

T.C.
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

FARKLI BİTKİ EKSTRAKTLARI YÜKLENMİŞ
POLİMERİK YARA ÖRTÜ MALZEMESİ TASARIMI VE
ÜRETİMİ

Cem Reşat ÜSTÜNDAĞ

DOKTORA TEZİ

Biyomühendislik Anabilim Dalı

Biyomühendislik Programı

Danışman

Prof. Dr. Mehmet Burçin PİŞKİN

Ağustos, 2023

T.C.
YILDIZ TEKNİK ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**FARKLI BİTKİ EKSTRAKTLARI YÜKLENMİŞ POLİMERİK
YARA ÖRTÜ MALZEMESİ TASARIMI VE ÜRETİMİ**

Cem Reşat ÜSTÜNDAĞ tarafından hazırlanan tez çalışması 25.08.2023 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Yıldız Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyomühendislik Anabilim Dalı, Biyomühendislik Programı **DOKTORA TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Mehmet Burçin PİŞKİN
Yıldız Teknik Üniversitesi
Danışman

Jüri Üyeleri

Prof. Dr. Mehmet Burçin PİŞKİN, Danışman
Yıldız Teknik Üniversitesi

Prof. Dr. Cem Bülent ÜSTÜNDAĞ, Üye
Yıldız Teknik Üniversitesi

Prof. Dr. Saadet PABUÇCUOĞLU, Üye
İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa

Prof. Dr. Tülin Banu İYİM, Üye
İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa

Dr. Öğretim Üyesi Benan İNAN, Üye
Yıldız Teknik Üniversitesi

Danışmanım Prof. Dr. Mehmet Burçin PİŞKİN sorumluluğunda tarafımca hazırlanan “Farklı Bitki Ekstraktları Yükl n    Polimerik Yara   rt  Malzemesi Tasarımı ve üretimi” başlıklı çalışmada veri toplama ve veri kullanımında gerekli yasal izinleri aldığımı, diğ r kaynaklardan aldığım bilgileri ana metin ve referanslarda eksiksiz gösterdiğimi, araştırma verilerine ve sonuçlarına ilişkin çarpıtma ve/veya sahtecilik yapmadığımı, çalışmam süresince bilimsel araştırma ve etik ilkelerine uygun davrandığımı beyan ederim. Beyanımın aksinin ispatı halinde her türlü yasal sonucu kabul ederim.

Cem Reşat   ST NDAĞ

 mza



Bu tez çalışması YÖK 100/2000 Biyomalzemeler ve Doku Mühendisliği burs programı kapsamında gerçekleştirilmiştir.



Aileme
ve
eşime

TEŞEKKÜR

Bu doktora tez çalışması süresince benden desteğini esirgemeyen, bilgi birikimi ve önerileriyle yol gösteren, tez çalışması sırasında gösterdiği hoşgörü ve sabırdan dolayı tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Mehmet Burçin Pişkin'e, tez izleme komitesi üyelerim İstanbul Üniversitesi-Cerrahpaşa Kimyasal Teknolojiler Anabilim Dalı öğretim üyesi Sayın Prof. Dr. Saadet Pabuçcuoğlu ve Biyomühendislik Bölümü öğretim üyesi Sayın Prof. Dr. Cem Bülent Üstündağ'a teşekkürü bir borç bilirim.

Tez çalışmamın her aşamasında bana destek veren ve katkıda bulunan ekip arkadaşım Emre Karaduman ve tüm arkadaşlarıma teşekkür ederim.

Son olarak, bugünlere gelmemde büyük pay sahibi, hayatım boyunca bana yol gösteren, desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen annem Tülün Üstündağ, kardeşim Reşat Can Üstündağ ve eşim Ayşegül Erdemir'e teşekkür ederim.

Teşekkür: Bu tez çalışması YÖK 100/2000 Biyomalzemeler ve Doku Mühendisliği burs programı kapsamında gerçekleştirilmiştir.

Cem Reşat ÜSTÜNDAĞ

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR	v
SİMGE LİSTESİ	viii
KISALTMA LİSTESİ	ix
ŞEKİL LİSTESİ	xi
TABLO LİSTESİ	xii
ÖZET	xiii
ABSTRACT	xv
1 GİRİŞ	17
1.1 Literatür Özeti	17
1.2 Tezin Amacı	20
1.3 Hipotez	20
2 GENEL BİLGİLER	21
2.1 Deri, Derinin Yapısı ve Fonksiyonları	21
2.2 Yara ve Yara İyileşme Sürecinin Aşamaları	24
2.3 Yara İyileşmesini Etkileyen Faktörler	27
2.4 Yara Yönetimi için Mevcut Yaklaşımlar	28
2.5 Yara İyileşmesinde Doğal Ürünler ve Fitokimyasallar.....	30
2.6 Fitokimyasalların Yara İyileşmesindeki Mekanizmaları ve Potansiyel Sınırlamaları.....	32
2.7 <i>Calophyllum inophyllum</i> Linn. Ağacının Genel Bakışı ve Tıbbi Kullanımları	34
2.8 <i>Calophyllum inophyllum</i> Linn. ve Yara İyileşmesi için Potansiyel Faydaları.....	35
2.9 Yara Örtüsü Uygulamaları için Elektro-Eğirme Yöntemi	36
2.10 Elektro-Eğirme Yöntemini Etkileyen Parametreler	38
2.11 Elektro-Eğirme Yönteminde Kullanılan Polimerler	38
3 MATERYAL VE YÖNTEM	42
3.1 Materyal	42
3.2 Yöntem.....	45
4 BULGULAR VE TARTIŞMA	52
4.1 Elektro-eğrilmiş Lif Matların Yüzey Morfolojisi	52
4.2 Elektro-eğrilmiş Lif Matların Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopi (FT-IR) Analizi.	55
4.3 Elektro-eğrilmiş Lif Matların Islanabilirliği	56

4.4	Elektro-eğrilmiş Lif Matların Şişme Derecesi	57
4.5	Elektro-eğrilmiş Lif Matların <i>In Vitro</i> Salım Analizi	58
4.6	Elektro-eğrilmiş Lif Matların Antibakteriyel Aktivitesi	60
4.7	Elektro-eğrilmiş Lif Matların <i>In Vitro</i> Sitotoksosite Analizi.....	62
4.8	Elektro-eğrilmiş Lif Matların Yara İyileştirme Etkinliğinin Değerlendirmesi	64
4.9	Elektro-eğrilmiş Lif Matların Antioksidan Kapasitesi.....	65
4.10	Makrofaj hücreleri üzerinde canlılık analizi	67
4.11	İnterlökin-1 β Salınım Deneyi	67
5	SONUÇ	70
5.1	Sonuç ve Öneriler.....	70
KAYNAKÇA		72
TEZDEN ÜRETİLMİŞ YAYINLAR		82

SİMGELİSTESİ

α	Alfa
A	Amper
β	Beta
rpm	Dakikada Dönme Hızı
°	Derece
°C	Derece Santigrat
ϵ	Epsilon
g	Gram
pH	Hidrojen Potansiyeli
kV	Kilovolt
L	Litre
μ g	Mikrogram
μ l	Mikrolitre
μ m	Mikrometre
mg	Miligram
ml	Mililitre
mm	Milimetre
mM	Milimolar
M	Molar
nm	Nanometre
nM	Nanomolar
pg	Pikogram
cm	Santimetre
%	Yüzde

KISALTMA LİSTESİ

ATP	Adenozin Trifosfat
CIO	<i>Calophyllum inophyllum</i> oil
CO ₂	Karbondioksit
DCM	Diklorometan
DMEM	Dulbecco's Medified Eagle Medium
DMF	N,N dimethyl dormamide
DMSO	Dimetilsülfoksit
ELISA	Enzime Bağlı İmmünosorbent Deney
FBS	Fetal Sığır Serumı
FDA	Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi
FT-IR	Fourier Transform Infrared
HCl	Hidroklorik Asit
IL	İnterlökin
KCl	Potasyum Klorür
K ₂ HPO ₄	Dipotasyum Fosfat
LB	Luria-Bertani
MTT	Dimetiltiazoldifeniltetrazolyum Bromür
MW	Moleküler Ağırlık
NaCl	Sodyum Klorür
NaHCO ₃	Sodyum Bikarbonat
NHDF	Normal İnsan Dermal Fibroblast
NaH ₂ PO ₄	Sodyum Fosfat
NaOH	Sodyum Hidroksit
OD	Optik Yoğunluk
PBS	Phosphate Buffered Saline; Fosfat Tamponlu Salin
PCL	Poli(ε-kaprolakton)
PECF	Psödo Ekstra Hücresel Sıvı
PMA	Forbol Miristat Asetat
PMN	Polimorfonükleer Nötrofiller

PVA	Polivinil Alkol
RPMI	Roswell Park Memorial Institute
SEM	Taramalı Elektro Mikroskobu
TAS	Toplam Antioksidan Durumu
THP-1	İnsan Monosit Hücre Hattı
TOS	Toplam Oksidan Durumu
UV	Ultra Violet
UV-Vis	Ultraviyole ve Görünür Işık



ŞEKİL LİSTESİ

Şekil 2.1	Epidermisin katmanlarını ve dermisin ana yapılarını gösteren deri anatomisi [23].	23
Şekil 2.2	Yara iyileşmesinin dört aşması. (a) hemostaz, (b) inflamasyon (c) proliferasyon ve (d) yeniden yapılanma [37].	25
Şekil 2.3	Yara iyileşmesinde kullanılan yöntemler [48].	29
Şekil 2.4	Yara iyileşmesinde kullanılan primer biyoaktif fitokimyasal yapılar [59].	32
Şekil 2.5	<i>C. inophyllum</i> bitkisinin parçaları [72].	34
Şekil 2.6	Elektro-eğirme süreci [78].	37
Şekil 2.7	Poli(ϵ -kaprolakton)'nun yapısı [90].	39
Şekil 4.1	Elektro-eğrilmiş PCL ve artan CIO konsantrasyonlarına bağlı olarak PCL/CIO lif matların yüzey morfolojisi ve boyut dağılım grafikleri (a, b) PCL (Poli(ϵ -kaprolakton), (c, d) PCL/ <i>Calophyllum inophyllum</i> yağı (CIO)-2.5, (e, f) PCL/CIO-5 ve (g, h) PCL/CIO-7.5.	53
Şekil 4.2	Saf poli(ϵ -kaprolakton) (PCL), <i>Calophyllum inophyllum</i> esansiyel yağı yüklü PCL lif matı (PCL/CIO) ve <i>Calophyllum inophyllum</i> (CIO) esansiyel yağının FT-IR spektrum grafiği.	56
Şekil 4.3	Saf poli(ϵ -kaprolakton) (PCL) lif matı ve <i>Calophyllum inophyllum</i> uçucu yağ yüklü PCL lif matları olan PCL/CIO-2.5, PCL/CIO-5 ve PCL/CIO-7.5'in şişme derece yüzdeleri (%).	58
Şekil 4.4	<i>Calophyllum inophyllum</i> yağının (CIO) poli(ϵ -kaprolakton) (PCL)/CIO lif matlarından kümülatif salım grafiği.	60
Şekil 4.5	Poli(ϵ -kaprolakton) (PCL)/CIO lif matlarının (a) <i>Staphylococcus aureus</i> ve (b) <i>Escherichia coli</i> 'ye karşı antibakteriyel etkinliği * $p<0,05$, ** $p<0,01$ kontrol ile karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlılık düzeyleri.	62
Şekil 4.6	Farklı konsantrasyonlarda <i>Calophyllum inophyllum</i> yağı (CIO) ile yüklenmiş poli(ϵ -kaprolakton) (PCL) (PCL/CIO-2.5, PCL/CIO-5 ve PCL/CIO-7.5) elektro-eğrilmiş lif matlarının NHDF hücreleri üzerindeki in vitro sitotoksikite grafiği.	63
Şekil 4.7	Normal insan dermal fibroblast hücreleri üzerinde poli(ϵ -kaprolakton) (PCL)/CIO lif matların in vitro yara iyileştirme etkinliğinin analizi.	65
Şekil 4.8	Poli(ϵ -kaprolakton) (PCL)/CIO-7.5 lif matlarının kontrol grubuna kıyasla (a) toplam antioksidan kapasitesi (b) toplam oksidan kapasitesi * $p<0,05$.	67
Şekil 4.9	PCL/CIO lif matlarının (a) makrofajlar üzerindeki sitotoksik aktivitesi. (b) PCL/CIO lif matlar ile muamele edilmiş hücrelerin interlökin-1 β seviyeleri	68

TABLO LİSTESİ

Tablo 3.1 Çalışmada kullanılan cihazlar	42
Tablo 3.2 Çalışmada kullanılan saf malzemeler	43
Tablo 3.3 Çalışmada kullanılan saf malzemeler	44
Tablo 4.1 Elektro-eğirme lif matların örnek adları, ortalama lif çapları (μm) ve temas açısı değerleri.....	53



Farklı Bitki Ekstraktları Yüklenmiş Polimerik Yara Örtü Malzemesi Tasarımı ve Üretimi

Cem Reşat ÜSTÜNDAĞ

Biyomühendislik Anabilim Dalı

Biyomühendislik Programı

Doktora Tezi

Danışman: Prof. Dr. Mehmet Burçin PİŞKİN

İnsan vücudunun en büyük organı olan cilt, dış tehditlere karşı ilk koruyucu sistem olarak bilinir. Kazalar veya yanıklar ve diyabet gibi hastalıklar dahil olmak üzere birçok farklı faktör, cildin hasar görmesine neden olabilir. Cilt, mikroorganizmaların kontaminasyonunu önleme ve homeostazı sürdürme konusunda önemli bir rol oynar. Bu nedenle, ciddi bir yaralanma sonrasında yara iyileşmesini teşvik edebilecek bir yara örtü malzemesiyle cildi kaplamak önemlidir. Geleneksel yara örtü malzemeleri nispeten uygun fiyatlı ve yüksek emiciliğe sahiptir. Ancak, sadece çevre ve yara alanı arasında bir bariyer işlevi görürler ve ayrıca iyileşme sürecini teşvik etme konusunda eksiklikleri vardır. İyileşmeyi teşvik etmek ve yara alanını desteklemek için, fonksiyonel yara örtü malzemelerinin geliştirilmesine büyük ihtiyaç vardır.

Elektro-eğirme, polimer solüsyonlarından fonksiyonel fiber yara yara örtü malzemelerinin üretiminde yaygın olarak kullanılmaktadır. Yara iyileşmesini teşvik eden bitki bazlı esansiyel yağlar, örneğin *Calophyllum inophyllum* (CIO) esansiyel yağı, iyileşme sürecini teşvik etmek için fiber yara örtü malzemesi olarak uygun bir polimerle elektro-eğirilebilir.

Bu tez çalışmasında, yara örtü malzemesi olarak kullanılmak amacıyla *Calophyllum inophyllum* (CIO) esansiyel yağı yüklü poli(ϵ -kaprolakton) (PCL) fiber matların üretilmesi, karakterizasyonu ve *in vitro* değerlendirilmesi gerçekleştirilmiştir. Üretilen fiber matların yüzey morfolojisi, boyut dağılımı, ıslanabilirlik özellikleri, ilaç salım profili, antibakteriyel aktivitesi, sitotoksosite ve immünotoksitesite değerlendirilmiştir. Farklı PCL/CIO oranına sahip yara örtü malzemelerinin ortalama fiber çapları PCL, PCL/CIO-2.5, PCL/CIO-5 ve PCL/CIO-7.5 için sırasıyla $0.9 \pm 0.3 \mu\text{m}$, $1.2 \pm 0.2 \mu\text{m}$, $1.3 \pm 0.2 \mu\text{m}$ ve $1.5 \pm 0.1 \mu\text{m}$ olarak belirlenmiştir. Üretilen fiber matların temas açısı değerleri, yüzey ıslanabilirliğinin iyileştiğini gösterecek şekilde, CIO eklenmeyen PCL fiber matlara kıyasla azalmıştır. *In vitro* salım analizi sonucunda tüm PCL/CIO fiber matlarda sürekli ve kontrollü bir CIO salınımı gözlemlenmiştir. Üretilen fiber matların antibakteriyel aktivitesi, gram pozitif ve gram negatif bakteri suşlarında değerlendirilmiş ve saf PCL'ye kıyasla CIO'nun eklenmesiyle antibakteriyel aktivitenin arttığı gözlemlenmiştir. *In vitro* sitotoksosite değerlendirmesi sonucunda üretilen tüm fiber matların kontrole kıyasla hücre canlılığının arttığını ve sitotoksik etkisinin bulunmadığını göstermiştir. Bu tez çalışmasından elde edilen bulgular, CIO yüklü PCL elektro-eğirilmiş fiber matların doku mühendisliği ve rejeneratif tıp uygulamalarında kullanıma potansiyeli olduğunu ortaya koymaktadır.

Anahtar Kelimeler: Elektro-eğirme, yara örtüsü, uçucu yağ, poli(ϵ -kaprolakton), antibakteriyel aktivite

Design and Production of Polymeric Wound Dressing Loaded with Different Plant Extracts

Cem Reşat ÜSTÜNDAĞ

Department of Bioengineering

Doctor of Philosophy Thesis

Supervisor: Prof. Dr. Mehmet Burçin PİŞKİN

Skin, as the largest organ of the human body, is known as the first protective system against external threats. Various factors including accidents or diseases such as burns, and diabetes can cause skin damage. The skin plays a crucial role in preventing microbial contamination and maintaining homeostasis. Therefore, it is essential to cover the skin with a wound dressing material that can promote wound healing after a serious injury. Traditional wound dressings are relatively affordable and highly absorbent. However, they merely serve as a barrier between the environment and the wound area, and they lack the ability to promote the healing process. To promote healing and support the wound area, there is a significant need for developing functional wound dressings.

Electrospinning is commonly used to produce functional fiber wound dressings from polymer solutions. Essential plant-based oils that promote wound healing, such as *Calophyllum inophyllum* (CIO), can be electrospun with a suitable polymer to form a fiber wound dressing that promotes the healing process.

This thesis project carried out the production, characterization, and *in vitro* evaluation of poly(ϵ -caprolactone) (PCL) fiber mats loaded with *Calophyllum inophyllum* (CIO) essential oil, aimed to be used as wound dressings. The surface morphology, dimensional distribution, wettability properties, drug release profile, antibacterial activity, cytotoxicity, and immunotoxicity of the produced fiber mats were evaluated. The average fiber diameters of the wound dressing materials with different PCL/CIO ratios were determined to be $0.9 \pm 0.3 \mu\text{m}$, $1.2 \pm 0.2 \mu\text{m}$, $1.3 \pm 0.2 \mu\text{m}$, and $1.5 \pm 0.1 \mu\text{m}$ for PCL, PCL/CIO-2.5, PCL/CIO-5, and PCL/CIO-7.5 respectively. The contact angle values of the produced fiber mats decreased compared to PCL fiber mats without CIO, indicating an improvement in surface wettability. *In vitro* release analysis resulted in a sustained and controlled CIO release in all PCL/CIO fiber mats. The antibacterial activity of the produced fiber mats was evaluated in both gram-positive and gram-negative bacterial strains and an increase in antibacterial activity was observed with the addition of CIO compared to pure PCL. *In vitro* cytotoxicity evaluation indicated an increase in cell viability for all produced fiber mats compared to the control and no cytotoxic effect was observed. The findings from this thesis project reveal the potential of CIO-loaded PCL electrospun fiber mats in tissue engineering and regenerative medicine applications.

Keywords: Electrospinning, wound dressing, essential oil, poly(ϵ -caprolactone), anti-bacterial activity

1.1 Literatür Özeti

Deri vücudumuzun en büyük organı olarak bilinir ve organizmanın hayatta kalması için gerekli birçok işlevi yerine getirmektedir. Cilt bütünlüğünün çeşitli iç ve dış etkenlerle bozulması sonucunda farklı tipte yaralar oluşabilmektedir. Organizmalar doku yaralanmasına yara iyileşme süreci olarak bilinen doğal bir fizyolojik reaksiyonla yanıt vermektedir [1]. Deri, koruyucu bir bariyer olarak önemli bir rol oynadığı için bütünlüğünün bozulması bakteriyel enfeksiyonlar gibi istenmeyen durumlara neden olabilmektedir. Vücudun kendi kendine doku hasarının üstesinden geldiği doğal yara iyileşme sürecinin bir başka dezavantajı ise nispeten yavaş iyileşme hızıdır [2]. Bu nedenle, hasarlı dokuya uygun yara örtüsü uygulayarak yara iyileşme sürecini desteklemek önemlidir. Yara örtüsü, gerekli nemi sağlayarak ve yarayı dış hasarlardan koruyarak yara iyileşme sürecinde çok önemli bir rol oynamaktadır. İdeal bir yara örtüsünün yara iyileşme sürecinde etkili olabilmesi için sahip olması gereken bazı özellikler vardır. Bu özelliklerden bazıları; yara örtülerinin yara çevresindeki nemi kontrol etmesi, gaz iletimini sağlaması, mekanik korumaya sahip olması, biyouyumlu olması ve toksik olmaması gibi özellikleri taşıması gerekmektedir. En önemlisi, ideal bir yara örtüsünün yara bölgelerini enfeksiyonlardan ve mikroorganizmalardan koruması gerekmektedir [3]. Bu nedenle yara örtülerinin geliştirilmesi sadece iyileşme sürecini desteklemekle kalmaz, aynı zamanda farklı mikroorganizma enfeksiyonlarına karşı bir bariyer görevi olarak da işlev görürler [4]. Bugüne kadar antibiyotiklerden doğal ajanlara kadar pek çok kimyasal bileşik yara bölgelerinde oluşan bakteriyel enfeksiyonlara karşı kullanılmıştır. Ancak büyük yara bölgelerine ilaç uygulamalarının zor olması ve antibiyotik direnci gibi sorunlar, farklı türdeki yaraları tedavi etmek için yeni yaklaşımları gerekli kılmıştır.

Fitokimyasallar gibi bitkilerden elde edilen doğal ürünler, yara iyileşmesini hızlandıracak ilaçların geliştirilmesinde yüzyıllardır kullanılmaktadır. Böyle bir bitki, polifenoller açısından zengin olan ve Afrika, Asya ve Pasifik ülkelerinde bulunabilen *Calophyllum inophyllum* Linn ağacıdır. Bu ağacın farklı kısımları

geleneksel tıpta çeşitli hastalıkları tedavi etmek için kullanılmıştır [5]. *C. inophyllum* yağı, geleneksel tıpta deri ile ilgili romatizma gibi hastalıkları ve cilt yanıklarını tedavi etmek için kullanılmıştır [6]. Araştırmalar, *C. inophyllum* yağının kumarinler, ksantonlar, flavonoidler, steroidler ve triterpenoidler dahil olmak üzere çeşitli biyoaktif bileşikler içerdiğini göstermiştir [7]. Yapılan çalışmalarda ayrıca *C. inophyllum* yağının antioksidan, antimikrobiyal, antiviral, anti-inflamatuvar ve proliferasyonu engelleyici aktiviteleri gösterilmiştir [8]. *C. inophyllum* yağının yara iyileştirici ve antibakteriyel özellikleri çeşitli çalışmalarda bildirilmekle birlikte literatürde bu yağın yara örtü malzemelerine entegrasyonu ile ilgili bir çalışma bulunmamaktadır.

Elektro-eğirme, elektrostatik kuvvetleri kullanan mikro ve nano ölçekte bir lif üretim yöntemidir. Bu yöntem, basit ekipman kullanarak morfoloji ve kompozisyon üzerinde kontrole izin verdiği için son yıllarda tercih edilen bir teknik olmuştur [9]. Elektro-eğirme ile üretilen lifler iki temel özelliğe sahip olabilmektedir. Bunlar; yara örtü malzemeleri için çok önemli olan ince gözenekler ve yüksek temas yüzeyidir [10]. Ayrıca, elektro-eğrilmiş lif matlar, yaralanma bölgesi için oksijen geçirgenliğini ve yaranın korunmasını sağlayarak doku onarımının ihtiyaçlarını giderir [11]. Birçok işlevsel yararları sayesinde çeşitli polimerler, biyoaktif yara örtü malzemelerinin üretimi için başarılı bir şekilde elektro-eğirme tekniği ile ince lifler haline getirilmiştir. Poli(ϵ -kaprolakton) (PCL), yara örtüleri için elektro-eğirme tekniğinde en kapsamlı şekilde kullanılan polimerlerden biridir. PCL lifleri, mükemmel biyouyumluluk, biyobozunurluk ve mekanik özelliklere sahiptir. Bu benzersiz özellikleri onları yara iyileştirme uygulamaları için uygun hale getirmektedir [12]. Bu lifler, yaranın iyileşmesi için nemli bir ortamı korurken yarayı korumak için dışarıdan gelebilecek maddelere karşı fiziksel bir bariyer sağlarlar. Ek olarak PCL lifleri, terapötik özelliklerini geliştirmek için büyüme faktörleri veya antimikrobiyal maddeler gibi biyoaktif maddelerle birlikte yüklenebilir [13]. Elektro-eğrilmiş lif matları üretmek için yaygın olarak kullanılan başka bir polimer ise polivinil alkoldür (PVA). PVA lifleri biyolojik olarak uyumlu özellikleri ile mekanik dayanıklılığı ve biyolojik olarak parçalanabilirliği geliştirmek için diğer polimerlerle kolayca karıştırılabilir. PVA temelli lifler; yüksek etkinlikte hücre adezyonunu sağlaması, proliferasyonu desteklemesi ve ekstrasellüler matriks birikimi gibi özellikleri ile yara iyileşmesini desteklemede

umut verici sonuçlar göstermektedir [14]. Son yıllarda, kabuklu canlılardan türetilen bir biyopolimer olan kitosan temelli elektro-eğrilmiş lifler de antibakteriyel özellikleri ve yara iyileşmesini destekleme yetenekleri nedeniyle lif matları üretmek için kullanılmaktadır. Kitosan lifleri, çeşitli patojenlere karşı antimikrobiyal aktiviteye sahiptir ve gelişmiş hücre bağlanması, göçü ve anjiyogenez yoluyla yara iyileşme sürecini hızlandırmaktadır [15]. Tüm bu polimer örnekleri, biyoaktif yara örtü malzemelerinin üretimi için ince liflere başarılı bir şekilde elektro-eğrilmiş polimerlerin geniş yelpazesini göstermektedir. Araştırmacılar, elektro-eğirme tekniğinin çok yönlülüğü ve ayarlanabilirliği sayesinde liflerin özelliklerini yara iyileşmesinin özel gereksinimlerini karşılayacak şekilde üretilmesini gerçekleştirebilirler. Böylece gelişmiş özelliklere sahip yara örtü malzemeleri ile klinikte daha etkili sonuçlar alınması olanaklı hale gelecektir.

Çeşitli elektro-eğrilmiş lif türleri arasında, polyester lifler biyolojik olarak en uyumlu, kolayca işlenen ve hücreler için toksik olmayan liflerdir. PCL, yaklaşık 60 °C'lik düşük bir erime noktasına sahip, sentetik ve biyolojik olarak parçalanabilen bir polyesterdir [16]. PCL biyobozunurluğu ve biyouyumluluğu özellikleri sayesinde yara örtüsü ve ilaç salım uygulamalarında yaygın olarak kullanılan FDA onaylı bir polimerdir. PCL suda çözünmemesine rağmen çeşitli organik çözücülerde tamamen çözülebilir. Bu nedenle elektro-eğirme işlemi sırasında dimetilformamid, diklorometan, kloroform ve metanol gibi farklı organik çözücülerde veya bu çözücülerin bir kombinasyonunda lif üretiminde kullanılabilir [17]. PCL'nin uzun degradasyon döngüsü ve zayıf hidrofilik özelliği nedeniyle kullanımda bazı sınırlamaları vardır. Bununla birlikte PCL'in bu sınırlamaları kolayca aşılabılır ve bu sayede kullanım alanı geliştirilir. PCL tüm bu özellikleri ile doku mühendisliği ve elektro-eğrilmiş yara örtü uygulamaları için olağanüstü bir adaydır.

Birçok çalışmada PCL polimerinin elektro-eğrilmesi değişen çözücü sistemleri ve polimer konsantrasyonları ile geniş çapta rapor edilmiştir. Bu parametreler lif oluşumunda ve özelliklerinde önemli roller oynamaktadır. Bu çalışmalar, çeşitli elektro-eğirme koşullarının ve formülasyon bileşimlerinin, yara iyileştirme uygulamaları için arzu edilen özelliklere sahip PCL lifleri üretmek için kullanılabileceğini ortaya koymaktadır. Araştırmacılar istenilen özellikte lifler sentezleyebilmek için polimer konsantrasyonu, çözücü sistemi, akış hızı, voltaj ve

Çalışma mesafesi gibi elektro-eğirme parametrelerini ayarlayabilir. Bu ayarlanabilirlik özelliği sayesinde elektro-eğirilmiş PCL lif matlarını istenilen özelliklere göre yara iyileştirme uygulamasının özel gereksinimlerine göre uyarlamasına olanak tanımaktadır [18].

1.2 Tezin Amacı

Gerçekleştirilen tez çalışmasının amacı *C. inophyllum* yağı ile PCL'yi birlikte elektro-eğirerek yara iyileşmesini destekleyecek yeni nesil bir yara örtü malzemesinin üretilmesidir. Bu amaçla, farklı konsantrasyonlarda *C. inophyllum* yağı (CIO) içeren PCL elektro-eğirilmiş matların üretimi ve üretilen fiber matların fizikokimyasal özelliklerinin belirlenmesi ve *in vitro* aktivitesinin değerlendirilmesi hedeflenmiştir.

1.3 Hipotez

Elektro-eğirme tekniği kullanılarak farklı konsantrasyonlarda *C. inophyllum* yağı (CIO) ile yüklenmiş PCL lif matların hücreler üzerinde toksik etkilerinin olmaması, antibakteriyel özellikte olması, nem tutma yetkinliklerinin yüksek olması ve en önemlisi yara iyileşme sürecine katkı sağlayabilecek nitelikte olmasıdır. Böylece klinikte yara iyileşme sürecine katkı sağlayabilecek, biyobozunur, biyouyumlu ve farklı yara tipleri için ayarlanabilir özelliklere sahip yeni nesil yara örtülerinin elektro-eğirme teknikleri ile üretilerek geniş alanda kullanımına uygun karaktere göre tasarlayabilecektir.

2 GENEL BİLGİLER

2.1 Deri, Derinin Yapısı ve Fonksiyonları

“Deri” kelimesi, örtmek anlamına gelen Latince *integere*’den türetilmiştir. Deri, vücuttaki en büyük organdır ve yetişkin bir insanın toplam vücut ağırlığının yaklaşık %16’sını oluşturmaktadır. Deri, beynin ağırlığının iki katı ve yaklaşık 3-5 kg ağırlığındadır. Derinin kalınlığı ise vücudun işlevine ve bölgesine göre çok fazla değişmektedir. Örtü sistemi, yüzey ektoderminden ve altta yatan mezenkimden gelişir. Deri ve uzantıları; saç folikülleri, tırnaklar, yağ ve ter bezlerini içeren türev yapılarından oluşur. Deri, vücudu çevresel streslere karşı koruyan, su geçirmez, yalıtkan bir kalkan görevi olarak işlev görür. Aynı zamanda enfeksiyonları önleyen antimikrobiyal peptidler ve biyolojik etkileri olan hormonlar, nöropeptitler ve sitokinler üretmektedir. Deri vücut ve çevre arasında bir ara yüz olarak rol oynamaktadır [19, 20].

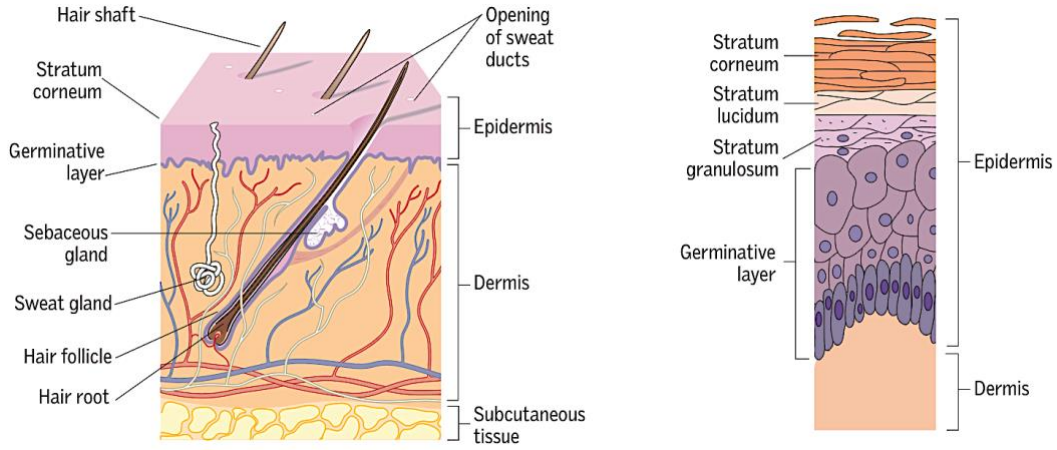
2.1.1 Derinin Yapısı

Deri sahip olduğu fonksiyonları yerine getirebilmek için epidermis, dermis ve subkutan doku olarak da adlandırılan hipodermis olmak üzere üç tabakadan meydana gelir [21]. En dıştaki tabaka epidermis koruyucu rolü olan uzun, iplik benzeri bir protein olan keratini sentezleme işlevi gören keratinositler olarak bilinen özel bir hücreden oluşmaktadır. Orta tabaka olan dermis, temel olarak kollajen olarak bilinen fibriler yapısal proteinden oluşur. Dermis, lipositler olarak bilinen küçük yağ hücrelerinin loblarını içeren subkutan doku veya panniculus üzerinde yer alır [22].

2.1.1.1 Epidermis

Epidermis tabakası başlıca keratinositler ve dendritik hücrelerden oluşan skuamöz bir epitel tabakasıdır. Keratinositler, hücreler arası köprülere ve bol miktarda boyanabilir sitoplazmaya sahip olmaları bakımından dendritik hücrelerden farklıdır. Epidermis tabakası; melanositler, Langerhans hücreleri ve Merkel hücreleri gibi bir dizi başka hücre popülasyonunu barındırır. Ancak keratinosit hücreleri epidermis bölgesinde yer alan hücre popülasyonunun çoğunluğunu

oluşturmaktadır [19]. Epidermis, Şekil 2.1’de gösterildiği gibi bir dizi katmandan oluşmaktadır. Bu katmanlar en derinden üste doğru; i) stratum basale (stratum germinativum olarak da adlandırılır), ii) stratum spinosum veya dikenli hücre tabakası, iii) stratum granulosum veya granüler tabaka, iv) stratum lucidum (parmak uçları, avuç içi ve tabanlar) ve v) en üst tabaka olan stratum corneum olmak üzere beş katmandan meydana gelmektedir [23]. Stratum corneum, epidermisin en dış tabakasıdır ve korneositler olarak da isimlendirilen ölü keratinosit yığınlarından ve hücreler arası lipidlerden oluşmaktadır [24]. Bu yapı, su ve suda çözünen maddelerin giriş çıkışını engeller. Bununla birlikte bariyer işlevi gördükleri için kıl folikülleri ve ter kanalları gibi cilt uzantılarına sahiptirler. Deri uzantıları, vücudu mekanik hasarlardan, ultraviyole ışınlarından, sıcaklık değişikliklerinden ve kuruluştan korumak için görevlidir. Böylece hayvanlar, bütünleyici stratum corneum deri uzantılarını geliştirirler. Çok sayıda mikroorganizmanın vücudumuzun yüzeyleriyle ortak bir ilişki içinde yaşadığı ve kutanöz bağışıklık reaksiyonlarını etkilemektedir [25]. Deri uzantıları stratum corneum’dan yoksun olduğundan, bu alanlarda canlı keratinositlerin yanında deri mikrobiyotası da bulunmaktadır. Bu durum, cilt uzantılarının immünolojik olarak benzersiz noktalar olmasına neden olur [26]. Epidermisin bazal tabakası (stratum basale) sürekli yenilendiği için bu derinin tabakaları içinde en yüzeysel ve biyolojik olarak aktif olanıdır. Epitel hücreleri, epidermisi 75 ile 150 µm derinliğe kadar (avuç içlerinde/ayak tabanlarında 600 µm kalınlığa kadar) yoğun bir şekilde paketler [27].



Şekil 2.1 Epiderminin katmanlarını ve dermin ana yapılarını gösteren deri anatomisi [23].

2.1.1.2 Dermis

Derinin dermis tabakası; dışta epidermis ile birleşim yeri ve içte deri altı yağ ile sınırlı bir alanda yer almaktadır (Şekil 2.1). Dermis, vücudu mekanik yaralanmalara karşı koruyan ve özel yapılar içeren sert, esnek bir tabakadır. Dermis tabakası; lenf damarlarını, sinir uçlarını, kıl foliküllerini ve bezleri içerir. Oluklar olan rete sırtları ile epidermise bağlanır. Bu oluk şeklindeki yapılar, dermis ve epidermis arasında besin alışverişini sağlar [20]. Dermis iki retiküler ve papiller olmak üzere iki katmandan oluşur. Papiller katman epidermisi besleyen sinirleri ve kılcal damarları barındırır. Retiküler katman ise kollajen ve elastik lifler içeren güçlü bağ dokusundan oluşmaktadır. Dermis derinin büyük kısmını oluşturmakla birlikte derinin esnekliğini, elastikiyetini ve gerilme için dayanıklılığı sağlar. Vücudu mekanik yaralanmalardan korur, suyu bağlar, termal düzenlemeye yardımcı olur ve duyuşsal uyaran reseptörlerini içermektedir [28].

2.1.1.3 Hipodermis

Embriyolojik olarak, gebeliğin beşinci ayının sonunda, deri altı (subkutan) fetal dokuda yağ hücreleri gelişmeye başlamaktadır. Hipodermis diğer adıyla derialtı doku bir yedek enerji kaynağı olarak görevi görmektedir. Bunun yanı sıra alttaki yapılar üzerinde kayarak hareketliliği sağlamaktadır. Hipodermis, öncelikle fibröz bağ dokusu (septa) tarafından tanımlanan lobüller halinde düzenlenen adipositlerden oluşur. Sinirler, kan ve lenfatik damarlar septa içinde bulunur. Deri altı doku, ekzotropi, biriktirme ve endotrofi biyolojik reaksiyonlar yoluyla enerji

depolar. Ek olarak deri altı dokusu, aromataz enzimi tarafından androstenedionu estrona dönüştüren endokrin bir organ olarak kabul edilir [29].

2.1.2 Derinin Fonksiyonları

Derinin birincil işlevi organizmanın dış çevre ile etkileşimini sağlarken bir yandan da bariyer görevi görmektir. Derinin organizmanın yaşamı için önemli olan tüm aşağıda listelenmiştir [30].

- Vücut ısısının düzenlenmesi
- Temel vücut sıvı kaybını ve toksik madde penetrasyonunu önleme
- Vücudu güneş ışığının zararlı etkilerinden koruma
- Toksik maddelerin ter ile atılması
- Mekanik destek
- Duyu organı
- İmmünolojik fonksiyon
- Hormon sentezi
- Yağ, su ve D vitamini depolamak

2.2 Yara ve Yara İyileşme Sürecinin Aşamaları

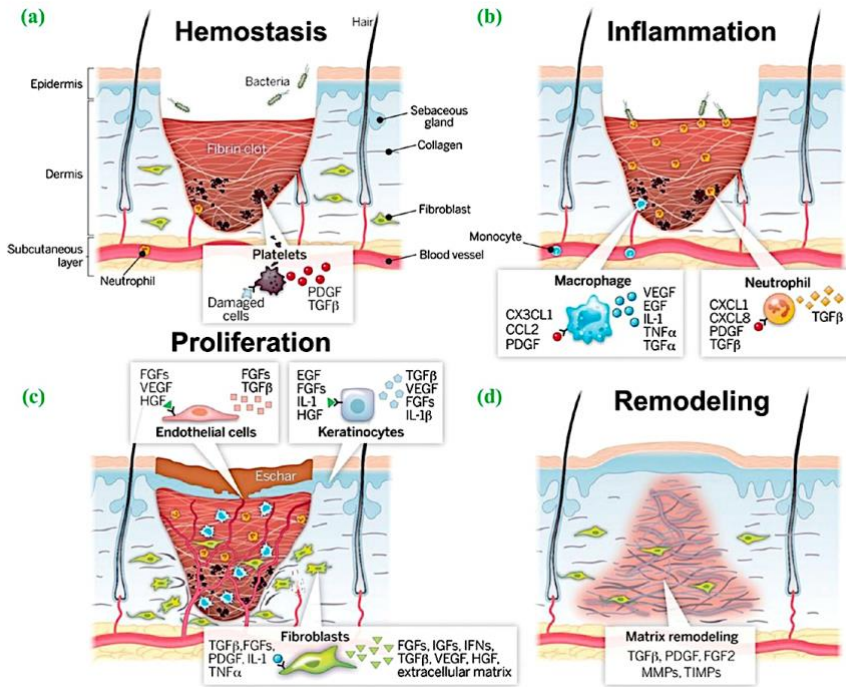
Yara, normal anatomik yapı ve fonksiyonda hasar veya bozulma olarak tanımlanır [31]. Bu hasar, derinin epitel bütünlüğündeki basit bir bütünlük bozulması olabileceği gibi tendonlar, kaslar, damarlar, sinirler, parankimal organlar ve hatta kemik gibi dokuları etkiyebilecek şekilde derinde olabilir [32].

Yaraların çeşitli nedenleri bulunmaktadır. Ameliyat, yaralanmalar, dış etkenler (örn. basınç, yanıklar ve kesikler) veya diyabet ve damar hastalıkları gibi patolojik durumlar nedeniyle kaynaklanabilir [33]. Yaralanma, nedeni ne olursa olsun ve şekli ne olursa olsun, dokuya zarar verir ve içindeki yerel ortamı bozar. Bu tür hasarlar, altta yatan nedenlerine ve sonuçlarına bağlı olarak akut veya kronik yaralar olarak sınıflandırılır. Akut yaralar genellikle düzgün ve etkili bir tamir sürecine tabi tutularak, anatominin ve fonksiyonun sürekli olarak onarılmasıyla iyileşir. Bunun aksine, kronik yaralar genellikle optimum anatomi ve işlevsel bütünlüğe ulaşma konusunda başarısız olurlar. İyileşme süreci; hastanın ve çevresinin niteliği, yoğunluğu ve durumuna bağlıdır ve patolojik süreçler tarafından yönlendirilir [34, 35]. Hastanın yaşı, damar, metabolik ve otoimmün hastalıkların mevcudiyeti ve mevcut ilaç tedavisi gibi sistemik faktörler yara iyileşme sürecini etkileyebilir. İdeal bir şekilde iyileşen bir yara, bir yaralanma sonrası normal anatomi, işlev ve görünümü geri kazanan bir bölgedir; minimum düzeyde iyileşmiş

bir yara, anatominin onarılmasını içerir, ancak kalıcı işlevsel sonuçlar ortaya çıkmaz. Bu tür yaraların tekrar oluşması olasıdır. Bu iki durum arasında, kabul edilebilir düzeyde iyileşmiş bir yara, sürdürülen işlevsel ve anatomi bütünlüğünün yeniden düzenlenmesiyle tanımlanır [36].

2.2.1 Yara İyileşme Sürecinin Aşamaları

Yara iyileşmesi bir dizi koordineli olayı içeren dinamik ve karmaşık bir süreçtir. Yara iyileşme süreci birbiriyle örtüşen aşamalara ayrılmaktadır. Bu aşamalar; i) hemostaz, ii) inflamasyon, iii) proliferasyon ve iv) yeniden yapılanma ve maturasyon olmak üzere dört adımdan oluşmaktadır (Şekil 2.2). Bu süreç büyüme faktörleri (Growth factors; GFs) ve sitokinler gibi bir dizi dış ve iç uyaran tarafından sıkı bir şekilde düzenlenir ve bu da hasarlı cildin yenilenmesine sağlar [2].



Şekil 2.2 Yara iyileşmesinin dört aşaması. (a) hemostaz, (b) inflamasyon (c) proliferasyon ve (d) yeniden yapılanma [37].

2.2.1.1 Hemostaz

Normal yara iyileşme sürecinde hemostaz, yara iyileşmesinin ilk aşamasıdır ve yaralanmadan sonraki ilk dakikalar içinde gerçekleşir. Bu süreç sırasıyla şu aşamalar gerçekleşir: i) kan akışını azaltan vazokonstriksiyon; ii) bir trombosit tıkaçının oluşumu ve trombositler reseptörleri eksprese eder ve iii) trombosit tıkaçının çevresinde bir fibrin pıhtısının oluşumu gerçekleşir [38] (Şekil 2.2a).

2.2.1.2 İnflamasyon

Pıhtılaşmadan sonraki bir saat içinde, polimorfonükleer nötrofiller (polymorphonuclear neutrophils; PMNs), yaralanmadan sonraki 2 güne kadar yara yatağında baskın bağışıklık hücreleri haline gelirler. Bu hücreler yara bölgesindeki kalıntıları fagositize eder ve serbest radikalleri serbest bırakarak bakterileri öldürür ve hasarlı dokuları proteazlar aracılığıyla parçalanmasını sağlarlar. PMN'ler 2 gün sonra apoptoz geçirirler ya da makrofajlar tarafından parçalanırlar. Monositler daha sonra yara yatağına girdikten sonra, fagositoza katılan, birkaç büyüme faktörü ve sitokin salgılayan, anjiyogenezi destekleyen ve dolaylı olarak granülasyon dokusu oluşumunu ve yeniden epitelizeasyonu uyaran makrofajlara dönüşürler [39] (Şekil 2.2b).

2.2.1.3 Proliferasyon

Proliferasyon fazı, birkaç günden haftalara kadar süren ve yara bölgesini küçültmeyi hedefleyen bir evredir. Bu evre, epidermal yeniden oluşum, damar oluşumu, granülasyon dokusu gelişimi ve kollajen birikimi ile tanımlanır [40]. İlk olarak, aktive olmuş fibroblastlar yara alanına taşınır ve fibrin pıhtılarının yerini alacak olan hücre dışı matriks proteinleri (hiyalüronan, fibronektin ve proteoglikan) üretirler. Daha sonra, dokuya dayanıklılık kazandırmak için kollajen sentezlenir. Bu bağ dokusu veya granülasyon dokusu (tip III kollajenlerin dominant olduğu), yeni hücre dışı matriks dokusunun gelişimi için kan damarları ağına eklenen yeni bir yapısal çerçeve işlevi görür. Aynı zamanda, sitokinler yeniden epitelizeasyonu oluşturur; epitel hücreleri çoğalır (keratinositler) ve yeni bir epidermal bariyer oluşturmak için yaraya göç ederler. Ayrıca bu fazda fibroblastlar miyofibroblastlara farklılaşarak proliferasyonu azaltır ve kollajen sentezini artırır, yaranın kasılmasına neden olur ve yara boyutunu küçültür [41-43] (Şekil 2.2c).

2.2.1.4 Yeniden Yapılanma

Yaranın olgunlaşması, yaralanmadan 3 gün sonra başlayabilir. Bu aşamada kollajen matriksin yavaş yavaş yeniden şekillenmeye başladığı aşamadır. Hücre dışı matriks yavaş yavaş olgun bir skara dönüşür. Burada kollajen yeniden düzenlenir, hücre dışı matrikste üretilen tip III kollajen tip I ile değiştirilir. Bu dönüşüm yaranın kapanmasıyla meydana gelir. Ardından yeni kan damarlarının ve kan akışının azalması gerçekleşir ve aynı şekilde hücrel bir ortam ve olgun avasküler doku

oluşur. Yaranın damar yoğunluğu normale döner. Son olarak, cilt gerilme dayanıklılığını geri kazanır. Yeniden yapılanma aşamasının kritik bir özelliği ekstrasellüler matriksin normal dokuya yaklaşan bir mimariye yeniden biçimlendirilmesidir [44, 45] (Şekil 2.2d).

2.3 Yara İyileşmesini Etkileyen Faktörler

Birden fazla faktör yara iyileşme sürecinin bozulmasına neden olabilir. Genel olarak; yara onarımı etkileyen faktörler lokal ve sistemik olarak kategorize edilebilir. Lokal faktörler, yaranın özelliklerini doğrudan etkileyen faktörlerken, sistemik faktörler, kişinin iyileşme yeteneğini etkileyen genel sağlık veya hastalık durumu ile ilgili faktörlerdir. Bu faktörlerin çoğu birbiriyle ilişki içindedir.

2.3.1 İyileşmeyi Etkileyen Lokal Faktörler

Yara iyileşme sürecinde etkili olan bazı lokal faktörler bulunmaktadır. Bunlar; oksijenasyon ve inflamasyon olmak üzere iki grupta incelenir.

2.3.1.1 Oksijenasyon

Oksijen; hücre metabolizması, özellikle ATP aracılığıyla enerji üretimi için önemlidir ve hemen hemen tüm yara iyileşme süreçleri için kritiktir bir etkidir. Yaraları enfeksiyondan korur, anjiyogenezi indükler, keratinosit farklılaşmasını, göçünü ve yeniden epitelizasyonunu artırır. Ayrıca fibroblast proliferasyonunu ve kollajen sentezini artırır ve yara kontraksiyonunu destekler [46].

2.3.1.2 İnflamasyon

Yara iyileşme sürecinin normal bir parçasıdır ve kontamine mikroorganizmaların uzaklaştırılması için önemlidir. Bununla birlikte, etkili bir dekontaminasyonun yokluğunda mikrobiyal klirens tamamlanmaz ve inflamasyon devam eder. Hem bakteri hem de endotoksinler, interlökin-1(IL-1) ve TNF- α gibi proinflamatuvar sitokinlerin uzun süreli salınmasını neden olur ve inflamatuvar fazı uzatabilir. Bu devam ederse, yara kronik bir duruma girebilir ve iyileşme süreci gerçekleşmez [47]. Tüm faktörlerin yanı sıra yabancı cismin tetiklediği inflamasyon ve damar yetersizliği de iyileşme sürecini olumsuz etkilemektedir.

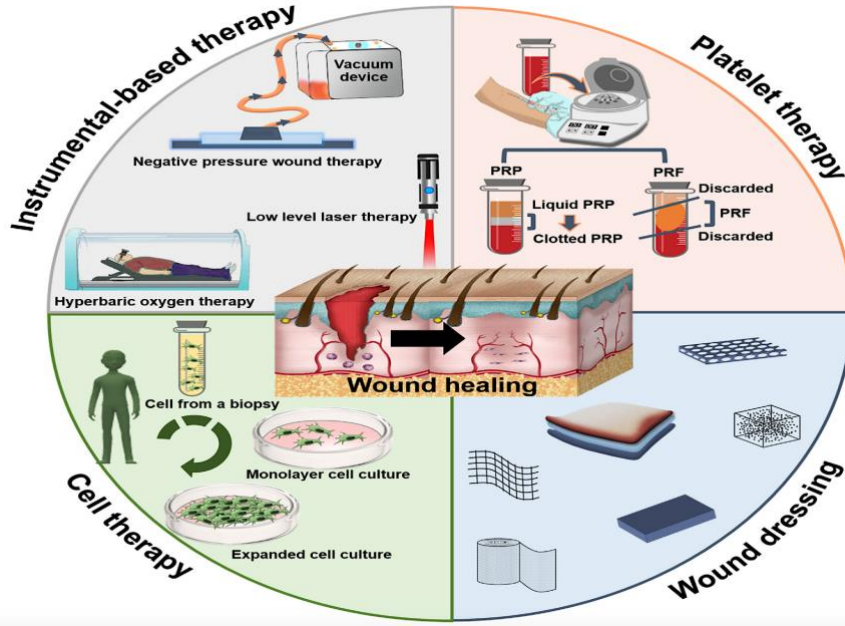
2.3.2 İyileşmeyi Etkileyen Sistemik Faktörler

Yara iyileşme süreci çok karmaşıktır ve birbirini etkileyen çok fazla faktör olduğu için sürecin içindeki lokal faktörlerin yanı sıra sistemik faktörlerde süreç içinde etkilidir. Yara iyileşme sürecini etkileyen sistemik faktörler aşağıda listelenmiştir [2].

- Yaş ve cinsiyet
- Hormonal etki
- Stres
- İskemi
- Hastalıklar: diyabet, keloidler, fibroz, kalıtsal iyileşme bozuklukları, sarılık, üremi
- Obezite
- İlaçlar: glukokortikoid steroidler, non-steroid anti-inflamatuvar ilaçlar, kemoterapi
- Alkolizm ve sigara
- Bağışıklık sistemi baskılanmış durumlar: kanser, radyasyon tedavisi, AIDS
- Beslenme durumu

2.4 Yara Yönetimi için Mevcut Yaklaşımlar

Farklı yara türleri vardır ve tedavi yaklaşımları hastaneye, klinisyene ve sağlık personeline göre farklılık göstermektedir. Çoğu yara tedavisi tipi yara örtü prensibine dayanmaktadır. Son zamanlarda modern yara örtüleri etkili bir yara iyileştirme süreci için tercih edilmektedir ve bu örtüler genellikle farklı özellikler sunacak şekilde yara tiplerine göre tasarlanmaktadır. Ayrıca mevcut ürünlerin heterojenliği, yüksek maliyeti ve standart protokollerin bulunmayışı gibi sorunlar nedeniyle klinik uygulamaları sınırlı olabilmektedir. Yaranın cinsine göre değişen yara tedavi uygulamalarında temelde enfeksiyon için örnek alınması, yara yatağının doku kalıntılarından temizlenmesi, transplantasyon, hücre tedavisi, yara örtüsü uygulamaları ve enstrümantal-temelli tedavi gibi çok çeşitli tedavi yöntemleri bulunmaktadır (Şekil 2.3). Bu da günümüzdeki yaranın tedavisi için kullanılan yöntemlerin hiçbirinin ideal ve %100 etkili olmadığını göstermektedir. Bu nedenle yaranın iyileştirmesi sürecinde etkili olabilecek ideale yakın tekniklerin geliştirilmesi gerekmektedir [48, 49].



Şekil 2.3 Yara iyileşmesinde kullanılan yöntemler [48].

2.4.1 Yara Örtüleri

Yara örtüleri, yara iyileşme sürecindeki diğer faktörlerle birlikte uygun şekilde uygulandıklarında iyileşmeyi destekler ve yaranın daha fazla zarar görmesini önleyen malzemelerdir. Yaranın tipine, derinliğine, konumuna ve boyutuna, akıntı miktarına, enfeksiyona ve yaraya tutunmasına göre bir örtü seçilir [50]. Yara örtüleri genel olarak üç kategoriye ayrılmaktadır; i) geleneksel yara örtüleri, ii) pasif yara örtüleri ve iii) modern yara örtüleridir. Geleneksel yara örtüleri (örn. pamuklu bandaj ve gazlı bez) yaranın içerdiği nemin büyük bir kısmını emer. Bu da yara yüzeyini yoğun bir şekilde kurumasına ve iyileşme hızının düşmesine ve sargının ayrılmasında ağrıya neden olmaktadır. Buna karşılık, yara iyileşme sürecinde optimum bir koşul sağlayabilen modern yara örtüleri arasında köpükler, filmler, hidrokolloidler ve hidrojeller bulunmaktadır. Bu yara örtüleri, daha yüksek dayanıklılıkları ve daha düşük maliyetleri nedeniyle kollajen veya sentetik malzemeler gibi yüksek oranda biyoyumlu ve biyolojik malzemelere dayanabilir [51-53]. İdeal bir örtüde olması gerek en elzem özellik; yara ara yüzünde nemli bir ortam sağlaması ve mikroorganizmalara karşı bir bariyer görevi görmesidir.

2.4.2 İdeal Yara Örtüsü Özellikleri

Yaraların iyileştirilmesinde kullanılan modern yara örtülerinin yapımında hem sentetik hem de doğal polimerler yaranın türüne bağlı olarak kullanılabilir.

Bu malzemelerin, biyolojik olarak uyumlu ve biyobozunur olmalıdırlar. Ayrıca yara örtüsü seçiminde uygun bir yara örtüsünün mekanik özellikleri de göz önünde bulundurulması gerekmektedir. Etkinliği yüksek yara örtüleri, yarayı nemli tutabilmeli, büyüme faktörlerinin çözünmesini sağlamalı, fibroblast gelişimini desteklemeli, eksudayı emip oksijen alışverişi yapabilmelidir [54]. Ayrıca ideal yara örtüsünün antibakteriyel aktivite özelliğine de sahip olması gerekir. Bunların yanı sıra ideal bir yara örtüsü elastik yapıda, gerilme-sertleştirme etkileri, direnç özelliği ve viskoelastisite özelliklerine göre seçilmelidirler. İdeal bir yara örtüsünün sahip olması gereken tüm özellikler şu şekilde özetlenebilmektedir [3, 55].

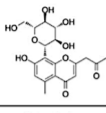
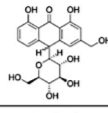
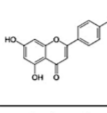
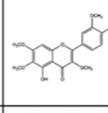
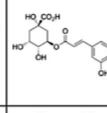
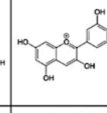
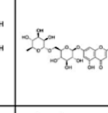
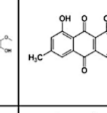
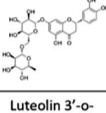
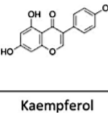
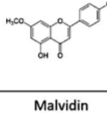
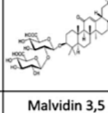
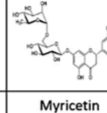
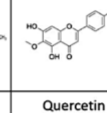
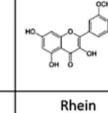
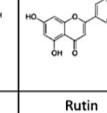
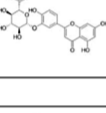
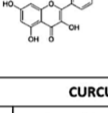
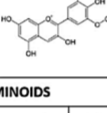
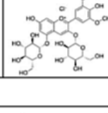
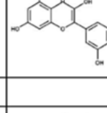
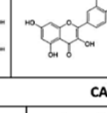
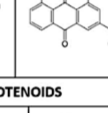
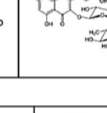
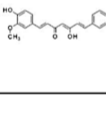
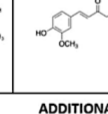
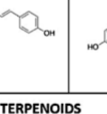
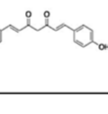
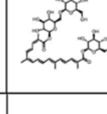
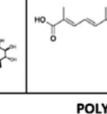
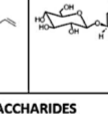
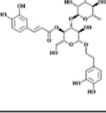
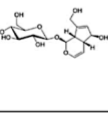
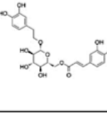
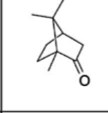
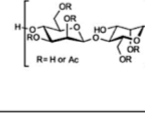
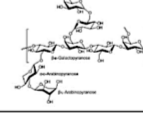
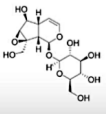
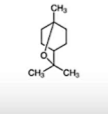
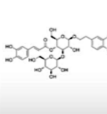
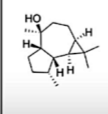
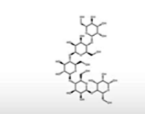
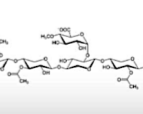
- Antibakteriyel/bakteriyel direnç özellikleri
- Kollajen sentezini ve yeniden epitelizasyonu hızlandırmalıdır.
- Hemostazın teşvik edilmesini sağlar.
- Ağrıyı giderici özelliğe sahip olması
- Yara yatağı pH'ının kontrolü
- Yeterli esnekliğe sahip mekanik koruma sağlaması
- Yara yüzeyine uygun tutunma ve aynı zamanda ikincil hasarı değiştirirken ve önlerken granülasyon dokusuna yapışma olmaması
- Yara nemini koruma özelliği (nemli bir ortam, hücrelerin ve enzimlerin aktivitesini artırır ve granüler dokunun çoğalmasını sağlar).
- Çok yüksek düzeyde eksuda emilimi (Dışarı sızmanın önlenmesi).
- Nekrotik doku ve fibrini engellemesi
- Su buharı ve gaz geçirgenliği
- Biyouyumlu ve biyobozunur malzemelerden oluşmaları.
- İyileşme sürecini ve granüler doku oluşumunu hızlandırması

2.5 Yara İyileşmesinde Doğal Ürünler ve Fitokimyasallar

Doğal olarak elde edilen ürünler yara iyileşmesinde uzun yıllardır kullanılmaktadır, ancak bu tedavilerin klinik alanda kullanılmalı başlangıç aşamasındadır. Bu ürünlerin çeşitli avantajları vardır. Bütün bitki ekstraktları veya doğal olarak oluşan maddeler; antioksidanlar, antimikrobiyaller, anti-inflamatuar maddelerdir. Bu fitokimyasallar yeniden epitelizasyon ve kollajen oluşumu destekleme gibi çok sayıda yardımcı kimyasal içerebilmektedir. Bu da bitkisel ekstraktların yara iyileşmesi için sinerjistik bir etkiye sahip olabilmesi anlamına gelmektedir. Doğal ürünlerin çoğu bazı sentetik moleküllere kıyasla güvenli kabul edilir ve geleneksel tedavilerden çok daha ucuz olabilir [56]. Bununla birlikte, bitki ve doğal olarak elde edilen maddeler, tahriş ve alerjik aşırı duyarlılık dahil olmak üzere yan etkilere sahip olabilir [57, 58].

Birçok bitki bazlı ekstraktlar veya izolatlar, genellikle tüm iyileşme sürecini iyileştirmek için birlikte çalışan çeşitli mekanizmalar yoluyla doku rejenerasyonunu desteklemektedir. Son yıllardaki çalışmalarda bitkilerin çoğunun etkinliği, etki mekanizmalarıyla birlikte iyi bir şekilde rapor edilmiştir. Bu nedenle, doğal ürünler ve bunların saf bileşikleri, aralarında yara iyileşmesinin de bulunduğu çeşitli hastalıkların tedavisi için gelişmekte olan alternatif tıbbi bileşikler kaynağıdır. Şekil 2.4'te gösterildiği gibi yara iyileşmesinde yaygın olarak kullanılan birçok bitki kaynaklı tıbbi ürün gösterilmektedir [59].

Farklı bitki kaynaklarından alkaloidler, saponinler, terpenler, uçucu yağlar, polisakkaritlerin ve polifenoller gibi doğal ürünlerin *in vitro* yara iyileştirme ve doku yenileme özellikleri açısından değerlendirilmiştir. Ancak bu etkiler, biyolojik sistemleri içeren birçok faktör nedeniyle *in vivo* değerlendirmeler sırasında değişebilir ve bunların araştırılması gerekmektedir [60]. Mekanistik olayların artan araştırmaları sayesinde, polifenolik bileşiklerin, inflamatuvar tepkileri kontrol ederek ve modüle ederek yara iyileşmesinde terapötik ajanlar olduğu doğrulanmıştır. Tıbbi bitkilerde bulunan triterpenoidler, zerdeçaldan elde edilen bir polifenol olan kurkumin vb. gibi birçok fitokimyasalın, fibroblast proliferasyonunu ve/veya kollajen üretimini teşvik ederek homeostaz, yeniden epitelizasyon ve rejenerasyonda anahtar faktörler olduğu bulunmuştur. Yara örtülerindeki karotenoidler, flavonoidler ve triterpenoidler oksidatif stresi inhibe eder ve antioksidan aktiviteyi desteklemektedir [61-63].

FLAVONOIDS							
Aloesin 	Aloin 	Apigenin 	Artemetin 	Chlorogenic Acid 	Delphinidin 	Diosmin 	Emodin 
Eriocitrin 	Genistein 	Genkwanin 	Glycyrrhizic acid 	Hesperidin 	Hispidulin 	Isorhamnetin 	Luteolin 
Luteolin 3'-o-glucuronide 	Kaempferol 	Malvidin 	Malvidin 3,5 diglucoside 	Myricetin 	Quercetin 	Rhein 	Rutin 
CURCUMINOIDS				CAROTENOIDS			
Curcumin 	Demethoxycurcumin 	Bisdemethoxycurcumin 	Crocin 	Crocetin 	Picrocrocin 	Safranal 	
ADDITIONAL TERPENOIDS				POLYSACCHARIDES			
Acteoside 	Aucubin 	Calceolarioside B 	Camphor 	Acemannan 		Arabinogalactan 	
Catalpol 	1,8-Cineole 	Plantamajoside 	Viridiflorol 	Glucomannan 		Xylan 	

Şekil 2.4 Yara iyileşmesinde kullanılan primer biyoaktif fitokimyasal yapılar [59].

2.6 Fitokimyasalların Yara İyileşmesindeki Mekanizmaları ve Potansiyel Sınırlamaları

Doğal ürünlerin yara iyileştirme tedavilerindeki potansiyelinde yer alan ana mekanizmaları; antioksidan, anti-inflamatuar ve antimikrobiyal aktivitelerdir. Hem *in vitro* hem de *in vivo* birçok çalışmada, bu özelliklerin ikiden fazlasına sahip doğal bileşikler içeren bitki ekstraktlarının sonuçlarının gösterilmesi, onları gelecekteki araştırmaların hedefi haline getirmektedir.

Yapılan çalışmalarda, doğal ürünlerin yara iyileştirme aktivitelerini sergilediği ancak etkili bir konsantrasyonlar konusunda fikir birliği bulamamıştır. Hem uçucu yağlar hem de polifenoller; kimyasal yapıları, biyoyararlanımları ve yara bölgesine verilmiş yolları ile ilgili olarak bu özelliklerle ilişkilendirilmiştir. Ayrıca bitkilerde sekonder metabolizma tarafından biyotik ve abiyotik streslere karşı korunmayı amaçlayan uçucu yağlar ve polifenoller gibi doğal ürünler üretilir [64, 65].

Dolayısıyla bu moleküllerin bitkilerdeki içeriği ve dağılımı birçok faktöre bağlı olarak değişebilmektedir. Sonuç olarak, bitkilerden elde edilen formülasyonlar, fitokimyasal içeriklerini değiştirebilir ve bu durumda biyoyararlanımlarını ve biyoaktivitelerini temelde etkileyecektir. Bu nedenle iki noktanın çalışılması gerekmektedir. Bunlar; i) her bitki türünde yara iyileştirme etkilerinden sorumlu ana bileşiklerin tanımlanmasını ve formülasyonların bu moleküller kullanılarak tasarlanmasını gerekmektedir ve (ii) bitki kullanımına ihtiyaç varsa bazı kontrollü ürünler, bitki türlerinin fitokimyasal içeriği üzerindeki biyotik ve abiyotik stresin etkisini en aza indirmek için geliştirilir [60].

Fitokimyasalların kullanımını sınırlayan büyük zorluklardan biri, küçük oranlarda bulundukları için düşük ekstraksiyon verimleridir, bu nedenle endüstriyel kullanımlarında seri olarak üretmek için yüksek hacim gereklidir. Araştırmacıların karşılaştığı büyük zorluklardan bir diğeri de suda çözünürlükleri çok düşük olduğu için, metabolitleri bitki dokularından çıkarmak işleminde ve süreçlerde lipofilik, hidrofilik veya orta polariteye sahip (aseton, diklorometan, etil asetat) çözücülerin kullanılmasının gereklidir. Fitokimyasalları çözmek için; heksan, metanol ve diklorometan gibi toksik çözücülerin kullanılması uygulamalarını sınırlamaktadır. Vakum destekli konsantrasyon veya liyofilizasyon ile uzaklaştırılırsalar bile bu çözücüler tahrişe ve sitotoksisiteye neden olurlar [66].

Flavonoidler ve terpenler gibi bu metabolitlerin bazıları ısıya dayanıklıdır. Üretim sürecinde bozunabilir veya biyotransformasyona uğrayarak istenmeyen bir etki gösterebilir veya hedeflerine ulaşamayabilir. Bu nedenle, bu metabolitler, kolay dahil edilmelerine ve stabilitelerine izin veren termal olmayan işlemler sırasında eklenmelidir. Aynı şekilde, ürünle etkileşime girmeyen inert yardımcı maddeler kullanılır; bileşiklerin son kullanıcıya ideal konsantrasyonda ulaşması için ambalajın UV ışığı, nem ve yabancı maddelerden korunması gerekir [67].

Bunlara ek olarak fitokimyasalların zayıf biyoyararlanımı, yüksek intrinsik aktiviteleri, zayıf emilimleri, hızlı metabolizmaları ve vücuttan hızlı eliminasyonları ve temizlenmeleri de onların kullanımı sınırlamaktadır [68]. Fitokimyasalların moleküler hedeflerinin ve mekanizmalarının başarılı bir şekilde aydınlatılması ve bu sorunları aşmak için; lipozomlar, miseller, nanopartiküller ve fosfolipid kompleksleri dahil olmak üzere çeşitli taşıyıcı sistemlerin geliştirilme

gerekir. Bu biyouyumlu taşıyıcı sistemleriyle kapsüllenenek verilmesi ile fitokimyasallar birçok alanda daha etkili bir şekilde kullanılabilir [69, 70].

2.7 *Calophyllum inophyllum* Linn. Ağacının Genel Bakışı ve Tıbbi Kullanımları

2.7.1 *Calophyllum inophyllum* Linn. Ağacı

Calophyllum inophyllum'un adı Yunanca güzel ve anlamlı Phullon yaprakları anlamına gelen Kallos kelimesinden alınmıştır. *Calophyllum inophyllum* Linn. ağacı özellikle Melanezya ve Polinezya'da Hint ve Pasifik Okyanuslarının kıyılarında yaygın olarak yetişmektedir [5]. *Calophyllum inophyllum* Linn. bir tür mangrov bitkisidir. *Calophyllum inophyllum* Linn., eliptik yapraklar, hoş kokulu beyaz çiçekler ve orta ila büyük yaprak dökmeyen bir ağaçtır [71] (Şekil 2.5). *C. inophyllum* çok yönlü bir bitkidir. Bu bitkinin yaprak, kök ve meyve gibi tüm kısımlarının insanlar için faydalı olduğuna dair çalışmalar bulunmaktadır. Ağacının, kabuğunun ve tohumunun faydası; sırasıyla bitki koruma, kereste ve kereste olmayan orman ürünleri ve bitkisel yağ kaynağıdır [72].



Şekil 2.5 *C. inophyllum* bitkisinin parçaları [72].

2.7.2 Tıbbi Kullanım Alanları

C. inophyllum bitkisinin çeşitli bitki bölümlerinden yapılan (tohum, yaprak vb. gibi) ekstraksiyon çalışmalarında tanımlanan bileşiklerin ksanton türevleri, kumarinler, flavonoidler, benzodipiranonlar, triterpenoidler ve steroidler dahil olmak üzere

oldukça çok çeşitli olduğu saptanmıştır. Bu da farmasötik alanında kullanmak için onları çok iyi bir aday yapmaktadır [72, 73].

Girardi ve ark., Marquesas bölgesinde yaptıkları bir araştırmada CIO'ya dayalı panitamanu adlı bir topikal ürünün; kaşıntı, cilt alerjisi, yanıklar ve hafif yaralar gibi cilt hastalıklarını tedavi etmek için kullanıldığını bildirmişlerdir [74]. Patil ve ark. yaptıkları bir çalışmada CIO'dan izole edilen bileşiklerin HIV-1'e karşı güçlü aktiviteye sahip olduğunu saptamışlardır [75]. Said ve ark. yaptıkları başka bir çalışmada, CIO'nun hem UV absorpsiyonu hem de antioksidan özellikler gösterdiğini tespit etmişlerdir [76]. Birlikte ele alındığında, bu yara iyileştirme ve antibiyotik özellikleri, CIO'yu hastaları tedavi etmek için alternatif bir terapötik strateji olarak değerli bir aday haline getirmektedir.

Farmasötiklerde olarak çalışmalarda aday olabileceği fonksiyonları aşağıda listelenmiştir.

- Antikanser
- anti-HIV
- antiviral
- antitümöral
- anti-inflamatuar
- antimikrobiyal
- antineoplastik
- antiplatelet
- antipsikotikler
- antioksidan
- anti-aging
- antisıtma
- antikoagülan
- analjezik

ajanlar gibi sağlığa faydaları rapor edilmiştir [72].

2.8 *Calophyllum inophyllum* Linn. ve Yara İyileşmesi için

Potansiyel Faydaları

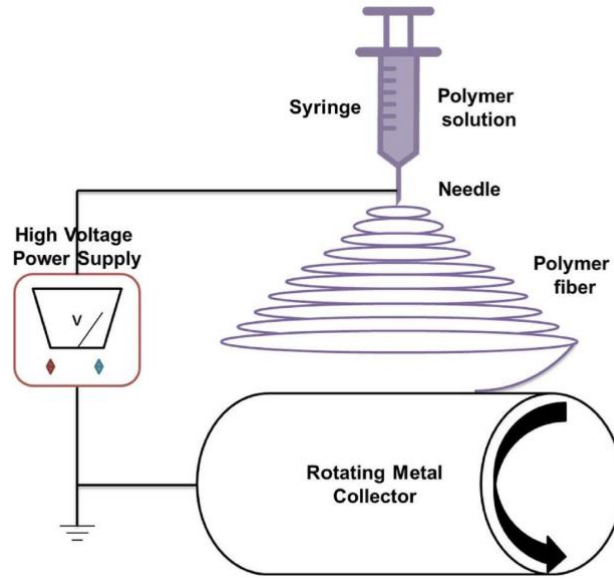
Calophyllum inophyllum'un tohumlarından elde edilen yağ; yanık, yara izi ve enfekte yaralardan dermatoz, ürtiker, akne, sedef, uçuk ve egzama gibi cilt hastalıklarına kadar çok çeşitli cilt yaralanmalarını tedavi etmek için geleneksel olarak topikal olarak kullanılmaktadır. *C. inophyllum*'dan izole edilen birçok bileşiğin anti-inflamatuar, anti-koagülan ve anti-mikrobiyal aktiviteleri olduğu

bildirilmiştir [77]. Örneğin; Nguyen ve ark. yaptıkları bir çalışmada *C. inophyllum*'dan izole edilen kalofiloliti fare modelinde yara iyileşmesi üzerine analiz etmişlerdir. Elde ettikleri sonuçlara göre anti-inflamatuar aktivite mekanizmaları yoluyla yara iyileşme sürecini hızlandırdıkları ve inflamatuvar sitokinlerin düzenlenmesinde rol oynadıkları tespit edilmiştir [6].

2.9 Yara Örtüsü Uygulamaları için Elektro-Eğirme Yöntemi

Elektro-eğirme tekniği yüksek elektrik potansiyelleri aracılığıyla sürekli ultra ince lifler üretmek için kullanılan bir tekniktir. Bir polimer lifi oluşturmak için bir şırınga ucundan ekstrüzyon üzerinde kuruyan, elektrik yüklü bir polimer çözeltisi jeli oluşturmak için yüksek voltaj gerektirmektedir. Elektro-eğirmenin ana bileşen unsurları; her ikisi de normalde topraklanmış olan yüksek voltajlı bir güç kaynağı, düze ile bir şırınga, bir şırınga pompası ve bir toplama plakası veya bir döner kolektördür. Düze, şırıngaya bağlı bir kılcal iğnedir ve şırınga pompası kullanılarak düze boyunca sabit bir oranda akıtılabilen polimer solüsyonu sağlamaktadır. Yüksek voltaj uygulandığında zaman elektrik yükü metalik iğne aracılığıyla polimer çözeltisi boyunca hareket ederken eğirme işlemi başlar. Bu durumda, düzenin uç kısmında asılı polimer çözelti damlası elektrostatik olarak yüklenir ve indüklenen yükler yüzey üzerinde eşit olarak dağılır. Bu, çözelti içinde bir kararsızlığa neden olur. Bu durumda polimer damlacığı üzerinde yüklerin indüklenmesine neden olmaktadır. Damlacığın yüzey gerilimi normalde dengede bir küre oluşturur, ancak toplayıcı yükleri çektiği için elektrik alan tarafından bozulur. Elektrik alanındaki tamamlayıcı bir artış, küresel damlacığın deforme olmasına ve Taylor konisi olarak bilinen konik bir şekil almasına neden olur. Elektrik alan, itici elektrik kuvvetinin yüzey gerilimi kuvvetini yendiği kritik bir değere ulaştığında, Taylor konisinin ucundan bir çözelti jeli fırlatılır. Sıvı jet şarj edilir ve yörüngesi elektrik alanı tarafından kontrol edilir. Çözeltiye uygulanan yüksek voltaj, çözelti boyunca yük dağılımına sahip bir omik akıma ve yüklerden etkilenmeyen tekdüze bir elektriksel iletkenliğe neden olmaktadır. Düze ucundan çözeltinin püskürtülmesinden sonra, omik akım ağırlıklı olarak konvektif bir akıma geçer. Yüklerin karşılıklı itilmesi, yüzey gerilimine karşı çıkan bir kuvvet üretir ve son olarak, polimer çözeltisi elektrik alan yönünde akar. Ultra ince lifler, optimize edilmiş bir mesafeye yerleştirilmiş metalik bir toplayıcı üzerinde toplanır ve yükler,

elektro-eğirme ucundan hedefe, lifin biriktirilmesi yoluyla taşınır [78-80] (Şekil 2.6).



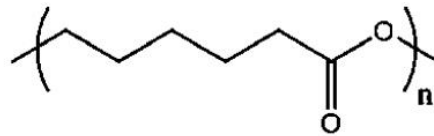
Şekil 2.6 Elektro-eğirme süreci [78].

Vücutta meydana gelen küçük ölçekli yaralar hızla iyileşirken; büyük ölçekli veya tam kat yaralar (yanıklar, diyabetle ilgili yaralar) onarılabılır hücrelerin göçüne, proliferasyonuna ve olgunlaşmasına yardımcı olmak için yapı iskeleleri ihtiyaç vardır. Yara iyileşmesinin yanı sıra, anti-inflamasyon, skar oluşumu ve cilt kanserine yol açan durumların zamanında çözülmesi gerekmektedir. Bu, yaraların daha hızlı iyileşmesi elektro-eğirme tekniği kullanılarak üretilen nanolifler tarafından kolaylaştırılmıştır [81, 82]. Yara örtü tasarımlarında elektro-eğirme tekniğinin kullanılması sentezlenen liflerin gözenekli yapıları, nakledilen hücrelerin barınması için ek yapısal alan sağlayabilmeleri, hücre göçünü ve çoğalmasını teşvik edebilir olması ve oksijen gibi gazların değişimini sağlayabilmeleri ve atık çıkışı artırabilir olmaları nedeniyle yara yönetiminde sıklıkla kullanılan bir tekniktir. Sepet örgüsü benzeri kollajen modellerini taklit eden tipik topografyasına sahip bu nanolifler, onarılabılır hücrelerin göçünü ve sızmasını hızlandırmak için üretilirler. En önemlisi bu liflerin oryantasyonu, yara iyileşme sürecini hızlandırmada önemli bir rol oynamaktadır. Nanolif yapı iskelelerinin küçük gözenek boyutu, iyileşme süreci boyunca dehidrasyonu ve yara enfeksiyonunu önleyebilirler. Ek olarak, elektro-eğrilmiş nanoliflerin ayarlanabilir mekanik özellikleri, doku mühendisliği greftleri ile ana doku arasındaki mekanik

polimerler, glisin ve aspartik asitte olduğu gibi, onları doku mühendisliği teknolojisi için güçlü bir aday yapan benzersiz bir protein düzenlemesine sahip olduklarından, hücrelere doğal bir yakınlık afinitesine sahiptirler. İpek fibroin, kollajen, elastin, kazein, selüloz asetat, jelatin, kitosan, kitin, fibrinojen, vs.'den oluşan doğal polimerler, elektro-eğirme çalışmalarında sıklıkla rapor edilmektedir. Doğal polimer bazlı doku yapı iskeleleri, klinik ortamlarda daha iyi işlev görür. Bununla birlikte; sentetik polimerler, dayanıklılık ve viskoelastisite gibi üstün mekanik özellikleri ve daha yüksek biyolojik bozunma oranları nedeniyle doğal polimerlerden daha avantajlıdır. Tıbbi uygulamalarda, polilaktid, poliglikolit ve poli(ϵ -kaprolakton) (PCL) gibi sentetik polimerler sıklıkla hidrofobik biyolojik olarak parçalanabilen polyesterler olarak elektro-eğirme tekniğinde lif yapımında kullanılmaktadır [87-89].

2.11.1 Yara Örtüsü Uygulamaları için Poli(ϵ -kaprolakton) Kullanmanın Avantajları ve Sınırlamaları

Poli(ϵ -kaprolakton) PCL, kristalleşme derecesine bağlı olarak -62 °C cam geçiş sıcaklığına ve 55-60 °C erime noktasına sahip alifatik lineer bir polyesterdir (Şekil 2.7). Biyobozunurluğu, biyoyumluluğu, bükülebilirliği, yüksek dayanıklılığı ve düşük maliyetli bir sentetik polimer olması nedeniyle genellikle nanolifleri üretmek için ana bileşen olarak kullanılmaktadır [90].



PCL
m.p. 55-60°C
T_g -62°C

Şekil 2.7 Poli(ϵ -kaprolakton)'nun yapısı [90].

PCL'nin uygulamada kullanımda bazı dezavantajı bulunmaktadır. Bunlar; zayıf ıslanabilirlik, hücreye bağlanma sorunu ve malzeme ile kontrolsüz biyolojik etkileşimler ile sonuçlanan hidrofobik doğasıdır. Orta derecede hidrofilikliğe sahip yüzeyler, zayıf hücre bağlantısına sahip hidrofobik veya çok hidrofilik yüzeylerin aksine, doğal yapılarını korurken yeterli miktarda proteini emebilir. Bu sorunu gidermek için yüzey modifikasyon teknikleri, mevcut yüzeyi değiştirerek veya farklı bir malzeme ile kaplayarak yüzeyin kimyasal ve/veya fiziksel özelliklerini değiştirebilir. Bunun yanı sıra, işlevsel grupların yokluğu nedeniyle, PCL genellikle diğer polimerik malzemelerle veya antibakteriyel maddeler gibi yara örtüsü gibi doğal malzemelerle birleştirilerek kullanılmaktadır [91, 92].

2.11.2 Poli(ϵ -kaprolakton) temelli Yara Örtüleri ve Özellikleri ile İlgili

Örnekler

PCL; bozunma üzerindeki çevresel etkiyi en aza indiren, yaygın olarak kullanılan biyouyumlu ve parçalanabilir bir polimerdir. PCL, bükülebilme özelliği ve mekanik dayanıklılığı nedeniyle yara örtüsünde uygulanan FDA onaylı bir malzemedir. PCL'in yara örtüsü olarak kullanımını ve özelliklerini araştıran birçok çalışma bulunmaktadır [93]. Chen ve ark. 3D özellikte PCL elektro-eğrilmiş nanolif tasarlamışlardır. Nanolifler üzerine yüklü kemik iliği kaynaklı mezenkimal kök hücreler; doku gelişimini, anjiyogenezi ve gelişmiş kollajen (Col1) birikimini sağladığı tespit edilmiştir. Ayrıca çalışmada; PCL-nanoliflerin doku oluşumuna katkıda bulunmak için M1 makrofajlarını ve pro-inflamatuar sitokinlerin oluşumunu engellediği, M2 makrofajlarını ise aktive ederek anti-inflamatuar sitokin üretimine yol açtığı gösterilmiştir. Bu zar iskele yapısı böylece bağışıklık sistemini destekler ve yara iyileşmesini kolaylaştırır [94]. He ve ark.'ları PCL ve Kitosan (CS)-aşılı polianilin (QCSP) polimer çözeltiden elektro-eğirme işlemi ile nanolifler üretmişlerdir. Bu nanoliflerin; antibakteriyel, anti-oksidan, gerilme yetkinliğini ve elektriksel aktiviteye sahip olduğunu rapor etmişlerdir. Fare derin yara modelindeki analizlerde nanolifin yara örtüsü olarak iyileşme sürecini önemli ölçüde hızlandırdığı bildirilmiştir [95]. Benzer başka bir çalışmada Ramalingam ve ark.'ları ikincil yanıkların tedavisi için çok işlevli bir yapı iskelesi olarak antibiyotik minosiklin ve bitkisel özler içeren bir koaksiyel elektro-eğrilmiş çekirdek-kılıf

nanolif membran hazırlamak için bir polimer taşıyıcı olarak PCL/jelatin kullanmışlardır. Çekirdek-kılıf yapısının, biyolojik olarak aktif bileşenlerin sürekli salınımını desteklediği ve güçlü antibakteriyel aktivite gösterdiği, cilt hücrelerinin çoğalmasını ve yayılmasını desteklediğini tespit etmişlerdir [96]. Tüm bu çalışmalar bize PCL'in yara örtüsü olarak kullanılmasının terapötik açıdan önemini göstermektedir.



3

MATERYAL VE YÖNTEM

3.1 Materyal

3.1.1 Çalışmada Kullanılan Cihazlar

Bu tez çalışmasında kullanılan tüm cihazlar **Tablo 3.1**'de modellerini içerecek şekilde listelenmiştir.

Tablo 3.1 Çalışmada kullanılan cihazlar

Cihazlar	Model/Marka
Inverted Mikroskop	Olympus CKX41
Elektrospining Cihazı	Electro
CO ₂ İnkübatör	Biosan ES20
Sonikatör	Bandelin Sonoplus
Liyolifilizatör	Biobase
Zeta Sizer	Malvern ZEN 3600 Nano ZS
FT-IR	Perkin Elmer Spectrum One
Otoklav	Hirayama
Isıticılı Çalkalamalı Su Banyosu	Witeg
Çalkalayıcı	Biosan Environmental Shaker ES20
Mini Santrifüj Cihazı	Hermle Z 206 A
Sıvı Azot Tankı	International Cryogenics, Inc. 20R
Biyogüvenlik Kabini	Hedlab XPROII
Elisa Reader	BioTek PowerWave XS2
Hassas Terazı	Shimadzu
UV-Vis Spektrofotometre	Shimadzu UV- 1800
pH metre	Hanna
Distile Su Cihazı	Sartorius Arium Pro
Santrifüj Cihazı	Beckman Coulter Allegra X-30 R
Ultrasonik Su Banyosu	Bandelin Sonorex
Manyetik Karıştırıcı	Variomag Mono
Vorteks	Velp Scientifica
Steril şırınga	Set Medikal

3.1.2 Çalışmada Kullanılan Saf Malzemeler

Bu tez çalışmasında kullanılan saf malzemeler **Tablo 3.2**'de gösterilmiştir.

Tablo 3.2 Çalışmada kullanılan saf malzemeler

Saf malzemeler	Marka
PCL	Sigma-Aldrich
Dichloromethane (DCM)	Merck
N,N dimethyl formamide (DMF)	Merck
<i>Calophyllum inophyllum</i> yağ	EuropeVital Herbal
Thiazonyl Blue Tetrazolium Bromide %98 (MTT)	Sigma Aldrich/M5655
IL-1 beta Human ELISA Kit for interleukin-1 β .	Thermo Fisher
Tripan Mavisi	Sigma Aldrich/T8154
Sodyum Klorür	Sigma Aldrich/13423
Disodyum Fosfat Dihidrat	Sigma Aldrich /04272
L-glutamin 200 mM	Gibco/1881732
Fetal Sığır Serum (FBS)	Gibco/08G5259K
Penisilin / Streptomisin	Sigma Aldrich/P4333
Trypsin-0.25% EDTA	Sigma Aldrich/T4049
DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium)	Thermo Scientific/11965084
RPMI-1640 medium	Sigma Aldrich/R8758
DMSO (Dimetilsülfoksit)	Sigma Aldrich/D2650
PBS	Gibco/10010023
Luria-Bertani (LB) Broth	Sigma Aldrich/L2897
K ₂ HPO ₄	Sigma Aldrich/P3786
NaH ₂ PO ₄	Sigma Aldrich/S0751
NaHCO ₃	Sigma Aldrich/S5761

3.1.3 Çalışmada Kullanılan Hücreler

Elektro-eğrilmiş lif matlarının hücreler üzerindeki etkileri incelemenin *in vitro* deneyler gerçekleştirilmiştir. Çalışmada yer alan hücrelerin listesi **Tablo 3.3**'de gösterilmiştir.

Tablo 3.3 Çalışmada kullanılan saf malzemeler

Çalışmada kullanılan hücreler	
NHDF (normal human dermal fibroblasts; normal insan deri fibroblast hücre hattı)	ATCC-PCS-201-012
<i>Escherichia coli</i>	ATCC-ATCC25922
<i>Staphylococcus aureus</i>	ATCC-ATCC25923
L929 (Fare fibroblast hücre hattı)	ATCC-CRL-6364
THP-1 (İnsan monosit hücre hattı)	ATCC -TIB-202

3.1.4 Çalışmada Kullanılan Solüsyon ve Tamponlar

3.1.4.1 PBS Hazırlama (pH=7.4)

0,01 mol/L'lik PBS hazırlamak için aşağıdaki oranlara göre NaCl, NaH₂PO₄ ve Na₂HPO₄.2H₂O hassas tartıda tartılıp bir cam şişeye konulmuştur. Şişeye 500 ml distile su eklenip manyetik karıştırıcıda homojen bir PBS çözeltileri edilinceye karıştırma işlemi uygulanmıştır. Ardından elde edilen tamponun pH değerini 7,4'e getirmek için HCl ve/veya NaOH eklenerek pH değeri ayarlanmıştır. Steril bir süreç isteyen işlemde kullanılacak olanlar otoklava konulup steril edilmişlerdir.

NaCl = 0,292 g

NaH₂PO₄ = 0,6 g

Na₂HPO₄.2H₂O = 0,889 g

3.1.4.2 DMEM Besiyeri Hazırlama

NHDF hücrelerin üreyebilmesi için gerekli büyüme faktörlerini içeren ortamı hazırlamak için; DMEM hazır besiyerine 100 µg/mL penisilin-streptomisin, %1 L-glutamin ve %10 FBS eklenmiştir. Hazırlanan besiyeri kullanılacağı zamana kadar +4°C'de muhafaza edilmiştir.

3.1.4.3 RPMI Besiyeri Hazırlama

THP-1 hücrelerin üreyebilmesi için gerekli ortamı hazırlamak için; RPMI hazır besiyerine 100 µg/mL penisilin-streptomisin, %1 L-glutamin ve %10 FBS eklenmiştir. Hazırlanan besiyeri kullanılacağı zamana kadar +4°C'de muhafaza edilmiştir.

3.1.4.4 Hücre Dondurma Solüsyonunun Hazırlanması

İnsan hücre hatlarının (NHDF ve THP-1) sonraki çalışmalar için canlılıklarının korunması için yapılmıştır. Dondurulması işlemine başlanmadan önce FBS: DMSO (9:1v/v) oranında dondurma solüsyonu hazırlanmıştır. Solüsyon dondurma işlemine kadar -20 °C’de saklanmıştır.

3.1.4.5 MTT Solüsyonunun Hazırlanması

Sitotoksite testlerinde kullanılacak MTT solüsyonu deney öncesinde 3 mg MTT ajanı hassas tartıda tartılmıştır. Ardından 5 ml PBS içerisinde çözündürülüp vortekslenmiştir. Ardından 0,22 µm’lik hücre kültür filtresinden geçirilmiştir. MTT’nin yapısı ışıktan etkilenebildiği için kullanıma kadar folya ile sarılıp karanlıkta +4°C sıcaklıkta muhafaza edilmiştir.

3.2 Yöntem

3.2.1 Elektro-eğirme Yöntemi ile Lif Matlarının Sentezi

PCL lif matlar için elektro-eğirme solüsyonu, PCL’nin (%10, w/v) DCM:DMF (80:20 (v/v)) içinde karıştırma koşulları altında çözülmesiyle hazırlanmıştır. *Calophyllum inophyllum* yağ yüklü PCL çözeltileri, hazırlanan polimer çözeltilisine farklı konsantrasyonlarda (%2.5, %5 ve %7.5 (v/v)) CIO ilave edilerek hazırlanmıştır. Daha sonra elde edilen solüsyon oda sıcaklığında 1 saat tamamen eriyene kadar kuvvetlice karıştırılmıştır. Elektro-eğirme işlemi, 24 °C sıcaklık ve %25 bağıl nem sabit koşulları altında gerçekleştirilmiştir. Öncelikle PCL solüsyonu içeren 20 G iğneli plastik bir şırınga sentez için şırınga pompasına yerleştirilmiştir. Şırınga pompasını 0.5 ml/saat hızına ve iğne ucu ile dönen kolektör arasındaki mesafe 13 cm olarak ayarlanmıştır. Elektro-eğirme işlemi şırınga ucuna +14 kV voltaj uygulanarak başlatılmıştır ve iki saat sonunda akım uygulaması sonlandırılmıştır. Elektro-eğrilmiş lifler, kayan bir tablaya yapıştırılmış bir 80 mm çaplı ve 800 ± 50 rpm hızında dönen silindir bir kolektörde toplanmıştır. Bu merdane, 0.05 mm kalınlığında alüminyum folyoya sarılarak, lif biriktirme için bir alt-tabaka sağlamıştır. Üretilen membranlar kullanılıncaya kadar +4 °C’de karanlıkta saklandı. Ardından fizikokimyasal karakterizasyonu analiz edilmiştir.

3.2.2 Elektro-eğrilmiş lif matların karakterizasyonu

3.2.2.1 Yüzey Morfolojisi

Elektro-eğrilmiş lif matların sentezi gerçekleştikten sonra yüzey morfolojisi analiz etmek için taramalı elektron mikroskobu (SEM) kullanılmıştır. Sentezde üretilen farklı konsantrasyonlarda *Calophyllum inophyllum* yağı (CIO) içeren PCL/CIO, PCL/CIO-2.5, PCL/CIO-5, ve PCL/CIO-7.5 lif matları iletkenlik için altınla kaplanarak SEM analizine hazır hale getirilmiştir. Yüklü veya yüklü olmayan PCL lif matların ortalama lif çapları SEM görüntülerinden elde edilen doğrudan ölçümlerle ImageJ yazılımı kullanılarak belirlenmiştir. Ortalama lif çapı ve lif dağılımı, her numunenin mikrograflarından rastgele 30 farklı nokta seçilip ölçülerek hesaplanmıştır.

3.2.2.2 Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FT-IR) Analizi

PCL, CIO ve CIO yüklü PCL lif matlarının kimyasal bileşimini belirlemek için Fourier dönüşümü kızılötesi (FT-IR) spektrofotometresi, Perkin Elmer Spectrum One cihazı kullanılarak tespit edilmiştir. Ölçümler absorpsiyon modunda 4000–500 cm^{-1} dalga boyu aralığında ve 4 cm^{-1} çözünürlükte üç bağımsız tekrarla alınmıştır.

3.2.2.3 Su Temas Açısı Ölçüm Analiz

Üretilen lif matların ıslanabilirliği otomatik bir temas açısı ölçer kullanılarak belirlenmiştir. Kısaca, fiber matlar bir cam slayt üzerine yerleştirilmiştir ve numunelerin yüzeyine 5 μl deiyonize su damlatılmıştır. Ortalama su temas açısı değerini elde etmek için her bir numune aynı matın farklı konumlarında üç kez test edilmiştir.

3.2.3 Elektro-eğrilmiş Lif Matların Şişme Ölçümü

Yara sıvısını simüle etmek için bir Psödo Ekstra Hücresel Sıvı (Pseudo Extra Cellular Fluid; PECE) solüsyonu hazırlanmıştır. Sodyum klorür (NaCl), potasyum klorür (KCl), sodyum bikarbonat (NaHCO_3) ve dipotasyum fosfat (K_2HPO_4) distile suda çözülmüştür ve çözeltinin pH:8'ayarılanmıştır. Membranlar 1 x 1.5 cm^2 boyutunda kesilmiştir ve tartılmıştır. Bu membranlar daha sonra PECE içeren petri kaplarına yerleştirilmiştir ve 24 saat 37°C'de inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra, fazla PECE solüsyonu petri kabından çıkarılmıştır. Ardından membranlar tekrardan tartılmıştır. Absorpsiyon yüzdesi aşağıdaki (3.1)'deki denklem kullanılarak hesaplanmıştır.

$$W_c(\%) = \frac{W - W_0}{W} \times 100 \quad (3.1)$$

W_0 : membranların ilk kuru ağırlığıdır.

W_c : membranların ıslakken olduğu andaki ağırlığıdır.

3.2.4 *In vitro* İlaç Salınım Deneyi

CIO'nun PCL lif matlarından *in vitro* salım kinetikleri, UV-Vis spektrofotometri ile belirlenmiştir. İlk olarak, CIO'nun konsantrasyon hesaplamasında bir referans değeri olarak kullanmak için bir kalibrasyon eğrisi oluşturulmuştur. Bunun için 0-10 µL/mL arasında değişen CIO konsantrasyonları seri dilüsyon prensibi ile hazırlanmıştır ve CIO'nun maksimum absorpsiyonu dalga boyu olan 278 nm'deki değerlerin ölçümü alınarak bir kalibrasyon eğrisi çizilmiştir. Ölçüm farklı CIO konsantrasyonlarıyla yüklü PCL/CIO lif matları 5 x 5 cm² boyutlarında parçalara ayrılarak kesilmiştir. 5 x 5 cm² boyutundaki lif matları ultra saf-H₂O içerisine konulup ultrasonik bir su banyosunda 15 dak. X 3 kez olmaz üzere beklenilmiştir. Bu işlemde lif matlarının zarar görmesini engellemek için su banyosundaki su her bir aşamada değiştirilmiştir. Ardından buradan elde edilen süspansiyon diyaliz kapsülüne konulmuştur. Diyaliz kapsülü 10.000 MW diyaliz membranı ile kaplanarak PBS (pH=7.4) olan beherlere konulmuştur. Ardından örnekler çalkalayıcı özelliği olan bir inkübatöre 37 °C'de 100 rpm hız ayarında karıştırma koşulları altında yerleştirilmiştir. Daha sonra, salınan CIO miktarını belirlemek için belirli zaman aralıklarında 0-120 saat 2 ml salma ortamı toplanarak spektrofotometrede ölçülmüştür. Aynı zamanda, batma koşulunu korumak için ortama eşit hacimde taze PBS (pH = 7.4) ilave edilmiştir. Salınan CIO'nun konsantrasyonu, 278 nm'de bir UV-Vis spektrofotometre ile absorbans ölçülerek ve oluşturulmuş standart kalibrasyon eğrisi ile karşılaştırılmasıyla belirlenmiştir. Her ölçüm üç tekrarlı olacak şekilde gerçekleştirilmiştir.

3.2.5 Antibakteriyel Aktivite Deneyi

CIO yüklü lif matların antibakteriyel etkinliği, sıvı seyreltme yöntemi kullanılarak *S. aureus* (Gram-pozitif) ve *E. coli* (Gram-negatif) bakterileri üzerinde test edilerek değerlendirilmiştir. Her bakteri suşu, 24 saat boyunca 37 °C'de Luria-Bertani (LB) broth ortamında büyütülmüştür. Daha sonra bakteri süspansiyonlarının optik

yoğunluğu (OD) 600 nm’de ölçülmüştür ve 0.01’e göre ayarlanmıştır. CIO yüklü lif matla 1 x 1 cm² boyutlarında kesilerek ayarlanmıştır. Ardından deney için steril ortamı sağlamak için UV ışınması altında 20 dakika sterilizasyon yapılmıştır. Sterilize edilen örnekler 30 µL bakteri süspansiyonu içeren LB broth ortamına yerleştirilip ve 37 °C’de 3, 6, 12 ve 24 saat boyunca inkübasyona bırakılmıştır. Numunelerin optik yoğunluğu 3, 6, 12 ve 24 saat zaman noktasında 600 nm’de ölçülmüştür. Bağlı bakteri canlılıkları aşağıdaki (3.2) numaralı formüle göre hesaplanmıştır. Tüm deneyler üç tekrarlı olarak gerçekleştirilmiştir.

$$\text{Bağıl bakteriyal canlılık (\%)} = \frac{\text{Örnek OD}_{600}}{\text{Kontrol OD}_{600}} \times 100 \quad (3.2)$$

3.2.6 Hücre Kültürü

Tüm hücre kültürü deneylerinden önce, önceden kesilmiş 1 x 1 cm² boyutundaki CIO yüklü lif matlar, 20 dakika boyunca UV ışınlanması ile sterilize edilmişlerdir ve membranlar 24 kuyucuklu hücre kültürü plakalarına yerleştirilmiştir. Normal insan dermal fibroblast (NHDF) hücreleri, %10 fetal sığır serumu (FBS) ve %1 penisilin/streptomisin içeren 10 ml Dulbecco'nun modifiye Eagle ortamı (DMEM) içeren 75 cm²’lik hücre kültürü flasklarında 37°C’de, %5 CO₂ içeren inkübatör koşullarında kültüre edilmişlerdir. Flasktaki NHDF hücrelerinin doluluk oranı %70-%80 gibi yüzdeye ulaştığında hücreler tripsinasyon işlemi ile flask yüzeyinden ayrılması sağlanır. Ardından hücreler 1000 rpm’de 5 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj işleminin ardından hücrelerinin sayısını belirlemek için hemasitometre lamında sayım işlemi gerçekleştirilmiştir. Daha sonra hücreler, 24 kuyucuklu plakalarda 10.000 hücre/kuyu yoğunlukta olacak şekilde membranlara ekilmişlerdir ve %5 CO₂ içeren nemlendirilmiş inkübatörde 37 °C’de 24 saat inkübe edilmişlerdir.

3.2.7 *In vitro* Sitotoksikite Analizi

Dimetiltiazoldifeniltetrazolyum Bromür (MTT) analizi üretilen elektro-eğrilmiş lif matların NHDF hücreleri üzerinde sitotoksik bir etkisinin olup olmadığı

değerlendirmek için gerçekleştirilmiştir. NHDF hücreleri, 5000 hücre/kuyu olacak şekilde 24 kuyucuklu hücre kültürü plakalarına ekilmişlerdir. Hücrelerin tutunup morfolojilerini almaları ve proliferasyonu olmaları için 24 saat inkübe edilmişlerdir. Deneyden önce, üretilen lif matlar UV ışınlaması ile sterilize edilmişlerdir. Sterilizasyonlarının ardından 24 kuyucuklu bir plakadaki CellCrown eklerine yerleştirilmiştir. Hücrelerin 48 saat inkübasyonunu takiben inkübasyon ortamı çıkarılmıştır ve her kuyucuğa 50 µg/ml MTT solüsyonu eklenmiştir. MTT solüsyonun inkübasyonu için 37°C’de, %5 CO₂ içeren inkübatörde 3 saat beklenmiştir. Ardından MTT solüsyonu her bir kuyucuktan çekilip formazan kristallerinin çözünmesi için 100 µl DMSO ilave edilmiştir. Hücre canlılığı, bir spektrofotometrik mikroparka okuyucuda 570 nm’de absorbans kaydedilerek ölçülmüştür. Herhangi bir lif matı ile muamele edilmemiş hücreler kontrol olarak kullanılmıştır ve hücre canlılığı (%) (3.3)’deki denkleme göre belirlenmiştir. Analiz bağımsız üç tekrarlı deney sonucuna göre yapılmıştır.

$$\text{Hücre canlılığı (\%)} = \frac{\text{Örnek OD}_{570}}{\text{Kontrol OD}_{570}} \times 100 \quad (3.3)$$

Örnek OD₅₇₀: PCL/CIO lif matlarıyla muamele edilmiş grupların 570 nm’deki absorbans değeri

Kontrol OD₅₇₀: PCL/CIO lif matları ile muamele edilmemiş grubunun 570 nm’deki absorbans değeri

3.2.8 *In vitro* Scratch Testi (Yara İyileştirme Deneyi)

PCL/CIO lif matlarının *in vitro* yara iyileştirme aktivitesini değerlendirmek için çizik analizi (Scratch Testi) yapılmıştır. Başlangıçta NHDF hücreleri, 24 kuyucuklu bir hücre kültürü plakasına kuyucuk başına 50.000 hücre yoğunluğunda olacak şekilde ekilmiştir. Hücreler 24 saat boyunca %5 CO₂ atmosferinde 37°C’de inkübatörde inkübe edilmiştir. İnkübasyonun ardından, steril bir 200 µL’lik bir pipet ucu kullanılarak NHDF hücrelerinin olduğu plaka tabakasının merkezinde doğrusal bir çizik oluşturulmuştur. Ardından PBS ile çizik sonrasında plaka yüzeyinden kalkan hücreleri uzaklaştırmak için 2 kez PBS ile yıkama yapılmıştır. Daha sonra, sentezlenen PCL/CIO lif matları CellCrown 24 eklerine öncesinde UV ile steril edilip konulmuştur. Bu esnada yüzeye temas etmeyecek şekilde 24 kuyucuklu plakaya yerleştirilmeye dikkat edilmiştir. Yara kapanma ilerlemesi,

çeşitli zaman noktalarında (0 saat, 4 saat, 6 saat ve 24 saat) inverted mikroskop kullanılarak görüntüleri kaydedilmiştir. Görüntü analizi için ImageJ yazılımı kullanılmıştır. Bir lif mat uygulaması yapılmamış hücreler kontrol grubunu oluşturmaktadır. Oluşturulan yaraların yara kapanma oranları aşağıdaki (3.4)'deki denklem kullanılarak belirlenmiştir.

$$\text{Yara kapanma (\%)} = \frac{A_0 - A_t}{A_0} \quad (3.4)$$

A_0 = İlk yara alanıdır.

A_t = Belirlenen zaman aralığındaki yara alanıdır.

3.2.9 Antioksidan Kapasite Analizi

PCL/CIO lif matlarını antioksidan kapasitesinin değerlendirilmesi, bir oksidatif stres modeli kullanılarak gerçekleştirilmiştir. L929 fibroblast hücreleri 37°C ve %5 CO₂ koşulları altında %10 FBS, %1 L-glutamin ve %1 streptomisin içeren DMEM ortamında büyütülmüşlerdir. Deney için uygun hücre yoğunluğuna ulaştıklarında tripsinizasyonla flask yüzeyinde ayırma işlemi uygulanır. Ardından Tripan mavisi ile hücreler sayılıp hesaplanmıştır. Hücreler, kuyucuk başına 10.000 hücre olacak şekilde 24 kuyucuklu plakalara ekilmişlerdir. İnkübasyonun ardından PCL/CIO matları kuyucuklara konulup 48 saat inkübasyona bırakılmışlardır. Ardından PCL/CIO lif matların Toplam Oksidan Durumu (Total Oxidant Status; TOS) ve Toplam Antioksidan Durumu (Total Antioxidant Status; TAS), oksidatif stresle indüklenen L929 hücreleri kullanılarak ve Rel Assay kiti kullanılarak analiz edilmiştir. Tüm analizler üç kopya olacak şekilde gerçekleştirilmiştir.

3.2.10 İmmünotoksisite Analizi

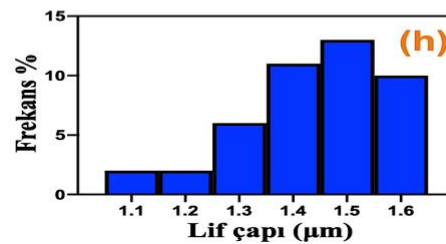
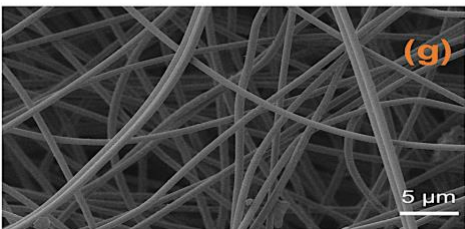
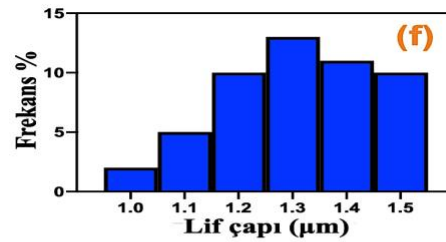
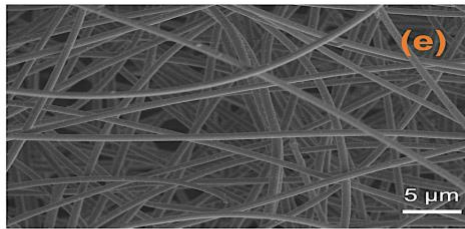
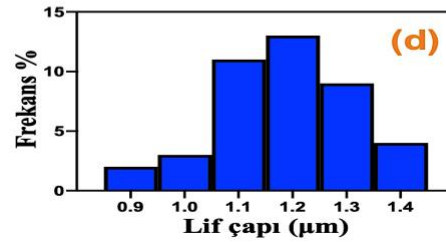
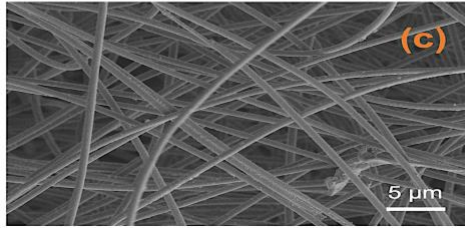
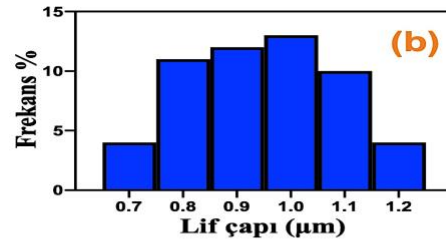
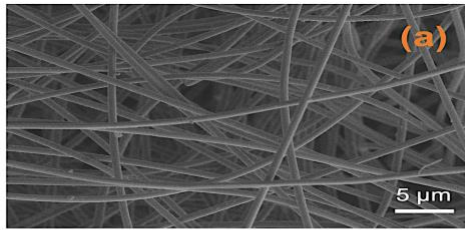
THP-1 hücreleri, kuyucuk başına 10.000 hücre yoğunluğunda 24 kuyucuklu plakalara ekilmiştir. Daha sonra hücreler, %10 FBS ve %1 L-glutamin içeren RPMI hücre kültürü ortamında 20 mM PMA (phorbol myristate acetate) kullanılarak farklılaşma için uyarılmıştır. Makrofaj hücrelerine üç günlük monosit farklılaşma süreci, inverted bir mikroskopla izlenmiştir. PMA stimülasyonunun üçüncü gününde, PCL/CIO lif matları kültür plakalarına yerleştirilmiştir ve hücreler 37°C'de, %5 CO₂ atmosferinde 48 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyonun ardından besiyeri ortamı toplanmıştır. 5000 rpm'de 15 dakika santrifüj işlemi uygulanmıştır.

ve sitokin seviyeleri açısından analiz edilmiştir. Üç tekrarlı olarak gerçekleştirilen analizler, interlökin-1 β için Thermo Fisher IL-1 beta İnsan ELISA Kiti kullanılarak analiz edilmiştir.



4.1 Elektro-eğrilmiş Lif Matların Yüzey Morfolojisi

Elektro-eğrilmiş PCL ve PCL/CIO lif matların yüzey morfolojisi ve boyut dağılımı, SEM ile analiz edilerek belirlenmiştir. Şekil 4.1’de gösterildiği gibi, matların elektro-eğirme işleminde %10 w/v PCL’nin kullanılması ile düzenli bir yapıda lif üretimi gerçekleştirilmiştir. SEM analiz sonuçları, tüm lif matların üniform, homojen dağılmış düz lifler olarak üretildiğini göstermektedir (Şekil 4.1a, 4.1c, 4.1e ve 4.1g). Bunun yanı sıra artan CIO konsantrasyonları, liflerin morfolojisinde önemli bir değişime neden olmamıştır ve tüm PCL/CIO matların üretiminde tekdüze, boncuksuz lif yapısı korunmuştur.



Şekil 4.1 Elektro-eğrilmiş PCL ve artan CIO konsantrasyonlarına bağlı olarak PCL/CIO lif matların yüzey morfolojisi ve boyut dağılım grafikleri (a, b) PCL (Poli(ϵ -kaprolakton), (c, d) PCL/*Calophyllum inophyllum* yağı (CIO)-2.5, (e, f) PCL/CIO-5 ve (g, h) PCL/CIO-7.5.

Sentezlenen PCL, PCL/CIO-2.5, PCL/CIO-5 ve PCL/CIO-7.5 ortalama lif ϕ dağılımları sırasıyla Şekil 4.1b, 4.1d, 4.1f ve 4.1h’de gösterilmiştir. Bu matların ortalama lif ϕ ları ise Tablo 4.1’de ayrıntılı olarak gösterildiği gibi PCL için $0.9 \pm 0.3 \mu\text{m}$, PCL/CIO-2.5 için $1.2 \pm 0.2 \mu\text{m}$, PCL/CIO-5 grubu için $1.3 \pm 0.2 \mu\text{m}$ ve PCL/CIO-7.5 için ortalama $1.5 \pm 0.1 \mu\text{m}$ olarak belirlenmiştir. Elektro-eğirme işlemi sırasında polimer çözeltisine artan konsantrasyonlarda CIO ilavesinin lif ϕ ında hafif bir artışa neden olduğu tespit edilmiştir.

Tablo 4.1 Elektro-eğirme lif matların örnek adları, ortalama lif ϕ ları (μm) ve temas açısı değerleri

Lif matı ID	Ortalama lif ϕ ı	Temas açısı ($^{\circ}$)
PCL/CIO	$0.9 \pm 0.3 \mu\text{m}$	55 ± 7
PCL/CIO-2.5	$1.2 \pm 0.2 \mu\text{m}$	35 ± 4
PCL/CIO-5	$1.3 \pm 0.2 \mu\text{m}$	32 ± 5
PCL/CIO-7.5	$1.5 \pm 0.1 \mu\text{m}$	30 ± 5

Son zamanlarda bitkilerin farklı kısımlarından elde edilen esansiyel yağlar, terapötik faydaları olması nedeniyle araştırmacılar tarafından büyük ilgi görmektedir. Biyomedikal uygulamalarda, çok çeşitli esansiyel yağlar elektro-eğirme tekniğiyle özellikle yara örtüsü üretmek için kullanılmaktadır [97]. Yara iyileşmesindeki geniş biyolojik fonksiyonel aktivitesine rağmen bugüne kadar literatürde *Calophyllum inophyllum* (CIO) elektroeğrilmiş PCL lif yara örtülerinin sentezi hakkında herhangi bir çalışma rapor edilmemiştir. Bu tez çalışması, yara iyileştirme uygulamalarında kullanılabilmesi için CIO ile birleştirilmiş PCL elektroeğrilmiş lif matlarının üretimini gerçekleştiren ve karakterize eden ilk çalışmadır.

Lif matların üretiminde elektro-eğirme tekniği kullanılırken sentez sırasındaki akış hızı, çözelti viskozitesi ve polimer çözeltisindeki polimer konsantrasyonu gibi birçok parametre sürece etki ederek lifin morfolojisi ve lifin çapında farklılıklara neden olabilmektedir [98]. Li ve ark. yaptıkları bir çalışmada açık gözenekli bir topografya ile bir polimer yüzeyinin geliştirilmesinin lif birikimini önemli ölçüde artırdığını göstermişlerdir [9]. Pürüzsüz, homojen ve boncuksuz lifler üretmek için nem ve sıcaklığın yanı sıra bu parametrelerin de dikkate alınması gerekir [99]. Bunun yanı sıra uçucu yağların polimer çözeltisine farklı konsantrasyonlarda eklenmesi de çözelti viskozitesini etkileyebilir ve ortaya çıkan lif çapı ve morfolojisinde değişikliğe neden olabilir [100, 101]. Bu tez çalışmasındaki sonuçlarımız; CIO'nun PCL'ye dahil edilmesinin lif morfolojisini değiştirmedığını göstermektedir. Bunun yanı sıra, polimer çözeltisine CIO yağının eklenmesi, yağsız PCL liflerine kıyasla lif çapını biraz arttırmıştır. Polimer çözeltisine artan CIO konsantrasyonları eklendikten sonra PCL/CIO lif matlarının lif çapındaki hafif artışı, çözelti viskozitesindeki artış nedeniyle olmuş olabilir. Nanolif yara örtüleri üretmek amacıyla gerçekleştirilmiş benzer bir çalışmada; PCL-Jelatin'e yonca esansiyel yağının eklenmesinin, lif çapı oluşumunun artmasına neden olduğu bildirilmiştir [102]. Başka bir çalışmada ise araştırmacılar benzer şekilde; balık yağının kapsüllenmesinin PVA nanoliflerin ortalama lif çapını arttırdığını rapor etmişlerdir [103]. Elektro-eğirme işleminde lif çapını etkileyebilecek bir başka faktör de çözeltinin elektriksel iletkenliğidir [104]. Üretilen matlardaki büyük lif çapları, elektrik kuvvetleri tarafından jetin uzamasını etkileyen çözeltinin düşük elektrik iletkenliğinin bir sonucu olabilir [102, 105]. Polimer çözeltisine CIO yağının eklenmesi, çözeltinin elektrik iletkenliğini azaltabilir ve PCL/CIO lif matlarının lif çapında bir artışa neden olabilir. CIO, bir baz polimer PCL ile karşılaştırıldığında farklı fizikokimyasal özelliklere sahip doğal bir bileşiktir. CIO, PCL çözeltisine dahil edildiğinde viskozite ve yüzey gerilimi gibi çözelti özelliklerini değiştirmiş olabilir. Çözelti özelliklerindeki bu değişiklikler, elektro-eğirme işlemi sırasında püskürtme davranışını etkileyebilir. Ayrıca; CIO, PCL çözeltisi içindeki zincir dolanma sürecini ve polimer-çözücü etkileşimlerini etkilemiş olabilir. CIO moleküllerinin varlığı, polimer zincir dolanmasını bozabilir ve PCL zincirleri arasındaki moleküller arası kuvvetleri zayıflatır, bu durumda elektro-eğirme süreci sırasında polimer zincir uzamasının azalmasına ve lif çapında bir artışa yol açar. Bunlara ek olarak; CIO, çözelti içindeki yük dağılımını

potansiyel olarak değiştirmek gibi dolaylı olarak çözelti iletkenliğini etkilemiş olabilir. Yük dağılımındaki bu değişiklik, elektro-eğirme sürecinde polimer jetinin gerilmesini ve uzamasını yöneten elektrostatik kuvvetleri etkileyebilir. Sonuç olarak; yük dağılımındaki değişiklikler lif çapını etkileyebilir [106].

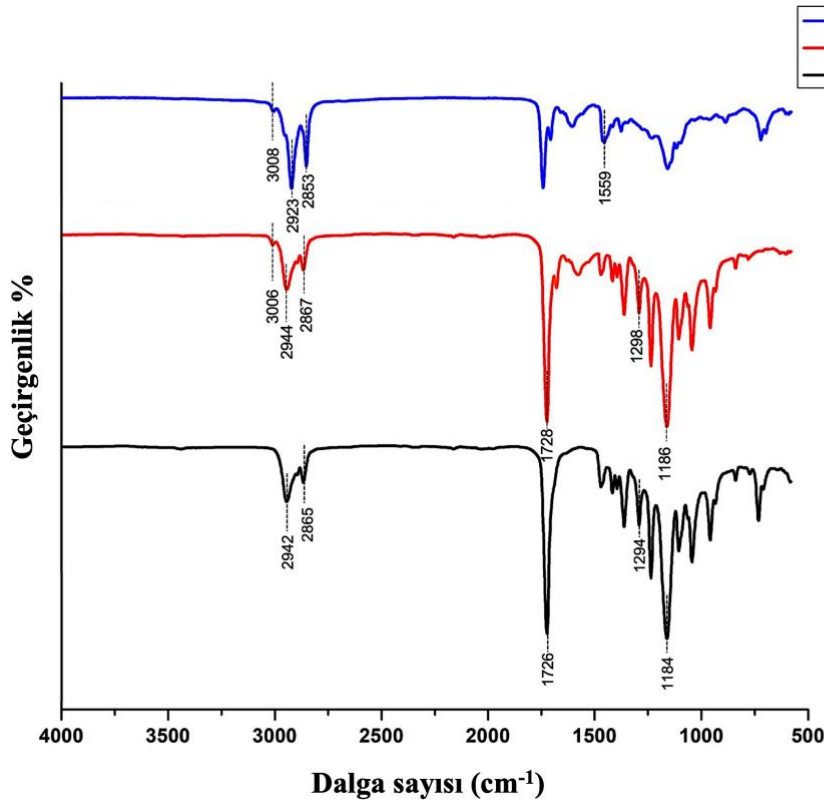
Bu tez çalışmasındaki verilerimize göre, elektro-eğirme işlemine CIO eklenmesinden sonra gözlenen artan lif çapının; çözelti özelliklerindeki değişikliklere, polimer zincir dolanma sürecinin bozulmasına ve yük dağılımındaki potansiyel değişikliklere bağlı olabileceği düşünölmektedir. Bununla birlikte, ilgili spesifik mekanizmaları tam olarak aydınlatmak ve elektrik iletkenliğinin lif çapı üzerindeki etkisini ölçmek için daha fazla araştırma gereklidir.

4.2 Elektro-eğrilmiş Lif Matların Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FT-IR) Analizi.

Şekil 4.2’de gösterildiği gibi saf PCL, CIO ve elektro-eğrilmiş PCL/CIO-7.5 lif matın FT-IR spektrumları, Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (FT-IR) ile belirlenmiştir. PCL spektrumu, CH₂ gruplarının asimetric ve simetric titreşimlerine karşılık gelen 2942 ve 2865 cm⁻¹’de karakteristik pik noktalarını sergilemiştir. 1726 cm⁻¹’deki pik, C=O gruplarının gerilmesini göstermektedir. Ek olarak, 1294 cm⁻¹ ve 1184 cm⁻¹’deki pikler sırasıyla C–O–C gruplarının asimetric ve simetric gerilmesine bağlanmıştır. Ayrıca FT-IR analiz grafiğindeki 1243 cm⁻¹’deki karakteristik pik noktası CH₃ titreşimlerini ifade etmektedir ve 1045 cm⁻¹’deki pikler C–O gerilmesi ve C–H bükölmesini göstermektedir [107]. CIO’nun FT-IR spektrumunda, C=O gruplarının gerilmesine karşılık gelen 1559 cm⁻¹ ve 1742 cm⁻¹’de iki ana pik tespit edilmiştir. Bunlara ek olarak; 2923 cm⁻¹ ve 2853 cm⁻¹’deki bantlar, CIO’daki N-H gerilmesine bağlanmıştır [108]. PCL/CIO-7.5’in FT-IR spektrumu, CIO’daki C=O gruplarının 1541 cm⁻¹, 1559 cm⁻¹ ve 1742 cm⁻¹’de gerilmesiyle ilgili bantlar tespit edilmiştir. FT-IR analiz sonuçları bize deneyde kullanılan *Calophyllum inophyllum* esansiyel yağının PCL liflerine başarıyla dahil edildiğini doğrulamaktadır.

FT-IR analiz sonuçları, elektro-eğrilmiş lif matlarda bulunan kimyasal bileşim ve fonksiyonel gruplar hakkında değerli bilgiler sağlamaktadır. PCL spektrumunda gözlemlenen karakteristik pik noktaları literatürde daha önceden elektro-eğrilmiş PCL lifleri üzerine yapılan çalışmalarla tutarlıdır [109]. CIO spektrumunda

gözlemlenen pikler, uçucu yağlarda yaygın olarak gözlenen C=O gruplarının karbonil gerilme titreşimlerine bağlanabilir [110]. CIO'da N-H gerilme bantlarının varlığı, yağın PCL liflerine başarıyla dahil edildiğini de doğrulamaktadır. PCL/CIO-7.5'in FT-IR spektrumundaki C=O gerilme bantlarının görünümü ile ilgili veriler CIO'nun PCL liflerine dahil edildiğini ek olarak doğrulamaktadır. Genel olarak FT-IR analizindeki elde edilen veriler, CIO'nun PCL liflerine başarıyla dahil edildiği desteklemektedir ve elektro-eğrilmiş lif matların kimyasal bileşimi hakkında bilgi vermektedir.



Şekil 4.2 Saf poli(ϵ -kaprolakton) (PCL), *Calophyllum inophyllum* esansiyel yağı yüklü PCL lif matı (PCL/CIO) ve *Calophyllum inophyllum* (CIO) esansiyel yağının FT-IR spektrum grafiği.

4.3 Elektro-eğrilmiş Lif Matların İslanabilirliği

Sapsız damla yöntemi, elektro-eğrilmiş matların yüzey ıslanabilirliğini değerlendirmek için kullanılmıştır. PCL, PCL/CIO-2.5, PCL/CIO-5 ve PCL/CIO-7.5 lif matlarının temas açısı değerleri Tablo 4.1'de gösterilmiştir. Temas açısı değerleri PCL için ortalama $55 \pm 7^\circ$, PCL/CIO-2.5 için $35 \pm 4^\circ$, PCL/CIO-5 örnek grubunda $32 \pm 5^\circ$ ve PCL/CIO-7.5 elektro-eğrilmiş lif matları için ortalama temas

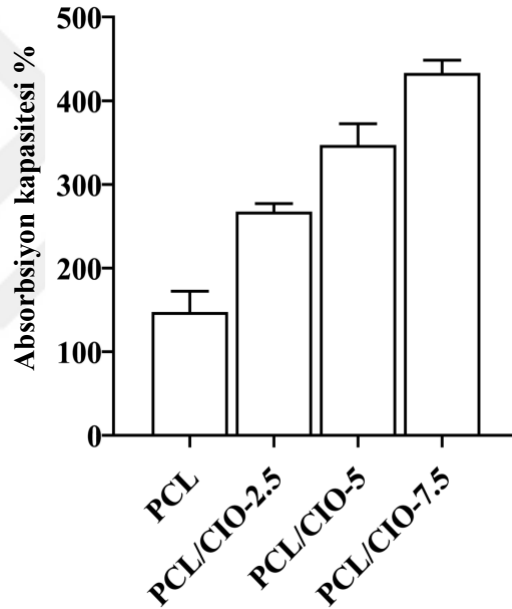
açısı $30 \pm 5^\circ$ olarak belirlenmiştir. Bunun yanında; PCL çözeltisine CIO ilavesi ile üretilen lif matlarının temas açısı değerlerinde yağsız PCL lifli matlara göre bir miktar azalma tespit edilmiştir. Ancak PCL/CIO-2.5, PCL/CIO-5 ve PCL/CIO-7.5 lif matlarının ortalama temas açısı değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemiştir.

Bir yara örtüsünün etkinliğini belirlemede yüzey ıslanabilirliğinin rolü iyi aydınlatılmıştır. Bir yara örtüsünün yüzeyinin hidrofilikliği veya hidrofobikliği; yara iyileşmesi için çok önemli olan hücreye tutunma, adhesyon ve migrasyon gibi hücresel süreçleri yönlendirebilmektedir. Elektro-eğrilmiş lif matların yüzey ıslanabilir durumunu değerlendirmek için temas açısı ölçümleri gerçekleştirilmiştir. Sonuçlarımıza göre; CIO ilavesinin yağsız PCL lif matlara kıyasla temas açısı değerini azalttığını göstermektedir. Bizim bulgularımıza paralel olarak; Unalan ve meslektaşları, PCL çözeltisine nane yağı ilavesinin elektro-eğrilmiş lif matların temas açısını azalttığını rapor etmişlerdir [111]. Başka bir çalışmada yine benzer şekilde, farklı uçucu yağ ekstraktlarının PCL liflerine dahil edilmesinin temas açısı değerinin azalmasına neden olduğu sonucu tespit edilmiştir [112]. Ayrıca Agnes Mary ve Giri Dev tarafından yapılan bir araştırma ise PCL polimer çözeltisine aloe vera ilavesinin üretilen lif matların temas açısını azalttığını sonucu bildirilmiştir [113].

4.4 Elektro-eğrilmiş Lif Matların Şişme Derecesi

Bir yara örtü malzemesinin kalite açısından üstün olması için, cildin yenilenmesini teşvik eden optimal bir nem ortamını muhafaza edebilmesi gerekir [3]. Bu tez çalışmasında bu nedenle CIO ile yüklenen PCL lif matlarının absorpsiyon kapasitesi PECF çözeltisinde değerlendirilmiştir. Üretilen lif matlarının PECF absorpsiyon değerleri PCL/CIO-2.5 için %267.5, PCL/CIO-5'te %347.25 olarak ve PCL/CIO-7.5 lif matı için %433.3 olarak saptanmıştır. Şekil 4.3'te gösterildiği gibi; PCL/CIO lif membranları, PECF absorpsiyonu açısından saf PCL liflerinden üstün bir eksuda absorpsiyon kapasitesi sergileyerek daha iyi bir performans göstermişlerdir. PCL'nin hidrofobik doğası göz önüne alındığında, *Calophyllum inophyllum* esansiyel yağının alkollü ekstraktlarının eklenmesi, polimerik matın hidrofilikliğini artırır ve böylece matın absorpsiyon özelliklerini geliştirmektedir. Bu çalışmadaki bulgularımızla uyumlu olarak; Ardekani ve ark. ürettikleri Zataria

yağı içeren PVA elektro-eğrilmiş nanoliflerin, %400-900 arasında değişen önemli bir su absorbe etme kapasitesi sergilediğini göstermişlerdir. Absorbsiyon etkinliği yüksek özellikteki bu nanoliflerin nem tutma gerektiren uygulamalarda önemli bir potansiyele sahip olduğu görülmektedir [114]. Aşırı salgı hücre proliferasyon sürecini engelleyebileceğinden, yara eksudalarının yani yaradan sızan sıvıların birikmesinin önlenmesi iltihaplı yaraları iyileştirmek için çok önemlidir. Literatürde farklı sıvı absorpsiyon özelliklerine sahip çok çeşitli yara örtüleri mevcuttur. Çeşitli absorpsiyon kapasitelerinden bağımsız olarak, her bir emici yara tipine ve salgı miktarına bağlı olarak potansiyel uygulamalara sahiptir. Ayrıca, yaranın aşırı kurumasını önlemek için bir denge kurulabilmesi çok önemlidir.

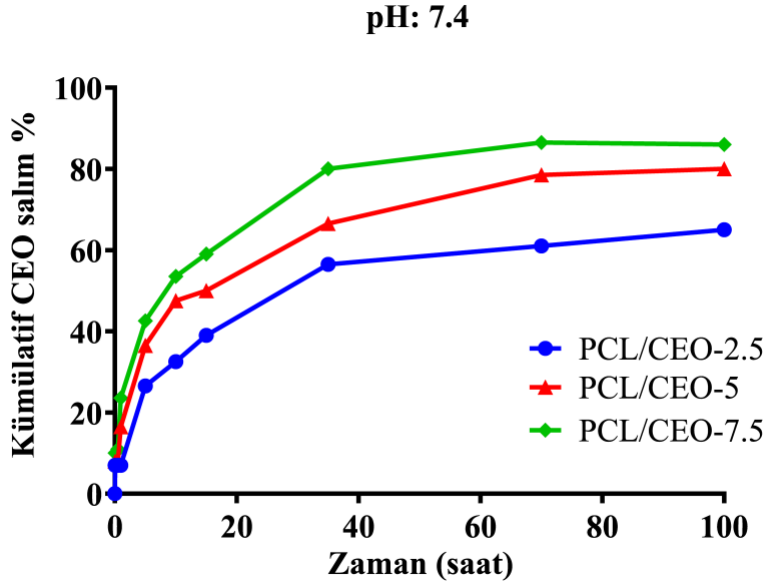


Şekil 4.3 Saf poli(ϵ -kaprolakton) (PCL) lif matı ve *Calophyllum inophyllum* uçucu yağ yüklü PCL lif matları olan PCL/CIO-2.5, PCL/CIO-5 ve PCL/CIO-7.5'in şişme derece yüzdeleri (%).

4.5 Elektro-eğrilmiş Lif Matların *In Vitro* Salım Analizi

Sürekli ilaç salınımı, kontrollü ve zamana yayılmış bir salım profili ile karakterize edilir. Geleneksel ilaç yaklaşımlarıyla karşılaştırıldıklarında; ilaç uygulama sıklığını azaltması ve bir anda salınan aşırı ilaç yüklemesinin neden olabileceği yan etkileri azaltma potansiyelleri birçok alanda tercih edilmelerini sağlar. Bu nedenle geleneksel ilaç verme uygulamalarının tedavi etkinliğini ve güvenliğini tehlikeye

atabilecek yan etkileri hafiflettiği için yara iyileştirme uygulamalarında kritik ve tercih edilen bir ilaç uygulama faktörüdürler [115]. Üretilen PCL lif membranlardan CIO salınımını belirlemek için ilaç salım profilleri salınım deneyleri ile incelenmiştir (Şekil 4.4). PCL polimerinin düşük hidrofilikliği nedeniyle çok düşük biyobozunmaya sahip olduğu literatürde birçok çalışmada rapor edilmiştir. Bu nedenle, PCL'nin hidrofobik doğası, polimerden CIO'nun patlamasına ve kısa süreli ilk salınımına neden olmaktadır [116]. Şekil 4.4'te gösterildiği gibi ilaç dağıtım sisteminin hızlı ve yoğun ilk salım fazı, ilaç moleküllerinin hidrofobik poli(ϵ -kaprolakton) (PCL) liflerinin yüzeyine yakın lokalizasyonuna bağlanabilir. Bu nedenle gerçekleşen yoğun ilk salım liflerin yüzeyinin yakınında sıkışan fazla CIO'nun bir sonucu olabilir. PCL matrisi, sulu ortamın penetrasyonunu engeller, böylece ilacın salınım ortamına difüzyonunu geciktirir. Bu fenomen, matrisin amorf bölgelerinden difüzyonunu gerektiren ilacın düşük çözünürlüğü ile daha da büyütülür, bu da uzamış bir gecikme süresine ve azaltılmış bir patlama salım etkisine yol açmaktadır. Şekil 4.4'te grafikte belirtildiği gibi; *in vitro* salınımın 5. saati sırasında, PCL/CIO liflerinden salınan CIO patlaması, PCL/CIO-2.5 için $25,5 \pm 3,2$, PCL/CIO-5 için $33,4 \pm 4,4$ ve PCL/CIO-7,5 için ortalama $41,1 \pm 3,1$ olarak saptanmıştır. Patlama salım aşamasının ardından, tüm PCL/CIO lif matlarında sürekli ve kontrollü bir CIO salınımı gözlemlenmiştir.



Şekil 4.4 *Calophyllum inophyllum* yağının (CIO) poli(ϵ -kaprolakton) (PCL)/CIO lif matlarından kümülatif salım grafiği.

4.6 Elektro-eğrilmiş Lif Matların Antibakteriyel Aktivitesi

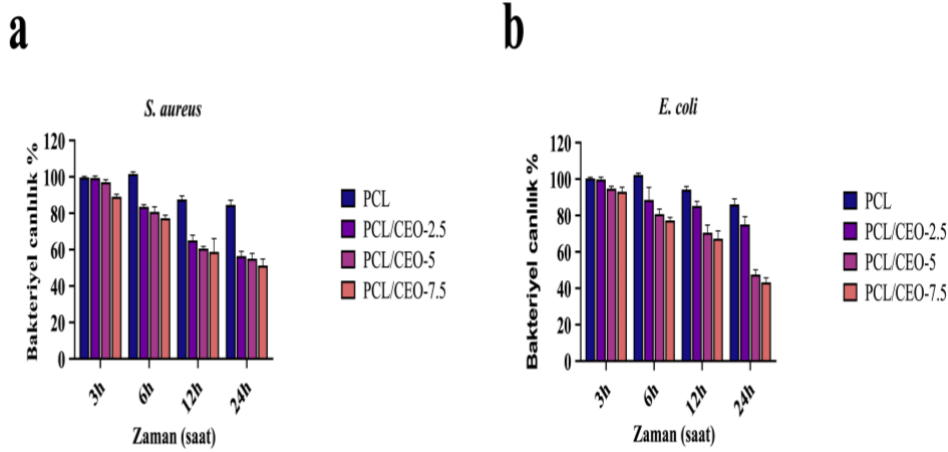
PCL/CIO-2.5, PCL/CIO-5 ve PCL/CIO-7.5 içeren lif matların antibakteriyel aktivitesi sıvı dilüsyon yöntemi kullanılarak *S. aureus* (Gram-pozitif) ve *E. coli* (Gram-negatif) bakterileri üzerinde değerlendirilmiştir. Şekil 4.5'te bakteri canlılık yüzdeleri gösterilmiştir ve lif matların antibakteriyel etkinliği saf PCL'ye kıyasla CIO ilavesiyle daha yüksek bir inhibisyon sağlanarak gelişmiştir. En yüksek inhibisyon etkisi 12 saatte *S. aureus*'a karşı gözlenirken, *E. coli*'ye karşı 24 saatte inhibisyon gözlenmiştir. Ancak PCL/CIO-2.5, PCL/CIO-5 ve PCL/CIO-7.5 lif matları arasında istatistiksel olarak bir fark saptanmamıştır. Ayrıca, 24 saatlik inkübasyondan sonra, PCL/CIO-5 ve PCL/CIO 7.5'te kontrol ve PCL gruplarına göre daha düşük *E. coli* bakteriyel canlılığı tespit edilmiştir (Şekil 4.5-b). Bu arada, *S. aureus*'un bakteriyel canlılığı, her inkübasyon zamanında kontrole kıyasla PCL/CIO 2.5, PCL/CIO-5 ve PCL/CIO-7.5 lif matlarında azalmıştır. Elde ettiğimiz bu sonuçlar, yara örtüleri ve doku mühendisliği yapı iskeleleri gibi çeşitli uygulamalarda PCL/CIO lif matların antibakteriyel maddeler olarak potansiyelini göstermektedir.

Calophyllum inophyllum esansiyel yağının (CIO), birçok Gram-pozitif ve Gram-negatif bakteriye karşı önemli antibakteriyel aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir. CIO tarafından yapılan bir çalışmada, *S. aureus* için 7 ile 14 mm ve *E. coli* için 13

ile 14 mm arasında değişen inhibisyon bölgeleriyle metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA) ve *E. coli*'ye karşı güçlü antibakteriyel aktivite sergiledikleri gösterilmiştir [71]. Benzer şekilde CIO aktivitesi değerlendiren başka bir çalışmada ise; mitotik bölünmenin doğrudan inhibisyonu yoluyla Gram-pozitif bakterilere karşı anlamlı bir aktivite sergilediği gösterilmiştir. Bunun yanı sıra makrofajlar tarafından β -defensin 2 peptidinin artan salınımına bağlı olarak Gram-negatif bakterilere karşı başka güçlü bir antibakteriyel etki sergiledikleri belirtilmiştir. CIO'nun antibakteriyel etkinliği; ksantonlar, kumarinler ve flavonoidler gibi karmaşık kimyasal bileşiklerinin hücre canlılığı üzerine olan etki mekanizmalarına benzediği tespit edilmiştir. Bu kimyasallar antibakteriyel etkilerini hücre zarı bütünlüğünün bozulması, DNA sentezinin inhibisyonu ve metabolik süreçlere müdahaleler dahil olmak üzere çeşitli mekanizmalar yoluyla göstermektedirler [71].

Esansiyel yağlarla yüklü elektro-eğrilmiş PCL yara örtüleri, antibakteriyel özelliklere sahip doğal ve etkili yara iyileştirici ajanlar olmaları nedeniyle son yıllarda çok sayıda çalışmanın araştırma konusu olmuşlardır. Örneğin; Phaiju ve ark., *S. aureus*, *E. coli*, *Salmonella typhimurium* ve *Pseudomonas aeruginosa*'ya karşı yüksek etkinlikte antibakteriyel aktivite gösteren tarçından elde edilen esansiyel yağları içeren PCL yara örtülerini başarıyla sentezlemişlerdir [117]. Mouro ve ark.'ları tarafından gerçekleştirilen benzer bir çalışmada eugenol yüklü PCL/PVA/Kitosan lif matlar sentezlenmiş ve bu matların *S. aureus* (%92,43 ve %83,08 oranında inhibisyon etkisi) ve *P. aeruginosa* (%94,68 ve %87,85 oranında inhibisyon etkisi) karşı önemli antibakteriyel aktivite gösterdiklerini rapor edilmiştir [118]. Chen ve meslektaşları tarafından yapılan başka bir çalışmada ise PCL-tannik asit nanolifli biyo-kompozit iskelelerin, ortalama 0.8 ± 0.3 mm'lik dar bir inhibe edici bölge ile *S. aureus*'a karşı antibakteriyel özellikler sergiledikleri tespit edilmiştir [119]. Sonuçlarımıza paralel olarak başka bir çalışmada; elektro-eğrilmiş poli(bütlen karbonat) (PBC)/poli(laktik asit) (PLA)/kitosan (CS) karışımı nanolif membranların *in vitro* değerlendirme verilerine göre *Escherichia coli* ve *Staphylococcus aureus*'a karşı güçlü antimikrobiyal aktivite sergiledikleri bildirilmiştir [13]. Bu esansiyel yağ yüklü PCL yara örtülerinin antibakteriyel aktivitesi, aktif bileşiklerin yara örtüsünden yara yatağına sürekli salınması ile ilişkilendirilmiştir. Bu durum da bakteriyel hücre zarını bozar ve bakteri

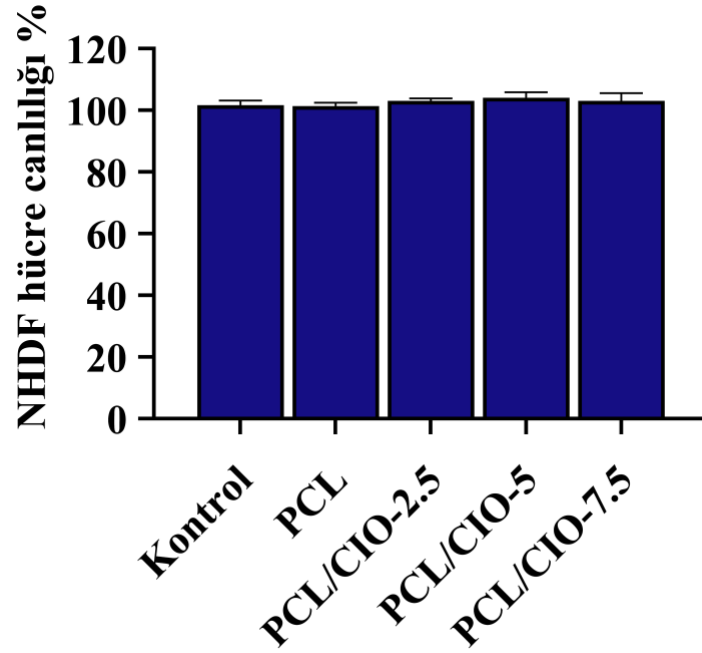
büyümesinin engellemektedir [120]. Ayrıca, bu elektro-eğrilmiş PCL yara örtüleri, geleneksel yara örtülerine göre biyouyumluluk, esneklik ve uygulama kolaylığı gibi çeşitli avantajlar sunmaktadır. Bu avantajlar sayesinde yara iyileştirme uygulamaları için umut verici adaylar olarak düşünülmektedirler. Bu çalışmanın sonuçlarını antibakteriyel aktivite kapsamında değerlendirdiğimizde, yara iyileşmesine yeni bir yaklaşım olarak esansiyel yağlarla yüklenmiş elektro-eğrilmiş PCL yara örtülerinin potansiyeli gösterilmiştir.



Şekil 4.5 Poli(ϵ -kaprolakton) (PCL)/CIO lif matlarının (a) *Staphylococcus aureus* ve (b) *Escherichia coli*'ye karşı antibakteriyel etkinliği * $p<0,05$, ** $p<0,01$ kontrol ile karşılaştırıldığında istatistiksel anlamlılık düzeyleri.

4.7 Elektro-eğrilmiş Lif Matların *In Vitro* Sitotoksosite Analizi

PCL, PCL/CIO-2.5, PCL/CIO-5 ve PCL/CIO-7.5 lif matlarının biyouyumluluğunu değerlendirmek için sağlıklı insan dermal fibroblastları olan NHDF hücre hatlarında sitotoksosite analizi gerçekleştirilmiştir. NHDF hücrelerinin canlılığı Şekil 4.6'da gösterildiği gibi lif matlarının 48 saatlik inkübasyonundan sonra değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlarımıza göre; tüm lif matların CIO'nun farklı konsantrasyonlarının hücrelere uygulandığı grupları arasında istatistiksel bir farklılık saptanmamıştır. Bununla birlikte lif matlarında kontrole kıyasla hücre canlılığında artış tespit edilmiştir.



Şekil 4.6 Farklı konsantrasyonlarda *Calophyllum inophyllum* yağı (CIO) ile yüklenmiş poli(ϵ -kaprolakton) (PCL) (PCL/CIO-2.5, PCL/CIO-5 ve PCL/CIO-7.5) elektro-eğrilmiş lif matlarının NHDF hücreleri üzerindeki *in vitro* sitotoksosite grafiği.

Bu sitotoksosite çalışmasında, NHDF hücreleri üzerinde farklı konsantrasyonlarda *Calophyllum inophyllum* yağı (CIO) ile yüklü PCL elektro-eğrilmiş lif matlarının *in vitro* sitotoksitesini değerlendirilmiştir. Elde ettiğimiz MTT testinin sonuçlarına göre; tüm PCL/CIO lif matlarının 48 saatlik inkübasyondan sonra NHDF hücreleri üzerinde hiçbir sitotoksik etkiye sahip olmadığını tespit edilmiştir. Bu sonuçlar da PCL/CIO lif matların biyoyumlu olduğunu ve doku mühendisliği ve rejeneratif tıp uygulamalarında kullanılma potansiyeline sahip olduğunu göstermektedir.

Literatürde PCL ve kompozitlerinin farklı malzemelerle biyoyumluluğu hakkında çok çeşitli çalışmalar rapor edilmiştir. Bu çalışmalardan biri; L929 fibroblast hücreleri üzerinde *Nigella sativa* ekstraktı ile yüklenmiş PCL/Kitosan nanolifli iskelelerin *in vitro* sitotoksik etkinliğini değerlendirmiştir. Bu çalışmada; bulgularımıza paralel olarak iskelelerin önemli sitotoksik etkileri olmadığı gösterilmiştir [121]. Benzer şekilde Doustdar ve arkadaşları yaptıkları bir çalışmada; yeni bir çay ağacı yağı ilave edilmiş PCL/soya proteini elektro-eğrilmiş matlarının NIH3T3 fibroblast hücreleri üzerindeki sitotoksitesini

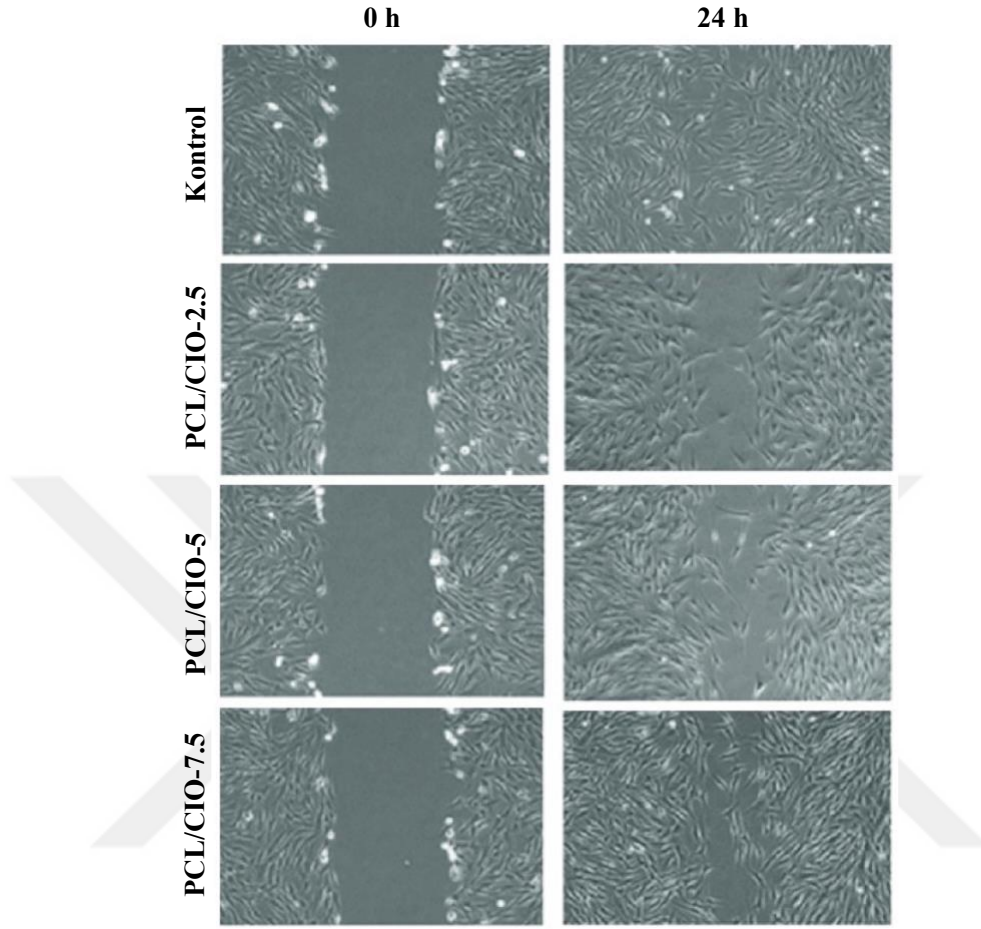
değerlendirmişlerdir ve araştırmacılar matların yüksek bir biyoyumluluğa sahip olduğunu bildirmişlerdir [122]. Tüm bu çalışmalar bizim çalışmamızın sonuçları ile korelasyon göstermektedir. Bununla birlikte PCL ve kompozitlerinin farklı malzemelerle kullanımında biyoyumlu özellikte olduğunu destekler niteliktedir.

Bu çalışmada sentezlenen PCL/CIO lif matlarının sitotoksitesinin olmaması birkaç faktöre bağlanabilir. Bunlardan biri; CIO'nun PCL liflerine dahil edilmesinin PCL matrisinin biyoyumluluğuna müdahale etmemiş olmasıdır. Buna ek olarak; PCL lif matlar, hücreler ve çevre ortam arasında besinlerin ve atık ürünlerin değiş tokuşuna izin vererek hücre büyümesini ve proliferasyonunu sağlayan oldukça gözenekli bir yapıya sahiptir.

4.8 Elektro-eğrilmiş Lif Matların Yara İyileştirme Etkinliğinin Değerlendirmesi

Tez çalışmasında, *Calophyllum inophyllum* (CIO) yüklü poli(ϵ -kaprolakton) (PCL) elektro-eğrilmiş lif matlarının NHDF hücreleri üzerinde yara iyileştirme aktivitesi *in vitro* yara iyileştirme (çizik; scratch assay) deneyi kullanarak değerlendirilmiştir. Yara bölgelerine hücre göçünü ve yara kapanma oranları Şekil 4.7'de gösterildiği gibidir. 6 saat uygulanan elektro-eğrilmiş lif mat tedavisinden sonra kontrol grubunda yara bölgesindeki hücre ortalama yüzdesi 31 ± 1 , PCL/CIO-2.5 grubu için 15 ± 2 , PCL/CIO-5 grubunda ortalama 21 ± 2 ve PCL/CIO-7.5 örneklem grubunda ortalama 25 ± 1 hücre bulunduğu analiz edilmiştir (Şekil 4.7). 24 saat inkübasyon süresinden sonra ise kontrol grubu tamamen kapanma gösterirken PCL/CIO-2.5 konsantrasyonunda uygulanan lif matlar ortalama 55 ± 1 , PCL/CIO-5 grubu ortalama 75 ± 1 ve PCL/CIO-7.5 ortalama 88 ± 2 yara kapanma oranı saptanmıştır. Bulgularımız, CIO konsantrasyonunun artırılmasının NHDF hücre göçünü ve çoğalmasını doza bağlı bir şekilde arttırdığını göstermektedir. Bu tez çalışmasında CIO'nun önemli bir yara iyileştirme özelliğine sahip olduğu bulunmuştur. Buna ek olarak araştırmacılar gerçekleştirdikleri çalışmalarda; CIO'nun bağ dokusunun ana bileşeni olan kollajen üretiminden sorumlu hücreler olan fibroblastların çoğalmasını ve göçünü artırarak yara iyileşmesini desteklediğini rapor etmişlerdir [71]. Ayrıca çalışmalarda; *Calophyllum inophyllum* yağının bir yara bölgesinde şişliği ve iltihaplanmayı

azaltmaya yardımcı olabilecek anti-inflamatuar özelliklere sahip olduğu saptanmıştır [6].



Şekil 4.7 Normal insan dermal fibroblast hücreleri üzerinde poli(ϵ -kaprolakton) (PCL)/CIO lif matların in vitro yara iyileştirme etkinliğinin analizi.

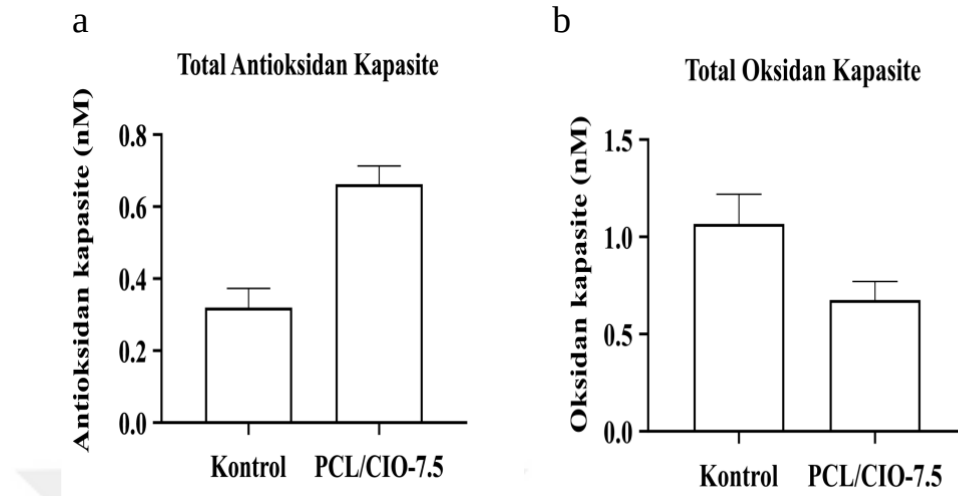
4.9 Elektro-eğrilmiş Lif Matların Antioksidan Kapasitesi

Tez çalışmasında üretilen elektro-eğrilmiş lif matlarının sağlıklı fare L929 fibroblast hücre hattında toplam antioksidan ve oksidan kapasiteleri değerlendirilmiştir. Şekil 4.8a L929 hücre hattı üzerindeki PCL/CIO-7.5 lif membranların toplam antioksidan kapasiteleri ve Şekil 4.8b’de ise toplam oksidan kapasitelerini gösterilmektedir. Elde ettiğimiz sonuçlara göre; PCL membranlarında kültürlenmiş hücrelerin toplam antioksidan seviyeleri kontrol grubu ile kıyaslandığında istatistiksel olarak bir anlamlılık saptanmamıştır ($P>0.05$). PCL membranından farklı olarak PCL/CIO-7.5 zarının toplam antioksidan seviyesi, kontrole kıyasla önemli ölçüde arttığı tespit edilmiştir ($P<0.05$). Toplam oksidan seviyeleri incelendiğinde hücrelerde PCL membranlarında kontrol grubuna göre

istatistiksel olarak anlamlı bir artış gözlemlenmiştir. Ancak; CIO'nun lif matlarına dahil edilmesi toplam oksidan seviyelerinde istatistiksel anlamlılıkta azalmaya neden olmuştur ($P < 0.05$). Oksidatif stres, reaktif oksijen ve nitrojen ürünleri gibi oksidan moleküller vücudun antioksidan sistemini bastırduğunda ortaya çıkmaktadır. Bu da nörodejeneratif hastalıklar, kardiyovasküler hastalıklar, kanser, inflamasyon ve yaşlanma gibi çeşitli sorunlara yol açabilmektedir. Reaktif oksijen türlerinin (ROS), iltihaplanma sürecinde lökositlerin ve makrofajların işlevlerini düzenlemede rol oynadığı bulunmuştur. Biyomalzemeler veya biyobozunur ürünler, bağışıklık sistemi hücreleri tarafından oksidanların salınmasına neden olduğu zaman implante edilen bölgede kronik enfeksiyon, biyomateryal kaybı veya işlev kaybı meydana getirebilir.

Doğal ürünlerin antioksidan aktivitesileri yara iyileştirme uygulamalarında potansiyel kullanımları için kapsamlı bir şekilde incelenmiştir. Özellikle çalışmalarda, polifenoller gibi bitki türevli bileşiklerin önemli antioksidan aktiviteye sahip oldukları gösterilmiştir [123]. Bu tez çalışmasında kullanılan *Calophyllum inophyllum* (CIO) yağı, polifenoller açısından zengindir ve çeşitli çalışmalarda antioksidan aktivitesi gösterdiği bildirilmiştir [8]. Önceki çalışmalarda antioksidan özelliklere sahip yara örtülerinin oksidatif stresi azaltarak ve yara iyileşme sürecini destekleyerek faydalı etkiler sağlayabildiği gösterilmiştir [6]. Polifenoller gibi antioksidan bileşiklerin yara örtülerine dahil edilmesinin kronik yaraların iyileşmesini desteklediği gösterilmiştir [111]. Antioksidanların yara örtülerinden sürekli ve kontrollü salınımı, etkinlikleri açısından önemlidir. Antioksidanların ani olan patlama salınımı yapması, antioksidan/oksidan oranında dengesizliğe neden olabilir. Bu durumda yara iyileşmesini olumsuz yönde etkileyebilir. Bu nedenle, yara örtülerinden antioksidanların salınımını kontrol etmek yara örtülerinin etkinlikleri için esastır [11]. Buna ek olarak, yara örtülerinin biyouyumluluğu; çevre dokular ve hücreler üzerinde olumsuz etkilerden kaçınmak için çok önemli bir faktördür. Polikaprolakton (PCL), olumlu özelliklerinden dolayı yara örtüsü uygulamalarında yaygın olarak kullanılan, biyolojik olarak uyumlu ve biyolojik olarak parçalanabilen bir polimerdir [16]. CIO'nun PCL elektro-eğrilmiş lif matlara dahil edilmesi, gelişmiş antioksidan aktiviteye sahip umut verici bir yara örtü malzemesi sağlayabilir. CIO'nun matlardan sürekli ve kontrollü salınımı, yara

iyileşme sürecini destekleyebilirken, PCL'nin biyouyumluluğu onu doku mühendisliği ve rejeneratif tıp uygulamaları için uygun hale getirmektedir.



Şekil 4.8 Poli(ϵ -kaprolakton) (PCL)/CIO-7.5 lif matlarının kontrol grubuna kıyasla (a) toplam antioksidan kapasitesi (b) toplam oksidan kapasitesi * $p < 0,05$.

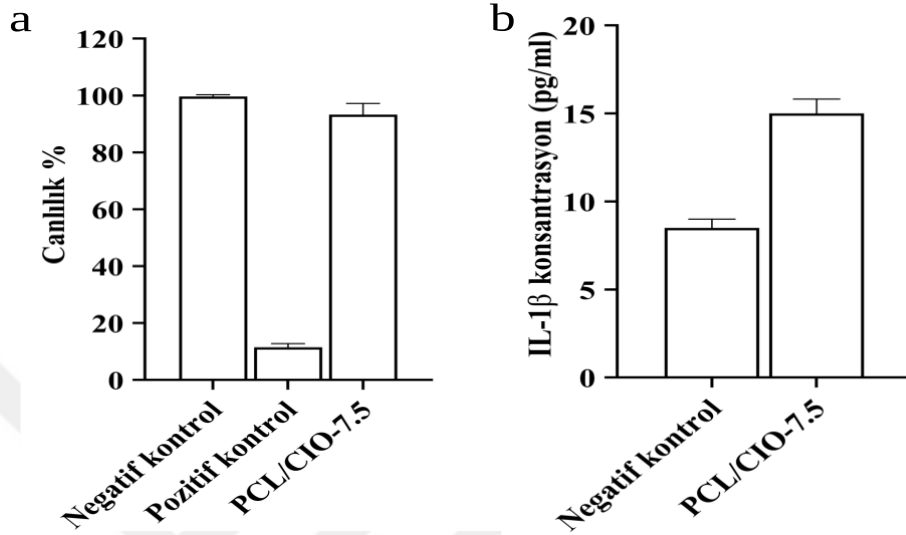
4.10 Makrofaj hücreleri üzerinde canlılık analizi

Bu tez çalışmasında ayrıca; makrofaj hücrelerinin PCL/CIO-7.5 lif matları üzerindeki hücre canlılığı değerlendirilmiştir. Şekil 4.9 (a)'da gösterildiği gibi makrofaj hücrelerinde ortalama 97.42 ± 2.78 oranında bir hücre canlılığı tespit edilmiştir. Negatif kontrol ile PCL/CIO-7.5 arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark saptanmamıştır ($P > 0.05$). Bu bulgularımız, PCL/CIO-7.5 lif matlarının makrofajlar için sitotoksik olmadığını göstermektedir. Bu nedenle hücre canlılığı üzerinde olumsuz bir yan etkiyi tetiklemediği için üretilen PCL/CIO lif matların biyomedikal uygulamalarda kullanılabilme potansiyeli olduğu gösterilmiştir. Yara örtüsü malzemelerinin biyolojik açıdan uyumlu olması, çevre dokulara ve hücrelere herhangi bir zarar vermemelerini sağlaması açısından dikkat edilmesi gereken bir noktadır.

4.11 İnterlökin-1 β Salınım Deneyi

PCL/CIO-7.5 ve kontrol grubunda besiyerindeki interlökin-1 β seviyeleri ölçülüp analiz edilmiştir (Şekil 9.1(b)). Kontrol grubu ile karşılaştırıldıklarında negatif kontrolün interlökin-1 β konsantrasyonu 8.27 ± 0.20 pg/mL olarak ve PCL/CIO-7.5 lif matların ise interlökin-1 β konsantrasyonu 16.10 ± 0.15 pg/mL olarak

bulunmuştur ($P<0.01$). Bulgularımız, PCL/CIO-7.5 lif matların interlökin-1 β seviyesinin salgılanmasını kontrol grubu ile kıyaslandığında 7.83 pg/mL olarak arttırdığını göstermektedir ($p<0.01$).



Şekil 4.9 PCL/CIO lif matlarının (a) makrofajlar üzerindeki sitotoksik aktivitesi. (b) PCL/CIO lif matlar ile muamele edilmiş hücrelerin interlökin-1 β seviyeleri

İnterlökin-1 β (IL-1 β), yara iyileşmesi sürecinde bağışıklık yanıtının düzenlenmesinde çok önemli bir rol oynayan pro-inflamatuar bir sitokindir. Literatürdeki çalışmalarda makrofajları aktive ettiği, anjiyogenezi uyardığı ve doku onarımını desteklediği bildirilmiştir [124]. Bu tez çalışmasında polikaprolakton (PCL) temelli bir yara örtü uygulaması sonrasında IL-1 β seviyelerinde anlamlı bir artış gözlemlenmiştir. Bu bulgu, PCL yara örtüsünün yara iyileşme süreci sırasında inflammatuar tepkinin modülasyonuna katkıda bulunabileceğini düşündürmektedir. Artmış IL-1 β ekspresyonu, nötrofiller ve makrofajlar gibi bağışıklık hücrelerinin yara bölgesine sızmasını kolaylaştırabilen PCL sargısının biyouyumluluğuna ve gözenekli yapısına bağlanabilir. Sonuçta bu hücreler daha yüksek miktarlarda IL-1 β salabilirler. Böylece inflamasyon, anjiyogenezi, hücre proliferasyonunu, matrisin yeniden şekillenmesini ve genel olarak yara iyileşme sürecini destekleyebilirler. Artan IL-1 β seviyeleri, akut iyileşme tepkisini teşvik etmek için faydalı olabilirken, potansiyel uzun süreli inflamasyon riskini ve bunun yara iyileşmesi üzerindeki olumsuz etkisini göz önünde bulundurmak önemlidir [124]. Yara iyileşmesini desteklemek ve kronik inflamasyon riskini en aza indirmek

arasında bir denge sağlayan optimal PCL yara örtülerinin özelliklerini belirlemek için daha fazla araştırma yapılması gerekmektedir. Ek olarak, PCL temelli yara örtülerini diğer biyomalzemelerle karşılaştıran çalışmalarla, yara yönetimi bağlamında PCL örtülerinin terapötik potansiyeline ilişkin değerli bilgiler sağlayacağı dşnlmektedir.



5.1 Sonuç ve Öneriler

Bu tez çalışmasında, *Calophyllum inophyllum* (CIO) esansiyel yağı ile yüklenmiş polikaprolakton (PCL) elektro-eğrilmiş lif matlar başarıyla üretilmiştir. Bunun yanı sıra elektro-eğrilmiş lif matlarının yara iyileştirme uygulamalarında potansiyel kullanımı için *in vitro* da değerlendirdik. Sonuçlarımıza göre liflerin morfolojik bütünlüğü, artan CIO konsantrasyonlarının dahil edilmesiyle birlikte korunmuştur ve lif çapında hafif bir artış tespit edilmiştir. Bu çalışmanın önemli bir sonucu, yağsız PCL lif matlarına kıyasla CIO yüklü PCL lif matlarının temas açısı değerlerindeki azalmadır. Bu gözlem, lif matlarının ıslanabilirliğinin arttığını ve matların antibakteriyel yara örtüleri veya doku mühendisliği yapı iskeleleri olarak potansiyel uygulamalar için daha etkili olabileceğini göstermektedir.

Çalışmada ayrıca, PCL/CIO lif matlar tarafından kontrollü ve sürekli bir CIO salınımı olduğu gösterilmiştir. Bu veride üretilen elektro-eğrilmiş lif matların ilaç dağıtım uygulamalarında kullanımına uygun özelliklerde olduğunu göstermektedir. Hücreler üzerindeki biyolojik uyumlulukları NHDF hücreleri ile yapılan çalışmalarda tespit edilmiştir. Bu da lif matlarının doku mühendisliği ve rejeneratif tıp uygulamalarında potansiyel kullanımlarına işaret etmektedir.

Bu çalışmanın bulgularına dayanarak, CIO yüklü PCL elektro-eğrilmiş lif matların güçlü antibakteriyel özellikleri ve etkinliği daha yüksek bir yara iyileştirme yeteneği sergiledikleri tespit edilmiştir. Özellikle de açık yaralar, yanıklar ve cerrahi yaralar gibi bakteriyel enfeksiyonlara yatkın olanlar olmak üzere çeşitli yaraların tedavisine uygunlukları bu çalışmadaki bulgularla vurgulanmıştır. Bu lif matlarının sürekli ilaç salım profili ve önemli sıvı emme kapasitesi, etkili iyileşme için kritik olan nemli bir yara ortamını koruyarak sızıntı yapan yaralarda da etkili olabileceklerini göstermektedir.

Tüm sonular birlikte ele alındığında; lif matlar özellikle de orta ile şiddetli yaraları tedavi etmek için yararlı olabilir. Bununla birlikte, bu liflerin en faydalı olacağı yara tiplerini ve derecesini tam olarak tanımlamak için daha ileri pre-klinik ve klinik çalışmalar gereklidir. Sonuç olarak, bu çalışmada yara iyileştirme ve diğer

biyomedikal uygulamalarda PCL/CIO elektro-eğrilmiş lif matlarının üretimi ve kullanım potansiyeli gösterilmiştir. Bu alanda daha fazla araştırma ve geliştirme ihtiyacı bu bulgularla vurgulanmaktadır.



- [1] M. Rodrigues, N. Kosaric, C. A. Bonham, and G. C. Gurtner, "Wound Healing: A Cellular Perspective," *Physiol Rev*, vol. 99, no. 1, pp. 665-706, Jan 1 2019, doi: 10.1152/physrev.00067.2017.
- [2] S. Guo and L. A. Dipietro, "Factors affecting wound healing," *J Dent Res*, vol. 89, no. 3, pp. 219-29, Mar 2010, doi: 10.1177/0022034509359125.
- [3] E. Rezvani Ghomi, S. Khalili, S. Nouri Khorasani, R. Esmaeely Neisiany, and S. Ramakrishna, "Wound dressings: Current advances and future directions," *Journal of Applied Polymer Science*, vol. 136, no. 27, p. 47738, 2019, doi: 10.1002/app.47738.
- [4] M. Naeimi and N. Noohi, "Fabrication and characterisation of antibacterial porous alginate/aloe vera structures containing chitosan nanoparticles for wound dressing applications," *Materials Technology*, vol. 37, no. 8, pp. 822-828, 2021, doi: 10.1080/10667857.2021.1898713.
- [5] A. C. Dweck and T. Meadows, "Tamanu (*Calophyllum inophyllum*) - the African, Asian, Polynesian and Pacific Panacea," *Int J Cosmet Sci*, vol. 24, no. 6, pp. 341-8, Dec 2002, doi: 10.1046/j.1467-2494.2002.00160.x.
- [6] V. L. Nguyen *et al.*, "Anti-inflammatory and wound healing activities of calophyllolide isolated from *Calophyllum inophyllum* Linn," *PLoS One*, vol. 12, no. 10, p. e0185674, 2017, doi: 10.1371/journal.pone.0185674.
- [7] N. Poljsak, S. Kreft, and N. Kocevar Glavac, "Vegetable butters and oils in skin wound healing: Scientific evidence for new opportunities in dermatology," *Phytother Res*, vol. 34, no. 2, pp. 254-269, Feb 2020, doi: 10.1002/ptr.6524.
- [8] A. Erdemir, "Anti-proliferative and apoptosis inducing activity of *Calophyllum inophyllum* L. oil extracts on C6 glioma cell line," *Tarla Bitkileri Merkez Arastirma Enstitusu*, vol. 30, no. 1, pp. 0-0, 2021, doi: 10.38042/biost.2021.30.01.01.
- [9] D. Li, T. Guo, F. Zhong, W. Zhang, Z. Wang, and H. Nie, "Mechanically-enhanced fibre topography via electrospinning on a poly(ϵ -caprolactone) film for tendon tissue-engineering application," *Materials Technology*, vol. 37, no. 9, pp. 1031-1039, 2021, doi: 10.1080/10667857.2021.1915664.
- [10] J. Xue, T. Wu, Y. Dai, and Y. Xia, "Electrospinning and Electrospun Nanofibers: Methods, Materials, and Applications," *Chem Rev*, vol. 119, no. 8, pp. 5298-5415, Apr 24 2019, doi: 10.1021/acs.chemrev.8b00593.
- [11] X. Liu, H. Xu, M. Zhang, and D. G. Yu, "Electrospun Medicated Nanofibers for Wound Healing: Review," *Membranes (Basel)*, vol. 11, no. 10, Oct 9 2021, doi: 10.3390/membranes11100770.
- [12] P. Mostafavi and M. Naeimi, "Investigation of vitamin D-loaded silk fibroin electrospun scaffolds for bone tissue engineering applications," *Materials Technology*, pp. 1-9, 2021, doi: 10.1080/10667857.2021.1940426.

- [13] X. Gu *et al.*, "Three-component antibacterial membrane of poly(butylene carbonate), poly(lactic acid) and chitosan prepared by electrospinning," *Materials Technology*, vol. 34, no. 8, pp. 463-470, 2019, doi: 10.1080/10667857.2019.1576822.
- [14] K. R. Aadil, A. Nathani, C. S. Sharma, N. Lenka, and P. Gupta, "Fabrication of biocompatible alginate-poly(vinyl alcohol) nanofibers scaffolds for tissue engineering applications," *Materials Technology*, vol. 33, no. 8, pp. 507-512, 2018, doi: 10.1080/10667857.2018.1473234.
- [15] A. Karimi Tar, S. Karbasi, E. Naghashzargar, and H. Salehi, "Biodegradation and cellular evaluation of aligned and random poly (3-hydroxybutyrate)/chitosan electrospun scaffold for nerve tissue engineering applications," *Materials Technology*, vol. 35, no. 2, pp. 92-101, 2020, doi: 10.1080/10667857.2019.1658170.
- [16] G. Nanni *et al.*, "Poly(furfuryl alcohol)-Polycaprolactone Blends," *Polymers (Basel)*, vol. 11, no. 6, Jun 20 2019, doi: 10.3390/polym11061069.
- [17] E. Altun, J. Ahmed, M. Onur Aydogdu, A. Harker, and M. Edirisinghe, "The effect of solvent and pressure on polycaprolactone solutions for particle and fibre formation," *European Polymer Journal*, vol. 173, p. 111300, 2022, doi: 10.1016/j.eurpolymj.2022.111300.
- [18] G. El Fawal, H. Hong, X. Mo, and H. Wang, "Fabrication of scaffold based on gelatin and polycaprolactone (PCL) for wound dressing application," *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, vol. 63, 2021, doi: 10.1016/j.jddst.2021.102501.
- [19] M. Venus, J. Waterman, and I. McNab, "Basic physiology of the skin," *Surgery (Oxford)*, vol. 28, no. 10, pp. 469-472, 2010, doi: 10.1016/j.mpsur.2010.07.011.
- [20] J. Kanitakis, "Anatomy, histology and immunohistochemistry of normal human skin," *Eur J Dermatol*, vol. 12, no. 4, pp. 390-9; quiz 400-1, Jul-Aug 2002. [Online]. Available: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12095893>.
- [21] S. H. Mathes, H. Ruffner, and U. Graf-Hausner, "The use of skin models in drug development," *Adv Drug Deliv Rev*, vol. 69-70, pp. 81-102, Apr 2014, doi: 10.1016/j.addr.2013.12.006.
- [22] P. A. J. Kolarsick, M. A. Kolarsick, and C. Goodwin, "Anatomy and Physiology of the Skin," *Journal of the Dermatology Nurses' Association*, vol. 3, no. 4, pp. 203-213, 2011, doi: 10.1097/JDN.0b013e3182274a98.
- [23] E. McLafferty, C. Hendry, and F. Alistair, "The integumentary system: anatomy, physiology and function of skin," *Nurs Stand*, vol. 27, no. 3, pp. 35-42, Sep 19-25 2012, doi: 10.7748/ns2012.10.27.7.35.c9358.
- [24] G. Egawa and K. Kabashima, "Multifactorial skin barrier deficiency and atopic dermatitis: Essential topics to prevent the atopic march," *J Allergy Clin Immunol*, vol. 138, no. 2, pp. 350-358 e1, Aug 2016, doi: 10.1016/j.jaci.2016.06.002.

- [25] Y. Belkaid and S. Tamoutounour, "The influence of skin microorganisms on cutaneous immunity," *Nat Rev Immunol*, vol. 16, no. 6, pp. 353-66, May 27 2016, doi: 10.1038/nri.2016.48.
- [26] A. L. Byrd, Y. Belkaid, and J. A. Segre, "The human skin microbiome," *Nat Rev Microbiol*, vol. 16, no. 3, pp. 143-155, Mar 2018, doi: 10.1038/nrmicro.2017.157.
- [27] R. Wong, S. Geyer, W. Weninger, J.-C. Guimberteau, and J. K. Wong, "The dynamic anatomy and patterning of skin," *Experimental Dermatology*, vol. 25, no. 2, pp. 92-98, 2016, doi: 10.1111/exd.12832.
- [28] W. Lopez-Ojeda, A. Pandey, M. Alhaji, and A. M. Oakley, "Anatomy, Skin (Integument)," in *StatPearls*. Treasure Island (FL), 2023.
- [29] Y. Gilaberte, L. Prieto-Torres, I. Pastushenko, and Á. Juarraz, "Anatomy and Function of the Skin," in *Nanoscience in Dermatology*, 2016, pp. 1-14.
- [30] G. McKnight, J. Shah, and R. Hargest, "Physiology of the skin," *Surgery (Oxford)*, vol. 40, no. 1, pp. 8-12, 2022, doi: 10.1016/j.mpsur.2021.11.005.
- [31] M. C. Robson, D. L. Steed, and M. G. Franz, "Wound healing: biologic features and approaches to maximize healing trajectories," *Curr Probl Surg*, vol. 38, no. 2, pp. 72-140, Feb 2001, doi: 10.1067/msg.2001.111167.
- [32] T. Velnar, T. Bailey, and V. Smrkolj, "The wound healing process: an overview of the cellular and molecular mechanisms," *J Int Med Res*, vol. 37, no. 5, pp. 1528-42, Sep-Oct 2009, doi: 10.1177/147323000903700531.
- [33] G. S. Lazarus, D. M. Cooper, D. R. Knighton, R. E. Percoraro, G. Rodeheaver, and M. C. Robson, "Definitions and guidelines for assessment of wounds and evaluation of healing," *Wound Repair Regen*, vol. 2, no. 3, pp. 165-70, Jul 1994, doi: 10.1046/j.1524-475X.1994.20305.x.
- [34] K. Karimi, A. Odhav, R. Kollipara, J. Fike, C. Stanford, and J. C. Hall, "Acute Cutaneous Necrosis: A Guide to Early Diagnosis and Treatment," *J Cutan Med Surg*, vol. 21, no. 5, pp. 425-437, Sep/Oct 2017, doi: 10.1177/1203475417708164.
- [35] M. P. Rowan *et al.*, "Burn wound healing and treatment: review and advancements," *Crit Care*, vol. 19, p. 243, Jun 12 2015, doi: 10.1186/s13054-015-0961-2.
- [36] E. M. Tottoli, R. Dorati, I. Genta, E. Chiesa, S. Pisani, and B. Conti, "Skin Wound Healing Process and New Emerging Technologies for Skin Wound Care and Regeneration," *Pharmaceutics*, vol. 12, no. 8, Aug 5 2020, doi: 10.3390/pharmaceutics12080735.
- [37] Y. Liang, J. He, and B. Guo, "Functional Hydrogels as Wound Dressing to Enhance Wound Healing," *ACS Nano*, vol. 15, no. 8, pp. 12687-12722, Aug 24 2021, doi: 10.1021/acsnano.1c04206.
- [38] A. J. Gale, "Continuing education course #2: current understanding of hemostasis," *Toxicol Pathol*, vol. 39, no. 1, pp. 273-80, Jan 2011, doi: 10.1177/0192623310389474.

- [39] T. J. Koh and L. A. DiPietro, "Inflammation and wound healing: the role of the macrophage," *Expert Rev Mol Med*, vol. 13, p. e23, Jul 11 2011, doi: 10.1017/S1462399411001943.
- [40] H. Sinno and S. Prakash, "Complements and the wound healing cascade: an updated review," *Plast Surg Int*, vol. 2013, p. 146764, 2013, doi: 10.1155/2013/146764.
- [41] B. Dalisson and J. Barralet, "Bioinorganics and Wound Healing," *Adv Healthc Mater*, vol. 8, no. 18, p. e1900764, Sep 2019, doi: 10.1002/adhm.201900764.
- [42] B. K. Sun, Z. Siprashvili, and P. A. Khavari, "Advances in skin grafting and treatment of cutaneous wounds," *Science*, vol. 346, no. 6212, pp. 941-5, Nov 21 2014, doi: 10.1126/science.1253836.
- [43] M. Hoffman, "The Tissue Factor Pathway and Wound Healing," *Semin Thromb Hemost*, vol. 44, no. 2, pp. 142-150, Mar 2018, doi: 10.1055/s-0037-1606181.
- [44] A. C. Campos, A. K. Groth, and A. B. Branco, "Assessment and nutritional aspects of wound healing," *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*, vol. 11, no. 3, pp. 281-8, May 2008, doi: 10.1097/MCO.0b013e3282fbd35a.
- [45] A. C. Gonzalez, T. F. Costa, Z. A. Andrade, and A. R. Medrado, "Wound healing - A literature review," *An Bras Dermatol*, vol. 91, no. 5, pp. 614-620, Sep-Oct 2016, doi: 10.1590/abd1806-4841.20164741.
- [46] P. G. Rodriguez, F. N. Felix, D. T. Woodley, and E. K. Shim, "The role of oxygen in wound healing: a review of the literature," *Dermatol Surg*, vol. 34, no. 9, pp. 1159-69, Sep 2008, doi: 10.1111/j.1524-4725.2008.34254.x.
- [47] N. B. Menke, K. R. Ward, T. M. Witten, D. G. Bonchev, and R. F. Diegelmann, "Impaired wound healing," *Clin Dermatol*, vol. 25, no. 1, pp. 19-25, Jan-Feb 2007, doi: 10.1016/j.clindermatol.2006.12.005.
- [48] M. Mirhaj, S. Labbaf, M. Tavakoli, and A. M. Seifalian, "Emerging treatment strategies in wound care," *International Wound Journal*, vol. 19, no. 7, pp. 1934-1954, 2022, doi: 10.1111/iwj.13786.
- [49] B. G. Ongarora, "Recent technological advances in the management of chronic wounds: A literature review," *Health Science Reports*, vol. 5, no. 3, 2022, doi: 10.1002/hsr2.641.
- [50] J. S. Boateng, K. H. Matthews, H. N. Stevens, and G. M. Eccleston, "Wound healing dressings and drug delivery systems: a review," *J Pharm Sci*, vol. 97, no. 8, pp. 2892-923, Aug 2008, doi: 10.1002/jps.21210.
- [51] S. Ather and K. G. Harding, "Wound management and dressings," in *Advanced Textiles for Wound Care*, 2009, pp. 3-19.
- [52] V. Brumberg, T. Astrelina, T. Malivanova, and A. Samoilov, "Modern Wound Dressings: Hydrogel Dressings," *Biomedicines*, vol. 9, no. 9, Sep 16 2021, doi: 10.3390/biomedicines9091235.
- [53] S. Soleymani Eil Bakhtiari *et al.*, "3-Dimensional Printing of Hydrogel-Based Nanocomposites: A Comprehensive Review on the Technology Description, Properties, and Applications," *Advanced Engineering*

- Materials*, vol. 23, no. 10, p. 2100477, 2021, doi: 10.1002/adem.202100477.
- [54] V. Patrulea, V. Ostafe, G. Borchard, and O. Jordan, "Chitosan as a starting material for wound healing applications," *Eur J Pharm Biopharm*, vol. 97, no. Pt B, pp. 417-26, Nov 2015, doi: 10.1016/j.ejpb.2015.08.004.
 - [55] Y. Wang, U. Armato, and J. Wu, "Targeting Tunable Physical Properties of Materials for Chronic Wound Care," *Front Bioeng Biotechnol*, vol. 8, p. 584, 2020, doi: 10.3389/fbioe.2020.00584.
 - [56] P. Monika, M. N. Chandraprabha, A. Rangarajan, P. V. Waiker, and K. N. Chidambara Murthy, "Challenges in Healing Wound: Role of Complementary and Alternative Medicine," *Front Nutr*, vol. 8, p. 791899, 2021, doi: 10.3389/fnut.2021.791899.
 - [57] R. K. Sivamani, B. R. Ma, L. N. Wehrli, and E. Maverakis, "Phytochemicals and Naturally Derived Substances for Wound Healing," *Adv Wound Care (New Rochelle)*, vol. 1, no. 5, pp. 213-217, Oct 2012, doi: 10.1089/wound.2011.0330.
 - [58] S. C. Davis and R. Perez, "Cosmeceuticals and natural products: wound healing," *Clin Dermatol*, vol. 27, no. 5, pp. 502-6, Sep-Oct 2009, doi: 10.1016/j.clindermatol.2009.05.015.
 - [59] S. Vitale *et al.*, "Phytochemistry and Biological Activity of Medicinal Plants in Wound Healing: An Overview of Current Research," *Molecules*, vol. 27, no. 11, Jun 1 2022, doi: 10.3390/molecules27113566.
 - [60] M. S. Criollo-Mendoza, L. A. Contreras-Angulo, N. Leyva-Lopez, E. P. Gutierrez-Grijalva, L. A. Jimenez-Ortega, and J. B. Heredia, "Wound Healing Properties of Natural Products: Mechanisms of Action," *Molecules*, vol. 28, no. 2, Jan 6 2023, doi: 10.3390/molecules28020598.
 - [61] R. N. Oliveira *et al.*, "FTIR analysis and quantification of phenols and flavonoids of five commercially available plants extracts used in wound healing," *Matéria (Rio de Janeiro)*, vol. 21, no. 3, pp. 767-779, 2016, doi: 10.1590/s1517-707620160003.0072.
 - [62] O. Givol, R. Kornhaber, D. Visentin, M. Cleary, J. Haik, and M. Harats, "A systematic review of Calendula officinalis extract for wound healing," *Wound Repair Regen*, vol. 27, no. 5, pp. 548-561, Sep 2019, doi: 10.1111/wrr.12737.
 - [63] H. O. Edeoga, D. E. Okwu, and B. O. Mbaebie, "Phytochemical constituents of some Nigerian medicinal plants," *African Journal of Biotechnology*, vol. 4, no. 7, pp. 685-688, 2005, doi: 10.5897/ajb2005.000-3127.
 - [64] D. Savoia, "Plant-derived antimicrobial compounds: alternatives to antibiotics," *Future Microbiol*, vol. 7, no. 8, pp. 979-90, Aug 2012, doi: 10.2217/fmb.12.68.
 - [65] M. Daglia, "Polyphenols as antimicrobial agents," *Curr Opin Biotechnol*, vol. 23, no. 2, pp. 174-81, Apr 2012, doi: 10.1016/j.copbio.2011.08.007.
 - [66] A. Levet *et al.*, "Acute aquatic toxicity of organic solvents modeled by QSARs," *J Mol Model*, vol. 22, no. 12, p. 288, Dec 2016, doi: 10.1007/s00894-016-3156-0.

- [67] F. P. Morais and J. M. R. Curto, "Design and Engineering of Natural Cellulose Fiber-Based Biomaterials with Eucalyptus Essential Oil Retention to Replace Non-Biodegradable Delivery Systems," *Polymers (Basel)*, vol. 14, no. 17, Sep 1 2022, doi: 10.3390/polym14173621.
- [68] R. L. Thangapazham, S. Sharad, and R. K. Maheshwari, "Phytochemicals in Wound Healing," *Adv Wound Care (New Rochelle)*, vol. 5, no. 5, pp. 230-241, May 1 2016, doi: 10.1089/wound.2013.0505.
- [69] P. S. Kowalski, C. Bhattacharya, S. Afewerki, and R. Langer, "Smart Biomaterials: Recent Advances and Future Directions," *ACS Biomater Sci Eng*, vol. 4, no. 11, pp. 3809-3817, Nov 12 2018, doi: 10.1021/acsbiomaterials.8b00889.
- [70] F. Aqil, R. Munagala, J. Jeyabalan, and M. V. Vadhanam, "Bioavailability of phytochemicals and its enhancement by drug delivery systems," *Cancer Lett*, vol. 334, no. 1, pp. 133-41, Jun 28 2013, doi: 10.1016/j.canlet.2013.02.032.
- [71] T. Leguillier *et al.*, "The Wound Healing and Antibacterial Activity of Five Ethnomedical Calophyllum inophyllum Oils: An Alternative Therapeutic Strategy to Treat Infected Wounds," *PLoS One*, vol. 10, no. 9, p. e0138602, 2015, doi: 10.1371/journal.pone.0138602.
- [72] D. Febrilliant Susanto, H. Wirawasista Aparamarta, A. Widjaja, Firdaus, and S. Gunawan, "Calophyllum inophyllum: Beneficial Phytochemicals, Their Uses, and Identification," IntechOpen, 2020.
- [73] D. F. Susanto, H. W. Aparamarta, A. Widjaja, and S. Gunawan, "Identification of phytochemical compounds in Calophyllum inophyllum leaves," *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, vol. 7, no. 9, pp. 773-781, 2017, doi: 10.1016/j.apjtb.2017.08.001.
- [74] C. Girardi *et al.*, "Herbal medicine in the Marquesas Islands," *J Ethnopharmacol*, vol. 161, pp. 200-13, Feb 23 2015, doi: 10.1016/j.jep.2014.09.045.
- [75] A. D. Patil *et al.*, "The inophyllums, novel inhibitors of HIV-1 reverse transcriptase isolated from the Malaysian tree, Calophyllum inophyllum Linn," *J Med Chem*, vol. 36, no. 26, pp. 4131-8, Dec 24 1993, doi: 10.1021/jm00078a001.
- [76] T. Said *et al.*, "Cytoprotective effect against UV-induced DNA damage and oxidative stress: role of new biological UV filter," *Eur J Pharm Sci*, vol. 30, no. 3-4, pp. 203-10, Mar 2007, doi: 10.1016/j.ejps.2006.11.001.
- [77] M. C. Yimdjo, A. G. Azebaze, A. E. Nkengfack, A. M. Meyer, B. Bodo, and Z. T. Fomum, "Antimicrobial and cytotoxic agents from Calophyllum inophyllum," *Phytochemistry*, vol. 65, no. 20, pp. 2789-95, Oct 2004, doi: 10.1016/j.phytochem.2004.08.024.
- [78] L. Muthukrishnan, "An overview on electrospinning and its advancement toward hard and soft tissue engineering applications," *Colloid and Polymer Science*, vol. 300, no. 8, pp. 875-901, 2022, doi: 10.1007/s00396-022-04997-9.

- [79] D. Han and A. J. Steckl, "Coaxial Electrospinning Formation of Complex Polymer Fibers and their Applications," *ChemPlusChem*, vol. 84, no. 10, pp. 1453-1497, 2019, doi: 10.1002/cplu.201900281.
- [80] A. Al-Abduljabbar and I. Farooq, "Electrospun Polymer Nanofibers: Processing, Properties, and Applications," *Polymers*, vol. 15, no. 1, p. 65, 2022, doi: 10.3390/polym15010065.
- [81] I. Jun, H. S. Han, J. R. Edwards, and H. Jeon, "Electrospun Fibrous Scaffolds for Tissue Engineering: Viewpoints on Architecture and Fabrication," *Int J Mol Sci*, vol. 19, no. 3, Mar 6 2018, doi: 10.3390/ijms19030745.
- [82] J. Wang and M. Windbergs, "Functional electrospun fibers for the treatment of human skin wounds," *Eur J Pharm Biopharm*, vol. 119, pp. 283-299, Oct 2017, doi: 10.1016/j.ejpb.2017.07.001.
- [83] A. S. Arampatzis *et al.*, "Electrospun wound dressings containing bioactive natural products: physico-chemical characterization and biological assessment," *Biomater Res*, vol. 25, no. 1, p. 23, Jul 16 2021, doi: 10.1186/s40824-021-00223-9.
- [84] Y. Liu, T. Li, Y. Han, F. Li, and Y. Liu, "Recent development of electrospun wound dressing," *Current Opinion in Biomedical Engineering*, vol. 17, 2021, doi: 10.1016/j.cobme.2020.100247.
- [85] N. Okutan, P. Terzi, and F. Altay, "Affecting parameters on electrospinning process and characterization of electrospun gelatin nanofibers," *Food Hydrocolloids*, vol. 39, pp. 19-26, 2014, doi: 10.1016/j.foodhyd.2013.12.022.
- [86] N. Bhardwaj and S. C. Kundu, "Electrospinning: a fascinating fiber fabrication technique," *Biotechnol Adv*, vol. 28, no. 3, pp. 325-47, May-Jun 2010, doi: 10.1016/j.biotechadv.2010.01.004.
- [87] D. Kai, S. S. Liow, and X. J. Loh, "Biodegradable polymers for electrospinning: towards biomedical applications," *Mater Sci Eng C Mater Biol Appl*, vol. 45, pp. 659-70, Dec 2014, doi: 10.1016/j.msec.2014.04.051.
- [88] V. P. Nirwan, T. Kowalczyk, J. Bar, M. Buzgo, E. Filova, and A. Fahmi, "Advances in Electrospun Hybrid Nanofibers for Biomedical Applications," *Nanomaterials (Basel)*, vol. 12, no. 11, May 27 2022, doi: 10.3390/nano12111829.
- [89] M. Keshvardoostchokami, S. S. Majidi, P. Huo, R. Ramachandran, M. Chen, and B. Liu, "Electrospun Nanofibers of Natural and Synthetic Polymers as Artificial Extracellular Matrix for Tissue Engineering," *Nanomaterials (Basel)*, vol. 11, no. 1, Dec 24 2020, doi: 10.3390/nano11010021.
- [90] A. Cipitria, A. Skelton, T. R. Dargaville, P. D. Dalton, and D. W. Hutmacher, "Design, fabrication and characterization of PCL electrospun scaffolds—a review," *Journal of Materials Chemistry*, vol. 21, no. 26, p. 9419, 2011, doi: 10.1039/c0jm04502k.
- [91] Z. Ma, Z. Mao, and C. Gao, "Surface modification and property analysis of biomedical polymers used for tissue engineering," *Colloids Surf B*

- Biointerfaces*, vol. 60, no. 2, pp. 137-57, Nov 15 2007, doi: 10.1016/j.colsurfb.2007.06.019.
- [92] B. Hawthorne, J. K. Simmons, B. Stuart, R. Tung, D. S. Zamierowski, and A. J. Mellott, "Enhancing wound healing dressing development through interdisciplinary collaboration," *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*, vol. 109, no. 12, pp. 1967-1985, Dec 2021, doi: 10.1002/jbm.b.34861.
 - [93] E. J. Jang, R. Patel, and M. Patel, "Electrospinning Nanofibers as a Dressing to Treat Diabetic Wounds," *Pharmaceutics*, vol. 15, no. 4, p. 1144, 2023, doi: 10.3390/pharmaceutics15041144.
 - [94] S. Chen *et al.*, "Mesenchymal stem cell-laden, personalized 3D scaffolds with controlled structure and fiber alignment promote diabetic wound healing," *Acta Biomater*, vol. 108, pp. 153-167, May 2020, doi: 10.1016/j.actbio.2020.03.035.
 - [95] J. He, Y. Liang, M. Shi, and B. Guo, "Anti-oxidant electroactive and antibacterial nanofibrous wound dressings based on poly(ϵ -caprolactone)/quaternized chitosan-graft-polyaniline for full-thickness skin wound healing," *Chemical Engineering Journal*, vol. 385, 2020, doi: 10.1016/j.cej.2019.123464.
 - [96] R. Ramalingam *et al.*, "Core-Shell Structured Antimicrobial Nanofiber Dressings Containing Herbal Extract and Antibiotics Combination for the Prevention of Biofilms and Promotion of Cutaneous Wound Healing," *ACS Appl Mater Interfaces*, vol. 13, no. 21, pp. 24356-24369, Jun 2 2021, doi: 10.1021/acsami.0c20642.
 - [97] I. Partheniadis, G. Stathakis, D. Tsalavouti, J. Heinamaki, and I. Nikolakakis, "Essential Oil-Loaded Nanofibers for Pharmaceutical and Biomedical Applications: A Systematic Mini-Review," *Pharmaceutics*, vol. 14, no. 9, Aug 26 2022, doi: 10.3390/pharmaceutics14091799.
 - [98] A. Haider, S. Haider, and I.-K. Kang, "A comprehensive review summarizing the effect of electrospinning parameters and potential applications of nanofibers in biomedical and biotechnology," *Arabian Journal of Chemistry*, vol. 11, no. 8, pp. 1165-1188, 2018, doi: 10.1016/j.arabjc.2015.11.015.
 - [99] R. Amna, K. Ali, M. I. Malik, and S. I. Shamsah, "A Brief Review of Electrospinning of Polymer Nanofibers: History and Main Applications," *Journal of New Materials for Electrochemical Systems*, vol. 23, no. 3, pp. 151-163, 2020, doi: 10.14447/jnmes.v23i3.a01.
 - [100] A. H. Rather, T. U. Wani, R. S. Khan, B. Pant, M. Park, and F. A. Sheikh, "Prospects of Polymeric Nanofibers Loaded with Essential Oils for Biomedical and Food-Packaging Applications," *Int J Mol Sci*, vol. 22, no. 8, Apr 13 2021, doi: 10.3390/ijms22084017.
 - [101] E. Mele, "Electrospinning of Essential Oils," *Polymers (Basel)*, vol. 12, no. 4, Apr 14 2020, doi: 10.3390/polym12040908.
 - [102] I. Unalan *et al.*, "Evaluation of Electrospun Poly(ϵ -Caprolactone)/Gelatin Nanofiber Mats Containing Clove Essential Oil for

- Antibacterial Wound Dressing," *Pharmaceutics*, vol. 11, no. 11, Nov 1 2019, doi: 10.3390/pharmaceutics11110570.
- [103] P. J. Garcia-Moreno, A. Guadix, E. M. Guadix, and C. Jacobsen, "Physical and oxidative stability of fish oil-in-water emulsions stabilized with fish protein hydrolysates," *Food Chem*, vol. 203, pp. 124-135, Jul 15 2016, doi: 10.1016/j.foodchem.2016.02.073.
- [104] T. J. Sill and H. A. von Recum, "Electrospinning: applications in drug delivery and tissue engineering," *Biomaterials*, vol. 29, no. 13, pp. 1989-2006, May 2008, doi: 10.1016/j.biomaterials.2008.01.011.
- [105] K. Garg and G. L. Bowlin, "Electrospinning jets and nanofibrous structures," *Biomicrofluidics*, vol. 5, no. 1, p. 13403, Mar 30 2011, doi: 10.1063/1.3567097.
- [106] D. P. Ura *et al.*, "The Role of Electrical Polarity in Electrospinning and on the Mechanical and Structural Properties of As-Spun Fibers," *Materials (Basel)*, vol. 13, no. 18, Sep 19 2020, doi: 10.3390/ma13184169.
- [107] W. Zeng *et al.*, "Electrospun polycaprolactone nanofibrous membranes loaded with baicalin for antibacterial wound dressing," *Sci Rep*, vol. 12, no. 1, p. 10900, Jun 28 2022, doi: 10.1038/s41598-022-13141-0.
- [108] H. Hafshah, D. H. Prajitno, and A. Roesyadi, "Hydrotalcite Catalyst for Hydrocracking Calophyllum inophyllum Oil to Biofuel: A Comparative Study with and without Nickel Impregnation," *Bulletin of Chemical Reaction Engineering & Catalysis*, vol. 12, no. 2, p. 273, 2017, doi: 10.9767/bcrec.12.2.776.273-280.
- [109] B. Mollaghadimi, "Preparation and characterisation of polycaprolactone-fibroin nanofibrous scaffolds containing allicin," *IET Nanobiotechnol*, vol. 16, no. 7-8, pp. 239-249, Sep 2022, doi: 10.1049/nbt2.12092.
- [110] G. Göksen, M. J. Fabra, H. I. Ekiz, and A. López-Rubio, "Phytochemical-loaded electrospun nanofibers as novel active edible films: Characterization and antibacterial efficiency in cheese slices," *Food Control*, vol. 112, 2020, doi: 10.1016/j.foodcont.2020.107133.
- [111] I. Unalan, B. Slavik, A. Buettner, W. H. Goldmann, G. Frank, and A. R. Boccaccini, "Physical and Antibacterial Properties of Peppermint Essential Oil Loaded Poly (epsilon-caprolactone) (PCL) Electrospun Fiber Mats for Wound Healing," *Front Bioeng Biotechnol*, vol. 7, p. 346, 2019, doi: 10.3389/fbioe.2019.00346.
- [112] G. Jin, M. P. Prabhakaran, D. Kai, S. K. Annamalai, K. D. Arunachalam, and S. Ramakrishna, "Tissue engineered plant extracts as nanofibrous wound dressing," *Biomaterials*, vol. 34, no. 3, pp. 724-34, Jan 2013, doi: 10.1016/j.biomaterials.2012.10.026.
- [113] S. Agnes Mary and V. R. Giri Dev, "Electrospun herbal nanofibrous wound dressings for skin tissue engineering," *The Journal of The Textile Institute*, vol. 106, no. 8, pp. 886-895, 2015, doi: 10.1080/00405000.2014.951247.
- [114] N. T. Ardekani, M. Khorram, K. Zomorodian, S. Yazdanpanah, H. Veisi, and H. Veisi, "Evaluation of electrospun poly (vinyl alcohol)-based nanofiber mats incorporated with Zataria multiflora essential oil as potential

- wound dressing," *Int J Biol Macromol*, vol. 125, pp. 743-750, Mar 15 2019, doi: 10.1016/j.ijbiomac.2018.12.085.
- [115] L. Castillo-Henriquez, J. Castro-Alpizar, M. Lopretti-Correa, and J. Vega-Baudrit, "Exploration of Bioengineered Scaffolds Composed of Thermo-Responsive Polymers for Drug Delivery in Wound Healing," *Int J Mol Sci*, vol. 22, no. 3, Jan 30 2021, doi: 10.3390/ijms22031408.
 - [116] J. R. Dias, A. Sousa, A. Augusto, P. J. Bartolo, and P. L. Granja, "Electrospun Polycaprolactone (PCL) Degradation: An In Vitro and In Vivo Study," *Polymers (Basel)*, vol. 14, no. 16, Aug 19 2022, doi: 10.3390/polym14163397.
 - [117] S. Phaiju *et al.*, "Antibacterial Cinnamon Essential Oil Incorporated Poly(ϵ -Caprolactone) Nanofibrous Mats: New Platform for Biomedical Application," *Journal of Institute of Science and Technology*, vol. 25, no. 2, pp. 9-16, 2020, doi: 10.3126/jist.v25i2.33724.
 - [118] C. Mouro, M. Simões, and I. C. Gouveia, "Emulsion Electrospun Fiber Mats of PCL/PVA/Chitosan and Eugenol for Wound Dressing Applications," *Advances in Polymer Technology*, vol. 2019, pp. 1-11, 2019, doi: 10.1155/2019/9859506.
 - [119] X. Chen *et al.*, "Fabrication and Characterization of Electrospun Poly(Caprolactone)/Tannic Acid Scaffold as an Antibacterial Wound Dressing," *Polymers*, vol. 15, no. 3, p. 593, 2023, doi: 10.3390/polym15030593.
 - [120] D. Gheorghita *et al.*, "Essential Oils as Antimicrobial Active Substances in Wound Dressings," *Materials*, vol. 15, no. 19, p. 6923, 2022, doi: 10.3390/ma15196923.
 - [121] Q. S. Kahdim, N. Abdelmoula, H. Al-Karagoly, S. Albukhaty, and J. Al-Saaidi, "Fabrication of a Polycaprolactone/Chitosan Nanofibrous Scaffold Loaded with Nigella sativa Extract for Biomedical Applications," *BioTech (Basel)*, vol. 12, no. 1, Feb 12 2023, doi: 10.3390/biotech12010019.
 - [122] F. Doustdar, S. Ramezani, M. Ghorbani, and F. Mortazavi Moghadam, "Optimization and characterization of a novel tea tree oil-integrated poly (epsilon-caprolactone)/soy protein isolate electrospun mat as a wound care system," *Int J Pharm*, vol. 627, p. 122218, Nov 5 2022, doi: 10.1016/j.ijpharm.2022.122218.
 - [123] M. Michalak, "Plant-Derived Antioxidants: Significance in Skin Health and the Ageing Process," *Int J Mol Sci*, vol. 23, no. 2, Jan 6 2022, doi: 10.3390/ijms23020585.
 - [124] C. A. Dinarello, "Interleukin-1 in the pathogenesis and treatment of inflammatory diseases," *Blood*, vol. 117, no. 14, pp. 3720-32, Apr 7 2011, doi: 10.1182/blood-2010-07-273417.

TEZDEN ÜRETİLMİŞ YAYINLAR

Konferans Bildirileri

1. Ustundag, C. R., and Piskin M. B., (2021) “Fabrication of electrospun poly (ϵ -caprolactone) fibers incorporated with *Callophyllum inoculum* essential oil as potential wound dressing”, *4th International Eurasian Conference on Biological and Chemical Sciences (EurasianBioChem2021)*, 141.

Makaleler

1. Cem Resat Ustundag & Mehmet Burcin Piskin (2023) Investigation of electrospun poly (ϵ -caprolactone) fiber mats loaded with *Calophyllum inophyllum* essential oil for wound dressing applications: Morphology, drug release and in vitro evaluation, *Materials Technology*, 38:1, DOI: [10.1080/10667857.2023.2223018](https://doi.org/10.1080/10667857.2023.2223018)