

T.C.
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI



***Lilium candidum* ÖZÜTÜ YÜKLENMİŞ POLİAKRİLİK ASİT/
KARBOKSİMETİL SELÜLOZ/ HYALURONİK ASİT İÇEREN SÜPER EMİCİ
BİYOMATERYALLERİN HAZIRLANMASI VE MATRİKS
METALLOPROTEİNAZLARIN BAĞLANMA SEVİYESİNİN ARAŞTIRILMASI**

SERTAP KARABAŞ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Jüri Üyeleri : **Prof. Dr. Serap DOĞAN (Tez Danışmanı)**
 Dr. Öğr. Üyesi Sakin Vural VARLI
 Dr. Öğr. Üyesi Ömer Faruk KARASAKAL

BALIKESİR, OCAK-2026

ETİK BEYAN

Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak tarafımda hazırlanan “*Lilium candidum* Özütü Yüklenmiş Poliakrilik Asit/ Karboksimetil Selüloz/ Hyaluronik Asit İçeren Süper Emici Biyomateryallerin Hazırlanması ve Matriks Metalloproteinazların Bağlanma Seviyesinin Araştırılması” başlıklı tezde;

- Tüm bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
 - Kullanılan veriler ve sonuçlarda herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
 - Tüm bilgi ve sonuçları bilimsel araştırma ve etik ilkelere uygun şekilde sunduğumu,
 - Yararlandığım eserlere atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- beyan eder, aksinin ortaya çıkması durumunda her türlü yasal sonucu kabul ederim.

Sertap KARABAŞ

Bu tez çalışması TÜBİTAK 2210-C Öncelikli Alanlara Yönelik Yurt İçi Yüksek Lisans Burs Programı 2023/2 ve Balıkesir Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi (BAP) tarafından (2023/152) nolu proje ile desteklenmiştir.

ÖZET

***Lilium candidum* ÖZÜTÜ YÜKLENMİŞ POLİAKRİLİK ASİT/
KARBOKSİMETİL SELÜLOZ/ HYALURONİK ASİT İÇEREN
SÜPER EMİCİ BİYOMATERYALLERİN HAZIRLANMASI VE
MATRİKS METALLOPROTEİNAZLARIN BAĞLANMA
SEVİYESİNİN ARAŞTIRILMASI
YÜKSEK LİSANS TEZİ
SERTAP KARABAŞ
BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI
(TEZ DANIŞMANI: PROF. DR. SERAP DOĞAN)
(EŞ DANIŞMAN: DOÇ. DR. MEHMET EMİN DİKEN)
BALIKESİR, OCAK-2026**

Bu çalışmada, yara iyileşmesi uygulamaları için *Lilium candidum* bitki temelli poliakrilik asit (PAA), karboksimetil selüloz (CMC) ve hyaluronik asit (HA) ile hazırlanan süper emici biyomateryal örneklerinin fiziksel, kimyasal, mekanik ve biyolojik özelliklerinin incelenmesi amaçlanmıştır. Bu kapsamda farklı konsantrasyonlara sahip biyomateryal örnekleri (PAA/CMC/HA+*L.candidum*) hazırlanmış ve karakterizasyon çalışmaları gerçekleştirilmiştir. Elde edilen örnekler; yüzey özellikleri, sıvı tutma kapasiteleri, biyouyumluluk ve mekanik dayanımları açısından değerlendirilmiştir. Ayrıca biyomateryallerin kollajenaz (MMP) aktivitesi üzerindeki inhibisyon etkileri incelenmiştir. Antioksidan ve antibakteriyel deneyleri araştırılmıştır. Elde edilen bulgular geliştirilen biyomateryallerin hidrofilik karakter sergilediğini, yüksek su tutma kapasitesine sahip olduğunu ve sitotoksikite deneylerinde hücre canlılığını destekleyici nitelikte olduğunu göstermiştir. ATR-FTIR deney sonuçlarında biyomateryal örneklerinin yaptığı anlamlı pik kaymaları, bileşenlerin arasında etkileşim olduğunu işaret etmektedir. SEM analizlerinde bileşenlerin homojen dağılım gösterdiği sonucuna varılmıştır. Mekanik analiz çalışmaları sonucunda DMA deneyinde biyomateryal örneklerinden C2 numunesinin, daha fazla esneklik ve viskozite gösterdiği B2 numunesinin aksine önemli mekanik sertlik ve termal kararlılık sergilediğini ortaya koymuştur. A2 örneği, bu iki yapısal uç arasında ara olan özellikleri göstermiştir. Antibakteriyel deneyleri *Stahylococcus aureus* ve *Escherichia coli* ile çalışılmış *L. candidum* içeren biyomateryal örneklerinin anlamlı bir inhibisyon zon çapı oluşturduğu görülmüştür. Biyomateryal örnekleri kollajenaz aktivitesini yaklaşık olarak %20 oranlarında inhibe etmiştir bu sonuçların *L. candidum* bitki içeriğinde bulunan flavonoidlerle ilişkili olduğunu düşündürmektedir. Antioksidan deneyleri 2.2.-Difenil-1-pikrihidrazil (DPPH), 2.2 azinobis-(3- etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit (ABTS) reaktifleri ile gerçekleştirilmiş ve biyomateryal örneklerinin anlamlı ölçüde radikal süpürme kapasitesine sahip olduğu görülmüştür.

ANAHTAR KELİMELELER: Biyomalzeme, hyaluronik asit, karboksimetil selüloz, *Lilium candidum*, poliakrilik asit, süper emici

Bilim Kod / Kodları: 20603, 20605, 20610

Sayfa Sayısı: 89

ABSTRACT

PREPARATION OF SUPER ABSORBENT BIOMATERIALS FOR POLYACRYLIC ACID/ CARBOXYMETHYL CELLULOSE/ HYALURONIC ACID LOADED WITH *Lilium candidum* EXTRACT AND INVESTIGATION OF THE BINDING LEVEL OF MATRIX METALLOPROTEINASES

MSC THESIS

SERTAP KARABAS

BALIKESIR UNIVERSITY INSTITUTE OF SCIENCE

MOLECULAR BIOLOGY AND GENETICS

(SUPERVISOR: PROF. DR. SERAP DOGAN)

(CO-SUPERVISOR: ASSOC. PROF. DR. MEHMET EMIN DIKEN)

BALIKESIR, JANUARY-2026

In this study, it was aimed to investigate the physical, chemical, mechanical, and biological properties of superabsorbent biomaterial samples prepared using *Lilium candidum* plant extract-based polyacrylic acid (PAA), carboxymethyl cellulose (CMC), and hyaluronic acid (HA) for wound healing applications. Within this scope, biomaterial samples with different concentrations (PAA/CMC/HA+*L. candidum*) were prepared, and comprehensive characterization studies were carried out. The obtained samples were evaluated in terms of surface properties, fluid absorption capacities, biocompatibility, and mechanical strength. In addition, the inhibitory effects of the biomaterials on collagenase (MMP) activity were investigated. Antioxidant, and antibacterial assays were also investigated. The obtained results demonstrated that the developed biomaterials exhibited a hydrophilic character, possessed high water retention capacity, and supported cell viability in cytotoxicity assays. Significant peak shifts observed in the ATR-FTIR spectra of the biomaterial samples indicated the presence of interactions among the components. SEM analyses revealed a homogeneous distribution of the constituents within the biomaterial structure. Mechanical analysis results showed that, according to DMA measurements, the C2 sample exhibited notable mechanical stiffness and thermal stability, in contrast to the B2 sample, which demonstrated higher flexibility and viscosity. The A2 sample displayed intermediate properties between these two structural extremes. Antibacterial studies were conducted against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli*, and biomaterial samples containing *L. candidum* were observed to form significant inhibition zone diameters. The biomaterial samples inhibited collagenase activity by approximately 20%, suggesting that this effect may be associated with flavonoids present in the *L. candidum* plant content. Antioxidant assays were performed using 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) and 2,2'-azinobis-(3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) reagents, and the biomaterial samples were found to exhibit a significant radical scavenging capacity.

KEYWORD: Biomaterial, carboxymethyl cellulose, hyaluronic acid, *Lilium candidum*, polyacrylic acid, superabsorbent

Science Code/Codes: 20603, 20605, 20610

Page Number: 89

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa</u>
ÖZET	i
ABSTRACT	ii
İÇİNDEKİLER	iii
ŞEKİL LİSTESİ	vi
TABLO LİSTESİ	viii
SEMBOL VE KISALTMA LİSTESİ	ix
ÖNSÖZ	x
1.GİRİŞ	1
1.1 Derinin Genel Anatomisi ve Derinin Fonksiyonları	2
1.2 Yara ve Yara Çeşitleri.....	3
1.2.1 Hemostaz evresi (pıhtılaşma)	5
1.2.2 İnflamasyon evresi (eksüdatif faz)	5
1.2.3 Proliferasyon evresi (rekonstrüksiyon)	6
1.2.4 Doku yeniden şekillenmesi evresi (rejeneratif faz).....	7
1.3 Matriks Metalloproteinazlar (MMP'ler).....	9
1.3.1 Matriks metalloproteinazların (MMP'lerin) kronik yara ile ilişkisi	9
1.3.2 MMP'ler ve MMP'lerin sınıflandırılması	10
1.4 Biyomateryaller, Yara Örtüleri ve Kronik Yaralarda Kullanımları.....	14
1.5 <i>L. candidum</i> Bitkisi.....	17
1.6 Literatür Özeti.....	18
1.7 Amaç ve Kapsam	22
2.MATERYAL- METOT	25
2.1 Materyaller.....	25
2.1.1 Çalışmada kullanılan kimyasallar	25
2.1.2 Çalışmada kullanılan cihazlar	26
2.2 Metot.....	27
2.2.1 <i>L.candidum</i> bitkisinin temin edilmesi ve ekstraksiyon aşamaları.....	27
2.2.2 <i>L.candidum</i> bitkisinin karakterizasyonu	27
2.2.2.1 <i>L. candidum</i> bitkisinin toplam fenolik konsantrasyonu.....	27
2.2.2.2 <i>L. candidum</i> bitkisinin toplam flavonoid konsantrasyonu	28
2.2.2.3 <i>L.candidum</i> bitkisinin toplam protein içeriği	28
2.2.3 Çözücü ortamında etkileştirme (blend) ile biyomateryal hazırlanması	28
2.2.4 Biyomateryallerin karakterizasyonu	29
2.2.4.1 <i>In vitro</i> sıvı tutma kapasiteleri	29
2.2.4.2 ATR-FTIR	29
2.2.4.3 SEM.....	30
2.2.4.4 DMA	30
2.2.4.5 Yüzey temas açısı (hidrofilik/hidrofobiklik) ölçümü	30
2.2.5 Salınım deneyi.....	30
2.3 Biyoyumluluk Testleri	30
2.3.1 Hemoyumluluk testi	30
2.4 Sitotoksikite Testleri	31
2.4.1 Hücre kültürü işlemleri	31
2.4.1.1 Malzemelerin sterilizasyonu.....	31
2.4.1.2 Besiyerinin hazırlanması	31
2.4.1.3 Kandan lenfosit izolasyonu	32

İÇİNDEKİLER (devam)

	<u>Sayfa</u>
2.4.2 Sitotoksik çalışma	32
2.5 Antibakteriyel Test	33
2.6 Kollajenaz Aktivitesinin İnhibisyonu	33
2.7 Antioksidan Deneyi	34
2.7.1 DPPH antioksidan deneyi	34
2.7.2 ABTS ⁺ antioksidan deneyi	34
3. BULGULAR.....	35
3.1 <i>L. candidum</i> Bitkisinin Karakterizasyon Deneyleri Sonuçları	35
3.1.1 <i>L. candidum</i> bitkisinin toplam fenolik, flavonoid bileşik ve protein içeriği konsantrasyonu analizi sonuçları	35
3.2 Biyomalzemelerin Karakterizasyon Deneyi Sonuçları.....	36
3.2.1 <i>In vitro</i> sıvı tutma kapasitesi deneyi (şişme testi) sonuçları.....	37
3.2.2 ATR-FTIR sonuçları	38
3.2.3 SEM deneyi sonuçları	40
3.2.4 DMA deneyi sonuçları	42
3.2.5 Yüzey temas açısı (hidrofilik/hidrofobiklik) ölçümü sonuçları	44
3.2.6 Salınım deneyi sonuçları	45
3.3 Biyoyoumluluk Testleri Sonuçları.....	46
3.3.1 Hemouyumluluk deneyi sonuçları	46
3.4 Sitotoksisite Deneyi Sonuçları.....	46
3.4.1 MTS deneyi.....	46
3.5 Antibakteriyel Test Sonuçları	47
3.6 Biyomateryal Örneklerinin Kollajenaz Aktivitesinin İnhibisyonu Deneyi Sonuçları.....	49
3.7 Antioksidan Deneyi Sonuçları	50
3.7.1 DPPH antioksidan deneyi sonuçları.....	50
3.7.2 ABTS Antioksidan Deneyi Sonuçları	51
4. TARTIŞMA.....	52
4.1 <i>L. candidum</i> Bitkisinin Karakterizasyon Deneyi Sonuçları.....	52
4.1.1 <i>L. candidum</i> bitkisinin toplam fenolik konsantrasyonu ve toplam flavonoid konsantrasyonu analiz sonuçları	52
4.1.2 <i>L. candidum</i> bitkisinin toplam protein içeriği analiz sonuçları.....	54
4.2 Biyomateryallerin Karakterizasyon Analiz Sonuçları	54
4.2.1 <i>In vitro</i> sıvı tutma kapasiteleri sonuçları	55
4.2.2 ATR-FTIR analiz sonuçları.....	56
4.2.3 SEM-EDX analiz sonuçları.....	57
4.2.4 DMA analiz sonuçları	57
4.2.5 Yüzey temas açısı (hidrofilik/hidrofobiklik) ölçümü sonuçları	58
4.2.6 Salınım deneyi sonuçları	60
4.3 Biyoyoumluluk Analiz Sonuçları	62
4.3.1 Hemouyumluluk analiz sonuçları	62
4.4 Sitotoksisite Deneyi Sonuçları.....	63
4.4.1 MTS analiz sonuçları	63
4.5 Antibakteriyel Analiz Sonuçları	65
4.6 Kollajenaz (MMP) Aktivitesinin İnhibisyonu Analizi Sonuçları	66
4.7 Antioksidan Analizi Sonuçları.....	68
4.7.1 DPPH ve ABTS ⁺ antioksidan analizi sonuçları	68

İÇİNDEKİLER (devam)

Sayfa

5. SONUÇ VE ÖNERİLER	71
6. KAYNAKLAR	73
EKLER	86
EK A: Etik Kurul Kararı	87
ÖZGEÇMİŞ	89

ŞEKİL LİSTESİ

Sayfa

Şekil 1.1: <i>L. candidum</i> bitkisinin çiçeklenme döneminden alınan görüntüleri.....	24
Şekil 2.1: Poliakrilik asit (PAA), karboksimetil selüloz (CMC), hyaluronik asit (HA) polimerleri ve <i>L. candidum</i> bitki ekstraktı ile hazırlanan biyomateryal film görüntüleri ...	29
Şekil 2.2: Kandan lenfosit izolasyonu sırasında oluşan 4 katman.	32
Şekil 3.1: <i>L. candidum</i> bitki ekstraktının toplam fenolik madde içerikleri için gallik asit standardı kullanılarak çizilmiş kalibrasyon eğrisi	35
Şekil 3.2: <i>L. candidum</i> bitki ekstraktının toplam flavonoid madde içerikleri için kuersetin standardı kullanılarak çizilmiş kalibrasyon eğrisi	36
Şekil 3.3: <i>L. candidum</i> bitki ekstraktının toplam protein içeriği için sığır serum albümin standardı kullanılarak çizilmiş kalibrasyon eğrisi	36
Şekil 3.4: A1 (%89,5 PAA %9,5 CMC %1 HA), B1(%69,5 PAA %29,5 CMC %1 HA), C1 (%49,5 PAA %49,5 CMC %1 HA) biyomateryal örneklerinin zamana karşı (dk) <i>in vitro</i> sıvı tutma kapasitesi deney (şişme testi) sonuçları.	38
Şekil 3.5: PAA, CMC ve HA polimerlerinin FTIR analiz sonuçları	38
Şekil 3.6: A1 (%89,5 PAA %9,5 CMC %1 HA), B1 (%69,5 PAA %29,5 CMC %1 HA), C1 (%49,5 PAA %49,5 CMC %1 HA) biyomateryal örneklerinin FTIR analiz sonuçları.	39
Şekil 3.7: A2 (%84,38 PAA %9,28 CMC %1,265 HA %5,06 <i>L. candidum</i>) biyomateryal örneğinin 500X (1), 1000X (2), 2000X (3) SEM görüntüleri	40
Şekil 3.8 B2 (%66,53 PAA %28,48 CMC %0,99 HA %4,94 <i>L. candidum</i>) biyomateryal örneğinin 500X (1), 1000X (2), 2000X (3) SEM görüntüleri	41
Şekil 3.9: C2 (%48,12 PAA %48,12 CMC %0,97 HA %4,89 <i>L. candidum</i>) biyomateryal örneğinin 500X (1), 1000X (2), 2000X (3) SEM görüntüleri	42
Şekil 3.10 : A2 (%84,38 PAA %9,28 CMC %1,265 HA %5,06 <i>L. candidum</i>), B2 (%66,53 PAA %28,48 CMC %0,99 HA %4,94 <i>L. candidum</i>), C2 (%48,12 PAA %48,12 CMC %0,97 HA %4,89 <i>L. candidum</i>) biyomateryal örneklerinin DMA analizi Tan δ sonuçları	43
Şekil 3.11: A2 (%84,38 PAA %9,28 CMC %1,265 HA %5,06 <i>L. candidum</i>), B2 (%66,53 PAA %28,48 CMC %0,99 HA %4,94 <i>L. candidum</i>), C2 (%48,12 PAA %48,12 CMC %0,97 HA %4,89 <i>L. candidum</i>) biyomateryal örneklerinin DMA analizi depolama modülü (E') sonuçları	43
Şekil 3.12: A2 (%84,38 PAA %9,28 CMC %1,265 HA %5,06 <i>L. candidum</i>), B2 (%66,53 PAA %28,48 CMC %0,99 HA %4,94 <i>L. candidum</i>), C2 (%48,12 PAA %48,12 CMC %0,97 HA %4,89 <i>L. candidum</i>) biyomateryal örneklerinin DMA analizi kayıp modülü (E'') sonuçları.....	44
Şekil 3.13: A1, B1, C1 ve A2, B2, C2 konsantrasyonlarında hazırlanan biyomateryal örneklerinin yüzey temas açısı deneyi sonuçları	44
Şekil 3.14: <i>L. candidum</i> bitkisi özütünün farklı standart konsantrasyonları (mg/mL) ile 369 nm dalga boyunda ölçülen absorban değerleri arasındaki doğrusal ilişkiyi gösteren kalibrasyon eğrisi.....	45
Şekil 3.15: A2 (%84,38 PAA %9,28 CMC %1,265 HA %5,06 <i>L. candidum</i>), B2 (%66,53 PAA %28,48 CMC %0,99 HA %4,94 <i>L. candidum</i>), C2 (%48,12 PAA %48,12 CMC %0,97 HA %4,89 <i>L. candidum</i>) biyomateryal örneklerinin zamana bağlı birikimli salınım kinetiği	46
Şekil 3.16: A2, B2 ve C2 biyomateryal örneklerinin MTS deneyi sonuçları.	47
Şekil 3.17: A1 (%89,5 PAA %9,5 CMC %1 HA), B1 (%69,5 PAA %29,5 CMC %1 HA), C1 (%49,5 PAA %49,5 CMC %1 HA) biyomateryal örneklerinin <i>S. aureus</i> bakterisi (a) ve <i>E. coli</i> bakterisi (b) ile antibakteriyel deneyi sonuçları	48

ŞEKİL LİSTESİ (devam)

Sayfa

Şekil 3.18: A2 (%84,38 PAA %9,28 CMC %1,265 HA %5,06 <i>L. candidum</i>), B2 (%66,53 PAA %28,48 CMC %0,99 HA %4,94 <i>L. candidum</i>), C2 (%48,12 PAA %48,12 CMC %0,97 HA %4,89 <i>L. candidum</i>) biyomateryal örneklerinin <i>S. aureus</i> bakterisi (a) ve <i>E. coli</i> bakterisi (b) ile antibakteriyel deneyi sonuçları	48
Şekil 3.19: A2 (%84,38 PAA %9,28 CMC %1,265 HA %5,06 <i>L. candidum</i>), B2 (%66,53 PAA %28,48 CMC %0,99 HA %4,94 <i>L. candidum</i>), C2 (%48,12 PAA %48,12 CMC %0,97 HA %4,89 <i>L. candidum</i>) biyomateryal örneklerinin kollajenaz aktivitesinin inhibisyonu deneyi sonuçları	50
Şekil 3.20: A1, B1, C1 ve A2, B2, C2 biyomateryal örneklerinin DPPH reaktifi ile antioksidan deneyi sonuçları	51
Şekil 3.21: A1, B1, C1 ve A2, B2, C2 biyomateryal örneklerinin +ABTS reaktifi ile antioksidan deneyi sonuçları	51
Şekil A.1: Etik kurul sayfası 1. sayfası	87
Şekil A.2: Etik kurul kararı 2. sayfası	88

TABLO LİSTESİ

Sayfa

Tablo 1.1: MMP'lerin sınıflandırılması ve görevleri	11
Tablo 2.1: Çalışmada kullanılan cihazlar ve kullanılan cihazların marka ve modelleri.....	26
Tablo 3.1: <i>L. candidum</i> bitki ekstraktının toplam fenolik, flavonoid ve protein içeriği konsantrasyonu analizi sonuçları mg/g olarak sunulmuştur.....	35
Tablo 3.2: Biyomateryal örneklerinin isimlendirilmesi.	37
Tablo 3.3: Biyomateryallerin ATR-FTIR spektrumlarına ait pik tanımlamaları	39
Tablo 3.4: A2, B2 ve C2 biyomateryallerinin hemouyumluluk analizi sonuçları.....	46
Tablo 3.5: A1, B1, C1, A2, B2, C2 biyomateryal örneklerinin inhibisyon çapları.....	49

SEMBOL VE KISALTMA LİSTESİ

ABTS	: 2.2 azinobis-(3- etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit))
CMC	: Karboksimetil selüloz
DPPH	: 2.2.-Difenil-1-pikrihidrazil
DMA	: Dinamik mekanik analiz
ECM	: Ekstrasellüler matriks
FTIR-ATR	: Fourier Transform Infrared Attenuated Total Reflectance
HA	: Hyaluronik asit
MMP	: Matiks Metalloproteinaz
PAA	: Poliakrilik asit
PBS	: Phosphate Buffer Saline
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
SEM	: Taramalı Elektron Mikroskobu
TIMP	: Metalloproteinaz doku inhibitörleri

ÖNSÖZ

Üniversite yıllarımın başından itibaren, özellikle bu tez çalışması sürecinde her zaman değerli bilgilerinden esinlendiğim, yol göstericiliği ve motivasyonumu kaybettiğimde bana güvenen, manevi desteğini hiçbir zaman üzerimden esirgemeyen ve laboratuvarlarının kapısını açarak tüm laboratuvar imkanlarından yararlanmamı sağlayan sevgili danışman hocam Prof. Dr. Serap DOĞAN'a teşekkürlerimi sunarım.

Tez sürecimin her aşamasında bilgi birikimi ve yol göstericiliği ile yanımda olan ve yardımlarını benden asla esirgemeyen eş danışmanım Doç. Dr. Mehmet Emin Diken'e teşekkür ederim.

Disiplini, bilgi birikimi ve güler yüzü ile her zaman yanımda olan Doç. Dr. Begümhan YILMAZ KARDAŞ'a teşekkür ederim. Deney sürecimde laboratuvar imkanlarını benimle paylaşan, bilgi birikimlerinden esinlendiğim Prof. Dr. Mehmet DOĞAN ve Doç. Dr. Berna KOÇER KIZILDUMAN'a teşekkürlerimi sunarım.

Tez sürecim boyunca her zaman yanımda olan ve desteklerini esirgemeyen arkadaşlarım Uzm. Kardelen SEZGİN BEYDİLLİ'ye, Uzm. Sibel ATAY'a ve Uzm. Hanife Didem KARAKUŞ'a ve Dr. Nur YALÇIN'a teşekkür ederim. Uzak mesafede bile olsa hep yanımda duran canım arkadaşım Sena Nur ŞANLAN'a ve tez süreci kadar bu sürecin duygusal yükünü de benimle paylaşan, desteği ve sabrıyla yanımda olan Halil ÖZKAN'a teşekkür ederim.

Tez sürecim boyunca stres olduğumda benimle beraber stres olan canım kedim Memati'ye teşekkür ederim.

En önemlisi hayatım boyunca bana güvenen, beni koşulsuz seven, doğru ve yanlış öğretene ve zor günlerimizi beraber atlattığımız, ne olursa olsun yanımda olan canım annem ve babam; Şükran KARABAŞ ve Sadık KARABAŞ'a canım abilerim Serhat KARABAŞ ve Sertan KARABAŞ'a ve canım kardeşim Salim Ata KARABAŞ'a çok teşekkür ederim.

Tezimi 2210-C Öncelikli Alanlara Yönelik Yurt İçi Yüksek Lisans Burs Programı kapsamında destekleyen TÜBİTAK'a teşekkür ederim.

2023/152 nolu proje ile tezimi destekleyen Balıkesir Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimine teşekkür ederim.

Doğruluğu ve dürüstlüğü savunan, bilim için mücadele eden, bilimsel bilginin ilerlemesine katkı sağlayan herkese teşekkür ederim.

Balıkesir, 2026

Sertap KARABAŞ

1. GİRİŞ

Omurgalıların en büyük organı olarak bilinen deri, vücut kütlelerinin %10'unu oluşturmaktadır ve hem dış çevre hem de iç ortam arasında bariyer olarak görev almaktadır. Bu nedenle de savunma ve organizmanın hayatta kalması açısından oldukça büyük öneme sahiptir (Borena et al., 2015). Bu önemli görevlerinin yanında hidrasyon, D vitamini sentezinin başlatılması, atılım ve termal düzenleme, çeşitli tanıma, ayırt etme, entegre etme ve uygun yanıtları hemen başlatma yeteneği gibi farklı önemli görevleri de vardır (Jonidi Shariatzadeh et al., 2025; Tottoli et al., 2020). Buna karşılık olarak deri, hasardan en çok etkilenen yapı haline gelmektedir (Slominski et al., 2012). Cilt hasarları, işlevsel dengesizliğe yol açabilen cilt bütünlüğü kayıplarına neden olabilmekte ve hatta bu durum cilt hasarları sonucunda ölümle karşılaşabilme gibi ihtimaller ile insan vücudu için çok önemli bir tehdit oluşturabilmektedir (Borena et al., 2015; Tottoli et al., 2020). Deri, bir cilt hasarının düzeltilmesi için, hasarı sınırlamaya ve daha sonra deri hücreleri ile onarımı başlatmak için farklı mekanizmalara başvurmaktadır (Borena et al., 2015). Onarım süreci, lezyonu kapatmada rol oynayan hücrelerin, sitokinlerin ve büyüme faktörlerinin etkileşimini içermektedir (Tottoli et al., 2020).

Ciddi ve diyabetik ülserler gibi kronik yaraların yara iyileşmesi, diğer yaralanmalara göre enflamasyon, doku yenilenmesi ve yeniden şekillenmenin dışında daha karmaşık zamansal ve mekansal olay dizisini kapsamaktadır (Borena et al., 2015; Jonidi Shariatzadeh et al., 2025) Diyabetik ayak yaraları gibi iyileşemeyen yaralar enfeksiyonlar için tetikleyici bir ortam hazırlar. Bu durum, meme ve prostat kanseri gibi yaygın kanserlerden de düşük bir oranda 5 yıldan daha kısa bir sürede ölümle sonuçlanır. Özellikle kronik yaralar için yaralanmaların neden olduğu rahatsızlıklar, doku bütünlüğünün korunmasından ziyade, yara onarımı için tedavi yöntemlerinin sınırlanması ile alakalıdır (Hu et al., 2014) Yara iyileşmesini kolaylaştırmak için cilt doku mühendisliğindeki önemli gelişmelere rağmen, kronik yaralar, yanıklar ve diyabetik ülserler gibi ciddi yaralar için uygun maliyetli, invaziv olmayan, sürdürülebilir ve klinik olarak kabul edilebilir tedavi yöntemi bulabilmek adına yapılan çalışmalar hala yetersiz olarak görülmektedir (Jonidi Shariatzadeh et al., 2025). Tedavi yöntemlerindeki bu eksikliğin en önemli sebebi yara iyileşmesinin vücudumuzun gösterdiği en kompleks biyolojik süreçlerden biri olmasıdır (Eming et al., 2014).

Kronik yaralar bütün ülkeler için önemli bir sağlık sorunu teşkil etmektedir. Son yıllarda Türkiye’de de giderek artan diyabet, ülser gibi hastalıklar kronik yaraların başlıca sebepleri olup hem hastanın hayat kalitesini düşürmekte hem de güncel bir tedavi yöntemi geliştirilmediği için ekonomik açıdan bir yük oluşturmaktadır (Türkiye diyabet programı). Yara iyileşmesini geciktiren birçok faktör bulunmakla beraber yara ortamında yüksek seviyelerde bulunan proteazlar, özellikle matriks metalloproteinazlar yara tedavisinde en önemli parametrelerden biri olarak değerlendirilmektedir (Demidova-Rice et al., 2012). Bu nedenle, kronik yaralarda iyileşmeyi daha iyi yönde etkileyebilmek için proteaz seviyesini azaltıcı yara örtü malzemeleri tasarlanabilir. Yara sıvısında bulunan fazla proteaz seviyesini azaltmak için proteazlar direkt absorbe edilebilir ya da proteaz inhibitörleri kullanılabilir (McCarty & Percival, 2013). Literatüre bakıldığında proteazları absorblayan yara örtü malzemesi tasarlanması ile ilgili yapılan çalışmaların sayıca az olduğu görülmüştür. Bu çalışmada yüksek sıvı absorblama kapasitesi ile tanınan süper emici polimerler; poliakrilik asit (polyacrylic acid, PAA) ve karboksimetil selülozun (carboxymethylcellulose, CMC) çözücü uzaklaştırma (blend) yöntemi ile hazırlanıp hyalüronik asit (hyaluronic acid, HA) ve yüksek antibakteriyel ajanlar içeren *Lilium candidum* çiçek özütü ile desteklenerek emiciliği yüksek yeni bir yara örtü malzemesi tasarlanması ile kronik yaralar için ideal bir tedavi imkanı olabilmesi amaçlanmıştır.

1.1 Derinin Genel Anatomisi ve Derinin Fonksiyonları

Deri, su ve vücudun diğer bileşenlerinin çevreye zarar vermesini önlemek ve vücudu çeşitli çevresel hareketlerden korumak gibi işlevleri ile hayati bir rol üstlenmektedir. Bunların yanı sıra deri termal regülasyon sağlama, D vitamini sentezi, bağışıklık ve duyuşal işlevleri ile de bilinmektedir (Wickett & Visscher, 2006). Yaklaşık olarak 1,5-2,0 metre yüzey alanına sahip kalınlık, esneklik ve mukavemet olarak epidermal ve dermal organizasyon bakımından farklılık gösteren katmanlardan oluşmaktadır. Bu katmanlar epidermis, dermis ve hipodermis olmak üzere 3’e ayrılmaktadır (Balasubramani et al., 2001; Brohem et al., 2011). Cildin en dış katmanı olarak bilinen epidermis, vücudu çevre ile ayıran geçirimsiz bir sınır görevi görmektedir. Epidermis katmanının altında bulunan katman ise dermis olarak bilinir ve bu katman kolajen bakımından zengin ve cilde esneklik karakterini kazandıran güçlü bağ dokusundan oluşmaktadır. Epidermis ve dermis katmanları, bazal membran olarak bilinen hücre dışı matris (ECM) ile ayrılmaktadır (Brohem et al., 2011). Dermisin altında bulunan hipodermis tabakası ise bir enerji kaynağı olarak görev almakta ve esas olarak yağ dokusu ve kolajenden oluşmaktadır (Pereira et al., 2013).

Epidermal tabaka, çoğunluk olarak keratinosit hücrelerinden oluşmaktadır. Aynı zamanda epidermal tabakada dentrik bağışıklık hücreleri olan Langerhans hücreleri, melanozomlar adı verilen pigment granüllerini üreten melanositler ve duyuşsal rol oynadığı düşünölen Merkel hücreleri gibi 3 önemli hücre tipi daha bulunmaktadır (Brohem et al., 2011; Pereira et al., 2013). Epidermal tabaka vücuttan pasif su kaybını önleme, çevreden kimyasal emilimini azaltma ve oluşabilecek mikrobiyal enfeksiyonları engelleme görevleri ile bilinmektedir (Wickett & Visscher, 2006). Dermal tabaka endotel hücreleri, düz kas hücreleri, mast hücreleri ile hücre dışı matris proteinlerinin sentezi ve birikmesinden sorumlu fibroblastlar hücrelerini içeren birleşik bir yağ dokusunu kapsamaktadır. Hücre dışı matris (ECM), temel madde olarak glikozaminoglikan ve proteoglikan, lifli bileşenlerden kolajen ile elastik lifler ve yapısal glikoproteinler olan fibronektin ile tenasinden oluşmaktadır (Pereira et al., 2013). Dermal proteinlerin yaklaşık olarak %70'ini oluşturan kolajenler esas olarak cilt elastikiyetinden sorumludurlar (Rolin et al., 2012). Dermiste kıl foliköleri, kan damarları, lenfatik damarlar, sinirler, yağ ve ter bezleri de bulunmaktadır (Balasubramani et al., 2001). Cildin mekanik davranışı doğrudan dermal tabaka ile ilişkilendirilmektedir. En içteki hipodermis tabakası yağ dokusunu oluşturan adiposit hücrelerini, damar sistemini ve sinirsel hücreleri içermektedir, enerji rezervi olarak görev almaktadır ve cilt plastisitesinden de sorumludur (Pereira et al., 2013; Rolin et al., 2012). Bu tabaka sadece cildin termoregölatör ve mekanik özelliklerini düzenlemekle sınırlı kalmaz, aynı zamanda epidermal ve dermal tabakaların da düzenlenmesinde önemli rol oynamaktadır. Hipodermis yara iyileşmesini destekleyici, fibroblast ve keratinosit hücrelerinin çoğalmasını düzenleyici etkisi ile de bilinmektedir (Zimoch et al., 2021).

1.2 Yara ve Yara Çeşitleri

Vücuttaki içsel faktörler, dış fiziksel ve kimyasal travma ve termal radyasyon gibi faktörler nedeniyle vücudun bütönlüğünün, normal anatomik yapısının ve doku işlevselliğinin bozulması yara olarak isimlendirilmektedir (Fu et al., 2024). Derinin hasar alması sonucu, koruyucu bariyerin yokluğu ile yara yatağı ve alttaki dokular mikrobiyal ajanlara fırsat sunarak kontaminasyona karşı savunmasız hale gelebilmekte ve enfeksiyonlara neden olabilmektedir (Uberoi et al., 2024).

Yaralar akut ve kronik olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Akut yaralar genellikle travma veya cerrahi operasyon gibi aniden oluşabilen geçici bir etkenin neden olduğu ve fizyolojik iyileşme sürecinin bozulmadan, kısa sürede gerçekleştiğı yaralardır (Süntar, 2011; Öztaş,

2021) Akut yaralar açık ve kapalı tip yaralar olmak üzere kendi içinde iki ana gruba ayrılmaktadır. Deri bütünlüğü bozulmuş yaralar açık yaralar olarak adlandırılırken, deri bütünlüğü sağlam kalırken deri altındaki yumuşak dokunun hasar görmesi sonucu oluşan yaralar kapalı yaralar olarak adlandırılmaktadır. Açık yaralara kesikler, yanıklar, delici alet yaralanmaları gibi yaralanmalar örnek verilebilir. Kapalı yaralara ise hematomlar, ezikler, morluklar (kontüzyon) örnek olarak verilebilmektedir (Enoch & Leaper, 2008; Leaper et al., 2012).

Akut yara iyileşmesi, iyi koordine edilmiş birbirine bağlı ve örtüşen bir dizi hücrel ve moleküler reaksiyonları içerdiği için karmaşık bir süreç olabilmektedir (Cedillo-Cortezano et al., 2024; Gounden & Singh, 2024). Yara iyileşmesinin birincil amacı cildin bütünlüğünü ve işlevselliğini korumak, cilde optimum performansını geri kazandırmaktır (Fu et al., 2024b). Kronik yaralar, yara iyileşme sürecinde meydana gelen aksaklıklar nedeniyle yaranın 3 ay ve daha uzun süre iyileşemediği durumları tanımlamaktadır (Enoch & Leaper, 2008; Erkin vd., 2022). Kronik yaralar yapılan araştırmalara göre; diyabetik ayak ülserleri gibi metabolik yaralar, bası yaraları, vasküler yaralar, enfektif yaralar, malignite yaralar, hematolojik yaralar, periferik damar hastalıkları, yanık, donma ve radyasyon gibi klinik tablolarla ilişkilendirilebilir (Enoch & Leaper, 2008; Guo & DiPietro, 2010; Süntar, 2011). Kronikleşmenin temelinde sıklıkla enflamasyon evresinde uzama, proliferasyon aşamasında bozulma ve hücre dışı matris dengesinin kaybı etkili olmaktadır (Guo & DiPietro, 2010). Akut yaralarda anabolik ve katabolik metabolizma dengesi söz konusuysen kronik yaralarda bu denge bozulmuş ve katabolik metabolizma ön plana çıkmıştır (Süntar, 2011). Akut yara iyileşmesinde matriks metalloproteinaz (MMP)'lar hücre dışı matrisin yıkımında görev alırken, kronik yaralarda bu enzimlerin aşırı üretimi ve yara bölgesinde birikmesi ECM'in yeniden şekillenmesini olumsuz yönde etkilemektedir (Nwomeh et al.,1998; Nandhini et al., 2024). Aynı zamanda yara iyileşmesinde önemli rolleri bulunan fibroblastların fonksiyonunda azalma ve kolajen üretiminde yaşanan olumsuzluklar yara iyileşmesini sekteye uğratabilmektedir. Yara bu süreçte, yara iyileşmesi için en önemli aşamayı yani granülasyon dokusu oluşumunu atlayarak devam edebilmektedir. Bu moleküler bozukluklar, kronik yaraların akut yaralarda kullanılan klasik tedavi yöntemlerine dirençli hale gelmesinin başlıca nedenlerindedir (Nwomeh et al., 1998).

Normal yara iyileşmesi başlıca dört ana aşamayı yani; hemostaz (pıhtılaşma), inflamasyon (eksüdatif faz), proliferasyon (rekonstrüksiyon) ve doku yeniden şekillenmesi (rejeneratif faz) aşamalarını içermektedir ve tam yara kapanması 3-14 gün içinde gerçekleşmektedir (Cedillo-Cortezano et al., 2024; Uberoi et al., 2024).

1.2.1 Hemostaz evresi (pıhtılaşma)

Yara iyileşmesine ilk fizyolojik yanıt pıhtılaşma yani hemostazdır (Hakan, 2008). Amacı vazokonstriksiyon olarak bilinen kan damarlarının kısıtlanması ile kanamayı durdurmak ve geçici bir matris oluşturmaktır. Bir yaralanma meydana geldiğinde, pıhtılaşma mekanizmaları aktive olur ve fibrin polimerizasyonu ile trombositler devreye girerek geçici bir örtü oluşturur. Trombositlerin gerçekleştirdiği işlem yara bölgesinde dermisten açığa çıkan kolajene yapışarak pıhtı oluşumu başlatmaktır. Ek olarak, bu süreçte lezyonu onarmak için toplanmış trombositler degranülasyona uğrayarak büyüme faktörlerini ve dönüştürücü büyüme faktörlerini (TGF'ler), trombosit türevli büyüme faktörleri (PDGF) ve trombosit faktörü 4 gibi kemotaktik faktörleri serbest bırakır ve yara iyileşme sürecindeki diğer aşamalar için temel sağlar (Hakan, 2008; Choudhary et al., 2024; Gounden & Singh, 2024).

1.2.2 İnflamasyon evresi (eksüdatif faz)

Hemostazı takiben, inflamasyon hücresel hasardan sonra ilk 72 saat içinde başlar (Gounden & Singh, 2024). İltihaplanma, mikrobiyal ajanlar ve vücut tarafından üretilen hasarlı hücreleri de içermek üzere zararlı etkenlere karşı savunma mekanizmasıdır. İltihaplanma süreci yeterli işlev görmediğinde, enfeksiyonlar kontrolsüz bir şekilde gelişmekte ve böylece organlarda yıkıcı süreçler başlatarak tamamen işlev kaybına neden olabilmektedir. İltihaplanma süreci; şişlik, ısı, kızarıklık, ağrı ve işlev kaybı gibi klasik işaretler kullanılarak klinik olarak değerlendirilebilmektedir (Cedillo-Cortezano et al., 2024).

İnflamasyon evresindeki ilk hücresel yanıt, lökositlerin yara yatağına göçüyle başlamaktadır (Gounden & Singh, 2024). Nötrofiller, lezyonun bulunduğu bölgeye ilk gelen ve akut inflamasyonu başlatan lökositlerdir. Bu bağıışıklık hücreleri, bakterisidal ve fagositik özellikleri ile lokal bakteriyel kontaminasyonu ve patojenleri uzaklaştırarak enfeksiyon oluşumunu engelleyen hücrelerdir (Choudhary et al., 2024). Nötrofiller ilk 24 saatlik süre içerisinde yara bölgesinde harekete geçer ve 2 ila 5 gün gibi bir süre ile yarada aktif halde bulunurlar (Gounden & Singh, 2024). Bu süre içerisinde lezyonun çevresindeki

kan damarları genişler ve kan akışı artar bu nedenle lokal kızarıklık ve ateş ile lezyon çevresinde hassasiyete neden olabilmektedir (Cedillo-Cortezano et al., 2024). Nötrofil infiltrasyonu, yara oluşumunda pik yaptığı zaman monositlerin yara yatağına göçü ile yavaşça azalmaya başlamaktadır. Monositler, yara yatağına göç sonucunda aktive olarak makrofajlara dönüşürler ve nötrofillere benzer şekilde bakterilerin yok edilmesinde ve yara yatağının temizlenmesinde görevlidirler. Ayrıca makrofajlar, yara iyileşmesinde hücrel ve biyokimyasal mekanizmaları etkileyen birçok büyüme faktörünün, granülasyon dokusunun oluşumunu uyarmak için gerekli olan ve hücrel büyümeyi kolaylaştıran sitokinler (PDGF, TGF- β , fibroblast büyüme faktörü (FGF) ve VEGF) gibi farklı büyüme faktörlerini sentezlemektedir ve ECM içerisindeki moleküllerin sentezlenmesinden sorumludurlar. Bu önemli işlevleri ile yara onarımında sonraki aşamalar için gerekli ortamı sağlamaktadırlar (Hakan, 2008; Cedillo-Cortezano et al., 2024; Gounden & Singh, 2024).

1.2.3 Proliferasyon evresi (rekonstrüksiyon)

Yara iyileşmesinde, inflamasyon evresinden proliferasyon yani yayılma evresine geçiş hayati önem taşımaktadır (Gounden & Singh, 2024). Proliferatif faz 3 ila 4. günler arasında başlamakta ve yaralanmadan sonra 2-4 haftaya kadar sürmektedir (Enoch & Leaper, 2008; Cialdai et al., 2022). Temel amacı, anjiyogenez ve fibroblast göçü ile hasarlı dokuyu en aza indirmek ve böylece yaranın kapanması için keratinosit hücrelerinin aktivasyonunu uyaraabilen etkili bir epitel alan yaratmaktır (Gounden & Singh, 2024). Fibroblastlar yara iyileşmesi sürecinde yara bölgesine göç ederek yaranın içine girdikten sonra çoğalır ve ardından matris hücreleri fibronektin, hyaluronan ve sonra kolajen ve proteoglikanları sentezler (Enoch & Leaper, 2008; Choudhary et al., 2024). Bu evrede, epitelizasyonu destekleyerek granülasyon dokusunun oluşumu için inflamasyon evresinden kalan inflamatuvar hücreler ve göç eden epidermal ve dermal hücreler tarafından sentezlenen büyüme faktörleri, hücrel göçü başlatırken hücrel proliferasyonu aktive etmek ve sürdürmek için otokrin ve parakrin yan yana hareket etmektedir (Demidova-Rice et al., 2012).

Kolajenler hücre dışı matrisin ana bileşenleridir, tüm vücut dokularına güç ve bütünlük sağlarlar ve çapraz bağlanması ile oluşturdukları fibriller sayesinde bağ dokusunun çoğunluğunu oluşturarak yara onarımında büyük etkiye sahiptirler (Enoch & Leaper, 2008). Fibroblastlar esas olarak granülasyon dokusunda düzensiz bir ağ halinde düzenlenmiş olan olgunlaşmamış kolajen III'ü üretirler ve daha sonra yara iyileşmesi

olumlu yönde geliştikçe düzenli bir skar (yara izi) dokusu elde etmek üzere kolajen III yıkılarak epidermise paralel olarak düzenlenmiş daha esnek kolajen I olarak devam eder (Fu et al., 2024). Bir taraftan kolajen sentezi devam ederken, diğer taraftan da geçici matristeki fibrin, fibronektin ve proteoglikanlar, serin proteazlar tarafından yıkılmaktadır (Hakan, 2008). Fibronektin, hücre dışı matriste bulunan kolajen, fibrin ve proteoglikanlar gibi bileşenlere bağlanan ve ayrıca hücre integrinlerine bağlanabilen proteinlerdir. Yapışkan matris proteinlerinden biri olan fibronektinler, hücrelerin bağlanmasına, yayılmasına, göçüne ve hücre içi sinyal yollarının aktive edilmesine yardımcı olmaktadır. Hücre içi sinyal yollarının aktif hale getirilmesi ile endotel hücreleri gibi belirli hücrelerin büyüme faktörlerinin proliferatif etkisine duyarlılığını artırma etkileri vardır. Proteoglikanlar ise glikozaminoglikanlardan oluşmaktadır. Hücre dışı matrisin (ECM'nin) geçirgenliğini, yapısını düzenlemekle ve hücrelerin büyümesini ve farklılaşmasını modüle etmekle görevlidirler. İntegrinler, ECM ve hücre iskeleti arasındaki fonksiyonun bütünlüğünü korumaktadırlar (Enoch & Leaper, 2008).

Yara iyileşmesinde granülasyon dokusunun oluşumu 3-5 gün içinde gerçekleşmektedir. Oluşan doku yumuşak, pembe, pürüzlü bir yapıya sahiptir. Histolojik olarak, hücre dışı matriste artan fibroblastlar ve kılcal damarların birlikte oluşturduğu yapı ile ifade edilmektedir (Enoch & Leaper, 2008). Büyüyen dokuyu desteklemek amacıyla sağlam bir damar ağının kurulması endotel hücreleri tarafından gerçekleştirilir (Cedillo-Cortezano et al., 2024; Choudhary et al., 2024). Anjiyogenez ya da yaralanan bölgede önceden var olan damarlardan yeni kan damar ağının oluşumu birçok etmen tarafından düzenlenen fizyolojik bir süreçtir. Anjiyogenezin amacı, inflamatuvar araçları ve metabolik atıkları temizlemek, aynı anda yaralı dokulara oksijen ve besin desteği sağlamaktır (Choudhary et al., 2024; Fu et al., 2024). Miyofibroblastlar ise, kasılma ve matris salgılama yetenekleri ile yara kasılmasına yardımcı olarak kenardan merkeze doğru hareket ile yara bölgesinin alanını azaltmaktadırlar (Fu et al., 2024). Bu dinamik mekanizmanın bozulması, kronik yaraların gelişimine ortam sağlayacak yönde etki gösterebilir (Enoch & Leaper, 2008). Bu nedenle yara iyileşmesinin normal sürecinde devam edebilmesi için anjiyogenik yanıt başlama ve sürdürülme aşamaları kontrollü ilerlemelidir (Demidova-Rice et al., 2012).

1.2.4 Doku yeniden şekillenmesi evresi (rejeneratif faz)

Yara iyileşme sürecinin son aşaması olarak bilinen olgunlaşma evresi, yaranın oluşumundan yaklaşık olarak 2 ila 3 hafta sonra başlayıp bir yıla kadar devam edebilen

uzun bir süreçtir (Gounden & Singh, 2024). Yara iyileşme süreci rejeneratif fazda daha güçlü bir şekilde seyretmektedir (Cedillo-Cortezano et al., 2024). Bu evrede yara, onarıcı bir durum içerisinden çıkıp yeniden şekillenme durumuna dönüşür ve cildin eski yapısı ve işlevleri kademeli olarak geri kazandırılmaya odaklanılmaktadır (Fu et al., 2024). Buna rağmen, yaralanmış doku asla eski işlevsellik ve fonksiyonelliğine ulaşamaz ve ortalama olarak 3 ayda sağlam doku gerilme mukavemetinin %50'si ve uzun süreçte en fazla %80'ine ulaşabilmektedir. Olgunlaşma evresinde kolajen proteini ve elastin liflerinin oluşturduğu yapı, proliferasyon aşamasında oluşturulan granülasyon dokusunun yerini almaktadır (Kondo & Ishida, 2010; Singh et al., 2017). Yarada biriken kolajen ve diğer proteinler giderek daha organize hale geldikçe kolajenolitik aktivite ve kolajen sentezi arasında bir denge kurulmaktadır (Hakan, 2008; Singh et al., 2017). Bu mekanizmada granülasyon dokusunda kolajen tip I'den daha bol bulunan kolajen tip III, yeniden şekillenme sürecinde daha aktif bir düzeyde parçalanır ve fibroblastlar tarafından daha güçlü kolajen I üretimi gerçekleştirilerek yara dokusunda gerilim kuvvetinde bir artış ve kolajen miktarında azalış yaşanmaktadır (Sorg & Sorg, 2023; Cedillo-Cortezano et al., 2024). Bu süreç makrofajlar, fibroblastlar ve endotel hücreleri tarafından salgılanılan birkaç matris metalloproteinazların (MMP) ve metalloproteinazların doku inhibitör (TIMP)'lerinin farklı kombinasyonları ile düzenlenmektedir (Kondo & Ishida, 2010; Sorg & Sorg, 202; Fu et al., 2024). Metalloproteinazlar, çapraz bağlama ve yeniden düzenleme yetenekleri ile yara elastikiyeti ve esnekliğini arttırarak skar (yara izi) dokusunda güçlenme meydana getirmektedirler. Yara iyileşmesi gerçekleştikçe yara alanı giderek azalır ve aşırı onarım ve yara izi oluşumunu engellemek için yara ortamında bulunan fazla hücreler apoptoz yoluyla uzaklaştırılır (Fu et al., 2024). Rejeneratif faz ilerledikçe vaskülerite seviyesinde azalış meydana gelir ve yara zamanla kırmızıdan pembeye, pembeden griye renk değiştirmektedir (Singh et al., 2017).

Yara iyileşmesi yukarıda bahsedildiği gibi belirli moleküler mekanizmaları izleyerek ilerlese de ek olarak hasta yapısı ve yaşı, hastanın beslenme durumu, vasküler değişiklikler, yaradaki lokal nem oranı, enfeksiyon, infiltrasyon gibi etmenlerin yara iyileşmesinin kalitesi üzerinde önemli etkileri olabilmektedir (Cedillo-Cortezano et al., 2024; Fu et al., 2024). Bir yaranın iyileşmesi inflamatuvar yanıt aşamasının mükemmel bir şekilde düzenlenmesini gerektirir, uzun süreli ve düzensiz inflamatuvar yanıtlar gecikmiş ve tıkanmış kronik yaralara veya ülserlere sebep olabilir. Diyabetik ayak ülserleri gibi kronik yaralar, yüksek morbidite ve artan tedavi masrafları gibi olumsuz sonuçlara neden

olmaktadır. Diyabet hastalarında meydana gelen bu kronik yaralar amputasyon vakaları ile sonuçlanabilmektedir (Cañedo-Dorantes & Cañedo-Ayala, 2019; Cedillo-Cortezano et al., 2024; Fu et al., 2024).

1.3 Matriks Metalloproteinazlar (MMP'ler)

1.3.1 Matriks metalloproteinazların (MMP'lerin) kronik yara ile ilişkisi

Akut yara iyileşmesinin aksine diyabetik, basınç ve venöz ülser gibi kronik yaralar, üç ay veya daha uzun sürede iyileşemeyen ve dünya genelinde milyonlarca hastayı etkileyerek sağlık hizmetleri açısından büyüyen bir endişe kaynağı olarak görülmektedirler (Caley et al., 2015; Ramey-Ward et al., 2024). Matriks metalloproteinazlar (MMP'ler), normal yara iyileşmesinde doku onarımı sırasında ekstrasellüler matrikste bulunan proteinleri parçalama görevlerine rağmen aşırı ekspresyonun sonuçları ile yara yatağında uzun süre birikerek, yanlış konumlarda bulunarak kendi substratları olmayan proteinleri parçalamaya başlarlar (Nguyen et al., 2016). Bu da matriks metalloproteinazların normal yara iyileşmesi sürecinde gerekli görülen büyüme faktörlerinin, reseptörler ve ECM proteinlerinin parçalanmasına, sonuç olarak yaralarda inflamatuvar aşamada takılı kalarak kronikleşmeye neden olmaktadır (Caley et al., 2015; Nguyen et al., 2016).

Cilt içindeki MMP'ler, çok sayıda farklı hücre tipi (fibroblastlar, makrofajlar, keratinositler, endotel hücreleri, monositler ve lenfositler gibi hücreler) ile üretilmektedirler. Matriks metalloproteinazların ekspresyonu; hormonlar, sitokinler, diğer hücre tipleriyle ya da hücre dışı matriks ile temas gibi çeşitli sinyallere yanıt olarak indüklenebilmektedir (Caley et al., 2015). Örneğin; diyabetli hastalarda, yüksek glukoz seviyelerine sürekli maruz kalmak, sinirsel, makro-vasküler ve mikro-vasküler hasarlara ve düşük bağışıklık yanıtına neden olur. Bu da iyileşemeyen diyabetik ülser yaraları ile sonuçlanmaktadır. Buna benzer kronik yara ülseleri, çoğunlukla dokulara yeterli kan akışının sağlanamaması (doku iskemi) ya da sürekli stres nedeni ile daha da kötüleşebilmektedir. Ek olarak, diyabetes mellitus (DM) ile ilişkilendirilmiş yaralar, bağışıklık sisteminin hasar görmesi sebebiyle bakteriyel enfeksiyonlara daha yatkındır (Chen et al., 2023). Bu durum iltihabi hücrelerin belirgin bir şekilde birikmesine ve biriken bu hücrelerin çeşitli reaktif oksijen türleri (ROS) üretmesine, sonuç olarak ECM yapısal bileşenlerinin yok edilmesine neden olmaktadır (Chen et al., 2023; Nandhini et al., 2024). Aynı şekilde, proinflamatuvar sitokinler ve yüksek ROS düzeyi MMP'lerin ekspresyonunu indükleyerek ve metalloproteinazların doku inhibitörleri (TIMP) gibi proteinaz

inhibitörlerinin seviyelerinde önemli miktarda azalışa neden olarak yara iyileşmesini daha da olumsuz etkilemektedir (Wlaschek & Scharffetter-Kochanek, 2005; Chen et al., 2023; Nandhini et al., 2024). Bu biyolojik olayların bir sonucu olarak, diyabet hastalarında özellikle ayaklarda yara oluşumu görülmektedir. Bu kronik yaralara uygun yara bakım tedavisi uygulanmadığı takdirde ampustasyon gibi olumsuz sonuçlara neden olabilmektedir (Falanga, 2004; Chen et al., 2023).

1.3.2 MMP'ler ve MMP'lerin sınıflandırılması

Hem akut hem de kronik yaralarda bulunan MMP'ler, normal yara iyileşme sürecinde doku yeniden yapılanması, inflamasyonun çözülmesi ve hücre göçü gibi süreçlerde düzenleyici rol oynamaktadır (Caley et al., 2015). MMP'ler birbirine yapı ve işlev bakımından benzeyen, protein hidrolazlardan oluşan Zn^{2+} ve Ca^{2+} bağımlı endopeptidazlar olarak bilinen bir enzim ailesidir (S. Eming et al., 2008; Caley et al., 2015; Wang et al., 2024). Bu enzimler, son 60 yılda omurgasızlarda 28 farklı MMP aile üyesi olarak tanımlanmıştır, bunlardan en az 23 tanesi insan dokularında işlevsel olarak görevlidir ve 14 tanesi de damar sisteminde fonksiyonel olarak ifade edilmektedir (K. Chen et al., 2023). MMP'lerin ilk kez 1962 yılında, kurbağa larvası kuyruğunun metamorfozu sırasında ECM yıkımı ile ilişkisi olduğu düşünülmüş ve larvanın deri, solungaç ve bağırsaklarında kolajen yıkımı ile kolajenin üçlü sarmal yapısının bozulmasını gözlemleyen Jerome Gross ve Charles Lapierre tarafından interstisyel kollajenaz (MMP-1) adı verilmiştir (; Gross & Lapierre, 1962; de Almeida et al., 2022; K. Chen et al., 2023).

MMP'ler yapısal ve fonksiyonel özelliklerine, bölgesel düzenlenme biçimlerine ve substrat seçiciliğine göre bazı kaynaklarda altı bazı kaynaklarda yedi alt gruba ayrılarak sınıflandırılmaktadır. Bu gruplar Tablo 1.1'de gösterildiği gibi kollajenazlar, jelatinazlar, stromelizinler, matrilizinler, metalloelastazlar, membran tip MMP'ler (MT-MMP'ler) ve diğer MMP'lerden oluşmaktadır (Caley et al., 2015; Pulido-Olmo et al., 2017; K. Chen et al., 2023).

Tablo 1.1: MMP'lerin sınıflandırılması ve görevleri

MMP Kategorisi	MMP Adı	Hedef Substratlar	Görevler
Kollajenazlar	MMP-1 (Kollajenaz-1)	Kolajen (I, II, III, VII, VIII, X), kazein, entaktin, laminin, pro- MMP-1, -2, -9 ve serpins	Epitelizasyonu teşvik eder, osteojenik farklılaşmayı destekler, M2 makrofaj polarizasyonu sağlar
	MMP-8 (Kollajenaz-2)	Kolajen (I-III, V, VII, VIII, X), jelatin, agrekan, fibronektin	Kolajen afinitesini artırır, b-FGF salınımı, anti-enflamatuar etki
	MMP-13 (Kollajenaz-3)	Kolajen (I-III, IV, VII, VIII, X), jelatin, agrekan, fibronektin	Hücre göçünü destekler
Jelatinazlar	MMP-2 (Jelatinaz-A)	Jelatin, kolajen (IV-VI, X), elastin, fibronektin	Bazal membranı yıkar, MMP-13'ü aktive eder, anjiyogenezi teşvik eder, hücre göçünü destekler
	MMP-9 (Jelatinaz-B)	Jelatin, kolajenler (IV, V, VII, X, XIV), elastin, fibrillin, osteonektin	Bazal membranı yıkar, Pro-MMP-9'u aktive eder nötrofilleri çağırır, anjiyogenezi ve hücre göçünü destekler
Stromelizinler	MMP-3 (Stromelizin-1)	Laminin, agrekan, jelatin, fibronektin	Tip III kolajen üretimini azaltır, farklı ECM bileşenlerinin yıkımı, hücre yüzeyi reseptörlerinin işlenmesi

Tablo 1.1 (devam)

Stromelizinler	MMP-10 (Stromelizin-2)	Kolajen (III–V), jelatin, kazein, agrekan, elastin, MMP-1,8	Pro-MMP-1 ve 8'i aktive eder
	MMP-11 (Stromelizin-3)	Fibronektin, laminin, agrekan, jelatin	Kolajen III üretimini azaltır
Matrilizinler	MMP-7	Kolajen (IV–X), fibronektin, laminin, jelatin, agrekan, pro-MMP-9	Epitel hücrelerinin göçü, yara kapanması
	MMP-26	Jelatin, kollajen IV, proMMP-9	Onarımda görevli
Metalloelastazlar	MMP-12	Elastin, jelatin, kolajen I, IV, fibronektin, laminin, vitronektin, proteoglikan	Monositleri çeker, makrofaj göçü, inflamasyonun çözülmesi
Membran Tip MMP'ler	MMP-14 (MT1-MMP)	Kolajen (I, II, III), jelatin, fibronektin, laminin	Pro-MMP-2'yi aktive eder, hücre göçünü teşvik eder, ECM sertliğini düzenler
	MMP-15 (MT2-MMP)	Fibronektin, laminin, agrekan, perlekan	Hücre göçünü teşvik eder
	MMP-16 (MT3-MMP)	Kolajen III, jelatin, kazein	Pro-MMP-2'yi aktive eder
	MMP-17 (MT4-MMP)	Fibrinojen, TNF öncülü	Sitokinleri aktive eder
	MMP-24 (MT5-MMP)	Proteoglikanlar	Pro-MMP-2'yi aktive eder
	MMP-25 (MT6-MMP)	Jelatin	Pro-MMP-9'u aktive eder

Tablo 1.1 (devam)

Diğer MMP'ler	MMP-19	Laminin, jelatin	ECM yeniden şekillenmesi
	MMP-20 (Enamelisin)	Amelogenin	Mineralizasyon sürecinin düzenlenmesi
	MMP-21	Henüz tam bilinmiyor	Bilinmiyor
	MMP-23 (CA-MMP)	Jelatin	Pro-MMP-2'yi aktive eder
	MMP-27	Jelatin	Bilinmiyor
	MMP-28 (Epilisin)	Kazein	Onarım ve doku homeostazı

Tipik olarak MMP'ler ortak yapısal özelliklere sahiptir (K. Chen et al., 2023). MMP ailesini kodlamak için 24 farklı gen bulunmaktadır. Bu genler; değişken uzunlukta bir sinyal peptid bölgesi, 80 amino asitlik bir propeptid bölgesi, 160 amino asitlik bir katalitik metalloproteinaz bölgesi, katalik ve hemopeksin benzeri bölgeleri birbirine bağlayan hinge (bağlantı) bölgesi ve yaklaşık 200 amino asit uzunluğunda hemopeksin benzeri bölgeden oluşan 5 farklı gen bölgesiyle kodlanmaktadır (Görüroğlu Öztürk, 2013; Cerofolini et al., 2019; K. Chen et al., 2023).

Genellikle MMP'ler fizyolojik koşullarda proteolitik olarak aktive edilmesi gereken inaktif zimojen (pro-enzim) formlarında sentezlenirler (Wlaschek & Scharffetter-Kochanek, 2005). N terminal ucundan başlayan sinyal peptid bölgesi, pro-enzim sekresyonunda görev yapmaktadır. Propeptid bölge MMP enziminin inaktif formda kalmasını sağlayan ve enzim proteolitik olarak aktive edildiğinde enzim yapısından ayrılan bölgedir (Cerofolini et al., 2019). Tüm MMP'lerin katalik metalloproteinaz bölgesinde üç korunmuş histidinden oluşan ve katalitik çinko bağlayan His-Glu-X-Gly-His-X-X-Gly-X-X-His sekans motifi bulunmaktadır (Bode et al., 1999; de Almeida et al., 2022). MMP'lerin katalitik bölgeleri 1 ila 2 tane Zn^{2+} iyonu ve 1 ila 3 tane Ca^{2+} iyonu bağlamaktadır (Cerofolini et al., 2019). Katalitik çinko iyonu, aktif enzim formunda üç histidin rezidüsü tarafından koordine edilir (Nguyen et al., 2016). Ayrıca bu yapıya, glutamat ile hidrojen bağı oluşturan bir su molekülü eşlik ederek katalitik merkez stabilize edilir. MMP 21, 27 ve MMP-1 hariç diğer

tüm MMP'lerde bulunan ikinci Ca ve Zn iyonları sadece yapısal işlev görür ve proteinin katlanmasını sağlamak açısından önemli rol oynamaktadırlar (Cerofolini et al., 2019). Birçok MMP, üç korunmuş histidin temel diziliminin C-terminalinde yer alan, substrat tanıma (genellikle ECM) ve inhibitör bağlanmasında rol oynayan hemopeksin benzeri bölge içermektedir (Caley et al., 2015). MMP'ler hemopeksin benzeri bölgelerde aynı katlanma düzenini ve benzer yapısal özellikleri paylaşmaktadır. Bu bölgeler her biri dört antiparalel β -iplikten oluşan dört β -tabakanın, dört kanatlı bir pervane yapısında düzenlemesi ile ilişkilidir. İlk ve dördüncül yapı arasında bulunan bir disülfid köprüsü üçüncül yapıyı stabilize etmektedir (Nguyen et al., 2016). Hemopeksin benzeri domain matrilizinlerde (MMP-7 ve MMP-26) ve MMP-23'te bulunmamaktadır (Chang, 2023). Hemopeksin benzeri bölge ve katalik bölgesi arasında bulunan değişken uzunluktaki bağlantı bölgesi prolin açısından zengin bölgedir. Bu bölge yapısal olarak karmaşık bazı substratları hidrolize etmektedir ve alanlar arasında esnekliğin sağlanmasında büyük rol oynamaktadır (Nguyen et al., 2016).

Aktif formdaki MMP'ler, endojen bir inhibitör grubu olarak bilinen TIMP'ler (Tissue Inhibitors of Metalloproteinases) aracılığıyla dengelenmektedir (Nguyen et al., 2016; Chang, 2023). Bu doku inhibitörleri TIMP-1, TIMP-2, TIMP-3 ve TIMP-4 olarak dört alt gruba ayrılmaktadır (Chang, 2023). TIMP'ler aktif MMP enzimini inhibe etme özelliğine sahiptir, otoaktivasyonu inhibe etmemektedir ve bu durum enzimlerin doku inhibitörü ile inaktive olana kadar etki göstermesini sağlamaktadır. Böylece ECM yıkımı kontrol altında tutularak gerçekleşmektedir. Fakat kronik yara mikroçevresinde bu denge bozulmakta, MMP aktivitesi baskılanamamakta ve ekstrasellüler matriks (ECM) yıkımı kontrolsüz bir şekilde devam etmektedir (Wlaschek & Scharffetter-Kochanek, 2005; Chang, 2023).

1.4 Biyomateryaller, Yara Örtüleri ve Kronik Yaralarda Kullanımları

Biyomateryaller, canlı organizmalarla etkileşime girebilecek, biyolojik dokulara ve çevreye uyum sağlayabilecek şekilde tasarlanmış vücutta çeşitli roller üstlenebilen fonksiyonel malzemelerdir. Bu malzemelerin tasarımında başlıca hedef, organizmada biyoyumluluk ve biyobozunurluk gibi önemli özelliklere sahip olmaktır. Biyoyumluluk malzemenin organizmaya zarar vermeden ve bağışıklık sistemiyle olumsuz tepkimelere sebep olmadan işlev göstermesini ifade etmektedir. Biyobozunurluk ise organizmalar tarafından malzemenin zaman içinde vücut tarafından parçalanabilir olmasını ifade etmektedir (Ratner, 2004). Biyomateryaller doğal ya da sentetik kaynaklı yapılardan

oluşmaktadır ve polimerler, seramikler, metaller ve kompozitler olmak üzere 4 farklı sınıf altında toplanmaktadır. Yara iyileşmesi, organ yenilenmesi, tıbbi uygulamalar, özellikle ortopedik implantlar, doku mühendisliği ve kişisel hijyen ürünlerinden ziraate kadar birçok alanda biyomateryallerin kullanımı geniş bir yelpazeye yayılmaktadır (Williams, 2009; S & A, 2016).

Yara iyileşmesinde MMP'lerin aşırı aktivasyonu ve matris metalloproteinazların inhibitörlerinin yetersizliği sonucunda iyileşme süreci sekteye uğramaktadır (Harding, 2002). Bu gibi nedenlerle ortaya çıkan kronik yara tedavisinde kullanılan biyomateryaller genellikle yara örtüleri, ilaç salım sistemleri ve doku mühendisliği alanlarında öne sürülmektedir (Zhong et al., 2024). Yara örtüleri biyobozunur polimerler veya kompozit materyallerden yapılır ve bu malzemeler yarayı dış ortamdan izole ederek mikrobiyal etkilerden uzak tutup, nemli bir iyileşme ortamı oluşturmak ve yara için uygun gaz alışverişine olanak sağlamak gibi temel fonksiyonları üstlenebilmelidir (Ratner, 2004; Zhong et al., 2024). Yara örtüleri, yaradaki işlevlerine (antibakteriyel, absorban, debridman, adeziv, okluzif), formlarına (film, jel, köpük, merhem) ve ürettikleri materyale (hidrokolloid, kolajen, aljinat) göre gruplandırılmaktadır. Ayrıca, yapılarına ve fonksiyonlara göre pasif, interaktif ve akıllı örtüler olarak da sınıflandırılmaktadırlar. Pasif yara örtüleri, yalnızca fiziksel koruma sağlarken (örneğin gazlı bezler), interaktif yara örtüleri yara bölgesi ile etkileşime girerek iyileşmeyi destekler, akıllı yara örtüleri ise dış ortamdan kaynaklı uyarılara duyarlı olarak ilaç salınımını kontrollü bir şekilde yapabilir veya enzim seviyelerini düzenleyebilmektedir. Bu sınıflandırma içerisinde interaktif ve akıllı yara örtülerinin başlıca adayları hidrojel yara örtüleridir (Boateng et al., 2008; Alven et al., 2020).

Hidrojeller üç boyutlu, hidrofilik polimer ağ yapılarına sahip ve bu sayede yüksek sıvı tutma kapasitesi ile bilinen biyomateryallerdir. Hidrojeller ideal bir yara örtüsünün taşınması beklenen niteliklere sahip olması yani nemli yara ortamı oluşturma, eksüdayı absorbe etme, gaz geçirgenliği sağlama ve aynı zamanda ilaçların kontrollü salınımlarını gerçekleştirme potansiyelleri nedeniyle yara tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır (Peppas et al., 2006). Bu tez kapsamında geliştirilmiş olan yara örtü sisteminde kullanılan poliakrilik asit (PAA), karboksimetil selüloz (CMC) ve hyaluronik asit (HA) farklı biyolojik ve fiziko-kimyasal özellikleriyle birbirini tamamlayıcı etkileri olduğu düşünülmektedir.

Poliakrilik asit (PAA), akrilik asit monomerlerinden polimerize edilen pH duyarlılığı ve süper emici özellikleri ile dikkat çeken sentetik bir polimerdir. Ticari olarak beyaz, kabarık bir toz halinde bulunmaktadır. Yüksek moleküler ağırlıklı, iyi su çözünürlüğüne sahip, toksik olmayan, biyobozunur ve biyouyumlu bir polimerdir. Oluşturduğu filmler şeffaf, kırılma özelliği gösterebilmektedir. Yüksek hidrofilikliği sayesinde eksüdanın hızlı bir şekilde absorbe edilmesini sağlamaktadır. PAA kararlı bir yapı oluşturmak için çapraz bağlanma yapabilmektedir. Bu da mekanik dayanımı arttırmaktadır. Ayrıca, çapraz bağlı poliakrilik asit daha yüksek sıvı emme kapasitesine ulaşabilmektedir. PAA içeren hidrojellerin özellikle diyabetik yaralarda nem dengesinin koruduğu ve böylece iyileşmeyi desteklediği bilinmektedir (Ahmed, 2015; Kausar, 2021).

Karboksimetil selüloz (CMC), selülozun kimyasal modifikasyonudur, biyobozunur ve yarı-sentetik bir polimerdir. En önemli polisakkaritlerden biridir. Kimyasal yapılarında, selülozun glukopiranoz zincirindeki hidroksil gruplarına bağlı karboksimetil gruplar (-CH₂-COOH) bulundurmaktadır. Özellikle ilaç taşıma, antimikrobiyal ve biyomedikal (yara örtücü) uygulamalarda kullanılmaktadır. Doğada bol bulunması, suda çözünürlüğü ve toksik olmaması bir avantaj olarak görülmektedir. Saf karboksimetil selüloz, toksik olmaması mukoz membran, cilt ve kemik ile uyumluluk göstermesi gibi fizyolojik nitelikleri sayesinde yara iyileşmesi ve cilt yenilenmesi için kullanılabilir. CMC'nin iyonik grupları yara ortamında bulunan pozitif yüklü proteinlerle etkileşme ile yara yüzeyine yapışkanlık sağlayabilmektedir. Yara yüzeyiyle yüksek temas sağlayarak nemli ortamı koruyabilme özelliği ile bilinmektedir, bu da hücre dışı matriksin gelişmesine ve yeniden epitelizasyon sürecine yardımcı olmaktadır. Ayrıca CMC ile oluşturulan yara örtülerinde esneklik, eksüdayı emebilme, anjiyogenez ve otolitik debridmanı teşvik edebilme özellikleri ile CMC yaygın olarak kullanılmaktadır (Boateng et al., 2008; Kanikireddy et al., 2020).

Hyaluronik asit (HA), ekstrasellüler matriksin temel bileşenlerinden biri olup hem yara iyileşmesinde hem de doğal olarak insan camsı sıvısında, eklemlerinde, göbek kordonunda, horoz ibiğinde, derisinde ve bağ dokusunda bulunan glikozaminoglikanlar olarak bilinen heteropolisakkaritlere ait bir polimerdir. Hyaluronik asit fizyolojik pH'da, hyaluranon ya da hyaluronat olarak adlandırılan tuz formundadır. Anjiyogenez, inflamasyonun modülasyonu, fibroblast migrasyonu, kırıldak yüzeylerinin korunması, serbest radikal döküntülerinin temizlenmesi, sinovyumda akış bariyerleri oluşturması ve kılcal damar

büyümesinin kontrollü bir şekilde sağlanması gibi çok fazla biyolojik süreçte rol oynamaktadır. Aşırı matriks metalloproteinaz (MMP) aktivitesinin baskılanmasında ve serbest radikallerin nötralize edilmesinde de etkili olabilmektedir. İçeriğindeki çok sayıda hidroksil ve karboksil grubu, hyaluronik aside oldukça hidrofilik bir karakter kazandırmaktadır. Hyaluronik asit bu özelliği ile eksüda emilimini gerçekleştirir ve hücre yapışmasında da artış göstermektedir. Ek olarak hyalüronik asidin biyouyumluluğu, hyalüronidazların (HYAL) enzimatik etkisi ile biyolojik olarak parçalanabilirliği ve kolay kimyasal modifikasyonu, yeniden epitalizasyon sürecinin teşvik edilmesi, hemostaz fazının desteklenmesi ve inflamasyon aşamasının düzenlenmesi gibi yara iyileşme süreçlerinde kullanımını önemli ölçüde desteklemiştir (W. Y. J. Chen, 2002; Garg & Goyal, 2014; Graça et al., 2020).

Bu üç polimerin (PAA, CMC, HA) kombinasyonu ile elde edilen kompozit hidrojel yapısı, hem biyolojik hem de mekanik özellikleri açısından ideal özellikler sunacak şekilde geliştirilmiştir. PAA'nın pH duyarlılığı, CMC'nin su tutucu özellikleri ve HA'nın hücrel aktiviteyi destekleyici yapısı, bu materyalin hem akut hem de kronik yaralarda, yara örtüsü olarak kullanımını güçlendirmektedir. Geliştirilen bu kompozit yapılar, yara ortamındaki aşırı MMP aktivitesini dengeleyerek doku yıkımı önleyici bir rol üstlenir. Böylece kronik yara oluşumu yavaşlatılır ve sağlıklı, yeni doku epitalizasyonu teşvik edilir (Graça et al., 2020; Kanikireddy et al., 2020; Kausar, 2021).

1.5 *L. candidum* Bitkisi

Bu çalışmada kullanılan biyoaktif ajan Beyaz Zambak, Madonna Zambağı isimleri ile bilinen *Lilium candidum* L. bitkisinden elde edilmiştir. *L. candidum*, *Liliaceae* familyasına ait, soğanlı bir bitkidir (Pałka et al., 2023). *Lilium* cinsi kökeni Çin'e dayanmakta olup Asya, Amerika ve Avrupa ülkelerinde genel bir anlayış ile bakıldığında Kuzey Yarımküre'nin soğuk, ılıman bölgelerinde yayılış göstermektedir (Zhou et al., 2021; Pirhan vd., 2025) *Lilium* cinsi, soğan özellikleri, kökleri, çiçek deseni ve yaprak dizilişine göre Liriotypus, Martagon, Archelirion, Sinomartagon, Daurolirion, Leucolirion, ve Pseudolirium olmak üzere yedi bölüme ayrılmaktadır. Liriotypus bölüme ait olan *L. candidum* bitkisi hoş kokusu, mızraksı yapraklı trompet şeklindeki tamamen beyaz çiçeklere sahiptir (Zhou et al., 2021). Bu bitki, ülkemizde bulunan diğer *Lilium* türlerinin aksine, daha kurakçıl ve ılıman bir iklim olarak bilinen Akdeniz iklimine uyumludur ve

Doğu Akdeniz'den Batı ve Güneybatı Anadolu'yu kapsayan bölgelerde yaygın olarak yetişmektedir (Pirhan vd., 2025).

Lilium türleri, süs çiçekleri olarak büyük değere sahiptir, ancak çeşitli hastalıkların tedavisinde de kullanılmaktadır (Kaushik et al., 2022). Geleneksel Çin tıbbi perspektifinden bakıldığında, Zambak tıbbi olarak kullanıldığında akciğeri nemlendirici, zihni sakinleştirici ve yangı dağıtıcı etkiler göstermektedir. Ek olarak ülserler, yanıklar, iltihaplı cilt rahatsızlıkları, uzun süreli öksürük, kan tükürme, uykusuzluk ve anksiyete için de kullanılmaktadır. Fitokimyasal çalışmalar ile elde edilen bulgular, *Lilium* cinsine ait bitkilerin kimyasal bileşenlerinin başlıca steroidal saponinler, fenoller, flavonoidler, steroller, polisakkaritler, alkaloidler olduğunu ortaya koymaktadır (Zhou et al., 2021; Kaushik et al., 2022; Bâldea et al., 2025). Bu bileşikler birçok hastalığı tedavi etmek için uygulanabilecek tıbbi komplekslerin temel kaynaklarıdır. Modern farmakoloji adına yapılan çalışmalar gösteriyor ki *Lilium* cinsine ait bileşikler ve özütler, antibakteriyel, anti-inflamatuvar, hipoglisemik, anti-tümör, antioksidan ve antidepresan aktiviteler gibi çeşitli biyolojik etkileri ile hastalıklarda önemli rol oynamaktadırlar. Zambak soğanlarının da yatıştırıcı etkiler, ultraviyole (UV) Emilimi, kanser baskılaması ve serbest radikal temizleme ve cilt bakımında kırışıklık önleyici etkileri bulunmaktadır (Zhou et al., 2021; Kaushik et al., 2022).

1.6 Literatür Özeti

Literatürde PAA, CMC ve HA polimerlerinin ikili kombinasyonları veya tek başlarına kullanıldığı ve yara iyileşmesini destekleyen, antibakteriyel özellikler sergileyen, sitotoksik ve mikrobiyolojik testlerle değerlendirilen çeşitli çalışmalar mevcuttur. Chen ve arkadaşları, geliştirdikleri poliakrilik asit, gliserol ve Cu-MOP içeren bir hidrojelin yara iyileştirme aktivitesini, nem tutma özelliği, biyoyumluluk ve antibakteriyel etkisi deneylerini gerçekleştirmişlerdir. Sentezlenen hidrojelin (PAA-Cu-MOP hidrojeli) yüksek biyoyumluluğa sahip, mükemmel yara iyileştirme davranışı sergilediği ve rekombinant insan epidermal büyüme faktöründen bile daha iyi olduğu anlaşılmıştır. Doku deneyi sonuçları, PAA-Cu-MOP hidrojelinin anjiyogenezi teşvik ederek, hücre çoğalmasını uyararak ve hücre faktörlerini yukarı düzenleyerek yara iyileşme sürecini hızlandırdığını ortaya koymaktadır (L. Chen et al., 2020). Zhou ve arkadaşları, ilk olarak PAA sulu çözeltisi sentezleyip, ardından tanen asidi (TA) ve çapraz bağlayıcı 1,6-heksandiol bis (2-metil-1-propiyonik asit azid, HBMAP) ile karıştırılarak antibakteriyel PAA-TA hidrojel

hazırlamışlar. Bu yöntem, TA içindeki fenolik hidroksil gruplarının akrilik asit polimerizasyonu üzerindeki engelleyici etkisini ortadan kaldırmıştır. Bu PAA-TA hidrojelleri yara örtüsü olarak uygulanmış ve biyolojik dokulara mükemmel yapışma gösterdiklerini tespit edilmiştir. Ayrıca mikrobiyolojik analizler, PAA-TA yara örtülerinin *Staphylococcus aureus* ve *Escherichia coli* bakterilerine karşı belirgin antimikrobiyal aktivite gösterdiğini ortaya koymuştur (C. Zhou et al., 2024). Sharma ve ark. (2016), çapraz bağlayıcı olarak etilen glikol dimetilakrilat (diakrilat-EGDMA) ve trimetilolpropan triakrilat (triakrilat-TMPTA) kullanarak poliaspartik asit (PAsp) ve poliakrilikasit (PAA) temelli süper emici jel sentezlemişlerdir. EGDMA'nın çapraz bağlayıcı olarak kullanıldığı ve maksimum PAsp içeren polimerler en yüksek süper emici özelliği göstermişlerdir. Polimer yapıları FTIR ve NMR ile analiz edilmiştir (S & A, 2016). Yapılan bir çalışmada, poliakrilik asit (PAA), poli(amidoamin)-epiklorohidrin (PAE) ve protokateşuik asit (PCA) baz alınarak yara örtüsü için yapışkan hidrojellerin hazırlanmasında basit bir tek kapta iki adımlı polimerizasyon yöntemi geliştirilmiştir. Bu tasarım sonucunda elde edilen PAA-PAE-PCA hidrojel, domuz derisi üzerinde anlık 90 derece soyulma arayüz tokluğu açısından araştırılmıştır. *In vivo* veriler PAA-PAE-PCA hidrojellerin yara iyileşmesini önemli ölçüde hızlandırabildiğini, yara alanında belirgin bir azalma ve iltihaplanma oranında düşüş ile gösterildiğini ortaya koymuştur. Ayrıca hazırlanan hidrojellerin yara örtüleri için istenen; kendini onarma, antioksidan, UV koruma ve antibakteriyel özellikler, iyi hücre uyumluluğu, kullanım sırasında güçlü yapışma ve çıkarıldığında zayıf yapışma, ayrıca tersine çevrilebilir ve ıslak yapışma gibi özelliklere sahip olduğu gösterilmiştir (Dong et al., 2024). Yara iyileşmesi uygulamaları için tek polimer ile üretilen hidrojeller kapsamlı bir şekilde araştırılmaktadır fakat tek polimer ile üretilen hidrojeller özellikleri ve yara iyileştirme performansı açısından yetersiz görülmektedir. Smith et al. (2010), donma-çözülme yöntemiyle elde edilen bir hidrojinin çekirdeğine fiziksel olarak bir kserojel yerleştirilerek iki fazlı bir hidrojel hazırlamıştır. Dış hidrojel, polivinil alkol (PVA) ve poliakrilik asit (PAA) ile donma-çözülme yöntemiyle hazırlanırken, kserojeller 1-vinil-2-pirolidinon (NVP)'nin UV polimerizasyonu ile elde edilmiştir. İki fazlı hidrojellerin 2 haftalık bir süre boyunca güçlü bir ara yüzey oluşturduğunu ve daha yüksek fiziksel dayanım sergilediğini göstermiştir. Bu durum, PVP içeren iç jelin PVA/PAA hidrojineline difüze olduğunu ve bunun da hidrojen bağlarını artırarak hidrojinin genel sertliğini artırdığını göstermektedir. Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (ATR-FTIR), iki fazlı hidrojel bileşenleri arasında hidrojen bağlarının oluştuğunu doğrulamıştır (Smith et al., 2010). Klinik uygulamalarda, deformasyona karşı durabilecek, iyi esneklik ve

yapışkanlığa sahip hidrojel yara örtüleri büyük öneme sahiptir. Zhang et al., poli (akrilik asit) ve N-hidroksisüksinimid ile aşılınmış hyaluronik asit (PAA/HA-NHS) bazlı hidrojeller kimyasal çapraz bağlanma ve hidrojen bağları aracılığıyla hazırlanmıştır. PAA hidrojelleri içindeki elastik ve yapışkan özellikler, potasyum persülfat (KPS) ve N,N'-metilenbisakrilamid (MBA) konsantrasyonları ayarlanarak dengelenmiştir ve HA-NHS hidrojel sistemine eklenmiştir. Mekanik test sonuçları, PAA/HA-NHS hidrojellerinin kopma uzamasının $265,79 \pm 21,93$ ve ara yüzey tokluğunun $52,88 \pm 3,51$ J/m²'ye ulaşabildiğini ortaya koymuştur. Ek olarak, bu hidrojeller bağlı gözenekli bir ağa sahip olup, iyi su emme kapasitesi sergilemiştir (gözeneklilik $51,90 \pm 0,11$ ve ıslak halde şişme oranı $122,17 \pm 2,78$). *In vitro* deneyler, PAA/HA-NHS hidrojellerinin toksik olmadığını ve hücre yapışmasını engelleyen özelliklere sahip olduğunu göstermiştir. PAA/HA-NHS hidrojelleri, uygun yapışkanlık ve zayıf hücre yapışması sayesinde yara bölgelerini doğrudan kaplayabilir, cilt hareketiyle birlikte esneyebilir ve yara dokusundan nazikçe çıkarılabilir olduğu görülmüştür (Zhang et al., 2022). Yapılan bir çalışmada yaban turpu peroksidazı ve hidrojen peroksit ile çapraz bağlanabilen çok işlevli bir karboksimetil kitosan/hyaluronik asit-dopamin (CMC/HA-DA) hidrojelinin farelerde tam kalınlıkta cilt defektinin onarımındaki etkisi araştırılmıştır. Yara iyileşmesi, kollajen birikimi, immünohistokimya ve immünofloresan sonuçları, CMC/HA-DA hidrojelinin yaralı bölgede anjiyogenezi ve hücre çoğalmasını önemli ölçüde destekleyebileceğini göstermiştir. (Cui et al., 2022). Chuah ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışma (2018), bakteriyel selüloz (BC) ve PAA nanofiberleri kullanılarak yara pansumanı için bir hidrojel hibrit kompoziti geliştirilmiştir. Geliştirilen bu kompozite ilaç salınımı için amoksisilin aşılınmıştır. BC-PAA hidrojelinin karakterizasyonu için ATR-FTIR ve SEM deneyleri gerçekleştirilmiştir. Yapılan deney sonuçlarına göre, hidrojelin yüksek stabiliteye sahip, pH değerlerindeki artışa duyarlı ve şişme yeteneğinin ise az olduğu görülmüştür (Chuah et al., 2018). Bir çalışmada Abdollahi et al. (2012), yara iyileştirici malzemeler olarak sodyum karboksimetillenmiş nişasta (CMC) içeren CuO nanopartikülleri (CMC@CuO) ile nanokompozit hidrojeller geliştirilmişlerdir. Hidrojeller, fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (FTIR), alan emisyonlu taramalı elektron mikroskobu (FESEM), enerji dağılımlı X-ışını spektroskopisi (EDS), X-ışını kırınımı (XRD) ve termogravimetrik analiz (TGA) ile karakterize edilmiştir. Antibakteriyel, antioksidan özelliklerine de bakılan CMC@%2CuO nanokompozit hidrojel ile tedavi edildiğinde sıçanlarda oluşturulan yaralarda 13 gün içinde iyileşme gösterirken, aynı sürede aynı yaraların CMC ile daha az iyileşme gösterdiği sonucuna varılmıştır (Abdollahi et al., 2021). Süper emici polimer

sentezi için literatürde farklı farklı teknikler denenmiştir. Nádia S.V. Capanema et al. (2017), karboksimetil selüloz-PEG hidrojelleri ile çapraz bağlı süper emici polimer sentezlemişlerdir. Bu yeni CMC hidrojelleri, iki yer değiştirme derecesi (DS = 0.77 ve 1.22) ile hazırlanmış ve özelliklerini ayarlamak için kimyasal olarak sitrik asit (CA) ile çapraz bağlanmıştır. Ek olarak, CMC bazlı hibritler polietilen glikolle karıştırılarak hazırlanmıştır (PEG, ağırlıkça % 10). Sonuç olarak üretilen bu SAP hidrojellerinin %100 ile %5000 arasında değişen şişme derecelerinde olduğu ve bunun da sitrik asit çapraz bağlayıcı konsantrasyonuna ve PEG'nin eklenmesine bağlı olduğu bulunmuştur (Capanema et al., 2018). Hyaluronik asit (HA), yara iyileşmesi sürecinde görev alan bir polimer olarak bilinmektedir. Kawano et al. (2021), HA'nın yara iyileşmesini destekleme mekanizmalarının anlaşılmasına yönelik yaptıkları bir çalışmada yara ortamına özellikle dışarıdan uygulanan HA moleküler ağırlığının (MA) iyileşme sürecine etkisini merak etmişlerdir. Farklı MA'ya sahip HA'nın etkisini insan epidermal keratinositler ve dermal fibroblastlar kullanarak araştırmışlardır. Hücre çoğalması ve göç yeteneği, suda çözünebilir tetrazolyum (WST) testi ve yara çizik testi ile değerlendirmişlerdir. Düşük moleküler ağırlıklı HA'nın (LMW-HA) anti-inflamatuar ve immünomodülatör etkiler gösterdiği bildirilirken, yüksek moleküler ağırlıklı HA'nın (HMW-HA) hücre migrasyonu ve proliferasyonunu artırdığı ve re-epitelizasyonu desteklediği belirlenmiştir. Özellikle, 2290 kDa MW'ye sahip HMW-HA'nın insan epidermal keratinositleri (HaCaT) ve dermal fibroblastlarda hücre çoğalmasını ve göçünü artırdığı, yara iyileşme ile ilişkili genlerin ekspresyonunu yukarı regüle ettiği rapor edilmiştir (Kawano et al., 2021). Zhang ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada (2023), enjekte edilebilir yapışkan bir dopamin fonksiyonlu oksitlenmiş hyaluronik asit/karboksimetil kitin/kollajen (AHADA/CCS/Col) hidrojeli oluşturulmuştur. Oluşturulan hidrojelin CCS ve AHADA arasındaki Schiff dinamik bağı, CCS ile Ag iyonları arasındaki N–Ag–N bağı ve sülfhidril ile modifiye edilmiş kollajen (ColSH) ile Ag iyonları arasındaki S–Ag–S dinamik bağı, hem enjekte edilebilir hem de kendi kendini onarabilir özellik kazanmasını sağlamıştır. *In vitro* deney sonuçları, oluşturulan hidrojelin hücre çoğalmasını desteklediğini ve yüksek biyouyumluluk gösterdiğini belirtmiştir. Ek olarak, MMP'lere duyarlı ve yara iyileşme hızını artırabilen kurkuminin (Cur), kontrollü bir şekilde serbest bırakılmasını sağlayan Cur içerikli jelatin nanoparçacıkları (Cur@Gel NP'ler) sentezlemişlerdir. Hazırlanan bu nanoparçacıklar ile zenginleştirilmiş AHADA/CCS/Col hidrojelinin hayvan deneyi sonuçları, yara iyileşmesinin daha etkin bir şekilde desteklendiğini ve oluşturulan

hidrojelin yara örtüsü olarak güçlü bir potansiyele sahip olduğunu göstermiştir (Zhang et al., 2023).

İlk MMP modüle edici yara örtüsü üzerine birçok çalışma yayınlanmıştır. Breda Cullen ve arkadaşları (2002); danadan saflaştırdıkları kollajen ve hazır aldıkları oksidize rejenere selüloz ile ORC/kollajen süngerini sentezlemişlerdir. Sentezledikleri bu süngerden aldıkları kesitleri hastalardan aldıkları yara sıvıları ile muamele edip jelatin zimografi tekniğiyle MMP-2 ve MMP-9'dan oluşan jelatinazların aktivitesini görüntülemişlerdir. Muamele sonucu jelatinazlarda anlamlı bir azalma görmüşler ve densitometrik analizle bu azalışı ölçmüşlerdir (Cullen et al., 2002). Ralf Smeets et al. (2007), kronik venöz yetmezliği olan venöz bacak ülserli hastalardan aldıkları yara sıvılarında MMP-2, elastaz seviyelerini kıyaslamak için hastaları ORC/kollajen matriks veya standart kontrol terapi ile tedavi etmişlerdir. 12 haftalık tedavi periyodundan sonra hidrokolloid örtü ile tedavi edilen kontrol grubu hastalarından ve ORC/kollajen matriks+hidrokolloidle tedavi edilen hastalardan yara sıvısı almışlar, ülserlerin görünümünü fotoğraflamışlardır. MMP-2 seviyeleri için ELISA ve elastaz seviyeleri için peptid- substrat aktivite testi kullanmışlardır. ORC/kollajen ile tedavi edilen hastalarda MMP-2 ve elastaz seviyelerinde azalma görülmüştür (Smeets et al., 2008). Cornelia Wiegand et al. (2013), süper emici polimer içeren bir yara örtüsünün kollajenaz ve jelatinazlara bağlanma oranını belirlemek için kesitler aldıkları yara örtüsünü hücre kültürü plakalarına yerleştirmişler ve inkübasyon, elüsyon işlemlerinden sonra ELISA testi ile miktarlarını belirlemişlerdir. Kollajenaz aktivitesi için kollajenaz/jelatinaz kiti kullanmışlardır. İstatistiki analizler sonucu hem jelatinaz hem kollajenazın bağlanma oranının arttığı görülmüş ve yüksek eksudalı sıvılarda kullanılabilirliği kanıtlanmıştır (Gibson, 2009).

1.7 Amaç ve Kapsam

Yara iyileşmesini geciktiren birçok faktör bulunmakla beraber yara ortamında yüksek seviyelerde bulunan proteazlar, özellikle matriks metalloproteinazlar yara iyileşmesine etki eden öncül proteinleri parçalayıp yara iyileşmesini negatif yönde etkilediklerinden dolayı kronik yara tedavisinde en önemli parametrelerden biri olarak değerlendirilmektedir (Demidova-Rice et al., 2012). Bu sebeple, kronik yaralarda iyileşmeyi artırmak için proteaz seviyesini azaltıcı yara örtü malzemeleri tasarlanabilir. Proteaz seviyesini azaltmak için yara sıvısında bulunan proteazlar direkt absorbe edilebilir veya proteaz inhibitörleri kullanılabilir (McCarty & Percival, 2013). Literatüre bakıldığında proteazları absorblayan

yara örtü malzemesi tasarlanması ile ilgili yapılan çalışmaların az olduğu görülmüştür. Süper emici polimerler yüksek sıvı absorblama yeteneklerinden dolayı yaradaki matriks metalloproteinazları ortadan kaldırarak yara iyileşmesine katkı sağlayabilir (Young, 2012). Poliakrilik asit (PAA) süper emiciliği en yüksek polimerlerden biridir (Lim et al., 2015). Ekstraselüler matriksin önemli bileşenlerinden hyalüronik asit suda çözünebilen ve ortamdaki suyu adsorblayıp jelsi yapı oluşturan, yara iyileşmesine doğrudan katkı sağlayan bir polimerdir (Cortes et al., 2020). Karboksimetil selüloz (CMC), selülozun kimyasal modifikasyonudur, biyobozunur ve yarı-sentetik bir polimerdir. Hyaluronik asit (HA) vücutta bulunan D-glukuronik asit ve N-asetil-d glukozaminden oluşan, ekstraselüler matriksin temel bir bileşeni olan lineer bir polisakkarittir (Foster, 2000). HA; epitel hücre göçünü uyarma, inflamatuvar süreçleri azaltma, damar oluşumu sağlama, endotel hücrelerinin göçünü ve çoğalmasını uyarma gibi yara iyileşmesi safhalarında kritik aşamalar olan süreçlerde olumlu etkisi olan bir polimerdir (Cortes et al., 2020).

Bu çalışmada, antibakteriyel ve antioksidan etkili ajanlar içeren *L. candidum* (Şekil 1.2) bitki özütünün yüklendiği poliakrilik asit (PAA), karboksimetil selüloz (CMC) ve hyaluronik asit (HA) polimerlerinden oluşan hidrojel, çözücü uzaklaştırma yöntemi (blend) ile hazırlanıp sentezlenmiştir. Biyomateryal sentezinden önce *L. candidum* bitkisinin karakterizasyon deneyleri gerçekleştirilmiştir. Ardından sentezlenen *L. candidum* özütlü PAA-CMC-HA hidrojellerinin ATR-FTIR, SEM, DSC cihazları kullanılarak malzemelerin karakterizasyonları yapılmıştır. Sentezlenen biyokompozitlerin hidrojel özellikte olmasından dolayı sıvı hapsetme kapasiteleri ölçülmüştür. Hidrojelin, biyoyumluluk, sitotoksosite ve antibakteriyel özellikleri (biyolojik testleri) araştırılmıştır. Sonrasında oluşturulan yara örtü malzemesinin matriks metalloproteinazları ne kadar absorbladığı incelenerek kronik yaralara uygun bir örtü için matriks olup olmayacağı *in vitro* olarak test edilmiştir. Ek olarak bağ dokusunun ana bileşenlerinden biri olan kolajen, destekleyici bir çerçeve oluşturarak, cildin elastikiyetini korur ve hücrelere spesifik işlevler sağlar. Kolajen aynı zamanda cildin gerilme mukavemetinden sorumludur (Acıkara vd., 2019). Kollajenazlar (MMP-1, MMP-8, MMP-13), fibriler kolajeni parçalayabilen MMP enzim ailesinin alt grubunu oluşturmaktadır. Bu sebeple kollajenaz enzim aktivitesinin inhibisyonu, yara onarımı sırasında ECM bozulmasını önleyerek doku yıkımı ve inflamasyonla ilişkili patolojik süreçlerin kontrolünü sağlayarak yara iyileşmesi üzerinde olumlu etki gösterebileceği düşünülmüştür (Boran vd., 2018). Bu nedenle çalışmamızda kollajenaz aktivitesinin inhibisyonu da araştırılmıştır.



Şekil 1.1: *L. candidum* bitkisinin çiçeklenme döneminden alınan görüntüleri

2. MATERYAL- METOT

2.1 Materyaller

2.1.1 Çalışmada kullanılan kimyasallar

- Poliakrilik asit (PAA)
- Karboksimetil selüloz (CMC)
- Hyaluronik asit (HA)
- Etanol
- NaCl
- Coomassie Brilliant-Blue G-250
- Bovin serum albumin
- Folin-Ciocalteu reaktifi
- NaNO₂
- AlCl₃
- NaOH
- HCl
- FBS (Fetal Bovin Serum)
- RPMI besiyeri
- Penisilin/ Streptomisin
- Phytohemagglutinin
- Ficoll-Paque PLUS
- MTS reaktifi
- Muller Hinton Agar besiyeri
- Muller Hinton Broth
- Kollajenaz Tip II
- FALGPA (N- [3- (2-furil) akrilolil]-Leu-Gly-Pro-Ala)
- EGCG (Epigallokateşin gallat)
- DMSO
- DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil)
- ABTS tuzu
- CaCl₂

2.1.2 Çalışmada kullanılan cihazlar

Çalışmada kullanılan cihaz ve cihazların marka ve modelleri Tablo 2.1’de verilmiştir.

Tablo 2.1:Çalışmada kullanılan cihazlar ve kullanılan cihazların marka ve modelleri

Cihaz	Marka/Model
Analitik terazi	Denver Instrument
Magnetik karıştırıcı	Heidolph
Buzdolabı (+4)-(-20)	Altus
Dondurucu (-80)	Nuaire Glacier
Mikropipet seti	Eppendorf
Saf Su Cihazı	Human Power I
Otoklav	Hirayama
Soğutmalı Santrifüj	Hettich Rotina 380R
Su Banyosu	Elma Sonic
pH metre	Hanna Instruments
Mikroplaka okuyuculu spektrofotometre	Thermo Scientific
Spektrofotometre	PerkinElmer Spektrum 100

Tablo 2.1 (devam)

Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM)	JEOL NeoScope JCM-6000
DMA	Perkin Elmer Diamond
FTIR Spektrometresi	PerkinElmer Spektrum 100

2.2 Metot

2.2.1 *L. candidum* bitkisinin temin edilmesi ve ekstraksiyon aşamaları

L. candidum, Balıkesir Kepsut ilçesinin Sarıçayır mahallesinden Sarfaklar mevkisinden çiçeklenme (Mayıs-Haziran) döneminde toplanılıp ardından karanlık ortamda oda sıcaklığında (23 °C) kurutulmuştur. 10 gram kurutulmuş bitki örneği 50 mL %72.5 metanol, 14.8 etanol ve 12.7 saf sudan oluşan solüsyon içerisinde manyetik karıştırıcıda karıştırıldıktan sonra ultrasonik su banyosunda 5 dk tutulmuştur. Tekrar karıştırıcıya alınan özüt 4 °C’de bir gece boyunca bekletilmiştir (Sifaoui et al., 2016). Bitki örneği 5000 rpm’de 5 dk santrifüj edildikten sonra süpernatant kısmı ayrılmıştır. Kalan pelletin üzerine 25 mL solüsyon eklenip, 30 dk boyunca karıştırıcıda bekletilmiştir. Karıştırıcı sonrası santrifüj işlemine tabi tutulduktan sonra süpernatantlar birleştirilmiştir. Bu işlem bir kez daha tekrar edildikten sonra elde edilen 100 mL süpernatant vakumlu etüv yardımıyla çözücüsü uzaklaştırılmıştır. Elde edilen katı pellet bilinen konsantrasyonda ekstraksiyon çözücüsü içerisinde çözülerek stok solüsyon deneysel işlemlerde kullanılabilecek kadar -20 °C’de saklanmıştır.

2.2.2 *L. candidum* bitkisinin karakterizasyonu

2.2.2.1 *L. candidum* bitkisinin toplam fenolik konsantrasyonu

L.candidum özütünün toplam fenolik içerik konsantrasyonu, Folin-Ciocalteu kolorimetrik yöntemi kullanılarak spektrofotometrik olarak belirlenmiştir (Singleton et al., 1965). Bitki özütünün 250 mikrolitresi 3 mL su ile seyreltilerek üzerine 0.5 mL Folin-Ciocalteu reaktifi eklenmiştir. 3 dakika sonra 2 mL %20 sodyum karbonat ilave edilmiştir ve vorteks yardımıyla 10 saniye karıştırılmıştır. Hazırlanan karışımlar 40 °C 40 dakika bekletildikten sonra absorbansları PerkinElmer Lamda 35 UV-Visible spektrofotometre yardımıyla 650

nm’de ölçülmüştür. Absorbans sonuçları gallik asit standardı kullanılarak elde edilecek kalibrasyon eğrisi ile mg/g gallik asit eşdeğerine dönüştürülmüştür.

2.2.2.2 *L. candidum* bitkisinin toplam flavonoid konsantrasyonu

L. candidum özütünün toplam flavonoid miktarı analizinde Ramful ve diğerlerine ait yöntem kullanılmıştır (Ramful et al., 2011). 150 µL %5 sulu NaNO₂ çözeltisi 2,5 mL *L. candidum* özütü üzerine eklenerek vortekslenmiştir. Yaklaşık 5 dakika bekledikten sonra 150 µL %10’luk AlCl₃ ilave edilmiştir. Son aşamada ise 1M NaOH çözeltisinden 1 mL eklenerek son hacim vorteks yardımıyla 10 saniye kadar karıştırılır ve absorbans ölçümü için hazırlanmıştır. Absorbans ölçümleri PerkinElmer Lamda 35 UV-Visible spektrofotometre yardımıyla 510 nm’de yapılmıştır. Absorbans sonuçları, kuersetin standardı kullanılarak elde edilecek kalibrasyon eğrisi ile mg kuersetin/g eşdeğerine dönüştürülmüştür.

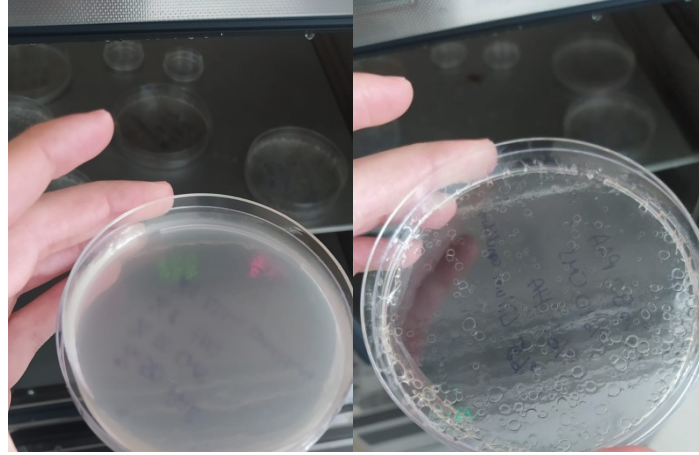
2.2.2.3 *L. candidum* bitkisinin toplam protein içeriği

L. candidum özütünün toplam protein içeriği Bradford’un yöntemine göre belirlenmiştir (Bradford, 1976). Bu yöntem fosforik asitli güç proteinlerinin Coomassie Brilliant-Blue G-250 kalıntılarını ile kompleks oluşturması esasına dayanmaktadır. Oluşan kompleks 595 nm’de maksimum absorbans göstermektedir. Standart olarak sığır serum albümini kullandıktan sonra elde edilen kalibrasyon eğrisiyle absorbans sonuçları mg/g olarak hesaplanmıştır.

2.2.3 Çözücü ortamında etkileştirme (blend) ile biyomateryal hazırlanması

Bu yöntem ile biyomateryal hazırlanmasının temeli uygun bir çözücü seçimine dayanmaktadır. Seçilen çözücü ile polimer çözülür, aynı çözücü ile dolgu maddesi disperse edilir. Detaylı olarak; 100 mL’lik reaksiyon kabı içerisinde bulunan belli miktardaki poliakrilik asit (PAA (1/100 w/v)) ve karboksimetil selüloz (CMC (1/100 w/v)) ayrı ayrı distile su içerisinde çözünene kadar manyetik karıştırıcıda bekletilmiştir. Çözünme işlemi tamamlandıktan sonraki aşamada PAA/CMC karışımları 90/10, 75/25, 50/50, 25/75, 10/90 (v/v) oranlarında hazırlanmıştır (Şekil 2.1). Yaklaşık olarak 3 saat süren karıştırma olayından sonra hibrit polimer matriksler oluşturulmuştur. Daha sonra biyomateryal elde etmek için, polimer matriks süspansiyonlarına (hibrit polimer matriks/ hyaluronik asit (HA)) %1 olacak şekilde HA eklenmiştir. Hyaluronik asit zincirlerinin birbirleri ile etkileşime girmesi ve çift sarmal uzantıları oluşturması ve böylece ağın mekanik olarak güçlenmesini sağlamıştır. Hyaluronik asit polisakkaritleri birbirleriyle etkileştikleri gibi

diğer matriks üyeleri arasında bir ağ oluşturmuştur. Homojen karışımlar elde edildikten sonra, *L. candidum* özütünden yöntemler kısmında yer alan “sitotoksik analizler” ile hücre gelişimini destekleyen en ideal konsantrasyonda ekleme yapılmıştır. Son konsantrasyonlarda homojen karışımlar sağlandıktan sonra tüm karışımların çözücülerini vakumlu etüv yardımıyla (25 °C, 50 mbar ve 1 gece) uzaklaştırılmış ve biyomateryal filmler elde edilmiştir. Elde edilen biyomateryal filmler aşağıda planlanan parametreler ile incelenmiştir.



Şekil 2.1: Poliakrilik asit (PAA), karboksimetil selüloz (CMC), hyaluronik asit (HA) polimerleri ve *L. candidum* bitki ekstraktı ile hazırlanan biyomateryal film görüntüleri

2.2.4 Biyomateryallerin karakterizasyonu

2.2.4.1 *In vitro* sıvı tutma kapasiteleri

Biyomateryal film örnekleri yaklaşık olarak 2x2 cm² olacak şekilde kesilmiştir. pH 6-9 aralığında hazırlanmış izotonik su (%0,9 NaCl) içerisinde farklı süreler denenerek, maksimum sıvı hapsedme kapasitesine ulaşmaya kadar bekletilmiştir. Bir pens yardımı ile örnekler çıkarılıp üzerindeki damlacıklar bir kurutma kağıdı yardımıyla alınıp tartılmıştır. Aşağıdaki eşitlik kullanılarak su tutma kapasiteleri hesaplanmıştır.

$$\% \text{Su tutma kapasitesi} = \frac{[W1 - W2]}{[W2]} \times 100$$

W1: su emmiş örneklerin ağırlığı

W2: örneklerin kuru ağırlığı

(2.1)

2.2.4.2 ATR-FTIR

Örneklerin ATR-FTIR spektrumları Perkin Elmer Spektrum 100 model Fourier Transform Infrared Spektroskopisi kullanılarak 650-4000 cm⁻¹ dalga boyları arasında alınmıştır.

2.2.4.3 SEM

Sentezlenmiş biyomateryal film örneklerinin morfolojik özellikleri taramalı elektron mikroskobu (SEM) JEOL NeoScope JCM-6000 cihazı ile belirlenmiştir. Analiz öncesinde, biyomateriyal filmlerden yaklaşık 0.02 g tartılıp, çift yönlü karbon bir band üzerinde, Quorum kaplama cihazında önce 8×10^{-1} mbar/Pa vakum uygulanıp, 10 mA voltaj uygulanarak altın kaplama işlemi gerçekleştirilmiştir.

2.2.4.4 DMA

Biyomateryal film örneklerinin dinamik mekanik analizi (DMA), bir SII Exstar DMS 6100 Dynamic kullanılarak 10 ila 60° bükme modunda $1^{\circ} \text{ min}^{-1}$ ısıtma hızında ve 1Hz frekansta gerçekleştirilmiştir.

2.2.4.5 Yüzey temas açısı (hidrofilik/hidrofobiklik) ölçümü

Bütün örnekler yaklaşık olarak 2x2 cm² olacak şekilde kesilmiştir. Biyomateryal filmlerin temas açısı ölçümleri Attension Theta Lite cihazı ile statik temas açısı ölçüm modunda sıvı damlacıktan sapsız damla oluşturularak yapılmıştır. Damla oluşturma işleminde mikro şırıngada ultra saf su kullanılmış ve kararlı damla hacmi yaklaşık 10 µL olarak belirlenmiştir. Temas açısı ölçümleri tek bir damla için belirli zaman aralıklarında ± 1 doğrulukla, 45–60 kayıt alınarak belirlenmeye çalışılmıştır.

2.2.5 Salınım deneyi

Farklı konsantrasyonlarda hazırladığımız biyofilmlerin WaveLength Quantitative programı ile salınım deneyi gerçekleştirilmiştir. Biyomateryal örnekleri 10 mg/mL şeklinde hazırlanmıştır. Belirlenen süre aralıklarında biyomateryal örneklerinin absorbans ölçümleri 369 nm’ de alınmıştır. *L. candidum* bitki ekstresinden 10 mg/ mL’lik bir çözelti hazırlanmış ve seyreltme işlemi yapılarak absorbans ölçümü alınmıştır. Bu absorbanslar ile bir kalibrasyon eğrisi çizilmiştir. Çizilen kalibrasyon eğrisi örneklerin absorbansını karşılaştırmak için kullanılmıştır.

2.3 Biyoyumluluk Testleri

2.3.1 Hemoyumluluk testi

Biyomateryal filmlerin hemoyumluluk testi spektrofotometrik olarak belirlenmiştir. Kan (8 mL), koagülasyondan sakınmak için sitratlı tüpler içerisine alınmıştır. Antikoagüle edilmiş kan belli oranda tuzlu çözelti ile seyreltilmiştir. Pozitif kontrol için, seyreltilmiş kandan 0.2 mL alınarak saf (ultra saf/distile) su ilavesiyle toplam hacim 10 mL’ye tamamlanmış ve eritrositlerde tam hemoliz sağlamak amacıyla 37 °C’de 1 saat inkübe

edilmiştir. Benzer olarak negatif kontrol için kanın 0.2 mL'si, normal tuz çözeltisinin ilavesi ile 10 mL'ye seyreltilmiştir ve 37 °C'de 1 saat inkübe edilmiştir. Santrifüj tüpündeki seyreltilmiş kanın 0.2 mL'sinden ve tuzlu çözeltinin 9.8 mL'sinden meydana gelen karışım, denge sıcaklığına ulaşmak için 30 dakika 37 °C'de inkübe edilmiştir. Sivri uçsuz 5x5 mm boyutlarına sahip örnekler kan-tuz karışımını içeren santrifüj tüplerine alınacak ve 37 °C'de 1 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyondan sonra tüm örnek çözeltiler 6000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiş ve süpernatant sıvısı dikkatli bir şekilde giderilecek ve spektrofotometrik analiz için küvete konulmuştur. İnkübe edilmiş örnek çözeltilerin optik yoğunlukları 545 nm'de UV-Visible spektrofotometre kullanılarak ölçülmüştür.

$$\% \text{Hemoliz} = \frac{[\text{OD}_{\text{test}} - \text{OD}_{\text{negatif}}]}{[\text{OD}_{\text{pozitif}} - \text{OD}_{\text{negatif}}]} \times 100 \quad (2.2)$$

Burada OD_{test}, örnek çözeltinin optik yoğunluğu; OD_{pozitif}, pozitif kontrolün optik yoğunluğu; OD_{negatif}, negatif kontrolün optik yoğunluğudur. Hemoliz yüzdesi %5'ten daha az ise sentezlenen nanokompozit biyoyumlu; %2,5'ten az ise oldukça homouyumlu olduğu kabul edilmiştir.

2.4 Sitotoksisite Testleri

2.4.1 Hücre kültürü işlemleri

2.4.1.1 Malzemelerin sterilizasyonu

Proje kapsamında kullanılacak olan pipetler, pipet uçları, beherler ve falkon tüpleri, otoklavda 15 dakika 121°C'de, hücre kültürü kabini ve çalışma ortamı ise %70 etanol ve UV lamba ile steril edilmiştir.

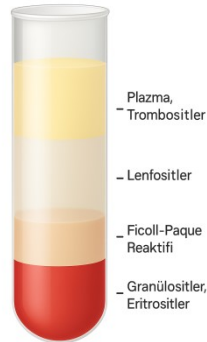
2.4.1.2 Besiyerinin hazırlanması

Sitotoksisite deneylerinde kullanılacak olan lenfosit hücrelerinin çoğaltılması için büyüme faktörleri içeren fetal bovin serum (FBS) 500 mL RPMI içerisine eklenmiştir. Mikrobiyolojik kontaminasyonu en aza indirmek için hazırlanan besiyeri içerisine 2.5 mL penisilin/streptomisin ilave edilmiştir. Hücre bölünmesini teşvik etmek için besiyeri ortamına phytohemoglutinin ilave edilerek besiyeri tamamlanmıştır. Phytohemoglutinin 10 mg şişesi 10 mL otoklavlanmış saf su ile çözülerek kültür ortamına 5 mL eklenmiştir. Hazırlanan stok besiyeri +4°C'de saklanmıştır.

2.4.1.3 Kandan lenfosit izolasyonu

Projede kullanılacak olan lenfosit hücreleri için kan; sigara kullanmayan, yakın zamanda ilaç kullanmamış, son 6 ay içinde enfeksiyonel bir hastalık geçirmemiş ve kronik hastalığı olmayan sağlıklı ve gönüllü bireylerden sitotoksisite deneyleri için EDTA'lı tüplere alınmıştır. Bu çalışma kapsamında 25-30 yaş arası 2 erkek ve 2 kadın toplamda 4 gönüllü birey kullanılmıştır.

Hücre kültürüne getirilen kan 7 mL Ficoll-Paque üzerine 3 mL kan karışmasına izin verilmeyecek şekilde yavaş yavaş eklenmiştir. Daha sonra test tüpü 30 dakika 1500 rpm'de santrifüj edilmiştir ve Ficoll-Paque'ın yoğunluk gradiyenti farkından yararlanarak santrifüj sonunda kan 4 katmana ayrılmıştır. Üsteki plazma kısmının altında bulunan bulutumsu lenfosit tabakası toplanarak (Şekil 2.2) üzerine 10 mL serum fizyolojik eklenip 10 dakika 1500 rpm'de santrifüj edilerek lenfositlerin dibe çökmesi sağlanmıştır. Dibe çöken lenfosit tabakası sitotoksisite deneylerinde kullanılmak üzere hazırlanan stok besiyerinde çözülüp 5 mL kültür ortamlarına 100 µL eklenmiştir.



Şekil 2.2: Kandan lenfosit izolasyonu sırasında oluşan 4 katman.

2.4.2 Sitotoksik çalışma

Biyomalzemelerin lenfosit hücreleri üzerindeki toksik etkisi MTS testi ile 4 gün süren bir prosedür ile gerçekleştirilmiştir. Bu test yönteminin prensibi tetrazolyum halkası içeren sarı renkli MTS reaktifinin canlı hücrelerde parçalanması sonucu mor renge dönüşmesidir.

1.gün; Sağlıklı ve gönüllü bireylerden alınan kandan lenfosit izolasyonu gerçekleştirilmiştir ve 5 mL'lik kültür ortamlarına 100 µL lenfosit hücreleri eklenerek 1 gece hücreler çoğaltılmaya bırakılmıştır.

2.gün; 1 gece bekleyen hücreler üzerine 3 farklı konsantrasyon ile hazırlanmış biyomalzeme örnekleri (PAA+CMC+HA+*L. candidum*) kültür ortamlarına eklenerek lenfositlerle etkileştirilmiştir. Negatif kontrol olarak kültür ortamına hiçbir madde eklenmemiştir (sadece besiyeri ve hücre) ve hücreler 1 gece büyümeye bırakılmıştır.

3.gün; Biyomalzeme örnekleri ile muamele edilen 24 saatlik kültür ortamlarına MTS testi gerçekleştirilmiştir. 2. gün kültür ortamlarına eklenmiş biyomalzeme örnekleri santrifüj aşamasına geçilmeden önce kültür ortamından çıkarılmıştır. Bu kültür ortamları 1500 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek lenfositlerin dibe çökmesi sağlanmıştır. Süpernatant kısmı atılıp dipteki pellet üzerine 300 µL besiyeri eklenerek pelletler çözülüp 96 kuyucuklu plakaya üçer tekrar şeklinde yüklenip üzerine 20 µL MTS reaktifi eklenerek 4 saat bekletilmiş ve 490 nm'de ölçüm alınmıştır. 4. gün ise 3. gün gerçekleştirilen işlemler tekrarlanıp 48 h'lik absorbanlar belirlenmiştir.

2.5 Antibakteriyel Test

Biyomateryal örneklerinin antibakteriyel analizleri, bir gram (-) *Escherichia coli* ve bir gram (+) *Staphylococcus aureus* olmak üzere iki bakteri suşu kullanılarak çalışılmıştır. Yapılan çalışmalara bakıldığında bu iki bakteri türünün biyomateryallerin antibakteriyel aktivitelerinin değerlendirilmesi için kullanılan indikatör türler olduğu bilinmektedir (Khosolim et al., 2022). Antibakteriyel test disk difüzyon işlemi modifiye edilerek gerçekleştirilmiştir. *E. coli* ATCC-8739 ve *S. aureus* ATCC-6538 stok kültürlerinin Muller Hinton Agar besiyerine ekimleri yapılarak üremeleri için 37 °C'de 24 saat inkübasyonu sağlanmıştır. Ekim için hazırlanan bakteri kültürleri Muller Hinton Broth içerisinde 10^{-5} CFU/mL konsantrasyonunda hazırlanmıştır. Hazırlanan biyomateryal örnekler 1x1 cm² olarak kesildikten sonra bakteri ekimi yapılmış agarların üzerine yerleştirilmiştir. 24 saatlik bir inkübasyondan sonra biyomateryallerin çevresinde oluşan inhibisyon zonları dijital kalibre ile ölçülmüştür.

2.6 Kollajenaz (MMP) Aktivitesinin İnhibisyonu

Kollajenaz inhibitör aktivitesinin analizi, Vanwart ve Steinbrink tarafından bildirilen spektrofotometrik yöntemlere dayanmaktadır ve bir mikropilaka okuyucu kullanmak için bazı değişiklikler yapılarak kullanılmıştır. Bu test için Trisin tamponu kullanılmıştır. *Clostridium histolyticum*'dan (ChC) elde edilen kollajenaz, 0.8 birim / mL konsantrasyon elde etmek için Trisin tamponuna (50 mM, pH 7.5, 400 mM NaCl ve 10 mM CaCl₂) ilave edilmiştir. Substrat N- [3- (2-furil) akrilolil] -Leu-Gly-Pro-Ala (FALGPA), 2 mm'lik bir

konsantrasyon elde etmek için Trisin tamponuna eklenmiştir. Her durumda, karışımın toplam nihai hacmi (150 µL), Trisin tamponu (25 µL), 0,8 mM FALGPA (75 µL), 0,1 birim ChC (25 µL) ve test edilen malzemelerin % 5 DMSO (100 µg / mL) içindeki çözeltisinin 25 µL'sini içermiştir. Her test materyali, reaksiyonu tetiklemek için substrat eklenmeden önce enzim ile tampon içinde 15 dakika inkübe edilmiştir. Substrat eklendikten sonra, 335 nm'deki absorbans, bir Beckmann Çift Spektrometresi kullanılarak 2 dakika aralıklarla 20 dakika boyunca ölçülmüştür. Negatif olarak su, pozitif kontrol olarak epigallokateşin gallat (EGCG) (250 µM, 0.114 mg/mL) kullanılmıştır. Ölçümler üç kopya halinde yapılmıştır. İnhibisyon değerinin hesaplanmasında; % inhibisyon = $(OD \text{ Kontrol} - OD \text{ Örnek}) \times 100 / OD \text{ Kontrol}$ formülü kullanılmıştır (Acıkara vd., 2019).

2.7 Antioksidan Deneyi

2.7.1 DPPH antioksidan deneyi

Belirlenen konsantrasyonlarda hazırlanmış olan biyofilmlerin antioksidan kapasitesi, 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) radikal süpürme aktivitesi kullanılarak belirlenmiştir. DPPH, 0.024 gr tartılarak bir balonda 100 mL metanol içerisinde çözündürülmüştür. Filmler 10 mg tartılıp küçük parçalar halinde hazırlanmış ve test tüplerine alınmıştır. Her tüpe 3 mL DPPH reaktifi eklenmiş ve 1 saat karanlıkta tutularak 517 nm'de ölçüm alınmıştır.

2.7.2 ABTS⁺ antioksidan deneyi

Belirlenen konsantrasyonlarda hazırlanmış olan biyofilmlerin antioksidan kapasitesinin belirlemek için kullanılan ikinci yöntem ABTS⁺ yöntemidir. ABTS⁺ radikal solüsyonu 7 mM ABTS⁺ tuzu ve 2.4 mM amonyum persülfat ile karıştırılarak 100 mL metanol içerisinde çözülmüş ve 1 gece karanlıkta bekletilmiştir. Filmler 10 mg tartılıp küçük parçalar halinde hazırlanmış ve test tüplerine alınmıştır. Her tüpe 3 mL ABTS⁺ reaktifi eklenerek 30 dakika karanlıkta bekletilmiş ve 734 nm'de ölçüm alınmıştır.

3. BULGULAR:

3.1 *L. candidum* Bitkisinin Karakterizasyon Deneyleri Sonuçları

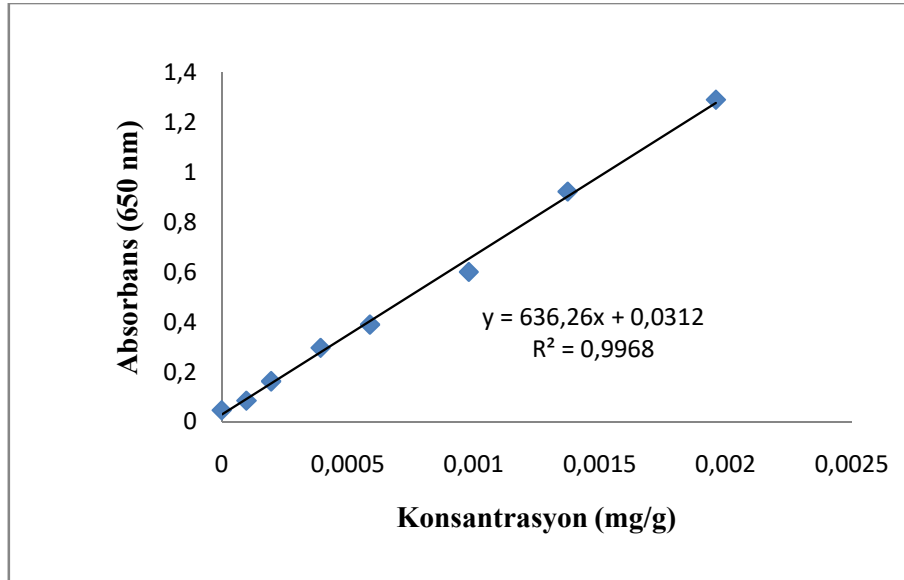
3.1.1 *L. candidum* bitkisinin toplam fenolik, flavonoid bileşik ve proteiniçeriği konsantrasyonu analizi sonuçları

L. candidum bitki ekstraktının toplam fenolik, flavonoid bileşik ve protein içeriği tayini sonuçları Tablo 3.1’de verilmiştir.

Tablo 3.1: *L. candidum* bitki ekstraktının toplam fenolik, flavonoid ve protein içeriği konsantrasyonu analizi sonuçları mg/g olarak sunulmuştur

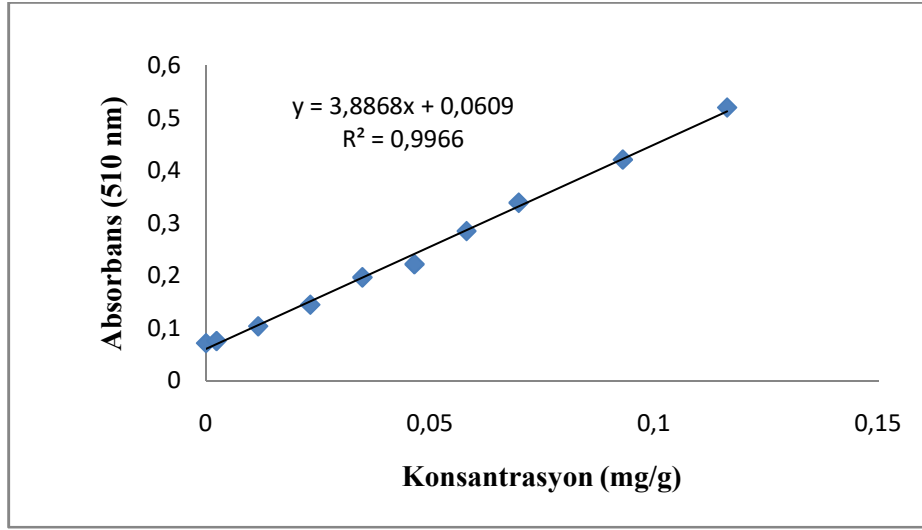
Analiz	mg/g
<i>L. candidum</i> ekstraktı toplam fenolik içeriği	3,73±0,11
<i>L.candidum</i> ekstraktı toplam flavonoid içeriği	2,66±0,20
<i>L. candidum</i> ekstraktı toplam protein içeriği	6,94±1,38

L. candidum bitki ekstraktının fenolik bileşik analizinde sonuç hesaplamalarında gallik asit standardı kullanılarak çizilmiş kalibrasyon eğrisi Şekil 3.1’ de verilmiştir.



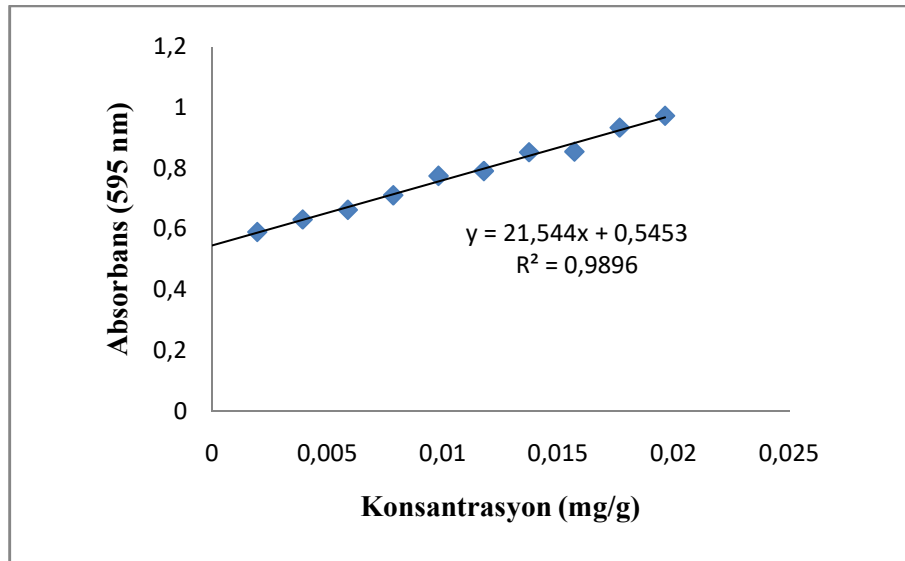
Şekil 3.1: *L. candidum* bitki ekstraktının toplam fenolik madde içerikleri için gallik asit standardı kullanılarak çizilmiş kalibrasyon eğrisi

L. candidum bitki ekstraktının flavonoid bileşik sonuç hesaplamalarında kuersetin standardı kullanılarak çizilen standart eğri grafiği Şekil 3.2’de gösterilmiştir.



Şekil 3.2: *L. candidum* bitki ekstraktının toplam flavonoid madde içerikleri için kuersetin standardı kullanılarak çizilmiş kalibrasyon eğrisi

L. candidum bitki ekstraktının toplam protein içeriği sonuç hesaplamalarında kullanılan standart eğri grafiği Şekil 3.3’te verilmiştir.



Şekil 3.3: *L. candidum* bitki ekstraktının toplam protein içeriği için sığır serum albümin standardı kullanılarak çizilmiş kalibrasyon eğrisi

3.2 Biyomalzemelerin Karakterizasyon Deneyi Sonuçları

Çözücü ortamında etkileştirme yöntemi ile beş ayrı konsantrasyonda PAA/CMC karışımları 90/10, 70/30, 50/50, 30/70, 10/90 (v/v) oranlarında hazırlanmıştır. Hazırlanan

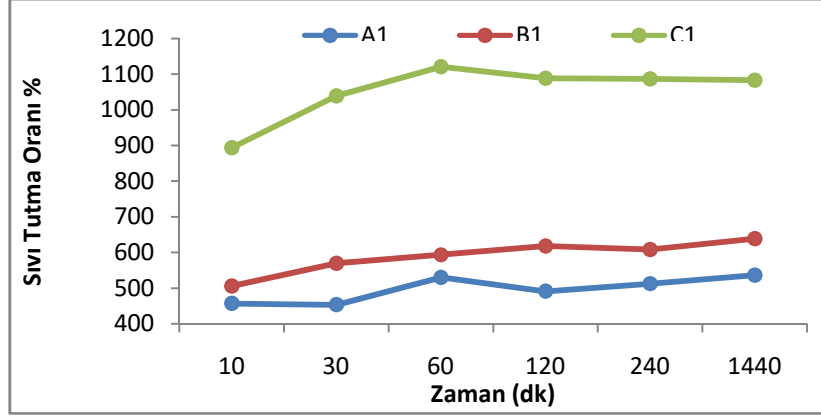
biyomateryal filmler *in vitro* sıvı tutma kapasitesi deneyi ile test edilmiş ve PAA/CMC karışımlarının iki konsantrasyonunun (30/70, 10/90) sulu çözelti ortamında belirli süre sonra yapısal bütünlüklerini koruyamayarak dağıldıkları gözlemlenmiştir. Bu durum, doğru ve güvenilir hesaplama yapmayı engellediği için, deneysel çalışmalara yapısal bütünlüğünü koruyabilen diğer üç konsantrasyon ((PAA/CMC) 90/10, 70/30, 50/50) ile devam etme kararı alınmıştır. Tez çalışmasının devamında, karışıklığı önlemek ve verilerin takibini kolaylaştırmak amacıyla Tablo 3.4'te belirtildiği gibi bu üç farklı konsantrasyona ait örnekler sırasıyla şu şekilde kodlanmıştır; %90 PAA/ %10 CMC oranlarındaki örnek A, %70 PAA/ %30 CMC oranlarındaki örnek B, %50 PAA/ %50 CMC oranlarındaki örnek ise C olarak adlandırılmıştır. Hyaluronik asit ve *L. candidum* bitki ekstresi eklenen örneklerin isimlendirilmesi Tablo 3.4' te açıklanmıştır.

Tablo 3.2: Biyomateryal örneklerinin isimlendirilmesi

İsimlendirme	PAA	CMC	HA	<i>L. candidum</i>
A	%90	%10	-	-
B	%70	%30	-	-
C	%50	%50	-	-
A1	%89,5	%9,5	%1	-
B1	%69,5	%29,5	%1	-
C1	%49,5	%49,5	%1	-
A2	%84,38	%9,28	%1,265	%5,06
B2	%66,53	%28,48	%0,99	%4,94
C2	%48,12	%48,12	%0,97	%4,89

3.2.1 *In vitro* sıvı tutma kapasitesi deneyi (şişme testi) sonuçları

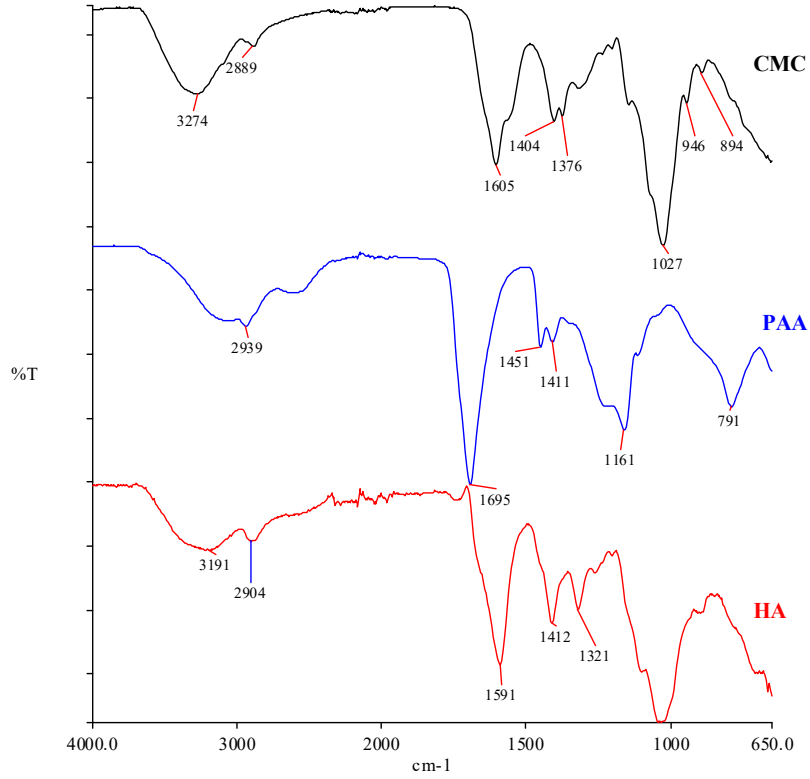
A1 (%89,5 PAA %9,5 CMC %1 HA), B1 (%69,5 PAA %29,5 CMC %1 HA), C1 (%49,5 PAA %49,5 CMC %1 HA) biyomateryal örneklerinin *in vitro* sıvı tutma kapasitesi deneyi (şişme testi) sonuçları sırası ile Şekil 3.4'te verilmiştir.



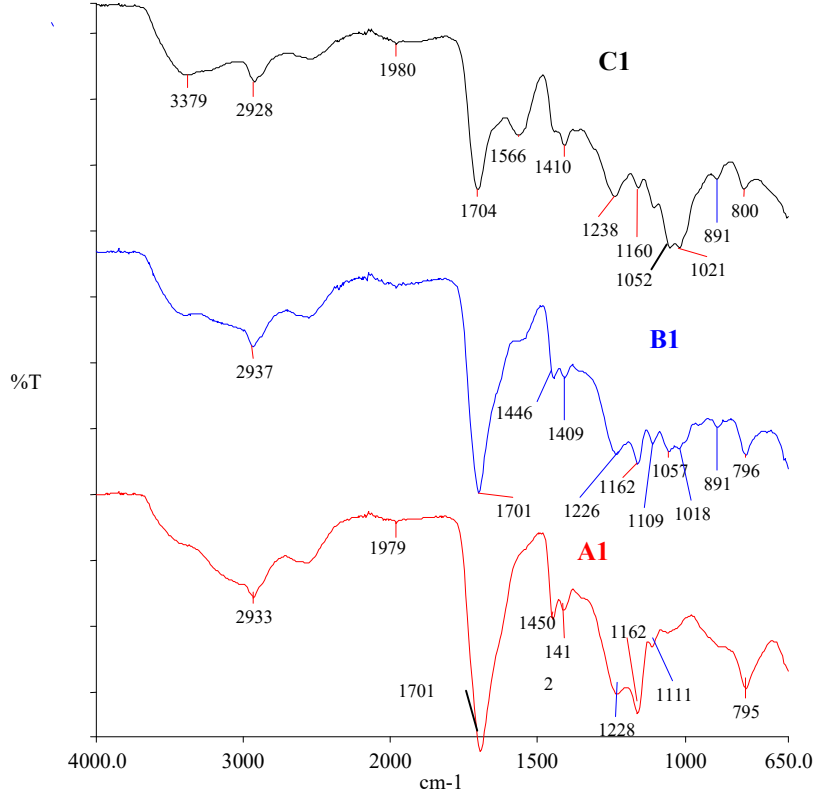
Şekil 3.4: A1 (%89,5 PAA %9,5 CMC %1 HA), B1 (%69,5 PAA %29,5 CMC %1 HA), C1 (%49,5 PAA %49,5 CMC %1 HA) biyomateriyal örneklerinin zamana karşı (dk) *in vitro* sıvı tutma kapasitesi deney (şişme testi) sonuçları

3.2.2 ATR-FTIR sonuçları

Poliakrilik asit (PAA), karboksimetil selüloz (CMC) ve hyaluronik asit (HA) ile farklı konsantrasyonlarda oluşturulan A1 (%89,5 PAA %9,5 CMC %1 HA), B1 (%69,5 PAA %29,5 CMC %1 HA), C1 (%49,5 PAA %49,5 CMC %1 HA) biyomateriyal örneklerinin karşılaştırılmış ATR-FTIR sonuçları Şekil 3.5 ve Şekil 3.6'de verilmiştir.



Şekil 3.5: PAA, CMC ve HA polimerlerinin FTIR analiz sonuçları



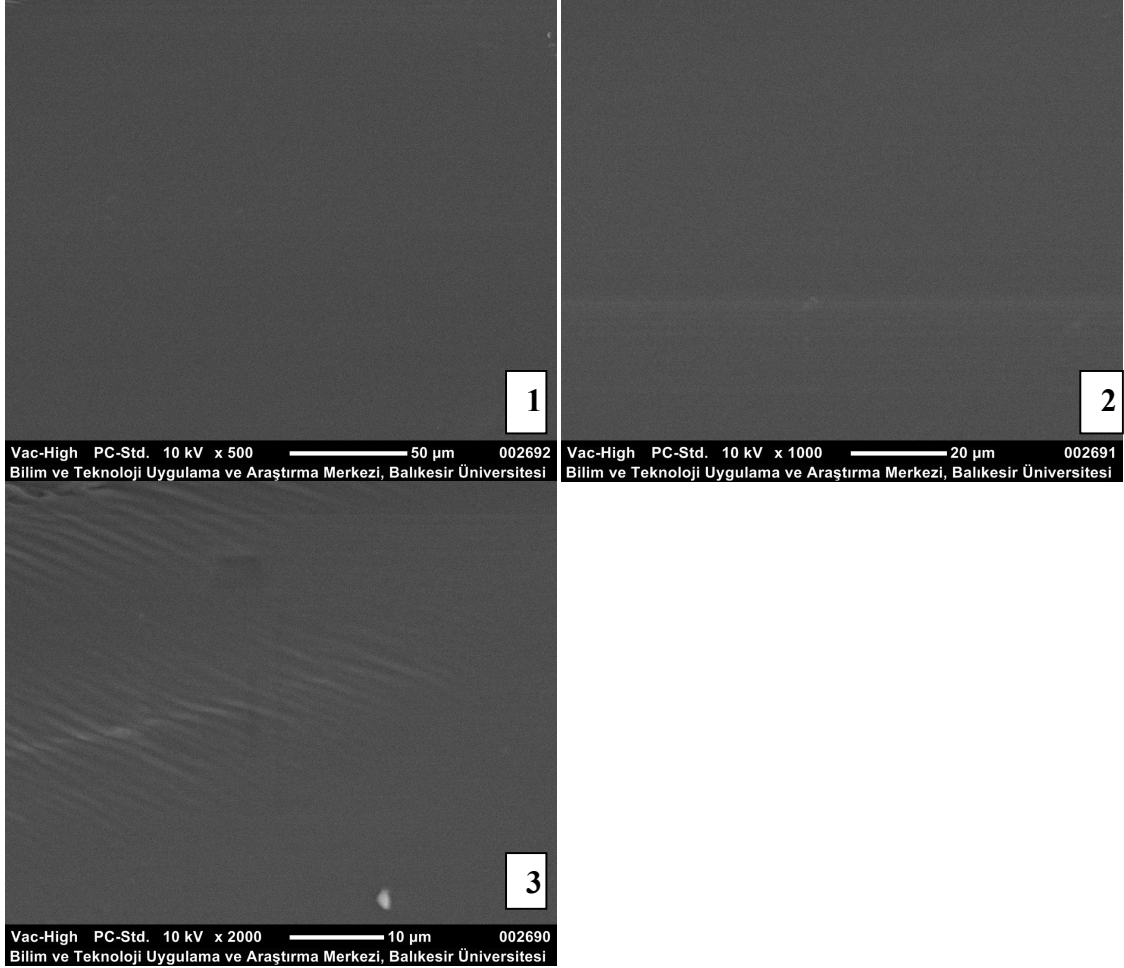
Şekil 3.6: A1 (%89,5 PAA %9,5 CMC %1 HA), B1 (%69,5 PAA %29,5 CMC %1 HA), C1 (%49,5 PAA %49,5 CMC %1 HA) biyomateryal örneklerinin FTIR analiz sonuçları

Tablo 3.3: Biyomateryallerin ATR-FTIR spektrumlarına ait pik tanımlamaları

Fonksiyonel gruplar	CMC	PAA	HA
O-H	3274	2939	-
C=O	-	1695	-
C-C	-	1451-1411	-
C-O	-	1161	-
C-H	2889	-	2904
COO ⁻	1605-1404	-	1412
C-O-C	1027		1030
N-H	-	-	3191-1591

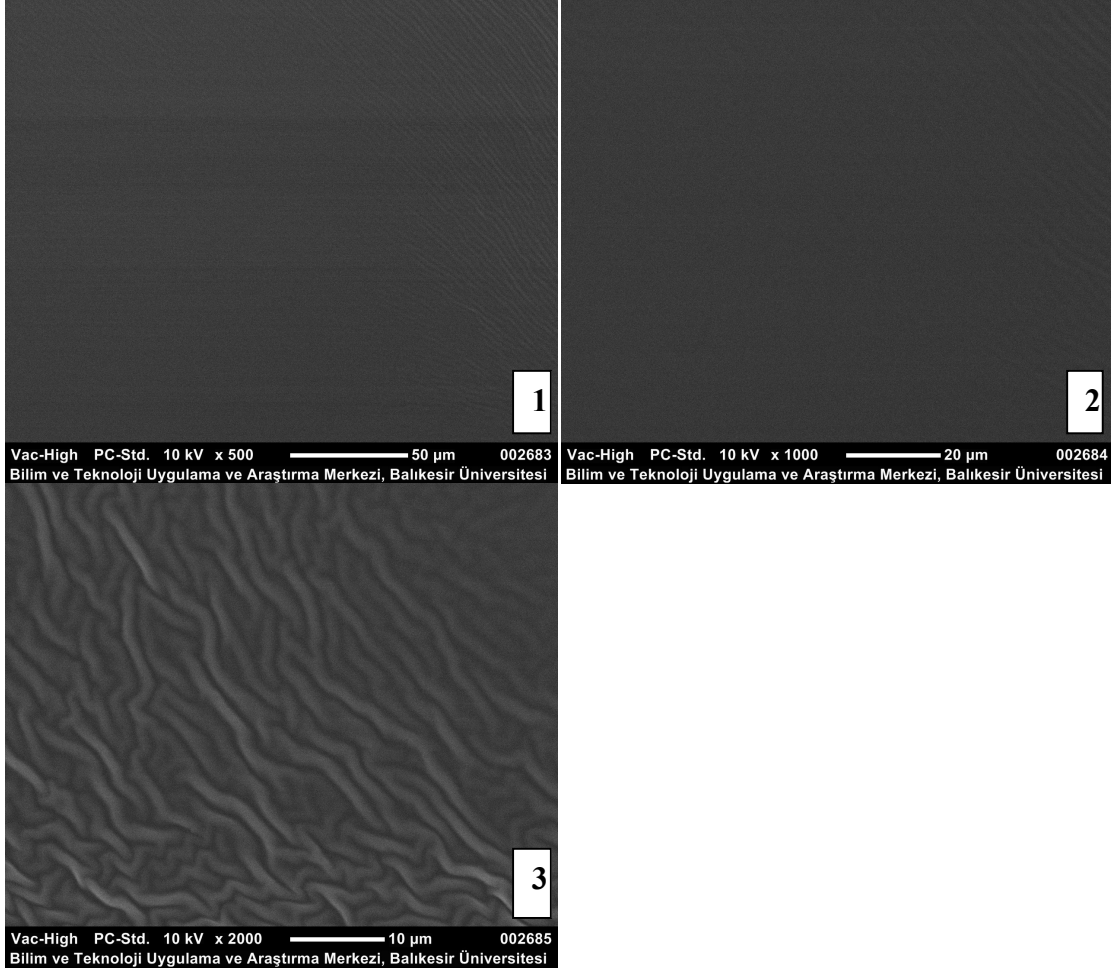
3.2.3 SEM deneyi sonuçları

Hazırlanan A2 (%84,38 PAA %9,28 CMC %1,265 HA %5,06 *L. candidum*) biyomateryal örneğinin 500X, 1000X, 2000X büyütme kullanılarak alınmış SEM-EDX deneyi sonuçları sırası ile Şekil 3.7’te verilmiştir.



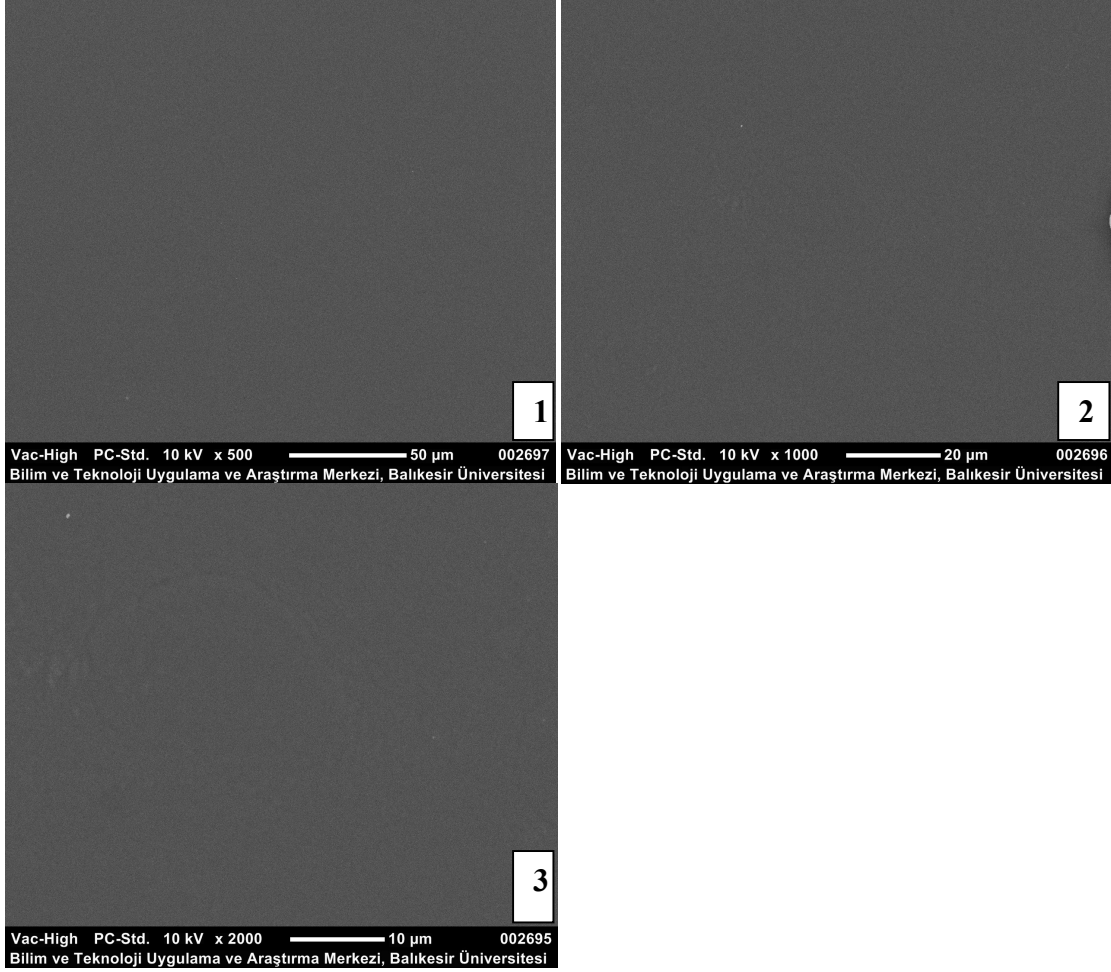
Şekil 3.7 A2 (%84,38 PAA %9,28 CMC %1,265 HA %5,06 *L. candidum*) biyomateryal örneğinin 500X (1), 1000X (2), 2000X (3) SEM görüntüleri

Hazırlanan B2 (%66,53 PAA %28,48 CMC %0,99 HA %4,94 *L. candidum*) biyomateryal örneğinin 500X, 1000X, 2000X büyütme kullanılarak alınmış SEM-EDX deneyi sonuçları sırası ile Şekil 3.8’ te verilmiştir.



Şekil 3.8 B2 (%66,53 PAA %28,48 CMC %0,99 HA %4,94 *L. candidum*) biyomateryal örneğinin 500X (1), 1000X (2), 2000X (3) SEM görüntüleri

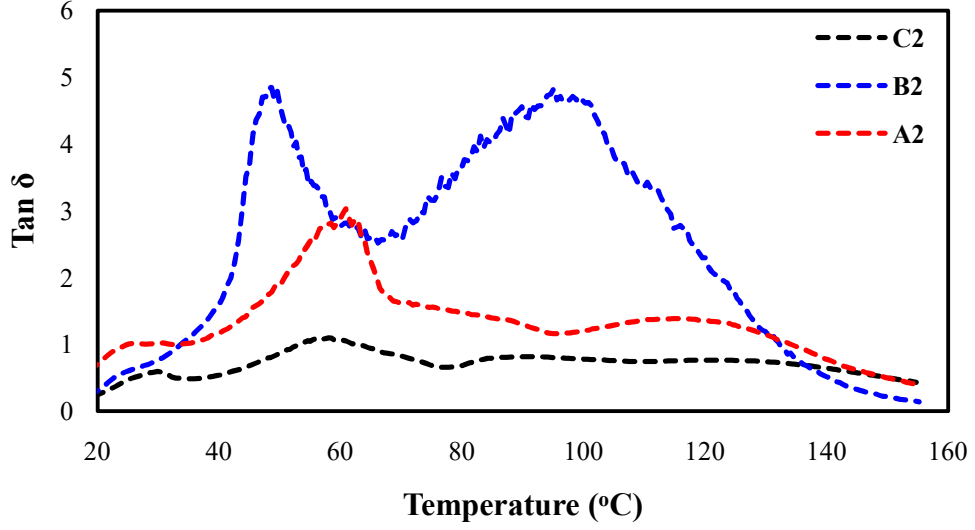
Hazırlanan C2 (%48,12 PAA %48,12 CMC %0,97 HA %4,89 *L. candidum*) biyomateryal örneğinin 500X, 1000X, 2000X büyütme kullanılarak alınmış SEM-EDX deneyi sonuçları sırası ile Şekil 3.9' da verilmiştir.



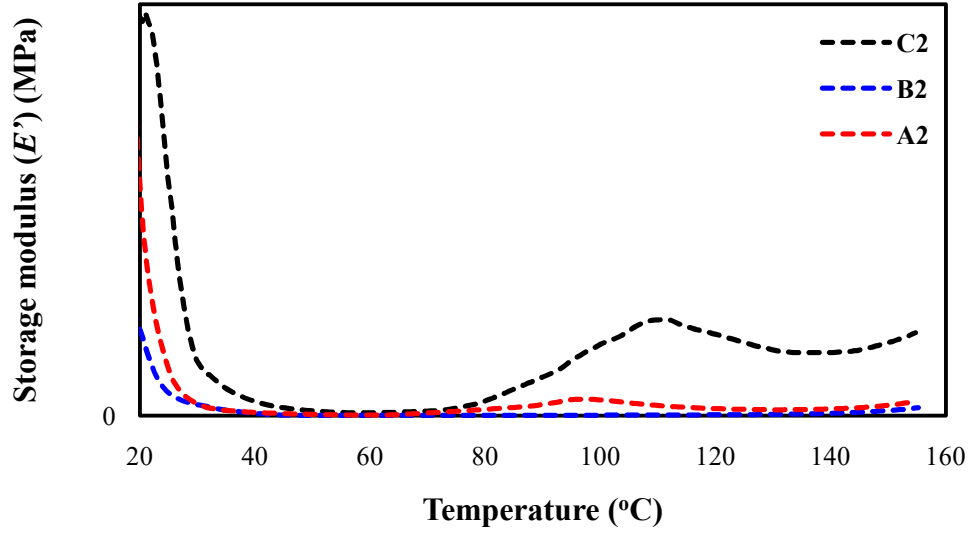
Şekil 3.9: C2 (%48,12 PAA %48,12 CMC %0,97 HA %4,89 *L. candidum*) biyomateryal örneğinin 500X (1), 1000X (2), 2000X (3) SEM görüntüleri

3.2.4 DMA deneyi sonuçları

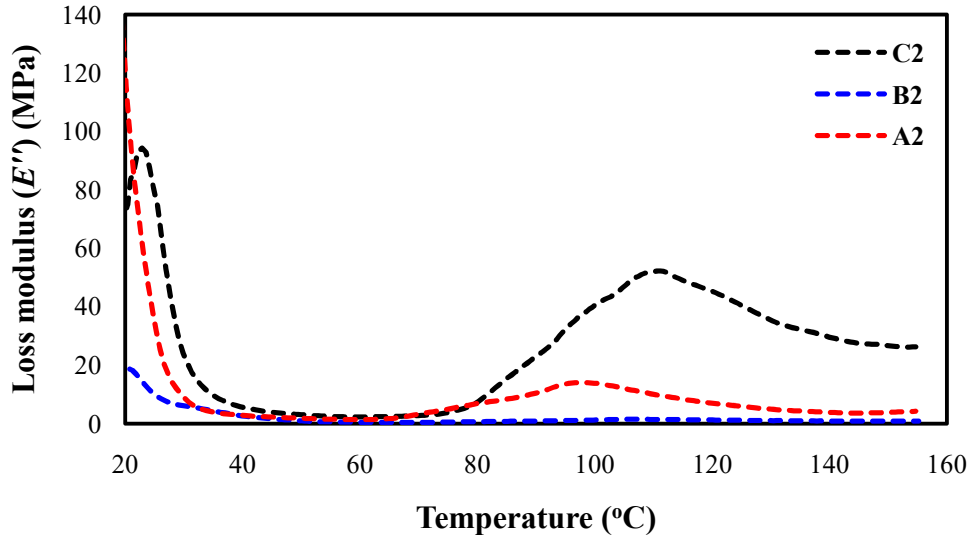
A2 (%84,38 PAA %9,28 CMC %1,265 HA %5,06 *L. candidum*), B2 (%66,53 PAA %28,48 CMC %0,99 HA %4,94 *L. candidum*), C2 (%48,12 PAA %48,12 CMC %0,97 HA %4,89 *L. candidum*) biyomateryal örneklerinin DMA deneyi sonucu elde edilen Tan δ , depolama modülü (E') ve kayıp modül (E'') sonuçları sırası ile Şekil 3.10- 3.12'de verilmiştir.



Şekil 3.10: A2 (%84,38 PAA %9,28 CMC %1,265 HA %5,06 *L. candidum*), B2 (%66,53 PAA %28,48 CMC %0,99 HA %4,94 *L. candidum*), C2 (%48,12 PAA %48,12 CMC %0,97 HA %4,89 *L. candidum*) biyomateryal örneklerinin DMA analizi Tan δ sonuçları



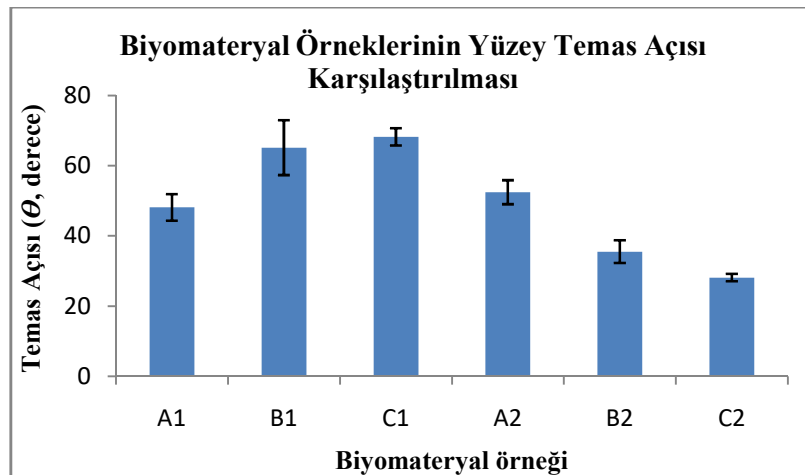
Şekil 3.11: A2 (%84,38 PAA %9,28 CMC %1,265 HA %5,06 *L. candidum*), B2 (%66,53 PAA %28,48 CMC %0,99 HA %4,94 *L. candidum*), C2 (%48,12 PAA %48,12 CMC %0,97 HA %4,89 *L. candidum*) biyomateryal örneklerinin DMA analizi depolama modülü (E') sonuçları



Şekil 3.12: A2 (%84,38 PAA %9,28 CMC %1,265 HA %5,06 *L. candidum*), B2 (%66,53 PAA %28,48 CMC %0,99 HA %4,94 *L. candidum*), C2 (%48,12 PAA %48,12 CMC %0,97 HA %4,89 *L. candidum*) biyomateryal örneklerinin DMA analizi kayıp modülü (E'') sonuçları

3.2.5 Yüzey temas açısı (hidrofilik/hidrofobiklik) ölçümü sonuçları

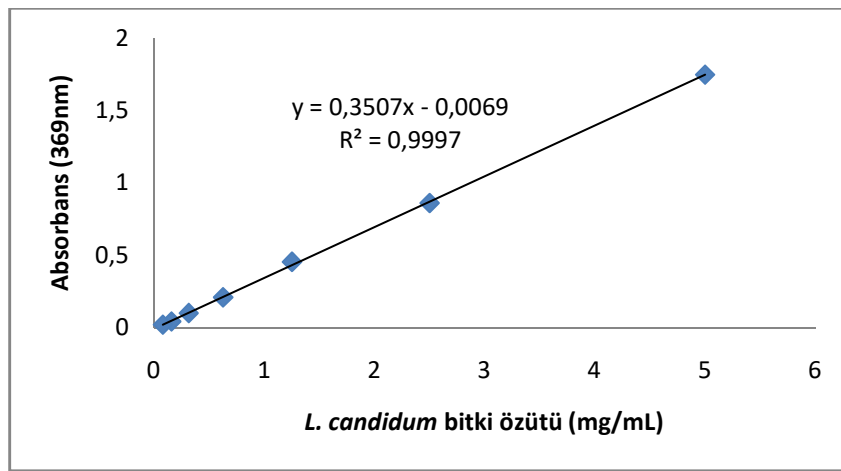
Hazırlanmış olan biyomateryal örneklerinin yüzey temas açısı (hidrofiliklik/ hidrofobiklik) A1 (%89,5 PAA %9,5 CMC %1 HA), B1 (%69,5 PAA %29,5 CMC %1 HA), C1 (%49,5 PAA %49,5 CMC %1 HA) ve A2 (%84,38 PAA %9,28 CMC %1,265 HA %5,06 *L. candidum*), B2 (%66,53 PAA %28,48 CMC %0,99 HA %4,94 *L. candidum*), C2 (%48,12 PAA %48,12 CMC %0,97 HA %4,89 *L. candidum*) deney sonuçları Şekil 3.13'te verilmiştir.



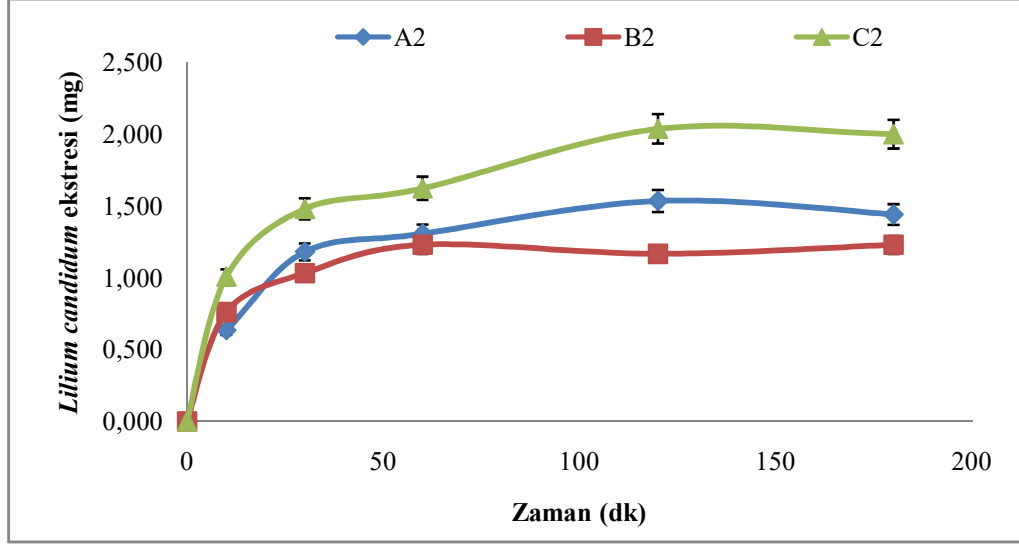
Şekil 3.13: A1, B1, C1 ve A2, B2, C2 konsantrasyonlarında hazırlanan biyomateryal örneklerinin yüzey temas açısı deneyi sonuçları

3.2.6 Salınım deneyi sonuçları

Hazırlanan A2 (%84,38 PAA %9,28 CMC %1,265 HA %5,06 *L. candidum*), B2 (%66,53 PAA %28,48 CMC %0,99 HA %4,94 *L. candidum*), C2 (%48,12 PAA %48,12 CMC %0,97 HA %4,89 *L. candidum*) biyomateryal örneklerinin *L. candidum* bitki özütünü serbest bırakma performansları, *in vitro* salınım kinetikleri üzerinden karşılaştırılmıştır. Özütün salınım miktarları, öncelikle standart bir kalibrasyon eğrisi oluşturularak ve belirlenen zaman aralıklarında absorbans ölçümleri alınarak tespit edilmiştir. Biyomalzeme örneklerinin salınım hızları ve toplam salınım kapasiteleri sırası ile Şekil 3.14 ve Şekil 3.15'te incelenmiştir.



Şekil 3.14: *L. candidum* bitkisi özütünün farklı standart konsantrasyonları (mg/mL) ile 369 nm dalga boyunda ölçülen absorbans değerleri arasındaki doğrusal ilişkiyi gösteren kalibrasyon eğrisi



Şekil 3.15: A2 (%84,38 PAA %9,28 CMC %1,265 HA %5,06 *L. candidum*), B2 (%66,53 PAA %28,48 CMC %0,99 HA %4,94 *L. candidum*), C2 (%48,12 PAA %48,12 CMC %0,97 HA %4,89 *L. candidum*) biyomateryal örneklerinin zamana bağlı birikimli salınım kinetiği

3.3 Biyouyumluluk Testleri Sonuçları

3.3.1 Hemouyumluluk deneyi sonuçları

A2 (%84,38 PAA %9,28 CMC %1,265 HA %5,06 *L. candidum*), B2 (%66,53 PAA %28,48 CMC %0,99 HA %4,94 *L. candidum*) ve C2 (%48,12 PAA %48,12 CMC %0,97 HA %4,89 *L. candidum*) biyomateryallerinin hemouyumluluk analizi sonuçları Tablo 3.4'te verilmiştir.

Tablo 3.4: A2, B2 ve C2 biyomateryallerinin hemouyumluluk analizi sonuçları

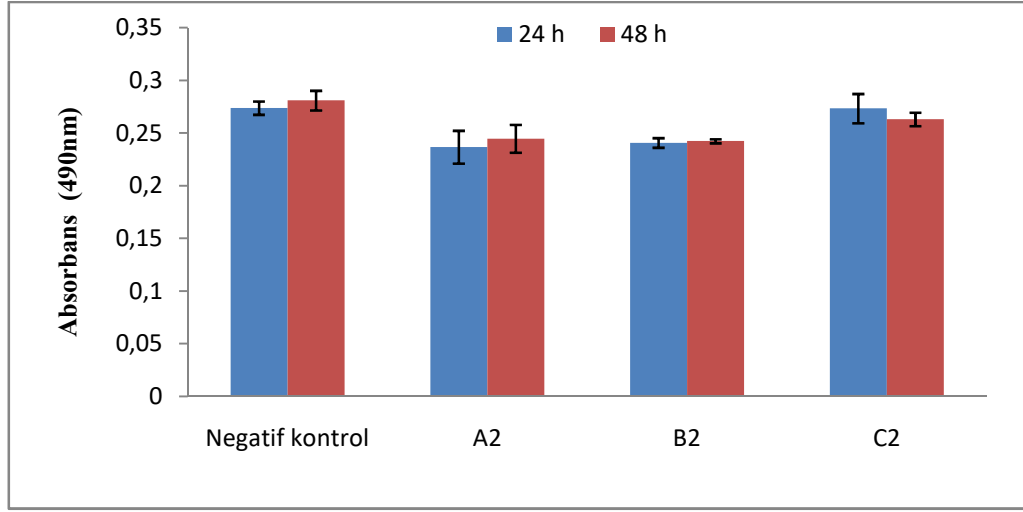
A2 biyomateryal örneği	B2 biyomateryal örneği	C2 biyomateryal örneği
%4,24	%5,05	%3,17

3.4 Sitotoksisite Deneyi Sonuçları

3.4.1 MTS deneyi

A2 (%84,38 PAA %9,28 CMC %1,265 HA %5,06 *L. candidum*), B2 (%66,53 PAA %28,48 CMC %0,99 HA %4,94 *L. candidum*) ve C2 (%48,12 PAA %48,12 CMC %0,97

HA %4,89 *L. candidum*) biyomateryal örneklerinin MTS deneyi sonuçları Şekil 3.16’da verilmiştir.



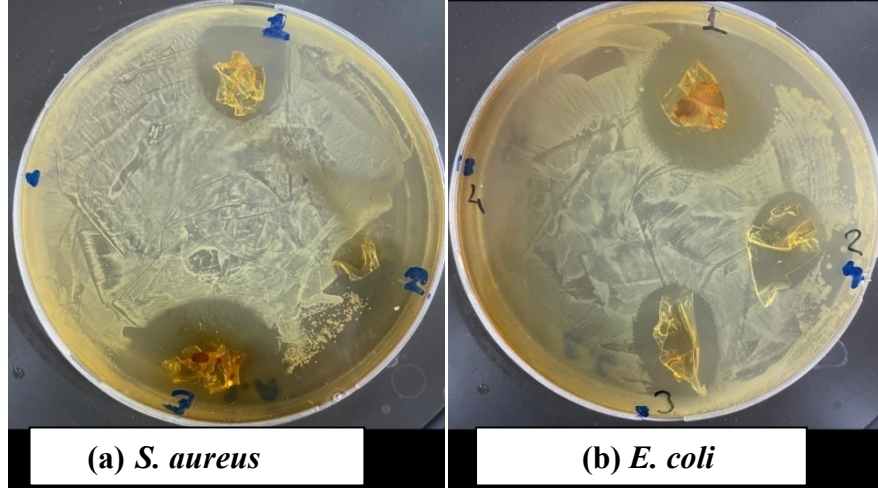
Şekil 3.16: A2, B2 ve C2 biyomateryal örneklerinin MTS deneyi sonuçları.

3.5 Antibakteriyel Test Sonuçları

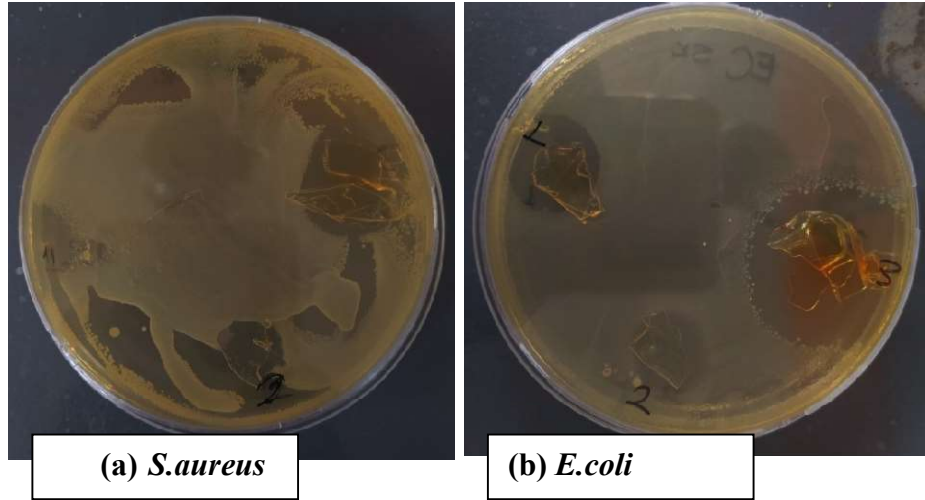
Biyomateryal örneklerinin antibakteriyel deneyleri gram pozitif (+) *S. aureus* ve gram negatif (-) *E. coli* bakteri suşları ile gerçekleştirilmiştir.

A1 (%89,5 PAA %9,5 CMC %1 HA), B1 (%69,5 PAA %29,5 CMC %1 HA), C1 (%49,5 PAA %49,5 CMC %1 HA) biyomateryal örnekleri sırası ile 1, 2, 3 olarak adlandırılmış olup *S. aureus* ve *E. coli* bakterisi ile yapılan deney sonuçları Şekil 3.17’de verilmiştir.

A2 (%84,38 PAA %9,28 CMC %1,265 HA %5,06 *L. candidum*), B2 (%66,53 PAA %28,48 CMC %0,99 HA %4,94 *L. candidum*), C2 (%48,12 PAA %48,12 CMC %0,97 HA %4,89 *L. candidum*) biyomateryal örnekleri sırası ile 1,2,3 olarak adlandırılmış olup *S. aureus* ve *E. coli* bakterisi ile yapılan deney sonuçları Şekil 3.18’de verilmiştir. A1, B1, C1, A2, B2, C2 biyomateryal örneklerinin inhibisyon çapları Tablo 3.6’ da verilmiştir.



Şekil 3.17: A1 (%89,5 PAA %9,5 CMC %1 HA), B1 (%69,5 PAA %29,5 CMC %1 HA), C1 (%49,5 PAA %49,5 CMC %1 HA) biyomateryal örneklerinin *S. aureus* bakterisi (a) ve *E. coli* bakterisi (b) ile antibakteriyel deneyi sonuçları



Şekil 3.18: A2 (%84,38 PAA %9,28 CMC %1,265 HA %5,06 *L. candidum*), B2 (%66,53 PAA %28,48 CMC %0,99 HA %4,94 *L. candidum*), C2 (%48,12 PAA %48,12 CMC %0,97 HA %4,89 *L. candidum*) biyomateryal örneklerinin *S. aureus* bakterisi (a) ve *E. coli* bakterisi (b) ile antibakteriyel deneyi sonuçları

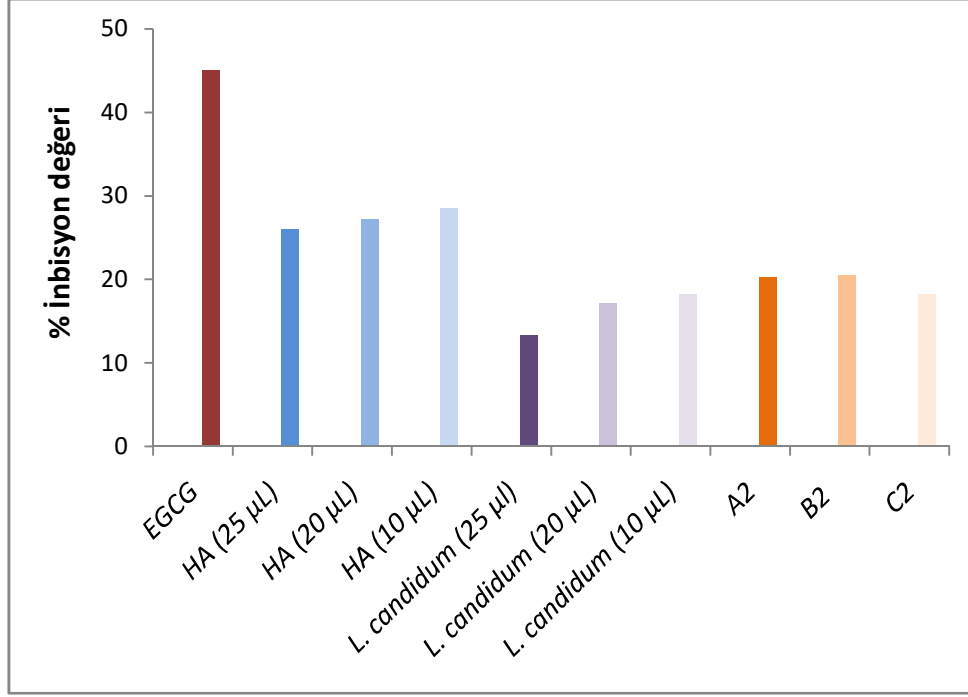
Tablo 3.5: A1, B1, C1, A2, B2, C2 biyomateryal örneklerinin inhibisyon çapları

Örnekler	<i>S. aureus</i> İnhibisyon zonu (mm)	<i>E. coli</i> İnhibisyon zonu (mm)
A1(%89,5 PAA %9,5 CMC %1 HA)	19,85±0,81	28,99±0,94
B1(%69,5 PAA %29,5 CMC %1 HA)	15,39±0,92	18,24±0,86
C1(%49,5 PAA %49,5 CMC %1 HA)	23,52±2,25	20,44±1,9
A2 (%84,38 PAA %9,28 CMC %1,265 HA %5,06 <i>L. candidum</i>)	13,03±2,29	19,78±0,09
B2 (%66,53 PAA %28,48 CMC %0,99 HA %4,94 <i>L. candidum</i>)	16,97±1,31	16,1±1,05
C2 (%48,12 PAA %48,12 CMC %0,97 HA %4,89 <i>L. candidum</i>)	22,17±1,27	32,13±0,76

3.6 Biyomateryal Örneklerinin Kollajenaz Aktivitesinin İnhibisyonu Deneyi Sonuçları

A2 (%84,38 PAA %9,28 CMC %1,265 HA %5,06 *L. candidum*), B2 (%66,53 PAA %28,48 CMC %0,99 HA %4,94 *L. candidum*), C2 (%48,12 PAA %48,12 CMC %0,97 HA %4,89 *L. candidum*) biyomateryal örneklerinin kollajenaz aktivitesinin inhibisyonu deneyinde inhibitör olarak epigallokateşin gallat (EGCG) inhibitörü kullanılmıştır.

Biyomateryal örneklerinin içeriğinde bulunan hyaluronik asit polimeri (HA) ve *L. candidum* bitki ekstresinin farklı konsantrasyonlarının kollajenaz inhibisyonu aktivitesine de bakılmıştır. Kollajenaz aktivitesinin inhibisyonu deneyi sonuçları Şekil 3.19'da gösterilmiştir.

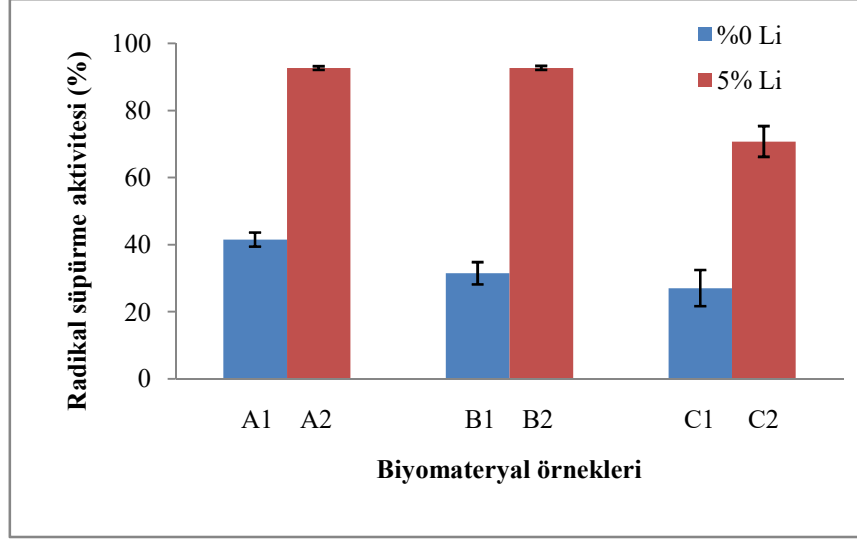


Şekil 3.19: A2 (%84,38 PAA %9,28 CMC %1,265 HA %5,06 *L. candidum*), B2 (%66,53 PAA %28,48 CMC %0,99 HA %4,94 *L. candidum*), C2 (%48,12 PAA %48,12 CMC %0,97 HA %4,89 *L. candidum*) biyomateryal örneklerinin kollajenaz aktivitesinin inhibisyonu deneyi sonuçları

3.7 Antioksidan Deneyi Sonuçları

3.7.1 DPPH antioksidan deneyi sonuçları

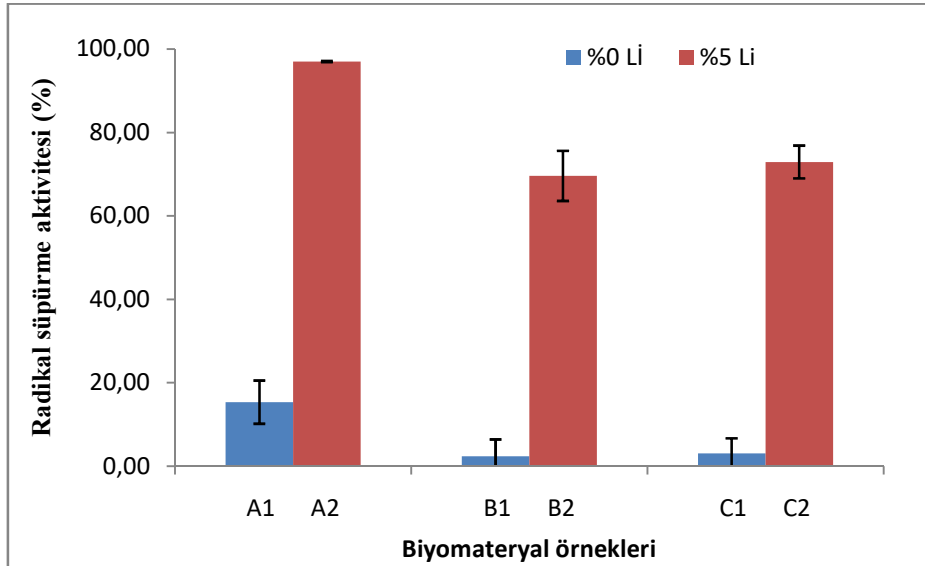
A1 (%89,5 PAA %9,5 CMC %1 HA), B1 (%69,5 PAA %29,5 CMC %1 HA), C1(%49,5 PAA %49,5 CMC %1 HA) ve A2 (%84,38 PAA %9,28 CMC %1,265 HA %5,06 *L. candidum*), B2 (%66,53 PAA %28,48 CMC %0,99 HA %4,94 *L. candidum*), C2 (%48,12 PAA %48,12 CMC %0,97 HA %4,89 *L. candidum*) biyomateryallerinin DPPH reaktifi ile karşılaştırıldığı antioksidan deneyi sonuçları Şekil 3.20’de verilmiştir.



Şekil 3.20: A1, B1, C1 ve A2, B2, C2 biyomateryal örneklerinin DPPH reaktifi ile antioksidan deneyi sonuçları

3.7.2 ABTS Antioksidan Deneyi Sonuçları

A1 (%89,5 PAA %9,5 CMC %1 HA), B1 (%69,5 PAA %29,5 CMC %1 HA), C1(%49,5 PAA %49,5 CMC %1 HA) ve A2 (%84,38 PAA %9,28 CMC %1,265 HA %5,06 *L. candidum*), B2 (%66,53 PAA %28,48 CMC %0,99 HA %4,94 *L. candidum*), C2 (%48,12 PAA %48,12 CMC %0,97 HA %4,89 *L. candidum*) biyomateryallerinin ABTS reaktifi ile karşılaştırıldığı antioksidan deneyi sonuçları Şekil 3.21’de gösterilmiştir.



Şekil 3.21: A1, B1, C1 ve A2, B2, C2 biyomateryal örneklerinin ABTS⁺ reaktifi ile antioksidan deneyi sonuçları

4. TARTIŞMA

4.1 *L. candidum* Bitkisinin Karakterizasyon Deneyi Sonuçları

Bu çalışmada üretilmiş olan poliakrilik asit (PAA), hyalüronik asit (HA), karboksimetil selüloz (CMC) temelli biyomateryal örneklerinin içeriğine antimikrobiyal, antioksidan ve antihistaminik potansiyel etkilerinden yararlanılması hedeflenen *L. candidum* bitkisinin ekstresi eklenmiştir. Bu nedenle *L. candidum* bitkisinin biyoaktif karakterizasyonunu belirlemek üzere toplam fenolik konsantrasyonu, toplam flavonoid konsantrasyonu ve toplam protein içeriği analiz edilmiştir.

4.1.1 *L. candidum* bitkisinin toplam fenolik konsantrasyonu ve toplam flavonoid konsantrasyonu analiz sonuçları

L. candidum bitkisinin toplam fenolik konsantrasyonu sonuçları Folin-Ciocalteu kolorimetrik yöntemi kullanılarak spektrofotometrik olarak belirlenmiştir. Yapılan deneyler sonucunda toplam fenolik bileşik analizi sonucu hesaplanmıştır ve gallik asit standardı kullanılarak kalibrasyon eğrisi oluşturulmuştur. Deney sonucu toplam fenolik bileşik içeriği $3,73 \pm 0,11$ mg/g olarak bulunmuştur.

L. candidum bitkisinin biyoaktif karakterizasyonu belirlemek için yapılan deneylerden biri de toplam flavonoid içeriği analizidir. Toplam flavonoid içeriği analizi için Ramful ve arkadaşlarına ait metot düzenlenerek spektrofotometrik olarak ölçümler alınmıştır (Ramful et al., 2011). Yapılan analiz sonucunda toplam flavonoid içeriği deneyi sonuçları $2,66 \pm 0,20$ mg/g olarak bulunmuştur. Hesaplamalarda kuersetin standardı kullanılarak elde edilmiş kalibrasyon eğrisi grafiği kullanılmıştır. Sonuçlar Tablo 3.1’de verilmiştir.

Fenolik bileşikler, bitkisel kökenli tüm gıdalarda yaygın olarak bulunan ve bir veya daha fazla hidroksil (-OH) grubu taşıyan aromatik halkaya sahip olan geniş bir sekonder metabolit ailesini oluşturmaktadır. Flavonoidler ise bu sekonder metabolit ailesinin önemli bir alt grubudur. Bu bileşikler bitkilerde patojenlere karşı savunma, UV koruması, sinyalizasyon ve pigmentasyon gibi hayati işlevleri ile bilinmektedir. İnsan sağlığında güçlü antioksidan kapasiteleri sayesinde oksidatif stresi azaltarak kronik hastalıklara karşı koruyucu rol oynamaktadırlar (D'Archivio et al., 2007; Aryal et al., 2019). Ek olarak flavonoidlerin antiinflamatuvar, antimutajenik ve antikarsinojenik özelliklerinin yanı sıra temel hücrel enzim fonksiyonlarını düzenleme kapasiteleri de bulunmaktadır (Panche et al., 2016). Bitkilerde toplam fenolik ve flavonoid içerik analizi, söz konusu bileşiklerin

biyoaktif kapasitelerini ve bu bileşiklerin bitkisel ürünlerin fonksiyonel niteliğine katkısını ortaya çıkarmak açısından gereklidir.

Literatür taraması yapıldığında *Lilium* cinsinin ait olduğu *Liliaceae* familyasına ait bir çok cinste toplam fenolik içeriği ve toplam flavonoid içeriği analizi gerçekleştiren çalışmalar olduğu görülmüştür. Lupşor et al. (2025), bazı *Lilium* cinslerinin bulunduğu %70 ve %96 etanollü ekstraktlarda toplam fenolik ve toplam flavonoid içerik analizi yapmıştır ve *L. candidum* bitkisinin toplam fenolik içerik analizinde sonuçları %70 etanol ekstrakt için 0,58 mg/g, %96 etanollü ekstrakt için 0,41 mg/g olarak bulmuştur. Toplam flavonoid içerik analizinde ise %70 etanollü ekstrakt için 1,58 mg/g, %96 etanollü ekstrakt için 0,55 mg/g olarak bulmuştur. Tang et al. (2021), 22 farklı *Lilium* cinsi ile toplam fenolik içeriği ve toplam flavonoid içeriği analizi gerçekleştirmiştir. Toplam fenolik içerik analiz sonuçlarına bakıldığında *L. 'Jinghe'* kùltivarının $0,6 \pm 0,07$ mg/g sonucu ileen düşük fenolik içerik değerine sahip olduğu, *L. regale* türünün ise $13,73 \pm 0,35$ mg/g sonucu ile en yüksek fenolik içerik değerine sahip olduğu bulunmuştur. Türlerin toplam flavonoid içerik analizlerine bakıldığında sonuçlar, toplam fenolik içerik sonuçları ile benzerlik göstermiştir fakat *L. regale* ve *L. henry'* nin toplam flavonoid içerik sonuçlarının, test edilen diğer materyallerden 3-10 kat daha yüksek olduğu belirlenmiştir. Momtaz et al. (2020), yaptığı bir çalışmada *L. candidum* bitkisinin toplam fenolik ve flavonoid içeriğine bakmıştır. *L. candidum* ekstresinin toplam fenolik içeriğini 157 mg/g ve toplam flavonoid içeriğini 32,4 mg/g olarak hesaplanmıştır.

Literatür taraması ile elde edilen sonuçlar ve mevcut çalışma bulgularının kıyaslaması yapıldığında benzer ve tutarlı sonuçlar görülmüştür. Elde edilen kantitatif analiz sonuçları, *L. candidum* bitkisinin belirgin düzeyde fenolik ve flavonoid bileşikleri içerdiğini açıkça ortaya koymaktadır. Fenolik ve flavonoid bileşik içeriğinin literatürde iyi bilinen oksidatif stresin azaltılması, serbest radikal temizleme yeteneği ve hücre koruyucu aktivitelerinin bitkinin güçlü antioksidan özelliklerine sahip olduğunu doğrulamaktadır. Ek olarak flavonoidlerin antimikrobiyal, antiinflamatuvar etkileri ve fenolik bileşiklerin doku yenilenmesini teşvik eden biyolojik etkilerinin birleşmesi, çalışma kapsamında hazırlanan biyomateryal örneklerinin yara iyileştirme sürecinde potansiyel bir etki taşıdığını göstermektedir. Bu açılarıyla çalışma bulguları, önceki çalışmaların ortaya koyduğu biyolojik aktivitelerle uyumlu olup, *L. candidum* temelli biyomateryallerin yara örtüsü geliştirme çalışmalarında umut vadettiğini desteklemektedir.

4.1.2 *L. candidum* bitkisinin toplam protein içeriği analiz sonuçları

L. candidum bitkisinin toplam protein içeriği Bradford'un yöntemine göre belirlenmiştir (Bradford, 1976). Bu yöntem fosforik asitli güç proteinlerinin Coomassie Brilliant Blue G-250 kalıntılarını ile kompleks oluşturması esasına dayanmaktadır. *L. candidum* bitkisinin toplam protein içeriği analiz sonucu hesaplanmış ve sığır serum albümini kullanılarak standart kalibrasyon eğrisi oluşturulmuştur. Deney sonucu toplam protein içeriği Tablo 3.1'de verildiği gibi $6,94 \pm 1,38$ mg/g olarak hesaplanmıştır.

Literatür taraması yapıldığında *Lilium türlerinin* bazıları ile toplam protein içeriği analizinin yapıldığı görülmüştür. Özbek (2024), yaptığı bir çalışmada *L. candidum* bitkisinin polen, yaprak, taç yaprak, gövde ve soğan kısımlarını ayırarak toplam protein değerlerini yüzde (%) olarak hesaplamıştır. Soğan için ortalama protein değeri %1,95, polen için %12,51, yaprak için %1,80, taç yaprak için %1,31, gövde için %1,14 olarak bulunmuştur. Lee et al. (2007), *Liliaceae* familyasına ait *L. lancifolium* ve *L. Davidii* türlerinin toplam protein içeriğine bakmıştır. Yapılan çalışmaya göre *L. lancifolium* türünün ham protein içeriği 5.21 ± 0.41 , *L. davidii* türünün ham protein içeriği 4.31 ± 1.22 bulunmuştur.

Elde edilen bulgular ve mevcut çalışma bulguları karşılaştırıldığında daha önce *L.candidum* bitkisi üzerine toplam protein içeriğini doğrudan araştıran çalışma sayısının az olduğu görülmektedir. Bu çalışma, *L. candidum* bitkisinin toplam protein içeriğini mg/g cinsinden nicel olarak ortaya koyması açısından literatürdeki boşluğu doldurmaya katkı sağlayacaktır. Bununla birlikte, literatürde bildirilen değerlerin genel eğilimleri göz önüne alındığında çalışmamızın bulgularının bu aralıklar ile uyumlu olduğu söylenebilir. *L. candidum* ekstresinin toplam protein içeriğinin belirlenmesi bitkinin biyoaktif potansiyelinin kapsamlı bir şekilde değerlendirilmesi için kritik bir öneme sahiptir. Aynı zamanda proteinlerin, bitkilerin biyokimyasal süreçlerinde yapısal ve enzimatik görevlerde rol aldığı bilinmektedir. Bu görevleri ile çalışmamız kapsamında oluşturulan biyomateryalin doku iyileştirme aşamasına katkı sağlayacağı öngörülmektedir.

4.2 Biyomateryallerin karakterizasyon analiz sonuçları

Çalışma kapsamında *L. candidum* bitki özütü temelli poliakrilik asit (PAA), karboksimetil selüloz (CMC), hyaluronik asit (HA) ile hazırlanan biyomateryal örneklerinin fizikokimyasal, termal ve morfolojik özelliklerini belirlemek üzere ATR-FTIR, SEM-

EDX, DSC gibi temel karakterizasyon yöntemleri ile birlikte yüzey temas açısı, *in vitro* sıvı tutma kapasitesi ve salınım kinetiği deneyleri uygulanmıştır.

4.2.1 *In vitro* sıvı tutma kapasiteleri sonuçları

Hazırlanan biyomateryal örneklerinin *in vitro* sıvı tutma kapasitesi deneyi (şişme testi) izotonik su (%0,9 NaCl) içerisinde farklı süreler denenerek, maksimum sıvı hapsetme kapasitesine ulaşıncaya kadar bekletilerek gerçekleştirilmiştir. A1 (%89,5 PAA %9,5 CMC %1 HA), B1 (%69,5 PAA %29,5 CMC %1 HA), C1 (%49,5 PAA %49,5 CMC %1 HA) biyomateryal örneklerinin *in vitro* sıvı tutma kapasitesi zamana karşı (dk) test edilmiştir ve sonuçlar Şekil 3.4'te verilmiştir.

Poliakrilik asit (PAA), karboksimetil selüloz (CMC) ve hyaluronik asit (HA) için literatür araştırması yapıldığında polimerlerin saf ve PAA-HA, CMC-HA kombinasyonu ile de *in vitro* sıvı tutma deneyi üzerine çalışmalar olduğu görülmektedir. Örneğin; Zhang et al. (2022), yaptığı bir çalışmada modifiye edilmiş hyaluronik asit ile poliakrilik asit (PAA/HA-NHS) hidrojeller yara örtüleri geliştirmiştir. Hazırlanan PAA/HA-NHS hidrojellerinin gözenekli yapıya sahip olduğu ve şişme testi sonuçlarına bakıldığında ıslak ortamda (%100 su içerisinde) $122,17 \pm 2,78$ şişme oranı gözlemlenmiştir. Chuach et al. (2018), geliştirilen kompozitte bakteriyel selüloz (BC) ve poliakrilik asit ile geliştirilen BC-PAA kompozitinin yapısı araştırmıştır. Oluşturulan kompozitin şişme potansiyeli incelendiğinde BC-PAA kompoziti saf BC' ye göre artmış ancak saf PAA hidrojele göre kompozitte daha düşük şişme eğrisi gözlenmiştir. Zhang et al. (2024) saf CMC ve L-karnosin içeren CMC formülasyonu ile geliştirdiği hidrojel PBS tampon ortamında (pH 7.4) sıvı tutma kapasitesi deneyi gerçekleştirmiştir. Saf CMC hidrojelinde denge şişme oranını $1627,9 \pm 81,5$ olarak bulmuş L-karnosin içeren formülasyonda bu değer $973,4 \pm 45,9$ 'a gerilemiştir. Abed et al. (2024), tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada saf karboksimetil selüloz (CMC) sodyum aljinat (SA) ve hyaluronik asit (HA) kombinasyonu kompozit içeren bir hidrojelde 24 saatlik süre aralığında şişme oranına bakmıştır. SA-CMC-HA hidrojel şişme indeksi 0.43 (yani %43) olarak bulunmuştur. Meng et al. (2025), oksitlenmiş HA (OHA) ve aminlemiş HA (HA-ADH) sentezlenerek ilaç salınımında kullanılacak HA@F127-MF pH-duyarlı jel geliştirmiştir. Bu hidrojel 8 saat boyunca PBS tamponunda bekletilerek sıvı tutma kapasitesi incelenmiş 8 saat sonunda HA@F127-MF hidrojel yaklaşık %1500'lük bir şişme oranıyla şişme dengesine ulaşmıştır. Li et al. (2024), tarafından foto-ışın ile çapraz bağlanan HA/ silk fibroin hidrojelleri incelenmiştir.

HAC-jel, HASF-jel-1, HASF-jel-2 ve HASF-jel-4'ten oluşan dört grup hidrojel numunesi şişme testi ile analiz edilmiştir. Saf HA hidrojel (HAC-jel) maksimum %2100 şişme oranına ulaşırken, daha sıkı bağlanan fibroin içeren (HASF-jel-4) %1288 şişme oranı ile en düşük şişmeyi göstermiştir. Yani saf HA (HAC-jel) ağ yapısı çok yüksek sıvı tutma kapasitesine sahipken, eklenen fibroin ve çapraz bağ yoğunluğu arttıkça denge şişme oranı düşmüştür.

Elde edilen bulgular ve mevcut çalışma bulgularımız tutarlı olduğu görülmektedir. Çalışma kapsamında kullandığımız polimerlerin saf halleri ve kombinasyonları ile hazırlanan hidrojellerin şişme oranı moleküler çapraz bağ yoğunluğuna, bileşen oranlarına ve ortamkoşullarına bağlıdır. PAA, CMC ve HA ile hazırlanan biyomateryallerin gösterdikleri yüksek sıvı tutma kapasitesi sonuçları sayesinde nemli yara ortamı sağlayabileceği ve yara eksudasını etkin biçimde absorbe edebileceğini göstermektedir.

4.2.2 ATR-FTIR analiz sonuçları

Çalışma kapsamında hazırlanan biyomateryallerin FTIR analizi, Perkin Elmer Spektrum 100 model Fourier dönüşümlü kızılötesi spektrokopisi kullanılarak $650-4000\text{ cm}^{-1}$ dalga boyları arasında alınmıştır. ATR-FTIR analizinin amacı, maddenin infrared ışınlarını absorblamasını esas alarak fonksiyonel gruplarını doğrulamak, yapıdaki olası etkileşimleri (hidrojen bağları, polimerizasyon veya çapraz bağlanma) ortaya koymak ve sentezlenen/üretilen formülasyonun kimyasal bütünlüğünü değerlendirmektir (Movasaghi et al, 2008). A1 (%89,5 PAA %9,5 CMC %1 HA), B1 (%69,5 PAA %29,5 CMC %1 HA) ve C1 (%49,5 PAA %49,5 CMC %1 HA) biyomateryal örneklerinin PAA, CMC ve HA ile karşılaştırılmış. ATR-FTIR analiz sonuçları sırası ile Şekil 3.5, Şekil 3.6'da verilmiştir. A1 örneğinde O-H gerilmelerine atfedilen pikin CMC'den geldiği ve matriksler ile dolgu materyalleri arasındaki etkileşimden dolayı önemli bir kayma yaptığı (3274 cm^{-1} 'den 3379 cm^{-1} 'e) tespit edilmiştir. Tüm örneklerde bulunan $1704-1701\text{ cm}^{-1}$ piklerinin PAA polimeri C=O gerilmelerine atfedilen 1695 cm^{-1} 'ye ait olduğu ve kayma yaptığı öngörülmüştür. A1 örneğinde amid (N-H) gerilmelerine atfedilen 1566 cm^{-1} 'deki pikin HA'dan geldiği (1591 cm^{-1}) ve matriks ile etkileşimi sonucunda kayma yaptığı tespit edilmiştir. Şekil 3.5 ve 3.6 incelendiğinde biyomateryallere ait spektrumlarda bulunan fonksiyonel gruplara ait piklerin hem şiddetlerinde meydana gelen değişikliklerin tespiti hem de kaymaların gözlenmesi tüm bileşenler arasında etkileşimin olduğuna işaret etmektedir.

4.2.3 SEM-EDX analiz sonuçları

Sulu çözeltilerde poliakrilik asit (PAA) ve karboksimetil selüloz (CMC) arasındaki etkileşim mekanizması, öncelikle hidrojen bağına sahip interpolimer komplekslerinin oluşumunu içerir. Bu etkileşim, pH seviyelerinden etkilenir ve sonuçta ortaya çıkan komplekslerin farklı yapısal ve işlevsel özelliklere sahip olmasına neden olur. Bu çalışmanın hedefindeki biyomateryalin matriks fazını oluşturan PAA ve CMC, sulu çözeltilerde, özellikle asidik koşullar altında kararlı hidrojen bağı kompleksleri oluşturabilirler (Khutoryanskaya et al., 2007; Khutoryanskaya et al., 2014). Şekil 3.7-3.9'da da görüldüğü gibi etkileşimin matriks yüzeyinde homojen bir etkileşimin oluştuğunu göstermektedir. Kompleksleşme, viskozite, pH ve çözünürlükte önemli değişikliklerle karakterize edilir (Khutoryanskaya et al., 2007). Matrikse eklenen ve biyomateryalin yapısına dahil olan hyaluronik asit ve *L.candidum* özütünün suda çözünen yapılarından dolayı hidrofilik yapıların bir araya gelmesi ile kompleksleşmenin agregasyon (çökelti) ile sonuçlanmadığı izlenmiştir. Tüm biyomateryaller için farklı büyüklüklerde elde edilmiş SEM fotoğraflarının matrikslerde arasında etkileşimin olduğu ve dolgu materyali olarak eklenen hyaluronik asit ile *L. candidum* özütünün matriks içerisinde homojen bir dağılım sergilediği sonucuna varılmıştır.

4.2.4 DMA analiz sonuçları

Bu çalışmada A2 (%84,38 PAA %9,28 CMC %1,265 HA %5,06 *L. candidum*), B2 (%66,53 PAA %28,48 CMC %0,99 HA %4,94 *L. candidum*) ve C2 (%48,12 PAA %48,12 CMC %0,97 HA %4,89 *L. candidum*) örneklerinin viskoelastik özellikleri depolama modülü (E'), kayıp modülü (E'') ve $\tan \delta$ açısından analiz edilmiştir. DMA sonuçları, numunelerin moleküler hareketliliği, mekanik mukavemet ve enerji dağılımındaki farklılıkları göstermiştir.

Depolama modülü, stres altında elastik özellikleri ve enerji depolamasını göstermektedir. Tüm numuneler, muhtemelen gelişmiş polimer zinciri hareketliliği nedeniyle artan sıcaklıkta E'' 'de kayda değer bir düşüş sergilemiştir. C2 örneği, sıcaklık spektrumunda tutarlı bir şekilde en yüksek E' değerlerini göstermiştir. A2, orta derecede mekanik mukavemet ve elastik stabiliteyi B2'den daha düşük olan ara E' değerlerine sahip olduğu görülmüştür. Tersine, B2 en düşük E' değerlerini göstererek, artan zincir hareketliliğine sahip daha esnek ve daha az sert bir yapıda olduğu tahmin edilmektedir (Şekil 3.11).

Kayıp modülü, malzemenin mekanik enerjiyi ısı olarak dağıtma yeteneğini ve viskoz yapısını gösterir. C2 numunesi, polimer zincirlerinin konsantre işbirlikçi segmental hareketlerini gösteren 100-120°C arasında önemli bir E" zirvesi göstermiştir. A2, aynı aralıkta daha düşük ancak farklı bir E" zirvesi sergileyerek C2'ye göre sınırlı enerji sönümlene kapasitesi göstermiştir. B2, net bir tepe noktası olmadan düşük E" değerleri sunmuştur, bu da azalmış viskoz enerji kaybını ve daha yumuşak bir yapısal özelliği göstermiştir (Şekil 3.12).

Tan δ (E"/E'), malzemenin viskoz ve elastik özellikleri arasındaki dengenin bir göstergesi olarak hizmet eder ve cam geçiş sıcaklığının (Tg) değerlendirilmesinde kritik bir parametre oluşturur. B2, yaklaşık 40-50°C ve 90-100°C arasında iki farklı ton aralığına karşılık gelen δ tepe noktalarını sergilemiştir. Bu gözlem, B2 numunesinin heterojen bir faz mimarisine sahip olabileceği veya değişen segmental hareketliliklerle karakterize edilen çoklu gevşeme mekanizmaları sergileyebileceği anlamına gelmektedir. A2 numunesi, 55-65 °C aralığında meydana gelen tekil ve belirgin bir tan δ maksimum göstermiştir. Bu tepe, A2 numunesinin Tg'sinin bu belirtilen sıcaklık aralığında olduğunu gösterir. Buna karşılık, C2 numunesi, tüm sıcaklık spektrumunda nispeten azaltılmış tan δ değerleri sunmuştur. Düşük tan δ değerleri, C2 numunesinin, enerji yayma kapasitesinin önemli ölçüde kısıtlanmış olması ile elastik davranışın baskınlığını gösterdiğini göstermektedir. Bu fenomen, yüksek çapraz bağlanma yoğunluğuna veya sağlam çapraz zincir etkileşimlerine bağlanabilir (Şekil 3.10).

Sonuç olarak, dinamik mekanik analiz (DMA) değerlendirmeleri, C2 numunesinin, daha fazla esneklik ve viskozite gösteren B2 numunesinin aksine önemli mekanik sertlik ve termal kararlılık sergilediğini ortaya koydu. A2 örneği, bu iki yapısal uç arasında ara olan özellikleri göstermiştir.

4.2.5 Yüzey temas açısı (hidrofilik/hidrofobiklik) ölçümü sonuçları

A1 (%89,5 PAA %9,5 CMC %1 HA), B1 (%69,5 PAA %29,5 CMC %1 HA), C1 (%49,5 PAA %49,5 CMC %1 HA), A2 (%84,38 PAA %9,28 CMC %1,265 HA %5,06 *L. candidum*), B2 (%66,53 PAA %28,48 CMC %0,99 HA %4,94 *L. candidum*) ve C2 (%48,12 PAA %48,12 CMC %0,97 HA %4,89 *L. candidum*) biyomateryal örneklerinin yüzey temas açısı ölçümleri Attension Theta Lite cihazı ile statik temas açısı ölçüm modunda sıvı damlacıktan sapsız damla oluşturularak yapılmıştır. Yüzey temas açısı,

biyomateryal yüzeyinin hidrofilik mi, hidrofobik mi olduğunu gösteren önemli bir parametredir. Düşük temas açısı yüksek hidrofilikliği, yüksek yüzey temas açısı ise düşük hidrofilikliği yani yüksek hidrofobikliği ifade etmektedir (Kudracik-Kramarczyk et al., 2021). Biyomateryal örneklerinin yüzey temas açısı Şekil 3.13'te verilmiştir.

PAA, CMC ve HA ile oluşturulan biyomateryallerin yüzey temas açısını karşılaştırmak için literatür araştırması yapılmıştır. Tavakoli et al. (2018), tarafından polivinil alkol-poliakrilik asit (PVA-PAA) ile çift katmanlı yara iyileştirici hidrojel hazırlanmıştır. Hazırlanan hidrojin karakterizasyon deneyleri yapılmıştır ve yüzey temas açısı deneyi sonuçları saf PVA 33.2 ve PVA-PAA kompozit 24.2 derece olarak bulunmuştur. Kaczmarek-Szczepańska et al. (2024), potansiyel tıbbi uygulamalar için hyaluronik asit (HA) ve ellagik asit (EA) ile çeşitli HA/EA (80/20, 50/50 ve 20/80) filmler geliştirmiştir. Ellagik asit, sodyum hidroksit (NaOH) ve asetik asit (AcOH) olmak üzere, birbirinden farklı iki çözücü ortamında çözülmüş ve yüzey özelliklerini değerlendirmek için yüzey temas açısı, atomik kuvvet mikroskopisi, antioksidan aktivite ile deneyleri yapılmıştır. Temas açısı deneyleri gliserin (G) veya diiyodometan (D) damlası damlatılarak yapılmıştır. Asetik asit ile hazırlanan farklı konsantrasyondaki HA/EA bileşimleri ölçülememiştir. Bu nedenle Saf HA ile HA/EA/NaOH bileşimleri sonuçları karşılaştırılmıştır. Saf HA temas açısı sonuçları $35,28 \pm 2,29^\circ$ (G), $58,16 \pm 1,46^\circ$ (D), 80HA/20EA/NaOH bileşim sonuçları $37,70 \pm 1,67^\circ$ (G), $51,33 \pm 2,07^\circ$ (D), 50HA/50EA/NaOH bileşim sonuçları $23,83 \pm 1,10^\circ$ (G), $68,95 \pm 0,83^\circ$ (D), 20HA/80EA/NaOH bileşim sonuçları $26,24 \pm 1,16^\circ$ (G), $57,90 \pm 1,43^\circ$ (D) olarak bulunmuştur. Hosseini et al. (2024), tarafından antiinflamatuvar özelliklere sahip karboksimetil selüloz (CMC) ve sodyum aljinat (Alg) bazlı hidrojel geliştirilmiştir. Geliştirilen hidrojele Simvastatin (SIM) ilacı dahil edilerek antiinflamatuvar etkiye katkı sağlanması amaçlanmıştır. CMC/Alg ve CMC/Alg-SIM hidrojellerinin yüzey temas açısı oda sıcaklığında ölçülmüştür. CMC/Alg yüzey temas açısı sonuçları $43,3 \pm 2^\circ$ ve CMC/Alg-SIM temas açısı sonuçları $59,1 \pm 4^\circ$ olarak bulunmuştur. Simvastatin ilacının dahil edilmesinin hidrojin hidrofilikliğinde hafif bir azalmaya neden olduğu sonucuna varılmıştır. Dahlan et al. (2025), yaptıkları bir çalışmada saf CMC emülsiyon elektro eğirmeyöntemi kullanarak aşılınmış CMC-polietilen glikol (CMC-PEG) ve polikaprolakton (PCL) içeren membran üretmişlerdir. Üretilen PLC/CMC-PEG membranların yüzey temas açısı analizi yapılmış ve saf PCL membranı temas açısı $108,2 \pm 0,7^\circ$ olarak bulunmuştur. PCL membranına aşılınmış CMC-PEG dahil edilmiş ve CMC-PEG oranı arttıkça yüzey temas açısı $71,4 \pm 4,6^\circ$ den $37,7 \pm 3,0^\circ$ ye düşerek, hidrofilikliğin

arttığını göstermiştir. Aşılınmış CMC-PEG yapısında bulunan hidroksil grupları (-OH) ve amid bağlarının varlığı ile üretilen membranın hidrofilitesine, katkıda bulunduğu sonucuna varılmıştır.

Literatür araştırması ve mevcut çalışma bulgularına birlikte bakıldığında elde edilen sonuçların birbiriyle uyumlu olduğu görülmüştür. Yara örtüsü malzemelerinin oluşturulmasında yüzey temas açısı, yara eksudası ile denge oluşturmak için kritik bir parametredir. Bu çalışmada PAA, CMC ve HA ile hazırlanmış olduğumuz biyomateryal örneklerinin temas açısı düşük olarak belirlenmiş ve bu sonuçlar, biyomateryal örneklerinin yüksek hidrofilik özellik göstermesi ile yüzeyin ıslanabilirliğinin yüksek olduğunu ifade etmektedir. Hidrofilik yüzeyler, yara ortamında hücre göçü ve hücre adezyonu sürecine katkı sağlayarak iyileşme sürecini hızlandırmakta ve eksudanın kontrollü emilimi ile nem dengesini korumaya yardımcı olmaktadır. Bu nedenle biyomateryal örneklerinin düşük temas açısı değerleri ile yara iyileşmesine önemli derecede katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

4.2.6 Salınım deneyi sonuçları

Çalışma kapsamında hazırlanmış olduğumuz biyomateryal örneklerinin salınım davranışı, 369 nm’de ölçüm yapılarak standart bir kalibrasyon eğrisi oluşturulmuş ve biyomateryal örneklerinin ölçüm sonuçları bu referans doğrultusunda değerlendirilmiştir. Sırası ile Şekil 3.14 ve Şekil 3.15’te *L. candidum* bitki özütü ile oluşturulan standart kalibrasyon eğrisi ve biyomateryal örneklerinin salınım kinetiği sonuçları verilmiştir.

L. candidum ekstraktına yönelik doğrudan yapılan kontrollü salınım çalışması bulunmamakla birlikte benzer hidrojellerde (PAA/CMC/HA) doğal ekstrakt ve ilaç salımı üzerine çok sayıda çalışma mevcuttur. Bu çalışmalar polimer matrisin şişme davranışı, yüzey gözenekliliği ve çapraz bağlanma derecesi ile salım kinetiğinin belirlendiği göstermektedir. Peptu et al. (2021), yaptıkları bir çalışmada aljinat (AG) ve karboksimetil selüloz (CMC) bazlı hidrojel oluşturmuşlardır. Oluşturulan bu hidrojel ile ilaç salım kinetiğini araştırmışlardır. AG/CMC hidrojellerinin, bakteri büyümesini engelleyen antibiyotik metronidazol (MT) ilacının salınımı araştırılmış ve tüm hidrojel filmlerde 9,88-15,03 mg/g arasında salınım kapasitesi yani verimlilik açısından %59 ile %91 MT arasında salınım gözlemlenmiştir. Salınım kinetiği, tüm AG/CMC hidrojel formülasyonlarında üç aşamalı karakteristik bir salınım profili göstermiştir. Yaklaşık ilk 100 dakika içinde

belirgin bir başlangıç patlama salınım fazı, ardından 9 saat içinde kontrollü ve daha yavaş bir salınım aşaması ve 48 saate kadar düşük ve sabit hızlı bir salınım profiline ulaşmıştır. Wójcik-Pastuszka et al. (2021), tarafından ilaç taşınımı amacıyla nanopartikül hyaluronik asit hidrojelleri oluşturulmuştur. Sodyum hyalüronat (HA) ile noniyonik metilselüloz (MC) bazlı polimer (HA-MC) ve anyonik poliakrilik asit (PAA) bazlı polimer (PAA-MC) kullanılarak iki farklı tipte hidrojel oluşturulmuştur. Hazırlanan bu hidrojellerin salınım deneyi sonucunda salınan HA, ELISA deneyi ile belirlenmiştir. MC bazlı hidrojeller ve PAA bazlı hidrojellerin 8 saat içindeki HA salınımı pH 7.4 tampon solüsyonda incelenmiştir. 8 saat sonunda MC bazlı hidrojinin HA salınımı %6 ±1 ile %14±2, PAA bazlı hidrojelerde %11±3 ile %18±3 olmuştur. Bu çalışmada varılan sonuç, PA anyonik bir polimerdir ve yine anyonik bir polimer olan HA'nın salınımı, noniyonik bir polimer olan MC hidrojinine göre daha hızlı gerçekleşir. Oliveira et al. (2024), yaptıkları bir araştırmada polivinil alkol ve karboksimetil selüloz (PVA/CMC) ile enfeksiyonu kontrol etmek için flavonoidler ve diğer aktif bileşenler içeren *Salvia officinalis* (adaçayı) ve *Croton Lechleri* ağaçlarından elde edilmiş ejderha kanı (Dragon's blood, DB) özütü ile farklı hidrojeller hazırlamıştır. Hazırlanan hidrojellerin flavonoid salınımı deneyi yapılmıştır. Flavonoid salınımını değerlendirmek için kuersetin temelli bir kalibrasyon eğrisi kullanılmış ve hidrojeller PBS (fosfat tamponu) ortamında tutulup numunelerin şişme ortamındaki flavonoid miktarları ölçülmüştür. Flavonoid salınımı açısından sonuçlar, istatistiksel olarak anlamlı bir fark olduğunu göstermiştir. Salınım, kullanılan bitkinin türü ve bitki miktarına bağlıdır. Ejderha kanı (DB) özütü içeren hidrojeller, adaçayı (*S. officinalis*) özütü içerenlere kıyasla yaklaşık iki kat daha fazla flavonoid salınımı göstermiştir. Bu bulgular doğrultusunda PVA-CMC-15DB formülasyonu, flavonoid salınımı açısından en uygun hidrojel sistemi olarak değerlendirilmiştir.

Mevcut çalışma bulguları ve literatür araştırması ile elde edilen sonuçlar incelendiğinde, hidrojinin kimyasal yapısı ve içeriğinin aktif bileşen salınımı üzerinde önemli bir etkiye sahip olduğu görülmektedir. Literatürde HA, CMC veya PAA bazlı hidrojeller kullanılarak polimer, ilaç ya da biyomolekül salınımını konu alan çeşitli çalışmalar bulunmakla birlikte, bitkisel özüt salınımının doğrudan incelendiği çalışmaların sınırlı olduğu görülmektedir. Bu nedenle elde edilen bulgular, doğrudan bir biyolojik etkinin kanıtlanmasından ziyade, hidrojel ağ yapısı ile salınım profili arasındaki ilişkinin anlaşılmasına katkı sağlamaktadır. Bitkisel özütlerin literatürde bildirilen anti-inflamatuar ve biyolojik aktiviteleri göz önünde bulundurulduğunda, hidrojel sistemleri potansiyel biyomedikal uygulamalar açısından

değerlendirilebilir; ancak biyolojik etkinliğin net olarak ortaya konabilmesi için ilerideki çalışma kapsamında hazırlanmış olduğumuz biyomateryal örneklerinin (PAA/CMC/HA) *in vitro* ve *in vivo* çalışmaların yapılması gerekmektedir.

4.3 Biyouyumluluk analiz sonuçları

4.3.1 Hemouyumluluk analiz sonuçları

Biyomateryal örneklerinin hemouyumluluk testi spektrofotometrik olarak 545 nm’de belirlenmiştir. Tablo 3.5’te örneklerin absorpsiyon olarak elde edilen % hemoliz değerleri verilmiştir. Kan ile temas eden biyomalzemelerin kan hücrelerini tahrip etmeden güvenli çalışması “hemouyumlu” olarak tanımlanmaktadır (Weber et al., 2018). Temas eden maddelerin hemoliz yaratıp yaratmadığını test edebilmek için ISO 10993-4 ve ASTM F756 uluslararası standartlar geliştirilmiştir. Hemoliz oranı hesaplamaları için eritrositler ile temas sonrası açığa çıkan serbest hemoglobin ölçülür. ISO/ASTM standartlarına dayanılarak ortalama hemoliz oranı %5’in üzerinde olan materyal hemolitik yani kan ile uyumsuz kabul edilmektedir. %0-2 hemoliz non-hemolitik (kan ile uyumlu), %2-5 hemoliz hafif hemolitik kabul edilmektedir (Verhaegen et al., 2019).

Tablo 3.5’ te A2(%84,38 PAA %9,28 CMC %1,265 HA %5,06 *L. candidum*), B2(%66,53 PAA %28,48 CMC %0,99 HA %4,94 *L. candidum*) ve C2 (%48,12 PAA %48,12 CMC %0,97 HA %4,89 *L. candidum*) örneklerinin hemouyumluluk sonuçları verilmiştir. A2 biyomateryal örneğinin hemoliz sonucu %4,24 olarak bulunmuştur. B2 biyomateryal örneğinin %5,05 ve C2 biyomateryal örneğinin sonucu %3,17 olarak bulunmuştur.

Literatür araştırması yapıldığında poliakrilik asit (PAA), karboksimetil selüloz (CMS) ve hyaluronik asit (HA) ile yapılan bazı çalışmalar bulunmuştur. Li et al. (2024), tarafından poliakrilik asit/ polietilenimin/ polietilen glikol (PPG) ile hazırlanan jelleşen toz hazırlanmıştır. Farklı bileşimlerdeki PPG jellerinin hemokompatibilitesini değerlendirmek için *in vitro* hemoliz testi ile analiz edilmiştir. Yapılan çalışmaya göre kendiliğinden jelleşen PPG tozlarının hemoliz sonuçları %5’in altında bulunmuş bu nedenle de kan ile mükemmel uyumlu sayılmıştır. Xiao et al. (2024), tarafından oksitlenmiş hyaluronik asit (OHA), karboksimetil kitosan (CMC), ve sodyum aljinat (SA) ile tobramisın (TOB) birleştirilerek bir CMC/OHA/SA/TOB hidrojel oluşturmuştur. Hudiță et al. (2025), hidroksiapatit (HAp), karboksimetil selüloz (CMC) ve gümüş (Ag) bazlı kompozit oluşturmuştur. Oluşturulan HAp:(Ag-CMC) kaplamalarının kırmızı kan hücresi yıkımını tetikleme oranını araştırmak için hemouyumluluk deneyi yapılmıştır. HAp:(Ag-CMC)

kaplamaları, kan inkübasyonundan 1 saat sonra yapılan ölçüme göre %1-%2,05 ve 24 saat sonra alınan ölçüme göre %1,62-%2,63 hemolitik indeks sergilemiştir. Cui et al. (2022), yaptığı bir çalışmada yaban turbu peroksidazı ve hidrojen peroksit ile çapraz bağlanabilen çok işlevli bir karboksimetil kitosan/hyaluronik asit-dopamin (CMC/HA-DA) hidrojelinin farelerde tam kalınlıkta cilt defektinin onarımındaki etkisini araştırmıştır. CMC/HA-DA1, CMC/HA-DA2 ve CMC/HA-DA3 hidrojel örneklerinin hemokompatibilitesi araştırılmış ve hemoliz oranları sırasıyla %0,45, %0,54 ve %0,36 olarak bulunmuştur.

Literatür araştırması sonucu elde edilen bulgulara bakıldığında PAA, CMC ve HA ile oluşturulmuş farklı hidrojel ve materyallerin kan ile mükemmel uyumluluk sağladığını görülmektedir. Bizim çalışmamızda ise ISO 10993-4 ve ASTM F756 standartlarına göre C2 biyomateryal örneği %3,17 en düşük hemoliz oranı ile. Mevcut çalışma, materyalin akut *in vitro* hemokompatibilitesini göstermektedir, klinik bağlamda risk değerlendirmesi yapılması çalışmanın güvenilirliği için daha doğru bir sonuç elde edebileceğimizi göstermektedir. Bizim çalışmamızda ise A2, B2 ve C2 örneklerinin hemoliz oranları ISO 10993-4 ve ASTM F756 standartlarına göre hemouyumlu sayılmaktadır. En düşük hemoliz oranı ile C2 örneği diğer iki örneğe göre daha yüksek hemouyumlu, en yüksek hemoliz oranı ile B2 örneğinin hemouyumluluk sınırında olduğunu görülmektedir.

4.4 Sitotoksisite deneyi sonuçları

4.4.1 MTS analiz sonuçları

A2 (%84,38 PAA %9,28 CMC %1,265 HA %5,06 *L. candidum*), B2(%66,53 PAA %28,48 CMC %0,99 HA %4,94 *L. candidum*) ve C2 (%48,12 PAA %48,12 CMC %0,97 HA %4,89 *L. candidum*) biyomateryal örneklerinin sitotoksisite analizi gönüllü ve sağlıklı bireylerden kan örnekleri alınarak MTS testi ile gerçekleştirilmiştir. Kan örneklerinden izole edilen lenfosit hücrelerinin, 24 ve 48 saatlik inkübasyon süreleri sonrasında MTS reaktifi ile etkileşimi sonucu elde edilen absorbans ölçümleri ile hücre yaşamlılığı değerlendirilmiştir. Şekil 3.16'da verilen sonuçlara göre negatif kontrole karşı karşılaştırılmış olan biyomateryal örneklerinde absorbans sonuçları yakın bulunmakla beraber hücre yaşamlılığını destekleyici etki göstermişlerdir. Biyomateryal örnekleri kendi aralarında karşılaştırıldığında ise C2 (%48,12 PAA %48,12 CMC %0,97 HA %4,89 *L. candidum*) örneği en yüksek absorbans sonucunu vermiştir.

Yapılan literatür araştırmasına göre PAA, CMC ve HA polimerleri kullanılarak gerçekleştirilen hidrojel çalışmalarında sitotoksikite deneyleri genellikle MTS ve MTT testleri ile yapılmaktadır. Kırmızı (2018), yaptığı bir çalışmada poliakrilik asit polimeri, bal ve farklı konsantrasyonlarda nano-hidroksiapatit (nHAP) ile nanokompozit sentezi gerçekleştirmiştir. Hazırlanmış olan PAA/nHAP/bal nanokompozitlerinin toksik etkileri, kan örneklerinden izole edilen lenfosit hücreleri üzerinde gerçekleştirilen MTS testi ile belirlenmiştir. 24 ve 48 saatlik inkübasyon süreci sonucunda en yüksek absorbans sonuçlarını PAA/nHAP (%2,5), 72 saatlik inkübasyon süreci sonucunda en yüksek sonuçları PAA/nHAP (%5) örnekleri vermiştir. Bal ilave edilen nanokompozit örneklerinin MTS testi absorbans sonuçlarının yükseldiği belirtilmiştir. Anirudhan et al. (2018), antihipertansif diltiazem hidroklorür (DTZ) ilacı ile CMC, sodyum aljinat ve PVA bazlı biyomateryal film matriksleri geliştirilmiş ve transdermal ilaç salım sistemi hedeflenmiştir. Kontrollü salınımı artırmak amacı ile DTZ ilacının, polietilen glikol (PEG) kaplı modifiye kitosan bazlı bir taşıyıcı içinde kapsüle edilmiş ve film matrikslerine dahil edilmiştir. Tasarlanan ilaç salım sistemi ile PBMC insan kan mononükleer ve HaCaT keratinosit hücre hatları üzerinde MTT testi gerçekleştirilerek hücre canlılığı incelenmiştir. Elde edilen sonuçlar, düşük ve orta konsantrasyonlarda hücre canlılığının %80'in üzerinde olduğunu, artan konsantrasyonlarla birlikte hücre canlılığının azaldığını göstermiştir. CMC bazlı matrikslerin düşük konsantrasyonlarda uyumlu olduğunu ve taşıyıcı ilaç sistemleri için uygun profil sergilediğini ortaya koymuştur. Benzer şekilde, Tavakoli et al. (2018), tarafından yapılan bir çalışmada polivinil alkol-poliakrilik asit (PVA-PAA) ile çift katmanlı yara iyileştirici hidrojel hazırlanmıştır. Hazırlanan PVA-PAA hidrojelinin hücre canlılığını değerlendirmek ve hücre çoğalmasını incelemek için insan fibroblast hücreleri ile MTT testi yapılmış ve karşılaştırma için saf PVA polimeri kullanılmıştır. Hem saf PVA hem de PVA-PAA çift katmanlı hidrojelinin 1. günden 7. güne kadar yapılan incelemelerinde hücre canlılığı ve proliferasyonunda artış olduğu gözlemlenmiştir. Son olarak Hosseini et al. (2024), yaptıkları bir çalışmada kimyasal çapraz bağlama tekniği kullanarak karboksimetil selüloz (CMC) ve aljinat (Alg) ile hazırlamış oldukları hidrojele Simvastatin (SIM) ilavesiyle yara örtüsü hazırlamışlardır. CMC/Alg ve CMC/Alg-SIM hidrojellerinin ayrı ayrı L929 fibroblast hücre hattı ve keratinosit (HaCaT) hücre hattı ile sitotoksikite deneyleri MTT testi ile gerçekleştirilmiştir. Örneklerden elde edilen sonuçlara göre hücre canlılığı iki hücre hattında da %106,1±5 -%132,5 arasında değiştiği belirtilmiştir. Bu çalışmada elde edilen MTS testi sonuçları literatürde raporlanan bulgular ile tutarlı olup A2, B2 ve C2 biyomateryal örneklerimizin sitotoksik etki göstermediğini

ortaya koymaktadır. Literatürde sitotoksosite analizi için yaygın olarak MTT testi kullanılmış olsa da MTS testi ile aynı metabolik aktivite prensibine dayanması, sonuçların karşılaştırılabilir olmasını sağlamaktadır.

4.5 Antibakteriyel analiz sonuçları

A1 (%89,5 PAA %9,5 CMC %1 HA), B1 (%69,5 PAA %29,5 CMC %1 HA), C1 (%49,5 PAA %49,5 CMC %1 HA), A2 (%84,38 PAA %9,28 CMC %1,265 HA %5,06 *L. candidum*), B2 (%66,53 PAA %28,48 CMC %0,99 HA %4,94 *L. candidum*) ve C2 (%48,12 PAA %48,12 CMC %0,97 HA %4,89 *L. candidum*) biyomateryal örneklerinin antibakteriyel deneyi, gram negatif (-) *E. coli* ve gram pozitif (+) *S. aureus* olmak üzere iki bakteri kullanılarak çalışılmıştır (Şekil 3.15-3.18). Antibakteriyel analizinin sonuçlarına göre A1, B1, C1, A2, B2, ve C2 biyomateryal örneklerinin *E. coli* ve *S.aureus* bakterisinin inhibisyon zonları sırasıyla Tablo 3.6'da verildiği gibidir. *E. coli* bakterisinde en yüksek inhibisyonu zonunu C2 (%48,12 PAA %48,12 CMC %0,97 HA %4,89 *L. candidum*) örneği gösterirken, *S. aureus* bakterisinde C1 (%49,5 PAA %49,5 CMC %1 HA) göstermiştir. En düşük inhibisyon zonu A1 (%89,5 PAA %9,5 CMC %1 HA) örneğinin *S.aureus* bakterisi ile oluşturduğu inhibisyon zonedir.

Biyomateryal örneklerinin antibakteriyel sonuçlarını değerlendirmek için literatür araştırması yapılmıştır. Literatür araştırmasına göre PAA, CMC, HA polimerleri ve *L.candidum* bitkisi ile antibakteriyel çalışmaları yapıldığı görülmüştür. Kalaba et al. (2019), yedi farklı bakteri kültürü ile *L. candidum* bitkisinin farklı konsantrasyondaki etanol ekstraktlarının antibakteriyel aktivitesini incelemişlerdir. *L. candidum* ekstraktı yağı %96'lık etanol ile 1:2, 1:5 ve 1:10 oranlarında karıştırılmıştır. *S. aureus* bakterisi ile yapılan sonuçlara göre *L.candidum* bitkisinin antibakteriyel inhibisyon zonları 8.66 ± 1.55 (*L. candidum* ekstraktı yağı), 8.00 ± 0.00 (1:2), 11.00 ± 3.61 (1:5), 13 ± 2.65 (1:10) mm olarak bulunmuştur. *E.coli* bakterileri ile yapılan sonuçlara göre *L.candidum* bitkisinin antibakteriyel inhibisyon zonları 8.66 ± 1.55 (*L. candidum* ekstraktı yağı), 6.33 ± 5.51 (1:2), 6.66 ± 5.77 (1:5) 18.33 ± 5.69 (1:10) mm olarak bulunmuştur. *L.candidum* bitkisinin çalışma kapsamında incelenen tüm bakteriler ile verdiği inhibisyon zonları 5.33-18.33 mm arasında değişmiştir. Shukla et al. (2025), tarafından yapılan bir çalışmada hyaluronik asidin *E. coli* ve *S. aureus* antibakteriyel potansiyeli incelenmiştir. Çalışma kapsamında antibakteriyel deney yöntemleri olarak agar disk difüzyon/ agar kuyu yöntemi ve bakterilerin büyümesini engelleme veya bakterilerin etkisini tamamen ortadan kaldırma (MIC/MBC) yöntemleri

kullanılmıştır. Agar disk difüzyon yöntemi sonuçlarına bakıldığında inhibisyon zonları *E. coli* bakterisi için 10.45 ± 0.05 , *S. aureus* için 12.38 ± 0.06 olarak bulunmuştur. PAA polimeri ile yapılan antibakteriyel çalışmalara örnek olarak, Alshweiat et al. (2024), tarafından yapılan bir çalışmada poliakrilik asit ile kitosanın birleştirilmesiyle CS-PAA nanopartiküllerinin, özellikle ilaçlara fazla dirençli olabilen bakterilere karşı antibakteriyel etkisini araştırmışlardır. 20 µg CS-PAA nanopartikülü 13 ± 0.62 mm inhibisyon zonu oluşturarak *E. coli* bakterisinin büyümesini engellemiştir ve CS-PAA nanopartikülünün 40 µg dozu bakteriyel biyofil oluşumu engellemiştir. Salem et al. (2022), CMC bazlı nanokompozit sentezlemişlerdir. Sentezlenen karboksimetil selüloz bazlı gümüş nanokompozitin (CMC-agNPS) antibakteriyel, antikanser, antifungal aktivitelerine bakılmıştır. Antibakteriyel deneyi için CMC-AgNPS'nin farklı konsantrasyonları ve AgNPS'ye karşı iki gram negatif ve iki gram pozitif bakteri grubu kullanılmıştır. Gram negatif bakteri *E.coli*'nin CMC-AgNPS nanopartikülünün ve AgNPS 100 mg/mL, 50 mg/mL konsantrasyonlarının inhibisyon zon sonuçları sırası ile 17.0 ± 0.63 , 12.0 ± 0.27 ve 14.0 ± 0.39 , 9.6 ± 0.51 mm olarak hesaplanmıştır. *S. aureus* bakterisinin ise CMC-AgNPS nanopartikülünün ve AgNPS 100 mg/mL, 50 mg/mL konsantrasyonlarının inhibisyon zon sonuçları sırası ile 12.0 ± 0.41 , 8.5 ± 0.3 ve 9.5 ± 0.37 , 7.5 ± 0.27 mm olarak bulunmuştur.

4.6 Kollajenaz (MMP) aktivitesinin inhibisyonu analizi sonuçları

Çalışma kapsamında gerçekleştirilmiş olan kollajenaz aktivitesi inhibisyonu deneyi A2 (%84,38 PAA %9,28 CMS %1,265 HA %5,06 *L. candidum*), B2 (%66,53 PAA %28,48 CMS %0,99 HA %4,94 *L. candidum*), C2 (%48,12 PAA %48,12 CMS %0,97 HA %4,89 *L. candidum*) biyomateryal örneklerine karşı epigallokateşin gallat (EGCG) inhibitörü kullanılarak değerlendirilmiştir. *L. candidum* bitki ekstresi ve hyaluronik asidin farklı konsantrasyonları kullanılarak elde edilmiş % inhibisyon değerleri Şekil 3.19'da verilmiştir. Kollajenaz aktivitesinin inhibisyonu, geliştirilen biyomateryal yara örtü malzemelerinin yara iyileşmesi ve doku yeniden şekillenmesi süreçlerinde etkilerini değerlendirmek için kritik bir parametredir. Kollajenazlar matriks metalloproteinaz (MMP) ailesinin bir üyesidir (Tablo 1.1) ve kolajen başta olmak üzere ekstrasellüler matriks yıkımında görevlidirler. Kollajenaz aktivitesinin artışı söz konusu olduğunda, yara iyileşmesi gecikir (Caley et al., 2015). Bu nedenle kollajenaz aktivitesini dengelemek amacıyla biyomateryal örneklerinin kollajenaz aktivitesini inhibe edebilme yeteneği araştırılmıştır. A2 (%84,38 PAA %9,28 CMS %1,265 HA %5,06 *L. candidum*), B2 (%66,53 PAA %28,48 CMS %0,99 HA %4,94 *L. candidum*), C2 (%48,12 PAA %48,12

CMS %0,97 HA %4,89 *L. candidum*) biyomateryal örneklerinin kollajenaz aktivitesinin inhibisyon sonuçları yaklaşık olarak %20 oranlarında inhibisyon etki göstermiştir. Ek olarak hyaluronik asidin ve *L. candidum* bitki ekstraktının farklı konsantrasyonları (10,20,25 µL) incelenmiştir. Elde edilen sonuçlara göre hyaluronik asid %25-%30 arası inhibisyon etki gösterirken, *L. candidum* bitki ekstraktı %15-%20 arası inhibisyon etki göstermiştir. Ayrıca, Zhang et al. (2012) yaptıkları bir çalışmada tümör mikroçevresinde matriks metalloproteinazların, özellikle MMP-2'nin aşırı ekspresyonunu incelemek amacıyla ilaç salım mekanizması düzenlemişlerdir. EDC/sulfo-NHS kimyası aracılığıyla poliakrilik asit (PAA) hidrojenleri, MMP-2 enziminin kesebileceği peptid dizileri ile fonksiyonelleştirilmiştir. Bu sistem enzim-substrat etkileşimi üzerinden gerçekleştirilebilecek şekilde tasarlanmıştır. MMP-2, poliakrilik asit hidrojelinde konjuge edilen peptid dizilerini tanıyarak enzimatik olarak kesmiştir. Elektroforetik yıkama yöntemi ile spesifik olmayan peptid salınımı engellenmiştir. Yıkama sonrası MMP-2 yokluğunda peptid salınımının azalmış olması, salınımın esas olarak MMP-2 enziminin aktivitesine bağlı olduğunu ve sistemin enzime duyarlı ve kontrollü bir salım mekanizması sunduğunu ortaya koymaktadır.

Literatür araştırması yapıldığında, PAA, CMS ve HA polimerleri ile kollajenaz aktivitesinin inhibisyonu üzerine yapılan çalışmaların sınırlı olduğu görülmüş olsa da doğal polisakkaritler ve fonksiyonel polimerlerin kollajenaz inhibitörü olarak etki gösterebildiği rapor edilmiştir. Örnek olarak; Boran ve ark. (2018) yaptıkları bir çalışmada kitre zankı (TG) ve keçiyoynuzu zankı (LBG)'nin yara iyileşmesi için önemli olan kollajenaz, hyaluronidaz ve elastaz inhibitör etkilerini araştırmıştır. Kollajenaz üzerinde sadece keçiyoynuzu zankı (LBG) %34,7 oranında inhibitör etki göstermiştir. TG ve LBG'nin hyaluronidaz enzimi üzerindeki etkisi sırasıyla %19,0 ve %20,0 oranlarında inhibitör aktivite göstermiştir. Elastaz inhibitör aktivite sonuçları ne TG ne de LBG'nin elastaz enzimi üzerinde inhibitör aktivite göstermediğini ortaya koymuştur. Benzer şekilde Acıkara ve ark. (2019), tarafından yapılan bir çalışmada *Podospermum canum* (*Scorzonera cana* olarak da bilinen) bitkisinin çiçek kısmı kullanılarak kollajenaz, hyaluronidazve elastaz enzimlerini inhibe etme potansiyelini test etmişlerdir. Çalışmada biyoaktif yönlendirmeli fraksiyonasyon ve spektrofotometrik enzim inhibisyon testleri kullanılmıştır. Fraksiyonlama işlemi ile *P. canum*'un metanolik ekstresi, farklı polariteye sahip alt ekstratlar, kolon kromatografisiyle fraksiyonlar ve son olarak biyolojik aktiviteden sorumlu saf bileşikler haline ayrılmıştır. Kollajenaz aktivitesini inhibe eden

bileşikler;apigenin 7-O-β-glukozid, luteolin 7-O-β-glukozid, apigenin 7-O-β-rutinozit, izoorientin bileşikleridir. Sin et al. (2005), yaptıkları bir çalışma ile doğal olarak bulunan flavonoidlerin kollajenaz aktivitesi üzerindeki etkileri literatürde rapor edilmiştir. Gerçekleştirilen çalışma kapsamında çeşitli flavonoidlerin 50 ve 100 µM konsantrasyonlarında test edildiğinde, flavonollerin, flavonların ve izoflavonların çoğunun *C. histolyticum* 'dan elde edilen kollajenaz üzerinde inhibisyon etki gösterdiği görülmüştür. Özellikle kaempferol, kuersetin ve mirisetin önemli ölçüde inhibisyon göstermiştir. Kuersetinin IC₅₀ değeri yaklaşık 286 µM olarak bulunmuştur. Beklendiği üzere, 1,10-fenantrolin kollajenaz aktivitesini 157 µM IC₅₀ değeri ile inhibe etmiştir. Bu durum çalışmamızda kullanılan *L. candidum* bitkisinin flavonoid içeriğinin de güçlü olması sebebiyle kollajenaz ile etkileşime girdiğini düşündürmektedir (Patocka et al., 2019). Sadece *L. candidum* ekstrelerinin farklı konsantrasyonları ile yapılmış kollajenaz inhibisyon deneyi değerleri (Şekil 3.19) bu hipotezin doğruluğunu kanıtlamaktadır.

Sonuç olarak, bu çalışma, polimerik biyomalzemelerde kollajenaz inhibisyonunu doğrudan ortaya koyan sınırlı sayıdaki çalışmalardan biri olarak literatüre özgün bir katkı sunmaktadır.

4.7 Antioksidan Analizi Sonuçları

4.7.1 DPPH ve ABTS⁺ antioksidan analizi sonuçları

Bu çalışmada hazırlamış olduğumuz A1 (%89,5 PAA %9,5 CMS %1 HA), B1 (%69,5 PAA %29,5 CMS %1 HA), C1 (%49,5 PAA %49,5 CMS %1 HA), A2 (%84,38 PAA %9,28 CMS %1,265 HA %5,06 *L. candidum*), B2(%66,53 PAA %28,48 CMS %0,99 HA %4,94 *L. candidum*) ve C2 (%48,12 PAA %48,12 CMS %0,97 HA%4,89 *L. candidum*) biyomateryal örneklerinin antioksidan aktivite analiz sonuçları DPPH ve ABTS deneyleri gerçekleştirilerek elde edilmiştir. DPPH (2,2-difenil-1-pikrilhidrazil) ve ABTS (2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit)) radikal temizleme deneyleri *L. candidum* özütünün serbest radikallerle reaksiyona girme kabiliyetini kapsamlı bir şekilde değerlendirmek amacı ile yapılmıştır. DPPH testi, mor renkli ve stabil bir serbest radikal olan DPPH reaktifinin, biyolojik ya da bitkisel antioksidan bileşikler tarafından hidrojen atomu veya elektron transferi ile indirgenme mekanizmasına dayanmaktadır ve 517 nm'de absorbans ölçümü alınmaktadır (Blois, 1958). Bu mekanizma fenolik bileşikler açısından zengin ekstraktların değerlendirilmesinde yaygın olarak kullanılmaktadır. ABTS testinde ise amonyum persülfat yardımı ile oluşturulmuş olan ABTS⁺ radikal katyonu, antioksidan

bileşikler tarafından indirgenmekte ve 734 nm’de alınan absorbans ölçümleri ile beraber mavi-yeşil renk yoğunluğunda azalma meydana gelmektedir (Re et al., 1999). ABTS yöntemi DPPH yöntemine göre hem hidrofilik hem de lipofilik antioksidanlara duyarlılık göstermesi sebebi ile daha esnek ve kapsamlı araştırma yapmaya izin vermektedir (Huang et al., 2005). Biyomateryal örneklerinin DPPH ve ABTS deney sonuçları % antioksidan aktivite olarak sırası ile Şekil 3.20 ve Şekil 3.21’de verilmiştir. Sonuçlara göre A2(%84,38 PAA %9,28 CMS %1,265 HA %5,06 *L. candidum*) ve B2 (%66,53 PAA %28,48 CMS %0,99 HA %4,94 *L. candidum*) biyomateryal örneklerinin DPPH testi sonuçları yaklaşık %90’ın üzerinde inhibisyon değeri ile en yüksek radikal süpürme aktivitesi göstermiştir. C2 (%48,12 PAA %48,12 CMS %0,97 HA%4,89 *L. candidum*) örneğinin DPPH antioksidan aktivite sonucu A2 ve B2 kadar olmasa da yüksek antioksidan etki göstermiştir. *L.candidum* bitki özütü içermeyen A1 (%89,5 PAA %9,5 CMS %1 HA), B1 (%69,5 PAA %29,5 CMS %1 HA), C1 (%49,5 PAA %49,5 CMS %1 HA) biyomateryal örnekleri DPPH aktivitesi düşük-orta düzeyde kalmıştır ve en düşük aktiviteyi C1 örneği göstermiştir. ABTS⁺ testi sonuçlarında ise A2 (%84,38 PAA %9,28 CMS %1,265 HA %5,06 *L. candidum*) örneği %95 radikal süpürme aktivitesi ile en yüksek antioksidan aktiviteyi göstermiştir. B2 (%66,53 PAA %28,48 CMS %0,99 HA %4,94 *L. candidum*) ve C2 (%48,12 PAA %48,12 CMS %0,97 HA%4,89 *L. candidum*) biyomateryal örnekleri ise %65-%75 radikal süpürme aktivitesi göstererek orta-yüksek düzey antioksidan aktivite göstermiştir. ABTS⁺ testlerinde *L. candidum* içermeyen biyomateryal örneklerinde sonuçlar çok düşük çıkmıştır. Bu bulgular ile hem DPPH hem de ABTS⁺ antioksidan aktivite deneyinde *L.candidum* eklenmiş biyomateryal örneklerinin antioksidan aktivitesinin arttığı sonucuna varılmıştır.

Literatür araştırmasınabakıldığında, *L. candidum* bitki özütü ile gerçekleştirilen antioksidan aktivite çalışmaları olduğu görülmüştür. Yine de sonuçların daha güvenilir şekilde karşılaştırılması için çalışma kapsamında tasarlanmış olan biyomateryal örneklerinin temel PAA, CMC ve HA polimerleri ile yapılmış antioksidan aktivite çalışmalarından yararlanılmıştır. Lupşor et al. (2025), bazı *Lilium* cinslerinin (*L. candidum* L.—Madonna Lily (LM), *L. robina* (LR), *L. “Sunset boulevard”* (LG), *L. asiaticum* “White” (LA), *L. “Dark Secret”* (LD)) bulunduğu %70 ve %96 etanol çözücüsü ile hazırlanmış oldukları ekstraktların DPPH antioksidan aktivite deneyini gerçekleştirmişlerdir. Sonuçlar gallik asit eşdeğerine göre değerlendirilmiştir. Yapılan antioksidan analizi sonuçlarına göre türler arasında büyük bir değişim söz konusudur; LD-

70 81,5 mg GAE/100 g ile en yüksek antioksidan aktiviteyi, LM-96 ise 3,25 mg GAE/100 g ile en düşük antioksidan aktiviteyi göstermiştir. Benzer bir çalışmada, Tang et al. (2021), 22 temsili Zambak türünün DPPH radikal temizleme, demir indirgeyici antioksidan gücü (FRAP) ve bakır indirgeme kapasitesi (CUPRAC) deneyleri ile antioksidan aktivitesini araştırmıştır. Sonuçlar trolox eşdeğeri ile verilmiştir. Söz konusu çalışmada DPPH, FRAP ve CUPRAC testlerinin tamamında en yüksek antioksidan aktiviteyi *L. regale* ve *L. henryi* türleri gösterirken en düşük aktiviteyi *L. brownii* var. *viridulum* göstermiştir. *Lilium* türleri ile yapılan literatür araştırmasından edinilen bulgulara göre yüksek antioksidan kapasite fenolik ve flavonoid içeriğin varlığı ile bağdaşmaktadır. Mevcut çalışmada ise *L. candidum* bitki ilavesi ile geliştirilmiş olan biyomateryal örneklerinde antioksidan aktivitenin arttığı gözlemlenmiştir. Bu durum sadece bitkisel bileşiklerden kaynaklı değil ek olarak polimerik sistemlerin de antioksidan aktiviteye katkısı olabileceğini göstermektedir. Zhang et al. (2021), tarafından yapılan bir çalışmada poliakrilik asit ve poliester amid ile yara iyileştirici süper emici hibrit bir hidrojel (PAA/PEA) geliştirilmiştir. Geliştirilen bu hidrojinin DPPH testiyle antioksidan kapasitesi araştırılmıştır. PAA polimeri ve PAA/PEA hidrojinin farklı konsantrasyonları (PAA/PEA (%10,%30,%50)) 24 saatlik bir sürede DPPH'ı indirmelerine bakılmış ve PAA/PEA %50 en yüksek DPPH süpürücü aktiviteyi göstermiştir. PAA tek başına sınırlı bir süpürücü aktivite gösterirken PEA konsantrasyonu arttıkça etkili bir serbest radikal süpürücü sistem haline gelmiştir. Ek olarak yapılan diğer deneyler ile PAA/PEA hidrojinin oksidatif stresle mücadelede çok yönlü antioksidan etki gösterdiği sonucuna varılmıştır. Wang et al. (2021), yaptıkları bir çalışmada 3D yazıcı ile basılabilir, antibakteriyel ve antioksidan özelliklere sahip karboksimetil selüloz (CMC) ve ϵ -polylysine (ϵ -PL) bazlı bir hidrojel (CL) geliştirilmesi amaçlanmıştır. Özellikle büyük ve düzensiz cilt yaralarında kullanılacak, yara iyileşmesini hızlandıran fonksiyonel bir hidrojel sisteminin tasarlanması hedeflenmiştir. Bu çalışmada geliştirilen CL hidrojinin antioksidan aktivitesi DPPH deneyi ile değerlendirilmiştir. Değerlendirme sonucu hidrojinin reaktif oksijen türlerini etkin bir şekilde süpürebildiği ve serbest radikal temizleme oranının %88,5'e kadar yükseldiği belirtilmiştir.

Literatür araştırması sonucu elde edilen bulgulara göre mevcut çalışmada hazırlanmış olan biyomateryallerin serbest radikal temizleme kapasitesi ile yara iyileşmesine katkı sağlayacağı düşünülmektedir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bu tez çalışması kapsamında *L.candidum* bitki temelli PAA, CMC, HA polimerleri ile süper emici yara örtü malzemesi hazırlanmıştır. Öncelikle biyoaktif ajan olarak yararlanılan *L. candidum* bitkisinin toplam fenolik, flavonoid ve toplam protein içeriğine bakılmış ve *L. candidum* bitki ekstresinin toplam fenolik, flavonoid ve protein içeriğinden elde edilen bulgular antioksidan, kollajenaz aktivitesi ve antibakteriyel deneyleri ile ilişkilendirilerek çalışmanın başlangıçta öngörülen hipotezini destekler nitelikte olduğunu göstermiştir.

A2 (%84,38 PAA %9,28 CMS %1,265 HA %5,06 *L. candidum*), B2 (%66,53 PAA %28,48 CMS %0,99 HA %4,94 *L. candidum*) ve C2 (%48,12 PAA %48,12 CMS %0,97 HA%4,89 *L. candidum*) olarak farklı konsantrasyonlar ile hazırlanmış olduğumuz biyomateryal örneklerinin fizikokimyasal, mekanik, yüzey ve biyolojik özelliklerinin değerlendirilmesi amacıyla çeşitli karakterizasyon deneyleri gerçekleştirilmiştir. Biyomateryal örneklerinin sıvı tutma kapasitesi deney sonuçlarının yüksek ve yüzey temas açısı sonuçlarının düşük bulunması; örneklerin belirgin hidrofilik özellik sergilediğini ve buna bağlı olarak yara eksudasını emebilecek süper emici bir yeteneğe sahip olduğunu düşündürmektedir. ATR-FTIR deney sonuçlarında saf PAA, CMC ve HA polimerlerinin karşılaştırılması ve biyomateryal örneklerinin FTIR sonuçlarının karşılaştırılmasıyla biyomateryallere ait spektrumlarda bulunan fonksiyonel gruplara ait piklerin yaptığı anlamlı kaymalar ile tüm bileşenler (PAA-CMC-HA-*L.candidum*) arasında etkileşim olduğunu işaret etmektedir. Yüzey karakterizasyonun değerlendirilmesinde kapsamında yapılan SEM deneyi, biyomateryal örneklerinin bileşenlerin homojen olarak dağılım sağladığını göstermiştir. DMA deneyi ile biyomateryallerin numunelerin moleküler hareketliliği, mekanik mukavemet ve enerji dağılımındaki farklılıkları incelenmiştir.

Örneklerin biyolojik uyumluluğu, *in vitro* biyoyumluluk analizleri ile değerlendirilmiş ve sonuçlar hücre canlılığını destekler nitelikte bulunmuştur. Biyomateryal örnekleri hemouyumluluk açısından değerlendirildiğinde C2 örneği diğer örneklere göre yüksek hemouyumluluk göstererek kan ile teması daha uyumlu bulunmuştur. Salınım deneyi sonuçları *L. candidum* salınımının kayda değer bir seviyede olduğunu bu nedenle de biyomateryalin şişme davranışı, yüzey gözenekliliği ve çapraz bağlanma derecesi adına ileriki deneylerde kullanabilecek literatür kaynağı sağlayabilecektir. Antibakteriyel deney

sonuçları *L. candidum* ile hazırlanmış biyomateryal örneklerinde daha büyük inhibisyon zon çapı oluşturmuştur. Matriks metalloproteinaz ailesinin bir üyesi olan kollajenaz enzim aktivitesinin inhibisyonu deneyi sonuçları, geliştirilen biyomateryal yara örtü malzemelerinin yara iyileşmesi ve doku yeniden şekillenmesi süreçlerinde etkilerini değerlendirmek için yapılmıştır. Biyomateryal örnekleri, saf *L. candidum* ekstresi ve HA kollajenaz aktivitesi üzerinde inhibisyon etki göstermiştir. Çalışma kapsamında *L. candidum*'un flavonoid içeriği deney sonucunun yüksek çıkması ve saf *L. candidum* inhibisyon etki göstermesi ile literatürde flavonoidlerin kollajenaz aktivitesini inhibe edebilmesi ilişkilendirilmiştir. Bu bağlamda, *L. candidum* kollajenaz aktivitesi üzerindeki inhibitör etkisi, çalışmada elde edilen biyomateryal sonuçlarının biyolojik açıdan anlamlandırılmasına katkı sağlamaktadır. DPPH ve ABTS⁺ reaktifleri ile gerçekleştirilen antioksidan deneyi sonuçları biyomateryal örneklerinin ROS temizleme yeteneği ile yara iyileşmesine katkı sağlayabileceğini düşündürmektedir.

Sonuç olarak çalışma kapsamında gerçekleştirilen biyomateryal örneklerinin karakterizasyon deneyleri detaylı olarak değerlendirilmiş olup, elde edilen bulgular örneklerin hedeflendiği gibi biyomedikal uygulamalar açısından uygun özellikler sergilediğinin göstermektedir. Bu sonuçlar doğrultusunda, bu tez çalışmasının ileride planlanacak *in vivo* çalışmalar ile desteklenmesi önerilmektedir.

6. KAYNAKLAR

- Abdollahi, Z., Zare, E. N., Salimi, F., Goudarzi, I., Tay, F. R., & Makvandi, P.** (2021). Bioactive carboxymethyl starch-based hydrogels decorated with CuO nanoparticles: Antioxidant and antimicrobial properties and accelerated wound healing in vivo. *International journal of molecular sciences*, 22(5), 2531.
- Abed, S., Beig, M., Barzi, S. M., Shafiei, M., Hashemi Shahraki, A., Sadeghi, S., & Sohrabi, A.** (2024). Development of phage-containing hydrogel for treating *Enterococcus faecalis*-infected wounds. *PloS one*, 19(10), e0312469.
- Acikara, Ö. B., Ilhan, M., Kurtul, E., Šmejkal, K., & Akkol, E. K.** (2019). Inhibitory activity of *Podospermum canum* and its active components on collagenase, elastase and hyaluronidase enzymes. *Bioorganic Chemistry*, 93, 103330.
- Ahmed, E. M.** (2015). Hydrogel: Preparation, characterization, and applications: A review. *Journal of advanced research*, 6(2), 105-121.
- Alshweiat, A., Al-Khresieh, R. O., Alzarieni, K. Z., & Rashaid, A. H. B.** (2024). A significant antibiofilm and antimicrobial activity of chitosan-polyacrylic acid nanoparticles against pathogenic bacteria. *Saudi Pharmaceutical Journal*, 32(1), 101918.
- Alven, S., Nqoro, X., & Aderibigbe, B. A.** (2020). Polymer-based materials loaded with curcumin for wound healing applications. *Polymers*, 12(10), 2286.
- Anirudhan, T. S., & Nair, A. S.** (2018). The role of biopolymer matrix films derived from carboxymethyl cellulose, sodium alginate and polyvinyl alcohol on the sustained transdermal release of diltiazem. *International journal of biological macromolecules*, 107, 779-789.
- Aryal, S., Baniya, M. K., Danekhu, K., Kunwar, P., Gurung, R., & Koirala, N.** (2019). Total phenolic content, flavonoid content and antioxidant potential of wild vegetables from Western Nepal. *Plants*, 8(4), 96.
- Balasubramani, M., Kumar, T. R., & Babu, M.** (2001). Skin substitutes: a review. *Burns : journal of the International Society for Burn Injuries*, 27(5), 534-544. [https://doi.org/10.1016/s0305-4179\(01\)00018-3](https://doi.org/10.1016/s0305-4179(01)00018-3)
- Bâldea, I., Soran, M. L., Stegarescu, A., Oprei, O., Kacso, I., Tripon, S., ... & Lung, I.** (2025). *Lilium candidum* Extract Loaded in Alginate Hydrogel Beads for Chronic Wound Healing. *Gels*, 11(1), 22.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Basu, P., Narendrakumar, U., Arunachalam, R., Devi, S., & Manjubala, I.** (2018). Characterization and evaluation of carboxymethyl cellulose-based films for healing of full-thickness wounds in normal and diabetic rats. *ACS omega*, 3(10), 12622-12632.
- Blois, M. S.** (1958). Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. *Nature*, 181(4617), 1199-1200.
- Boateng, J. S., Matthews, K. H., Stevens, H. N., & Eccleston, G. M.** (2008). Wound healing dressings and drug delivery systems: a review. *Journal of pharmaceutical sciences*, 97(8), 2892-2923.
- Bode, W., Fernandez-Catalan, C., Tschesche, H., Grams, F., Nagase, H., & Maskos, K.** (1999). Structural basis of matrix metalloproteinase activity. *Cellular and Molecular Life Sciences CMLS*, 55, 639-652.
- Boran, R., Ugur, A., & Sarac, N.** (2018). Investigation of hyaluronidase, collagenase and elastase inhibitory potentials and comparative evaluation of the antimicrobial, antioxidant and homeostatic activities of two natural polysaccharides. *Süleyman Demirel Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 22(3), 1182-1189.
- Borena, B. M., Martens, A., Broeckx, S. Y., Meyer, E., Chiers, K., Duchateau, L., & Spaas, J. H.** (2015). Regenerative skin wound healing in mammals: state-of-the-art on growth factor and stem cell based treatments. *Cellular Physiology and Biochemistry*, 36(1), 1-23.
- Bradford, M. M.** (1976). A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical biochemistry*, 72(1-2), 248-254.
- Brohem, C. A., da Silva Cardeal, L. B., Tiago, M., Soengas, M. S., de Moraes Barros, S. B., & Maria-Engler, S. S.** (2011). Artificial skin in perspective: concepts and applications. *Pigment cell & melanoma research*, 24(1), 35-50.
- Caley, M. P., Martins, V. L., & O'Toole, E. A.** (2015). Metalloproteinases and wound healing. *Advances in wound care*, 4(4), 225-234.
- Cañedo-Dorantes, L., & Cañedo-Ayala, M.** (2019). Skin acute wound healing: a comprehensive review. *International journal of inflammation*, 2019(1), 3706315.
- Capanema, N. S., Mansur, A. A., de Jesus, A. C., Carvalho, S. M., de Oliveira, L. C., & Mansur, H. S.** (2018). Superabsorbent crosslinked carboxymethyl cellulose-

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- PEG hydrogels for potential wound dressing applications. *International journal of biological macromolecules*, 106, 1218-1234.
- Cedillo-Cortezano, M., Martinez-Cuevas, LR, López, JAM, Barrera López, IL, Escutia-Perez, S. ve Petricevich, VL** (2024). Use of medicinal plants in the process of wound healing: A literature review. *Pharmaceuticals* , 17 (3), 303.
- Cerofolini, L., Fragai, M. ve Luchinat, C.** (2019). The mechanism and inhibition of matrix metalloproteinases. *Current Medicinal Chemistry*, 26 (15), 2609-2633.
- Chang, M.** (2023). Matrix metalloproteinase profiling and its roles in disease. *RSC Advances*, 13 (9), 6304-6316.
- Chen, J., Qin, S., Liu, S., Zhong, K., Jing, Y., Wu, X., ... & Peng, C.** (2023). Targeting matrix metalloproteinases in diabetic wound healing. *Frontiers in Immunology*, 14, 1089001.
- Chen, K., Xu, M., Lu, F., & He, Y.** (2023). Development of matrix metalloproteinases-mediated extracellular matrix remodeling in regenerative medicine: a mini review. *Tissue Engineering and Regenerative Medicine*, 20(5), 661-670.
- Chen, L., Qin, Y., Cheng, J., Cheng, Y., Lu, Z., Liu, X., Yang, S., Lu, S., Zheng, L., & Cao, Q.** (2020). A biocompatible PAA-Cu-MOP hydrogel for wound healing. *RSC advances*, 10(59), 36212–36218. <https://doi.org/10.1039/c9ra10031h>
- Chen, W. J.** (2002). Functions of hyaluronan in wound repair. *Hyaluronan*, 147-156.
- Chen, W. J., & Rogers, A. A.** (2007). Recent insights into the causes of chronic leg ulceration in venous diseases and implications on other types of chronic wounds. *Wound repair and regeneration*, 15(4), 434-449.
- Choudhary, V., Choudhary, M., & Bollag, W. B.** (2024). Exploring skin wound healing models and the impact of natural lipids on the healing process. *International journal of molecular sciences*, 25(7), 3790.
- Chuah, C., Wang, J., Tavakoli, J., & Tang, Y.** (2018). Novel bacterial cellulose-poly (acrylic acid) hybrid hydrogels with controllable antimicrobial ability as dressings for chronic wounds. *Polymers*, 10(12), 1323.
- Cialdai, F., Risaliti, C. ve Monici, M.** (2022). Role of fibroblasts in wound healing and tissue remodeling on Earth and in space. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology* , 10 , 958381.
- Cortes, H., Caballero-Florán, I. H., Mendoza-Muñoz, N., Córdova-Villanueva, E. N., Escutia-Guadarrama, L., Figueroa-González, G., ... & Leyva-Gómez, G.**

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- (2020). Hyaluronic acid in wound dressings. *Cellular and Molecular Biology*, 66(4), 191-198.
- Cui, L., Li, J., Guan, S., Zhang, K., Zhang, K., & Li, J.** (2022). Injectable multifunctional CMC/HA-DA hydrogel for repairing skin injury. *Materials Today Bio*, 14, 100257.
- Cullen, B., Watt, P. W., Lundqvist, C., Silcock, D., Schmidt, R. J., Bogan, D., & Light, N. D.** (2002). The role of oxidised regenerated cellulose/collagen in chronic wound repair and its potential mechanism of action. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 34(12), 1544-1556.
- D Archivio, M., Filesi, C., Di Benedetto, R., Gargiulo, R., Giovannini, C., & Masella, R.** (2007). Polyphenols, dietary sources and bioavailability. *Annali-Istituto Superiore di Sanita*, 43(4), 348.
- Dahlan, N. A., Pasbakhsh, P., Teow, S. Y., Kai, D., Lim, Y. Y., & Pushpamalar, J.** (2025). Electrospun Carboxymethylcellulose as a Scaffold for Biomedical Applications. *Fibers and Polymers*, 26(10), 4177-4193.
- de Almeida, L. G., Thode, H., Eslambolchi, Y., Chopra, S., Young, D., Gill, S., ... & Dufour, A.** (2022). Matrix metalloproteinases: from molecular mechanisms to physiology, pathophysiology, and pharmacology. *Pharmacological Reviews*, 74(3), 714-770.
- Demidova-Rice, T. N., Hamblin, M. R., & Herman, I. M.** (2012). Acute and impaired wound healing: pathophysiology and current methods for drug delivery, part 1: normal and chronic wounds: biology, causes, and approaches to care. *Advances in skin & wound care*, 25(7), 304-314.
<https://doi.org/10.1097/01.ASW.0000416006.55218.d0>
- Dong, Y., Su, J., Guo, X., Zhang, Q., Zhu, S., Zhang, K., & Zhu, H.** (2024). Multifunctional protocatechuic acid-polyacrylic acid hydrogel adhesives for wound dressings. *Journal of Materials Chemistry B*, 12(27), 6617-6626.
- Edmonds, M., & Foster, A.** (2000). Hyalofill: a new product for chronic wound management. *Diabetic Foot*, 3, 29-30.
- Eming, S. A., Martin, P., & Tomic-Canic, M.** (2014). Wound repair and regeneration: mechanisms, signaling, and translation. *Science translational medicine*, 6(265), 265sr6-265sr6.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Eming, S., Smola, H., Hartmann, B., Malchau, G., Wegner, R., Krieg, T., & Smola-Hess, S.**(2008). The inhibition of matrix metalloproteinase activity in chronic wounds by a polyacrylate superabsorber. *Biomaterials*, 29(19), 2932-2940.
- Enoch, S. ve Leaper, DJ** (2008). Basic science of wound healing. *Surgery (Oxford)* , 26 (2), 31-37.
- Erkin, A., Yılmaz, A. Ç., Açıl, H. C., Yaman, Ö., Gül, A., & Aygin, D.** (2022). Yara Polikliniğine Başvuran Hastaların Yara Takip Sonuçlarının Değerlendirilmesi. *İzmir Tıp Fakültesi Dergisi*, 1(3), 142-149.
- Falanga, V.** (2004). The chronic wound: impaired healing and solutions in the context of wound bed preparation. *Blood Cells, Molecules, and Diseases*, 32(1), 88-94.
- Fu, W., Sun, S., Cheng, Y., Ma, J., Hu, Y., Yang, Z., ... & Zhang, Z.** (2024). Opportunities and challenges of nanomaterials in wound healing: Advances, mechanisms, and perspectives. *Chemical Engineering Journal*, 153640.
- Garg, T., & Goyal, A. K.** (2014). Biomaterial-based scaffolds—current status and future directions. *Expert opinion on drug delivery*, 11(5), 767-789.
- Gence, H.** (2008). Fötal yara iyileşmesi. *Ankara Üniversitesi Tıp Fakültesi Mecmuası*, 61(3), 171-179.
- Gibson, D., Cullen, B., Legerstee, R., Harding, KG ve Schultz, G.** (2009). MMPs made easy. *Wounds International*. 1 (1): 1–6 .
- Gounden, V., & Singh, M.** (2024). Hydrogels and wound healing: Current and future prospects. *Gels*, 10(1), 43.
- Graça, M. F., Miguel, S. P., Cabral, C. S., & Correia, I. J.** (2020). Hyaluronic acid—Based wound dressings: A review. *Carbohydr. Polym*, 241(116364), 10-1016.
- Gross, J., & Lapiere, C. M.** (1962). Collagenolytic activity in amphibian tissues: a tissue culture assay. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 48(6), 1014-1022.
- Guo, SA ve DiPietro, LA** (2010). Factors affecting wound healing. *Journal of Dental Research* , 89 (3), 219-229.
- Harding, K. G., Morris, H. L., & Patel, G. K.** (2002). Science, medicine and the future: healing chronic wounds. *BMJ (Clinical research ed.)*, 324(7330), 160–163. <https://doi.org/10.1136/bmj.324.7330.160>
- Hosseini, S. M. R., Heydari, P., Namnabat, M., Azadani, R. N., Gharibdousti, F. A., Rizzi, E. M., ... & Zarrabi, A.** (2024). Carboxymethyl cellulose/sodium alginate

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- hydrogel with anti-inflammatory capabilities for accelerated wound healing; In vitro and in vivo study. *European Journal of Pharmacology*, 976, 176671.
- Hu, M. S., Maan, Z. N., Wu, J. C., Rennert, R. C., Hong, W. X., Lai, T. S., ... & Lorenz, H. P.** (2014). Tissue engineering and regenerative repair in wound healing. *Annals of biomedical engineering*, 42, 1494-1507.
- Huang, D., Ou, B., & Prior, RL** (2005). The chemistry behind antioxidant capacity assays. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53 (6), 1841-1856.
- Hudiță, A., Grumezescu, V., Irimiciuc, S. A., Gherasim, O., Chertopalov, S., Gălățeanu, B., ... & Grumezescu, A. M.** (2025). Hemocompatible hydroxyapatite-CMC pulsed laser deposited coatings with biomineralization potential for implantable metallic surfaces. *Materials Today Chemistry*, 48, 103005.
- Kaczmarek-Szczepeńska, B., Kleszczyński, K., Zasada, L., Chmielniak, D., Hollerung, M. B., Dembińska, K., ... & Grabska-Zielińska, S.** (2024). Hyaluronic Acid/ellagic acid as materials for potential medical application. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(11), 5891.
- Kalaba, V., Sladojević, Ž., Balaban, Ž. M., Kalaba, D., & Panić, I.** (2019). Antibacterial properties of white lily (*Lilium candidum*) extract.
- Kandhwal, M., Behl, T., Singh, S., Sharma, N., Arora, S., Bhatia, S., ... & Bungau, S.** (2022). The role of matrix metalloproteinase in wound healing. *American Journal of Translational Research*, 14 (7), 4391.
- Kanikireddy, V., Varaprasad, K., Jayaramudu, T., Karthikeyan, C., & Sadiku, R.** (2020). Carboxymethyl cellulose-based materials for infection control and wound healing: A review. *International Journal of Biological Macromolecules*, 164, 963-975.
- Kausar, A.** (2021). Poly (acrylic acid) nanocomposites: Design of advanced materials. *Journal of Plastic Film & Sheeting*, 37(4), 409-428.
- Kaushik, N., Kim, J. H., Nguyen, L. N., Kaushik, N. K., & Choi, K. A.** (2022). Characterization of bioactive compounds having antioxidant and anti-Inflammatory effects of Liliaceae family flower petal extracts. *Journal of Functional Biomaterials*, 13(4), 284.
- Kawano, Y., Patrulea, V., Sublet, E., Borchard, G., Iyoda, T., Kageyama, R., ... & Hanawa, T.** (2021). Wound healing promotion by hyaluronic acid: Effect of

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- molecular weight on gene expression and in vivo wound closure. *Pharmaceuticals*, 14(4), 301.
- Khosolim, I. P., Zhang, Y. Y., Yiu, C. K. Y., & Wong, H. M.** (2022). Synthesis of a graphene oxide/agarose/hydroxyapatite biomaterial with the evaluation of antibacterial activity and initial cell attachment. *Scientific Reports*, 12(1), 1971.
- Kırmız, Ş.** (2018). *Poliakrilik asit-hidroksiapatit-bal nanokompozitlerinin sentezi ve bazı biyolojik özelliklerinin belirlenmesi* (Master's thesis, Balıkesir University (Turkey)).
- Kondo, T. ve Ishida, Y.** (2010). Molecular pathology of wound healing. *International Journal of Legal Medicine*, 203 (1-3), 93-98.
- Kudłacik-Kramarczyk, S., Drabczyk, A., Głab, M., Alves-Lima, D., Lin, H., Douglas, T. E. L., ... & Tylińczak, B.** (2021). Investigations on the impact of the introduction of the Aloe vera into the hydrogel matrix on cytotoxic and hydrophilic properties of these systems considered as potential wound dressings. *Materials Science and Engineering: C*, 123, 111977.
- Leaper, D. J., Schultz, G., Carville, K., Fletcher, J., Swanson, T., & Drake, R.** (2012). Extending the TIME concept: what have we learned in the past 10 years?. *International wound journal*, 9, 1-19.
- Lee, K. A., Lee, J. Y., Lee, J. W., Lee, E. M., & Oh, M. J.** (2007). Nutritional value of lily scales in *Lilium lancifolium* and *Lilium davidii*. *Global Books J Food*, 1, 344-346.
- Li, J., Chen, J., & Kirsner, R.** (2007). Pathophysiology of acute wound healing. *Clinics in dermatology*, 25(1), 9-18.
- Li, J., Li, S., Zhong, A., Xing, J., Li, L., Wang, C., & Zheng, M.** (2024). A Self-Gelling Powder Based on Polyacrylic Acid/Polyethyleneimine/Polyethylene Glycol for High-Performance Hemostasis and Antibacterial Activity. *Polymers*, 16(24), 3516.
- Li, S., Pan, W., Chen, M., Wang, R., & Chen, F.** (2025). Preparation of photo-crosslinked hyaluronic acid/silk fibroin hydrogel for promoting wound healing. *Exploration of BioMat-X*, 2, 101339.
- Lim, L. S., Ahmad, I., & Lazim, M. A. S. M.** (2015). pH sensitive hydrogel based on poly (acrylic acid) and cellulose nanocrystals. *Sains Malaysiana*, 44(6), 779-785.
- Lupşor, S., Stanciu, G., Cristache, R. E., Pănuş, E., Radulescu, C., Olteanu, R. L., ... & Stirbescu, R. M.** (2025). Phytochemical Evaluation and Antioxidant-

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Antimicrobial Potential of *Lilium* spp. Bulbs: Therapeutic and Dermatocosmetic Applications. *Plants*, 14(13), 1917.
- McCarty, SM ve Percival, SL** (2013). Proteases and delayed wound healing. *Advances in Wound Care*, 2 (8), 438-447.
- Meng, J., Wang, W., Wang, J., & Xu, M.** (2025). Fabrication and properties of an injectable hyaluronic acid hydrogel loaded with corticosteroid. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 211, 107096.
- Momtaz, S., Dibaj, M., Abdollahi, A., Amin, G., Bahramsoltani, R., Abdollahi, M., ... & Abdolghaffari, A. H.** (2020). Wound healing activity of the flowers of *Lilium candidum* L. in burn wound model in rats. *Journal of Medicinal Plants*, 19(73), 109-118.
- Movasaghi, Z., Rehman, S., & ur Rehman, D. I.** (2008). Fourier transform infrared (FTIR) spectroscopy of biological tissues. *Applied Spectroscopy Reviews*, 43(2), 134-179.
- Nandhini, J., Karthikeyan, E., & Rajeshkumar, S.** (2024). Nanomaterials for wound healing: Current status and futuristic frontier. *Biomedical Technology*, 6, 26-45.
- Nguyen, T. T., Mobashery, S., & Chang, M.** (2016). Roles of matrix metalloproteinases in cutaneous wound healing. *Wound healing-new insights into ancient challenges*, 10.
- Nwomeh, B. C., Yager, D. R., & Cohen, I. K.** (1998). Physiology of the chronic wound. *Clinics in plastic surgery*, 25(3), 341-356.
- Oliveira, R. N., Meleiro, L. A. D. C., Quilty, B., & McGuinness, G. B.** (2024). Release of natural extracts from PVA and PVA-CMC hydrogel wound dressings: a power law swelling/delivery. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 12, 1406336.
- Özbek, Y. E.** (2024). Ak Zambak (*Lilium candidum*)'ın fizikokimyasal özellikleri ve antimikrobiyal potansiyelinin incelenmesi.
- Öztaş, P.** (2021). Yara iyileşmesi, bakımı ve tedavisi. *Ankara Eğitim ve Araştırma Hastanesi Tıp Dergisi*, 54(2), 341-351.
- Öztürk, Ö. G.** (2013). Matriks metalloproteinaz enzim ailesi. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*, 22(2), 209-220.
- Palka, P., Cioć, M., Hura, K., Szewczyk-Taranek, B., & Pawłowska, B.** (2023). Adventitious organogenesis and phytochemical composition of Madonna lily

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- (*Lilium candidum* L.) in vitro modeled by different light quality. *Plant Cell, Tissue and Organ Culture (PCTOC)*, 152(1), 99-114.
- Panche, AN, Diwan, AD ve Chandra, SR** (2016). Flavonoids: an overview. *Journal of Nutritional Science*, 5 , e47. doi:10.1017/jns.2016.41
- Patocka, J., Navratilova, Z., & Yokozawa, T.** (2019). Bioactivity of *Lilium candidum* L: a mini review. *Biomed J Sci Tech Res*, 18(5), 13859-13862.
- Peppas, N. A., Hilt, J. Z., Khademhosseini, A., & Langer, R.** (2006). Hydrogels in biology and medicine: from molecular principles to bionanotechnology. *Advanced materials*, 18(11), 1345-1360.
- Peptu, C. A., Băcăiță, E. S., Savin, C. L., Luțcanu, M., & Agop, M.** (2021). Hydrogels based on alginates and carboxymethyl cellulose with modulated drug release—An experimental and theoretical study. *Polymers*, 13(24), 4461.
- Pereira, R. F., Barrias, C. C., Granja, P. L., & Bartolo, P. J.** (2013). Advanced biofabrication strategies for skin regeneration and repair. *Nanomedicine*, 8(4), 603-621.
- Pirhan, A. F., Özdöl, T., & Yıldırım, H.** (2024). *Lilium candidum* L.(Ak zambak) Türünün İzmir İli Popülasyonları ve Tür Koruma Stratejileri. *Herbarium Turcicum*, (4), 9-17.
- Pulido-Olmo, H., Rodríguez-Sánchez, E., Navarro-García, J. A., Barderas, M. G., Álvarez-Llamas, G., Segura, J., ... & Ruiz-Hurtado, G.** (2017). Rapid, Automated, and Specific Immunoassay to Directly Measure Matrix Metalloproteinase-9–Tissue Inhibitor of Metalloproteinase-1 Interactions in Human Plasma Using AlphaLISA Technology: A New Alternative to Classical ELISA. *Frontiers in Immunology*, 8, 853.
- Ramey-Ward, A. N., Smith, S., Walthall, H., & Barrows, T. H.** (2024). Human Keratin Matrices Suppress Matrix Metalloproteinase Activity to Support Wound Healing. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(23), 12898.
- Ramful, D., Tarnus, E., Aruoma, O. I., Bourdon, E., & Bahorun, T.** (2011). Polyphenol composition, vitamin C content and antioxidant capacity of Mauritian citrus fruit pulps. *Food research international*, 44(7), 2088-2099.
- Ratner, B. D., Hoffman, A. S., Schoen, F. J., & Lemons, J. E.** (2004). Biomaterials science: an introduction to materials in medicine.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Re, R., Pellegrini, N., Proteggente, A., Pannala, A., Yang, M., & Rice-Evans, C.** (1999). Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. *Free radical biology and medicine*, 26(9-10), 1231-1237.
- Rolin, G., Placet, V., Jacquet, E., Tauzin, H., Robin, S., Pazart, L., ... & Humbert, P.** (2012). Development and characterization of a human dermal equivalent with physiological mechanical properties. *Skin Research and Technology*, 18(2), 251-258.
- Salem, S. S., Hashem, A. H., Sallam, A. A. M., Doghish, A. S., Al-Askar, A. A., Arishi, A. A., & Shehabeldine, A. M.** (2022). Synthesis of silver nanocomposite based on carboxymethyl cellulose: Antibacterial, antifungal and anticancer activities. *Polymers*, 14(16), 3352.
- Shariatzadeh, F. J., Currie, S., Logsetty, S., Spiwak, R., & Liu, S.** (2024). Enhancing wound healing and minimizing scarring: A comprehensive review of nanofiber technology in wound dressings. *Progress in Materials Science*, 101350.
- Sharma, S., Dua, A., & Malik, A.** (2016). Superabsorbent polymer gels based on polyaspartic acid and polyacrylic acid. *J. Mater. Sci. Eng*, 5, 235.
- Shukla, P., Srivastava, P., & Mishra, A.** (2025). On the potential activity of hyaluronic acid as an antimicrobial agent: experimental and computational validations. *Bioprocess and Biosystems Engineering*, 48(1), 27-42.
- Sifaoui, I., Mecha, E., Silva, A., Chammem, N., Mejri, M., Abderabba, M., & Bronze, M. R.** (2016). Optimized extraction of antioxidants from olive leaves using augmented simplex centroid design. *Analytical Letters*, 49(9), 1323-1333.
- Sin, B. Y., & Kim, H. P.** (2005). Inhibition of collagenase by naturally-occurring flavonoids. *Archives of pharmacal research*, 28(10), 1152-1155.
- Singleton, V. L., & Rossi, J. A.** (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. *American journal of Enology and Viticulture*, 16(3), 144-158.
- Slominski, A. T., Zmijewski, M. A., Skobowiat, C., Zbytek, B., Slominski, R. M., & Steketee, J. D.** (2012). Sensing the environment: regulation of local and global homeostasis by the skin's neuroendocrine system. *Adv. Anat. Embryol. Cell. Biol.*
- Smeets, R., Ulrich, D., Unglaub, F., Wöltje, M., & Pallua, N.** (2008). Effect of oxidised regenerated cellulose/collagen matrix on proteases in wound exudate of patients with chronic venous ulceration. *International wound journal*, 5(2), 195-203.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Smith, T. J., Kennedy, J. E., & Higginbotham, C. L.** (2010). Rheological and thermal characteristics of a two phase hydrogel system for potential wound healing applications. *Journal of materials science*, 45, 2884-2891.
- Sorg, H., & Sorg, C. G.** (2023). Skin wound healing: of players, patterns, and processes. *European Surgical Research*, 64(2), 141-157.
- Süntar, İ.** (2011). Türkiyede halk arasında yara iyileştirici amaçla kullanılan bazı bitkilerin aktiviteleri üzerinde araştırmalar.
- Tang, Y. C., Liu, Y. J., He, G. R., Cao, Y. W., Bi, M. M., Song, M., ... & Ming, J.** (2021). Comprehensive analysis of secondary metabolites in the extracts from different lily bulbs and their antioxidant ability. *Antioxidants*, 10(10), 1634.
- Tavakoli, J., Mirzaei, S., & Tang, Y.** (2018). Cost-effective double-layer hydrogel composites for wound dressing applications. *Polymers*, 10(3), 305.
- Tóth, M. M., Papp, N., Kerényi, M., Balázs, V. L., Bartha, S. G., Purger, D., & Stranczinger, S.** (2022). Study on histological structure and antimicrobial activity of *Lilium candidum* L. *Botany Letters*, 169(3), 413-421.
- Tottoli, EM, Dorati, R., Genta, I., Chiesa, E., Pisani, S. ve Conti, B.** (2020). Skin wound healing process and new emerging technologies for skin wound care and regeneration. *Pharmaceutics*, 12 (8), 735.
- Uberoi, A., McCready-Vangi, A., & Grice, E. A.** (2024). The wound microbiota: microbial mechanisms of impaired wound healing and infection. *Nature Reviews Microbiology*, 22(8), 507-521.
- Verhaegen, C., Lepropre, S., Octave, M., Brusa, D., Bertrand, L., Beauloye, C., ... & Horman, S.** (2019). Bioreactivity of stent material: in vitro impact of new twinning-induced plasticity steel on platelet activation. *Journal of Biomaterials and Nanobiotechnology*, 10(4), 175-189.
- Wang, X., Qi, J., Zhang, W., Pu, Y., Yang, R., Wang, P., ... & Chi, B.** (2021). 3D-printed antioxidant antibacterial carboxymethyl cellulose/ε-polylysine hydrogel promoted skin wound repair. *International journal of biological macromolecules*, 187, 91-104.
- Wang, Y., Zheng, L., Zhang, L., Tai, Y., Lin, X., & Cai, Z.** (2024). Roles of MMP-2 and MMP-9 and their associated molecules in the pathogenesis of keloids: a comprehensive review. *Frontiers in Pharmacology*, 15, 1444653.

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- Weber, M., Steinle, H., Golombek, S., Hann, L., Schlensak, C., Wendel, H. P., & Avci-Adali, M.** (2018). Blood-contacting biomaterials: in vitro evaluation of the hemocompatibility. *Frontiers in bioengineering and biotechnology*, 6, 99.
- Wickett, R. R., & Visscher, M. O.** (2006). Structure and function of the epidermal barrier. *American journal of infection control*, 34(10), S98-S110.
- Wiegand, C., & Hipler, U. C.** (2013). A superabsorbent polymer-containing wound dressing efficiently sequesters MMPs and inhibits collagenase activity in vitro. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 24(10), 2473-2478.
- Williams, D. F.** (2009). On the nature of biomaterials. *Biomaterials*, 30(30), 5897-5909.
- Wlaschek, M., & Scharffetter-Kochanek, K.** (2005). Oxidative stress in chronic venous leg ulcers. *Wound Repair and Regeneration*, 13(5), 452-461.
- Wójcik-Pastuszka, D., Skrzypczyk, A., & Musiał, W.** (2021). Interactions and release kinetics of sodium hyaluronate applied in nonionic and anionic polymeric hydrogels studied by immunoenzymatic ELISA assay. *Pharmaceutics*, 14 (1), 58.
- Xiao, J., Liang, Y., Sun, T., Liu, M., & He, X.** (2024). A functional dual responsive CMC/OHA/SA/TOB hydrogel as wound dressing to enhance wound healing. *Scientific Reports*, 14(1), 26854.
- Young, A., & McNaught, CE** (2011). The physiology of wound healing. *Surgery (Oxford)*, 29 (10), 475-479.
- Young, T.** (2012). Using a protease test to inform wound care treatment decisions. *Wounds UK*, 8(4).
- Zhang, J., Hu, J., Chen, B., Zhao, T., & Gu, Z.** (2021). Superabsorbent poly (acrylic acid) and antioxidant poly (ester amide) hybrid hydrogel for enhanced wound healing. *Regenerative Biomaterials*, 8(2), rbaa059.
- Zhang, L., Luo, B., An, Z., Zheng, P., Liu, Y., Zhao, H., ... & Pei, R.** (2023). MMP-responsive nanoparticle-loaded, injectable, adhesive, self-healing hydrogel wound dressing based on dynamic covalent bonds. *Biomacromolecules*, 24(12), 5769-5779.
- Zhang, W., Li, X., Chen, W., Huang, X., Hua, T., Hu, J., ... & Li, X.** (2024). 1-Carnosine loaded on carboxymethyl cellulose hydrogels for promoting wound healing. *RSC advances*, 14(26), 18317-18329.
- Zhang, X., Wan, H., Lan, W., Miao, F., Qin, M., Wei, Y., ... & Huang, D.** (2022). Fabrication of adhesive hydrogels based on poly (acrylic acid) and modified

KAYNAKLAR DİZİNİ (devam)

- hyaluronic acid. *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, 126, 105044.
- Zhang, Y., & Gemeinhart, R. A.** (2012). Improving matrix metalloproteinase-2 specific response of a hydrogel system using electrophoresis. *International journal of pharmaceutics*, 429(1-2), 31-37.
- Zhong, Y., Wei, E. T., Wu, L., Wang, Y., Lin, Q., Wu, N., ... & Tang, N.** (2024). Novel Biomaterials for Wound Healing and Tissue Regeneration. *ACS omega*, 9(30), 32268-32286.
- Zhou, C., Chen, L., Zhou, W., Wang, L., Zhang, R., & Yang, C.** (2024). Antimicrobial polyacrylic acid/tannic acid hydrogel wound dressing facilitating full-thickness skin healing. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, 35(4), 501-518.
- Zhou, J., An, R., & Huang, X.** (2021). Genus *Lilium*: A review on traditional uses, phytochemistry and pharmacology. *Journal of Ethnopharmacology*, 270, 113852.
- Zimoch, J., Zielinska, D., Michalak-Micka, K., Rüttsche, D., Böni, R., Biedermann, T., & Klar, A. S.** (2021). Bio-engineering a prevascularized human tri-layered skin substitute containing a hypodermis. *Acta biomaterialia*, 134, 215-227.

EKLER

EKLER

EK A: Etik Kurul Kararı

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU					
ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI		"Lilium Candidum Özütü Yüklü PAA/Selüloz/Hyaluronik Asit İçeren Süperemici Biyomateryallerin Hazırlanması ve Matris Metalloproteinazların Bağlanma Seviyesinin Araştırılması"			
ETİK KURUL BİLGİLERİ	ETİK KURULUN ADI	BALIKESİR ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU			
	AÇIK ADRESİ:	Çığış Yerleşkesi Uşak Yolu Üzeri, 10145 BALIKESİR			
	TELEFON	05529368867			
	FAKS				
	E-POSTA	bauklinetik@gmail.com			
BAŞVURU BİLGİLERİ	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Prof.Dr.Serap DOĞAN			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI			
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	BALIKESİR (BAÜN TIP FAKÜLTESİ)			
	VARSA İDARI SORUMLU UNVANI/ADI/SOYADI				
	DESTEKLEYİCİ				
	PROJE YÜRÜTÜCÜSÜ UNVANI/ADI/SOYADI (TÜBİTAK vb. gibi kaynaklardan destek alanlar için)				
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ				
	ARAŞTIRMANIN FAZİ VE TÜRÜ	FAZ 1	<input type="checkbox"/>		
		FAZ 2	<input type="checkbox"/>		
		FAZ 3	<input type="checkbox"/>		
FAZ 4		<input type="checkbox"/>			
Gözlemsel ilaç çalışması		<input type="checkbox"/>			
Tıbbi cihaz klinik araştırması		<input type="checkbox"/>			
In vitro tıbbi tanı cihazları ile yapılan performans değerlendirme çalışmaları		<input type="checkbox"/>			
İlaç dışı klinik araştırma		<input checked="" type="checkbox"/>			
Diğer ise belirtiniz					
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ <input checked="" type="checkbox"/>	ÇOK MERKEZLİ <input type="checkbox"/>	ULUSAL <input type="checkbox"/>	ULUSLARARASI <input type="checkbox"/>	

Etik Kurul Başkanının
Unvanı/Adı/Soyadı: Prof.Dr.Fuat EREL
İmza:

Not: Etik kurul başkanı, imzasının yer almadığı her sayfaya imza atmalıdır.

Şekil A.1: Etik kurul kararı 1. sayfası

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI		"Lilium Candidum Özütlü Yüklendiş PAA/Seltiloz/Hyaluronik Asit İçeren Süperemici Biyomateryallerin Hazırlanması ve Matriks Metalloproteinazların Bağlanma Seviyesinin Araştırılması"			
DEĞERLENDİRİLEN BELGELER	Belge Adı	Tarihi	Versiyon Numarası	Dili	
	ARAŞTIRMA PROTOKOLÜ			Türkçe <input checked="" type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>
	BİLGİLENDİRİLMİŞ GÖNÜLLÜ OLUR FORMU			Türkçe <input checked="" type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>
	OLGU RAPOR FORMU			Türkçe <input checked="" type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>
	ARAŞTIRMA BROŞÜRÜ			Türkçe <input checked="" type="checkbox"/>	İngilizce <input type="checkbox"/> Diğer <input type="checkbox"/>
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGELER	Belge Adı	Açıklama			
	SİGORTA	<input type="checkbox"/>			
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ	<input checked="" type="checkbox"/>			
	BIYOLOJİK MATERYEL TRANSFER FORMU	<input type="checkbox"/>			
	İLAN	<input type="checkbox"/>			
	YILLIK BİLDİRİM	<input type="checkbox"/>			
	SONUÇ RAPORU	<input type="checkbox"/>			
	GÜVENLİLİK BİLDİRİMLERİ	<input type="checkbox"/>			
DİĞER:	<input type="checkbox"/>				
KARAR BİLGİLERİ	Karar No:2023/31	Tarih:22.03.2023			
	Yukarıda bilgileri verilen başvuru dosyası ile ilgili belgeler araştırmanın/çalışmanın gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemleri dikkate alınarak incelenmiş ve uygun bulunmuş olup araştırmanın/çalışmanın başvuru dosyasında belirtilen merkezlerden izin alınması şartıyla gerçekleştirilmesinde etik ve bilimsel sakınca bulunmadığına toplantıya katılan etik kurul üye tam sayısının oybirliği ile karar verilmiştir. İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik kapsamında yer alan araştırmalar/çalışmalar için Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu'ndan izin alınması gerekmektedir.				

KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU						
ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI	İlaç ve Biyolojik Ürünlerin Klinik Araştırmaları Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamalar Kılavuzu					
BAŞKANIN UNVANI / ADI / SOYADI:						
Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet	Araştırma ile ilişki	Katılım *	İmza
Prof.Dr.Fuat EREL	Göğüs Hastalıkları AD	BAÜN Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Prof.Dr.Gülten ERKEN	Fizyoloji AD	BAÜN Tıp Fakültesi	E <input type="checkbox"/> K <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Doç.Dr.Akın USTA	Kadın Hastalıkları ve Doğum AD	BAÜN Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Dr.Öğr.Üyesi Oguzhan KORKUT	Tıbbi Farmakoloji AD	BAÜN Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Dr.Öğr.Üyesi Mustafa ÇOLAK	Göğüs Hastalıkları AD	BAÜN Tıp Fakültesi	E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Uzm.Dr.Mehmet ÇALIŞKAN	Halk Sağlığı Uzmanı	Balıkesir KEAS Organize Sanayi	E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Av.Erman ARDA	Avukat	Serbest	E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Hüsnü KUNDAKÇI	Eczacı	Balıkesir Sağlık Uygulama ve Arş.Hast.	E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	
Serhat ALDEMİR	Emekli		E <input checked="" type="checkbox"/> K <input type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input checked="" type="checkbox"/>	E <input type="checkbox"/> H <input type="checkbox"/>	

*:Toplantıda Bulunma

Etik Kurul Başkanının
Unvanı/Adı/Soyadı:Prof.Dr.Fuat EREL
İmza:

Not: Etik kurul başkanı, imzasının yer almadığı her sayfaya imza atmalıdır.

Şekil A.2: Etik kurul kararı 2. sayfası

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı Soyadı : Sertap Karabaş

Doğum tarihi ve yeri :

e-posta :

Öğrenim Bilgileri

Derece	Okul/Program	Yıl
Y. Lisans	Balıkesir Üniversitesi/ Moleküler Biyoloji ve Genetik	2023-2026
Lisans	Balıkesir Üniversitesi/ Moleküler Biyoloji ve Genetik	2018-2022
Lise	Sinop Anadolu Lisesi	2014-2018