dong ve Zeng 2021).

DTCC'nin şelatlama yeteneği metal iyonlarının kükürt atomları ile çok kararlı kompleksler oluşturmamasından kaynaklanmaktadır (Muzzarelli ve Tanfani 1982).

Ek olarak, ditiyokarbamat kitosan, değiştirilmiş yapısı, ilaçları kapsülleme ve vücuttaki belirli hedeflere iletme yeteneğini geliştirebildiğinden, ilaç dağıtım sistemlerinde potansiyel uygulamalara sahiptir. Bu onu farmasötik araştırma ve geliştirmede değerli kılar. Genel olarak, kitosanın ditiyokarbamat grupları ile modifikasyonu, potansiyel uygulamalarını modifiye edilmemiş kitosanların ötesinde genişleterek, çevre korumadan biyomedikal mühendisliğe kadar çeşitli alanlarda yeni olanaklar sunmaktadır.



Şekil 1. 4. DTCC'nin molekül formülü (Üzerindeki numaralar karbon atomlarının numaralarıdır)

1.9. Kriyojeller

Kriyojeller, sıfırın altındaki sıcaklıklarda kontrollü polimerizasyonun meydana geldiği, elastik birbirine bağlı ağ ile çevrili makro gözeneklerin elde edildiği hidrojel sınıfı olarak tanımlanmaktadır (Memici vd. 2019). Kriyojelleri gözenek boyutu ve mekanik dayanımı gibi fiziksel özellikleri polimerlerin molekül ağırlığı, derişimi, soğutma sıcaklığı ve kriyojelleşmeden önce soğutma hızı gibi faktörler aracılığıyla ayarlanabilmektedir (Yuan vd. 2021).

Kriyojel sistemleri, oldukça gözenekli olmaları nedeniyle ozmotik ve mekanik dayanıklılık bakımından avantaj sağlamaktadır. Bu nedenle, jel sistemi çeşitli biyomedikal kullanımlar için iskele malzemesi olarak kullanılmaktadır. Kriyojellerin çeşitli biyolojik ve biyomedikal uygulamalarda kullanımını sağlayan en temel özelliği

kriyojel sentezleri için sulu çözeltiler kullanılmasıdır (Nayak ve Das 2018). Doku mühendisliğinde, kriyojel formda ki biyomalzeme iskeleleri, mekanik stabilite ve esneklik özelliklerine sahiptir. Ayrıca yüksek su tutma kapasitesine sahip olmaları yaralarda dışarıya sızıntı oluşumunu önleyebilmektedir (Chen, Wen, Dai ve Hsu 2021).

1.9.1. Kriyojellerin Özellikleri

- Kriyojellerin geniş gözenekli yapısı, kısa difüzyon yolları, esneklik, iyi biyouyumluluk ve yüksek mekanik mukavemet gibi önemli özellikleri, onları biyomoleküllerin immobilizasyonu için etkili taşıyıcılar haline getirmektedir (Saylan ve Denizli 2019).
- Kriyojellerin gözenek boyutu vb. pekçok özelliği polimerizasyon koşullarına bağlı olarak (örneğin monomer/çapraz bağlayıcı oranı, monomer/çözücü oranı, polimerizasyon sıcaklığı, soğutma sıcaklığı, soğutma hızı) kolaylıkla kontrol edilebilir (Takase vd. 2022).
- Kriyojeller, biyouyumlu malzemelerden yapıldıklarında, biyolojik olarak uyumlu özelliklere sahiptirler ve biyomedikal alanlarda kullanılabilmektedir (Tyshkunova, Poshina ve Skorik 2022).
- Kriyojellerin sentezi genellikle basittir böylece pekçok alandaki uygulamalarda sıklıkla kullanılmaktadır (Babanejad, Mfoafo, Thumma, Omid ve Omidian 2023).
- Kriyojellerin gözenekli yapılarının hücre yapışmasına uygun olması ve mekanik stabilitesinin *in vivo* işlemlerde uygulanabilirlik sağlaması nedeniyle doku mühendisliği çalışmalarında da kullanılmaktadır (Bakhshpour, İdil, Perçin, Denizli 2019)
- Kriyojeller ozmotik, kimyasal ve mekanik kararlılıkları nedeniyle biyolojik uygulamalarda önem kazanmıştır. Bu yüzden birçok uygulamada kullanılmıştır (Öncel 2013).

Bütün bu özellikler, kriyojellerin hücre taşıyıcıları, doku mühendisliği iskeleleri ve biyomedikal uygulamalar gibi farklı alanlarda kullanılmasını desteklemektedir.

1.9.2. PVA Kriyojeller

Poli (vinil alkol) (PVA), karbon-karbon bağları ile birleşmiş bir vinil polimeridir. Bu bağ, tipik plastikler olan polietilen, polipropilen ve polistiren gibi polimerlerin yanı sıra, suda çözünebilen polimerler olan poliakrilamid ve poli (akrilik asit) gibi polimer ile aynı yapıdadır. Endüstriyel olarak üretilen vinil polimerleri arasında, mikroorganizmalar tarafından biyolojik olarak parçalanabilen tek polimer PVA 'dır. PVA, suda çözünebilir ve biyolojik olarak parçalanabilmektedir. Bu sebeple özellikle doku iskelesi gibi biyolojik olarak parçalanabilir taşıyıcıların üretilmesinde sıklıkla kullanılmaktadır (Doble ve Kumar 2005).

Ayrıca PVA, çoklu hidroksil gruplarına sahip özel bir ticari polimerdir. PVA'daki hidroksil grupları, güçlü hidrojen bağları oluşturarak hem molekül içi hem de moleküller arasında etkili olur, bu da PVA'ya yüksek gerilme mukavemeti, mükemmel yapışma özellikleri, aşınma direnci, alkali direnci ve gaz bariyer özellikleri gibi pek çok özellik kazandırmaktadır. PVA'nın ilginç özelliklerinden biri ise, doğal gazın ham madde olarak kullanıldığı petrol dışı üretilen bir yol ile üretilmesi yapılan az sayıdaki polimerden biri olmasıdır. PVA, lifler, filmler, yapıştırıcılar, tekstil boyutlandırma, emülsiyonlar, kâğıt kaplaması gibi birçok endüstriyel uygulamada önemli bir rol oynamıştır. Ancak, PVA'daki güçlü hidrojen bağları, erime noktasını bozulma sıcaklığına çok yakın yapar, bu da PVA'nın termal işlenmesini çok zorlaştırmaktadır. Bu nedenle, PVA'nın endüstriyel uygulamaları genellikle ıslak işlem temeline dayanmaktadır (Chen, Li ve Wang 2007).

PVA hidrojelleri, biyoyumlu olması nedeniyle birçok biyomedikal uygulamada kullanılmaktadır. İmplantlar, yapay organlar, kontakt lensler, ilaç salım sistemleri ve yara pansumanı kullanım alanlarına örnek olarak verilebilmektedir (Kokabi, Sirousazar ve Hassan 2007).

PVA kriyojelleri, konsantre PVA çözeltilerinin su veya dimetil sülfat (DMSO) kullanılarak dondurma/çözme işlemiyle üretilmektedir. Dimetil sülfoksit çözeltileri kullanıldığında, sonuçta oluşan jeller şeffaf hale gelmektedir (Pazos, Mongrain ve Tardif 2009). PVA kriyojeli, ısıyla geri dönüşümlüdür ve 70-80 °C sıcaklığına kadar stabil olabilmektedir (Jiang 2009).

Dondurma/çözme döngülerinin sayısı, döngü süresi ve kullanılan sıcaklık gibi faktörler kriyojel özelliklerinin belirlenmesinde etkili rol oynamaktadır (Cretu vd. 2022). Donma hem kriyojel oluşumu hem de oluşan kriyojellerin özellikleri için

önemli bir adımdır. Çözücü kristallerinin boyutu ve şekli, donma koşulları tarafından kontrol edilmektedir, bu da kriyojellerin morfolojisini ve özelliklerini belirlemektedir. Çözücü kristal morfolojisini ve boyutunu kontrol eden, çözelti kristalleşme hızı, yani donma hızıdır. Bu nedenle, daha düşük donma sıcaklığında, kristalleşme hızı yüksektir, bu da çok sayıda küçük kristallerin oluşmasına ve kriyojellerde daha küçük boyutlu gözeneklere neden olmaktadır. Donma sıcaklığının yükselmesi ise büyük kristallerin oluşmasını dolayısıyla kriyojellerde de daha büyük gözenek boyutunun oluşmasını sağlamaktadır (Jiang, Hussain ve Kressler 2015).

PVA kriyojeller, hücrelerin hapsedilmesi ve taşınmasının yanı sıra kıkırdak ve kalp kapakçıklarının değiştirilmesi ve yara iyileşmesi için umut verici materyal olarak bilinmektedir. Ayrıca PVA kriyojellerin kullanıldığı yara pansumanlarının da avantajlı olduğu kanıtlanmıştır (Calo, Barros, Ballamy ve Khutoryanskiv 2016). Bu bakımdan, PVA kriyojelleri biyomedikal araştırma ve uygulamalarda önemli bir malzeme olarak kullanılmaktadır.

1.10. Gümüş

Gümüş, simgesi Ag, atom numarası 47 ve atom ağırlığı 107,87 gram/mol olan bir elementtir. Kaynama noktası 1950°C ve özgül ağırlığı 10,5 g/cm³ 'tür. Bileşiklerinde genellikle +1 değerlik alır. Beyaz, parlak ve değerli bir element olan gümüş, ışığı çok iyi yansıtmaktadır. Gümüş oksitlenmeye karşı direnci yüksektir ve bakırdan daha zor, altından ise daha kolay oksitlenmektedir (Gümen 2022).

Gümüş aynı zamanda, insan vücudunun içinde ve dışında antimikrobiyal özellik göstermektedir. Düşük miktarlar kullanıldığı zaman toksik değildir. Gümüş iyonları antiviral ve antifungal özelliklere de sahiptir ve dokuların yenilenmesinde rol oynayarak oldukça güvenli ve antimikrobiyal biyoyumlu malzeme olarak kabul edilmektedir. Gümüş, günümüzde, bakteriyel enfeksiyon risklerinin olduğu her yerde, bandajlar ya da yanık tedavisinde kullanılan ilaçlara kadar sağlık ürünlerinin çok geniş çaplı alanlarda antimikrobiyal olması açısından kullanılmaktadır (Balci ve Dağdelen 2022).

1.10.1. Gümüş Nanopartikül Sentezi

Gümüş nanopartikül (AgNP) sentezi, gümüş iyonlarının bir indirgeyici ajan tarafından indirgenerek metalik AgNP'lere dönüştürülmesi işlemidir. Bu sentez genellikle fiziksel, kimyasal ve biyolojik yöntemler olarak sınıflandırılmaktadır.

- **1.10.1.1. Fiziksel Yöntem**

Lazer ablasyonu, ışınlama, buharlaşma ve yoğunlaşma gümüş nanopartikülleri üretmek için kullanılan en önemli fiziksel süreçlerdir. Bu yöntemlerde kullanılan enerji, ışık enerjisi, elektrik enerjisi, termal enerji ve mekanik enerji olabilir. Hızlı bir sentez ve reaksiyon hızı, çözücü kontaminasyonunun olmaması nedeniyle yüksek saflık ve tehlikeli bileşiklerin yani indirgeyici maddelerin olmaması nedeniyle avantaj sağlamaktadır (Nguyen, Dang, Doan ve Nguyen 2023).

Fiziksel yöntemlerde, buharlaşma-yoğunlaşma ve lazer ablasyonu en yaygın yöntemlerdir. Buharlaşma-yoğunlaşma yönteminde atmosfer basıncında tüp fırın yardımı ile sentez yapılmaktadır. Oldukça büyük bir nanopartikül verimi vermesine rağmen, bu yöntemin yüksek miktarda enerji tüketmesi dezavantajıdır. Ayrıca termal dengeye kolayca sağlanmadığından reaksiyon yavaş ilerler ve optimum sıcaklığa ulaşılması zordur (Vishwanath ve Negi 2021).

- **1.10.1.2. Kimyasal Yöntem**

AgNP'lerin sentezinde kullanılan bir diğer yöntem organik ve inorganik indirgeyici ajanlar kimyasal indirgeme yöntemidir. Genel olarak sodyum sitrat, askorbik asit, sodyum nitrat gibi indirgeyici ajanlar kullanılmaktadır. Bu indirgeyici ajanlar Ag^+ 'yi indirger ve metalik gümüş (Ag^0) oluşumuna yol açmaktadır, bu da oligomerik kümelerin oluşumuna yol açmaktadır. Bu kümeler sonunda metalik kolloidal AgNPs oluşumu meydana gelir. (Iravani, Korbekandi, Mirmohammadi ve Zolfaghari 2014). Kimyasal yöntemlerin, fiziksel yöntemlere göre avantajı yüksek verim sağlamasıdır. Belirli bir boyutta AgNPs üretmek son derece zordur ve parçacık kümelenmesini önlemek için ek bir adıma ihtiyaç duyulmaktadır. Sentez sırasında birçok tehlikeli ve toksik yan ürünler de oluşabilmektedir. Ayrıca kimyasal yöntemler oldukça pahalıdır ve AgNPs için kullanılan kimyasallar ve bileşikler toksik etki gösterebilmektedir (Almatroudi 2020).

1.10.1.3. Biyolojik Yöntem

Biyolojik üretim yöntemleri, bitki kaynaklarının yanı sıra mantar, bakteri ve mayaların kullanımını da içermektedir. Bu kaynaklar, bu yaklaşımın nanopartiküllerin tıbbi uygulamalarında kullanılmasını sağlamaktadır. Mikroorganizmalara ve bitkilere dayalı NP üretim yöntemlerinin güvenli, ekonomik ve daha az zararlı olduğu bilinmektedir. Mikroorganizmalar ve bitkiler çevrelerinden inorganik metalik iyonları adsorpladıkları ve biriktirdikleri için AgNP'lerin biyolojik üretiminde esas olarak kullanılmaktadır (Almatroudi 2020).

1.10.2. Gümüş Nanopartiküllerin Antimikrobiyal Özellikleri

Bir ağır metal olan (Ag) genellikle diğer metallerin çoğundan daha toksiktir ve dolayısıyla hem çevresel hem de klinik açıdan ilgi çekmektedir (Slawson, Dyke, Lee ve Trevors 1992).

Ag iyonlarının güçlü inhibitör ve bakterisidal etkilerinin yanı sıra geniş bir antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğu bilinmektedir (Feng vd. 2000).

Ag, sulu ortamlarda çözünür olduğunda biyolojik olarak etkili olduğu bilinmektedir, bu da Ag'nin monoatomik iyonik haline (Ag^+) dağıldığında gerçekleşmektedir. Bu, gümüş nitrat ve gümüş sülfadiazin gibi iyonik Ag bileşiklerinde görülen aynı formdur, bu bileşikler sıklıkla yaraların tedavisinde kullanılmıştır (Sim, Barnard, Blaskovich ve Ziora 2018). Ag iyonlarının antimikrobiyal etkisinin mekanizması, tiyol (sülhidril) gruplarıyla yakından ilişkilidir. Sistein gibi amino asitler ve sodyum tiyoglikolat gibi tiyol grupları içeren diğer bileşikler, gümüşün bakterilere karşı aktivitesini nötralize ettiği bildirilmiştir (Jung vd. 2008).

AgNP'ler gram-pozitif ve gram-negatif bakterilere karşı antimikrobiyal etki sergilemektedir. Yapılan çalışmalarla birlikte, AgNP'lerin boyut ve yüzey gibi fizikokimyasal özelliklerini dikkate alan, bunların hücre duvarları veya zarlarıyla etkileşime girmesine ve hatta içinden geçmesine ve hücre içi bileşenleri doğrudan etkilemesine olanak tanıyan farklı mekanizmalar olduğu bildirilmiştir (Bruna, Maldonado-Bravo, Jara ve Caro 2021).

AgNP'lerin sürekli olarak yüklü Ag iyonları salabilmeleri mikroorganizmaları öldürme mekanizması olarak kullanılmaktadır. Sülfür proteinlerine olan elektrostatik çekim ve afinite nedeniyle Ag iyonları hücre duvarına ve sitoplazmik membrana yapışabilmektedir. Yapışan iyonlar, sitoplazmik membranın geçirgenliğini artırabilir

ve bakterinin hücre zarının bozulmasına yol açabilmektedir. Serbest Ag iyonları hücrelere alındıktan sonra, solunum enzimlerini devre dışı bırakarak reaktif oksijen türleri üretebilmektedir. Bu sebeple, hücre zarı bozulmasını ve deoksiribonükleik asit (DNA) modifikasyonlarını teşvik etmektedir (Yin vd. 2020).

1.11. Konu İle İlgili Yapılan Önceki Çalışmalar

PVA kriyojelleri, ilaç salım sistemleri, doku mühendisliği ve yara örtü materyalleri gibi biyomedikal uygulamalarda kullanılmaktadır. Bunlar, hücreleri desteklemek ve yenilenmesinin teşvik etmek için uygun bir ortam sağlayabilirler. Ayrıca, ilaçları etkili bir şekilde taşıyabilir ve kontrollü bir şekilde salabilirler, bu da yara iyileşmesini desteklemek için potansiyel olarak faydalıdır.

Buna ilaveten, glisirizik asitin, antienflamatuvar, antioksidan, antiviral ve bağışıklık düzenleyici olması gibi çeşitli farmakolojik özelliklere sahip olduğu bilinmektedir. Bu nedenle, modern tıpta çeşitli sağlık sorunlarının tedavisinde ve yönetiminde kullanılmaktadır.

Hernandez ve arkadaşları (Hernandez vd. 2022), hidrolize kolajen ve farklı derişimlerde *Hypericum perforatum* etanolik ekstresi ile katkılanmış PVA esaslı elektrolif yara pansumanlarının biyolojik, fizikokimyasal, yapısal ve termal özellikleri incelemişlerdir. Elde edilen membranların karakterizasyonlarını, X-ışını kırınımı (XRD), Fourier Dönüşümlü Kızılötesi spektroskopisi (FTIR), taramalı elektron mikroskopu (SEM), görüntü analizi (çap ve gözenek boyutu) ile antimikrobiyal ve antienflamatuvar aktivitelerini gerçekleştirmişlerdir. Sonuçta, kontrollü sıcaklık ve nem koşullarında üretilen malzemelerin, hücre büyümesi için uygun gözenek ve gözenek boyutuna sahip olduklarını gözlemlemişlerdir. Ayrıca üretilen membranların antienflamatuvar etkiye ve *Staphylococcus aureus* ve *Staphylococcus epidermidis*'e karşı ise antimikrobiyal aktiviteye sahip oldukları ve böylece cilt yaralanmalarını tedavi etmek için potansiyel biyomedikal ürün olarak uygulanabileceğini bildirmişlerdir.

Elsherbiny ve arkadaşları (Elsherbiny vd. 2023), antimikrobiyal ajanlar olarak α -aminofosfonat türevleri sentezlemiş ve tam hidrolize olmuş PVA, kısmen hidrolize PVA ve selüloz nanoliflerden oluşan kendiliğinden çapraz bağlanmış üç bileşenli

kriyojeller elde etmişlerdir. İlk olarak, dört α -aminofosfonat türevinin seçilen deri bakteri türlerine karşı antimikrobiyal aktivitesini test etmişler ve en etkili bileşiğin minimum inhibisyon derişimini belirleyerek kriyojellere yüklemişlerdir. Daha sonra, kısmen hidrolize PVA/tam hidrolize olmuş PVA/selüloz nanoliflerinin çeşitli karışım oranlarına göre fiziksel ve mekanik özelliklerini değerlendirmişler ve ilaç yüklü kriyojellerin ilaç salım profilleri ve biyolojik aktivitelerini analiz etmişlerdir. Sentezlenen α -aminofosfonat türevi ile yüklenen, kendi kendine çapraz bağlanan üç bileşenli kriyojellerin hem antimikrobiyal hem de anti-biyofilm oluşturma özellikleri ile yara enfeksiyonlarında önemli bir etkiye sahip olabileceğini öne sürmüşlerdir.

Zhang ve arkadaşları (Zhang vd. 2019) yaptıkları bir çalışmada lignin, kitosan ve PVA gibi doğal polimerlerin bir araya getirilmesiyle bir hidrojel malzemesi tasarlamışlardır. Ligninin eklenmesi ile hidrojin mekanik mukavemetinin arttığını gözlemlemişlerdir. Bu çalışma sonucunda oluşturulan PVA kompozitlerinin, iyi bakterisidal aktivite ve antioksidan aktiviteye sahip olduğunu bulmuşlardır. Ayrıca fareler üzerinde yapılan in vivo çalışmalarda, 15 günlük implantasyon süresi boyunca yaraların iyileştiğini ve iyileşme hızının %87'ye ulaştığını gözlemlemişlerdir. Bu bağlamda PVA kompozitleri ile nemli bir iyileşme ortamı sağlanabildiği ve hızlı bir iyileşmenin mümkün olabileceğini göstermişlerdir.

Zhang ve arkadaşları (Zhang vd. 2022) doğal GA ve biyoyumlu PVA ile su/gliserol çözücü sistemi içerisinde hidrojeller sentezlemişlerdir. Oluşturulan hidrojellerin yüzeyinde GA'nın indirgeyici özelliğinden yararlanarak UV etkisi ile çeşitli kalınlıklarda gümüş nanopartikülleri içeren katmanlar elde etmişlerdir. Sentezlenen hidrojellerin yüksek mekanik özellikler, iyi biyoyumluluk ve kuruma önleyici özellik sergilediklerini belirlemişlerdir. Optik yoğunluk ölçümleri ile hesaplanan bakteri hayatta kalma oranları, hidrojeller ile inkübasyondan sonra sıfıra yakın olarak bulunmuştur. Antibakteriyel süreci açıklamak için bakterilerin hücre morfolojileri SEM ile gözlemlenmiş, hem *E. coli* hem de *S. aureus* için hidrojel ile muameleden sonra hasarlı morfolojiler gösterdiği belirlenmiştir. Bu sonuçlar hidrojellerin mükemmel antibakteriyel aktiviteye sahip olduğunu ve insan vücudu ile uzun süreli temastan sonra bakteri çoğalmasını önleyebileceğinin kanıtını ortaya koymuştur.

Saeedi vd. (Saeedi, Moghbeli ve Vahidi 2023) yaptıkları çalışmada, biyobozunur bir polimer olan kitosan, biyouyumlu hidrojel hazırlamak için yeni bir çapraz bağlama maddesi olarak çeşitli miktarlarda GA kullanarak çapraz bağlamışlardır. Hazırladıkları hidrojel, transdermal terapi uygulamasında gallik asidin kontrollü salınımı için kullanmışlardır. Sonuçlar, GA'nın karboksilik asit gruplarının, kitosanın amin grupları ile aktivasyon çapraz bağlayıcı maddelerin varlığında reaksiyona girerek kitosan polimer zincirleri arasında kovalent amit bağlantısı oluşturduğunu ve kitosan çapraz bağlı hidrojel ağ yapısını oluşturduğunu göstermişlerdir. Hazırlanan kitosan çapraz bağlı hidrojel örnekleri karakterize edilmiş ve ilaç salımı için kullanılmıştır. Hazırlanan jel örneklerinin karakterizasyonu için FTIR, XRD ve SEM kullanmışlardır. Bu amaçla, örneklerin şişme kinetiği, yükleme ve kapsülleme verimliliği, in vitro ilaç salımı, ilaç salım kinetiği, hücre canlılığı testi ve örneklerin antibakteriyel aktivitesini değerlendirmişlerdir. Gallik asit içeren kitosan çapraz bağlı hidrojel örneği, *S. aureus* bakteri suşu üzerinde yeterli antibakteriyel aktivite göstermiştir. Buna karşılık, gallik asit içeren hidrojel örneklerinin *E. coli* bakteri suşu üzerinde düşük antibakteriyel aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Hidrojel ağ yapısının hesaplanmış gözenek boyutu, ilaç salım mekanizması ve uygulanan kinetik modeller, kitosan çapraz bağlı hidrojel örneklerinin gallik asiti bir difüzyon mekanizması temelinde salabileceğini ortaya koymuştur. Sonuç olarak, tasarlanan örneklerin transdermal uygulamalarda kontrollü ilaç salımı için yeterli özelliğe sahip olduğu sonucuna varmışlardır.

Li ve arkadaşları (Li vd. 2023), oksitlenme ile üzerinde aldehit grupları oluşturulmuş GA ile çapraz bağlanmış karboksimetil kitosan hidrojelini oluşturmuşlardır. Hidrojel, aldehit içeren GA üzerinde oluşturulan aldehit grupları ile karboksimetil kitosan arasındaki Schiff bazı reaksiyonu yoluyla elde edilmiştir. Elde edilen hidrojel FTIR ve SEM analizleri, basınç, adezyon, antienflamatuvar, antibakteriyel testler ve in vivo hayvan deneyleri ile karakterize edilmiştir. Çapraz bağlanma karboksimetil kitosan hidrojellerin mükemmel stabilite, mekanik performans, enjekte edilebilirlik, yapışma yeteneği gibi çok işlevli özelliklere sahip olmasını sağlamıştır. GA'nın güçlü biyolojik aktivitesinden yararlanan hibrit hidrojel önemli antienflamatuvar aktivite ve özellikle Gram-pozitif *S. Aureus*'a karşı antibakteriyel aktivite sergilemişlerdir. İn vivo deneyler, bu hidrojin, granülasyon dokusu

oluşumunu arttırarak, kolajen birikimini kolaylaştırdığını, bakteriyel enfeksiyonu azalttığını, enflamatuvar yanıtı azalttığını ve enfekte olmamış cilt yara iyileşmesini teşvik ettiğini göstermiştir.

Zhang ve arkadaşları (Zhang vd. 2022), yara örtüsü olarak kullanılmak üzere kimyasal olarak çapraz bağlanmış hem antienflamatuvar hem de antibakteriyel aktiviteye sahip ipek lifleri/Ag/GA hidrojellerini geliştirmişlerdir. Elde edilen hidrojeller, SEM, şişme, parçalanma ve mekanik test analizleri ile karakterize edilmiştir. Ayrıca biyouyumluluğu hemoliz deneyleri ile antibakteriyel etkisi de agar difüzyon ve optik yoğunluk çalışmaları ile araştırılmıştır. Elde edilen malzemenin yüksek su tutma kapasitesine ve kabul edilebilir bir mekanik kuvvete sahip olduğu belirlenmiştir. Hemoliz deney sonuçları elde edilen yara örtüsünün yüksek biyouyumluluğa sahip olduğunu göstermiştir. Hemoliz deneylerinden yalnız başına GA çok yüksek bir (%35) hemoliz etkisi ortaya koyduğu halde ipek lifleri içine hapsedildiği zaman %1 gibi çok düşük bir hemolitik etkiye sahip olduğu bulunmuştur. Araştırmacılar üretilen yara örtüsünün ideal biyouyumluluk ve biyolojik bozunma kabiliyetini, Ag'nin antibakteriyel aktivitesini ve GA'nın antienflamatuvar özelliğini birleştirerek, doku rejenerasyonunu teşvik ettiğini ve yara iyileşme süresini kısaltarak umut verici bir yara pansumanı olarak büyük potansiyel sağladığı sonucuna ulaşmışlardır.

Ag'nin antibakteriyel özellikleri ile kitosanın biyolojik uyumluluk ve biyobozunurluk gibi avantajları, Ag ve kitosan nanopartiküllerinin çeşitli endüstriyel ve bilimsel uygulamalarda potansiyel olarak değerlendirilmesini de sağlamaktadır.

Mohan, Ruckmani ve Kabriyel (Mohan, Ruckmani ve Kabriyel 2024), bakır ve AgNP'lerin sentezi için kimyasal indirgeme yöntemini kullanmışlardır. Kitosanı, NP büyümesi için uygun bir ortam sağlamak, oksidasyonu ve partikül kümelenmesini durdurmak için stabilizatör madde olarak kullanmışlardır. Ag ve bakır NP'lerin karakterizasyonlarını, FTIR, UV-VİS spektrofotometre, XRD, EDAX, TEM ve Zeta potansiyel ölçümleri gibi yöntemlerle incelemişlerdir. NP'lerin antimikrobiyal aktivitelerini, disk difüzyon yöntemi ile değerlendirmişlerdir. İnsan patojenleri olan *Streptococcus pyogenes* ve *Klebsiella pneumoniae* bakterileri ve bir mantar patojeni olan *Candida albicans*'e karşı aktivitelerini değerlendirmişlerdir. Bakır ve AgNP'lerin

iki bakteri suşuna ve bir mantar suşuna karşı antimikrobiyal etki gösterdiğini belirtmişler. Ayrıca, AgNP'lerin, tek başına kullanılan kitosan ve bakır nanopartiküllerle karşılaştırıldığında önemli bir antibakteriyel aktivite gösterdiğini bildirmişlerdir.

Artunduaga Bonilla ve arkadaşları (Artunduaga Bonilla vd. 2021), AgNP'lerin yeşil sentezini ve bunların bir kitosan matriks ile işlevselleştirilmesinin *Candida spp*'ye karşı potansiyel tedavisini araştırmışlardır. Ag-kitosan nanokompozitlerinin sentezi, homojen nanopartiküllerin küçük boyutlarda üretilmesini sağlayan yeşil sentez yöntemi ile gerçekleştirmişlerdir. AgNP sentezi, gümüş nitrat, sistein ve setiltrimetil amonyum bormür ile sulu çözelti içerisinde gerçekleştirilmiştir. Karışım, AgNP'lerin oluşumuyla sonuçlanan sonikasyona tabi tutmuşlardır. Bu nanopartiküller daha sonra kitosan ile fonksiyonlandırılmıştır, bu da NP'lerin stabilize olmasını sağlamıştır. Memeli hücrelerinde ve *Galleria mellonella* larvalarında görülen düşük sitotoksite, nanokompozitlerin in vivo şartlarda araştırılmasına yönlendirmiştir. Ag nanokompozitleri, fare kutanöz kandidiyazına karşı topikal bir tedavi olarak test edilmiştir. Ag nanokompozitlerin, cilt mantar yükünü doz yanıt davranışına göre azalttığını buna bağlı olarak da doku onarımını desteklediğini vurgulamışlardır.

Chappidi ve arkadaşları (Chappidi vd. 2024), streptozotosin ile indüklenmiş diyabetik sıçanlarda yara iyileşmesini hızlandırmak için kuersetin-Ag kompleksi içeren kitosan bazlı nano iskelelerin terapötik etkinliğini araştırmışlardır. Hidrotermal işlemlerle sentezledikleri iskeleleri, sıçanlarda dorso-lateral bölgelerdeki yaralara 14 gün boyunca uygulamışlardır.

Tedavi sonrası morfolojik incelemeler, histopatolojik analizler, antioksidan enzim aktivitesi, reaktif oksijen radikalleri (ROS) temizleme ve kan parametrelerini içeren kapsamlı bir değerlendirme yapmışlardır.

Bu değerlendirme sonuçlarına göre, Ag'nin antimikrobiyal özelliklerinden, kuersetinin antioksidan yeteneklerinden ve kitosanın doku yenilenmesini teşvik etmesinden kaynaklanan sinerjik faydaların yara iyileşme sürecini önemli ölçüde arttırdığını göstermişlerdir. Ag'nin ve kuersetinin özelliklerine bağlı olarak görülebilecek toksisiteye rağmen, diyabetik durumun daha fazla kötüleşmediğini de belirtmişlerdir.



2. MATERİYAL ve YÖNTEM

2.1. Çalışmada Kullanılan Kimyasal Maddeler

Etanol
Meyan kökü
Nitrik Asit
Aseton
Metanol
Sodyum Hidroksit

2.2. Kullanılan Cihazlar

Atomik Adsorpsiyon Spektroskopisi (933AA Model, GBC, Avusturalya)
Ultraviyole-Görünür bölge (UV-VİS) Spektrofotometresi (Libra S70 Model, Biochrom, İngiltere)
Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FTIR) Shimadzu IRTracer-100 (Japonya)-
Yatay çalkalayıcı inkübatör (TH 15 Model, Edmund Bühler - Johanna Otto GmbH, Almanya)
Liyofilizatör (Heto Power Dry PL3000, Danimarka)
100 (Japonya)
Santrifüj (NF 200 Model, Nüve, Türkiye)
Hassas terazi (CP224 S Model, Sartorius, Japonya)
Isıtmalı Su Banyosu (BS-21 Model, Jeio Tech, Kore)Isıtmalı Su Banyosu
Vakum Etüvü (DZ-2BC II Vacuum Drying Oven, Almanya)

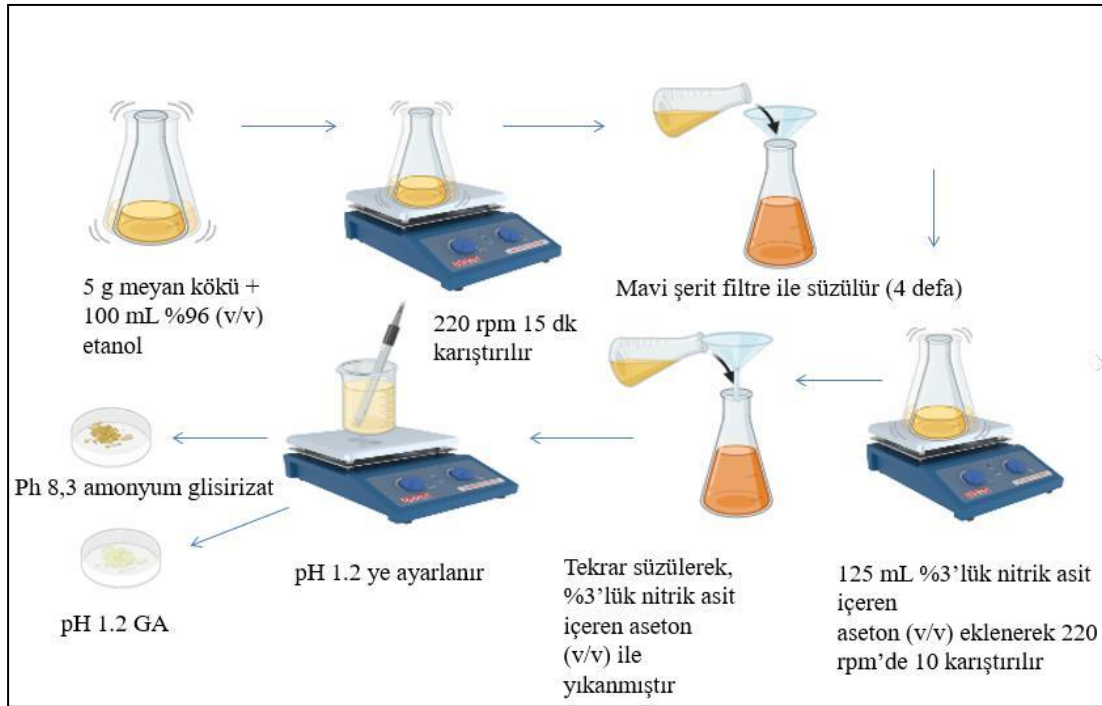
2.3. Glisirizik Asit Eksraksiyonu

5 gram meyan kökü küçük parçalara ayrılarak 1000 mL’lik erlen içerisine alınmış ve üzerine 100 mL %96 (h/h) etanol ilave edilmiş ve 220 rpm de 15 dakika boyunca karıştırılmıştır. Karıştırma sonunda mavi şerit süzgeç kağıdı ile sıvı kısım süzölmüştür. Aynı işlem 4 defa tekrarlanmıştır.

En son işlemin ardından alınan katı çökelti üzerine 125 mL %3’lük nitrik asit içeren

aseton (h/h) ilave edilmiş ve 220 rpm de 10 dakika boyunca karıştırılmıştır. Çözelti 250 mL'lik erlene mavi şerit süzgeç kağıdı ile süzülüp %3'lük nitrik asit içeren aseton (h/h) ile yıkanmıştır.

Elde edilen çözelti karıştırıcı üzerinde amonyum hidroksit eklenerek ilk olarak pH'ı 1.2'ye çıkarılmıştır.



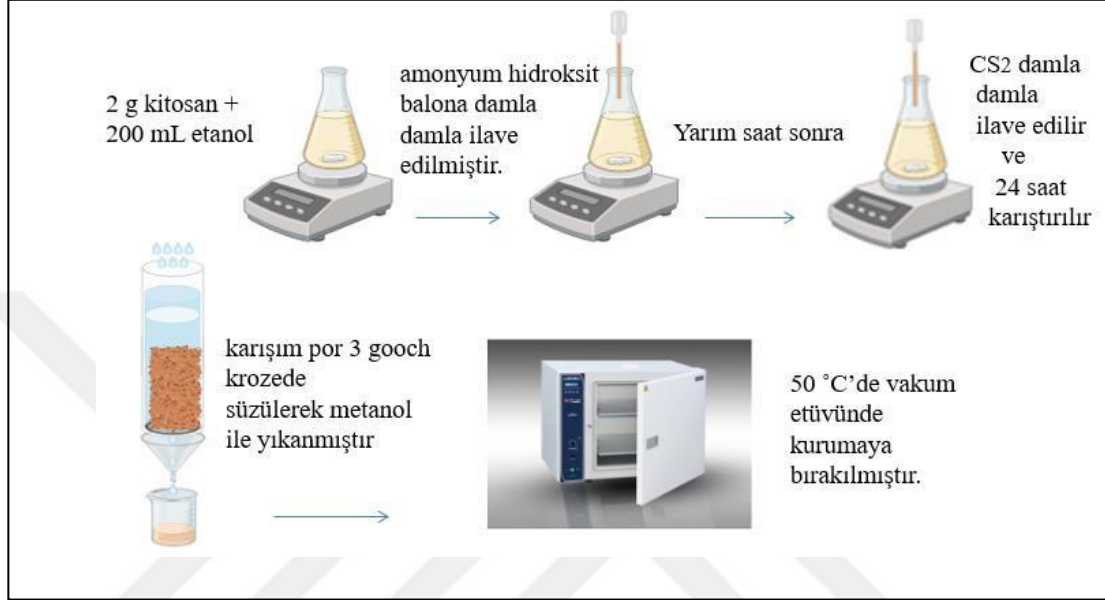
Şekil 2. 1. Glisirizik Asit Eksraksiyonu (Biorender ile çizilmiştir)

Elde edilen beyaz renkli çökelti bir cam filtre ile süzülerek sıvı kısım uzaklaştırılmış ve katı çökelti toplanılmıştır. Daha sonra alınan çözelti yine karıştırıcı üzerinde amonyum hidroksit eklenerek pH'ı 8,3'e çıkarılmıştır. Yine oluşan kahverengi renkli çökelti bir cam filtre ile süzülerek sıvı kısım uzaklaştırılmış ve katı çökelti toplanılmıştır.

Katı çökeltiler aseton ile yıkanmıştır. Elde edilen katı, cam petri kabına aktararak 35°C'lik inkübatörde asetonu uçana kadar kurutulmuştur. pH 1.2'de elde edilen beyaz çökeltinin 18β-glisiretinik asit, pH 8.3'te elde edilen kahverengi maddenin ise amonyum glisirizat olduğu düşünülmektedir. Her iki maddede FTIR analizleri ile karakterize edilmiştir.

2.4. Ditiyokarbomat Kitosan (DTCC) Sentezi

Kitosanın, metal iyonlarına olan afinitesini artırmak için karbon disülfür (CS_2) ile modifiye edilmiştir. Ditiyokarbamat kitosan, alkali koşullarda kitosanın CS_2 ile reaksiyona girmesiyle elde edilebilmektedir. Sentez işlemi aşağıdaki gibi gerçekleştirilmiştir:



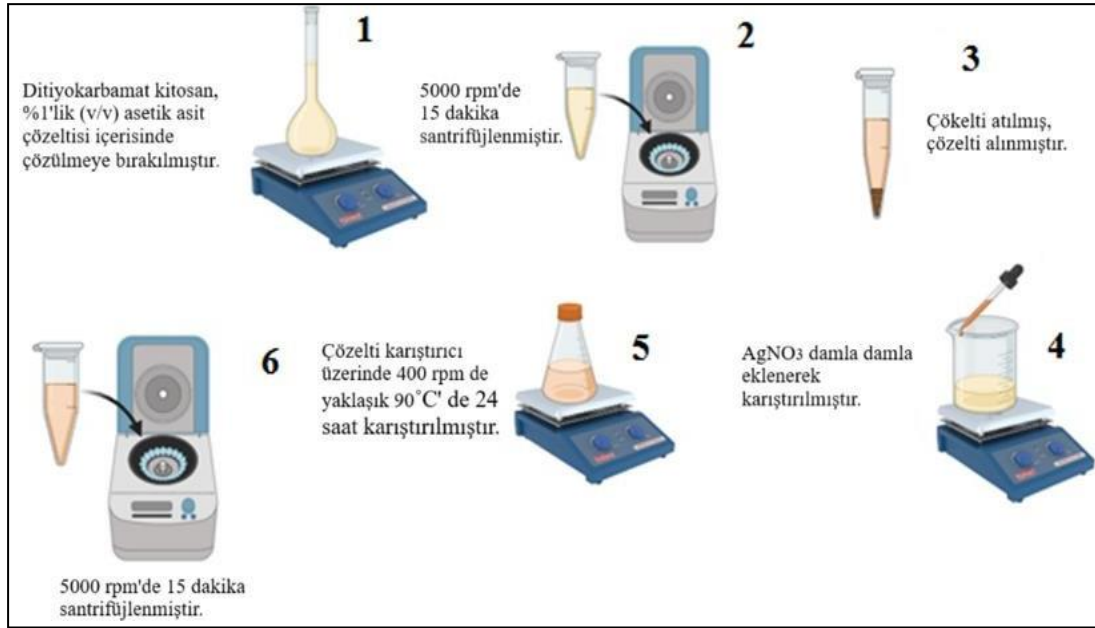
Şekil 2. 2. DTCC Sentezi (Biorender ile çizilmiştir)

2 g kitosan 200 mL etanol içerisinde bir balonda dağıtılmıştır. Daha sonra derişik amonyum hidroksit balona damla damla ilave edilmiştir. Yarım saat karıştırıldıktan sonra üzerine CS_2 damla damla ilave edilmiştir ve karışım 24 saat boyunca karıştırılmaya devam edilmiştir. 24 saat sonunda karışım por 3 gooch krozede süzülerek metanol ile yıkanmıştır ve 50°C'de vakum etüvünde kurumaya bırakılmıştır.

2.5. Kitosan ve Ditiyokarbomat Kitosan ile Stabilize Edilmiş Gümüş Nanopartiküllerin Sentezi

Yukarıda şekilde sentezlenen ditiyokarbamat kitosandan belirli kütlerde alınmış ve %1'lik (h/h) asetik asit çözeltisi içerisinde çözülmeye bırakılmıştır. 24 saat karıştırıldıktan sonra safsızlıkların giderilmesi amacıyla karışım 5000 rpm de 15 dakika santrifüjlenmiştir. Çökelti atılmış, çözelti alınarak kullanılmıştır. Çözelti içerisine 20 mM olacak şekilde 10 mL suda çözülmüş $AgNO_3$ damla damla karıştırılarak ilave edilmiştir. Bu karışım 30 dakika karıştırılmış 100 mL'lik bir erlen içerisine aktarılmıştır ve kapak kısmı alüminyum folyo ile kapatılmıştır. Çözelti

karıştırıcı üzerinde 400 rpm'de yaklaşık 90°C'de 24 saat karıştırılmıştır. En son elde edilen çözelti yine safsızlıkların uzaklaştırılması için 5000 rpm'de 15 dakika santrifüjlenmiştir. Elde edilen DTCC stabilize AgNP'ler bu haliyle ışık görmeyen bir ortamda oda sıcaklığında saklanmıştır. Nanopartiküllerin partikül boyutu ve zeta potansiyelleri zetasizer kullanılarak belirlenmiştir. Kitosan ile stabilize edilmiş AgNP'lerde aynı şekilde sentezlenmiştir.



Şekil 2. 3. Kitosan ve DTCC ile stabilize edilmiş AgNP'lerin Sentezi (Biorender ile çizilmiştir)

2.6. PVA Kriyojellerin Sentezi

Kriyojellerin sentezinden önce ilk olarak serbest haldeki GA'nın ve DTCC stabilize AgNP'lerin antioksidan aktivitesi ile serbest haldeki DTCC stabilize AgNP'lerin antibakteriyel aktivitesi belirlenmiştir. Bu deneylerden elde edilen verilerden yararlanılarak kriyojeller sentezlenmiştir.

Kriyojel sentezinde ilk olarak belirli miktarda PVA yaklaşık 90 °C'de su içerisinde 3 saat karıştırılarak çözündürülmüştür. Daha sonra PVA çözeltisi içerisine çeşitli derişimlerde GA ve DTCC stabilize AgNP'ler ilave edilerek çözeltiler elde edilmiştir. Elde edilen çözeltiler 12 kuyucuklu hücre kültür kapları içerisine her bir kuyucuğa 700 µL çözelti gelecek şekilde ilave edilmiştir. 12 kuyucuklu plakalarda bulunan her bir kuyucuk için kriyojellerin hazırlanma koşulları aşağıda

Çizelge 2.1’de ve Şekil 2.4’te verilmiştir. Karışım kültür kabı içerisinde hava kabarcıklarından kurtulmak için 2 saat oda sıcaklığında bekletilmiştir. Daha sonra kültür kabı 24 saat boyunca -20°C buzdolabında bekletilmiştir. Ardından liyofilizatörde liyofilize edilmiştir. Boş PVA kriyojelleride aynı şekilde elde edilmiştir. Sentezlenen kriyojeller buzdolabında $+4^{\circ}\text{C}$ ’de saklanmıştır.

Çizelge 2.1 Kriyojellerin hazırlanma koşulları

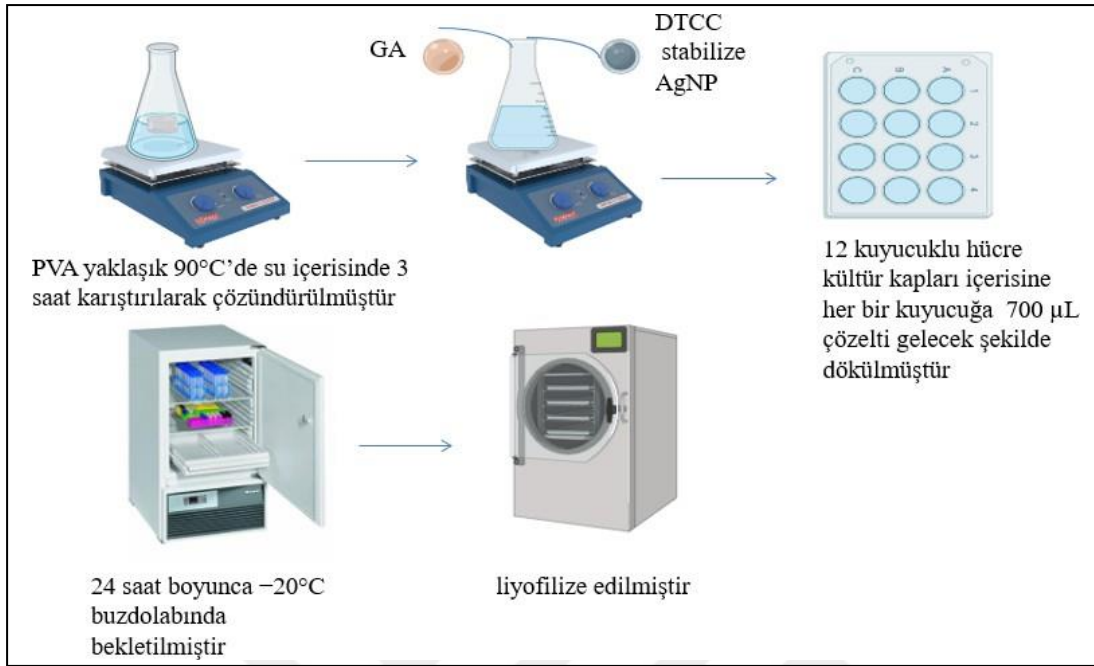
Kodu	PVA çözeltisi	GA derişimi (ppm)	DTCC stabilize AgNP’lerin miktarı (μL)*
K1	700 μL	250	90**
K2	700 μL	500	90**
K3	700 μL	750	90**
K4	700 μL	1000	90**
K5	700 μL	1250	90**
K6	700 μL	1500	90**
K7	700 μL	2000	90**
K8	700 μL	2500	90**
K9	700 μL	456****	90
K10	700 μL	994****	10
K11	700 μL	994****	20
K12	700 μL	994****	40
K13	700 μL	994****	60
K14	700 μL	994****	90
K15	700 μL	994****	120
K16	700 μL	994****	150
K17	700 μL	994****	180
K18	700 μL	994****	210
K19	700 μL	994****	240
K20	700 μL	-	90**

* 20 mM derişimden 2,5 mM derişime seyreltilmiş DTTC stabilize AgNP

** Serbest halde %100 antibakteriyel etki gösteren DTCC stabilize AgNP miktarı

*** Kriyojel içerisinde %50 antioksidan aktivite gösteren GA miktarı

**** Kriyojel içerisinde %100 antioksidan aktivite gösteren GA miktarı



Şekil 2. 1. PVA Kriyojel Sentezi (Biorender ile çizilmiştir)

2.7. Nanopartiküllerin ve Kriyojellerin Antibakteriyel Aktivite Testleri

Elde edilen Chi-AgNPs, DTCC stabilize AgNP'lerin ve daha sonra ise kriyojellerin antibakteriyel aktivitesi patojen mikroorganizma olarak seçilen gram negatif *E. coli* ve gram pozitif *S. aureus* bakterilerine karşı incelenmiştir. Bu amaçla nutrient broth sıvı besi ortamları hazırlanmış ve hazırlanan besi ortamlarına eküvyon çubuğu yardımıyla agardan bakteriler ekilmiştir. Daha sonra 37°C'de 24 saat ön büyüme yapılmıştır ve bakteri kültüründen 25 µL alınarak 5 mL nutrient broth besiyerlerine ekilmiştir. Aynı besiyerleri içerisine çeşitli derişimlerde AgNP'ler (5 mL kültür ortamına 1 mM Chi-AgNP ve 1 mM DTCC-AgNP için çeşitli hacimlerde) ve 20 dakika UV ışınına maruz bırakılarak sterilize edilmiş Çizelge 2.1'e göre hazırlanan K10-K19 arasındaki DTCC-AgNP miktarı sabit GA miktarı değişen kriyojellerden bir adet ilave edilmiştir. İçerisine herhangi bir madde eklenmemiş besi ortamları kontrol grubu olarak kullanılmıştır. 24 saat boyunca 37°C'de bakteriler büyümeye bırakılmıştır. Bakterilerin hücre yoğunlukları 600 nm dalga boyunda UV-VİS spektrofotometre kullanılarak belirlenmiştir. Antibakteriyel aktivite Eşitlik (2.1) kullanılarak belirlenmiştir.

$$\text{İnhibisyon yüzdesi} = \frac{A_K - A_0}{A_K} \times 100 \quad (2.1)$$

Burada A_K kontrol grubunun optik yoğunluk değeri, A_0 ise AgNP'ler veya çeşitli derişimlerde GA ve DTCC stabilize AgNP'ler içeren kriyojeller içeren kültür ortamlarının optik yoğunluğu olarak verilmiştir.

2.8. Antioksidan Aktivite Testi

Antioksidan aktivite testi 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla %75'lik (v/v) etanol içerisinde 50 μM 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) çözeltisi hazırlanmıştır. İlk olarak serbest haldeki GA'nın (250-1500 ppm aralığında), DTCC stabilize AgNP'lerin (20 mM derişimden 4-200 μL) ve daha sonra Çizelge 2.1'e göre hazırlanan K1-K8 aralığındaki DTCC-AgNP miktarı sabit GA miktarı değişen kriyojellerin antioksidan aktivitesi belirlenmiştir.

1500 ppm GA'nın sudaki stok çözeltisi hazırlanmıştır. Çözünmeyen safsızlıkların giderilmesi için 5000 rpm'de 10 dakika santrifüjlenmiştir. Süpernatant alınarak kullanılmıştır. Süpernatanttan faydalanarak su ile seyreltilerek 250-1500 ppm aralığında çeşitli çözeltiler hazırlanmıştır. Her bir GA çözeltisinden 700 μL alınarak üzerine 1200 μL DPPH çözeltisi ilave edilmiş ve 30 dakika boyunca 200 rpm'de çalkalayıcıda ışık görmeyecek şekilde çalkalanmıştır. Daha sonra çözeltilerin absorbans değerleri UV-VİS spektrofotometre yardımıyla 517 nm'de ölçülmüştür.

DTCC stabilize AgNP'ler içinde antioksidan aktivite belirlenmiştir. 4-200 μL 20 mM DTCC-Ag içerecek şekilde 700 μL 'lik çözeltiler hazırlanmıştır. Bu çözeltiler alınmış ve üzerine 1200 μL DPPH çözeltisi ilave edilmiş ve 30 dakika boyunca 200 rpm'de çalkalayıcıda ışık görmeyecek şekilde çalkalanmıştır. Daha sonra çözeltilerin absorbans değerleri UV-VİS spektrofotometre yardımıyla 517 nm'de ölçülmüştür.

Daha sonra 12 kuyucuklu kültür kapları içerisinde Çizelge 2.1'e göre hazırlanan K1-K8 aralığında kriyojellerin üzerine her bir kuyucuğa 1200 μL DPPH çözeltisi ilave edilmiştir. 30 dakika boyunca 200 rpm'de çalkalayıcıda ışık görmeyecek şekilde kültür kapları çalkalanmıştır. Daha sonra çözeltilerin absorbans değerleri UV-VİS spektrofotometre yardımıyla 517 nm'de ölçülmüştür.

Kör olarak 700 μL su üzerine 1200 μL DPPH çözeltisi ilave edilmiş karışım kullanılmıştır. Ölçülen absorbans değerlerinden yararlanılarak antioksidan aktivite yüzde olarak Eşitlik (2.2) ile belirlenmiştir.

$$\text{DPPH Süpürme Etkisi (\%)} = \frac{A_K - A_0}{A_K} \times 100 \quad (2.2)$$

Burada A_K 517 nm’de kontrol grubunun absorbans değeri, A_0 ise 517 nm’de örneğin absorbans değeri olarak alınmıştır.

2.9. Kriyojeller için Su Tutma Kapasitesi Tayini

 yi bir yara örtü malzemesinin ortamdaki akıntıları emmesi gerekmektedir. Bu sebeple elde edilen kriyojellerin su tutma kapasiteleri belirlenmiştir. Su tutma kapasiteleri boş PVA kriyojeller ile  izelge 2.1’e göre hazırlanan DTCC-AgNP ve GA miktarı sabit olan K9 ve K14 kriyojelleri için ölçülmüştür. Su tutma kapasitesinin belirlenmesi için cilt ortamına taklit etmek amacıyla çeşitli tuzlar içeren pH 7,4 fosfat tamponu kullanılmıştır. 1 L fosfat tamponu 0,8 g NaCl, 0,2 KCl, 2,9 g Na_2HPO_4 ve 0,2 g KH_2PO_4 ilave edilerek hazırlanmıştır. Kriyojellerden yaklaşık 30 mg alınarak cam tüpler içerisine alınmış ve üzerlerine 10 mL tampon ilave edilerek 37  C’deki su banyosu içerisine yerleştirilmiştir. Numuneler belirli zaman aralıklarında çıkartılarak, üzerlerinde fazladan bulunan sıvı filtre kağıdı ile uzaklaştırılıp derhal ıslak kütlesi ölçülmüştür. Dengedeki su tutma kapasiteleri Eşitlik 2.3 ile hesaplanmıştır.

$$\text{Su tutma kapasitesi (\%)} = \left(\frac{W_i - W_k}{W_k} \right) \times 100 \quad (2.3)$$

Burada W_i ve W_k sırasıyla ıslak ve kuru kriyojellerin kütlesi olarak kullanılmıştır.

2.10. Sitotoksite Deneyleri

2.10.1. Hücrelerin Ekilmesi ve  oğaltılması

B16-F10 fare melanom hücreleri kullanıma kadar -180  C azot tankında muhafaza edilmiştir. Çalışmalarda kullanılacak olan besi ortam  taze olarak hazırlanmıştır. Besi ortam  olarak %10 (h/h) fetal bovine serum (FBS), 50  nite/mL penisilin ve 50  g/mL streptomisin içeren Dulbecco’s Modified Eagle’s Medium (DMEM) kullanılmıştır. Dondurulmuş B16-F10 fare melanom hücreleri içeren vial 37 C su banyosunda sıvılaşana kadar bekletilmiştir. Hücreler laminar akış kabini içerisinde besi ortam  bulunan tüpe eklenerek 1000 rpm’de 3 dakika süreyle santrifüj edildikten sonra dibe

Çöken hücreler taze besi ortamında tekrar dağıtılarak 25 cm²'lik T-kültür kaplarına aktarılmıştır. Hücreler 37 °C'de %90 bağıl nemli hava, %5 CO₂ içeren atmosferde %80-90 konfluent hale gelene kadar inkübe edilmiştir.

2.10.2. Hücrelerin Pasajlanması

Kültür kabı içindeki besi ortamı uzaklaştırılarak pH 7,4 fosfatla tamponlanmış tuz ortamı ile iki kez yıkanmıştır. Kültür kaplarına %0,025 (v/v) tripsin-EDTA çözeltisi eklenerek 15 dakika süreyle inkübatörde bekletildikten sonra besi ortamı içeren tüpe eklenmiştir. 2000 rpm'de 3 dakika santrifüjlendikten sonra üzerindeki ortam atılarak taze ortamda hücreler tekrar dağıtılmıştır. Hücre süspansiyonu 1:2 oranında pasajlanarak yeni kültür kaplarına alınmış ve inkübatörde çoğaltılmıştır. Uygun pasaj sayısındaki (20-40) hücreler tripan mavisi dışlama yöntemi ile sayıldıktan sonra 10.000 hücre/kuyucuk olacak şekilde 96 kuyucuklu kültür kaplarına ekilmiştir.

2.10.3. Hücre Canlılığının Değerlendirilmesi İçin (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyumbromür) (MTT) Testi

MTT deneyleri, metabolik aktiviteye bağılı olarak hücre canlılığının hesaplanmasına dayanır. Sarı suda çözünür bir yapı olan MTT canlı hücrelerde metabolik olarak mavi-mor renkli ve suda çözünmeyen formazana indirgenir. Canlı hücre sayısı, madde çözüldükten sonra fotometrik ölçümlerle belirlenen formazanın renk yoğunluğu ile ilişkilidir. MTT deneyleri boş PVA kriyojeller, DTCC stabilize AgNP'ler ve Çizelge 2.1.'e göre hazırlanan DTCC-AgNP ve GA miktarı sabit olan K9 ve K14 kriyojelleri için gerçekleştirilmiştir. İlk olarak her bir örnek besi ortamı içerisinde derişimi 10.000 ppm olacak şekilde 24 saat süre ile ekstrakte edilmiştir.

Daha sonra her bir kuyucuğa 500-2500 ppm derişim aralığında hücrelerin üzerine ekstraktlar uygulanmış ve 24 saat boyunca inkübe edilmiştir. Bu süre sonunda kuyucuklara 25 µL MTT çözeltisi ilave edilmiştir (pH 7,4 fosfatla tamponlanmış tuz ortamı içinde, 5 mg/mL). Dört saat inkübasyonu takiben besiyeri uzaklaştırılmış ve kuyucuklara 200 µL dimetil sülfoksit (DMSO) ilave edilerek formazan kristallerinin çözünmesi sağlanmıştır. Daha sonra kuyucuklardaki çözeltilerin absorbansları mikropłaka okuyucuda (VERSAmax Microplate Reader, Molecular Devices, CA, A.B.D.) 570 nm'de okunmuştur. Boş kültür ortamında büyütölen hücreler, diğör tüm numuneler için kontrol grubu olarak kullanılmıştır. Kontrol grubundaki büyümenin

%100 olduğu göz önüne alınarak hücrelerin canlılığı eşitlik (2.4) ile hesaplanmıştır.

$$\text{Yüzde canlılık} = \frac{OD_{\text{örnek}}}{OD_{\text{kontrol}}} \times 100 \quad (2.4)$$

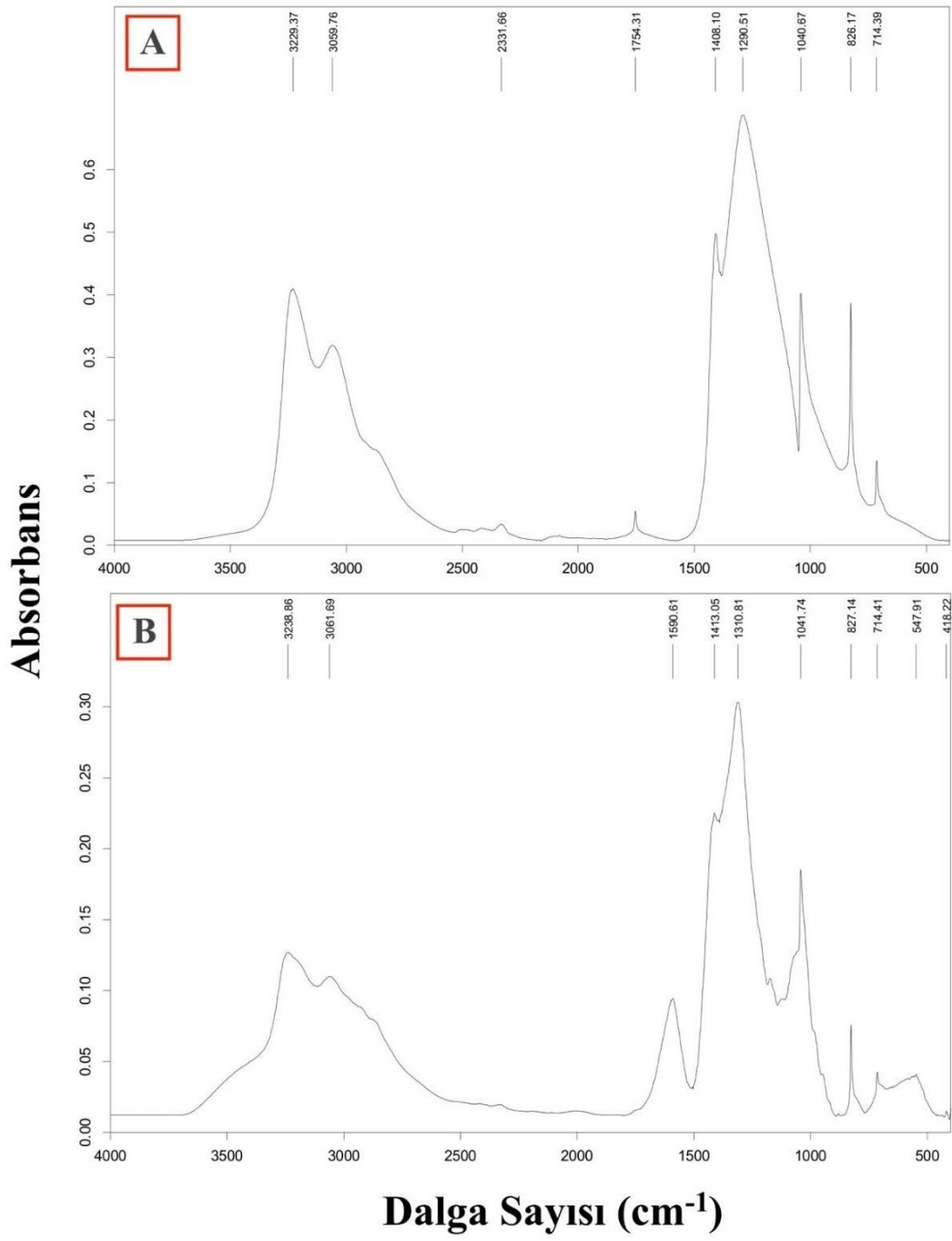
Eşitlikte, $OD_{\text{örnek}}$, test maddelerini içeren kuyucukların optik yoğunluğunu, OD_{kontrol} ise hiçbir uygulama yapılmamış kontrol kuyucuklarının optik yoğunluğunu ifade etmektedir.



3. ARAŞTIRMA BULGULARI VE TARTIŞMA

3.1. FTIR Analizi

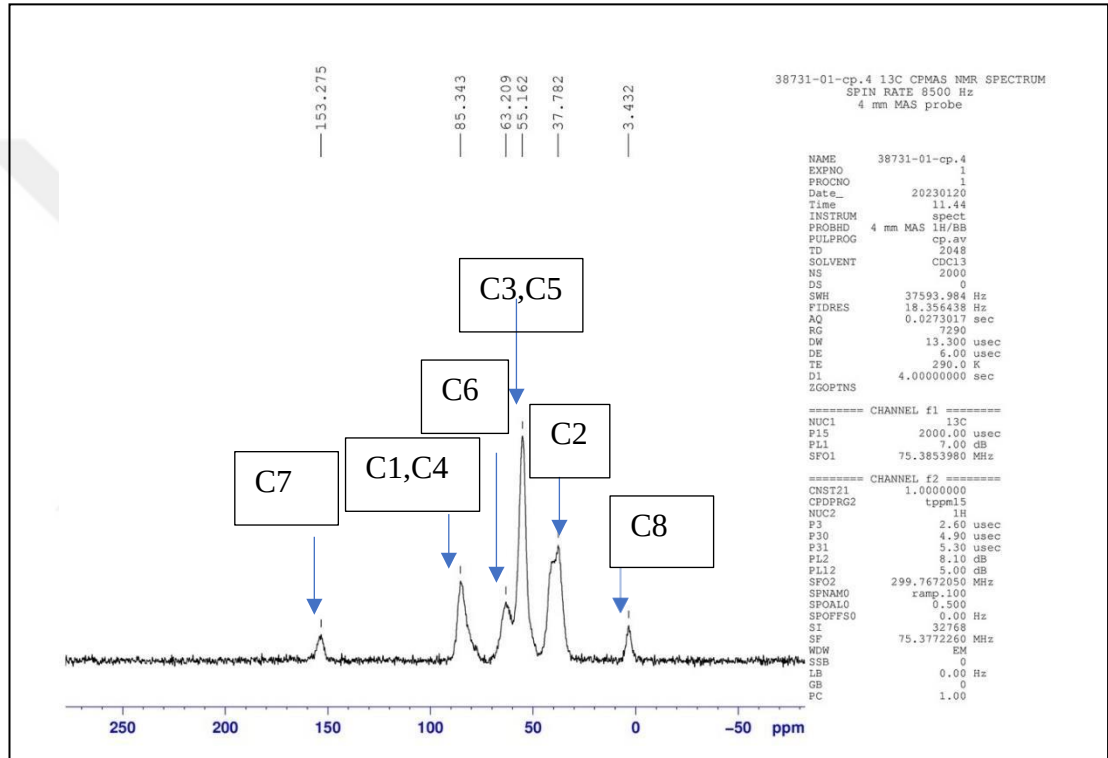
Meyan kökünün aseton ekstraktının eldesi sırasında pH 1,2 civarında ve pH 8,3 civarında çözeltide iki adet çökelti meydana gelmektedir. Bu iki ekstraktın kimyasal yapısı FTIR analizi ile karakterize edilmiş ve sonuçlar aşağıda gösterilmiştir (Şekil 3.1.A ve 3.1.B.). Her iki FTIR spektrumu incelendiği zaman 3200, 3060, 1700 ve 1590, 1410, 1290 ve 1040 cm^{-1} 'deki pikler sırasıyla O–H gerilme, aromatik halka üzerindeki C-H gerilme, C=O gerilme, O-H bükülme ve C–O gerilme titreşimlerine atfedilebilir. Bunlar glisirizik asit molekülünde bulunan karakteristik gruplar ile iyi bir şekilde örtüşmektedir. Ayrıca GA'nın FTIR spektrumlarını içeren diğer çalışmalarda bulgularımızı desteklemektedir (Saeedi, Moghbeli ve Vahidi (2023); Nafisi, Manouchehri ve Bonsaii 2012a, 2012b; Qian vd. 2022).



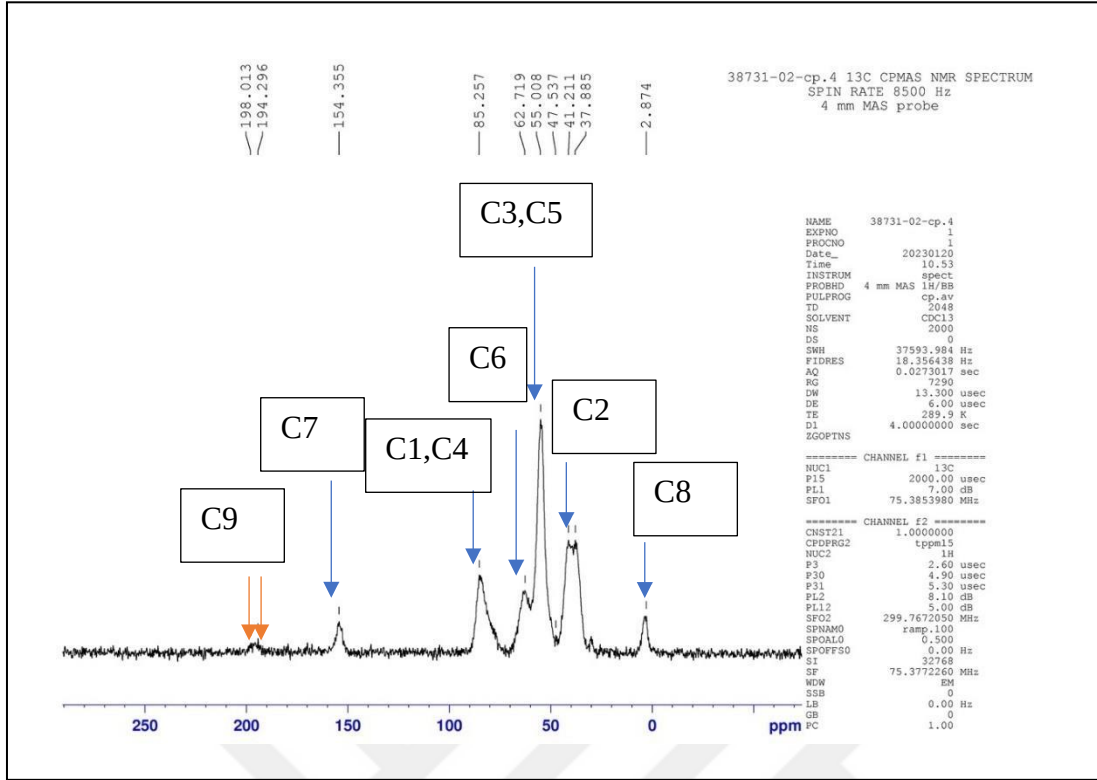
Şekil 3. 1. A) pH 1,2’te elde edilen çökeltilinin B) pH 8.3’de elde edilen çökeltilinin FTIR spektrumları

3.2. Kitosan ve Sentezlenen DTCC'nin C^{13} -NMR Analizi Sonuçları

Katı haldeki karbon atomlarının nükleer manyetik rezonansı (NMR), yalnızca ana iskeletin bileşenleri için değil, aynı zamanda kitosan üzerine bağlanmış yan zincirlerin yapısal özelliklerini doğrulamak için değerli bir tekniktir. Kitosan ve DTCC'ye ait C^{13} -NMR grafikleri Şekil 3.2 ve 3.3' de, C^{13} -NMR sonuçlarının irdelenmesi ise Çizelge 3.1'de gösterilmiştir.



Şekil 3. 2. Kitosana ait C^{13} -NMR grafiği



Şekil 3. 3. DTCC'ye ait C^{13} -NMR grafiği

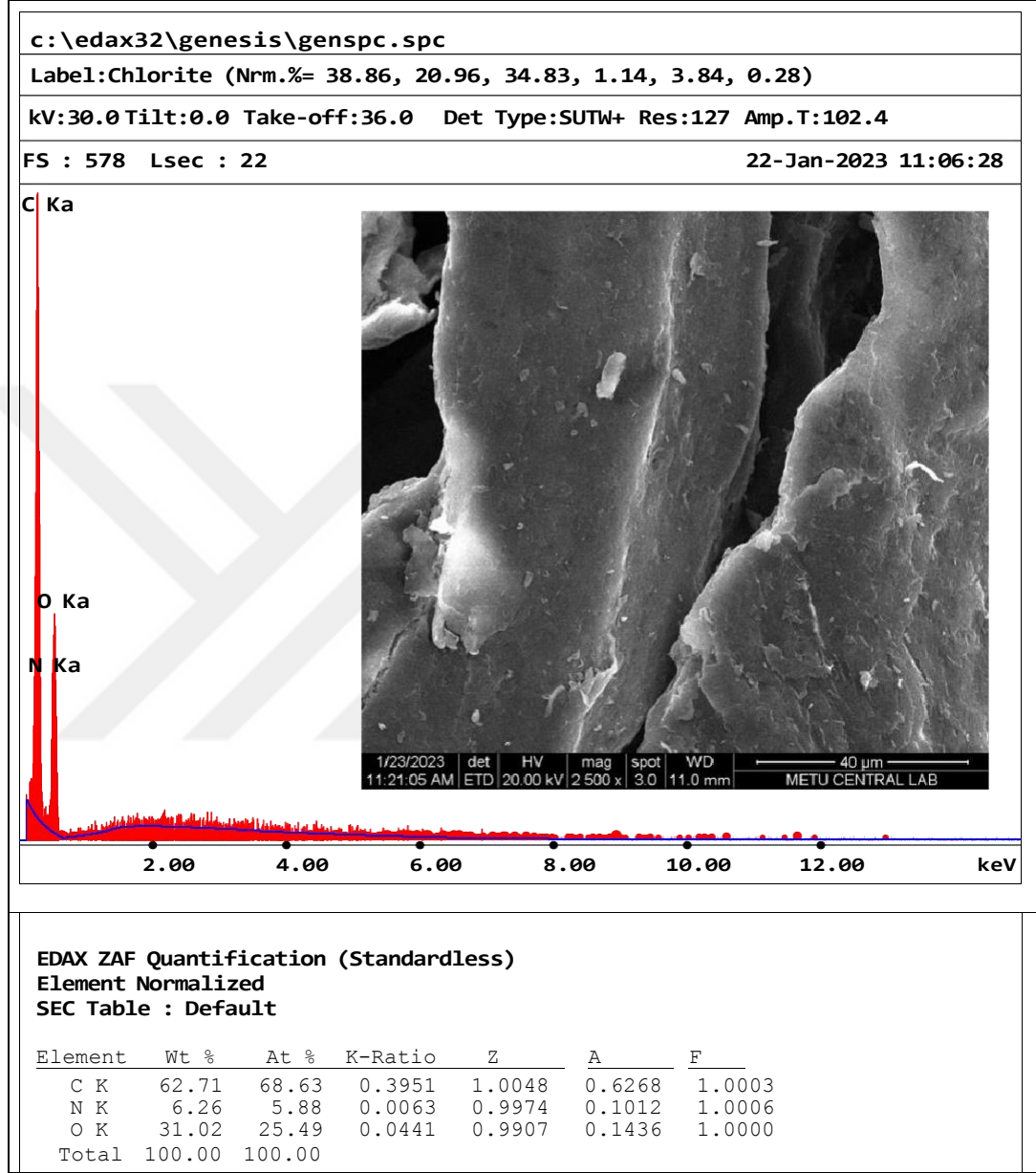
Çizelge 3. 1.Kitosan ve DTCC'ye ait C^{13} -NMR sonuçları

Karbon Atomlarının Numarası	Kitosan	DTCC
C-1	85,3	85,2
C-2	37-41 arası	37-41 arası
C-3	55,1	55,0
C-4	85,3	85,2
C-5	55,1	55,0
C-6	63,2	62,7
C-7	153,2	154,3
C-8	3,43	2,87
C-9	-	194-198 arası

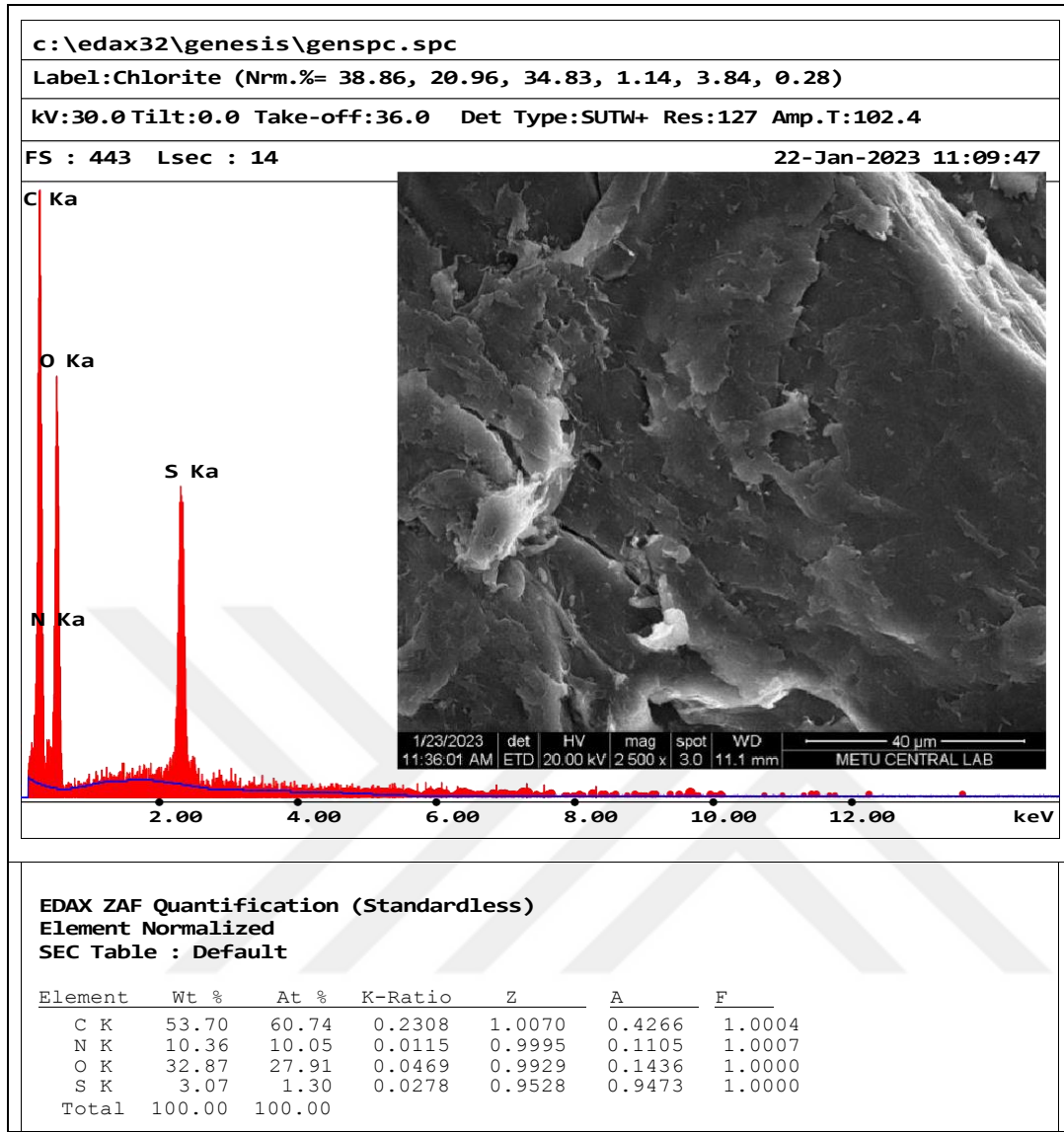
Kitosan için, altı farklı tepe dizisi 85,3/ 63,2/ 55,1 ve 37-41 ppm arasında sırasıyla C4/C1, C6, C3/C5 ve C2'ye atfedilebilir. Ayrıca 3,43 (C8) ve 153,2 (C7) ppm'de iki sinyal daha deasetillenmemiş kitosanda bulunan metil ve karbonil karbonlarına atfedilebilir. Beklendiği gibi, kimyasal olarak modifiye edilmiş kitosan, öncü kitosanının karakteristik piklerini ve DTCC parçasına bağlı olarak 194-198 ppm arasında ditiyokarbamat grubunda bulunan kükürt atomları bağlı olan 9 numaralı karbon atomuna atfedilen bir ek pik olarak gözlenmektedir (Khan, Badshah ve Airolidi 2011).

3.3. Sentezlenen DTCC'nin SEM ve EDAX Sonuçları

Kitosan ve sentezlenen DTCC'nin EDAX ve SEM sonuçları Şekil 3.4 ve 3.5'de verilmiştir.



Şekil 3. 4.Kitosanın x2500büyütmeli SEM ve EDAX sonuçları



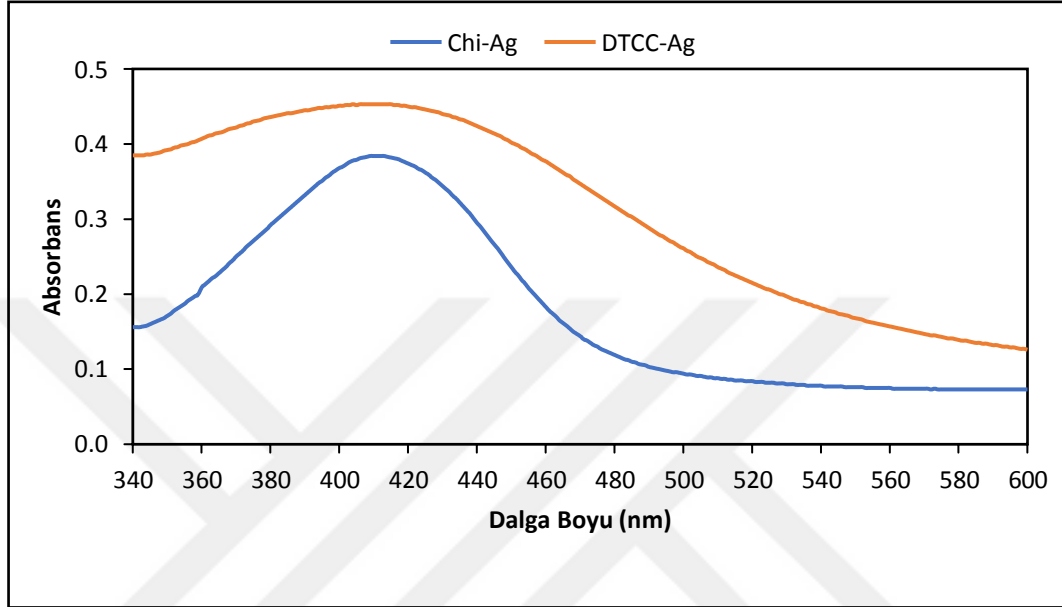
Şekil 3. 5. DTCC'nin x2500büyütmeli SEM ve EDAX sonuçları

EDAX sonuçlarına bakıldığı zaman modifikasyon ile kitosanın yapısına girmiş olan kükürt atomlarının varlığı açıkça görülmektedir.

SEM analizine göre, kitosanın çok az pürüzlü, yoğun ve düz bir morfoloji sergilediği görülmektedir. Bu görüntü kitosanın moleküller arası hidrojen bağı yoğunluğuna atfedilebilir. DTCC ise kitosan üzerine kısmen aşılınmış ditiyokarbamat gruplarından dolayı daha pürüzlü bir yüzey morfoloji göstermektedirler. Kitosanın modifikasyonunun moleküller arası hidrojenin bağlarının bir bölümünü kırdığı bu sebeple pürüzlülüğün arttığı düşünülmektedir (Qin vd. 2012).

3.4. Sentezlenen AgNP'lerin Karakterizasyonu

Elde edilen nanopartiküller UV-VİS spektrofotometre analizleri, partikül boyut dağılımları, zeta potansiyel ölçümleri ve SEM çalışmaları ile karakterize edilmiştir. UV-VİS spektrofotometre ile yapılan absorbans taraması sonuçları Şekil 3.6'da verilmiştir.



Şekil 3. 6. Elde edilen gümüş nanopartiküllerin UV-VİS Spektrofotometre Analizleri

Sentezlenen Chi-Ag ve DTCC-AgNP'ler ilk olarak UV-VİS spektrofotometre ile karakterize edilmiştir. NP çözeltilerinin spektrumları 340-600 nm aralığında bir UV-VİS spektrofotometre kullanılarak alınmıştır. Renksiz kitosan veya DTCC çözeltilerinin zamanla açık sarıya ve ardından sarımsı kahverengiye dönüşmesi Ag iyonlarının indirgendiğinin kanıtıdır. İndirgeyici ajanın etkisiyle Ag iyonları zamanla metalik gümüşe ve ardından oligomerik kümeler halinde aglomerasyona uğramaktadırlar. Sonunda, bu kümeler metalik koloidal AgNP'lere dönüşmektedir. Bu çalışmada kullanılan kitosan ve DTCC biyopolimerleri koruyucu madde olarak kullanılmıştır. Bu polimerler partikül yüzeylerini aglomerasyondan veya yüzey özelliklerini kaybetmeden onları koruyarak kararlı bir halde kalmalarını sağlamaktadır. Her iki AgNP'nin yaklaşık 410 nm'de sergilediği pik, AgNO₃'ün yüzey plazmon rezonansının uyarılmasından kaynaklanmaktadır. Chi-Ag için 410 nm'deki yüzey plazmon rezonans bandı onun için karakteristiktir ve kitosan polimeri üzerindeki amino ve hidroksil grupları ile Ag iyonları arasındaki etkileşimin bir

göstergesidir. Aynı şekilde DTCC-Ag'de benzer bir noktada pik vermiştir ama DTCC üzerindeki karbamat gruplarındaki kükürtler ile Ag iyonları arasındaki etkileşimden dolayı grafik çok daha yayvan bir şekilde gözlemlenmiştir (Yan vd. 2021; Dara vd. 2021).

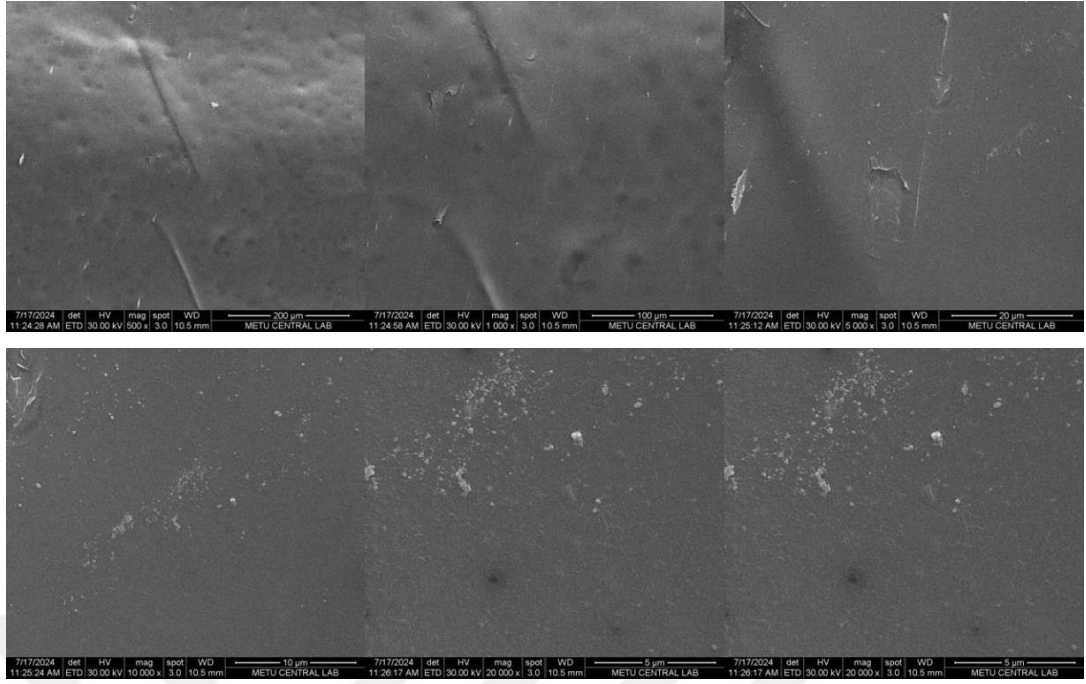
Sentezlenen Chi-Ag ve DTCC-AgNP'lerin hidrodinamik çap, çoklu dağılım indeksi ve zeta potansiyel sonuçları Çizelge 3.2'de verilmiştir.

Çizelge 3. 2. Elde edilen gümüş nanopartiküllerin hidrodinamik çap, çoklu dağılım indeksi ve zeta potansiyel sonuçları

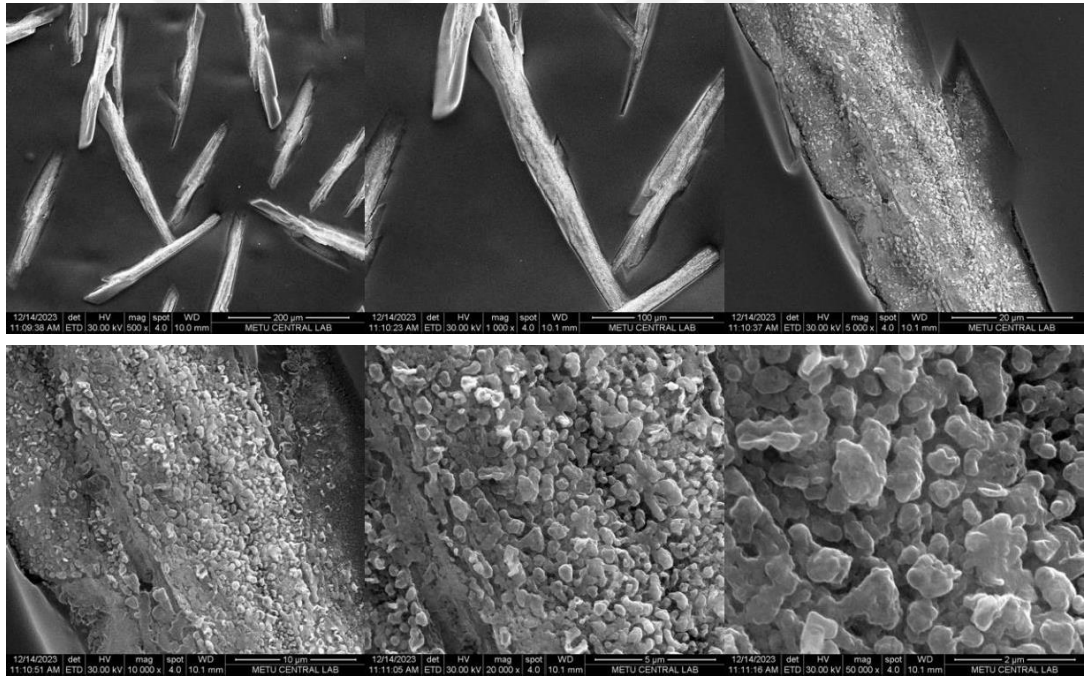
AgNP	Hidrodinamik Çap (nm)	Çoklu Dağılım indeksi (PDI)	Zeta Potansiyel (mV)
Chi-Ag	175,20±2,98	0,337±0,051	29,70±4,00
DTCC-Ag	158,00±1,27	0,294±0,007	33,40±0,26

Sonuçlar incelendiği zaman partikül boyutunun 200 nm'nin altında çıktığı bulunmuştur. DTCC-Ag'ün partikül boyutu bir miktar daha küçük ve PDI değerleri de biraz daha düşük çıkmıştır. Özellikle DTCC-Ag'lerin partikül boyutunun daha küçük bulunması, gümüş iyonları ile DTCC molekülleri üzerindeki kükürt atomları arasında daha kuvvetli bir etkileşim olmasından kaynaklanmaktadır. Her iki NP'nin zeta potansiyelleri ise 30 mV civarında çıkmıştır. Zeta potansiyellerinin yüksek oluşu nanopartiküllerin son derece kararlı olduğunu göstermektedir.

Sentezlenen Chi-Ag ve DTCC-AgNP'lerin SEM fotoğrafları Şekil 3.7 ve 3.8'de gösterilmiştir.



Şekil 3. 7.Sentezlenen Chi-AgNP'lerin çeşitli büyütme oranlarındaki SEM fotoğrafları



Şekil 3. 8. Sentezlenen DTCC-AgNP'lerin çeşitli büyütme oranlarındaki SEM fotoğrafları

Sonuçlar incelendiği zaman, Chi-AgNP'lerin SEM fotoğraflarına bakıldığında küçük ölçeklerde görülen Chi-AgNP'lerin yüzeylerindeki çizikler ve pürüzlülükler görülmektedir fakat görülebilecek düzeyde bir kümelenme yoktur. Büyük ölçeklere bakıldığında ise Chi-AgNP'lerin detaylı yapısı ve yüzeydeki dağılımlar görülmektedir.

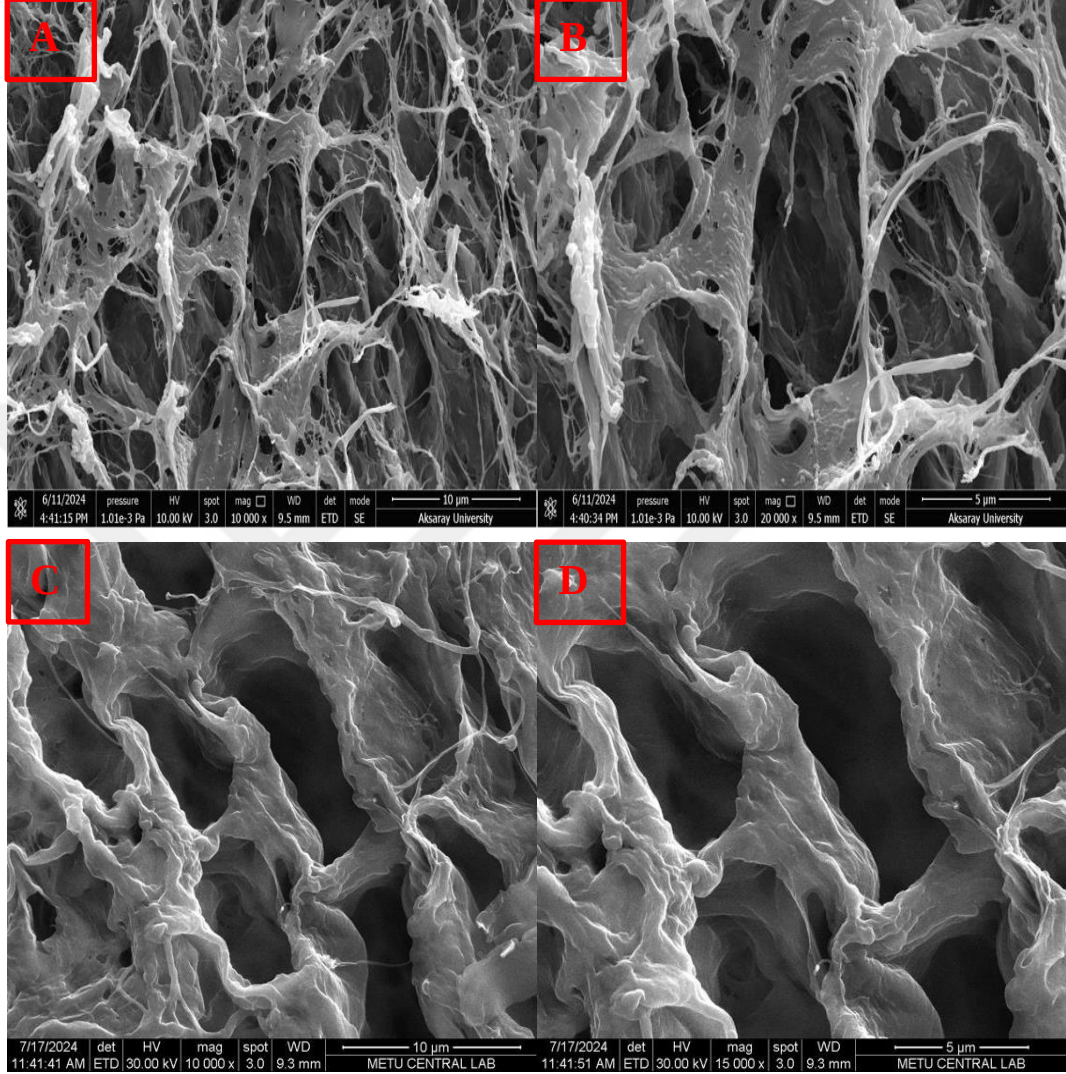
Buna ilave olarak Chi -AgNP'lerin kümeleşmiş bölgeler ve nanoparçacıklar arasındaki boşluklar detaylı şekilde görülmektedir. Kümeleşmelerin AgNP'lerin kitosan ile etkileşime girdiğinin göstergesi olduğu düşünülebilir (Yadollahi, Farhoudian ve Namazi 2015).

Kısacası, Chi -AgNP'lerin yüzeylerde dağınık ve bazı bölgelerde kümelenmiş olarak bulundukları ve büyütme ölçeğinin artması ile NP'lerin morfolojisinin, yüzey dağılımlarının ve birbiri ile etkileşimlerinin net bir şekilde görüldüğü söylenebilmektedir. Bu sonuçlar, Chi-AgNP'lerin küresel bir şekil sergilediği ve kitosan kaplanması ile nanopartiküllerin genel morfolojisini önemli ölçüde değiştirmediğini ve karakteristik küresel yapılarını korudukları doğrulanmıştır. Ek olarak, kitosan ilavesi ile küresel morfolojinin korunması, kitosanın nanopartiküller etrafında bozulma veya agregasyon olmadan uyumlu olduğu söylenebilir (Kara ve Özçelik 2024).

DTCC-AgNP'lerin SEM görüntüleri incelendiği zaman, çubuk benzeri şekiller ve bu şekillerin düzgün ve belirgin bir yapıda olduğu görülmektedir. Büyütme oranlarının artırılması, çubuk benzeri yapıların üzerindeki nanopartikül kaplamalarının yüzeyde dağılımlarını ve kümelenmeleri açıkça göstermektedir. Bu, DTCC'lerin AgNP'lere kovalent olarak bağlandığını ve DTTC'lerin AgNP'lerinin yüzeyine başarılı bir şekilde bağlandığını göstermektedir (Mehta, Mungara ve Kailasa 2013).

3.5. Sentezlenen PVA Kriyojellerin SEM Görüntüsü

Sentezlenen boş PVA ve GA ile DTCC stabilize AgNP'leri içeren PVA kriyojellerin morfolojik özellikleri SEM analizi ile karakterize edilerek Şekil 3.9'da gösterilmiştir.



Şekil 3. 9. Boş PVA (A ve B sırasıyla 10.0000 ve 20.000 büyütme) ve K14 Kriyojellerin (C ve D sırasıyla 10.0000 ve 20.000 büyütme) SEM görüntüleri

PVA kriyojelinin, donma sürecinde su donarken, polimerler yoğunlaşmış polimer bölgeleri oluşturmak üzere dışarı atılmaktadır. Polimer açısından zengin bölgelerdeki polimer zincirleri birbirine yakın temas ederek hidrojen bağları ve kristallerin oluşumunu kolaylaştırmaktadır. Çözülme sürecinde ise, gözenek oluşturu bir ajan olarak görev yapan donmuş su kristalleri, suyla dolu gözenekler bırakmaktadır. Bu süreçler her döngüde tekrarlandıkça, polimer fazının mikro yapısı yeniden şekillenmektedir. Polimer zincirlerin arasındaki mesafe azalır ve çapraz bağlanmalar

meydana gelmektedir. Bu süreçte su kristalleri büyür çözünme sırasında ise kriyojel içinde gözenekler ortaya çıkmaktadır. Bu durum PVA kriyojellerinin mikrogözenekli üç boyutlu ağ yapılarının oluşmasını açıklamaktadır (Shi, Xiong, Peng ve Wang 2016). Şekil 3.10’ da (A ve B) görülen PVA kriyojellerindeki gözenekli yapıların ve gözeneklerin yüzey boyunca heterojen bir şekilde dağıldığını söyleyebiliriz.

PVA matrisi üzerinde GA ve DTCC stabilize AgNP’ler homojen bir dağılım gösterdiği ve kriyojellerin yüzeyinde ne GA moleküllerine ne de DTCC stabilize AgNP’lere rastlanmamaktadır. Bu sonuç PVA kriyojellerin etken maddelerin kapsüllenmesi için mükemmel bir ana matris olduğu söylenebilir. Zaten literatürde PVA’nın iyi bir kaplama ajanı olarak davrandığı, çevresel ve kimyasal stabilite sağladığı bilinmektedir (Gonzalez-Campos vd. 2012). Kullanılan GA ve DTCC stabilize AgNP’lerin PVA kriyojellerini daha yoğun ve daha düzenli bir yapı oluşturmasını sağladığı SEM fotoğraflarından açıkça görülmektedir.

3.6. Antioksidan Aktivite Sonuçları

Meyan kökünün tedavi amacıyla kullanım sebeplerinin başlıcası yüksek antioksidan aktivitesidir. Meyan kökü ekstraktlarından elde edilen formülasyonların topikal uygulamasının, yüksek antioksidan içeriği nedeniyle cilt homeostazını azalttığı, reaktif oksijen türlerini yok ederek oksidatif stres hasarına karşı cildi koruduğu rapor edilmiştir (Pastorino, Cornara, Soares, Rodrigues ve Oliveira 2018). Bu sebeple meyan kökü ekstraktlarının özellikle yenilikçi yara örtü malzemelerinin üretiminde yüksek antioksidan aktivitesi sayesinde yara iyileşmesini hızlandırmada büyük bir potansiyele sahip olduğu düşünülmektedir. Bu sebeple serbest GA, DTCC-Ag ve üretilen kriyojel formülasyonlarının antioksidan aktiviteleri DPPH radikal süpürme etkinliği ile belirlenmiştir.

Çeşitli derişimlerde serbest GA, serbest DTCC-Ag ve Çizelge 2.1’e göre hazırlanana K1-K8 aralığındaki kriyojellerin %50 ve %100 antioksidan aktivite gösterdiği değerler Çizelge 3.3’de verilmiştir

Çizelge 3. 3. Serbest GA, Serbest DTCC-Ag ve Kriyojel içindeki GA'nın µg/mL olarak Antioksidan aktiviteleri

Antioksidan aktivite	Serbest GA (µg/mL)	20 mM DTCC-Ag (µg/mL)	Kriyojel içindeki GA (µg/mL)
%50	791,8117	283,66	740,62
%100	1539,196	606,72	1680,47

Yapılan çalışmada hem serbest hem de kriyojel formülasyonlarının içerisinde bulunan GA'nın çok yakın miktarlarının %50 ve %100 antioksidan aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Bu sonuç bize GA'nın kriyojel formülasyonu içerisine hapsedilmesinin antioksidan aktivitesinde hemen hemen hiçbir değişikliğe sebep olmadığını göstermektedir. Shabkhiz ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada GA'nın 200 µg/mL derişimde %39 DPPH serbest radikal süpürücü aktivite sergilediğini kanıtlamışlardır (Shabkhiz vd., 2021). Karahan ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada ise meyan kökü bitkisinin kök ekstraktlarının 745 µg/mL derişimde %50 DPPH serbest radikal süpürücü aktivitesi sergilediğini göstermişlerdir (Karahan, Avsar, Ozyigit ve Berber 2016). Bizim çalışma sonuçlarımız Karahan ve arkadaşlarının sonuçları ile son derece tutarlı çıkmaktadır.

20 mM DTCC-Ag, hem serbest GA hem de kriyojele kıyasla çok daha düşük derişimlerde %50 ve %100 antioksidan aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Yapılan çalışmanın sonuçları karşılaştırıldığı zaman DTCC-Ag'nin en etkili antioksidan özelliğe sahip olduğu görülmektedir. Dara ve arkadaşlarının yapmış oldukları bir çalışmada 10,000 µg/mL derişimde Chi-Ag nanopartiküllerin DPPH süpürme etkinliğinin %60 olduğu belirlenmiştir (Dara vd. 2020). Shehabeldine ve arkadaşlarının yapmış oldukları bir çalışmada ise sentezlenen Chi-Ag nanopartiküllerin 2000 µg/mL derişimde yaklaşık %90 DPPH süpürme etkinliği gösterdiğini rapor etmişlerdir (Shehabeldine vd. 2022).

Ayrıca bu değerlerle karşılaştırıldığı zaman yeni sentezlenen DTCC-Ag nanopartiküllerin Chi-Ag nanopartiküllere oranla son derece yüksek antioksidan aktivite sergiledikleri belirlenmiştir.

3.7. Antibakteriyel Aktivite Sonuçları

Gümüş iyonları antibakteriyel özellikleriyle iyi bilinmektedir ve bir çok farklı formda kullanılmaktadır. Yığın gümüş veya gümüş iyonlarının doğrudan kullanımı ile karşılaştırıldığında, geniş yüzey alanları ile AgNP 'ler genellikle yüksek verimlilikle ve sürekli antibakteriyel aktiviteye sahip ideal bir antibakteriyel ajan olarak kabul edilmektedir (Yan vd. 2021). Sentezlenen NP'nin yara örtü malzemelerindeki potansiyel kullanımlarını ortaya çıkarmak ve verimliliklerini gözlemek için, AgNP'nin yaygın bakterilere (*E. coli* ve *S. aureus*) karşı bakterisidal aktiviteleri sıvı kültür ortamında değerlendirilmiştir. Farklı derişimlerde kitosan ve DTCC stabilize edilmiş AgNP'ler 24 saat boyunca bakteri kültürleri içerisinde bekletilmiş ve bakteri büyümeleri UV-VİS spektrofotometresi kullanılarak 600 nm'de optik yoğunluk olarak ölçülmüş, inhibisyon yüzdesine çevrilmiş ve sonuçlar her iki AgNP ve her iki mikroorganizma için Çizelge 3.4'de verilmiştir.

Çizelge 3. 4. Chi ve DTCC-AgNP'lerin sıvı kültür ortamında *E. coli* ve *S. aureus* için inhibisyon yüzdeleri

Nanopartikül	NP Hacmi* (µL)	<i>E. coli</i> için İnhibisyon Yüzdesi (%)	<i>S. aureus</i> için İnhibisyon Yüzdesi (%)
Chi-AgNP	10	0	0
	20	0	0
	40	0	0
	60	0	0
	80	100	0
	100	100	0
	125	100	100
	150	100	100
	200	100	100
DTCC-AgNP	30	0	0
	60	0	0
	90	0	0
	120	0	0
	150	0	0
	180	0	0
	210	0	100
	240	100	100
	270	100	100

* 5 mL kültür ortamına ilave edilen nanopartikül hacmi

Her iki NP için de sonuçlar incelendiği zaman, belirli bir derişime kadar inhibisyon gerçekleşmezken belirli bir derişimden sonra bakteriyel inhibisyon %100 olarak gerçekleşmektedir. Bu sebepten dolayı her iki AgNP'nin sadece %100 minimum inhibisyon değerleri (MIC100) hesaplanabilmiştir. Her bir mikroorganizma için MIC 100 değerleri hesaplanmış ve Çizelge 3.5'de verilmiştir.

Çizelge 3. 5.Chi-AgNP ve DTCC-AgNP'lerin MIC100 değerleri

AgNP	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>
Chi-Ag	1,73 µg/mL	2,70 µg/mL
DTCC-Ag	5,18 µg/mL	4,54 µg/mL

Değerler incelendiği zaman Chi-Ag'nin bakterisidal aktivitesinin daha yüksek olduğu görülmektedir. DTCC-Ag partiküllerinin MIC 100 değerleri Chi-Ag'ye göre *E. coli* için yaklaşık 3, *S. aureus* içinse yaklaşık 2 kat daha düşük çıkmıştır. Bu sonuç bize DTCC'nin Ag iyonları ile saf kitosana oranla çok daha sıkı bir etkileşime girmesinden ve gümüş iyonlarını daha zor serbest bırakmasından kaynaklanmaktadır.

Yine değerlere bakıldığında her ne kadar değerler kendi içinde çok farklı olmasa da Chi-Ag'nin *E. coli*'ye karşı, DTCC-Ag'nin ise *S. aureus*'a karşı daha iyi antibakteriyel aktivite sergilediği belirlenmiştir. Nanopartikül sentezinden kullanılan indirgeyici ajanın yapısı ve miktarı, metal tuzunun türü, sıcaklık ve pH gibi çeşitli faktörlerin nanopartikül oluşumu üzerinde belirleyici etkilerinin yanı sıra boyutu ve şeklini de etkilediği bilinmektedir. Bu sebeple elde edilen nanopartiküllerin şekli, boyutu, yüzey alanı, yapısal ve kimyasal özellikleri onların antimikrobiyal aktivitelerinde farklılıklara sebep olmaktadır (Dara vd. 2020). Çalışmamızdan elde edilen sonuçlar da kitosanın modifikasyonu ile elde edilen AgNP'lerin yapısının değiştiğini bunun da bakterisidal aktivitesini etkilediğini göstermektedir.

Pansara ve arkadaşları tarafından Chi-Ag ile yapılan bir çalışmada MIC değerlerinin *S. aureus* için 2,64 µg/mL, *E. coli* içinse 1,32 µg/mL olarak bulunduğu belirlenmiştir (Pansara vd. 2019). Rodríguez-Argüelles ve arkadaşları tarafından Chi-Ag ile yapılan başka bir çalışmada MIC değerlerinin *S. aureus* için 2,5 µg/mL, *E. coli* içinse 1,3 µg/mL olarak bulunduğu belirlenmiştir (Rodríguez-Argüelles vd. 2011). Bizim çalışmamızdan elde edilen sonuçların literatür ile son derece uyumlu çıktığı belirlenmiştir.

İlk defa bu çalışmada sentezi yapılan DTCC-AgNP'lerin ve geleneksel olarak sentezlenen Chi-AgNP'lerin karşılaştırılması yapıldıktan sonra kriyojeller içine hapsedilen DTCC-AgNP'lerin antibakteriyel aktiviteleri belirlenmiş ve sonuçlar Çizelge 3.6'da verilmiştir.

Çizelge 3. 6. DTCC-AgNP ve GA içeren kriyojellerin sıvı kültür ortamında *E. coli* ve *S. aureus* için inhibisyon yüzdeleri

Kriyojel	<i>E. coli</i> için İnhibisyon Yüzdesi (%)	<i>S. aureus</i> için İnhibisyon Yüzdesi (%)
K10	0	0
K11	0	0
K12	0	0
K13	0	100
K14	100	100
K15	100	100
K16	100	100
K17	100	100
K18	100	100
K19	100	100

Kriyojeller için hesaplanan MIC₁₀₀ değerleri *E. coli* için 4,86, *S. aureus* içinse 3,84 µg Ag/mL kültür ortamı olarak belirlenmiştir. Sonuçlar irdelendiği zaman *E. coli* için serbest NP'lere yakın bir değer bulunmuştur. Fakat *S. aureus* için antibakteriyel etkinin arttığı belirlenmiştir.

DTCC bileşikleri ağır metallerin iyi bir şelatlaştırıcısı olma özelliğine sahiptirler. Bu nedenle metallerden türetilmiş pek çok ditiyokarbamat metal kompleksi, hem gram pozitif hemde gram negatif bakterilere karşı antibakteriyel özellik göstermektedir (Adeyemi ve Onwudiwe 2020).

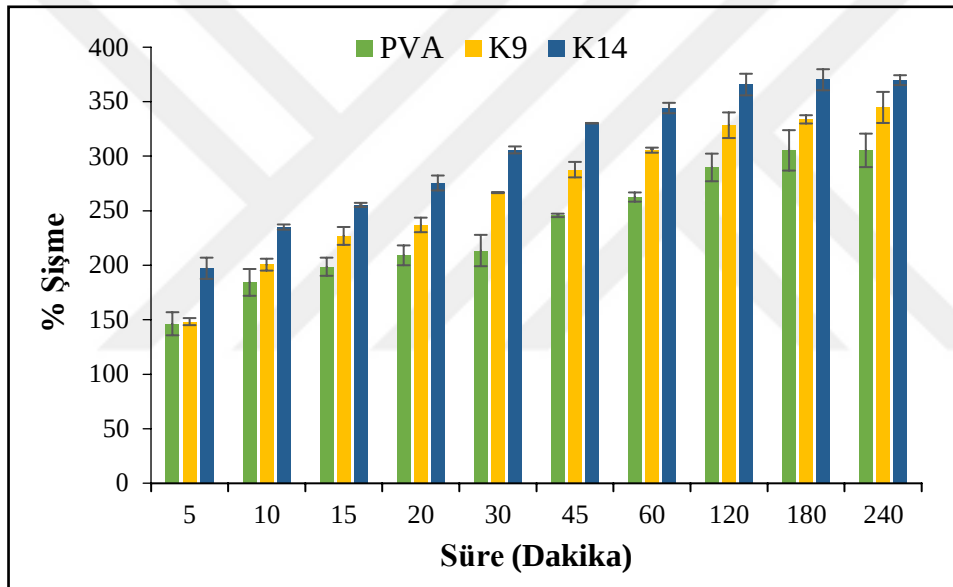
Bu bilgiler doğrultusunda elde edilen sonuçların, her iki bakteri türü için artan konsantrasyonlarla inhibide edildiği söylenebilir. *S. aureus* için sonuçların, DTCC-AgNP'lerin serbest NP'lere kıyasla daha yüksek antibakteriyel aktivite sergilediği görülmektedir. Bu durum, Chi-AgNP'lerin özellikle gram-pozitif bakterilere karşı etkili olabileceğini düşündürmektedir (Chandrasekaran, Kim ve Chun 2020).

Cao ve arkadaşlarının, sitrik asitin çapraz bağlayıcı ve tannik asitin gümüş iyonlarını indirgeyici ajan olarak kullandığı Chi-Ag içeren kriyojellerinin antibakteriyel aktivitesi sonuçlarına göre; kriyojellerin *S. aureus* büyümesini *E. coli*'ye oranla belirgin bir şekilde daha fazla inhibe ettiğini belirtmişlerdir (Cao vd. 2023). Hou ve

arkadaşları tarafından glükol kitosan metakrilat ve polilizin akrilamit polimerleri ile elde edilen kriyojellerinin hem *E. coli* hem de metisiline dayanıklı *S. aureus* üzerinde etkili bir antibakteriyel aktivite gösterdiğini belirlemişlerdir. Polilizin eklenmiş kriyojellerin sadece glükol kitosan metakrilat ile elde edilenlere oranla daha yüksek antibakteriyel aktivite gösterdiğini bulmuşlardır (Hou vd. 2020).

3.8. Su Tutma Kapasitesinin Tayini

Boş PVA ile K9 ve K14 kriyojellerin su tutma kapasitesi sonuçları incelenmiş ve sonuçlar süreye bağlı olarak, % su tutma kapasitesi grafiği olarak Şekil 3.10' da gösterilmiştir.



Şekil 3. 10.Kriyojellerin Su Tutma Kapasitesi

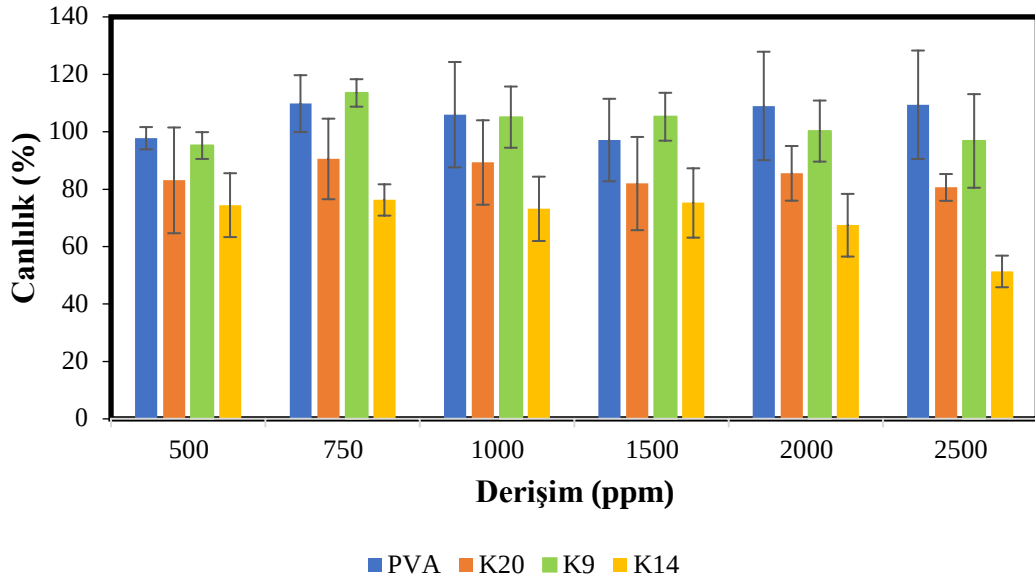
Boş PVA ve farklı oranlarda GA ve DTCC-AgNP'leri içeren PVA kriyojellerin su tutma kapasitesi yüzdeleri zamanla incelenmiştir. Su tutma kapasitesi yüzdeleri 5'inci dakikadan 240'ıncı dakikaya kadar ölçülmüş ve sonuçlar grafik üzerinde belirtilmiştir. Grafiğe bakıldığı zaman tüm grupların şişme yüzdesinin zamanla arttığı görülmektedir. Yaklaşık 120. dakikadan sonra tüm gruplarının şişme değerlerinin hemen hemen dengeye geldiği grafikten açıkça görülmektedir.

Su tutma kapasitesi değerleri incelendiği zaman ise en yüksek değerinin K14 kriyojellerinde, sonra K9 kriyojellerinde ve son olarak boş PVA kriyojellerde olduğu görülmektedir. GA ilavesinin artışı ile su tutma kapasitesinin belirgin bir şekilde arttığı bulunmuştur. Kriyojeller içerisindeki GA zamanla difüze olarak boşluklardan ortama

salınmaktadır. GA salındıktan sonra geride su moleküllerinin yerleşebileceği büyük boşluklar meydana gelmektedir. GA düşük pH değerlerinde sudaki çözünürlüğü oldukça düşükken pH 4,5'in üzerinde çözünürlüğü artmaktadır. Bizim salım ortamımız yapay cilt ortamı olan pH 7,4 fosfat tamponu olduğu için GA'nın çözünürlüğünün oldukça yüksek olması beklenmektedir. Buda kriyojellerin hidrofilik karakterini oldukça arttırmaktadır. Bu sebeple kriyojeller içerisindeki GA miktarının artışı ile su tutma kapasitelerinin artması beklenen bir durumdur. Păduraru ve arkadaşları, yaptıkları PVA-selüloz kriyojellerinde şişme kapasitesinin kriyojellerde hidrofilik polimer olan selülozun varlığından etkilendiğini ve selüloz miktarının artması ile, kriyojellerde şişme artışının olduğunu ifade etmişlerdir (Păduraru, Ciolacu, Darie ve Vasile 2012). Bajpai ve arkadaşı, hazırladıkları PVA-jelatin hidrojellerinde, artan jelatin miktarının şişme oranını arttırdığını belirtmişlerdir (Bajpai ve Saini 2005). Raschip ve arkadaşları ise ksantan bazlı kriyojellerde, ksantan miktarının artmasının şişme kapasitesini arttırdığını söylemişlerdir (Raschip, Fifere, Varganici ve Dinu 2020). Qian ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada, ipek fibroin/GA/Zn hidrojellerini sentezlemişlerdir. İpek fibroin içerisine GA eklenmesinin su tutma kapasitesini belirgin bir şekilde arttırdığını belirlemişlerdir (Qian vd. 2022) Bu sonuçlar doğrultusunda kriyojeller içerisindeki GA içeriği arttıkça PVA kriyojellerin şişme kapasitesinin de arttığı düşünülebilir.

3.9. Sitotoksite

Sentezlenen kriyojellerin, aktif GA molekülünden dolayı cilt kanseri üzerinde etkili olduğu literatürden bilinmektedir. Bu sebeple boş, sadece DTCC-AgNP'leri içeren K20 ve hem GA hem de DTCC-AgNP'leri içeren K9 ve K14 kriyojellerin B16-F10 fare melanom hücre hattı üzerinde MTT testi yapılmıştır. Farklı derişimlerdeki PVA kriyojellerinin 24 saat sonunda 570 nm'de spektroskopik ölçümleri alınarak hücre canlılıkları hesaplanmıştır. Sonuçlar Şekil 3.11'de gösterilmektedir.



Şekil 3. 11. Kriyojellerin sitotoksite sonuçları

Kriyojellerin hücre canlılığı üzerindeki sonuçları incelendiği zaman, boş PVA kriyojellerin hücre canlılık oranlarının %90-110 arasında çıktığı ve oldukça yüksek değerler gösterdiği, bu da boş PVA kriyojellerin düşük toksisiteye sahip olduğunu göstermektedir. PVA kriyojellerin B16-F10 fare melanom hücre hattına karşı immünojite gösterdiği yapılan çalışmalar sayesinde bilinmektedir (Yang, Blum, Lin, Qu ve Huang 2020). Bu sebeple, sentezlenen PVA kriyojellinin düşük toksisite değeri yapılan çalışmalar ile aynı sonuca dayandığı görülmektedir.

Sadece DTCC-AgNP'leri içeren K20 kriyojellerin, tüm derişimlerde yaklaşık olarak %80 oranında hücre canlılığı gösterdiği ve tüm derişimlerde boş PVA kontrol grubu ile karşılaştırıldığında hücre canlılık oranları düşük çıktığı görülmektedir. DTCC-AgNP'ler bu çalışmada her ne kadar antibakteriyel amaçlı kriyojellere ilave edilse de Ag ilaveli PVA kriyojellerin hücreler üzerinde toksik etki gösterebileceği düşünülmektedir.

K9 kriyojellerin hücre canlılık oranları, sadece DTCC-AgNP'lere içeren K20 kriyojellerine kıyasla daha yüksektir ve hemen hemen boş PVA kriyojeller ile aynı sitotoksik etkiyi göstermiştir. Bu durum, belirli bir derişime kadar GA eklenmesinin hücre canlılığı üzerinde koruyucu bir etkiye sahip olduğunu gösterebilir. Kriyojellere ilave edilen DTCC-AgNP'lerin sitotoksik etkisini bu derişimde bariz bir şekilde GA tolere edebilmiştir. Buna karşılık GA derişiminin artması ile K14 kriyojeller hücreler üzerinde toksik etki göstermektedir ve hücre canlılıkları 2500 ppm derişimde

%50'lerin bile altına düşmüştür. Sonuç olarak, PVA kriyojellerin hücre canlılığı üzerindeki etkileri, eklenen gümüş ve GA bileşenleri ve derişimlerine bağı olarak değışiklik göstermiş ve GA ilavesi ile belirli bir derişimden sonra kriyojellerin hücreler üzerinde toksisitesi artmıştır. Juin ve arkadaşları yaptıkları bir araştırmada GA ile tedavi edilen B16-F10 hücrelerinde, hücrelerin çoğalmasını azalttığı ve GA'nın sitotoksik olmayan konsantrasyonlarda B16-F10 melanom hücreleri üzerinde anti-proliferatif etki gösterdiğini bildirmişlerdir (Juin, Ghosh ve Majumdar 2020).



4. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bu tez çalışmasında ilk olarak meyan kökünün aseton ekstraktından farklı pH değerlerinde 2 adet çökelti elde edilmiştir. İkinci aşamasında ise kitosanin ditiyokarbamat türevi sentezlenmiş ve bu polimer ile kaplanmış gümüş nanopartikülleri elde edilmiştir. Ayrıca karşılaştırma amacıyla Chi-AgNP'leride sentezlenmiştir. Daha sonra meyan kökü ekstraktı ve gümüş nanopartikülleri yüklü poli (vinil alkol) kriyojelleri hazırlanmıştır. Elde edilen GA, DTCC-AgNP ve sentezlenen kriyojeller çeşitli yöntemler ile karakterize edilmiştir. Elde edilen meyan kökü ekstraktı içinde bulunması muhtemel GA'nın varlığı FTIR çalışmaları ile doğrulanmıştır. Modifiye DTCC polimerinin sentezi ise C¹³-NMR ve EDAX çalışmaları ile doğrulanmıştır ve ayrıca SEM çalışmaları ile modifikasyonun polimerin yapısını nasıl etkilediği gösterilmiştir. Elde edilen Chi-Ag ve DTCC-AgNP'lerin karakterizasyonu ise UV-VIS spektrofotometre, boyut ve zeta ölçümleri ile gerçekleştirilmiştir. AgNP'lerin 410 nm'de maksimumu absorbans verdikleri, 200 nm'nin altında boyut dağılımına sahip oldukları ve zeta potansiyellerinin ise 30 mV civarında yani son derece kararlı olduğu gösterilmiştir. Özellikle DTCC-AgNP'lerin SEM görüntüleri incelendiği zaman, çubuk benzeri şekiller ve bu şekillerin düzgün ve belirgin bir yapıda olduğu görülmektedir.

Kriyojel yapılarının SEM fotoğrafları incelendiği zaman kullanılan GA ve DTCC stabilize AgNP'lerin PVA kriyojellerini daha yoğun ve daha düzenli bir yapı oluşturmasını sağladığı görülmektedir.

Yapılan çalışmada hem serbest hem de kriyojel formülasyonlarının içerisinde bulunan GA'nın hemen hemen aynı antioksidan aktivite gösterdiği belirlenmiştir. 20 mM DTCC-Ag, hem serbest GA hem de kriyojele kıyasla çok daha düşük derişimlerde antioksidan aktivite gösterdiği belirlenmiştir.

Çalışmalarda Chi-Ag ve DTCC-AgNP'lerin oldukça yüksek antibakteriyel aktivite gösterdiği belirlenmiştir. NP'ler karşılaştırıldığı zaman ise hem *E.coli* hem de *S. aureus* için Chi-AgNP'ler çok daha yüksek antibakteriyel aktivite göstermiştir.

Kriyojellerde ise serbest DTCC-AgNP'ler ile benzer sonuçlar elde edilmiştir.

Kriyojeller içerisindeki GA derişiminin artışı ile su tutma kapasitelerin belirgin bir şekilde arttığı bulunmuştur.

Kriyojellerin özellikle cilt kanserinin tedavisinde kullanım potansiyeli incelemek amacıyla B16-F10 fare melanom hücre hattına karşı MTT testi yapılmıştır. Boş PVA kriyojellerin hücre canlılık oranları yüksek değerlerde olup hücreler üzerlerinde düşük toksisite göstermiştir. Buna karşılık sadece DTCC-AgNP içeren kriyojellerin B16-F10 hücreleri üzerinde oldukça yüksek bir sitotoksisite gösterdiği, fakat kriyojeller içerisine düşük derişimde GA eklenmesinin bu etkiyi azalttığı ve kriyojellerin hemen hemen sitotoksisite göstermediği belirlenmiştir. Fakat GA miktarının arttırılması ile sitotoksitesinin arttığı ve 2500 ppm derişimde hücre canlılığının %50'lerin altına kadar düştüğü bulunmuştur.

Sonuçlara genel olarak bakıldığında zaman sentezlenen kriyojellerin düşük GA derişimlerinde yara örtü malzemesi olarak kullanılma potansiyeli varken, yüksek GA derişimlerinde B16-F10 hücreleri üzerindeki sitotoksik etkileri nedeniyle cilt kanserinin tedavisinde kullanılma potansiyelinin oldukça yüksek olduğu ve bu konudaki büyük bir eksikliği gidereceğine de inanılmaktadır.

KAYNAKÇA

Ahmad, N. (2022). In vitro and in vivo characterization methods for evaluation of modern wound dressings. *Pharmaceutics*, 15(1), 42.

Adianti, M., Aoki, C., Komoto, M., Deng, L., Shoji, I., Wahyuni, T. S., ... & Hotta, H. (2014). Anti- hepatitis C virus compounds obtained from Glycyrrhiza uralensis and other Glycyrrhiza species. *Microbiology and immunology*, 58(3), 180-187.

Adeyemi, J. O., & Onwudiwe, D. C. (2020). The mechanisms of action involving dithiocarbamate complexes in biological systems. *Inorganica Chimica Acta*, 511, 119809.

Artunduaga Bonilla, J. J., Honorato, L., Cordeiro de Oliveira, D. F., Araújo Gonçalves, R., Guimarães, A., Miranda, K., & Nimrichter, L. (2021). Silver chitosan nanocomposites as a potential treatment for superficial candidiasis. *Medical Mycology*, 59(10), 993-1005.

Almatroudi, A. (2020). Silver nanoparticles: Synthesis, characterisation and biomedical applications. *Open life sciences*, 15(1), 819-839.

Babanejad, N., Mfoafo, K., Thumma, A., Omid, Y., & Omidian, H. (2023). Advances in cryostructures and their applications in biomedical and pharmaceutical products. *Polymer Bulletin*, 80(12), 12491-12538.

Bajpai, A. K., & Saini, R. (2005). Preparation and characterization of biocompatible spongy cryogels of poly (vinyl alcohol)-gelatin and study of water sorption behaviour. *Polymer international*, 54(9), 1233-1242.

Bakhshpour, M., Idil, N., Perçin, I., & Denizli, A. (2019). Biomedical applications of polymeric cryogels. *Applied Sciences*, 9(3), 553.

Balci, E., & Dağdelen, F. (2022). Biyomalzeme Türleri ve Biyouyumlu Metalik Elementler. *Bilecik Şeyh Edebali Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 9(2), 1179-1195. <https://doi.org/10.35193/bseufbd.1165914>

Bhoyar, S. D., Malhotra, K., & Madke, B. (2023). Dressing materials: A comprehensive review. *Journal of Cutaneous and Aesthetic Surgery*, 16(2), 81-89.

Boateng, J. S., Matthews, K. H., Stevens, H. N., & Eccleston, G. M. (2008). Wound healing dressings and drug delivery systems: a review. *Journal of pharmaceutical sciences*, 97(8), 2892-2923.

Boominathan, T., & Sivaramakrishna, A. (2021). Recent advances in the synthesis, properties, and applications of modified chitosan derivatives: challenges and opportunities. *Topics in Current Chemistry*, 379, 1-57.

Bruna, T., Maldonado-Bravo, F., Jara, P., & Caro, N. (2021). Silver nanoparticles and their antibacterial applications. *International journal of molecular sciences*, 22(13), 7202. Doi:10.3390/ijms22137202

Caló, E., Barros, J., Ballamy, L., & Khutoryanskiy, V. V. (2016). Poly (vinyl alcohol)-Gantrez® AN cryogels for wound care applications. *RSC advances*, 6(107), 105487-105494. Doi:10.1039/c6ra24573k

Cao, S., Bi, Z., Li, Q., Zhang, S., Singh, M., & Chen, J. (2023). Shape memory and antibacterial chitosan-based cryogel with hemostasis and skin wound repair. *Carbohydrate polymers*, 305, 120545.

Chappidi, S., Ankireddy, S. R., Sree, C. G., Rayalcheruvu, U., & Buddolla, V. (2024). Enhancing diabetic rat wound healing through chitosan-mediated nano-scaffolds loaded with quercetin-silver complex. *Materials Letters*, 136167. <https://doi.org/10.1016/j.matlet.2024.136167>

Chandrasekaran, M., Kim, K. D., & Chun, S. C. (2020). Antibacterial activity of chitosan nanoparticles: A review. *Processes*, 8(9), 1173.

Chen, N., Li, L., & Wang, Q. (2007). New technology for thermal processing of poly (vinyl alcohol). *Plastics, Rubber and Composites*, 36(7-8), 283-290. doi:10.1179/174328907x237575

Cheng, M., Zhang, J., Yang, L., Shen, S., Li, P., Yao, S., ... & Guo, D. A. (2021). Recent advances in chemical analysis of licorice (Gan-Cao). *Fitoterapia*, 149, 104803. doi:10.1016/j.fitote.2020.104803

Chen, T. Y., Wen, T. K., Dai, N. T., & Hsu, S. H. (2021). Cryogel/hydrogel biomaterials and acupuncture combined to promote diabetic skin wound healing through immunomodulation. *Biomaterials*, 269, 120608. Doi: 10.1016/j.biomaterials.2020.120608

Crețu, B. E. B., Nita, L. E., Șerban, A. M., Rusu, A. G., Doroftei, F., & Chiriac, A. P. (2022). New Cryogels based on poly (vinyl alcohol) and a Copolymacrolactone system: I-synthesis and characterization. *Nanomaterials*, 12(14), 2420. <https://doi.org/10.3390/nano12142420>.

Dara, P. K., Mahadevan, R., Digita, P. A., Visnuvinayagam, S., Kumar, L. R., Mathew, S., ... & Anandan, R. J. S. A. S. (2020). Synthesis and biochemical characterization of silver nanoparticles grafted chitosan (Chi-Ag-NPs): In vitro studies on antioxidant and antibacterial applications. *SN Applied Sciences*, 2, 1-12.

Deng, X., Gould, M., & Ali, M. A. (2022). A review of current advancements for wound healing: Biomaterial applications and medical devices. *Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials*, 110(11), 2542-2573.

Desai, N., Rana, D., Salave, S., Gupta, R., Patel, P., Karunakaran, B., ... & Kommineni, N. (2023). Chitosan: A potential biopolymer in drug delivery and biomedical applications. *Pharmaceutics*, 15(4), 1313.

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

Doble, M., & Kumar, A. (2005). *Biotreatment of industrial effluents*. Elsevier. doi:10.1016/b978-075067838-4/50010-5

Dubey, S. K., Parab, S., Alexander, A., Agrawal, M., Achalla, V. P. K., Pal, U. N., ... & Kesharwani, P. (2022). Cold atmospheric plasma therapy in wound healing. *Process Biochemistry*, 112, 112-123.

Elsherbiny, D. A., Abdelgawad, A. M., Hemdan, B. A., Montaser, A. S., El-Sayed, I. E. T., Jockenhoevel, S., & Ghazanfari, S. (2023). Self-crosslinked polyvinyl alcohol/cellulose nanofibril cryogels loaded with synthesized aminophosphonates as antimicrobial wound dressings. *Journal of Materials Chemistry B*, 11(30), 7144-7159. <https://doi.org/10.1039/D3TB00926B>

Fan, C., Xu, Q., Hao, R., Wang, C., Que, Y., Chen, Y., ... & Chang, J. (2022). Multi-functional wound dressings based on silicate bioactive materials. *Biomaterials*, 287, 121652.

Feng, Q. L., Wu, J., Chen, G. Q., Cui, F. Z., Kim, T. N., & Kim, J. O. (2000). A mechanistic study of the antibacterial effect of silver ions on *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. *Journal of biomedical materials research*, 52(4), 662-668. doi:10.1002/1097-4636(20001215)52:4<662::aid-jbm10>3.0.co;2-3

Fiore, C., Eisenhut, M., Ragazzi, E., Zanchin, G., & Armanini, D. (2005). A history of the therapeutic use of liquorice in Europe. *Journal of ethnopharmacology*, 99(3), 317-324.

FUGH-BERMAN, A. D. R. I. A. N. E. (2007). Herbs, phytoestrogens, and other CAM therapies. In *Treatment of the Postmenopausal Woman* (pp. 683-690). Academic Press. doi:10.1016/b978-012369443-0/50061-2

García-Hernández, A. B., Morales-Sánchez, E., Berdeja-Martínez, B. M., Escamilla-García, M., Salgado-Cruz, M. P., Rentería-Ortega, M., ... & Calderón-Domínguez, G. (2022). PVA-based electrospun biomembranes with hydrolyzed collagen and ethanolic extract of *Hypericum perforatum* for potential use as wound dressing: Fabrication and characterization. *Polymers*, 14(10), 1981. <https://doi.org/10.3390/polym14101981>

García- Fernández, F. P., Soldevilla- Agreda, J. J., Rodriguez- Palma, M., & Pancorbo- Hidalgo, P. L. (2022). Skin injuries associated with severe life-threatening situations: A new conceptual framework. *Journal of Nursing Scholarship*, 54(1), 72-80.

Goldberg, S. R., & Diegelmann, R. F. (2017). Basic science of wound healing. *Critical Limb Ischemia: Acute and Chronic*, 131-136.

González-Campos, J. B., Prokhorov, E., Sanchez, I. C., Luna-Bárcenas, J. G., Manzano-Ramírez, A., González-Hernández, J., & del Río, R. E. (2012). Molecular Dynamics Analysis of PVA- AgnP Composites by Dielectric Spectroscopy. *Journal of Nanomaterials*, 2012(1), 925750.

Gounden, V., & Singh, M. (2024). Hydrogels and Wound Healing: Current and Future Prospects. *Gels*, 10(1), 43.

Gümen, G. (2022). Gümüş Nanoparçacıkların Antibakteriyel Etkilerinin İncelenmesi ve Yeni Gümüş Nanomalzemelerinin Sentezi. Yüksek Lisans Tezi. Pamukkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyomedikal Mühendisliği Anabilim Dalı, Denizli.

Hamed, I., Özogul, F., & Regenstein, J. M. (2016). Industrial applications of crustacean by-products (chitin, chitosan, and chitooligosaccharides): A review. *Trends in food science & technology*, 48, 40-50. doi: 10.1016/j.tifs.2015.11.007

Han, S., Sun, L., He, F., & Che, H. (2017). Anti-allergic activity of glycyrrhizic acid on IgE-mediated allergic reaction by regulation of allergy-related immune cells. *Scientific reports*, 7(1), 7222.

Hou, S., Liu, Y., Feng, F., Zhou, J., Feng, X., & Fan, Y. (2020). Polysaccharide-peptide cryogels for multidrug-resistant bacteria infected wound healing and hemostasis. *Advanced Healthcare Materials*, 9(3), 1901041.

Husain, I., Bala, K., Khan, I. A., & Khan, S. I. (2021). A review on phytochemicals, pharmacological activities, drug interactions, and associated toxicities of licorice (*Glycyrrhiza* sp.). *Food Frontiers*, 2(4), 449-485. Doi:10.1002/fft2.1110

Iravani, S., Korbekandi, H., Mirmohammadi, S. V., & Zolfaghari, B. (2014). Synthesis of silver nanoparticles: chemical, physical and biological methods. *Research in pharmaceutical sciences*, 9(6), 385-406.

Jiang, Y. (2009). *Poly (vinyl alcohol) for Biomedical Applications* (Doctoral dissertation, Halle (Saale), Martin-Luther-Universität Halle-Wittenberg, Diss., 2009).

Jiang, Y., Hussain, H., & Kressler, J. (2015). Poly (vinyl alcohol) cryogel formation using biocompatible ice nucleating agents. *Macromolecular Materials and Engineering*, 300(2), 181-190. doi:10.1002/mame.201400229

Jung, W. K., Koo, H. C., Kim, K. W., Shin, S., Kim, S. H., & Park, Y. H. (2008). Antibacterial activity and mechanism of action of the silver ion in *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*. *Applied and environmental microbiology*, 74(7), 2171-2178. Doi:10.1128/aem.02001-07

Juin, S. K., Ghosh, S., & Majumdar, S. (2020). Glycyrrhizic acid facilitates anti-tumor immunity by attenuating Tregs and MDSCs: An immunotherapeutic approach. *International Immunopharmacology*, 88, 106932.

Kara, A., & Özçelik, B. (2024). Green Synthesis of Chitosan-Coated Silver Nanoparticles (Ch-AgNPs): Harnessing Nature for Sustainable and Safe Nanomaterial Production. *Osmaniye Korkut Ata Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 7(3), 1319-1341.

Karahan, F., Avsar, C., Özyigit, İ ve Berber, I. (2016). Farklı habitatlardan elde edilen tıbbi bitki *Glycyrrhiza glabra* var. *glandulifera*'nın antimikrobiyal ve antioksidan aktiviteleri. *Biyoteknoloji ve Biyoteknolojik Ekipman*, 30 (4), 797-804.

Khan, A., Badshah, S., & Airoidi, C. (2011). Dithiocarbamated chitosan as a potent biopolymer for toxic cation remediation. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 87(1), 88-95.

Kibungu, C., Kondiah, P. P., Kumar, P., & Choonara, Y. E. (2021). This review recent advances in chitosan and alginate- based hydrogels for wound healing application. *Frontiers in Materials*, 8, 681960.

Kokabi, M., Sirousazar, M., & Hassan, Z. M. (2007). PVA–clay nanocomposite hydrogels for wound dressing. *European polymer journal*, 43(3), 773-781. doi: 10.1016/j.eurpolymj.2006.11.0

Kowalska, A., & Kalinowska- Lis, U. (2019). 18β- Glycyrrhetic acid: its core biological properties and dermatological applications. *International journal of cosmetic science*, 41(4), 325-331.

Kong, M., Chen, X. G., Xing, K., & Park, H. J. (2010). Antimicrobial properties of chitosan and mode of action: a state of the art review. *International journal of food microbiology*, 144(1), 51-63.

Kujath, P., & Michelsen, A. (2008). Wounds—from physiology to wound dressing. *Deutsches Ärzteblatt International*, 105(13), 239

Kumar, M. V., Shadab, A., & Rachna, G. (2022). New frontiers in wound-dressings: An interdisciplinary perspective. *Research Journal of Biotechnology Vol*, 17, 4.

Laurano, R., Boffito, M., Ciardelli, G., & Chiono, V. (2022). Wound dressing products: A translational investigation from the bench to the market. *Engineered Regeneration*, 3(2), 182-200.

Leite, C. D. S., Bonafé, G. A., Pires, O. C., Santos, T. W. D., Pereira, G. P., Pereira, J. A., ... & Ribeiro, M. L. (2023). Dipotassium Glycyrrhizinate improves skin wound healing by modulating inflammatory process. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(4), 3839.

Liu, J., Hao, J., Dong, W., & Zeng, Y. (2021). Depression mechanism of environment-friendly depressant dithiocarbamate chitosan in flotation separation of Cu-Zn sulfide. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 615, 126290. Doi: 10.1016/j.colsurfa.2021.12629

Liu, X. Q., Zhao, X. X., Liu, Y., & Zhang, T. A. (2022). Review on preparation and adsorption properties of chitosan and chitosan composites. *Polymer Bulletin*, 79(4), 2633-2665.

Li, Q., Zhang, S., Du, R., Yang, Y., Liu, Y., Wan, Z., & Yang, X. (2023). Injectable self-healing adhesive natural glycyrrhizic acid bioactive hydrogel for bacteria-infected wound healing. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 15(14), 17562-17576.

Mamedov, N. A., & Egamberdieva, D. (2019). Phytochemical constituents and pharmacological effects of licorice: a review. *Plant and human health, Volume 3: Pharmacology and therapeutic uses*, 1-21. doi:10.1007/978-3-030-04408-4_1

Madni, A., Kousar, R., Naeem, N., & Wahid, F. (2021). Recent advancements in applications of chitosan-based biomaterials for skin tissue engineering. *Journal of Bioresources and Bioproducts*, 6(1), 11-25.

Mehta, V. N., Mungara, A. K., & Kailasa, S. K. (2013). Dopamine dithiocarbamate functionalized silver nanoparticles as colorimetric sensors for the detection of cobalt ion. *Analytical Methods*, 5(7), 1818-1822.

Memic, A., Colombani, T., Eggermont, L. J., Rezaeeyazdi, M., Steingold, J., Rogers, Z. J., ... & Bencherif, S. A. (2019). Latest advances in cryogel technology for biomedical applications. *Advanced Therapeutics*, 2(4), 1800114. Doi:10.1002/adtp.201800114

Mirhaj, M., Labbaf, S., Tavakoli, M., & Seifalian, A. M. (2022). Emerging treatment strategies in wound care. *International Wound Journal*, 19(7), 1934-1954.

Mihai, M. M., Dima, M. B., Dima, B., & Holban, A. M. (2019). Nanomaterials for wound healing and infection control. *Materials*, 12(13), 2176

Mohammed, E. A. H., Peng, Y., Wang, Z., Qiang, X., & Zhao, Q. (2022). Synthesis, antiviral, and antibacterial activity of the glycyrrhizic acid and glycyrrhetic acid derivatives. *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*, 48(5), 906-918.

Mohan, C. R., Ruckmani, K., & Kabiriyel, J. (2024). Correlation between electrical conductivity and Antibacterial activity of Chitosan-Stabilized Copper and Silver nanoparticles. *Carbohydrate Polymer Technologies and Applications*, 100503. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.carpta.2024.100503>.

Muzzarelli, R. A. A., & Tanfani, F. A. B. I. O. (1982). N-(o-carboxybenzyl) chitosan, N-carboxymethyl chitosan and dithiocarbamate chitosan: new chelating derivatives of chitosan. *Pure and Applied Chemistry*, 54(11), 2141-2150. Doi:10.1351/pac198254112141

Nafisi, S., Bonsaii, M., Manouchehri, F. ve Abdi, K. (2012). Glisirizin ve glisiretinik asidin DNA ile etkileşimi. *DNA ve Hücre Biyolojisi* , 31 (1), 114-121a.

Nafisi, S., Manouchehri, F., & Bonsaii, M. (2012). Study on the interaction of glycyrrhizin and glycyrrhetic acid with RNA. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 111, 27-34.

Nayak, A. K., & Das, B. (2018). Introduction to polymeric gels. In *Polymeric gels* (pp. 3-27). Woodhead Publishing. doi:10.1016/b978-0-08-102179-8.00001-6

Negm, N. A., Hefni, H. H. H., Abd-Elaal, A. A. A., Badr, E. A., & Abou Kana, M. T. H. (2020). *Advancement on modification of chitosan biopolymer and its potential applications*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 152, 681–702. doi:10.1016/j.ijbiomac.2020.02.19

Nguyen, N. P. U., Dang, N. T., Doan, L., & Nguyen, T. T. H. (2023). Synthesis of silver nanoparticles: from conventional to ‘modern’ methods—a review. *Processes*, 11(9), 2617. <https://doi.org/10.3390/pr11092617>

Nguyen, H. M., Le, T. T. N., Nguyen, A. T., Le, H. N. T., & Pham, T. T. (2023). Biomedical materials for wound dressing: Recent advances and applications. *RSC advances*, 13(8), 5509-5528.

Ogawa, K., Yui, T., & Okuyama, K. (2004). Three D structures of chitosan. *International Journal of Biological Macromolecules*, 34(1-2), 1-8. doi: 10.1016/j.ijbiomac.2003.11.002 10.1016/j.ijbiomac.2003.11.002

Okur, M. E., Karantas, I. D., Şenyiğit, Z., Okur, N. Ü., & Siafaka, P. I. (2020). Recent trends on wound management: New therapeutic choices based on polymeric carriers. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 15(6), 661-684.

Păduraru, O. M., Ciolacu, D., Darie, R. N., & Vasile, C. (2012). Synthesis and characterization of polyvinyl alcohol/cellulose cryogels and their testing as carriers for a bioactive component. *Materials Science and Engineering: C*, 32(8), 2508-2515.

Pansara, C., Chan, W. Y., Parikh, A., Trott, D. J., Mehta, T., Mishra, R., & Garg, S. (2019). Formulation optimization of chitosan-stabilized silver nanoparticles using in vitro antimicrobial assay. *Journal of pharmaceutical sciences*, 108(2), 1007-1016.

Pastorino, G., Cornara, L., Soares, S., Rodrigues, F., & Oliveira, M. B. P. (2018). Liquorice (*Glycyrrhiza glabra*): A phytochemical and pharmacological review. *Phytotherapy research*, 32(12), 2323-2339. Doi:10.1002/ptr.6178 10.1002/ptr.6178

Pazos, V., Mongrain, R., & Tardif, J. C. (2009). Polyvinyl alcohol cryogel: optimizing the parameters of cryogenic treatment using hyperelastic models. *Journal of the mechanical behavior of biomedical materials*, 2(5), 542-549. doi: 10.1016/j.jmbbm.2009.01.003

Prete, S., Dattilo, M., Patitucci, F., Pezzi, G., Parisi, O. I., & Puoci, F. (2023). Natural and Synthetic Polymeric Biomaterials for Application in Wound Management. *Journal of Functional Biomaterials*, 14(9), 455.

P. Öncel, (2013) İLAÇ SALIMI İÇİN MOLEKÜLER BASKILANMIŞ KRİYOJEL MEMBRANLAR. Yüksek Lisans Tezi. *Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Ankara

Popescu, I., Constantin, M., Pelin, I. M., Suflet, D. M., Ichim, D. L., Daraba, O. M., & Fundueanu, G. (2022). Eco-friendly synthesized PVA/chitosan/oxalic acid nanocomposite hydrogels embedding silver nanoparticles as antibacterial materials. *Gels*, 8(5), 268.

Qin, Y., Liu, S., Xing, R., Yu, H., Li, K., Meng, X., ... & Li, P. (2012). Synthesis and characterization of dithiocarbamate chitosan derivatives with enhanced antifungal activity. *Carbohydrate polymers*, 89(2), 388-393. doi: 10.1016/j.carbpol.2012.0. Y.,

Quan, W., Kong, S., Ouyang, Q., Tao, J., Lu, S., Huang, Y., ... & Luo, H. (2021). Use of 18 β -glycyrrhetic acid nanocrystals to enhance anti-inflammatory activity by improving topical delivery. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 205, 111791.

Ramos-e-Silva, M., & de Castro, M. C. R. (2002). New dressings, including tissue-engineered living skin. *Clinics in dermatology*, 20(6), 715-723.

Rezvani Ghomi, E., Khalili, S., Nouri Khorasani, S., Esmaeely Neisiany, R., & Ramakrishna, S. (2019). Wound dressings: Current advances and future directions. *Journal of Applied Polymer Science*, 136(27), 47738. doi:10.1002/app.47738

Raschip, I. E., Fifere, N., Varganici, C. D., & Dinu, M. V. (2020). Development of antioxidant and antimicrobial xanthan-based cryogels with tuned porous morphology and controlled swelling features. *International journal of biological macromolecules*, 156, 608-620.

Ren, K., Zhang, X., Wang, R., Ren, S., Hua, H., Wang, D., ... & Liu, X. (2024). The inhibitory effect of licorice on the hepatotoxicity induced by the metabolic activation of Euodiae Fructus. *Journal of Ethnopharmacology*, 319, 117233.

Rodriguez-Argueelles, MC, Sieiro, C., Cao, R. ve Nasi, L. (2011). Antimikrobiyal özelliklere sahip kuru üzümlü puding olarak kitosan ve gümüş nanopartiküller. *Kolloid ve arayüz bilimi dergisi*, 364 (1), 80-84.

G. A. M., & Corrales, H. F. Z. (2017). Chitosan, chitosan derivatives and their biomedical applications. *Biological activities and application of marine polysaccharides*, 87.

Saeedi, M., Moghbeli, M. R., & Vahidi, O. (2023). Chitosan/glycyrrhizic acid hydrogel: Preparation, characterization, and its potential for controlled release of gallic acid. *International Journal of Biological Macromolecules*, 231, 123197. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.123197>

Saylan, Y., & Denizli, A. (2019). Supermacroporous composite cryogels in biomedical applications. *Gels*, 5(2), 20.

Selyutina, O. Y., & Polyakov, N. E. (2019). Glycyrrhizic acid as a multifunctional drug carrier—From physicochemical properties to biomedical applications: A modern insight on the ancient drug. *International journal of pharmaceutics*, 559, 271-279.

Shabkhiz, M. A., Eikani, M. H., Sadr, Z. B., & Golmohammad, F. (2016). Superheated water extraction of glycyrrhizic acid from licorice root. *Food Chemistry*, 210, 396-401.

Shehabeldine, A. M., Salem, S. S., Ali, O. M., Abd-Elsalam, K. A., Elkady, F. M., & Hashem, A. H. (2022). Multifunctional silver nanoparticles based on chitosan: Antibacterial, antibiofilm, antifungal, antioxidant, and wound-healing activities. *Journal of Fungi*, 8(6), 612.

Shukla, S. K., Mishra, A. K., Arotiba, O. A., & Mamba, B. B. (2013). Chitosan-based nanomaterials: A state-of-the-art review. *International journal of biological macromolecules*, 59, 46-58.

Shi, Y., Xiong, D. S., Peng, Y., & Wang, N. (2016). Effects of polymerization degree on recovery behavior of PVA/PVP hydrogels as potential articular cartilage prosthesis after fatigue test. *Express Polymer Letters*, 10(2), 125.

Shin, Y. W., Bae, E. A., Lee, B., Lee, S. H., Kim, J. A., Kim, Y. S., & Kim, D. H. (2007). In vitro and in vivo antiallergic effects of Glycyrrhiza glabra and its components. *Planta medica*, 73(03), 257-261.

Slawson, R. M., Van Dyke, M. I., Lee, H., & Trevors, J. T. (1992). Germanium and silver resistance, accumulation, and toxicity in microorganisms. *Plasmid*, 27(1), 72-79. doi:10.1016/0147-619x(92)90008-x

Sim, W., Barnard, R. T., Blaskovich, M. A. T., & Ziora, Z. M. (2018). Antimicrobial silver in medicinal and consumer applications: a patent review of the past decade (2007–2017). *Antibiotics*, 7(4), 93. DOI: 10.3390/antibiotics7040093.

Singh, N., & Bhattacharya, S. (2012). Synthesis and characterization of some triorgano, diorgano, monoorganotin and a triorganolead heteroaromatic dithiocarbamate complexes. *Journal of Organometallic Chemistry*, 700, 69-77. doi: 10.1016/j.jorganchem.2011.11.015

Sun, J., Sun, M., Zang, J., Zhang, T., Lv, C., & Zhao, G. (2023). Highly Stretchable, Transparent, and Adhesive Double-Network Hydrogel Dressings Tailored with Fish Gelatin and Glycyrrhizic Acid for Wound Healing. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 15(36), 42304-42316. <https://doi.org/10.1021/acsami.3c09615>.

Suflet, D. M., Popescu, I., Pelin, I. M., Ichim, D. L., Daraba, O. M., Constantin, M., & Fundueanu, G. (2021). Dual cross-linked chitosan/PVA hydrogels containing silver nanoparticles with antimicrobial properties. *Pharmaceutics*, 13(9), 1461.

Takase, H., Watanabe, N., Shiomori, K., Okamoto, Y., Matsune, H., & Umakoshi, H. (2022). Versatility of the preparation method for macroporous cryogel particles utilizing the inverse Leidenfrost effect. *ACS omega*, 8(1), 829-834.

Tian, M., Yan, H., & Row, K. H. (2008). Extraction of glycyrrhizic acid and glabridin from licorice. *International journal of molecular sciences*, 9(4), 571-577. doi:10.3390/ijms9040571

Tyshkunova, I. V., Poshina, D. N., & Skorik, Y. A. (2022). Cellulose cryogels as promising materials for biomedical applications. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(4), 2037.

Vishwanath, R., & Negi, B. (2021). Conventional and green methods of synthesis of silver nanoparticles and their antimicrobial properties. *Current Research in Green and Sustainable Chemistry*, 4, 100205. Doi: 10.1016/j.crgsc.2021.100205

Vig, K., Chaudhari, A., Tripathi, S., Dixit, S., Sahu, R., Pillai, S., ... & Singh, S. R. (2017). Advances in skin regeneration using tissue engineering. *International journal of molecular sciences*, 18(4), 789.

Vlaisavljević, S., Šibul, F., Sinka, I., Zupko, I., Ocsovszki, I., & Jovanović-Šanta, S. (2018). Chemical composition, antioxidant and anticancer activity of licorice from Fruska Gora locality. *Industrial crops and products*, 112, 217-224.

Wahab, S., Annadurai, S., Abullais, S. S., Das, G., Ahmad, W., Ahmad, M. F., ... & Amir, M. (2021). Glycyrrhiza glabra (Licorice): A comprehensive review on its phytochemistry, biological activities, clinical evidence and toxicology. *Plants*, 10(12), 2751. <https://doi.org/10.3390/plants10122751>

Wang, W., Meng, Q., Li, Q., Liu, J., Zhou, M., Jin, Z., & Zhao, K. (2020). Chitosan Derivatives and Their Application in Biomedicine. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(2), 487. doi:10.3390/ijms21020487

Weller, C., & Sussman, G. (2006). Wound dressings update. *Journal of pharmacy practice and research*, 36(4), 318-324.

Xu, Z., Gao, Z., Lu, J., Wang, T., Wang, W., Fan, L., ... & Han, B. (2023). Ferrous iron-induced formation of glycyrrhizic acid hydrogels for Staphylococcus aureus-infected wound healing. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 221, 112977.

Yadav, M., Kaushik, B., Rao, G. K., Srivastava, C. M., & Vaya, D. (2023). Advances and challenges in the use of chitosan and its derivatives in biomedical fields: A Review. *Carbohydrate Polymer Technologies and Applications*, 100323.

Yadollahi, M., Farhoudian, S., & Namazi, H. (2015). One-pot synthesis of antibacterial chitosan/silver bio-nanocomposite hydrogel beads as drug delivery systems. *International journal of biological macromolecules*, 79, 37-43.

Yan, K., Xu, F., Wei, W., Yang, C., Wang, D., & Shi, X. (2021). Electrochemical synthesis of chitosan/silver nanoparticles multilayer hydrogel coating with pH-dependent controlled release capability and antibacterial property. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 202, 111711.

Yang, R., Yuan, B. C., Ma, Y. S., Zhou, S., & Liu, Y. (2017). The anti-inflammatory activity of licorice, a widely used Chinese herb. *Pharmaceutical biology*, 55(1), 5-18.

Yang, C., Blum, N. T., Lin, J., Qu, J., & Huang, P. (2020). Biomaterial scaffold-based local drug delivery systems for cancer immunotherapy. *Science Bulletin*, 65(17), 1489-1504.

Yin, I. X., Zhang, J., Zhao, I. S., Mei, M. L., Li, Q., & Chu, C. H. (2020). The antibacterial mechanism of silver nanoparticles and its application in dentistry. *International journal of nanomedicine*, 2555-2562. Doi:10.2147/ijn.s246764

Yuan, Z., Yuan, X., Zhao, Y., Cai, Q., Wang, Y., Luo, R., ... & Xiong, C. (2021). Injectable GelMA cryogel microspheres for modularized cell delivery and potential vascularized bone regeneration. *Small*, 17(11), 2006596. Doi:10.1002/smll.202006596

Younes, I., & Rinaudo, M. (2015). Chitin and chitosan preparation from marine sources. Structure, properties and applications. *Marine drugs*, 13(3), 1133-1174.

Zabihi, M., Hatefi, B., Ardakani, M. E., Ranjbar, A. M., & Mohammadi, F. (2023). Impact of licorice root on the burn healing process: a double-blinded randomized controlled clinical trial. *Complementary Therapies in Medicine*, 73, 102941. <https://doi.org/10.1016/j.ctim.2023.102941>

Zhang, Y., Lu, J., Chang, T., Tang, X., Wang, Q., Pan, D., ... & Qi, B. (2023). A bibliometric review of Glycyrrhizae Radix et Rhizoma (licorice) research: Insights and future directions. *Journal of Ethnopharmacology*, 117409. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2023.117409>

Zhang, Y., Jiang, M., Zhang, Y., Cao, Q., Wang, X., Han, Y., ...& Zhou, J. (2019). Novel lignin–chitosan–PVA composite hydrogel for wound dressing. *Materials Science and Engineering: C*, 104, 110002. doi:10.1016/j.msec.2019.110002

Zhang, H., Tang, N., Yu, X., Guo, Z., Liu, Z., Sun, X., & Hu, J. (2022). Natural glycyrrhizic acid-tailored hydrogel with in-situ gradient reduction of AgNPs layer as high-performance, multi-functional, sustainable flexible sensors. *Chemical Engineering Journal*, 430, 132779.

Zhang, F., Yin, C., Qi, X., Guo, C., & Wu, X. (2022). Silk Fibroin Crosslinked Glycyrrhizic Acid and Silver Hydrogels for Accelerated Bacteria- Infected Wound Healing. *Macromolecular Bioscience*, 22(4), 2100407.

Zhang, Q., Zhang, H., Ding, J., Hui, A., Liu, X., & Wang, A. (2022). Preparation, characterization and performance evaluation of chitosan/palygorskite/glycyrrhizic acid nanocomposite films. *Applied Clay Science*, 216, 106322.

Zheng, Y., Jin, J., Wu, X., Xu, K., Dai, M., ... & Shen, J. (2022). Immunoregulation in diabetic wound repair with a photoenhanced glycyrrhizic acid hydrogel scaffold. *Advanced Materials*, 34(29), 2200521.

Zhu, Z., Tao, W., Li, J., Guo, S., Qian, D., Shang, E., ... & Duan, J. A. (2016). Rapid determination of flavonoids in licorice and comparison of three licorice species. *Journal of Separation Science*, 39(3), 473-482. doi:10.1002/jssc.201500685 10.1002/jssc.201500685

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı Soyadı : Selma USLU

Doğum Tarihi :

Yabancı Dil : İngilizce

Eğitim Durumu :

Lisans : KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ
MÜHENDİSLİK FAKÜLTESİ BİYOMÜHENDİSLİK BÖLÜMÜ
Yüksek Lisans : KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ FEN
BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ BİYOMÜHENDİSLİK A.B.D

Çalıştığı Kurum/Kurumlar ve Yıl/Yıllar :

Yayınları (SCI) :

Yayınları (Diğer) :

1. Kitosan kaplanmış gümüş ve ditiyokarbamat kitosan kaplanmış gümüş nanopartiküllerin sentezi, karakterizasyonu ve antibakteriyel aktivitelerinin karşılaştırılması, Uluslararası Mühendislik Araştırma ve Geliştirme Dergisi, Kabul Edildi

Araştırma Alanları