SİLYMARİN KATKILI NANOLİF YÜZEYLERİN ÜRETİMİ, KARAKTERİZASYONU VE YARA ÖRTÜSÜ OLARAK KULLANIM PERFORMANSLARININ İN VİVO ARAŞTIRILMASI

Aısegkıoul SALİ

T.C.
BURSA ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

SİLYMARİN KATKILI NANOLİF YÜZEYLERİN ÜRETİMİ, KARAKTERİZASYONU VE YARA ÖRTÜSÜ OLARAK KULLANIM PERFORMANSLARININ İN VİVO ARAŞTIRILMASI

Aısegkıoul SALİ
0000-0002-1973-5344

Prof. Dr. Gökhan GÖKTALAY
(Danışman)

YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOMALZEMELER ANABİLİM DALI

BURSA – 2022
Her Hakkı Saklıdır

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

SİLYMARİN KATKILI NANOLİF YÜZEYLERİN ÜRETİMİ, KARAKTERİZASYONU VE YARA ÖRTÜSÜ OLARAK KULLANIM PERFORMANSLARININ İN VİVO ARAŞTIRILMASI

Aısegkıoul SALİ

Bursa Uludağ Üniversitesi
Fen Bilimleri Enstitüsü
Biyomalzemeler Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Gökhan GÖKTALAY
İkinci Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Şebnem DÜZYER GEBİZLİ

Bu tezin amacı, elektro çekim (elektrospinning) yöntemiyle üretilmiş Silymarin katkılı nanolif yüzeylerin yara örtüsü olarak kullanım performanslarının incelenmesidir. Farklı konsantrasyonlarda Silymarin içeren nanolif yüzeyler üretilerek karakterize edilmiştir. Üretilen yüzeylerin *in vitro* ilaç salıverme potansiyelleri ve *in vivo* olarak yara iyileşmesi üzerine olan etkinliği gösterilmiştir.

Tez iki kısımdan oluşmaktadır. İlk kısımda farklı konsantrasyonlarda Silymarin içeren polikaprolakton (PCL) çözeltileri hazırlanmış, viskozite değerleri ölçülmüş ve elektro çekim yöntemi ile en uygun parametreler belirlenerek nanolif yüzeylerin üretimi gerçekleştirilmiştir. Üretilen yüzeylerin karakterizasyonu, Fourier dönüşüm kızılötesi (FTIR) spektroskopisi, taramalı elektron mikroskobu (SEM) ve temas açısı ölçümleri ile gerçekleştirilmiştir. Silymarin katkılı nanolif yüzeylerden, etken madde salıverilmesi ultraviyole-görünür ışık (UV-VIS) spektrofotometre ile ölçülmüştür. Karakterizasyon ve *in vitro* salıverme çalışmaları sonucunda yara örtüsü olarak kullanılacak olan en iyi nanolif yüzey morfolojisine ve etken madde salıverme potansiyeline sahip yüzey belirlenmiştir. Tezin ikinci kısmında, *in vivo* deneyler gerçekleştirilmiştir. Silymarin katkılı nanolif yüzeylerin, yara iyileşmesi üzerine olan etkinliği tam kat eksizyon yara modeli oluşturulmuş sıçanlarda ticari bir ürün ve katkısız PCL nanolifli yüzey ile karşılaştırılarak gösterilmiştir.

Bu çalışmanın sonucunda; üretilen Silymarin katkılı nanolif yara örtülerinin, katkısız PCL ve ticari örtüye kıyasla yara iyileşme hızını arttırdığı gösterilmiştir. Böylelikle yara tedavisinde kullanılabilecek güvenli ve etkin bir yara örtüsü özelliğine sahip bir biyomalzeme geliştirilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Silymarin, nanolif, elektro çekim, polikaprolakton, yara örtüsü, biyomalzeme **2022, viii + 117 sayfa.**

ABSTRACT

MSc Thesis

PRODUCTİON CHARACTERİZATİON AND İN VİVO İNVESTİGATİON OF SİLYMARİN DOPED NANOFİBER SURFACES AND THEİR PERFORMANCE AS WOUND DRESSİNG

Aısegkıoul SALİ

Bursa Uludağ University
Graduate School of Natural and Applied Sciences
Department of Biomaterials

Supervisor: Prof. Dr. Gökhan GÖKTALAY
Second Supervisor: Assist. Prof. Dr. Şebnem DÜZYER GEBİZLİ

The aim of this thesis is to examine the usage performance of Silymarin-loaded nanofiber surfaces produced by electrospinning method as a wound dressing. Nanofiber mats containing different concentrations of Silymarin were produced and characterized. The *in vitro* drug release potential of the produced surfaces and their effectiveness on wound healing *in vivo* were demonstrated.

The thesis generally consists of two parts. In the first part, polycaprolactone solutions containing Silymarin at different concentrations were prepared, their viscosity values measured, and nanofiber surfaces were produced by determining the most suitable parameters by electrospinning method. Characterization of the fabricated surfaces were carried out by Fourier Transform Infrared (FTIR) spectroscopy, scanning electron microscopy (SEM) and contact angle measurements. The release of active substance from silymarin-loaded nanofiber mats was measured by UV-VIS spectrophotometer. As a result of characterization and *in vitro* release studies, the surface with the best nanofiber morphology and active agent release potential was determined to be used as a wound dressing. In the second part of the thesis, an *in vivo* experiment was carried out. The effectiveness of the silymarin-loaded nanofiber mat on wound healing was demonstrated by comparing it with a commercial product on full-thickness excision wounds model in rats.

The results of this study showed that Silymarin-loaded nanofiber dressings increase the wound healing rate compared to the pure PCL and commercial dressing. Thus, a safe and effective biomaterial that can be used in wound treatment has been developed.

Key words: Silymarin, nanofiber, electrospinning, polycaprolactone, wound dressing, biomaterial **2022, viii + 117 pages.**

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans çalışmalarım süresince bilgisini ve desteğini benden esirgemeyen kendi alanım dışında deneyim ve tecrübeler de kazanmamı sağlayan, ortaya çıkan her türlü problemde çözüme ulaşmamda yardımcı olan, bana verdiği değerli bilgi ve katkılarından dolayı kıymetli danışman hocam Prof. Dr. Gökhan Göktalay'a teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışmanın ortaya çıkmasında yardımlarını ve desteğini hiçbir zaman benden esirgemeyen laboratuvarının kapılarını bana açan, bilgi ve tecrübeleri ile attığım her adımda bana yol gösteren çok değerli ikinci danışman hocam Dr. Öğr. Üyesi Şebnem Düzyer Gebizli' ye teşekkürlerimi sunmaktan mutluluk duyarım.

Çalışmamın en kritik zamanında yardım talebimi geri çevirmeyip, bu tezi bitirmemde büyük katkıları olan Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi Klinik Öncesi Bilimler bölümünden Prof. Dr. Zabit Yener ve Dr. Öğr. Üyesi Ömer Faruk Keleş hocalarıma ve ayrıca Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Veterinerlik Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı'ndan Doç. Dr. Semin Gedikli ve Süleyman Demirel Üniversitesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı Dr. Öğr. Üyesi Ümran Aydemir Sezer hocama ve Bursa Uludağ Üniversitesi Tıbbi Farmakoloji Anabilim Dalı'na ve hocalarıma, bana sağladıkları destek ve katkı için teşekkürlerimi sunarım.

Tez konumu belirlemeden, tezimin bitimine kadar tüm süreç boyunca yanımda olan, beni her zaman sabırla dinleyen, yol göstericim Biyolog Erkan Ermiş ve *in vivo* deneylerde desteklerini benden esirgemeyen Vet. Hek. Yusuf Berkcan Yanar ve bu yolda birlikte çalışmalar yaptığımız, her türlü zorluk ve problemle birlikte başa çıktığımız Biyomalzemeler Anabilim Dalı ekip arkadaşım Şule Mergen'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu yolda beni yalnız bırakmayan, bu günlere gelmemde büyük emekleri olan, bana verdikleri destekler ile hep daha da ileriye gittiğim, her şey için minnettar olduğum canım dedem, biricik babaannem, sevgili annem ve babam çok sevdiğim kardeşlerime sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Son olarak, varlığıyla bana destek olan, neler yapabileceğimi ve neleri başarabileceğimi her daim hatırlatan Dr. Onur Ortahisar'a teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez çalışması BAP THIZ-2021-680 kodlu proje ile desteklenmiştir.

Aısegkıoul SALİ
…/…/…….

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET i
ABSTRACT ii
TEŞEKKÜR iii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ vi
ŞEKİLLER DİZİNİ vii
ÇİZELGELER DİZİNİ ix
1. GİRİŞ…….. 1
2. KURAMSAL TEMELLER ve KAYNAK ARAŞTIRMASI 4
2.1 Biyomalzemeler 4
2.1.1. Biyomalzemelerin tarihsel gelişimi 4
2.1.2. Metalik biyomalzemeler 8
2.1.3. Seramik biyomalzemeler 10
2.1.4. Polimerik biyomalzemeler 12
2.1.5. Kompozit biyomalzemeler 14
2.2. Yara Örtüleri 14
2.2.1. Nanolifli yara örtüleri 17
2.2.2. Nanolifli yapıların özellikleri 18
2.2.3. Nanolif üretim yöntemleri 22
2.3. Elektro Çekim Tekniği Prensibi 25
2.4. Elektro Çekim Tekniğine Etki Eden Parametreler 27
2.4.1.Çözelti parametreleri 28
2.4.2. Proses parametreleri 32
2.4.3. Ortam parametreleri 34
2.5. Polikaprolakton (PCL) 35
2.6. Silymarin 37
2.6.1. Flavonoidler 38
2.6.2. Botanik özellikleri 39
2.7. Yaralar: Türleri, İyileşme Süreci ve Yara Bakımı 43
2.7.1. Yara iyileşmesinin hücresel ve moleküler düzenlenmesi 43
2.7.2. Yara iyileşmesinin aşamaları 44
2.8. İlaç Dağıtım Sistemleri 53
2.8.1. Konvansiyonel ve kontrollü ilaç dağıtım sistemleri 53
2.8.2. Kontrollü ilaç dağıtım sistemleri 54
2.8.3.Kontrollü salıverme ilaç dağıtım sistemlerinin tasarımı 55
2.8.4.Kontrollü ilaç salıverme sistemlerinin sınıflandırılması 56
2.8.5. Kontrollü salıverme dozaj formu tasarımı: Pratik Hususlar 59
2.8.6. Kontrollü ilaç dağıtımında biyomalzeme kavramı 60
3. MATERYAL ve YÖNTEM 62
3.1. Kullanılan Cihazlar ve Sarf Malzemeler 62
3.1.1 Kullanılan sarf malzemeler 62
3.1.2. Çalışmada kullanılan alet ve cihazlar 63
3.2. Nanolif Yüzey Üretimi Çalışmaları 64
3.2.1. Polimer çözeltilerinin hazırlanması 64
3.2.2. Hazırlanan çözeltilerin viskozite ölçümleri 64
3.2.3. Elektro çekim yöntemi ile nanolif yüzey üretimi 65

3.3 Silymarin Katkılı Nanolif Yüzeylerin Karakterizasyonları 66
3.3.1. SEM analizleri 66
3.3.2. FTIR analizleri 67
3.3.3. Temas açısı ölçümleri 67
3.3.4. Gözenek boyutu ve yüzey gözenekliliği tayini 68
3.3.5. Nanolifli yüzeylerin sterilizasyonu 69
3.3.6. Nanolifli yüzeylerden etken madde salıverme çalışması 69
3.3.7. Nanolifli yüzeylerin *in vivo* ortamda yara örtüsü olarak uygulanması 71
4. BULGULAR ve TARTIŞMA 75
4.1.Nanolif Yüzeylerin Üretim ve Karakterizasyon Çalışmaları 75
4.1.1. PCL/SM çözeltilerinin karakterizasyonu 75
4.1.2. PCL ve PCL/SM katkılı nanolifli yüzeylerin karakterizasyonu 76
4.1.3. Temas açısı ölçüm sonuçları 78
4.1.4. FTIR analiz sonuçları 80
4.2. Nanolifli yüzeylerden Silymarin salverilmesi çalışması 81
4.3. *In Vivo* Deneylerin Bulguları 84
5. SONUÇ……. 89
KAYNAKLAR 92
EKLER 115
ÖZGEÇMİŞ 117

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler	Açıklama
w/w	Ağırlık başına ağırlık oranı
%wt.	Ağırlıkça yüzde
γ	Birim uzunluğu geren kuvvet
°C	Celcius
dk	Dakika
rpm	Dakika devir
ʎ	Dalga boyu
°	Derece
w/v	Hacim başına ağırlık oranı
v/v	Hacim oranı
µ	Mikro
kV	Kilovolt
m^2	Metrekare
nm	Nanometre
cm	Santimetre

Kısaltmalar	Açıklama
DCM	Diklorometan
DMF	Dimetilformamid
FTIR	Fourier Dönüşümlü Kızılötesi
GAG	Glikozaminoglikan
PAN	Poliakrilonitril
PBS	Fosfat tampon çözeltisi
PCL	Polikaprolakton
PEO	Polietilen oksit
PLA	Polilaktik asit
PLGA	Poli (D, L-aktid-ko-glikolid)
PLLA	Polilaktik asit
PMMA	Poli metil metakrilat
PVA	Polivinil alkol
PVP	Polivinilpirolidon
ROS	Reaktif oksijen türevleri
SEM	Taramalı Elektron Mikroskobu
SM	Silymarin
UV-VIS	Ultraviyole-görünür alan

ŞEKİLLER DİZİNİ

		Sayfa
Şekil 2.1.	Biyomalzemelerin tarihsel gelişimi……..	5
Şekil 2.2.	Yıllara göre Biyomalzeme alanında yayınlanan çalışmalar (PubMed.gov)……...	7
Şekil 2.3.	Biyomalzemelerin sınıflandırılması.....	8
Şekil 2.4.	Metalik biyomalzeme örnekleri…….....	9
Şekil 2.5.	Seramik biyomalzeme örnekleri……...	11
Şekil 2.6.	Polimerik biyomalzeme örenkleri……	13
Şekil 2.7.	Yara örtüsü örnekleri (C.E.I. Technology INC.)....……....…….	14
Şekil 2.8.	Yara üzerine uygulanan bazı yara örtüleri……	16
Şekil 2.9.	Nanolif, virüs, PM 2.5 parçacık, saç teli ve polen karşılaştırması (Bioinicia sayfasından değiştirilerek alınmıştır)……..	17
Şekil 2.10.	Nanolif yapıların özellikleri…….	18
Şekil 2.11.	Lif çekme tekniğinin şematik gösterimi……...	23
Şekil 2.12.	Faz ayrımı tekniğinin şematik gösterimi……..	24
Şekil 2.13.	Dondurarak kurutma tekniği şematik gösterimi……	25
Şekil 2.14.	Temel bir elektro çekim cihazının gösterimi……	25
Şekil 2.15.	Taylor konisinin oluşumunun görünümü…….	27
Şekil 2.16.	Farklı konsantrasyonlarda polyimid nanoliflerin SEM görüntüleri a) %10, b) %15 c) %20 d) %25 (Kohse ve diğerleri, 2017)……..	29
Şekil 2.17.	Artan viskozite ile PEO nanoliflerinin SEM görüntüleri (Fong ve diğerleri, 1999)……	30
Şekil 2.18.	Farklı çözücülerde poliimid nanofiberlerinin SEM görüntüsü a) DMF, b) HFIP, c) ve d) DMSO (Kohse ve diğerleri, 2017)……..	32
Şekil 2.19.	Polikaprolakton kimyasal formül ($C_6H_{10}O_2$)n (Sigmaldrich, 440752)	35
Şekil 2.20.	ε-kaprolakton monomerine ısı ve katalizör uygulanarak halka açma polimerizasyonu ile üretilen lineer polimer, PCL (Wikimedia, 2022)	36
Şekil 2.21.	Flavonoid kimyasal yapısı (Vikipedi ‘Flavonoid’ 2021)……	38
Şekil 2.22.	Silymarin bitkisi ve özü (Madeinchina.com ‘Silymarin’)…….....	40
Şekil 2.23.	Silymarinin içindeki flavonoligant bileşiklerin formül şekilsel gösterimi (Drouet ve Hano, 2021)…….	42
Şekil 2.24.	Yara iyileşmesinin aşamaları. Yara iyileşmesi sırasındaki hücresel ve moleküler olaylar dört aşamada ilerler: hemostaz, inflamasyon, proliferasyon ve yeniden şekillenme…….	44
Şekil 2.25.	Hemostaz aşaması. Yaralanma anında fibrin pıhtısı geçici yara matrisini oluşturur ve trombositler onarım sürecini başlatan çoklu büyüme faktörlerini serbest bırakır……..……	45
Şekil 2.26.	İnflamasyon aşaması. Yaralanmayı takip eden bir gün içinde, yarayı çevreleyen damar duvarlarındaki endotel hücrelerine bağlanan (marjinasyon), şekil değiştiren ve hücre bağlantılarından geçen (diapedez) nötrofiller tarafından inflamatuar faz başlatılır ve yara bölgesine göç ederler (kemotaksis)……	46
Şekil 2.27.	Proliferasyon aşaması. Sabit doku monositleri aktive olur, yaralanma bölgesine hareket eder, bakterileri öldüren aktive edilmiş yara makrofajlarına dönüşür, proteazları serbest bırakır ve büyümefaktörlerini salgılar…….	48
Şekil 2.28.	Yeniden modelleme. Başlangıçtaki düzensiz yara dokusu, yavaş	

yavaş normal derinin organize ECM'sine daha çok benzeyen bir matris le değiştirilir…… 52
Şekil 2.29. İlaç konsantrasyonu dağılım eğrileri……. 55
Şekil 3.1. Deneyin şematik gösterimi…… 63
Şekil 3.2. Tez çalışmasında kullanılan elektro çekim cihazı……. 65
Şekil 3.3. Taramalı elektron mikroskobu (SEM)…….. 66
Şekil 3.4. FTIR spektrofotometre…….. 67
Şekil 3.5. Temas açısı ölçüm cihazı…….. 67
Şekil 3.6. Silymarinin UV-VIS spektrumu (pH 7,4 PBS çözelti içerisinde)…. 70
Şekil 3.7. Wistar albino sıçan…… 71
Şekil 3.8. Yara modeli oluşturulacak bölgenin tüylerinden arındırılması……. 72
Şekil 3.9. Hayvanların sırtlarında tam kat eksizyon yaraların oluşturulması… 72
Şekil 3.10. a) Oluşturulan yaraların üzerine uygulanan numuneler, b) operasyon sonrası yaralı bölgenin kapatılması……. 73
Şekil 4.1. Nanolif yüzeylerin SEM görüntüleri PCL, PCL/SM %5, PCL/SM %7,5, PCL/SM %10…… 77
Şekil 4.2. Nanolifli yüzeylerinin temas açısı ölçümleri %10PCL, %5SM/PCL %7,5 SM/PCL - %10 SM/PCL içeren nanolifli yüzeyler…… 78
Şekil 4.3. FTIR spektrumu sırasıyla saf Silymarin, katkısız PCL ve %5- %7,5- %10 PCL/SM nanolif yüzeyler…… 80
Şekil 4.4. Silymarin kalibrasyon grafiği…….. 81
Şekil 4.5. İlk 6 saat içinde PBS ortamına salıverilen Silymarin grafiği…… 82
Şekil 4.6. 144 saat boyunca PBS ortamına salıverilen Silymarin grafiği…… 83
Şekil 4.7. *in vivo* deneye ait yara kapanması görüntüleri…… 85
Şekil 4.8. Tam kat eksizyon yara modelinde yaraların zamana göre küçülmesi. Değerler 0. günde oluşturulan yaraların yüzey alanlarının günlere göre yüzde (%) olarak küçülmesini ortalama ± SEM olarak göstermektedir(n=8)*, %10 SM/PCL ile Ticari Ürün (Tegaderm) arasındaki anlamlılığı,#, Katkısız PCL ile %10 SM/PCL grubu arasındaki anlamlılığı ifade etmektedir (p<0,001). SM=Silymarin….. 86

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa

Çizelge 2.1. Metalik biyomalzemeler kullanım alanı…… 10
Çizelge 2.2. Seramik biyomalzemeler kullanım alanı……...… 12
Çizelge 2.3. Polimerik biyomalzemeler kullanım alanı…… 13
Çizelge 2.4. Konvansiyonel ve Kontrollü ilaç dağıtım sistemlerinin avantaj ve dezavantajları …….....…. 54
Çizelge 2.5. Kontrollü ilaç dağıtım sistemlerinin geliştirilmesinde kullanılan çeşitli polimerlerin listesi (Srivastava vd. 2015; Bawa vd. 2009)……. 61
Çizelge 3.1. Kullanılan sarf malzemeler……... 62
Çizelge 3.2. Elektro çekim üretim parametreleri…….. 66
Çizelge 3.3. Üretilen nanolif yüzeylerin ağırlık ve kalınlık değerleri……... 68
Çizelge 4.1. Hazırlanan çözeltilerin viskozite değerleri…… 75
Çizelge 4.2. Üretilen katkılı ve katkısız liflerin çapları…… 77
Çizelge 4.3. Nanolifli yüzeylerin özellikleri……. 79
Çizelge 4.4. Yaraların belirli günlerdeki yara küçülmesi yüzdeleri (%)…… 85

1. GİRİŞ

Biyomalzemeler, biyolojik sistemler ile etkileşime giren madde, yüzey veya yapılardır. Bir bilim dalı olarak biyomalzemelerin tarihi çok eski yıllara kadar dayanmaktadır. Maya kültürü, ilkel diş hekimliği malzemeleri, doğal kabuktan yapılmış protezleri daha sonrasında altın, gümüş, titanyum gibi malzemelerin vücudun farklı yerlerine dâhil edilerek tedavi ve destek amacıyla kullanımı takip etmiştir (Pramanik ve diğerleri, 2005). Biyomalzemeler doğada bulunabildikleri gibi biyomühendislikte ve özellikle rejeneratif tıpta, doku mühendisliğinde farklı amaçlarla sentezlenebilirler. Biyomalzeme bilimi tıp, biyoloji, kimya, doku mühendisliği ve malzeme bilimi unsurlarını kapsayan multidisipliner bir alandır. Biyomalzemeler, birçok şirketin yeni ürünlerin geliştirilmesine yatırım yapmasıyla birlikte, tarihi boyunca istikrarlı ve güçlü bir büyüme göstermektedir.

Biyomalzemelerin uygulama alanları genel olarak, metaller, seramikler, polimerler ve kompozit malzemeler olarak dört grup altında toplanır. Malzeme türü ne olursa olsun, kalp kapakçıkları, kalçalar, protezler, implantlar vb. gibi canlı dokunu yerine kullanıldıklarından biyouyumlu olmaları gerekir. Bununla birlikte, çoğu durumda biyomalzemenin, işlevlerini yerine getirdikten sonra organizmadan kaybolması için biyolojik olarak parçalanabilir veya biyolojik olarak emilebilir olması istenir. Modern çağda biyomalzemeler, ilaç dağıtım sistemlerinde çok popülerdir. İlaç dağıtım sistemlerinde kapsüller, nanokompozitler, hedefe yönelik ilaç taşımada mikroküreler şeklinde ve rejeneratif tıpta belirli dokuların büyümesini destekleyen iskele biyofabrikasyonlarında yaygın olarak geliştirilir ve kullanılırlar (Pavlovic, 2015).

Hastalık, travma ya da cerrahi bir müdahale sonucunda, epitel dokunun bütünlüğünün bozulması yara olarak tanımlanmaktadır. Epitel dokunun bozulması, dermis, bağ doku ve kas gibi epitel altı dokularda oluşabilmektedir. Fiziksel travma ile derinin yırtılması, kesilmesi, delinmesi ile oluşan açık yaralar olabileceği gibi; bir kuvvet darbesi sonucunda deride meydana gelen ezilmeler de yara olarak nitelendirilebilmektedir. Yara bakımı ve iyileşmesinde, farklı medikal uygulamalar geliştirilmiştir. Bu uygulamalar; yaralı bölgenin hijyeninin sağlanması, korunması, kanamanın durdurulması veya geciktirilmesi

gibi yara bakımı ve iyileşmesi ile ilgili gereksinimleri karşılamak üzere geliştirilmiştir (Rajendran, 2018).

Geçmişten günümüze, yara örtüsünün kullanımında farklı yaklaşımlar bulunmaktadır. Geleneksel yaklaşımlarda, yara örtüsü olarak doğal ve sentetik bandajlar, hidrofil pamuk, sargı bezi ve gazlı bez gibi yara örtüleri tercih edilmektedir. Bu yara örtülerindeki beklenti; yaralı bölgede oluşan sıvının buharlaşmasına izin vererek, yaranın kurumasını ve bakteri üremesini önlemektir. Modern yara örtüsü yaklaşımında ise; yara çevresinin ılık ve nemli bir ortama sahip olmasının, yara iyileşmesine olumlu etki edeceği yönündedir. Geliştirilmekte olan yara örtüleri, yara bölgesini nemli tutarak hücrelerin çoğalmasına yardımcı olmaktadır. Bu amaçla, hidroklorik, alginat, poliüretan köpük, hidrojel ve polikaprolakton (PCL) nanolifli yüzeyler gibi birçok ürün geliştirilmiştir. Bu örtüler yaralı bölgede, iyileşmede aktif rol alan endojen moleküllerin etkinliğini ve anjiyogenezi (yeni damar oluşumu) hızlandırmaktadır.

Nanolifler, genellikle bir mikrondan daha düşük çapa sahip olan lifler olarak tanımlanmaktadır. Nanolifler geniş yüzey alanına sahip, yüksek gözeneklilik, esneklik ve hafiflik sağlamaları, yüksek mekanik özellikleri sebebiyle birçok alanda kullanılmaktadırlar.

Nanolif üretim yöntemlerinden biri elektro çekim yöntemidir. Elektro çekim işleminde bir şırıngaya takılı iğnenin ucunda asılı olan polimer çözelti damlasına elektrik akımı uygulanır. Uygulanan elektriksel akım, damlaya, Taylor konisi şeklini aldırır. Artan elektrik alan gücüyle damla yüzeyindeki yük artar ve elektrostatik kuvvetin çözeltinin yüzey gerilimini yendiği kritik bir noktaya ulaşır. Bu kritik voltaj değeri aşıldığında elektriksel kuvvet baskın hale gelir ve koninin ucundan yüklü polimer jeti fışkırır. Jet toplayıcıya doğru hareket ederken, elektrostatik etkileşimler ile uzar, bu sırada çözücü buharlaşır ve nanolifler toplayıcı üzerinde oluşur (Katti ve diğerleri 2004).

Silymarin, Asteraceae familyasına ait "*Silybum marianum*" bitkisinin tohumlarından elde edilen bir flavonoiddir. Bitki özütünün ana bileşeni olan flavonoidler, antioksidan ve serbest radikal temizleyici görevi görürler. Silymarin güçlü antioksidan, antienflamatuar

ve antikanser aktivitelerine sahiptir. Ayrıca cildi korumak için ksenobiyotikler ve ultraviyole radyasyonun neden olduğu birçok moleküler değişikliği modüle eder. Silymarin serbest radikalleri temizleyerek, lipid peroksidasyonunu önler ve antioksidan genlerin ekspresyonunu arttırarak birçok deneysel modelde ROS (Reaktif oksijen türevleri) tarafında üretilen oksidatif strese karşı koruyucu etki gösterdiği bulunmuştur (Tabandeh ve diğerleri, 2013; Toklu ve diğerleri, 2007)

Literatürde çeşitli doğal ve sentetik polimerlerin kullanılarak nanolifli yara yeri örtüsü üretimine ilişkin bazı çalışmalar yer almaktadır. Bu yara örtülerine çeşitli sentetik yöntemlerle üretilmiş ilaçlar, vitaminler eklenerek yara iyileşme süreçlerinin sağlıklı ve hızlı olması amaçlanmaktadır.

Yapılan çalışmalar Silymarinin antioksidan özelliğini ve yara iyileşmesi üzerine etkili olabileceğini göstermiştir. Fakat elektro çekim yöntemiyle Silymarin katkılı nanolif yüzeyler üretilerek, yara örtüsü olarak kullanım performanslarına dair herhangi bir çalışma yapılmamıştır. Bu tez çalışması ile multifonksiyonel bir yara örtüsü üretilerek yara iyileşmesi üzerine olan etkisine bakılmıştır. Yara iyileşmesini hızlandırmak ve tedaviyi kolaylaştırmak amacıyla yapıya Silymarin eklenmiştir. Silymarin'in antioksidan, antienflamatuar, antifibrotik ve rejenerasyon gibi özelliklerinden yararlanılmıştır. Ayrıca Silymarin'in yara iyileşmesi sürecinde glikozaminoglikan (GAG) ve kollegen gibi ekstrasellüler matriks proteinlerinin üretimini arttırarak yara iyileşme sürecini hızlandırdığı yapılan çeşitli çalışmalar ile bulunmuştur

Silymarin'in yara bölgesinde epitelizasyonu arttırıp, enflamasyonun azaltarak iyileşmeyi sağlayacağını düşünmekteyiz. Literatürde ilk defa yapılmış olması nedeniyle özgün değere sahip olan bu çalışma, Silymarin katkılı nanolif yapıda yara örtülerinin, yara iyileşmesi üzerine olan etkinliğini ve tedavi potansiyelini ortaya koymaktadır.

2. KURAMSAL TEMELLER ve KAYNAK ARAŞTIRMASI

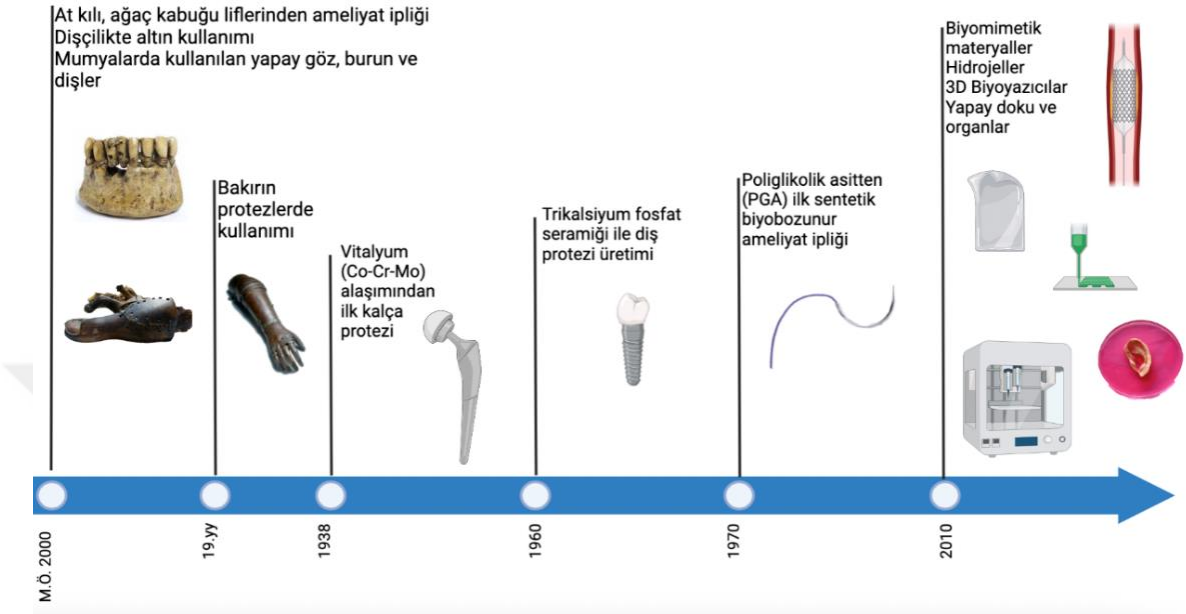
2.1 Biyomalzemeler

Biyomalzemeler, insan vücudundaki canlı dokuların işlevlerini yerine getirmek, desteklemek veya tedavi etmek amacıyla kullanılan, sürekli veya belli aralıklarda vücut akışkanları ile (örneğin kan) temas eden doğal ya da sentetik malzemelerdir. Biyomalzemeler, sadece protez ve implant olarak değil, ekstrakorporeal cihazlarda (vücut dışına yerleştirilen fakat vücutla etkileşim halindeki cihazlar), teşhis kitlerinde de yaygın olarak kullanılmaktadır (Williams, 2011).

2.1.1. Biyomalzemelerin tarihsel gelişimi

Bilimsel anlamda yeni yeni gelişmekte olan bir alan olmasına rağmen biyomalzemelerin tarihi çok eski yıllara kadar dayanmaktadır. Mısır mumyalarında görülen yapay göz, burun ve dişler biyomalzemelerin tarihteki uygulamalarına ilk kanıtları oluşturmaktadır. At kılı, pamuk, deri şeritleri ve ağaç kabuğu lifleri yaraların iyileştirilmesi için ameliyat ipliği olarak kullanılmıştır. Ayrıca altının diş hekimliğindeki uygulaması, 2000 yıl öncesine kadar uzanmaktadır. Bakır iyonunun vücudu zehirleyici etkisi bulunmasına rağmen 19. yüzyıl ortalarına kadar daha uygun bir malzeme bulunamadığından bu protezlerin kullanımına devam edilmiştir. 19. yüzyıl ortasından itibaren de yabancı malzemelerin biyomalzeme olarak vücut içerisinde kullanımında ciddi ilerlemeler kaydedilmiştir. 1938’ de Vitalyum (Co-Cr-Mo) alaşımından ilk metal tam kalça protezi üretilmiştir. 1960’lara kadar kullanılan bu protezler metal korozyona uğradığından ciddi tehlikeler yaratmıştır. Seramiklerin sentetik kemik uygulamalarında kullanılmasına yönelik araştırmalar 1960’ların sonlarında artmaya başlamış ve ilk kez trikalsiyum fosfat seramiği ile diş protezleri üretilmiştir. 1970’lerde ilk sentetik biyobozunur ameliyat ipliği, Poliglikolik asitten (PGA) üretilmiş ve son 50 yılda ise birçok metal, seramik ve polimer vücudun değişik parçalarını onarımı ve yenilenmesi için birçok biyomalzeme kullanılmaya başlamıştır (Şekil 2.1).

Biyomalzeme alanının gelişimi ile birlikte doku mühendisliği ve organ yenilenmesinin ortaya çıkışı günümüzde yapılan çalışmaların ilgi odağı olmuştur (Marin ve diğerleri, 2020).



Şekil 2.1. Biyomalzemelerin tarihsel gelişimi

Biyomalzemelerin temel özelliklerine bakacak olursak;

- Fiziksel özelliklerini korumalı,
- Kanserojen olmamalı,
- Toksik olmamalı,
- Alerjik olmamalı,
- Uzun ömürlü olmalı,
- Vücutta meydana gelen reaksiyonların dışında reaksiyonlara sebep olmamalı,
- Korozyona uğramamalı,
- Kullanım ömrü boyunca fonksiyonelliğini yitirmemeli,
- Steril edilebilir olmalı şeklinde sıralayabiliriz.

Biyomalzemeler, vücuda yerleştirildiklerinde dokuların gelişimine engel olmamalı ve istenmeyen olumsuz tepkiler oluşturmamalıdır (Çırak ve Yakıncı, 2020).

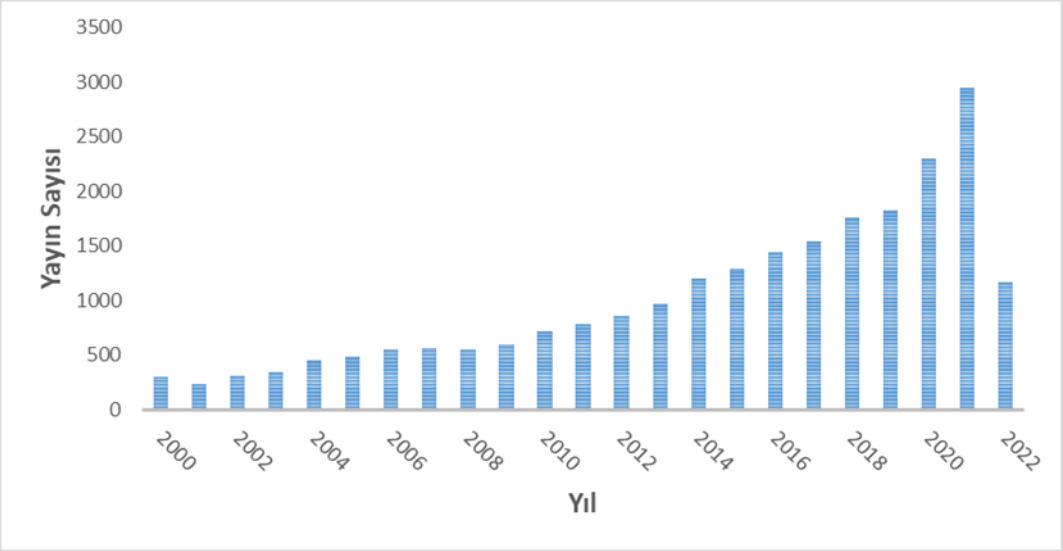
Biyouyumluluk; bir biyomalzemenin vücut dokularına fiziksel, kimyasal, biyolojik uyumu ve vücudun mekanik davranışına sağladığı optimum uyumdur (Gümüşderelioğlu, 2002). Kullanılan biyomalzemelerin yerleştirildikleri fizyolojik ortam tarafından kabul edilmeleri gerekir. Kendilerini çevreleyen dokuların normal değişimlerine engel olmayan ve dokuda istenmeyen tepkiler (iltihaplanma, pıhtı oluşumu v.b.) oluşturmayan malzemelerdir. Biyouyumluluk, kullanılacak malzemenin türüne, yaşayan yapının neresinde ve ne kadar süreyle kullanılacağına göre değişmektedir. Kullanılan biyomalzemeler, yapının özelliklerine, hareketinin esnekliğine ve kullanım yerine bağlı olarak etrafındaki dokulardan sürekli tepki alırlar.

Biyouyumluluk terimi, biyomalzemenin yapısal ve yüzey uyumluluğunu olarak iki şekilde tanımlanmaktadır. Yüzey uyumluluğu, bir biyomalzemenin vücut dokularına fiziksel, kimyasal ve biyolojik olarak uygun olmasıdır. Yapısal uyumluluk ise, biyomalzemenin vücut dokularının mekanik davranışlarına gösterdiği uyumdur (Gümüşderelioğlu, 2002). Biyomalzemelerin genel kullanım alanları aşağıda ki gibi gruplandırılabilir;

1. Hastalıklı veya hasar görmüş kısımların yerine kullanmak (diyaliz, protezler vb.),
2. İyileşmeye yardımcı olmak (ameliyat ipliği, vida ve tel olarak),
3. Fonksiyonelliği artırmak için (lens, kalp pili, işitme cihazı vb.),
4. Kozmetik problemleri düzeltmek için (diş teli, deri implantasyonu, silikon vb.),
5. Tedaviye yardımcı olmak için (kateter, direnaj vb.),
6. Teşhise yardımcı olmak için (biyoalgılayıcılar, endoskopi, enjektör vb.),
7. Fonksiyon bozukluklarını düzeltmek için (omurga fiksatörleri vb.) biyomalzemeler kullanılmaktadır (Güven, 2014).

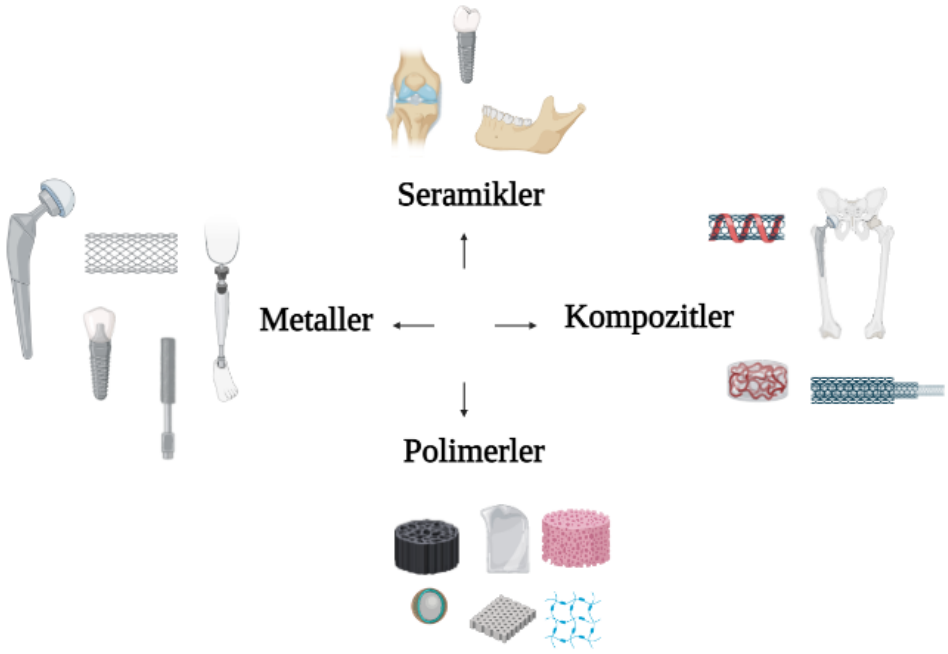
İlaç dağıtım depoları, doku mühendisliği yapı iskeleleri, görüntüleme/teşhis sistemleri ve cihaz kaplamaları gibi alanlarda biyomalzemeler yaygın olarak kullanılmıştır. İmplantasyon, kan damarı enjeksiyonu, deri uygulaması veya mevcut analiz için vücut bileşenlerinin çıkarılması dahil olmak üzere biyomateryallerin vücutta kullanılabileceği çeşitli yollar vardır (Li ve Mooney, 2016).

Malzeme türleri açısından, metalik ve seramik malzemeler geleneksel olarak biyomateryal olarak kullanılmaktadır ve ağırlıklı olarak implantlarda bulunmaktadırlar. Etkileyici mekanik mukavemeti nedeniyle bu alanlarda metaller daha çok kullanılmıştır (Hermawan ve diğerleri, 2011). Kemik gelişimini ve yenilenmesini teşvik etme kapasitesi nedeniyle seramikler ilgi çekicidir ve diş implantları olarak yaygın olarak kullanılmaktadır (Koons ve diğerleri, 2020). Bununla birlikte, son zamanlarda, polimerik biyomalzemeler, şekil kalıplanabilirliklerinden dolayı hızlı bir büyüme bulmuştur. Ayrıca, eklemeli imalat ve yüksek çözünürlüklü uzaysal modellemenin gelişmesi, son yıllarda biyomalzeme araştırmalarına ekstra bir boyut kazandırmıştır (Şekil 2.2) (Zhang ve diğerleri, 2020; González-Henríquez ve diğerleri, 2019).



Şekil 2.2. Yıllara göre Biyomalzeme alanında yayınlanan çalışmalar (PubMed.gov)

Biyomalzemeler metaller, seramikler, polimerler ve kompozitler olarak 4 ana gruba ayrılırlar (Şekil 2.3).



Şekil 2.3. Biyomalzemelerin sınıflandırılması

2.1.2. Metalik biyomalzemeler

Metalik biyomalzemeler, yüksek mukavemet, aşınmaya karşı direnç, kolay şekil verilebilirlik, kristal yapı ve sahip oldukları güçlü metalik bağlar, daha iyi termal, elektriksel ve mekanik yetenekler, vücutta durağanlık ve yapısal işlevleri yerine getirme yeteneği gibi tipik özellikler gösterir. Bu avantajların yanı sıra, düşük biyouyumluluk, korozyona uğrama, dokulara göre yüksek sertlikte olmaları, yüksek yoğunluk ve alerjik reaksiyonlara sebep olma gibi dezavantajları vardır.

Genellikle ortopedik uygulamalarda, yüz-çene cerrahisinde, diş implantında, kalp-damar cerrahisinde kateter, vana ve kalp kapakçığı olarak kullanılmaktadırlar. Diğer yandan, teşhis ve tedavi amaçlı kullanılan cihazların üretiminde de metalik malzemeler kullanılmaktadır. Paslanmaz çelik genellikle en sık kullanılan implanttır, çünkü mükemmel bir yüzey elde etmek için geleneksel sterilizasyon işlemleriyle kullanımı ve sterilize edilmesi kolaydır (Niinomi, 2008). Kobalt krom alaşımları, protezlerde ve aşınmaya dirençli implantlar olarak kullanılır (Çizelge 2.1) (Hermawan ve diğerleri, 2011).

Biyolojik olarak parçalanabilen metalik biyomalzemeler ortopedik implantların ve kardiyovasküler stentlerin üretilebileceğini göstermiştir (Şekil 2.4) (Han ve diğerleri, 2019). Metalik biyomalzemelerde, ana konulardan biri, sert doku ile karşılaştırılabilir mekanik özelliklere sahip metaller geliştirmektir (Niinomi, 2018). Alaşım katkılama genellikle metallerin özelliklerini değiştirmek için kullanılır, ancak çok çeşitli potansiyel alaşım bileşimleri, metallerin istenen özelliklere sahip tasarımını zorlu bir problem haline getirir.



Şekil 2.4. Metalik biyomalzeme örnekleri

İmplantların insan organizmasındaki hizmet ömürlerini anlamada temel değişkenlerden biri, metalik biyomalzemeler için yorulma nitelikleridir.

Çeşitli metal biyomalzemelerde, stres korozyon çatlağı, metal implantların uzun vadeli ömrünü azaltan bir problem olmuştur. Sertlik uyumsuzluğunu ve stres korumasını en aza indirmek için metalik malzemelerin kemik implantları olarak kullanımı için insan kemiğine benzer düşük modüllü malzemelere sahip olmak hayati önem taşır. Yüksek sertlikteki alaşımlar genellikle kalça, eklem ve diz implantları için çok önemli olan uzun hizmet ömrüne karşı güçlü bir aşınma direncine sahiptir.

Çizelge 2.1. Metalik biyomalzemeler kullanım alanı

Metalik Biyomalzemeler	Kullanım Alanı
Çelikler (Paslanmaz çelikler 316L)	Ortopedik implantlar (Niinomi, 2008).
Kobalt ve alaşımları (Co-Cr-Mo)	Protezler ve aşınmaya dirençli implantlar (Hermawan ve diğerleri, 2011)
Amalgam	Dental dolgu uygulamalar (Bharti ve diğerleri, 2010)
Altın	Dental uygulamalar (Bayne ve diğerleri, 2019)
Nikel (Şekil hafızalı)	Diş köprüleri ve telleri, stentler ve ortopedik protezler (Mantovani, 2000; Qader ve diğerleri, 2019).
Titanyum ve alaşımları	Medikal ve dental uygulamalar (He ve diğerleri, 2003).
Platin, Tantal ve Zirkon	Mekanik dayanımlarının düşük olması nedeniyle implant olarak kullanım alanları sınırlıdır.

2.1.3. Seramik biyomalzemeler

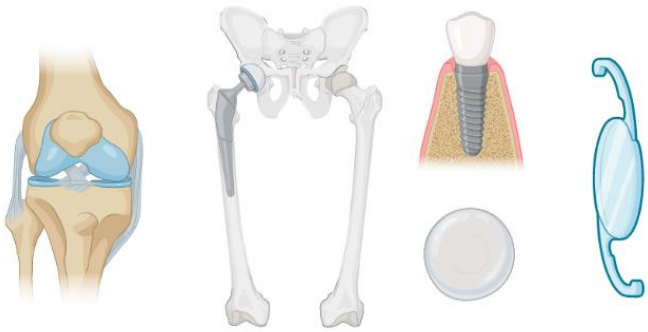
Uzun yıllar boyunca, seramik malzemeler, doğal kalsiyum fosfat esaslı seramik malzemelerin kullanımı yoluyla ağrıyı gidermek ve kireçlenmiş dokunun (kemikler ve dişler) işlevini eski haline getirmek için kullanılmıştır (Bobbio, 1972). Seramik malzemeler, stabil fizikokimyasal özellikleri, biyouyumlu ve osteokondüktif olmaları nedeniyle yapay eklemler veya diş implantları için sıklıkla kullanılır. Kemiği yeniden oluşturmak için biyocam (Hench, 1971) kalça endoprotezleri femoral toplar için alümina kullanılması (Boutin, 1972) ve sentetik hidroksiapatit (HA) ve trikalsiyumfosfat (β-TCP)'nin etkin kullanımında bazı öncü çabalar gibi seramiklerin dental ve tıbbi uygulamalarında önemli ilerleme kaydedilmiştir (Şekil 2.5) (Metsger ve diğerleri, 1982; LeGeros, 1988).

Seramikler, biyoinert, biyoaktif ve biyobozunur olarak üç sınıfa ayrılabilirler. Biyoinert; malzeme ve doku arasındaki etkileşim hızı son derece yavaş olduğu için herhangi bir kimyasal reaksiyon olmamakta ve bu durumda malzemeye inertlik kazandırmaktadır.

Seramiklerin biyomalzeme olarak kullanılma ve biyouyumlu olmalarının sebebi vücut içinde bulunan (Ca, K, Na vb.) iyonları ve vücut için çok az toksik olan (Zr, Ti) iyonlarını içermeleridir. Örnek olarak Alümina, Zirkonya, Karbon seramikler verilebilir.

Biyoaktif seramikler; kemik ile etkileşime girdiklerinde bağlanma gerçekleştirebilen seramiklerdir. Bunlar biyoaktif cam, hidroksiapatit ve kalsiyum fosfatlardır. Biyobozunur seramikler; zamana bağlı olarak bozunur ve doku ile yer değiştirirler, Kalsiyum fosfat seramikler ve Trikalsiyum fosfat örnek olarak verilebilir.

Alümina ve zirkonya gibi biyoseramikler, fiziksel ve mekanik özelliklerini uzun süre koruyarak biyoinert olabilirler. Kemik oluşumu biyocam, ortofosfat kalsiyum ve hidroksiapatit gibi biyoseramiklerle de aktif olarak desteklenebilir. Restorasyon, replasman ve ogmentasyon için otojen kemiğe alternatif seçenekler olarak çeşitli şekil ve formlarda birçok sentetik biyoseramik materyal oluşturulmuştur (Çizelge 2.2).



Şekil 2.5. Seramik biyomalzeme örnekleri

Yüksek mukavemet ve sertliğe sahip seramikler, kullanımları sırasında aşınmayı azaltabilir. Yüksek entropili seramikler, eşmolar oranlarda birleştirilen birkaç metal katyon türünden oluşur ve potansiyel olarak yüksek sertlikte malzemeler ve korozyona dayanıklı kaplamalar oluşturabilirler (Oses ve diğerleri, 2020).

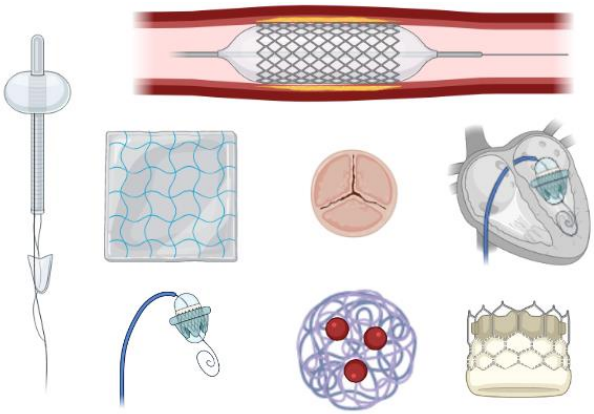
Çizelge 2.2. Seramik biyomalzemeler kullanım alanı

Seramik Biyomalzemeler	Kullanım Alanı
Alümina	Ortopedik uygulamalarda (Pasinli, 2004)
Zirkonya	Uyluk kemiği protezlerinde (Chevalier, 2006).
Kalsiyum-fosfat (Ca-P) seramikler	Kalça ve diz protezlerinde kemik tozu olarak (Pasinli, 2004)
Hidroksiapatit	Oküler implantlarda (Jordan ve diğerleri, 2000)
Biyoaktif cam	Diş hekimliği uygulamalarında (Skallevold ve diğerleri, 2019)

2.1.4. Polimerik biyomalzemeler

Polimerler, metaller ve seramiklerde benzeri olmayan uyarlanabilirlikleri nedeniyle biyomalzemeler olarak çokça kullanılmaktadır (Nair ve Laurencin, 2007; Tian ve diğerleri, 2012). Polimerler, monomerlerin birbirlerine eklenmesiyle oluşan uzun zincirli büyük molekül ağırlıklı bileşiklerdir. Doğal polimerler ve sentetik polimerler olarak ikiye ayrılırlar. Polimerlerin çok çeşitli fiziksel ve kimyasal özellikleri, doku mühendisliği ve ilaçlar/genler için dağıtım araçları gibi sayısız uygulamayı mümkün kılmıştır (Khademhosseini ve Langer, 2016; Fenton ve diğerleri, 2018; Riley ve ark. 2019; Zhao ve diğerleri, 2021).

Tıbbi polimerlerin tek başına pazar büyüklüğünün 1 milyar dolar civarında olduğu tahmin edilmektedir. Polimerler orijinal olarak plastikler, elastomerler ve lifler olarak biyomateryal olmayan uygulamalar için tasarlanmıştır. Polimerlerden; lif, film, jel, boncuk, nanopartikül gibi bileşenler hazırlanabilir. Bu bileşenler, uygulamalarda biyomateryal olarak geniş kullanım alanına sahiptir (Şekil 2.6). Bununla birlikte, belirli amaçlar için biyomalzemeler olarak polimerler üzerinde muazzam tasarım, sentez ve değerlendirme çalışmaları yapılmış ve biyomalzeme olarak polimerlerin araştırılmasında çeşitli kriterler kullanılmıştır (Çizelge 2.3).



Şekil 2.6. Polimerik biyomalzeme örenkleri

Polimerler, doku mühendisliği iskeleleri olarak dokular ve organlara ikameler geliştirmek için kullanılabilmektedir (Lin ve diğerleri, 2021). İskele polimeri geliştirmek için hücresel tepkiyi ve polimerik özelliklerle olan ilişkiyi anlamak son derece önemlidir (Cai ve diğerleri, 2018; Guo ve diğerleri, 2017; Loh ve diğerleri, 2009). İskeleler için bu polimerler geliştirilirken yüzey ıslanabilirliği, yüzey kimyası, topografya ve mekanik özellikler gibi faktörlerin hesaba katılması gerekir.

Çizelge 2.3. Polimerik biyomalzemeler kullanım alanı

Polimerik Biyomalzemeler	**Kullanım Alanı**
Polietilen (PE)	Diz artroplastisi (Wilhelm ve diğerleri, 2018)
Poliüretan (PU)	Kalp damar uygulamalarında (Liu ve diğerleri, 2019)
Polimetilmetakrilat (PMMA)	Kemik dolgu materyali (Szabelsk ve diğerleri, 2021)
Polietilenteraftalat (PET)	Vasküler greft (Tanaka ve diğerleri, 2020)
Polilaktik asit (PLA)	Bağ doku, tendon yapıları, vasküler ve ürolojik cerrahi için olan stentler (Auras ve diğerleri, 2011)
Poliglikolik asit (PGA)	Cerrahi sütür (Bentley ve diğerleri, 1978)
Polikaprolakton (PCL)	Yara örtü malzemesi (Shin ve diğerleri, 2019)

2.1.5. Kompozit biyomalzemeler

Kompozitler, iki veya daha fazla farklı kimyasal yapıdaki malzemenin, özelliklerini koruyarak oluşturduğu yeni çok fazlı malzemelerdir. Pek çok çeşitli polimerin, çoğunlukla cam, karbon, toz seramikler ya da farklı polimerler ile bir arya getirilmesi ile oluşturulmaktadırlar.

Kompozit malzemeler genel olarak ortopedi, diş hekimliği ve yumuşak doku uygulamalarda kullanılmaktadırlar. En önemli avantajları yapısal uyumluluk, korozyon direnci, mekanik ve fizyolojik şartlara kolayca uyum sağlayabilmeleridir. Yapısal uyumlulukları hazırlandıkları bileşimin özelliklerine bağlı olarak değişmektedir (Güven, 2010).

2.2. Yara Örtüleri

Antik çağlardan beri yaraları tedavi etmek, kanamayı durdurmak, eksüdaları emmek ve iyileşmeyi desteklemek amacıyla birçok farklı malzeme kullanılmıştır (Valenta ve diğerleri, 2004). Geçmişte yara bakımı için değişik absorpsiyon kapasitesinde doğal ve sentetik bandajlar, hidrofil pamuk, sargı bezi ve gazlı bez gibi geleneksel yara örtüleri kullanılmaktaydı. Bu örtülerin öngörülen öncelikli işlevi yara eksüdasının buharlaşmasına olanak verecek şekilde yarayı kurutarak bakterilerin yara ortamında üremesini engellemektir (Zahedi ve diğerleri, 2010).



Şekil 2.7. Yara örtüsü örnekleri (C.E.I. Technology INC.)

Yapılan çalışmalar sonucunda, yaraların nemli, temiz ve sıcak bir ortamda iyileşmeye daha yatkın olduğu gösterilmiştir (Okan ve diğerleri, 2007). Nemli bir yara yatağı, büyüme faktörlerine ve çok sayıda hücre tipinin oluşumuna izin vererek yara kenarının kasılmasını kolaylaştıracaktır (Attinger ve diğerleri, 2006). Bu ortamı korumak için uygun pansumanların yapılması devreye girmektedir. Optimal bir pansuman seçmenin dört temel ilkesi vardır (Morin ve Tomaselli, 2007). Bir yaranın kuru olduğu ortaya çıkarsa, hidrasyona ihtiyacı olacaktır. Bir yara aşırı eksüda üretirse, sıvının emilmesi gerekir. Eğer bir yarada nekrotik doku veya kalıntı varsa, debridman gerekmektedir. Son olarak, bir yara enfekte ise uygun antibakteriyel ajanla tedavi edilmelidir. Bu yaklaşımlara göre, yara çevresindeki cilde koruma sağlaması, etkili bir bakteri bariyeri oluşturması, yara şekline uyması, uygulama ve çıkarma sırasında minimum ağrı oluşturması, toksik veya tahriş edici ekstrakte edilebilir maddeler içermemesi, partikülleri veya biyolojik olarak parçalanamayan lifleri yaraya salmama ve yarayı optimum sıcaklık ve pH'ta tutmak gibi bir yara örtüsünü seçerken önemli olan faktörler vardır.

İyileşme sürecinin aşamaları ve yara iyileşmesini etkileyen faktörler göz önüne alındığında, optimal bir yara örtüsünün bazı özelliklere sahip olması gerekir, bunlar (Sood ve diğerleri, 2014) ;

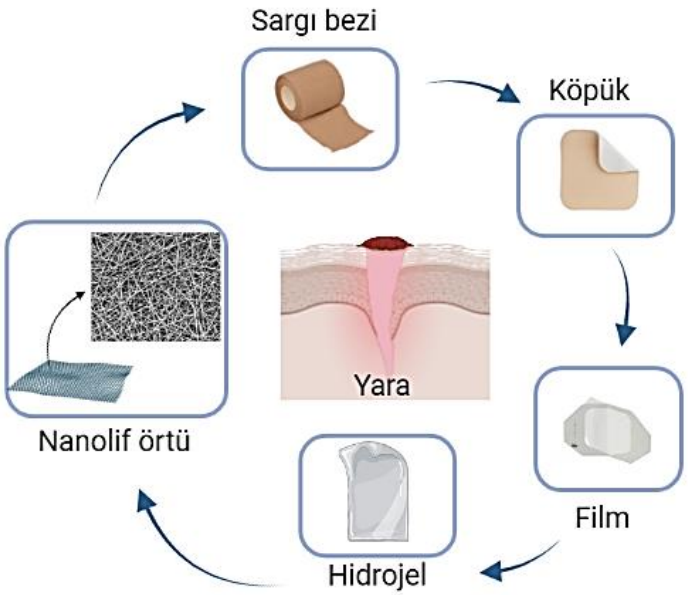
- Nemli, temiz, sıcak bir ortam yaratmak
- Sıvı kontrolü sağlamak
- Koku giderimi
- Aşırı eksudaları gidermek
- Kurumayı önleme ve travmatik etki yaratmamak
- Yara çevresindeki alana koruma sağlamak
- Gaz alışverişi sağlamak
- Mikroorganizmalara karşı bariyer görevi görmek
- Toksik veya tahriş edici parçacıklar içermemek
- Yara şekline uyum sağlayabilme
- Uygulama ve çıkarma sırasında minimum ağrı verici özellikte
- Kullanımı kolay
- Uygun maliyetli olmaları gerekir.

Yara örtüleri değişik şekillerde sınıflandırılmaktadırlar. Genel olarak, pasif örtüler, etkileşimli örtüler, gelişmiş ve biyoaktif yara örtüler olarak dört ana gruba ayrılmaktadır (Şekil 2.8) (Skórkowska ve diğerleri, 2013).

Pasif yara örtüleri; yarayı sadece kapatarak koruyan ve iyileşme sürecinde aktif bir etkisi olmayan ürünlerdir. Etkileşimli yara örtüleri; polimerik film ve köpükleri içeren, şeffaf görünümde, nem ve gazlara karşı geçirgen örtülerdir ve mikroorganizmalara karşı bariyer özelliği sergilemektedirler.

Gelişmiş yara örtüleri; hidrokolloidler, alginatlar gibi malzemelerden üretilmektedir. Yaralı bölgenin korunmasını ve nemli bir ortam oluşmasını sağlayarak, yara iyileşmesini destekleyen yara örtüleridir.

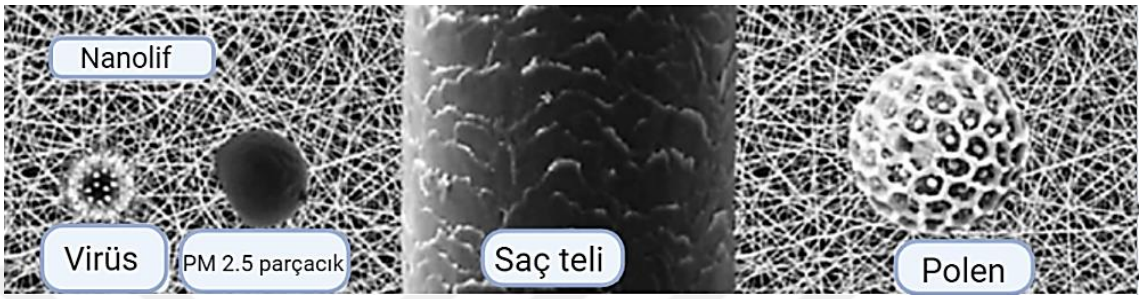
Son grup bioaktif yara örtüleri ise; hücresel reaksiyonların gerçekleşmesini ya da tetiklenmesini sağlayarak yara iyileşmesi sürecini destekleyen ilaç sistemlerini, dokusal hücreleri veya biyolojik esaslı aktif bileşenleri içeren yara örtüleridir (Boateng ve diğerleri, 2008).



Şekil 2.8. Yara üzerine uygulanan bazı yara örtüleri

2.2.1. Nanolifli yara örtüleri

Son zamanlarda fonksiyonel yara örtüsü oluşturmak amacıyla nanolifler kullanılmaktadır. Nanolifler, çapı 1 mikron (=10^3 nm)'den küçük olan çok boyutlu nanomalzemeler olarak tanımlanır (Şekil 2.9) (Morie ve diğerleri, 2014).



Şekil 2.9. Nanolif, virüs, PM 2.5 parçacık, saç teli ve polen karşılaştırması (Bioinicia sayfasından değiştirilerek alınmıştır)

İçinde bulunduğumuz dönemde, sağlık sistemlerindeki nanolif uygulamaları, çeşitli hastalıklara karşı ilaç ve hücrelerin dağıtım sistemi için bir araç olarak büyük ölçüde artmıştır (Chaudhary ve diğerleri, 2014). Nanoliflerin geniş yüzey alanı/hacim oranı, üstün sertlik ve ayrıca çekme mukavemeti ve yüzey işlevselliklerindeki esneklik gibi benzersiz fizikokimyasal özellikleri, biyoaktif moleküllerin vücutta uygun bölgeye etkili bir şekilde taşınmasında önemli bir rol oynamaktadır (Garg ve diğerleri, 2012). Nanolif iskele formülasyonlarının başlıca avantajları arasında, mükemmel stabilite, daha iyi hedefleme, minimum toksisite, yüksek ilaç yükleme kapasitesi, istisnai mekanik özellikler, çeşitli ilaç çeşitlerinin kapsüllenmesi ve ısıya duyarlı ilaçlar için uygun olması sayılabilir (Utreja ve diğerleri, 2010). Çok sayıda doğal (kollajen ve aljinat), sentetik (polikaprolakton (PCL), polivinilpirolidon (PVP) ve kompozit polimerler (doğal-doğal, doğal-sentetik ve sentetik-sentetik kombinasyonu) nanoliflerin üretimi için başarıyla kullanılmaktadır. Nanoliflerde aktif ve pasif ilaç yüklemeleri için adsorpsiyon ve daldırma olmak üzere iki önemli teknik kullanılmaktadır (Kaur ve diğerleri, 2014). Nanoliflerin üretimi için birkaç yöntem başarılı bir şekilde kullanılmış olmasına rağmen, elektro çekim tekniği, mikron/nanometre ölçeğinde ultra ince lifler veya lifli yapılar üretme kabiliyeti nedeniyle en yaygın şekilde kullanılmaktadır (Chen ve diğerleri, 2010).

Son zamanlarda nanolifler, doku mühendisliği, ilaç dağıtımı, kozmetik, filtre ortamı, koruyucu giysi, yara pansuman, homeostatik ve sensör cihazları gibi farklı alanlarda yaygın olarak kullanılmaktadır. Plazmid DNA, büyük protein ilaçları, genetik materyaller ve otolog kök hücrenin elektrospun nanofiberler aracılığıyla hedef bölgeye ulaştırılması için birtakım araştırmalar halen yürütülmektedir (Garg ve diğerleri, 2014).

2.2.2. Nanolifli yapıların özellikleri

Biyouyumluluk, biyolojik olarak bozunabilirlik, mükemmel mekanik özellik, kontrollü salıverilme modeli ve sterillik gibi benzersiz özellikleri, nanolifli yüzeylerin ana avantajlarıdır (Şekil 2.10). Ayrıca, nanolifli yüzeyler gözenekliliklerinden dolayı hücre yapışmasını destekler, bu nedenle doku rejenerasyonu ve doku mühendisliğinde yaygın olarak kullanılırlar (Garg ve diğerleri, 2014).



Şekil 2.10. Nanolif yapıların özellikleri

Nanolifleri diğer taşıyıcı sistemlerden ayıran bazı benzersiz ve önemli özellikleri aşağıda açıklanmıştır.

Biyouyumluluk

Biyouyumluluk, biyomalzemelerin olumsuz bir etki yaratmadan uygun konak yanıtı elde etme davranışı ile ilgilidir (Farhana ve ark. 2010). Nanolifli yüzey formülasyonları, vücut dokularının yanı sıra dâhil edilen maddelerlede mükemmel biyouyumluluk sergilemektedirler (Subramanian ve diğerleri, 2013).

Biyobozunma

Biyobozunma, bir maddenin bakteriler veya hormonlar, asitler ve vücut sıvıları gibi diğer biyolojik yollarla kimyasal olarak çözünmesidir (Girlich ve diğerleri, 2012). Nanolifler kabul edilebilir biyolojik bozunabilirlik profiline sahiptir ve bozunma ürünleri toksik olmayan yapıdadır. Ayrıca vücudun implantasyon bölgesinden kolayca elimine edilebilir veya çevre dokularla bütünleşebilirler (Fang ve diğerleri, 2014).

Gözeneklilik

Gözeneklilik, bir malzeme boşluk alanı derecesidir ve boşluk hacminin toplam hacme göre bir bölümüdür (Abdelkader ve diğerleri, 2012). Nanolifli yapılar, biyoaktif moleküller ile optimal etkileşime izin veren, açık ve birbirine bağlı gözenek yapısına sahiptir. Aynı zamanda yeterli bir gözenekliliğe, gözenek boyutu dağılımına ve gözenekler arası bağlantıya sahiptir, bu da hücre büyümesinin yanı sıra vaskülarizasyona da yardımcı olmaktadır (Mondal ve diğerleri, 2014).

Hedeflenebilirlik

Hedeflenebilirlik, formülasyon sisteminin önceden belirlenmiş bölgelerine ulaşma ve kapsüllenmiş maddelerini hedef bölgeye salma yeteneğidir (Maira ve diğerleri, 2012). Nanolifli yapılar, kapsüllenmiş maddelerini hedef bölgeye ulaştırma ve yan etkilerinden kaçınma konusunda mükemmel bir yeteneğe sahiptir. Hedef yetenekleri nedeniyle, kapsüllenmiş maddelerin dozu ve sıklığı önemli ölçüde azalmaktadır (Liu ve diğerleri, 2014).

Tutma ve yükleme verimliliği

Tutma etkinliği, bir taşıyıcı sisteme hapsedilen ilacın ağırlığının eklenen toplam ilaca oranıdır, yükleme verimliliği ise ilacın toplam taşıyıcı sistemin ağırlığına oranıdır (tüm

taşıyıcılar birlikte alındığında) (Parhi ve diğerleri, 2012). Nanolifler, ilacın vücuda yerleştirildikten sonra daha uzun bir süre boyunca sürekli olarak salınması için yükleme kapasitesinin yanı sıra maksimum hapsetme özelliğine de sahiptir (Yang ve diğerleri, 2013).

Toksisite

Toksisite, bir ilacın veya formülasyonun bir organizmaya zarar verebileceği veya organizmanın alt yapısına (hücreler ve organlar) etki edebileceği derecedir (Basile ve diğerleri, 2012). Nanoliflerin biyouyumlu yapısı, bozunması veya bozunma sonrası ortaya çıkan ürünler vücutta herhangi bir toksisite göstermezler (Szala ve diğerleri, 2014).

Bağlanma afinitesi

Bağlanma afinitesi, ilaç/hücre veya biyoaktif moleküllerin formülasyonlara ne kadar sıkı bağlandığı olarak tanımlanır (Bulmer ve diğerleri, 2012). Nanolif yüzeyli yapılar, vücuda yerleştirildikten sonra kapsüllenmiş maddenin sürekli olarak daha uzun süre serbest bırakılmasına veya hücrelerin gözenek yapılarında tutulmasına izin vermek için yeterli bağlanma afinitesine sahiptir (Zhao ve diğerleri, 2013).

Kararlılık

Kararlılık, formülasyonların farklı atmosferik koşullarda fiziksel, kimyasal ve biyolojik aktivitelerinin belirlenmesi olarak tanımlanır. Nanolifli yapılar, fizyolojik sıcaklıkta mükemmel stabilite gösterir ve aktiviteleri daha uzun süre korunur.

Sterilite

Sterilite, patojen mikroorganizmalardan arındırılmış olma durumudur. Nanolifli yüzeyler sterilize edilebilir ve sterilizasyon sonrası vücutta herhangi bir zararlı reaksiyona neden olmazlar (Garg ve diğerleri, 2012). Ultraviyole radyasyon (UVR), antimikrobiyal solüsyonlar (AMS) ve etanol nanoliflerin sterilizasyonu için başarıyla kullanılmaktadır. Ancak bu teknikler hazırlanan formülasyonların fiziko-kimyasal özelliklerini etkiler. Etanol, AMS ve UVR sırasıyla morfolojide, boyutlarda değişikliklere ve polimerik moleküler ağırlıkta azalmaya neden olmaktadır. AMS ile sterilize edilmiş nanolifler üstün hücresel yapışma göstermektedir (Braghirolli ve diğerleri, 2013).

Koruma yeteneği

Koruma yeteneği, kapsüllenmiş biyoaktif molekülleri aşırı atmosferik veya deneysel koşullardan koruyan formülasyonların yeteneğidir (Goyal ve diğerleri, 2013). Nanolifli yaoılar, kapsüllenmiş maddenin zararlı atmosferik koşullardan korunmasını sağlar ve terapötik aktivitesini daha uzun süre korurlar (Han ve diğerleri, 2011).

Esneklik

Esneklik, formülasyon sisteminin önemli özelliklerini etkileyen olası dâhili veya harici değişikliklere tepki verme yeteneğidir (Goyal ve diğerleri, 2013). Nanolifli yapılar, dış değişikliklere adapte olabilecek ve içsel özelliklerini koruyabilecek kadar esnekliğe sahiptir.

Uygulanabilirlik

Uygulanabilirlik, nanolif yapıların hedeflenen bölgeye etkili bir şekilde uygulanması anlamına gelir. Bu nanolif yapılar hedef bölgeye kolayca uygulanır ve orada uzun süre tutunabilirler. Biyolojik olarak parçalanabilen yapısı nedeniyle herhangi bir yan etki oluşturmadan uygulama alanından kolaylıkla elimine edilebilirler (Joshi ve diğerleri, 2014).

Ekonomik

Nanolif yapıların değeri, bir formül oluşturmak ve optimize etmek için malzeme maliyeti, bileşim ve teknik gereksinimleri içerir (Kataria ve diğerleri, 2014). Nanoliflerin üretimi için elektro çekim cihazının maliyeti yüksektir, ancak diğer masraflar diğer dağıtım sistemlerine kıyasla minimumdur.

İşlenebilirlik

Bir ürünün yapımında veya işlenmesinde gerçekleştirilen bir dizi işlemdir (Kaur ve diğerleri, 2014). Nanolif yüzeyler, önceden tanımlanmış özelliklere sahip elektro çekim tekniği ile kolayca üretilir. Bu teknik sayesinde herhangi bir uzman yardımı olmadan birkaç saat içinde nanolifler üretilebilmektedir.

Kontrollü salıverme davranışı

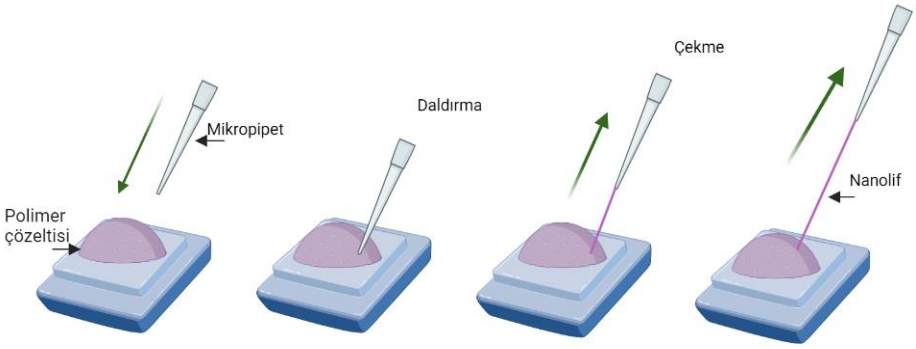
Kontrollü salıverme, uyaranlara veya zamana yanıt olarak bileşiklerin vücut içine performansını veya transferini ifade eden bir terimdir (Kaur ve diğerleri, 2014). Nanolifli yüzeyler, vücutta kontrollü ve sürekli salıverme davranışı göstermektedirler (Han ve Steckl 2013).

2.2.3. Nanolif üretim yöntemleri

Nanoliflerin kullanım alanlarının genişlemesi ile pek çok nanolifli yüzey üretim tekniği geliştirilmiştir. Elektro çekim, nanoliflerin üretimi için en yaygın olarak kullanılan tekniktir. Bunun yanı sıra, yıllar içinde çekim yöntemi (drawing), şablon sentezi (template synthesis), kendiliğinden düzenlenme (self-assembly) dondurarak kurutma (freze-drying), faz ayrımı (phase separation) gibi birçok teknik üzerinde çalışılmıştır (Alghoraibi ve Alomari, 2018). Nanolif üretim tekniklerinin çeşitliliğine rağmen, elektro çekim, basit, düşük maliyetli ve uygulanabilecek malzeme çeşitliliğinden dolayı yaygın olarak kullanılmaktadır.

Çekim Yöntemi (Drawing)

Bu yöntem, keskin bir uç veya bir mikropipet ile gerçekleştirilir (Şekil 2.11). Çekim yönteminde, bir polimer çözeltisine veya bir polimer eriyiğine mikropipet daldırılır ve ardından polimer çözelti-eriğinden geri çekilir. Ardından çözeltinin buharlaşması ile lifler katılaşır (Beachley ve Wen, 2010). Mikropipet damlacık içine daldırıldıktan sonra, yavaşça çekilir ve düşük bir hızda (yaklaşık 10^4 m/s) hareket ettirilir; sonuç olarak nanolifler mikropipetin ucuyla yüzeye çekilir ve biriktirilir. Bu işlem, her damlacıkta birden fazla tekrar edilerek nanolifler oluşturulur (Kumar, 2012). Bu yöntem kullanılarak herhangi bir düzenlemede nanolifler üretilebilir. Bunun yanında, çekme hızı ve viskozite gibi parametreler lif çapı üzerine etki etmektedir (Nayak ve diğerleri, 2011). Bu işlem, nanolifler tek tek oluşturulduğu için basit ancak laboratuvar ölçeğinde sınırlı ve süreksiz bir işlemdir ve boyutların kontrol edilmesi de zordur.



Şekil 2.11. Lif çekme tekniğinin şematik gösterimi

Şablon Sentezi (Template Synthesis)

Şablon sentezinde, çok sayıda gözenek içeren nanolifler üretilebilir. İstenen bir malzeme veya yapı elde etmek ve nanolifler üretmek için bir şablon (membran, kalıp) kullanımını ifade eder. Bu teknikte, polimer çözeltisine su basıncı uygulanarak polimer çözeltisi, nano ölçekteki gözeneklerden geçirilir ve katılaştırma çözeltisi içerisine ekstrüde edilir. Böylelikle nanolifler oluşturulur. Bu yöntemle uzun nanolifler üretilemez ve liflerin çapı membranın gözenek boyutu ile belirlenir (Zhang ve Lu, 2014). Bu yöntemin avantajı, çeşitli şablonlar kullanarak farklı çaplarda nanolifler üretebilmesidir.

Faz Ayrımı (Phase Seperation)

Bu yöntem dört temel adımdan oluşur:

– Oda sıcaklığında veya yüksek sıcaklıkta bir çözücü içinde polimerin çözünmesi.

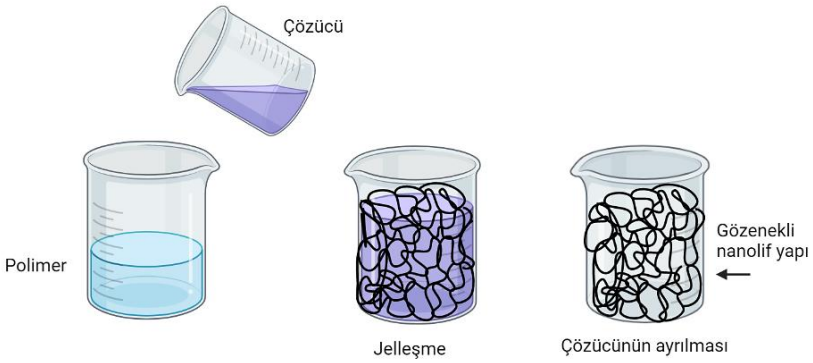
– Jelleşme

– Çözücünün jelden su ile ekstraksiyonu.

– Vakum altında dondurma ve dondurarak kurutma.

Polimer konsantrasyonu nanolif özelliklerini etkiler, polimer konsantrasyonu arttıkça lif gözenekliliği azalır ve lifin mekanik özellikleri iyileşir (Kumar, 2012). Bu işlemdeki ilk adım, homojen bir polimer çözeltisi oluşturularak, çözeltiden jelin elde edilmesi ardından çözücüyü çıkarmak ve kurutmaktır (Şekil 2.12). Bu matrisin mekanik özelliklerinin polimer konsantrasyonunun ayarlanmasıyla uyarlanabileceği bir nanofiber matrisi doğrudan üretebilir (Ramakrishna ve diğerleri, 2005) Şimdiye kadar, polilaktid (PLA) ve

poliglikolid (PGA) gibi sadece birkaç polimer, faz ayırma yöntemi kullanılarak nanolifler haline getirilmiştir (Zhang ve Lua, 2014).



Şekil 2.12. Faz ayrımı tekniğinin şematik gösterimi

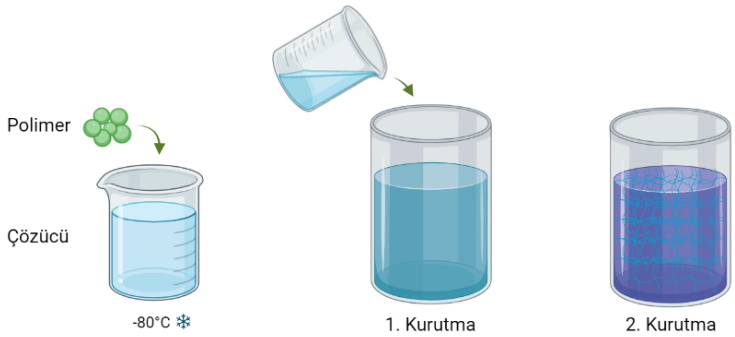
Kendiliğinden Düzenleme (Self-Assembly)

Kendiliğinden düzenleme tekniği, önceden var olan bileşenlere sahip düzensiz bir sistemin, bileşenleri arasında herhangi bir dış yön olmaksızın belirli, yerel etkileşimlerin bir sonucu olarak organize bir yapı veya model oluşturduğu bir süreç türüdür. Nanoparçacıkların kendiliğinden birleşmesi ve ardından mikro ve nano yapıların oluşumudur. Böyle bir mekanizma, hidrojen ve iyonik bağlar veya van der Waals ve hidrofobik etkileşimler gibi zayıf kovalent olmayan bağlara dayanır ve tüpler, çubuklar, miseller ve nanolifler gibi çeşitli karmaşık mikro ve nanoyapıları imal etmek için uygulanabilmektedir (Beachley ve Wen, 2010). Mekanizma, küçük moleküllerin bir araya getiren moleküller arası kuvvetlere dayanır.

Dondurarak Kurutma (Freeze Drying)

Dondurarak kurutma tekniği üç ana adımı içerir: ilk olarak çözelti düşük bir sıcaklıkta (-70 ila -80 °C) dondurulur, ve sonrasında birincil kurutma işlemi ile numunenin buzu uzaklaştırılır. Kısmi vakum yoluyla basınç birkaç milibara düşürülür ve azaltılmış basınç, suyun süblimleşmesine izin verir ve son olarak, ikincil bir kurutma işlemiyle kalan su uzaklaştırılır. Bu teknik nanolif imalatında artan bir ilgi görmektedir. Diğer tekniklerden farklı olarak kontrol edilebilir boyutlarda gözenekli yapılar üretilebilmektedir. Bu teknikte organik bir çözücü yerine su ve buz kristallerinin kullanılması, bu işlemi

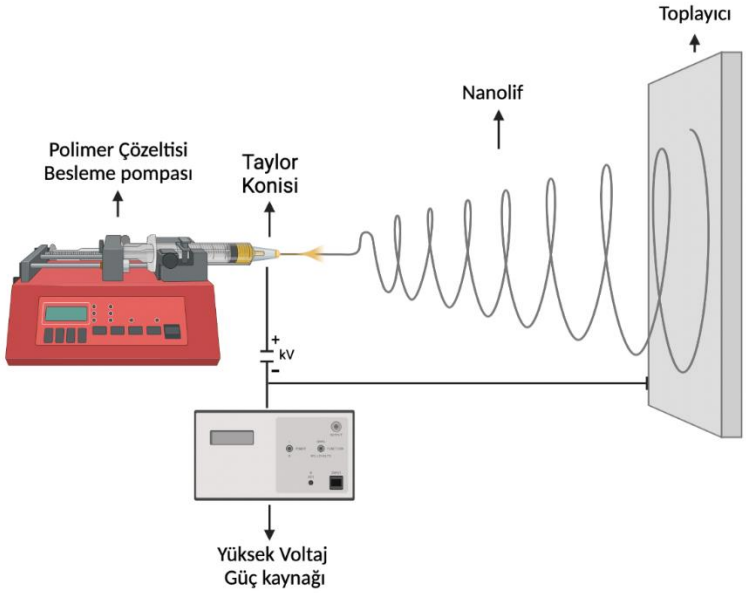
biyomedikal uygulamalar için daha uygun hale getirmektedir (Lu ve diğerleri, 2013; Stojanovska ve diğerleri, 2016).



Şekil 2.13. Dondurarak kurutma tekniği şematik gösterimi

2.3. Elektro Çekim Tekniği Prensibi

Elektro çekim işlemi, ultra ince ve sürekli lifler oluşturmak için çözelti, süspansiyon veya eriyiğin güçlü bir elektrik alanında yüksek voltaj ve çok düşük akım ile karakterize edilen bir elektrostatik potansiyel kullanılarak püskürtülmesidir. Temel bir elekro çekim cihazının ana bileşenleri arasında, yüksek voltaj bir güç kaynağı, bir şırınga pompası, bir düze ve iletken bir toplayıcı bulunur (Şekil 2.14).

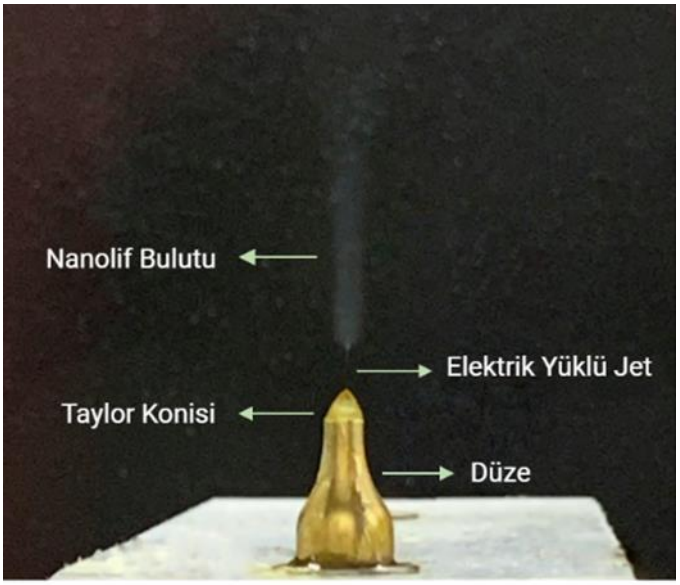


Şekil 2.14. Temel bir elektro çekim cihazının gösterimi

Genel işlem, bir polimer çözeltisi veya erimiş bir polimer kullanılarak gerçekleştirilir. Polimer, yüksek voltajın uygulandığı bir düzeden (genellikle bir şırınga iğnesi) pompalanmaktadır. Uygulanan voltaj, polimer sıvısında, normalde yüzey gerilimi tarafından oluşturulan bir küre olan asılı damlanın şeklini gerebilen bir yük hareketini indükler. Elektrostatik kuvvet çözeltinin yüzey gerilimine eşit olduğunda, damlacık yarım küre şeklinden Taylor konisi olarak adlandırılan koni şekline dönüşür (Taylor, 1969).

Elektrostatik kuvvet yüzey geriliminden büyük olduğunda, çözelti yüzey gerilimini yenebilir ve koninin ucundan jet(ler) başlar. Taylor konisinin oluşumunu indükleyen iki kuvvet, akış hızı ve uygulanan voltaj tarafından dolaylı olarak kontrol edilir. Bu nedenle, iki parametre arasındaki iyi bir denge, kararlı bir jet oluşumunu destekler. Polimer sıvısında yeterli kohezyon kuvveti varsa, Taylor konisinden kararlı bir jet püskürtülür, bu da polimer zincirlerinin birbirini germesine ve düzgün bir filament oluşturmasına izin verir (Şekil 2.15). İşleme, oluşan filamentin güçlü bir şekilde kırbaçlanmasına neden olan çözücünün buharlaşması gerçekleşir ve böylece sadece katı lifler kalır (Ding ve diğerleri, 2019). Nanolif birikimi, genellikle optimize edilmiş bir mesafeye yerleştirilmiş topraklanmış bir metalik toplayıcı üzerinde gerçekleşir (Barhoum ve diğerleri, 2019).

Hareketsiz toplayıcılarda nanolif birikimi toplayıcı üzerinde rastgele gerçekleşir. Bununla birlikte, bazı uygulama alanları, hizalanmış liflere sahip yapılandırılmış iskeleler gerektirir. Bu nedenle düzenli yapıların oluşturulması için çeşitli yaklaşımlar geliştirilmiştir. En basit strateji, dönen bir mandrel veya çark benzeri bir sallanan toplayıcının kullanılmasından oluşur. Bazı durumlarda, jetin bükülme kararsızlığı dönme yönü boyunca lifin toplanmasını bozar (Liu ve diğerleri, 2012). İğne ve toplayıcı arasındaki boşluktaki elektrik alanını manipüle edebilen yardımcı elektrotlar, bükülme kararsızlıklarını verimli bir şekilde azaltabilir ve liflerin hizalanmasını iyileştirebilir (Ding ve diğerleri, 2019; Xue ve diğerleri, 2019).



Şekil 2.15. Taylor konisinin oluşumunun görünümü

Genel olarak, elektro çekim işlemi birbirini takip eden dört aşamaya ayrılabilir:

1. Sıvı damlacığının yüklenmesi ve Taylor konisi oluşumu;
2. Yüklü jetin düz bir hat boyunca uzatılması (kararlı bölge);
3. Bir elektrik alan varlığında jetin incelmesi ve elektriksel bükülme kararsızlığının büyümesi (kamçı kararsızlığı);
4. Jetin topraklanmış bir toplayıcı üzerinde katı lif(ler) olarak toplanması. (Li ve Xia 2004; Liao ve diğerleri, 2018).

2.4. Elektro Çekim Tekniğine Etki Eden Parametreler

Basit proses ve geniş hammadde yelpazesinin avantajlarının yanı sıra, elektro çekim parametrelerini ayarlayarak nanoliflerin morfolojisi, yönü ve gözenek boyutu kontrol edilebilmektedir (Burger ve diğerleri, 2006). Elektro çekimi etkileyen pek çok parametre vardır. Bu parametreler, çözelti parametreleri, üretim parametreleri ve ortam-çevre parametreleri olarak sınıflandırılır (Thompson ve diğerleri, 2007). Çözelti parametreleri konsantrasyon, viskozite, moleküler ağırlık, iletkenlik, yüzey gerilimi ve çözücü tipini içerir. Üretim parametreleri, uygulanan voltajı, akış hızını ve jet cihazından toplama cihazına olan mesafeyi içermektedir. Ortam parametreleri ise sıcaklık ve nemi içerisine

alır. Parametreler uygun şekilde ayarlandığında istenilen çapta homojen ve boncuksuz nanolifler elde edilebilir.

2.4.1.Çözelti parametreleri

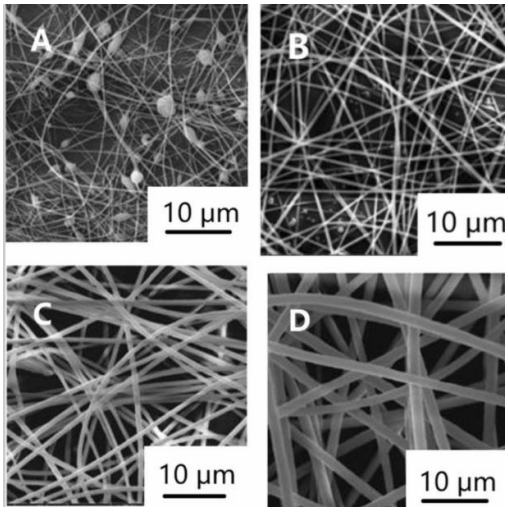
Konsantrasyon

Çözeltinin konsantrasyonu, nanoliflerin oluşumunda belirleyici bir rol oynar. Nanolif üertilebilmesi için optimum bir konsantrasyon değeri vardır. Çözelti konsantrasyonu bu değerden düşük olduğunda, düşük konsantrasyon ve yüksek yüzey gerilimi nedeniyle, elektrik alan kuvveti ile yüzey gerilimi arasındaki etkileşim, polimer jetinin toplayıcıya ulaşmadan dağılmasına neden olacaktır (Pillay ve diğerleri, 2013). Bu olay, liflerden ziyade birçok boncuk oluşumuna sebep olur (Topuz ve diğerleri, 2019).

Konsantrasyon ve viskozitedeki artışla birlikte, çözelti içerisindeki polimer zincir karışıklığı artar ve çözeltinin yüzey gerilimi azalır, bu da boncuksuz düzgün ve pürüzsüz nanoliflerin oluşumu ile sonuçlanır (Kriegel ve diğerleri, 2008).

Çözelti konsantrasyonu optimum konsantrasyondan daha yüksek olduğunda, çözeltinin düzeyi bloke etmesi kolaylaşır, bu da kalın ve düzensiz şerit şeklinde liflerin oluşumu ile sonuçlanır (Haider, ve diğerleri, 2013). Şekil 2.16'da gösterildiği gibi, konsantrasyondaki artışla nanolifler daha kalın hale gelir (Kohse ve diğerleri, 2017).

Bazı çalışmalar, belirli bir polimer konsantrasyonunda yardımcı çözücüler eklenerek çözelti viskozitesinin iyileştirilebileceğini göstermiştir. Konsantrasyonun artırılması genellikle nanoliflerin morfolojisini iyileştirebilir veya zor olan polimerlerin elektro çekim ile üretilmesini kolaylaştırabilir.



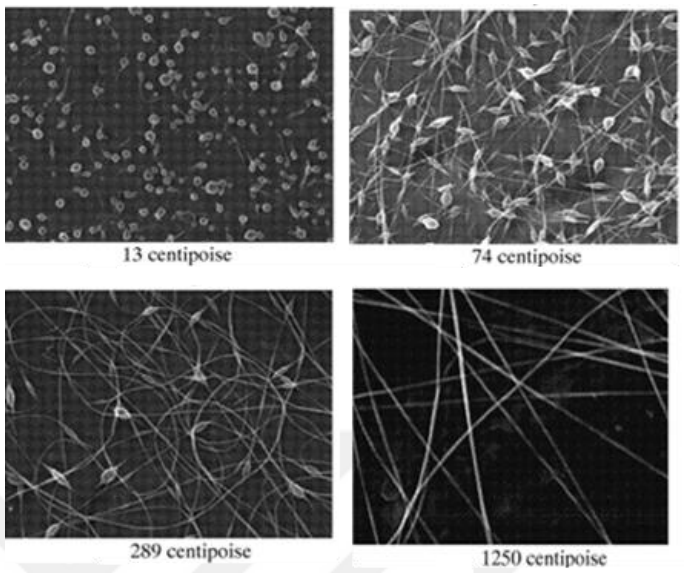
Şekil 2.16. Farklı konsantrasyonlarda polyimid nanoliflerin SEM görüntüleri a) %10, b) %15 c) %20 d) %25 (Kohse ve diğerleri, 2017)

Viskozite

Çözeltinin viskozitesi, nanoliflerin çapını ve morfolojisini etkileyen ana parametrelerden biri olan konsantrasyon ve moleküler ağırlık ile yakından ilişkilidir (Luzio ve diğerleri, 2014). Viskozitenin çok düşük olması, polimer zincir karışıklığının düşük olduğu ve yüzey geriliminin baskın olduğu anlamına gelir, damlacıklar liflere bağlanamaz ve sprey oluşturamaz. Viskozitedeki artışla, polimerin stres gevşeme süresi uzar, bu da Şekil 2.17'de (Aydogdu ve diğerleri, 2018; Fong ve diğerleri, 1999) gösterildiği gibi daha büyük ve üniform çapta nanoliflerin oluşumuna elverişlidir. Ancak viskozite çok yüksek olduğunda jetlerin lif oluşturması zordur (Liu ve diğerleri, 2017). Bu nedenle, nanoliflerin üretimi için uygun viskozite aralığı belirlenmelidir.

Çözelti viskozitesi, elektro çekim işlemini gerçekleştirmek için çok yüksek olduğunda, bazı araştırmacılar bu sorunu çözmek için titreşim teknolojisini kullanmayı önermektedir (Wan ve diğerleri, 2006). Örneğin, ultrasonik titreşim, çözeltinin viskozitesini geçici olarak azaltmak amacıyla polimer zincirleri arasındaki Van der Waals kuvvetini azaltabilir (Li ve diğerleri, 2019). Çözeltinin viskozitesi, polimer konsantrasyonu ayarlanarak kontrol edilebilir. Çözelti konsantrasyonu, çözeltiye nanopartiküller eklenerek de arttırılabilir. Nanopartiküllerin içeriğindeki artışla nanoliflerin çapı

artmasına rağmen, partiküller arasındaki sürtünme ve viskozitedeki artış nedeniyle nanolifler daha pürüzlü ve düzensiz olacaktır (Yu ve diğerleri, 2017).



Şekil 2.17. Artan viskozite ile PEO nanoliflerinin SEM görüntüleri (Fong ve diğerleri, 1999)

Moleküler ağırlık

Polimerin moleküler ağırlığı, çözeltinin viskozite, yüzey gerilimi ve iletkenlik gibi reolojik ve elektriksel özelliklerini etkileyebilir (Haghi ve Akbari, 2007). Molekül ağırlığı büyük olduğunda, moleküller arası kuvvet büyür ve polimer ile çözücüler arasında daha fazla hidrojen bağı oluşumuna sebep olur bu da viskozite değerini arttırır (Koski ve diğerleri, 2004). Viskozite ve konsantrasyonun etkisine benzer şekilde, düşük moleküler ağırlıklı polimer, yetersiz zincir karışıklığına, kısa zincir uzunluğuna, küçük moleküler sürtünme kuvvetine, kesintili jet ve lif oluşumunun zorlaşmasına sebep olur. Genel olarak, nanoliflerin çapı, moleküler ağırlıktaki artışla birlikte artmaktadır. Bununla birlikte, aşırı yüksek moleküler ağırlık, şerit şeklinde liflerin oluşumuna sebep olur (Abdullah ve diğerleri, 2016).

İletkenlik

Yüklü polimer parçacıklarının jet oluşumu üzerinde büyük etkisi vardır. Çözeltinin iletkenliği çok düşük olduğunda boncuklu yapı oluşur ve tek tip nanolifler oluşturmak

zorlaşır. Bununla birlikte, yüksek iletkenlik, bükülmeye ve düzensiz çapa veya şerit liflerinin oluşumuna neden olabilir (Hayati ve diğerleri, 1987). İletkenliğin artmasıyla nanoliflerin çapı azalır (Lasprilla-Botero ve diğerleri, 2018). Bazı araştırmacılar ayrıca iletkenliğin nanolif çapı üzerinde ihmal edilebilir bir etkiye sahip olduğunu bulmuşlardır (Nonato ve diğerleri, 2016). Çözeltinin iletkenliği, çözeltiye sodyum klorür, lityum klorür, magnezyum klorür ve bakır klorür gibi bazı inorganik tuzlar eklenerek geliştirilebilir. Bu, daha küçük çaplı boncuksuz lifler oluşturmaya yardımcı olur ve homojenliği artırmaktadır (Zong ve diğerleri, 2002).

Yüzey gerilimi

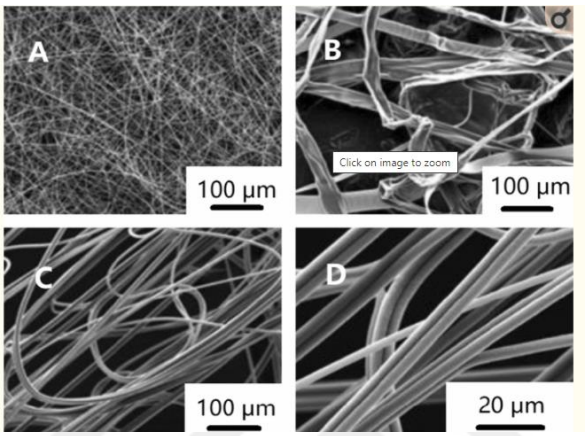
Yüzey gerilimi, moleküler ağırlık, çözelti konsantrasyonu, çözücü tipi ve sıcaklık gibi birçok faktörden etkilenir. Yüzey gerilimi düşük olduğunda, nanolifli yapı içerisinde boncuklar daha azdır ve pürüzsüzdürler (Ray ve diğerleri, 2017). Bazı araştırmacılar, yüzey geriliminin lif çapı üzerinde çok az etkisi olduğuna inanmaktadır (Bhardwaj ve Kundu, 2010). Bununla birlikte, yüzey gerilimi çok düşükse jet kararsız olur ve nanoliflerin çap dağılımı eşit olmamakta, hatta boncuklar oluşmaktadır (De Vrieze ve diğerleri, 2009).

Çözücü

Çözücü seçimi nanolif üretiminde çok önemlidir. Yüzey gerilimi, dielektrik sabiti, kaynama noktası, yoğunluk gibi çözücünün özellikleri ve ayrıca Şekil 2.18'de gösterildiği gibi çözücü ve çözünen arasındaki etkileşim, elektro çekim işlemini etkilemektedir (Bhardwaj ve Kundu, 2010).

Örneğin, çözücünün uçuculuğu, toplama cihazına ulaşmadan önce uçucu hale gelip gelemeyeceği ile doğrudan ilişkilidir ve boncukların görünüp görünmeyeceğini büyük ölçüde etkiler. Çözücünün polaritesi ve dielektrik sabiti, çözeltinin iletkenliğini etkileyecektir (Son ve diğerleri, 2004). Birçok organik çözücünün toksisitesi nedeniyle, tamamen uzaklaştırılamazlarsa biyolojik ve gıda alanlarında kullanılamazlar (Vega-Lugo ve Lim, 2012). Çözücü türlerinin elektro çekim üzerindeki etkisi karmaşıktır. Elektro çekim işleminin belirli bir çözücü ile gerçekleştirilip gerçekleştirilemeyeceğini yargılamak için net bir teori yoktur. Çözünürlük düşük olduğunda nanolif oluşturmak

kolaydır ve yüksek dielektrik sabiti nanoliflerin çapını küçültür (Luo ve diğerleri, 2010). Kohse ve arkadaşları (Kohse ve diğerleri, 2017) N,N-dimetilformamidde (DMF) poliimidin elektro-eğirmesinin pürüzsüz ve yuvarlak şekilli nanolifler ürettiğini, ancak 1,1,1,3,3,3-jexafluoro-2propanol (HFIP) içinde sadece şerit şekilli liflerin oluşturulduğunu ve dimetilsülfoksit (DMSO) içinde pürüzsüz fakat sıkışmış lifler bulunduğunu yaptıkları çalışmada göstermişlerdir.



Şekil 2.18. Farklı çözücülerde poliimid nanofiberlerinin SEM görüntüsü a) DMF, b) HFIP, c) ve d) DMSO (Kohse ve diğerleri, 2017)

2.4.2. Proses parametreleri

Uygulanan voltaj

Uygulanan voltaj da elektro çekim prosesinde önemli bir parametredir. Damlacık ancak kritik voltaja ulaşıldığında düzeden dışarı çıkar ve sonunda toplama cihazına ulaşabilir. Uygulanan voltaj ayrıca nanoliflerin morfolojisini ve çapını da etkiler. Uygulanan voltaj çok yüksek veya çok düşük ise boncuk oluşumuna yol açacaktır (Sill ve Von Recum, 2008). Uygulanan voltajın artmasıyla nanoliflerin çapı azalır; elektrostatik kuvvet büyük olduğundan, damlacıklar daha uzun gerilir (Sencadas ve diğerleri, 2012; Pezeshki-Modaress ve diğerleri, 2015). Ama aslında daha önceki çalışmalara göre uygulanan voltajın nanolifler üzerindeki etkisi konusunda bir fikir birliği yoktur. Bazı araştırmacılar, jet hızındaki artış nedeniyle nanoliflerin çapının voltajdaki artışla artacağına inanmaktadır (Katsogiannis ve diğerleri, 2016). Kim ve arkadaşları (2018) ayrıca uygulanan voltajdaki artışla nanoliflerin önce azaldığını daha sonra arttığını bulmuş ve

bazı mekanik analizler yapmıştır. Ek olarak, bazı araştırmacılar voltajdaki artışla nanoliflerin çap dağılımının daha düzensiz olduğunu bulmuşlardır (Righi ve diğerleri, 2012). Uygulanan voltajın nanoliflerin çapı üzerindeki etkisi, polimer solüsyon konsantrasyonuna ve jet cihazından toplama cihazına olan mesafeye göre değişebilir (Yördem ve diğerleri, 2008; Tan ve diğerleri, 2005).

Akış hızı

Akış hızı, nanoliflerin çapını ve morfolojisini etkiler. Akış hızındaki artışla nanoliflerin çapı artar (Megelski ve diğerleri, 2002). Akış hızı çok yüksekse, çözücü toplama cihazına ulaşmadan önce tamamen buharlaşamaz, bu da boncukların (Yuan ve diğerleri, 2004) veya ağsı yapıların (Megelski ve diğerleri, 2002) oluşmasına neden olur. Bu nedenle, akış hızı optimum olduğunda, Taylor konisi daha kararlıdır ve pürüzsüz ve düzgün nanolifler üretmek daha kolay olur (Xue ve diğerleri, 2019). Bazı araştırmacılar ideal bir akış hızı olduğuna ve optimal değerden sapmanın nanoliflerin kalınlaşmasına yol açacağına inanmaktadır (Hossain ve diğerleri, 2016). Çözelti viskozitesi düşük olduğunda, akış hızının nanoliflerin çapı üzerinde çok az etkisi vardır. Uygulanan voltaj yüksek olduğunda, akış hızının etkisi daha önemlidir.

Düze çapı

Düze çapının artması, oluşan polimer damlacığının miktarını arttırır bu da düze ucunda polimer çözeltisinin kısmi olarak katılaşmasına ve jet ucunda çoklu jetlere ve dalgalanmalara neden olur (Thompson ve diğerleri, 2007). Yapılan çalışmalarda küçük düze çaplarında boncuk oluşumunun hem de düze tıkanmasının azaldığı görülmüştür. Düze çapındaki azalma oluşan liflerin çapını da etkiler. Aynı zamanda düze ucunda oluşan damlanın hacmi küçüldüğünde damlanın yüzey gerilimi artar (Ramakrisha, 2005).

Jet cihazından toplama cihazına olan mesafe

Jet cihazından toplama cihazına olan mesafe, nanofiberlerin çapını ve morfolojisini kontrol etmek için de kullanılabilir (Ki ve diğerleri, 2005). Jet cihazından toplama cihazına olan mesafe, çözücünün buharlaşmasına izin verecek kadar büyük olmalıdır.

Mesafe çok küçükse boncuklu yapı oluşabilir (Megelski ve diğerleri, 2002). Ancak, mesafe çok büyük olmamalıdır. Mesafe çok büyükse, jet yeterince kararlı olmayacağından dolayı boncuklar oluşabilir. Genel olarak, mesafe ne kadar büyük olursa, bükülme kararsızlığı o kadar büyük olur, bu da bazı nanoliflerin üst üste binmesine ve daha büyük lif çapına neden olmaktadır (Kim ve diğerleri, 2018; Pham ve diğerleri, 2006). Ancak mesafe küçükse çözücünün buharlaşması için geçen süre yeterli olmaz ve kalın nanolifler oluşur (Yuan ve ark. 2004; Parajuli ve diğerleri, 2016).

Toplayıcı tipi

Elektro çekim sisteminde alüminyum folyo ile kaplanmış veya iletken bir malzemeden yapılmış toplayıcılar kullanılır. Nanolif elde edebilmek için düze ve toplayıcı arasında elektriksel bir alanın olması gerekir. Düz plaka, çubuk, döner silindir, disk gibi pek çok farklı toplayıcı şekli bulunmaktadır. Toplayıcı hızının da lif morfolojileri üzerinde etkisi vardır. Artan devir sayısı liflerin toplayıcı üzerine daha paralel biriktiği ve daha az boncuk oluştuğu gözlemlenmiştir (Ramakrishna, 2005).

2.4.3. Ortam parametreleri

Sıcaklık

Sıcaklık ne kadar yüksek olursa, viskozite ve yüzey gerilimi o kadar düşük, çözünürlük o kadar yüksek olur. Sıcaklıktaki artış, nanoliflerin çapının azalmasına ve daha pürüzsüz bir yüzeye yol açacaktır (Vinogradov ve Malkin 1964, Yu ve diğerleri, 2010). Yang ve arkadaşları (2017), sıcaklık değişimlerinin polimerik nanoliflerin oluşumu üzerindeki etkisini araştırmışlardır. Artan çalışma sıcaklığı ile çözeltinin yüzey gerilimi ve viskozitesi azalmıştır. Sıcaklıktaki artış çözücünün buharlaşmasını hızlandırmış ve elektro çekme işlemlerini zamanından önce sonlandırmıştır. (Yang ve diğerleri, 2017).

Nem

Nem düşük olduğunda, çözücünün buharlaşma hızı daha hızlıdır, bu da nanoliflerin çapını büyütür (Cai ve Gevelber, 2013; Bak ve diğerleri, 2016). Bununla birlikte, çözücülerin farklı hidrofiliklikleri nedeniyle, etanol gibi bazı organik çözücüler havadaki nemi emecek, bu da çözücünün buharlaşmasını zorlaştıracak ve elektrostatik kuvveti azaltarak

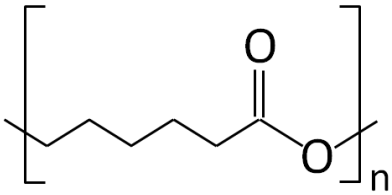
nanolifleri daha ince hale getirecektir (Alnaqbi ve diğerleri, 2016). Nem çok yüksek olduğunda, nanoliflerin çap dağılımı daha düzensizdir, yüzey daha pürüzlüdür ve gözenekler veya lifler daha azdır (Huang ve Thomas, 2018; Ding ve diğerleri, 2006). Yüksek voltaj ve düşük nem koşulları altında, polimer ve çözücünün hızlı ayrılmasının, üst üste binen katmanlara, tek tip gözenek boyutuna ve ince liflere sahip nanolifler üretilebileceğini bulmuştur.

2.5. Polikaprolakton (PCL)

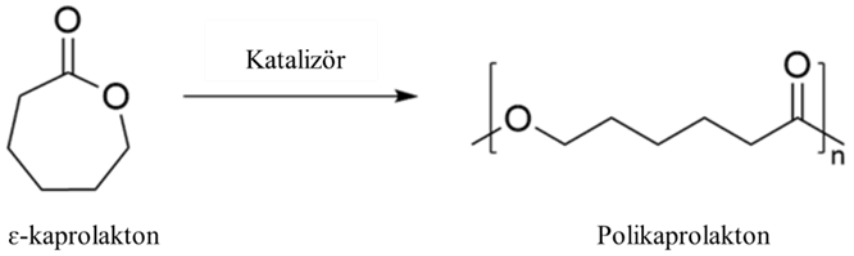
PCL, ilk olarak 1932'de The Carothers'ın araştırma grubu tarafından sentezlenmiştir (Carothers ve diğerleri, 1932). ε-kaprolakton monomerlerinin ısı ve katalizör uygulanarak halka açma polimerizasyonu ile üretilen lineer bir polimerdir (Şekil 2.20) (Vroman ve Tighzert, 2009).

PCL, hidrofobik, biyobozunur, yarı kristal lineer alifatik bir polyesterdir. Kristalliği, molekül ağırlığı ile ters orantılıdır. Kimyasal formülü, $(C_6H_{10}O_2)$n'dir (Şekil 2.19). Moleküler yapısında beş apolar metilen grup ve tekrar eden tek polar ester grup bulunur. Düşük erime noktasına (59-64 ℃) ve yaklaşık -60 ℃ de camsı geçiş sıcaklığına (Tg) sahiptir. Moleküler ağırlığı 3000-80000 g/mol aralığındadır. İyi çözünürlüğü ve diğer polimerlerle harmanlanma özelliği nedeniyle ağırlıklı olarak biyomedikal alanda kullanılmaktadır.

Ayrıca iyi mekanik özelliklere, biyolojik olarak parçalanabilme ve biyolojik olarak uyumlu bir yapıya sahiptir (Woodruff ve diğerleri, 2010; Elzein ve diğerleri, 2004).



Şekil 2.19. Polikaprolakton kimyasal formülü $(C_6H_{10}O_2)$n (Sigmaaldrich, 440752)



Şekil 2.20. ε-kaprolakton monomerine ısı ve katalizör uygulanarak halka açma polimerizasyonu ile üretilen lineer polimer, PCL (Wikimedia, 2022)

Düşük sıcaklıklarda kolay şekillendirilebilirliği ve iyi viskoelastik özellikleri PCL için kolay imalat sağlar. Bu nedenle PCL, biyomedikal bir malzeme olarak ilaç dağıtımında (Goodson ve diğerleri, 1983), uzun süreli sütürde (Nakamura ve diğerleri, 1992; Hutmacher ve diğerleri, 2001) ve 3-D yapı iskeleleri için doku rejenerasyonunda (Bezwada ve diğerleri, 1995) yaygın olarak kullanılmaktadır. Biyomedikal alanda kullanılan polimerler arasında bu özellikler PCL'yi avantajlı kılmaktadır (Woodruff ve diğerleri, 2010; Elzein ve diğerleri, 2004). İnsan vücudunda kullanım için Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi (USFDA) ve Çin Gıda ve İlaç Dairesi (CFDA) tarafından onaylanmıştır.

PCL, alifatik ester bağı hidrolize duyarlı olduğu için biyolojik olarak parçalanabilen bir malzeme olarak bilinir (Díaz ve diğerleri, 2014). PCL'nin bakteri ve mantar gibi dış mekân canlı organizmaları tarafından parçalanabilmesine rağmen, insan ve hayvan vücudunda bozunma sürecinin daha yavaş olduğu söylenebilir. Literatürdeki bozunma çalışmaları, bozunma sürecinin iki aşamadan oluştuğunu göstermektedir: birinci aşamada; ester bağları, enzimatik olmayan hidroliz ile bölünür, ardından ikinci aşamada; moleküler ağırlık 3000 g/mol'ün altına düştüğünde hücre içi bozunma gösterilir. Bu adımda PCL, makrofajların ve hücrelerin aktivitesi tarafından tamamen emilir (Woodruff ve diğerleri, 2010). PCL'nin vücut içerisinde tamamen bozunması yaklaşık 24 aydır.

PCL'nin bir diğer önemli özelliği, polimerin biyouyumlu doğasıdır. Biyouyumluluk, belirli bir uygulamada, ilgili materyalin kullanılmasıyla uygun konak yanıtının elde edilmesi anlamına gelir. Polimerin tıbbi cihaz olarak veya ilaç taşıyıcı sistemlerde kullanılabilmesi için polimerin biyouyumlu olması gerekir (Woodruff ve diğerleri, 2010).

PCL, gerdirildiğinde iyi mekanik özellik gösterir. Biyobozunurluk ve biyouyumluluk özelliklerinden dolayı özellikle tıp alanında ilaç taşıyıcı, sentetik deri, fibroblastların ve osteoblastların gelişimini desteklemek için doku iskelesi gibi geniş bir aralıktaki uygulama alanlarında çalışılan bir polimerdir. İnsanlarda uzun süreli biyolojik olarak parçalanabilen davranışı, ilaç dağıtım sistemlerinde kullanım için PCL'na avantaj sağlamaktadır (Mattanavee ve diğerleri, 2009).

PCL'den, biyomedikal uygulamalarda istenilen geniş yüzey alanı ve yüksek gözeneklilik gibi özelliklere sahip nanolifli yüzeyler elektro çekim tekniği ile üretilebilir. PCL nanolifli yüzeylerin avantajları, su direnci, biyouyumluluk ve yüksek gözenekli olmasıdır. Nanoliflerin geleneksel mikron boyutlu liflerden en büyük avantajı lif kalınlığıdır (Fujihara ve diğerleri, 2005).

PCL tek başına doku mühendisliği uygulamalarında ya da diğer sentetik ve doğal polimerlerle birleştirilerek iskele üretiminde yaygın olarak kullanılmaktadır. Hoda Behrami ve arkadaşları (2016) , sıçan modellerinde cilt kusurlarının iyileşme sürecinde iyi sonuçlar elde etmek için USS (sınırsız somatik kök hücreler) yüklü PCL nanolifli yapı iskelelerinin faydasını göstermiştir (Bahrami ve diğerleri, 2016). Ayrıca, Bonvallet ve arkadaşları (2015) PCL kollajen yapı iskelelerinin katman katman tekniğinin fibroblastların proliferasyonu ve hayatta kalması için uygun bir ortam sağladığını bildirmiştir (Bonvallet ve diğerleri, 2015).

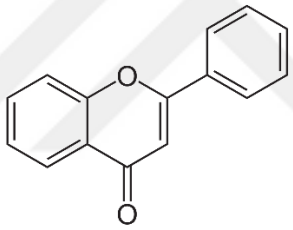
2.6. Silymarin

Polifenoller, bitkileri UV radyasyonundan ve hastalık saldırılarından korumada hayati bir rol oynayan ikincil bitki metabolitleridir (Scalbert ve diğerleri, 2005). Son yıllarda polifenollerin potansiyel sağlık yararları üzerinde çokça durulmuştur. Epidemiyolojik araştırmalara ve ilgili meta-analizlere göre, bitki polifenollerinin kanser, kardiyovasküler hastalık, diyabet, osteoporoz ve nörolojik hastalıklara karşı koruduğu bulunmuştur (Graf ve diğerleri, 2005; Arts ve Hollman, 2005).

Bu bileşikler, vücuttaki metabolik faaliyetler tarafından üretilen istenmeyen reaktif oksijen/azot türlerinin negatif reaktivitesini önleyebilen, dokuları oksidatif stresin zararlı etkilerinden koruyan antioksidanlar olarak işlev görürler (Minatel ve diğerleri, 2017).

2.6.1. Flavonoidler

Flavonoidler, birçok meyve ve sebzede aglikonlar veya glikozitler şeklinde bulunan çeşitli yapıya sahip polifenollere karşılık gelen ikincil metabolitlerdir. Flavonoidler, iki fenil halkası ve bir heterosiklik piran halkadan meydana gelen ortak bir fenil-benzo-y-piran (C_6–C_3–C_6) iskeletinden oluşan 15 karbonlu bir kimyasal yapıya sahiptir (Şekil 2.21) (Bravo, 1998). Bu bileşikler bitkilerin yapraklarında, tohumlarında, kabuğunda ve çiçeklerinde yaygın olarak bulunur. Ultraviyole ışığından koruma, abiyotik streslerden, bakteriyel ve fungal fitopatojenlerden savunma gibi farklı işlevleri yerine getirmektedirler.



Şekil 2.21. Flavonoid kimyasal yapısı (Vikipedi 'Flavonoid' 2021)

Flavonoidler, insan vücuduna faydalı sayısız farmakolojik aktiviteleri nedeniyle, sağlığın korunması ve hastalıkların önlenmesi için olumlu etkiler sağlamada incelenmiştir. Bazı flavonoidler, antioksidanlar, antiinflamatuar, antialerjik, antimutajenik, kardiyoprotektif, enzimatik aktivite modülatörleri ve antikanser aktivite olarak sunulan geniş biyolojik aktivite yelpazesi nedeniyle nutrasötiklerin ve ilaçların geliştirilmesinde kullanılmıştır (Panche ve diğerleri, 2016).

Flavonoidlerin antioksidan mekanizmaları içinde, serbest radikal süpürücüler olarak hareket ettikleri kaydedilmiştir; bu aktivite, yüksek reaktif serbest radikalleri zayıflatmalarına ve daha az reaktif aroksil radikalleri haline gelmelerine izin veren stabilize bir yapıya sahip oldukları için sunarlar. Oksidanların bu baskılanması, serbest

hidroksilden elektronların veya bir hidrojen atomunun bağışlanmasıyla gerçekleşir. Ek olarak, son derece güvenli ve düşük toksisiteye sahip oldukları düşünülür, bu da onları mükemmel kemopreventif ajanlar yapar. Flavonoidler ayrıca metal iyonlarını şelatlayabilir ve serbest flavonoidlere kıyasla farmakokinetik özellikleri artan farklı kompleksler oluşturabilirler (Hernández-Rodríguez, 2019).

Silybum marianum (L.) *Gaertn*, Asteraceae familyasına ait Deve dikeni veya Meryem ana dikeni olarak bilinen en eski tıbbi bitkilerden biridir. İki bin yılı aşkın süredir geleneksel Avrupa tıbbında, özellikle karaciğer bozukluklarının tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Silymarin (SM), polifenoller açısından zengin *S. marianum* tohumlarından elde edilen standart bir ekstrakttır. SM, güçlü rejeneratif özellikleri nedeniyle geleneksel olarak hepatoprotektif bir ajan olarak kullanılır (Chambers ve diğerleri, 2017). Başlıca anti-oksidatif, anti-inflamatuar ve immünomodülatör etkileri ile bilinir (Federico ve diğerleri, 2017). Son zamanlarda, SM ayrıca antioksidan etkisi ve cilt karsinojenezi ile sonuçlanabilecek UVB ve kimyasal olarak indüklenen hasarı azaltmak için tanımlanmış yeteneği nedeniyle dermatolojik ve kozmetik preparatlarda da kullanılmaktadır (Vaid ve Katiyar, 2010).

2.6.2. Botanik özellikleri

Silybum marianum bitkisi, sıcak atmosferde ve kuru topraklarda büyüyen, gövdesi 1-3 m yüksekliğe kadar ulaşabilen, Temmuz veya Ağustos aylarında mor çiçekler açan 1-2 yıllık otsu bir bitkidir (Şekil 2.22).

Meryemana dikeni bitkisi Kuzey Afrika, Güney Avrupa, Rusya ve Anadolu'da yaygın olarak bulunmaktadır (Abenavoli ve diğerleri, 2010). Çiçek başları 4-8 cm çapındadır ve 13-25 mm boyutunda, eflatundan mora kadar değişen yaklaşık 50-200 boru şeklinde çiçek (bir çiçek grubunun parçasını oluşturan tek tek çiçekler) içerir. Çiçeklerin altındaki bracts, bir omurgada biten yuvarlak bir uzantı ile geniş ve serttir. Bu bitkinin bir uzun kazık kökü vardır. Devedikeni, 75 cm uzunluğa ve 30 cm genişliğe kadar, üst yüzeyi düzgün, alt yüzeyi tüylü, alacalı koyu ve açık yeşil dikenli yapraklara sahiptir. Yapraklar, bitkinin adına ilham veren süt beyazı damarlara sahiptir. Botanik olarak bu bitkinin tohuma benzeyen ancak teknik olarak bir meyve olan cypselae'si (kuru ve kabuksuz olan basit bir

meye türü) vardır. Her meyve kakaoya benzer bir kokuya ve yağlı, acı bir tada sahiptir, yaklaşık 5-8 mm uzunluğunda, 2-3 mm genişliğinde olup parlak, kahverengimsi-siyah ila grimsi bir kabuğa sahiptir. Tüysüzdürler ancak ince kıllardan oluşan beyaz, ipeksi 15mm uzunluğunda düşücü bir papusa (tüy demeti) sahiptirler. Meyveler bir halka etrafında birleştirilmiştir (Bijak, 2017).



Şekil 2.22. Silymarin bitkisi ve özü (Madeinchina.com 'Silymarin')

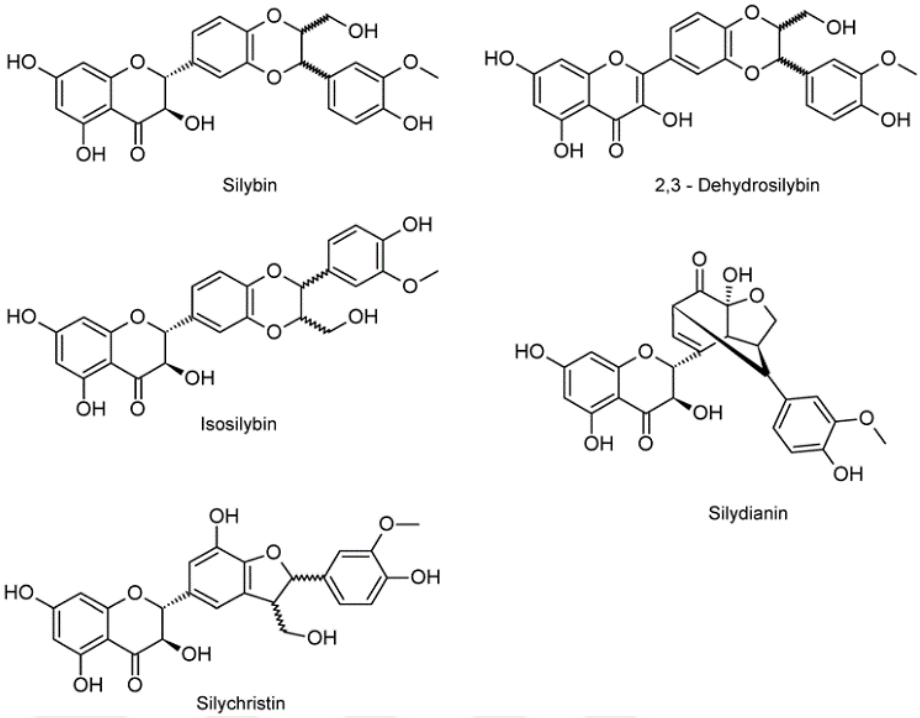
Silybum marianum Avrupa ve Akdeniz ülkelerinde antik dönemlerden beri bilinmekte ve kullanılmaktadır. Romalı doğabilimci Plinus the Elder bal ile karıştırıldığında, safra akışını artırıcı etkisinden bahsetmiştir bu da bitkinin karaciğerle alakalı bir durumda kullanımına ilk referans olmuştur ve bitkiye Silybum adını kendisi vermiştir. İki bin senedir kullanılan Meryemana dikeni için Planta Medica dergisinde, "geçmişten geleceğe kutsanmış bitki" ifadesiyle bahsedilmiştir. Efsaneye göre Meryem bu bitkinin altında dinlenip bebeği İsa'yı emzirirken, sütünün bir damlası bitkinin yaprakları üzerine düşer ve orada kalır. Bitkinin yapraklarında bulunan beyaz izlerin bundan kaynaklandığına inanılır. Bu nedenle John Eveleyn emziren kadınlarda bitkiyi laktasyon artırıcı etkisiyle tavsiye etmiştir. Eski Yunan'da hekim Dioscorides hastalarında safra artırıcı, kusturucu ve yılan zehirlenmelerine karşı olumlu etkileri sebebiyle bu bitkiyi kullanmıştır. İtalya'da ve Yunanistan'da anti-aging (yaşlanma karşıtı) etkisi için yıllarca kullanılmıştır (Eren ve Şar, 2020).

1960’larda Alman bilim insanları bir grup etken madde keşfetmiş ve bunların tümünü birden “silymarin” olarak isimlendirmişlerdir. Flavolignan yapısında silibin, silikristin ve siliadinin içeren ve çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılan bu tohumlar vücudumuzdaki farklı moleküllerle reaksiyona girerek hücrelerimize zarar veren serbest radikallere karşı kuvvetli bir savunma mekanizması oluşturmakta ve karaciğeri koruyucu etki göstermektedir. Toksin zehirlenmeleri, siroz, hepatit, karaciğerde skar oluşumu durumlarında karaciğerin yenilenmesine destek olur. Ayrıca Meryemana dikeni tohumlarının enflamasyon giderici ve bağışıklık sisteminin işleyişini düzenleyici özelliği bulunmaktadır. Avrupa’da geçmişte geleneksel olarak laktasyon problemleri, depresyon, karaciğer hastalıkları, dispeptik şikâyetler, diyabet ve menstrüel rahatsızlıklarda kullanıldığı kaydedilmiştir.

Meryemana dikeni halk arasında hava yollarının daralması ile nefes almanın güçleştiği durumlarda, dokularda aşırı sıvı birikmesi nedeniyle genellikle bacak, ayak, kollar ve ellerde şişlik ortaya çıkması halinde, grip, göğüs ağrısı, ateş, hepatit, sarılık, sıtma, depresyon, istemsiz kas kasılmaları ve dalak rahatsızlıkları gibi sağlık problemlerinde kullanılmaktadır (Demirezer ve diğerleri, 2007).

Silymarin, meyvenin kuru ağırlığının % 1,5-3'ünü temsil eder ve benzersiz flavonoid kompleksleri olan flavonolignanların izomerik bir karışımıdır. Silymarin içinde bulunan bu grubun ana temsilcileri silibin (SB), izosilibin (ISB), silikristin (SC), izosilikristin (ISC), silydianin (SD), silimonin (SM) ve ve eser miktarda 2,3-dehidrosilibin (DHSB) ‘dir (Şekil 2.23) (Abenavoli ve diğerleri, 2010; Kren ve Walterova, 2005; Gazak ve diğerleri, 2007; Kim ve diğerleri, 2003; Hackett ve diğerleri, 2013).

Devedikeni meyvesinin kimyasal bileşimi flavonolignanların yanı sıra diğer flavonoidleri (taksifolin, kersetin, dihidrokaempferol, kaempferol, apigenin, naringin, eriodyctiol ve chrysoeriol gibi), 5,7-dihidroksi kromon, dehidrokoniferil alkol, sabit yağ (%60 linoleik asit; %30 oleik asit; %9 palmitik asit), tokoferol, steroller (kolesterol, kampesterol, stigmasterol ve sitosterol), şekerler (arabinoz, ramnoz, ksiloz ve glukoz) ve proteinlerdir (Abenavoli ve diğerleri, 2010).



Şekil 2.23. Silymarinin içindeki flavonoligant bileşiklerin formül şekilsel gösterimi (Drouet ve Hano, 2021)

Bununla birlikte, özütün yaklaşık %50-70'ini oluşturan en yüksek konsantrasyona sahip, çeşitli çalışmalarda doğrulanmış olan özütün ana biyoaktif bileşeni olan silibindir. Silymarin içeren yaygın farmasötik ürünlerde silibinin konsantrasyonları tipik olarak %20-40 arasında bulunur. Hepatoprotektif etkisinin yanı sıra silibin, güçlü antioksidan özelliklere sahiptir ve çeşitli hücre sinyal yollarını modüle ederek proinflamatuar mediatörlerin azalmasına neden olur. Silibin ayrıca potansiyel bir antikanser ve kemo-koruyucu ajan olarak da çalışılmaktadır (Bijak, 2017). Geçen yıllarda yapılan araştırmalar, silibin'in kan pıhtılaşma sürecinde yer alan serin proteazları inhibe edebildiğini ve ayrıca kan trombositlerinin fizyolojik agonistlere tepkisini azaltabildiğini göstermektedir (Bijak, 2017).

Yapılan bir diğer çalışmalar, Silymarin'in kollajen oluşumunu arttırdığını ve reepitelizasyon sürecini hızlandırdığını, artan Silymarin konsantrasyonu ile yara bölgesinde önemli azalma ve küçülmeler olabileceğini göstermişlerdir (Aliabadi ve diğerleri, 2011).

2.7. Yaralar: Türleri, İyileşme Süreci ve Yara Bakımı

Deri, vücudu çevresel faktörlere karşı koruyan en büyük organdır. Çok sayıda sinir ucuna sahip yüksek algılama yeteneği ile bir bariyer görevi görür (Abdo ve diğerleri, 2020). Cilt, mevcut araştırmalarda metabolizmaya katılım, hücre sinyalizasyonu, sinir, bağışıklık ve endokrin sistemler gibi birçok işlevi olan çok karmaşık bir fabrika olarak kabul edilmektedir. Örneğin su dengesini ve vücut ısısını düzenler ve ayrıca patojenlerden, ısıdan ve ultraviyole radyasyondan korunmayı sağlar. Derinin bir diğer önemli işlevi de D vitamini sentezlemektir (Sood ve diğerleri, 2014).

Hayati rollerde yer aldığı ve çevreye karşı ilk engelimiz olduğu için cildin zarar görmesi kaçınılmazdır. Yaralar iyileşme sürelerine göre akut yaralar ve kronik yaralar olarak sınıflandırılabilir. Akut bir yara, cilt bütünlüğünde aniden meydana gelen bir kesinti iken, endojen mekanizmalardan kaynaklanan ve iyileşmesi çok uzun süren yaralar genellikle kronik yaralar olarak kabul edilir (Wysocki, 1999).

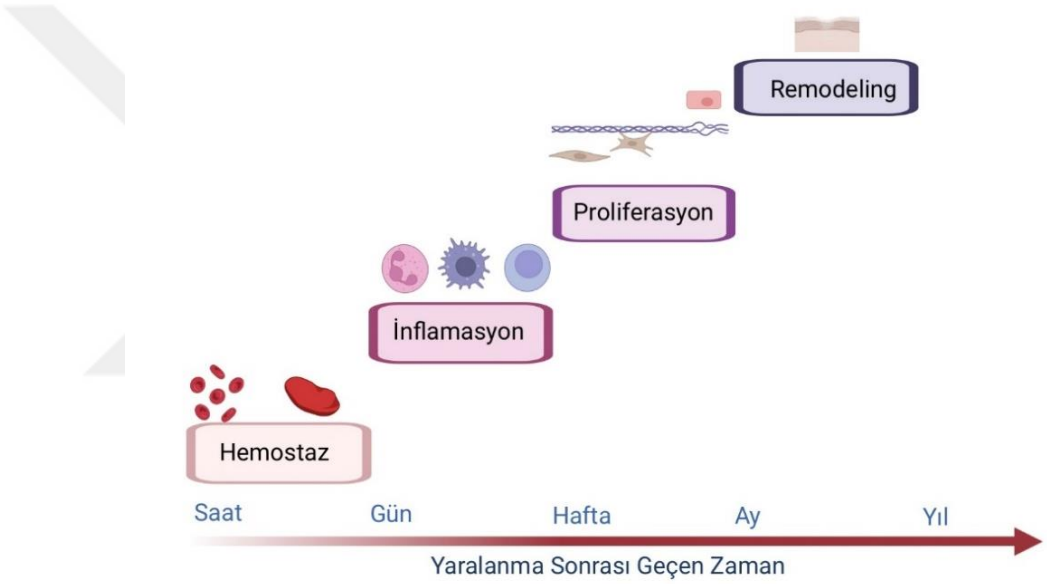
Cerrahi yaralar, yanıklar, sıyrıklar, delinmeler, ateşli silah ve ısırıklar gibi travmatik yaralar akut yaralardır. Öte yandan, kronik yaralar arteriyel veya venöz yetmezlik ülserlerini, diyabetik ülserleri ve basınç ülserlerini içerir (Singh ve diğerleri, 2013). Arteriyel ve venöz ülserler, kandaki dolaşım sorunları ve yetersiz beslenmeden kaynaklanır, oksijen yoksunluğuna ve doku hasarına neden olur. Basınç ülserleri, esas olarak hareketsizlikten kaynaklanan, vücudun kemik bölgelerinde bulunan uzun süreli sürtünme veya basınç kuvvetlerine maruz kalma nedeniyle oluşur (Woo ve diğerleri, 2010). Kronik yaralar, akut yaraların uygun olmayan bir şekilde tedavi edilmesinden de kaynaklanabilir.

2.7.1. Yara iyileşmesinin hücresel ve moleküler düzenlenmesi

Akut yaralar düzenli ve verimli bir şekilde iyileşir ve yara iyileşmesi boyunca dört farklı evrede sorunsuz bir şekilde ilerlerler: Hemostaz, inflamasyon, proliferasyon ve yeniden şekillenme- remodeling (Şekil 2.24).

Buna karşılık, kronik yaralarda benzer şekilde iyileşme sürecini başlatır, ancak uzun süreli inflamatuar, proliferasyon ve yeniden şekillenme fazlarına sahip olduğundan doku fibrozisine veya iyileşmeyen ülserlere neden olmaktadır (Mast ve Schultz, 1996).

Yara iyileşme süreci karmaşıktır, trombositler, makrofajlar, fibroblastlar, epitelyal ve endotelyal hücreler gibi çeşitli özelleşmiş hücreleri içerir. Bu hücreler birbirleriyle ve hücre dışı matris ile sürekli bir etkileşime girer. Çeşitli hücresel etkileşimlere ek olarak iyileşme olayı, sitokinler, kemokinler, büyüme faktörleri, inhibitörler ve bunların reseptörleri gibi proteinlerin ve glikoproteinlerin etkisinden de etkilenir.



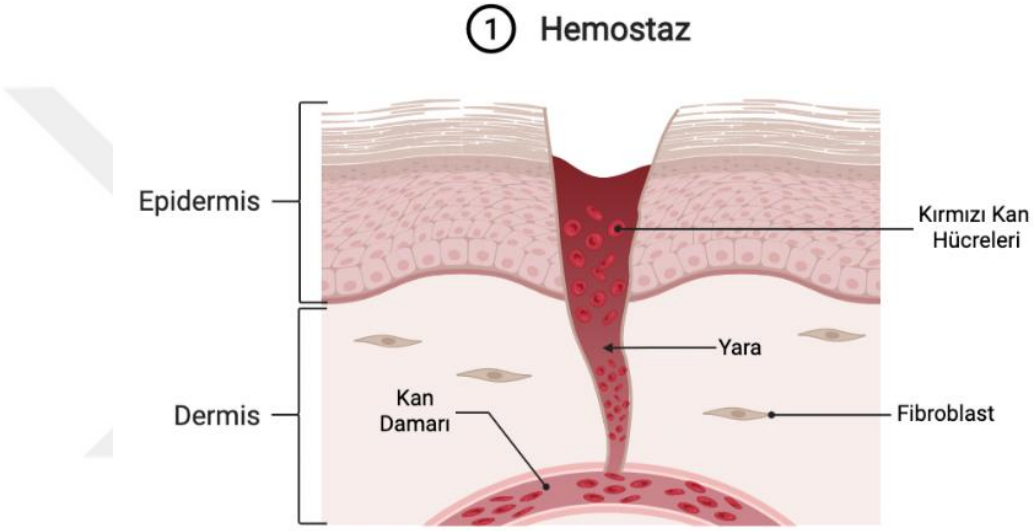
Şekil 2.24. Yara iyileşmesinin aşamaları. Yara iyileşmesi sırasındaki hücresel ve moleküler olaylar dört aşamada ilerler: hemostaz, inflamasyon, proliferasyon ve yeniden şekillenme

2.7.2. Yara iyileşmesinin aşamaları

Hemostaz

Hemostaz, bir yaralanmanın hemen ardından ortaya çıkar ve yara iyileşmesinin ilk aşamasını oluşturur. Kanama, yaradan bakterileri ve diğer patojenleri uzaklaştırmak için oluşur. Yaralanma bölgesinde kan kaybını önlemek için vazokonstriksiyon meydana gelir ve trombositler yaralanma bölgesinde aktivasyon, yapışma ve agregasyona uğrar.

Trombositler, hücrenin hücre dışı matris ile etkileşimlerine aracılık eden spesifik integrin reseptörleri ile tespit ettikleri ekstravasküler kollajene (tip I kollajen) maruz kaldıklarında aktive olurlar. Trombosit alfa granüllerinden salınan anahtar glikoproteinler arasında fibrinojen, fibronektin ve trombospondin faktörü bulunur. Trombosit agregasyonu ilerledikçe, yaralanma bölgesinde bir fibrin pıhtısının birikmesiyle sonuçlanan pıhtılaşma faktörleri salınır. Fibrin pıhtısı geçici bir matris görevi görmektedir (Gailit ve Clart, 1994). Toplanan trombositler fibrin ağı içinde sıkışıp kalır ve pıhtının büyük kısmını oluşturur (Şekil 2.25).



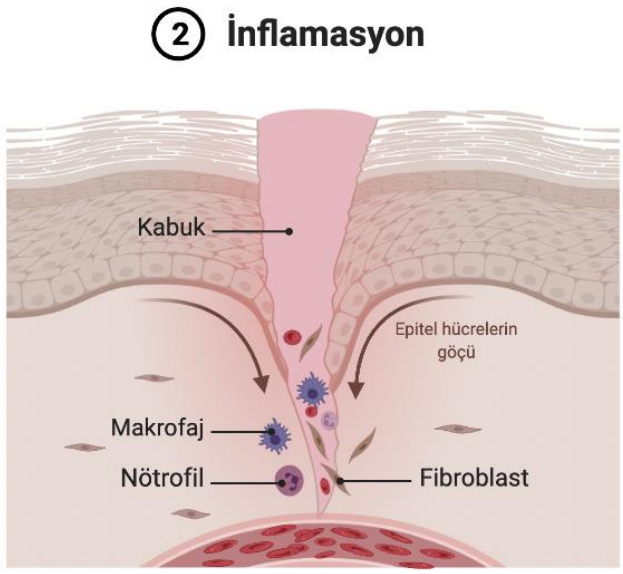
Şekil 2.25. Hemostaz aşaması. Yaralanma anında fibrin pıhtısı geçici yara matrisini oluşturur ve trombositler onarım sürecini başlatan çoklu büyüme faktörlerini serbest bırakır

Büyüme faktörleri ayrıca trombosit alfa granüllerinden salınır ve trombosit kaynaklı büyüme faktörü (PDGF), dönüştürücü büyüme faktörü beta (TGF-b), dönüştürücü büyüme faktörü alfa (TGF-a), temel fibroblast büyüme faktörü (bFGF), insülin benzeri büyüme faktörü-1 (IGF-1) ve vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF) içerir.
Nötrofiller ve monositler daha sonra enflamatuar yanıtı başlatmak için vaskülatürden PDGF ve TGF-b tarafından toplanır. Bu arada endotel hücreleri, anjiyogenezi başlatmak için VEGF, TGF-a ve bFGF tarafından aktive edilir. Fibroblastlar daha sonra PDGF tarafından aktive edilir ve yara bölgesine göç etmek, kollajen ve glikozaminoglikanların üretimine başlamak için hücre dışı matriste hücresel göçü kolaylaştıran proteinler ve

matris destekleyici çerçeve ile etkileşimler başlar. Böylece iyileşme süreci, hemostaz, yaralanma bölgesinde trombosit birikimi ve sonraki iyileşme olaylarına zemin hazırlamak için çözünür medyatörler ve büyüme faktörlerinin hücre dışı matriks ile etkileşime girmeleri ile başlar (Rumalla ve diğerleri, 2001).

İnflamasyon

Yara iyileşmesinin bir sonraki aşaması olan iltihaplanma, yaralanmadan sonraki ilk 24 saat içinde ortaya çıkar. Normal yaralarda 2 haftaya kadar sürerken, kronik iyileşmeyen yaralarda önemli ölçüde daha uzun sürebilir. Mast hücreleri, yara bölgesi çevresinde iltihap, kızarıklık, kalori (ısı), tümör (şişme) ve ağrı gibi karakteristik belirtilerden sorumlu enzimler, histamin ve diğer aktif aminlerle dolu granüller salgılar. Nötrofiller, monositler ve makrofajlar, inflamatuar fazda anahtar hücrelerdir. Yarayı enfeksiyon ve kalıntılardan temizler ve proinflamatuar sitokinler (IL-1, IL-6, IL-8 ve TNF-a dahil) ve büyüme faktörleri (PDGF, TGF-b, TGF-a, IGF-1 ve FGF gibi) gibi çözünür aracıları serbest bırakırlar. İyileşmede bir sonraki aşamaya hazırlık olarak fibroblastların ve epitel hücrelerinin alınmasında ve aktivasyonunda rol oynarlar.



Şekil 2.26. İnflamasyon aşaması. Yaralanmayı takip eden bir gün içinde, yarayı çevreleyen damar duvarlarındaki endotel hücrelerine bağlanan (marjinasyon), şekil değiştiren ve hücre bağlantılarından geçen (diapedez) nötrofiller tarafından inflamatuar faz başlatılır ve yara bölgesine göç ederler (kemotaksis)

Nötrofiller

Nötrofiller, trombositler ve pıhtılaşma kaskadı tarafından salınan çözünür aracılara yanıt veren ilk inflamatuar hücrelerdir. Bakterileri fagosite ederek, yabancı maddeleri ve cansız dokuyu uzaklaştırarak enfeksiyona karşı ilk savunma hattı olarak hizmet ederler (Frenette ve Wagner, 1996). Nötrofiller ayrıca fibroblastları ve epitel hücrelerini daha fazla toplayan ve aktive eden TNF-a ve IL-1 gibi inflamatuar aracıları üretir ve serbest bırakır. Nötrofiller yara bölgesine göç ettikten sonra, fagosite edilmiş bakterileri öldüren, yüksek seviyelerde proteazlar, serbest bırakan serbest oksijen radikalleri üretir ve hücre dışı matrisin yaralanmadan zarar görmüş bileşenlerini uzaklaştırır. Bir yarada bakterilerin kalıcı varlığı, nötrofillerin sürekli alımı ve bunların proteaz, sitokin ve reaktif oksijen türlerinin salınması yoluyla kronikliğe katkıda bulunabilir. Genellikle, nötrofiller, apoptoz süreci ile 2-3 gün sonra yarada tükenir ve bunların yerini doku monositleri alır. (Frenette ve Wagner, 1996).

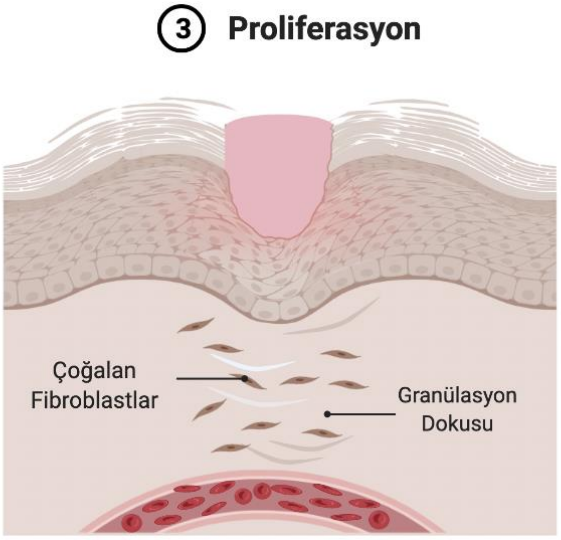
Makrofajlar

Aktive makrofajlar, iyileşmenin düzenlenmesinde çok önemli roller oynar ve iyileşme süreci, makrofajlar olmadan normal şekilde ilerlemez. Makrofajlar, yaralanmadan yaklaşık 24 saat sonra yara bölgesine çekilen dolaşımdaki monositler olarak başlarlar. (Diegelmann ve ark. 1981). Nötrofillere benzer şekilde, doku makrofajlarının iyileşme sürecinde ikili bir rolü vardır. Yara bölgesinde devriye gezerler, bakterileri fagosite eder ve öldürürler. Makrofajlar, proteazlar için inhibitörler salgılayarak yara dokusunun proteolitik yıkımını daha yakından düzenleme yetenekleri bakımından nötrofillerden farklıdır. Önemli fagositik rolleri olan makrofajlar, inflamatuar fazdan proliferatif iyileşme fazına geçişe de aracılık eder. Nötrofillerin olmaması ve yaradaki makrofajların sayısının azalması, inflamatuar fazın sona erdiğinin ve proliferatif fazın başladığının bir göstergesidir.

Proliferasyon aşaması

Proliferasyon fazı dokuya yapısını ve işlevini geri kazandırmak için geçici fibrin matrisinin yeni kolajen lifleri, proteoglikanlar ve fibronektin matrisi ile değiştirilmesini içerir. İyileşmedeki bir diğer önemli olay, daha önce hasar görmüş damarları değiştirmek ve dolaşımı yeniden sağlamak için yeni kılcal damarların büyümesi olan anjiyogenezdir.

Bu iyileşme evresindeki diğer önemli olaylar, granülasyon dokusunun oluşumu ve epitelizasyondur. Fibroblastlar, iyileşmenin proliferatif fazındaki anahtar hücrelerdir.



Şekil 2.27. Proliferasyon aşaması. Sabit doku monositleri aktive olur, yaralanma bölgesine hareket eder, bakterileri öldüren aktive edilmiş yara makrofajlarına dönüşür, proteazları serbest bırakır ve büyüme faktörlerini salgılar

Fibroblast göçü

Fibroblastlar, başlangıçta trombositler ve daha sonra makrofajlar tarafından salınan çoklu çözünür medyatörlere yanıt olarak yaraya göç eder. Hücre dışı matristeki fibroblast göçü, kesin tanıma ve matrisin belirli bileşenleri ile etkileşime bağlıdır. Normal dermisteki fibroblastlar tipik olarak sessizdir ve seyrek dağılırken, yara bölgesinin geçici matrisinde ve granülasyon dokusunda oldukça aktif ve çokturlar.

Fibroblastlar, ilk önce integrin reseptörleri aracılığıyla fibronektin, vitronektin ve fibrin gibi matris bileşenlerine bağlanarak hareket etmeye başlarlar. İntegrin reseptörleri, belirli amino asit dizilerine veya bu matris bileşenlerindeki bağlanma bölgelerine bağlanırlar. Fibroblastın bir ucu matris bileşenine bağlı kalırken, hücre başka bir bağlanma bölgesi bulmak için sitoplazmik bir projeksiyonu uzatır. Bir sonraki bölge bulunduğunda, orijinal bölge serbest bırakılır ve hücre kendini ileri çekmek için hücre iskeleti aktin lifleri ağını kullanır. Fibroblast hareketinin yönü, ECM ve geçici matristeki fibrillerin hizalanması ve kemotaktik büyüme faktörleri, sitokinler ve kemokinlerin gradyanı ile belirlenir.

Kollajen ve Hücre Dışı Matriks Üretimi

Granülasyon dokusunu oluşturan kolajen, proteoglikanlar ve diğer bileşenler, esas olarak fibroblastlar tarafından sentezlenir ve biriktirilir. PDGF ve TGF-b, fibroblast aktivitesini düzenleyen en önemli büyüme faktörlerinden ikisidir. Ağırlıklı olarak trombositlerden ve makrofajlardan kaynaklanan PDGF, proliferasyon, kemotaksis ve kollajenaz ekspresyonu dahil olmak üzere bir dizi fibroblast fonksiyonunu uyarır. Trombosit ve makrofajlar tarafından da salgılanan TGF-b, hücre dışı matriks birikimini düzenleyen ana kontrol sinyali olarak kabul edilir. Kollajen, proteoglikanlar ve fibronektin için gen transkripsiyonunun uyarılması yoluyla TGF-b, matris proteinlerinin genel üretimini arttırır. Aynı zamanda, TGF-b, matris bozulmasından sorumlu proteazların salgılanmasını aşağı regüle eder ve ayrıca matrisin parçalanmasını daha fazla engellemek için metaloproteinazların doku inhibitörünün (TIMP) sentezini uyarır (Duncan ve diğerleri, 1999).

Fibroblastlar matrise göç ettikten sonra tekrar morfolojilerini değiştirirler, yerleşirler çoğalmaya başlarlar. Aynı zamanda kollajen, elastin ve proteoglikanlar dahil granülasyon dokusu bileşenlerini sentezlemeye koyulurlar. Fibroblastlar, geçici fibrin matrisine bağlanır ve kolajen üretmeye başlarlar. Bugüne kadar en az 20 ayrı kolajen türü tanımlanmıştır. Tip III kollajen, başlangıçta diğer hücre dışı matris proteinleri ve proteoglikanlarla birlikte yüksek seviyelerde sentezlenir. Kollajen haberci ribonükleik asidin (mRNA) transkripsiyonu ve işlenmesinden sonra, yeni kollajen zincirlerinin üretildiği endoplazmik retikulum üzerindeki poliribozomlara bağlanır. Bu işlem sırasında prolin ve lizin kalıntılarının hidroksilasyonunu içeren önemli bir adım vardır. Üç protein zinciri birleşir ve fibriler kollajen molekülünün karakteristik üçlü sarmal yapısını oluşturmaya başlar ve yeni oluşan zincirler glikosilasyon işlemiyle daha fazla modifikasyona uğrar. Kollajendeki hidroksiprolin önemlidir çünkü kolajen moleküllerinin üçlü sarmal yapısını stabilize etmede önemli bir rol oynar.

Son olarak, prokollajen molekülleri hücre dışı boşluğa salgılanır ve burada proteolitik bölünme ile daha fazla işlenirler. Kollajen molekülleri daha sonra, kolajen liflerini oluşturan daha büyük demetler halinde birleşen kolajen fibrillerini oluşturan baştan sona ve yan yana bir düzenlemede kendiliğinden birleşir.

Damarlanma

Doku canlılığını korumak için hasarlı damar sisteminin değiştirilmesi gerekir. Anjiyogenez süreci, düşük oksijen gerilimi, düşük pH ve yüksek laktat seviyeleri gibi mikro çevrenin yerel faktörleri tarafından uyarılır (Bhushan ve diğerleri, 2002).

Anjiyogenezin düzenlenmesi hem VEGF gibi uyarıcı faktörleri hem de anjiyostatin, endostatin, trombospondin ve pigment epitelinden türetilen faktör gibi antianjiyojenik faktörleri içerir. Anjiyojenik faktörlerin bağlanması, devaskülarize bölgeye bitişik kılcal damarların endotel hücrelerinin matrikse göç etmeye başlamasına ve ardından tomurcuklar veya filizler oluşturmak için çoğalır. Bir kez daha, bu hücrelerin matris içine göçü, proteolitik enzimlerin, özellikle MMP'lerin lokal salgılanmasını gerektirir. Filizlerin ucu endotel hücrelerinden uzanır ve başka bir filizle karşılaşırken, daha sonra gelişen damarın lümeni haline gelen ve yeni bir vasküler halkayı tamamlayan bir yarık geliştirirler. Bu süreç, kılcal sistem yeterince onarılana ve doku oksijenasyonu ve metabolik ihtiyaçları karşılanana kadar devam eder. Granülasyon dokusuna karakteristik engebeli veya granüler görünümünü veren bu yeni kılcal tüflerdir.

Granülasyon

Granülasyon dokusu, iyileşmenin yeniden şekillenme evresi sonunda bir yaraya dönüşen normal dermis için geçici bir ikamedir. Son derece yoğun bir kan damarı ve kılcal damar ağı, yüksek hücresel fibroblast ve makrofaj yoğunluğu ve rastgele organize edilmiş kollajen lifleri ile yaralanmamış dermisten karakterizedir. Aynı zamanda, hücresel göç, bölünme ve protein sentezi için gerekli aktiviteyi yansıtan normal dermise kıyasla yüksek bir metabolik hıza sahiptir.

Epitelizasyon

Tüm dermal yaralar üç temel mekanizma ile iyileşir: kasılma, bağ dokusu matrisi birikmesi ve epitelizasyon. Açık kalan yaralar kasılma ile iyileşir; hücreler ve matris arasındaki etkileşim, dokunun yaranın merkezine doğru hareketiyle sonuçlanır. Epitelizasyon, yara kenarındaki epitel hücrelerinin temas inhibisyonunu kaybettiği ve yara bölgesine göç etmeye başladığı süreçtir. Göç ilerledikçe, bazal katmanlardaki hücreler, ek epitel hücreleri sağlamak için çoğalmaya başlarlar.

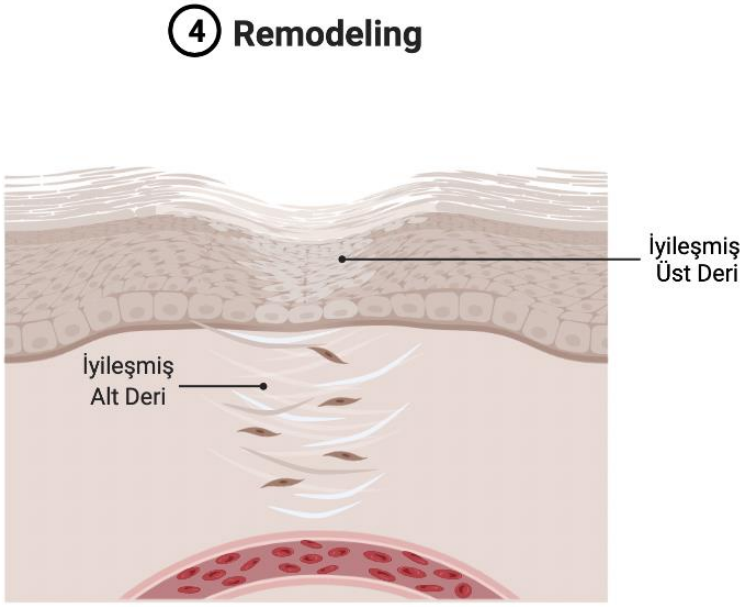
Epitelizasyon, epitel hücre dekolmanı ve iç yapılarında değişiklik, göç, çoğalma ve farklılaşmayı içeren çok aşamalı bir süreçtir (O'Toole, 2001). Sağlam olgun epidermis, dermise en yakın küboidal bazal keratinositlerden en üst katmandaki düzleştirilmiş, altıgen, sert keratinositlere kadar değişen beş farklılaşmış epitel hücre katmanından oluşur. Sadece bazal epitel hücreleri çoğalma yeteneğine sahiptir. Bu bazal hücreler normal olarak komşu hücrelere dezmozom adı verilen hücreler arası bağlantılarla ve hemidesmozomlarla bazal membrana bağlanır. İyileşme sürecinde EGF, keratinosit büyüme faktörü (KGF) ve TGF-a gibi büyüme faktörleri salındığında bu epitel hücrelerindeki reseptörlere bağlanarak migrasyon ve proliferasyonu uyarır. Büyüme faktörlerinin bağlanması, hücrelerin göçe hazırlık olarak ayrılabilmesi için dezmozomları ve hemidesmozomları çözünmeye tetikler. İntegrin reseptörleri daha sonra eksprese edilir ve normalde küboidal bazal epitel hücreleri şekil olarak düzleşir ve kolajen liflerini takip ederek yeni biriken granülasyon dokusu üzerinde tek tabaka halinde göç etmeye başlar.

Bazal epitel hücrelerinin yara kenarına yakın çoğalması, ilerleyen tek katmanlı hücre önlüğüne yeni hücreler sağlar (aktif olarak göç eden hücreler çoğalma yeteneğine sahip değildir). Tek tabakanın ön kenarındaki epitel hücreleri, hücrelerin kabuk, yüzey nekrozu veya eskar içine nüfuz etmesini sağlayan proteolitik enzimler (MMP'ler) üretir ve salgılar. Göç, epitel hücreleri, birleşik bir tabaka oluşturmak için diğer ilerleyen hücrelerle temas edene kadar devam eder. Bu temas sağlandıktan sonra, tüm epitelyal tek tabaka çoğalma moduna girer ve epidermisin tabakaları yeniden kurulur ve bariyer fonksiyonunu eski haline getirmek için olgunlaşmaya başlar. TGF-b, epidermal tabakaların olgunlaşmasını (farklılaşma ve keratinizasyon) hızlandırabilen bir büyüme faktörüdür. Hücreler arası dezmozomlar ve yeni oluşan bazal membrana hemidesmozom ekleri de yeniden kurulur.

Yeniden şekillenme- Remodeling

Yeniden şekillenme, granülasyon dokusunun yaraya dönüştüğü ve doku gerilme mukavemetinin arttığı iyileşme sürecinin son aşamasıdır (Şekil 2.28). Granülasyon dokusunun olgunlaşması, daha büyük damarlara agregasyon yoluyla kılcal damarların sayısında bir azalmayı ve GAG'ler, proteoglikanlarla bağlantılı glikozaminoglikan ve su miktarında bir azalmayı içerir. Olgunlaşma sırasında granülasyon dokusundaki hücre yoğunluğu ve metabolik aktivite azalır. Ayrıca, gerilme mukavemetini artıran kolajenin

tipi, miktarı ve organizasyonunda da değişiklikler meydana gelir. Başlangıçta, tip III kollajen yüksek seviyelerde sentezlenir ancak yerini deride baskın fibriller kollajen olan tip I kollajene bırakır. Yeni epitelize olmuş bir yaranın gerilme kuvveti, normal dokunun sadece yaklaşık %25'i kadardır. İyileşmiş veya onarılmış doku asla yaralanmamış normal dokular kadar güçlü değildir. Doku gerilme mukavemeti, öncelikle granülasyon sırasında rastgele biriken kolajen liflerinin yeniden düzenlenmesi ve fibroblastlar tarafından ECM'ye salgılanan enzim, lisil oksidaz tarafından kolajen moleküllerinin kovalent çapraz bağlanmasının artmasıyla arttırılır. Birkaç ay veya daha fazla bir süre içinde, onarılan dokudaki kolajen organizasyonundaki değişiklikler, gerilme mukavemetini yavaş yavaş normal dokunun maksimum yaklaşık %80'ine kadar artıracaktır. Son olarak, kolajen yeniden şekillenme sürecinde kolajen degradasyonu meydana gelir. Fibroblastlar, nötrofiller ve makrofajlardaki spesifik kolajenaz enzimleri, molekülü üç zincirin tamamı boyunca belirli bir bölgede tutturur ve onu karakteristik üç çeyrek ve dörtte birlik parçalara ayırır. Bu kolajen fragmanları, diğer proteazlar tarafından denatürasyona ve sindirime uğrar.



Şekil 2.28. Yeniden modelleme. Başlangıçtaki düzensiz yara dokusu, yavaş yavaş normal derinin organize ECM'sine daha çok benzeyen bir matris ile değiştirilir.

2.8. İlaç Dağıtım Sistemleri

İlaç, Amerikan Gıda ve İlaç ajansı (FDA)'ya göre hastalıkların teşhisinde, iyileştirilmesinde, hafifletilmesinde, tedavisinde veya önlenmesinde kullanılması amaçlanan etken maddedir. İlaç dağıtımı, bir hastaya vücudun bazı bölgelerindeki ilaç konsantrasyonunu spesifik olarak artıran bir şekilde ilaç verme tekniğidir. Herhangi bir dağıtım sisteminin nihai hedefi, hastalıklı dokudaki ilacı korumalı bir etkileşimle genişletmek, sınırlamak ve hedeflemektir. Her dozaj formu, ilaç/aktif farmasötik bileşenlerin ve eksipiyanlar/katkı maddeleri adı verilen ilaç dışı bileşenin bir kombinasyonudur (Langer, 1998).

2.8.1. Konvansiyonel ve kontrollü ilaç dağıtım sistemleri

Konvansiyonel ilaç dağıtım sistemleri (tabletler, kapsüller, şuruplar vb.) vücuttan çok hızlı bir şekilde atılır ve doz terapötik pencere içinde iyi korunmaz. Tek bir doz aldıktan sonra, ilaç çok hızlı bir şekilde metabolize olur ve ilaç seviyesi artar, hemen ardından üstel bir azalma olur. Zaman çerçevesi, önemli bir terapötik etki üretecek ve alt terapötik bir yanıtla sonuçlanacak kadar uzun olmayabilir.

Konvansiyonel ilaç dağıtım sistemlerindeki plazma ilaç konsantrasyonunu minimum etkili konsantrasyonun üzerinde ve toksik konsantrasyonun altında tutmak için birçok çalışma yapılmıştır. Düzenli zaman aralıklarında birden fazla doz uygulanması, tek bir doza alternatif gibi görünebilir, ancak bu plazma ilaç seviyelerinde dalgalanmalara neden olur ve sıklıkla etkili seviyelerin altına ve toksik seviyelerin üstüne ulaşır. Diğer bir yaklaşım, gerekli dozdan daha fazla tek doz verilmesidir, bu da ilacın amaçladığı etkiler dışında yan etkilere yol açar. Bu nedenle, plazma ilaç seviyelerini terapötik pencere içinde sabit bir oranda tutmak ve istenen terapötik etkiyi daha uzun bir süre boyunca sunmak için kontrollü ilaç salıverme sistemleri gereklidir (Hardenia ve diğerleri, 2019).

Konvansiyonel ve kontrollü ilaç dağıtım sisteminin avantaj ve dezavantajları Çizelge 2.4’ te sunulmuştur.

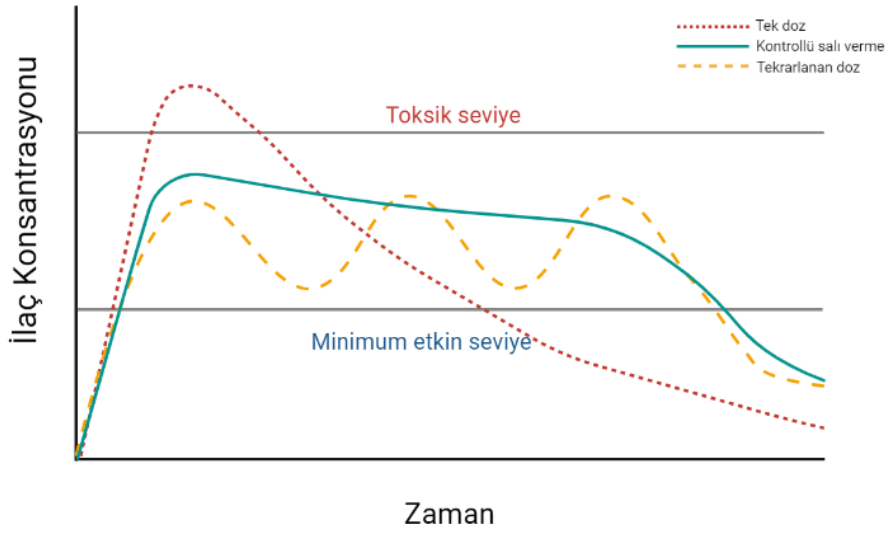
Çizelge 2.4. Konvansiyonel ve Kontrollü ilaç dağıtım sistemlerinin avantaj ve dezavantajları

Konvansiyonel İlaç Dağıtım Sistemi	Kontrollü İlaç Dağıtım Sistemi
Avantaj	
Yönetimde kolaylık	Kontrollü veya tanımlanmış ilaç salıverme
Non-invaziv ve daha iyi *in vivo-in vitro* korelasyon	Hedefte özgüllük
Doğru ve ölçülü birim dozaj formu	İlacın vücutta uzun süre ikamet etmesi
Daha yüksek raf ömrü	Enzimler/kimyasallar tarafından gelişen metabolizmaya karşı koruma
Hasta varyasyonunu barındırın	Geliştirilmiş biyoyararlanım
Hekim için doz ayarlaması esnekliği	Düşük dozlama sıklığı
Düşük maliyetli	Daha iyi hasta uyumu
Dezavantaj	
Uygulama bölgesinden zayıf emilim	Kullanılan malzemelerin olası toksisitesi
Hedef özgüllüğü yok	Doz boşaltma
Vücuttan erken atılım	Sisteme yerleştirmek veya çıkarmak için invaziv prosedür
İlacın erken metabolizması	Retikulo Endotelyal sistem tarafından alım etkinliği azaltır
Zayıf biyoyararlanım	Daha düşük *in vitro-in vivo* korelasyon
Tekrarlanan dozlama	Sınırlı standartlar
Kötü hasta uyumu	Daha yüksek üretim maliyeti

2.8.2. Kontrollü ilaç dağıtım sistemleri

Kontrollü ilaç dağıtım sistemleri, uzun bir süre boyunca kanda ve dokuda sabit bir ilaç seviyesinin muhafaza edildiği ilaç dağıtım sistemidir. Konvansiyonel ve kontrollü olmak üzere iki tip dağıtım sistemi için zamana karşı bir ilacın plazma konsantrasyonunun farmakokinetik (PK) eğrileri Şekil 2.29'da gösterilmektedir. Konvansiyonel bir dağıtım sisteminde, oral tabletler veya enjeksiyonlar ile çoklu dozlama için, ilaç seviyesinin minimum etkili konsantrasyonun üstünde ve altında dalgalandığı bir PK vardır. Kontrollü

dağıtım sistemi ise, belirli bir formülasyon veya cihazdan yalnızca tek bir doz kontrollü ilaç dağıtımı ile sıfır dereceli PK gösterir. İlaç seviyeleri sürekli olarak terapötik pencere içinde tutulur (Park, 2014).



Şekil 2.29. İlaç konsantrasyonu dağılım eğrileri

Kontrollü ilaç dağıtım sistemleri, önceden belirlenmiş bir süre boyunca her zaman noktasında ilacın kesin dozunu serbest bırakarak ilaç plazma seviyelerini sürekli olarak korur. Bu, dozun ve dozlama sıklığının azaltılmasına yardımcı olur ve hasta uyumunu artırır. Biyolojik çevreye daha çok ilaç maruziyetini, ilaç toksisitesini ve yan etkileri azaltır. Dozaj formunun genel etkinliği artırılmıştır (Hardenia ve diğerleri, 2019).

2.8.3.Kontrollü salıverme ilaç dağıtım sistemlerinin tasarımı

Kontrollü salıvermeli bir ilaç dağıtım sistemi tasarlanırken, çeşitli faktörlerin ve parametrelerin göz önünde bulundurulması gerekir; parametreler genel olarak formülasyonla ilgili ve ilaçla ilgili olarak sınıflandırılır. Formülasyonla ilgili parametreler altında, biyomateryal özellikler, uygulama yolu, farmakokinetik ve stabilite geliştirme ana faktörlerdir. Ek olarak, ilaçla ilgili parametreler arasında plazma proteinleri ile ilaç bağlama etkinliği ve ilacın biyolojik bariyerleri geçme yeteneği ve düzenleyici yönler de dozaj formunun tasarlanmasında en önde gelen kriterlerdir (Hardenia ve diğerleri, 2019).

Biyouyumluluk, yüzey kimyası, hidrofiliklik, bozunma, mekanik ve reolojik özellikler gibi biyomalzeme özelliklerinin çalışılması gerekmektedir. Ayrıca biyomalzemelerin çeşitli pH ve sıcaklıklardaki davranışlarının da değerlendirilmesi gerekmektedir. İlaç uygulama yolları, uygun biyomateryali seçmek ve dozaj formunu tasarlamak için kritik öneme sahiptir.

İlacın amaçlanan farmakolojik aktivitesinin istenilen bölgeye hedeflenmesi, diğer organlarda istenmeyen ilaç etkilerinin önlenmesi için son derece önemlidir. Bu, antikor etiketleme, ligandların eklenmesi ve lokalize teslimat ile gerçekleştirilebilir. Biyolojik engeller, beyin, kemik ve testisler dahil olmak üzere belirli bölgelere ilaç dağıtımını hedeflemenin önündeki bir engeldir. Geçirgenlik arttırıcılar ve nanotaşıyıcılar ile formüle edilen ilaçlar, engelleri aşabilen ve ilacı hedef bölgeye ulaştırabilen alternatiflerdir (Singh ve diğerleri, 2019).

2.8.4.Kontrollü ilaç salıverme sistemlerinin sınıflandırılması

Kontrollü ilaç salıverme sistemleri, dozaj formundan ilaç salıverme mekanizmasına göre çözünme kontrollü, difüzyon kontrollü, su penetrasyon kontrollü (ozmotik basınç kontrollü ve şişme kontrollü), kimyasal kontrollü ve nanopartikül bazlı sistemler olarak sınıflandırılır (Gupta ve diğerleri, 2010).

1. Çözünme Kontrollü İlaç Dağıtım Sistemleri

Çözünme kontrollü salıverme sistemlerinde, ilaçlar sırasıyla yavaş çözünen polimerik membranlar (rezervuar sistemleri) veya matrisler (monolitik sistemler) ile kaplanır veya bunların içinde kapsüllenir. Rezervuar sistemlerinde, ilaçlar düşük çözünürlüğe sahip polimerik membranlar içinde korunur. Konvansiyonel hemen salınan tabletlerin, hapların ve efervesan tabletlerin çoğu, hız sınırlayıcı adımın çözünme olduğu çözünme kontrollü sistemlerdir (Wang ve Shmeis 2006).

2. Difüzyon Kontrollü İlaç Dağıtım Sistemleri

Difüzyon kontrollü salıverme sistemlerinde ilaçlar, suda çözünmeyen inert polimerik membranlara veya polimerik matrislere hapsedilir ve difüzyon yoluyla salınır. Bunlar,

membran kontrol rezervuar sistemleri ve monolitik matris sistemleri olarak sınıflandırılır. İlaç salınımı, Fick'in difüzyon yasalarına tabidir. Difüzyon kontrollü sistemlerde hız sınırlayıcı adım, ilaçların difüzyonudur (Siepmann ve diğerleri, 2012).

Fick'in birinci difüzyon yasası (Formül 2.1), difüzyondan kaynaklanan molar akının (J) konsantrasyon gradyanıyla (dc/dx) orantılı olduğunu belirtir. Fick'in ikinci yasası (Formül 2.2), uzayda bir noktada çözeltinin konsantrasyonunun değişim hızının, konsantrasyonun ikinci türeviyle orantılı olduğunu belirtir. Herhangi bir mesafede zamanla konsantrasyon gradyanındaki değişikliklerle ilgilenir. Fick yasasına uyan ilaç salıverme Fickian difüzyonu olarak adlandırılırken, uymayanlar Fickian olmayan veya anormal difüzyon olarak kabul edilir (Siepmann, 2012).

Fick'in birinci yasası:

$$J \propto \frac{dc}{dx} \quad \text{or} \quad J = D \cdot \frac{dc}{dx} \tag{2.1}$$

Fick'in ikinci yasası:

$$\frac{dc}{dt} = D \cdot \frac{d^2c}{dx^2} \tag{2.2}$$

dc = İlaç konsantrasyonundaki değişiklik (g/cm^3),
dx = Mesafedeki değişim (cm),
D = Difüzyon sabiti (cm^2/s),
J = Akış ($cm^{-2}\ s^{-1}$),
dt = Zamandaki değişim (s).

Difüzyon kontrollü sistemler, membran kontrollü ve monolitik veya matris sistemler olarak sınıflandırılır. Membran kontrollü sistemlerde, ilaç bir rezervuar olarak çekirdekte bulunur ve ince bir polimerik zar ile kaplanır. Membran gözenekli veya gözeneksiz olabilir. İlaçların salıverilmesi zardan difüzyonla olur ve salıverme hızı zar kalınlığı, gözeneklilik ve ilaçların fizikokimyasal özellikleri (bölme katsayısı, moleküler boyut ve yayılma, protein bağlama ve dozaj) tarafından yönetilir.

Monolitik veya matris kontrollü dağıtım sistemlerinde, ilaç polimer matrisi boyunca ya çözülür ya da homojen olarak dağılır. İlaç salıverme, çözeltiye maruz kalan dış tabaka ilk önce çözüldüğünde difüzyon yoluyla olur ve ilaçların matristen dışarı yayılmasına izin verir. Bir ilacın çözüldüğü monolitik sistemlerde, ilaçlar çözünürlük sınırının altında yüklenir. Matriksin boyutu küçüldükçe salınan ilaç azalır. Burada ilaç salımı sıfırdan farklı bir düzendir, yani emilim hızı ≠ eliminasyon hızı. İlaçların polimer matris içinde dağıldığı monolitik sistemlerde, ilaçlar çözünürlük sınırının üzerinde yüklenir (Siepmann ve diğerleri, 2012).

3. Su Penetrasyon Kontrollü İlaç Dağıtım Sistemleri

Bunlar ozmotik basınç kontrollü ilaç dağıtım sistemleri ve şişme kontrollü ilaç dağıtım sistemleri olarak sınıflandırılır. Hız kontrolü, sisteme su girmesine bağlıdır.

3.1. Ozmotik Kontrollü İlaç Taşıma Sistemleri

Ozmotik ilaç dağıtımı, ozmojenleri kullanarak ilaçların kontrollü dağıtımını gerçekleştirir. Osmoz, çözücünün yarı geçirgen zar boyunca daha düşük bir çözünen konsantrasyonundan daha yüksek bir çözünen konsantrasyonuna doğru hareket sürecini ifade eder. Ozmotik basınç, farklı konsantrasyonlarda çözünen madde içeren iki çözeltiyi ayıran yarı geçirgen bir zardan suyun akışının uyguladığı basınçtır. Bu sistemler her iki uygulama yolu için de kullanılabilir, yani oral ve enjekte edilebilirler (Srikonda ve diğerleri, 2006).

Ozmotik ilaç dağıtım sistemlerinin temel bileşenleri; ozmojen olarak hareket edebilen ilaçtır, yoksa formülasyona ozmojenik tuz eklenebilir. Yeterli ıslak mukavemete ve su geçirgenliğine sahip, biyouyumlu ve cihaz içindeki basınca karşı dayanıklı, yarı geçirgen bir membrana ihtiyaç vardır. Bunun dışında su geçirgen, çözünen madde geçirmeyen bir dış kaplama malzemesi kullanılabilir. Selüloz asetat, selüloz triasetat ve etil selülozlar gibi polimerler, ozmotik ilaç dağıtım sistemlerinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Ozmotik kontrollü dağıtım sistemlerinin avantajları, ilacın artan etkinliğini, kontrollü ilaç dağıtımını ve azaltılmış doz sıklığını içerir (Patil ve diğerleri, 2018).

3.2. Şişme Kontrollü İlaç Dağıtım Sistemleri

Şişme kontrollü ilaç dağıtım sistemlerinde, ilaç camsı (sert ve katı) haldeyken hidrofilik polimer içinde dağılır veya çözülür. Sulu bir çözeltide, su matrise nüfuz eder ve polimerin cam geçiş sıcaklığı ortam sıcaklığının altına düşer. Bu, matrisi şişirir ve lastiksi yapar, bu da şişmiş kauçuksu polimer matrisinden yavaş ilaç difüzyonuna neden olur.

4. Kimyasal Kontrollü İlaç Dağıtım Sistemleri

Kimyasal olarak kontrol edilen dağıtım sistemleri, biyolojik ortama maruz kaldıklarında kimyasal yapılarını değiştirir. Bunlar, doğal biyolojik süreçlerin bir sonucu olarak vücutta bozunan biyobozunur polimerlerden yapılmıştır ve sistemden aktif bir ajanın tüketilmesinden sonra dağıtım sisteminin çıkarılması ihtiyacını ortadan kaldırır. Bunlar iki tipte sınıflandırılır: Polimer-ilaç dispersiyon sistemi ve polimer-ilaç konjugat sistemleri. Polimer-ilaç dispersiyon sistemlerinde, ilaç biyobozunur bir polimer içinde homojen olarak dağılır veya çözülür ve fizyolojik koşullar altında polimerlerin bozunması yoluyla salınır. İki tür biyolojik bozunma rapor edilmiştir: polimerlerin yığın halinde parçalanması yoluyla oluşan yığın erozyonu ve polimerlerin yüzeyden parçalanması veya polimerlerin yüzeyden çözünmesine bağlı yüzey erozyonu, bozunmayı etkileyen çeşitli faktörler (biyoerozyon ve toplu erozyon) kimyasal yapı ve bileşimi, beklenmedik birimlerin veya zincir kusurlarının varlığını, konfigürasyonu ve moleküler ağırlığı içerir (Kopeček, 2013).

2.8.5. Kontrollü salıverme dozaj formu tasarımı: Pratik Hususlar

Kontrollü ilaç dağıtım sistemlerinin geliştirilmesinin bilimsel gerekçesi, doz ve dozaj sıklığını azaltmak, kan plazma seviyelerindeki dalgalanmaları, hasta uyumunu ve yan etkileri azaltmak ve ilacın toksisitesini azaltmaktır. İlacın vücutta bulunurluk oranı, ilacın salım sistemindeki emilim fizyolojisi tarafından korunurken, kontrollü ilaç verilmesi durumunda, uygulama hızı ilacın dozajına bağlıdır. Kontrollü ilaç dağıtımının temel amacı, ilaç uygulama sıklığını en aza indirmektir. İlacın gerekli terapötik konsantrasyonunu elde etmek ve ilacın konsantrasyonunu belirli bir süre boyunca korumak için taşıyıcı ajan iki kısımdan oluşur. İlacın ilk kısmı yükleme dozunu, ikinci kısmı ise idame dozunu içermelidir. İlacın istenen tepkisi, yükleme dozu ile elde edilir

(başlangıçtaki patlama dozu, farmakolojik etkinin hızlı bir şekilde başlamasına neden olur) ve ilacın idame dozu salıvermesi, yavaş ve sabit bir hızda (sıfır derece kinetiği takiben) uygulanır. İlacın farmakolojik etkisini korumak için ilacın uygulandığı idame dozunun oranı, ilaç çıkış hızına eşit olmalıdır (Benoit ve diğerleri, 2020; Park, 2014). Bu nedenle, yukarıda belirtilen özelliklere sahip olması gereken ideal bir ilaç taşıma sisteminin geliştirilmesi gerekmektedir.

2.8.6. Kontrollü ilaç dağıtımında biyomalzeme kavramı

İlaç dağıtım sistemindeki biyomalzemeler, ilacın farmakokinetiğini modüle etmeye yardımcı olur. Biyomalzeme, terapötik veya teşhis amaçlı tıbbi bir amaç için biyolojik sistemlerle etkileşime girecek şekilde tasarlanmış bir maddedir. Polimerlerin veya biyomalzemelerin seçimi, tanımlanmış fizikokimyasal özelliklere ve ilaç salıverme profillerine sahip bir ilaç dağıtım sistemi tasarlamada önemli bir rol oynar. Polimerler, polisakkaritler, proteinler, lipidler ve peptitler gibi farklı biyomalzeme türleri, farklı uygulama yollarında nano boyuttan makro boyuta kadar değişen uzunluklardaki ölçeklerde ilaç dağıtım sistemlerinde kullanılmaktadır. Biyomalzemeler, formülasyon tipine, ilaç verme yerine ve yoluna göre seçilmelidir. Biyouyumlu, biyolojik olarak parçalanabilen, toksik olmayan, tercihen hidrofilik ve muko-yapışkan ve optimum mekanik mukavemete sahip olmalıdır. Kontrollü ilaç dağıtımında hem bozunmayan hem de biyolojik olarak bozunabilen biyomateryaller kullanılmaktadır. Bozunma ilaç dağıtım sistemini vücuttan çıkardığı ve toksik kalıntıların birikmesini önlemeye yardımcı olduğu için biyobozunur polimerler tercih edilir (Fenton ve diğerleri, 2018).

Uyaranlara Duyarlı Biyomalzemeler

Fiziksel veya kimyasal dış uyaranlara yanıt verebilen biyomalzemelere akıllı veya uyaranlara yanıt veren polimerler denir. Akıllı polimerler iki türe ayrılabilir: Tekli uyaranlara duyarlı polimerler ve ikili veya çoklu uyaranlara yanıt veren polimerler. Tek uyaran, hidroliz (moleküler konformasyonel değişim) ile protonasyon ve bölünmenin indüklenmesine yardımcı olur. Bu indüksiyon süreci, dışsal ve içsel uyaranlar olarak kategorize edilebilir. Sıcaklık, elektrik darbesi ve manyetik alan dışsal uyarıcılardır. Enzim konsantrasyonu, hormon seviyeleri, pH ve redoks potansiyeli, tümü içsel uyaranlar

altında kategorize edilir. Polimerlerden ilaç salı verilmesini kontrol etmek için iki tip strateji vardır. İlk olarak, nano taşıyıcılar, kargoları aktive ederek serbest bırakmak için kullanılabilir. İkinci olarak, yüklü yüzeyin polimeri, hedeflenen hücreler tarafından aktive edilebilir (Adeosun ve diğerleri, 2020).

Çizelge 2.5. Kontrollü ilaç dağıtım sistemlerinin geliştirilmesinde kullanılan çeşitli polimerlerin listesi (Srivastava vd. 2015; Bawa vd. 2009)

Sentetik Polimerler	Doğal Polimerler	Uyaranlara Duyarlı Polimerler
Polihidroksi etil metakrilat Poli(2-hidroksietil metakrilat) Etil selüloz Hidroksipropil metil selüloz (HPMC) Polilaktik asit (PLA) Polilaktik-co-glikolik asit (PLGA) Polikaprolakton Polivinil pirolidin (PVP) Polimetil metakrilat (PMMA) Poli-(N-izopropil akrilamid) (PNIPAM) Poli(etilenimin) Siklodekstrin (α, β, γ) Karbomerler	Aljinatlar Nişastalar Dekstranlar Selüloz Sakızlar (Akasya, Kitre, Guar sakızı) Kitosan Kollajen Jelatin Mikrobiyal polimerler (Polihidroksi bütirat) Arginin türevleri	**pH duyarlı:** Poliasitler (PLA, Polimetakrilat, Poli aspartat, alginatlar) Polibazlar (Kitosan, poli-L-Lizin, Poliallilamin, Poli etilen amin) **Isı duyarlı:** Poli-(N-İzopropil akrilamid) (PNIPAM) Poli-(N-Vinilkaprolaktam) Poli(N,N-dimetil akrilamid) Poli (metil vinil eter) **Elektrik duyarlı:** sülfonatlı polistirenler Poli(tiyofen)ler Poli(etil oksazolin)ler **Ultrasona duyarlı:** etilen-vinil asetat **Hafif duyarlı:** Modifiye poli(akrilamid)ler

3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Kullanılan Cihazlar ve Sarf Malzemeler

3.1.1 Kullanılan sarf malzemeler

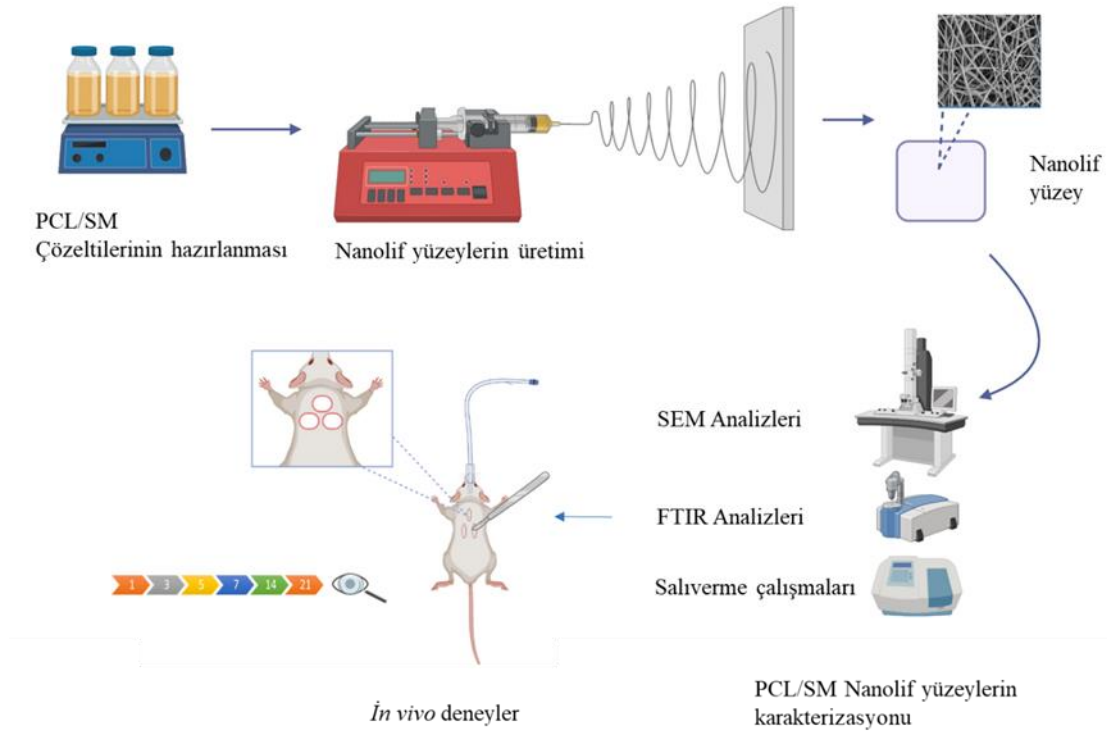
Nanolif yüzey üretimi, *in vitro* ve *in vivo* deneylerde kullanılan sarf malzemeler Çizelge 3.1'de verilmiştir.

Çizelge 3.1. Kullanılan sarf malzemeler

Nanolif Üretiminde Kullanılan Sarf Malzemeler		
Malzeme	**Spesifik Özellik**	**Firma**
Polikaprolakton (PCL)	$(C_6H_{10}O_2)_n$ MA: 80,000 g/mol	Sigma-Aldrich
Silymarin (SM)	S0292 Kodlu Toz Form	Sigma-Aldrich
Diklorometan (DCM)	CH_2Cl_2, ≥%99	Carlo Erba Reagents
Dimetilformamid (DMF)	C_3H_7NO, ≥%99	Carlo Erba Reagents
***in vitro* Çalışmalarda Kullanılan Sarf Malzemeler**		
Malzeme	**Spesifik Özellik**	**Firma**
Sodyum klorür (NaCl)	Mw: 58.44 g/mol	Merck
Potasyum klorür (KCl)	MA: 74.56 g/mol	Merck
Potasyum dihidrojen fosfat (KH_2PO_4)	MA: 136.09 g/mol	Sigma- Aldrich
Disodyum hidrojenfosfat dihidrat (Na_2HPO_4. $2H_2O$)	MA: 141.96 g/mol	Merck
Saf su		
***in vivo* Deneylerde kullanılan Sarf Malzemeler**		
Malzeme	**Spesifik Özellik**	
3M Tegaderm	Ticari yara örtüsü	
Sevorane	%100 inhalasyon çözeltisi	
Povidon iyot isosol	Batikon dezenfektan	
Metadem	Ağrı kesici	

3.1.2. Çalışmada kullanılan alet ve cihazlar

- Hassas terazi (Weightlab Instruments, WSA-224)
- Manyetik karıştırıcı (Weightlab Instruments, WN-H320)
- Viskozite ölçüm cihazı (Brookfield RV-DV II + Pro Extra)
- Dijital mikrometre (Insıze)
- Temas açısı ölçüm cihazı (KSV-The Modular CAM 200)
- Elektro çekim cihazı (Inovenso, NE300NanoSpinner)
- Taramalı elektron mikroskobu (SEM) (Carl Zeiss, AG-EVO 40 XVP)
- Fourier transform infrared spektrometre (FTIR) (Perkin–Elmer Spectrum 100)
- pH metre (Iso Lab)
- UV spektrofotometre (Shimadzu, UV-1601)
- Çalkalamalı su banyosu (Nuve, ST30)
- UV sterilizasyon kabini (Nuaıre, Class II Type A/B3)
- Steril operasyon setleri



Şekil 3.1. Deneyin şematik gösterimi

3.2. Nanolif Yüzey Üretimi Çalışmaları

3.2.1. Polimer çözeltilerinin hazırlanması

Nanolif yüzey üretimi için farklı oranlarda Silymarin içeren PCL çözeltileri hazırlanmıştır. Buna göre; PCL polimerinin çözelti içerisindeki konsantrasyonu %10 (w/v)'da sabit tutularak, çözeltinin içerdiği polimere oranla ağırlıkça %5, %7,5 ve %10 (w/w) Silymarin içeren üç farklı karışım çözeltisi hazırlanmıştır.

Kontrol numunesi olarak kullanılacak Silymarin içermeyen katkısız yüzeylerin üretimi için %10 (w/v) PCL polimer çözeltisi hazırlanmıştır.

Polimer çözeltisi hazırlanırken öncelikle PCL polimeri istenilen miktarda tartıldıktan sonra üzerine DMF: DCM (60:40) çözücüleri eklenerek 300 rpm ve 35 ℃ de manyetik karıştırıcı üzerinde karıştırılarak iyice çözünmesi sağlanmıştır. Diğer bir yandan hesaplanan miktardaki Silymarin hassas terazi üzerinde tartılarak kullanılan total çözücü miktarından ayrılan DMF: DCM çözücüleri ile birlikte manyetik karıştırıcı üzerinde tamamiyle çözünene kadar karıştırılarak homojen hale geldikten sonra polimer çözeltisi içerisine eklenerek homojen olacak şekilde iyice birleşip karışması sağlanmıştır. Tüm çözeltilerin hazırlanmasında aynı işlem basamakları takip edilmiştir.

3.2.2. Hazırlanan çözeltilerin viskozite ölçümleri

Viskozite

Viskozite, bir akışkanın, yüzey gerilimi altında deforme olmaya karşı gösterdiği direncin ölçüsüdür. Akışkanın akmaya karşı gösterdiği iç direnç olarak da tanımlanabilir. Sürtünme direnci artıkça, sıvıyı kaydırmak için gerekli olan kayma kuvveti artacaktır. Elektro çekim işleminde çok düşük viskoziteye sahip polimer çözeltiler devamlı ve düzgün lifler oluşturmazken, çok yüksek viskozite değerlerinde çözeltinin akışı zorlaşır ve lif üretiminin engellenmesine neden olabilir. Hazırlanan çözeltilerin viskoziteleri oda sıcaklığında ve 50 rpm kayma hızında Brookfield RV-DV II + Pro Extra marka viskozimetre ile ölçülmüştür.

3.2.3. Elektro çekim yöntemi ile nanolif yüzey üretimi

Elektro çekim işleminde hazırlanan polimer çözeltisine yüksek elektrik kuvvetleri uygulanarak toplayıcı üzerinde nano boyutta polimerik liflerin oluşumu sağlanır. Bu işlemde doğru parametrelerin belirlenmesi istenilen boyut, incelik-kalınlık ve morfolojide liflerin üretimi için önemli adımlardır.

Nanolif yüzeylerin üretiminde, Bursa Uludağ Üniversitesi Tekstil mühendisliği bölümü Nanoteknoloji Karakterizasyon Laboratuvarında bulunan Inovenso marka NE300NanoSpinner model elektro çekim cihazı kullanılmıştır. Cihaz, besleme pompası, yüksek voltaj kaynağı ve toplayıcı yüzeyden (düz plaka veya döner silindir) oluşmaktadır.



Şekil 3.2. Tez çalışmasında kullanılan elektro çekim cihazı

Nanolif yüzey üretimine başlamadan önce yapmış olduğumuz literatür taraması ve ön çalışmalar sonucunda; Silymarin katkılı nanolif yüzeylerin üretimi için en uygun voltaj, besleme oranı, düze ve toplayıcı arası mesafe gibi proses parametreleri denenerek üretimde kullanılacak parametreler belirlenmiştir. Belirlenen parametreler Çizelge 3.2'de verilmiştir.

Çizelge 3.2. Elektro çekim üretim parametreleri

PCL Konsantrasyonu (%)	Silymarin Konsantrasyonu (%)	Besleme oranı (ml/saat)	Mesafe (cm)	Voltaj (kV)
10	5	0,7	20	19-21
	7,5			
	10			

3.3 Silymarin Katkılı Nanolif Yüzeylerin Karakterizasyonları

3.3.1. SEM analizleri

Üretilen nanolif yüzeylerin, yüzey morfolojileri, lif dağılımı ve lif çaplarının belirlenebilmesi için Carl Zeiss, AG-EVO 40 XVP marka, Taramalı Elektron Mikroskobu (SEM) kullanılmıştır. Görüntüleme öncesinde yüzeyler iletken hale getirilmek amacıyla plaka üzerine yerleştirilerek altın-paladyum alaşımı ile kaplanmıştır. Numuneler SEM mikroskobuna yerleştirilerek görüntüler alınmıştır.

Alınan görüntülerden lif çapı ve dağılımını belirlemek için Image-J programı kullanılmıştır. Image-J bir görüntü analiz programıdır ve nanoliflerin karakterizasyonunda da kullanılmaktadır. Alınan görüntüler programa tanımlanarak 10 farklı noktadan yapılan çap ölçümlerinin ortalaması hesaplanarak standart sapma değeri belirlenmiştir.



Şekil 3.3. Taramalı elektron mikroskobu (SEM)

3.3.2. FTIR analizleri

Üretilen PCL, PCL/SM nanolifli yüzeylerin ve Silymarinin kimyasal yapı analizinde Fourier Transform İnfrared Spektrometresi (FTIR) kullanılmıştır. Analiz çalışması, Perkin–Elmer Spectrum 100 model cihaz ile 700- 4000 cm^{-1} frekans aralığında ve 4 cm^{-1} çözünürlükte yapılmıştır.



Şekil 3.4. FTIR spektrofotometre

3.3.3. Temas açısı ölçümleri

Temas açısı ölçümü bir materyalin üzerine sıvı damlatılarak çeşitli optik sistemlerin yardımı ile damlanın boyutlarına göre değerlendirilmesidir. Bu çalışmada KSV-The Modular CAM 200 marka temas açısı ölçüm cihazı kullanılmıştır. Cihaz; sıvının damlatılacağı düzenek, yüzey üzerindeki damlayı görüntüleyen bir kamera, alınan görüntülerin gözlemlendiği monitör ve analiz işlemlerini sağlayan yazılımdan oluşmaktadır.



Şekil 3.5. Temas açısı ölçüm cihazı

Temas açısı ölçümü, yerleştirilen damla (sessile drop) tekniği kullanılarak, damla şeklinin analizi ile gerçekleştirilmiştir. Numunenin üzerine saf su damlatılarak yüzeyde oluşan damlanın görüntüsü cihaza entegre bilgisayardaki görüntü yakalama yazılımıyla alınmıştır. Aynı zamanda damlacığın 10 saniye boyunca temas açısındaki değişimi gözlemlenmiştir. Her bir numune için ölçümler üçer kez tekrar edilmiş, temas açısı değerlerinin ortalama ve standart sapma değerleri hesaplanmıştır.

3.3.4. Gözenek boyutu ve yüzey gözenekliliği tayini

Üretilen nanolifli yüzeylerin gözenek boyutu ve yüzey gözenekliliği tayini için 1,5 x 1,5 cm boyutunda numuneler kesilerek her bir numunenin ağırlıkları hassas terazide tartılarak, kalınlıkları dijital mikrometre ile ölçülmüştür (Çizelge 3.2).

Nanolifli yüzeyin gözenekliliği Formül 3.1'e göre hesaplanmıştır (Düzyer, 2017):

$$\varepsilon = (1 - \rho e/\rho f)\ x100 \qquad (3.1)$$

Burada; ε nanolifli yüzey gözenekliliği , ρe ve ρf değerleri sırasıyla, nanolifli yüzeyin ve polikaprolakton polimerinin yoğunluğudur (ρf:1,145 g/cm^3). Ortalama efektif gözenek çapı D ise, Formül 3.2 kullanılarak hesaplanmıştır:

$$D = \pi d/4(1-\varepsilon) \qquad (3.2)$$

Burada; d, ortalama nanolif çapıdır.

Çizelge 3.3. Üretilen nanolifli yüzeylerin ağırlık ve kalınlık değerleri

Nanolif Yüzey	Ağırlık (gr)	Kalınlık (cm)
PCL	0,0107	0,0285
%5 SM	0,0056	0,0143
%7,5 SM	0,0102	0,0272
%10 SM	0,0076	0,0115

3.3.5. Nanolif yüzeylerin sterilizasyonu

Biyomedikal uygulamalarda nanolif yüzeylerin steril edilmesi gerkemektedir. Yapmış olduğumuz literatür taraması sonucunda üretmiş olduğumuz nanolif yüzeylerin sterilizasyonu için en uygun yöntemin UV ile sterilizasyon olduğuna karar verilmiştir. Farklı sterilizasyon yöntemlerinin nanolif mekanik özellikleri üzerine etkisinin incelendiği çalışmalarda gösterildiği üzere UV ile sterilizasyon yönteminin nanolif yüzeylere en az hasar veren yöntem olduğu bulunmuştur (Düzyer ve diğerleri, 2013).

Silymarin katkılı ve katkısız PCL nanolifli yüzeyler 1 x 1 cm olacak şekilde kesilerek classII laminar akım kabini içerisinde 1 saat ön yüzeyleri ve 1 saat arka yüzeyleri olacak şekilde UV ile sterilize edilmiştir. UV ile sterilizasyon sonrasında yüzeylerin etken madde salıverme performanslarında her hangi bir değişiklik kaydedilmemiştir.

3.3.6. Nanolifli yüzeylerden etken madde salıverme çalışması

Silymarin salıverilmesinin değerlendirilmesi, vücut yara sıvısına benzer pH ve sıcaklıktaki ortamda gerçekleştirimiştir. Bu amaçla nanolif yüzeyler pH 7.4 ve 36°C'deki fosfat tampon çözeltisi içerisine konularak zamana bağlı olarak salıverme değerleri UV-VIS spektrofotometre ile incelenmiştir.

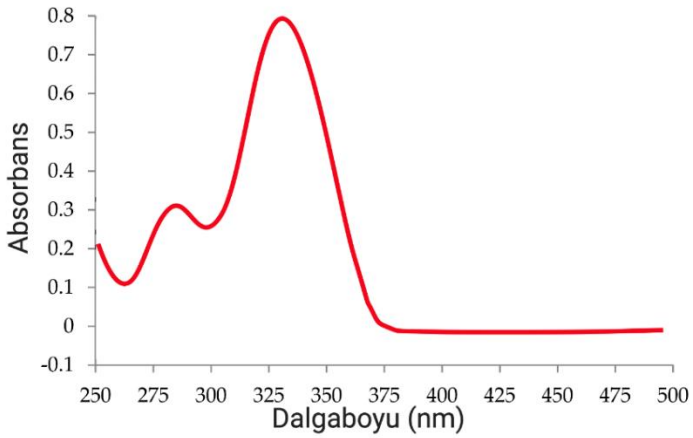
Fosfat tampon çözeltisinin hazırlanması

Manyetik karıştırıcı üzerinde, beher içerisine 200 mL saf su konulduktan sonra sırasıyla; 2 g NaCl, 50 mg KCl, 360 mg Na_2HPO_4 ve 60 mg KH_2PO_4 eklenerek, çözelti hacmi 250 mL' ye tamamlanarak homojen bir şekilde olana kadar karıştırılmaya bırakılmıştır. Hazırlanan fosfat tampon çözeltisi pH 7,4 olacak şekilde ayarlanmıştır.

Maksimum absorbsiyon yapan dalga boyunun belirlenmesi

Silymarin katkılı PCL nanolifli yüzeylerden salıverilen Silymarinin tampon çözelti içerisinde maksimum absorbsiyon yaptığı dalga boyunun belirlenmesi için, PCL/SM nanolifli yüzeylerden 1,5 x 1,5 cm alan kesilerek 2 mL tampon çözelti içerisine

daldırılmıştır. UV-VIS spektrofotometre cihazı kullanılarak 250-500 nm dalga boyu aralığında Silymarinin absorbsiyon spektrumu λmax değeri 325 nm olarak belirlenmiştir.



Şekil 3.6. Silymarinin UV-VIS spektrumu (pH 7,4 PBS çözelti içerisinde)

Silymarin için kalibrasyon grafiğinin çizilmesi

Kalibrasyon grafiği katkılı nanolifli yüzeylerden salıverilen Silymarin miktarının tayin edilebilmesi için oluşturulmuştur. 48.2 mg Silymarin, 10 mL tampon çözelti içerisine aktarılarak karıştırılmıştır. Karıştırma işleminden sonra çözelti 0.5 µm gözenek büyüklüğünde FH tipi tek kullanımlık filtreden geçirilerek stok çözelti elde edilmiştir. Her seferinde 1/10 dilüe edilerek, UV-VIS spektrofotometre ile absorbans değerleri belirlenmiştir. Silymarin'in elde edilen absorbans değerlerinden mg/mL cinsinden kalibrasyon grafiği çizilmiştir. Elde edilen absorbans değerleri referans değer olarak kabul edilmiştir.

PCL/SM nanolifli yüzeyden salıverilen Silymarin miktarının tespit edilmesi

Hazırlanan pH 7,4 fosfat tamponundan her bir şişeye 2 mL konularak 37°C ve 50 rpm'de çalkalamalı su banyosu içerisine yerleştirilmiştir. PCL/SM nanolifli yüzeylerinde 1,5 x 1,5 cm numuneler kesilerek ağırlıkları tartılmış ve %5 SM/PCL 0,61 mg SM/mg membran; %7,5 SM/PCL 0,7 mg SM/mg membran; %10 SM/PCL membranı içinse 1,14 mg SM/mg membran Silymarin içerdikleri hesaplanmıştır. Hazırlanan numuneler tartım

işleminden sonra hazırlanan tampon şişelerinin içerisine daldırılarak; 5, 10, 15, 20, 25, 30, 35, 40, 50, 60, 90, 120, 240, 360 dk ve 24, 48, 72, 96, 120, 144, 168 saatleri boyunca daldırıldığı tampon şişesinden alınarak her seferinde 2 mL taze fosfat tamponu şişesine aktarılmıştır. Her bir şişedeki çözeltinin absorbans değerleri ölçülmüştür. Elde edilen değerler λ=325 nm dalga boyunda takip edilmiştir.

3.3.7. Nanolifli yüzeylerin *in vivo* ortamda yara örtüsü olarak uygulanması

Üretilen katkılı ve katkısız nanolifli yüzeylerin yara iyileşmesi üzerine olan etkinliğinin ve ticari bir yara örtüsü ile karşılaştırılmasına yönelik çalışmalar deney hayvanları üzerinde gerçekleştirilmiştir. *İn vivo* çalışmalar için gerekli etik kurul onay belgesi, Bursa Uludağ Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul'undan 19.01.2021 tarihli ve 2021-01/05 karar numarası ile alınmıştır.

In vivo deneyler

Üretilen Silymarin katkılı nanolifli yüzeylerin yara örtüsü olarak performanslarının, ticari bir yara örtüsü ile karşılaştırılarak değerlendirilmesi için *in vivo* çalışmalar yapılmıştır. *İn vivo* çalışmalarda kullanılan sıçanlar Bursa Uludağ Üniversitesi Deney Hayvanları Yetiştirme ve Araştırma Merkezi'nden temin edilmiştir.

Yara iyileşmesi süreci gözlem ve takibinde 250-300 gr ağırlığında 8 adet dişi Wistar albino sıçanlar kullanılmıştır. Sıçanların her biri ayrı kafeslerde, ısı kontrollü (22-24 ℃), 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık döngüsüne sahip odalarda tutularak yem ve su alımları serbest bırakılmıştır.



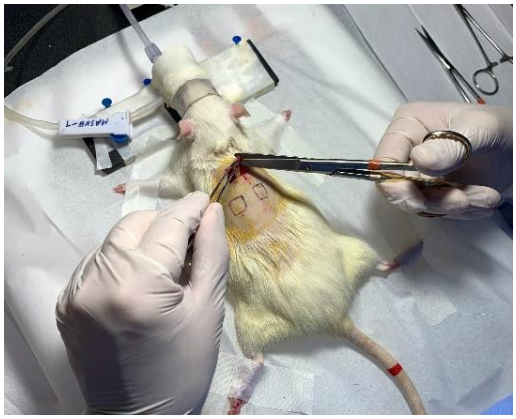
Şekil 3.7. Wistar albino sıçan

İşlem öncesi hayvanlar tek tek tartılarak ağırlıkları not edilmiş ve kuyrukları boyanarak işaretlenmişlerdir. Hayvanlara, inhalasyon yolu ile sevofluran anestezisi uygulanmıştır. Anestezi derinliği, pedal refleks ile takip edilmiştir.

Hayvanların sırt bölgelerinde yaklaşık 6 x 6 cm bir alan traş edilerek tüylerinden arındırılmış ve Baticon solüsyonu sürülerek steril hale getirilmiştir. Yara modeli oluşturulmadan önce hayvanlara 5 mg/kg olucak şekilde Deksketoprofen trometamol etken maddesi içeren ağrı kesici intramuscular olarak yapılmıştır.



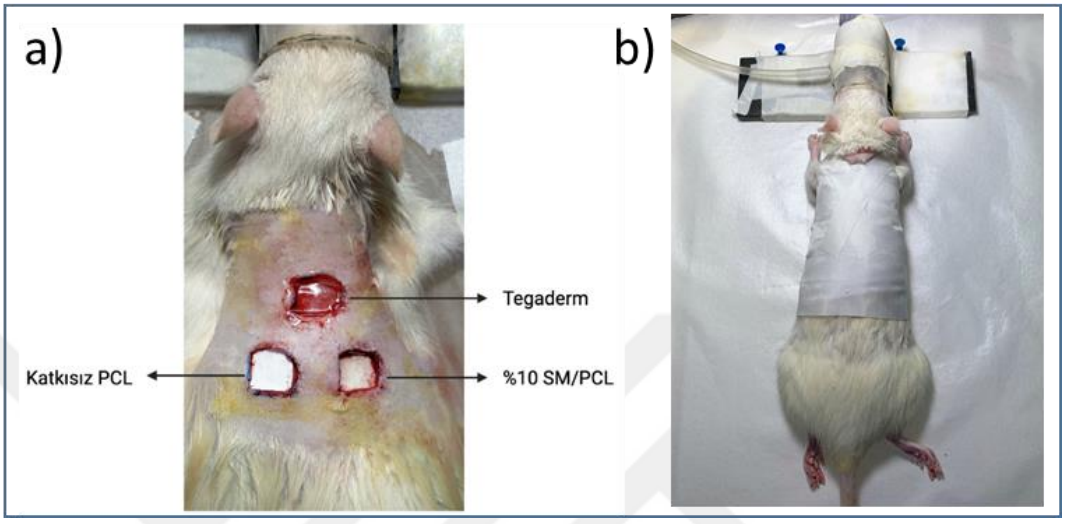
Şekil 3.8. Yara modeli oluşturulacak bölgenin tüylerinden arındırılması



Şekil 3.9. Hayvanların sırtlarında tam kat eksizyon yaraların oluşturulması

Yara modeli; hayvanların sırtlarına 3 adet 1 x 1 cm eksizyon tam kalınlıkta deri defekti yaralar bistüri yardımı ile oluşturulmuştur. Sterilize edilen yara örtüleri yara oluşturulduktan sonra hemen ve tek seferlik uygulanmıştır.

Oluşturulan yaralardan üst kısımdakine 3M firmasına ait ticari bir yara örtüsü olan Tegaderm sol alt kısma katkısız PCL nanolifli yüzey ve sağ alt kısma %10'luk Silymarin içeren nanolifli yüzeyler konulmuştur. Tüm işlemler bittiğinde yaralar koruyucu sünger ile kapatılıp flaster ile sabitlenerek işlem sonlandırılmıştır.



Şekil 3.10. a) Oluşturulan yaraların üzerine uygulanan numuneler, b) operasyon sonrası yaralı bölgenin kapatılması

Yaralar oluşturulduğundan son güne kadar yara iyileşmesi takibi için şeffaf asetat kağıdına yara sınırları çizilerek, yaraların uzaktan-yakından fotoğrafları çekilmiştir. Elde edilen bu veriler daha sonrasında Image J programı kullanılarak analiz edilmiştir.

Yara küçülmesinin değerlendirilmesi

Yaralar oluşturulduktan sonra, yara yüzeylerindeki küçülme 0, 1, 3, 5, 7, 9, 12, 14, 21. günlerde ölçülmüştür. Yara üzerine şeffaf asetat film konularak yara bölgesinin sağlam doku ile kesiştiği sınırlar dikkatli bir şekilde çizilmiştir. Asetat kağıtları tarayıcı kullanılarak bilgisayar ortamına aktarılmış ve image J yazılımı kullanılarak cm^2 cinsinden hesaplanmıştır. Yara küçülme yüzdesi aşağıdaki formül ile analiz edilmiştir.

$$\text{Yara Küçülmesi } (\%) = 100 - [A_{yara(n)} / A_0] * 100$$

Burada;

A_0 : Başlangıçtaki yara alanı (0.gün)

$A_{yara(n)}$: n ölçüm günündeki yara alanı.

İstatistiksel analiz

Oluşturulan yara alanlarından alınan ölçümlerin ortalaması hesaplanmış ve standart hata değerleri belirlenmiştir. Elde edilen sonuçların istatistiksel olarak değerlendirilmesi için, Sigma PLOT 11.0 (Systat Inc, USA) istatistik programı kullanılmıştır. Buna göre, farklı test alt grupları arasındaki anlamlı farkları belirlemek için çift yönlü ANOVA (two way ANNOVA) testi kullanılmıştır İstatiksel analizlerde anlamlılık düzeyi, $p < 0,05$ kabul edilmiştir. PCL nanolifli yüzey, PCL/SM nanolifli yüzey ve pozitif kontrol grubu olan ticari yara örtüsü uygulanmış grupların ortalama yara küçülme yüzdeleri arasındaki farkların istatistiksel olarak belirlenmesinde ise Two way ANNOVA'yı takiben post hoc Student Newman Keuls testi kullanılmıştır.

4. BULGULAR ve TARTIŞMA

Bu tez çalışması kapsamında yara iyileşmesine katkı sağladığı ve antibakteriyel özelliklere sahip olduğu bilinen Silymarin ilk kez Polikaprolakton (PCL) polimeri içerisine katılarak yara iyileşme süreci takibi için nanolifli yara örtüleri geliştirilmiş ve *in vivo* ortamda kullanım performansları incelenmiştir.

Çalışma birbirini takip eden iki aşamadan oluşmaktadır. İlk aşamada polimer, etken madde olarak kullanılan Silymarin'in farklı konsantrasyonlardaki çözeltilerinin özellikleri karakterize edilerek, elektro çekim yöntemi ile üretilecek nanolifli yüzeyler için en uygun parametreler belirlenmiştir. Devamında üretilen nanolifli yüzeylerin karakterizasyon ve etken madde salıverme çalışmaları gerçekleştirilmiştir.

Çalışmanın ikinci aşamasında Silymarin katkılı nanolifli yüzeylerin yara iyileşmesi üzerine olan etkinliğinin incelenmesi için *in vivo* deneyler gerçekleştirilmiştir. Tüm bu yapılan çalışmalar sonucunda elde edilen sonuçlar aşağıda sunulmuştur.

4.1.Nanolif Yüzeylerin Üretim ve Karakterizasyon Çalışmaları

4.1.1. PCL/SM çözeltilerinin karakterizasyonu

Nanolifli yüzeylerin morfolojileri üzerinde çözelti parametrelerinin önemli rolü bulunmaktadır. Çizelge 4.1'de PCL/SM çözeltilerinin viskozite ölçüm sonuçları verilmiştir.

Çizelge 4.1. Hazırlanan çözeltilerin viskozite değerleri

Çözelti	Viskozite (cP)
PCL/SM5	115
PCL/SM7,5	147
PCL/SM10	157

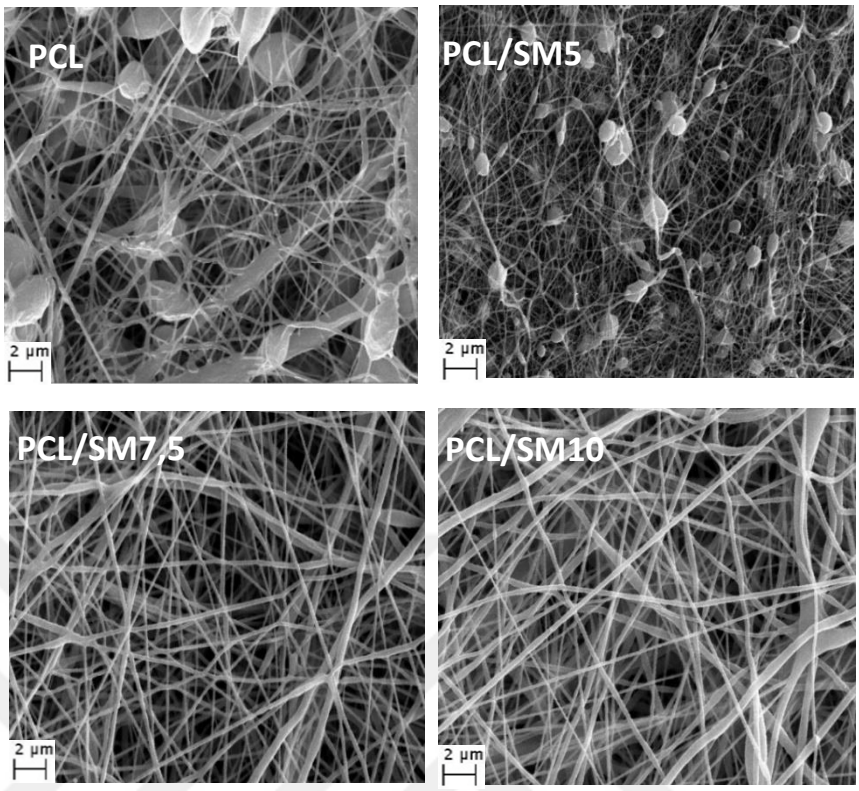
Viskozite değerleri karşılaştırıldığında, polimer konsantrasyonu sabit tutularak eklenen Silymarin oranının artması ile çözeltinin viskozite değerinin de arttığı görülmektedir. Çözelti içerisine eklenen madde miktarının artması ile molekül zincirlerinin hareketliliği kısıtlanmıştır. Böylece, çözeltinin akmaya karşı gösterdiği direnç artmaktadır. Viskozite değerlerindeki bu farklılıklar üretilen nanoliflerin ortalama lif çapı değerlerini etkilemiştir.

4.1.2. PCL ve PCL/SM katkılı nanolif yüzeylerin karakterizasyonu

PCL ve PCL/SM çözeltilerinden elektro çekim işlemi ile nanolifli yüzeylerin üretimi başarıyla gerçekleştirilmiştir. Şekil 4.1'de, üretilen yüzeylerin SEM görüntüleri; Çizelge 4.2'de nanolif ölçüm sonuçları verilmiştir.

Farklı konsantrasyonlarda %5 SM, %7,5 SM, %10 SM içeren ve aynı parametreler ile üretilen PCL/SM nanolifler; Silymarin konsantrasyonuna bağlı olarak farklı çaplarda oluşan ve farklı yapılar gösteren nanolifli yüzeyler elde edilmiştir. Katkılı yüzeylerde ki Silymarin konsantrasyonu arttıkça çözelti viskozitesinde de artış olmuştur.

Katkısız PCL nanolifli yüzeylerinden elde dilen görüntüler incelendiğinde yüzeylerde ciddi miktarda boncuklu ve ince liflerin elde edildiği görülmüştür. Polimer içerisine katılan Silymarin ile birlikte bu boncuklarda azalma olduğu ve artan Silymarin konsantrasyonu ile birlikte viskozite değerlerininde artmasıyla boncukların tamamen kaybolduğu, daha büyük çaplı ve daha az hatalı lifler oluştuğu açıkça görülmektedir.



Şekil 4.1. Nanolifli yüzeylerin SEM görüntüleri PCL, PCL/SM %5, PCL/SM %7,5, PCL/SM %10

Katkısız PCL nanolifleri incelendiğinde sürekli fakat üniform olmayan boncuklu yüzey morfolojisi sergileyen lifler gözlemlenmektedir. %5 Silymarin içeren nanolifli yüzeylere baktığımızda çözeltiye eklenen Silymerin ile birlikte boncuk miktarının azaldığı ve daha küçük boncukların ve birbirlerine daha yakın çaplara sahip ince ve sürekli liflerin oluştuğu görülmüştür (Çizelge 4.2).

Çizelge 4.2. Üretilen katkılı ve katkısız liflerin çapları

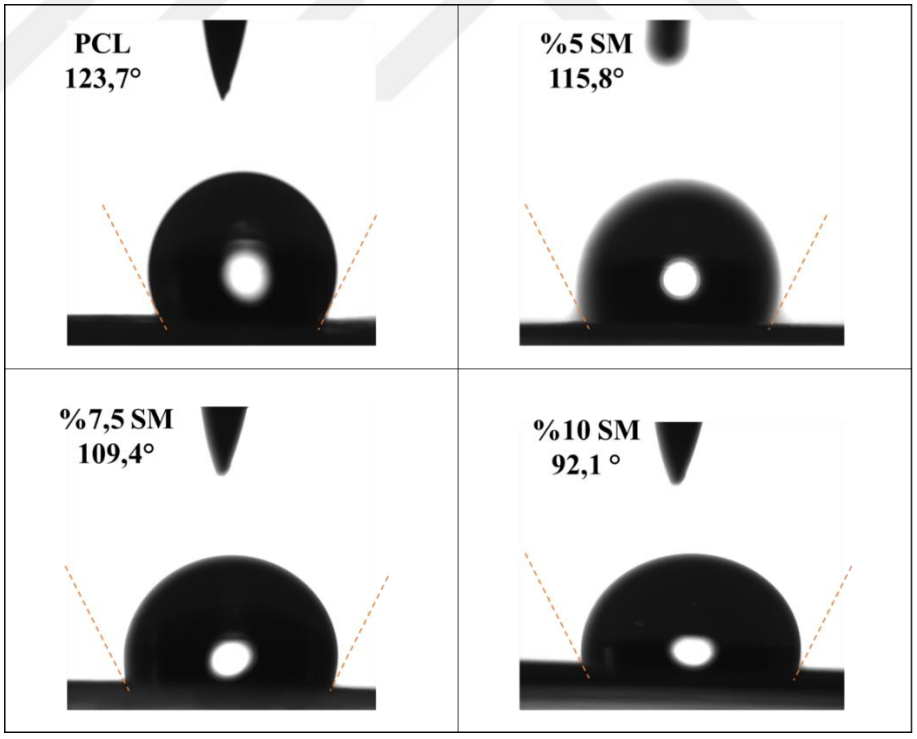
Numune	**Ortalama Lif Çapı (nm)**	**Minimum Lif Çapı (nm)**	**Maksimum Lif Çapı (nm)**	**%CV**
PCL	248	223	292	10,6
%5 SM	232	182	278	13,7
%7,5 SM	365	299	400	8,8
%10 SM	347	311	387	6,6

%7,5 ve %10 Silymarin içeren yüzeylerin SEM görüntüleri incelendiğinde, tamamen boncuksuz, düzgün ve sürekli liflerin oluştuğu görülmektedir. %7,5 Silymarin içeren nanoliflerin çapları 365 ± 32 nm'de değişiklik göstermektedir. %10 Silymarin içeren nanoliflerin daha düzgün, sıralı ve birbirine daha yakın çaplara sahip olduğu ve genel olarak lif çaplarının 347 ± 23 nm'de seyrettiği görülmektedir.

4.1.3. Temas açısı ölçüm sonuçları

Temas açısı üretilen nanolifli yara örtülerinin ıslanabilirliği açısından önemli bir parametredir. Temas açısı 90°'den büyükse – hidrofobik (ıslatmaz), 90°'den düşükse – hidrofilik (ıslatır), 140°'den büyükse – süper hidrofobik ve 0 °'ye çok yakınsa – yapının süper hidrofilik olduğunun göstergesidir (Aydar ve Bağdatlıoğlu, 2014).

Ticari olarak kullanılan yara örtüleri hidofilik özelliktedir. Yüzeylerin hidrofilik olması hücre çoğalması için uygun ortam oluşturmaktadır (Li ve diğerleri, 2013).



Şekil 4.2. Nanolifli yüzeylerinin temas açısı ölçümleri %10 PCL, %5 SM/PCL - %7,5 SM/PCL - %10 SM/PCL içeren nanolifli yüzeyler

Nanolif yüzeylerin üretiminde kullandığımız polimer PCL hidrofobik özelliktedir. Literatürde saf PCL ile oluşturulan nanolifli yüzeylerin temas açısı değerleri 130° civarındadır (Çakmaka ve diğerleri, 2010).

Katkısız PCL nanolifli yüzeyi temas açısı ölçümü literatür ile uyumlu olarak 123,7 ° olarak hesaplanmıştır (Çizelge 4.3). Polimerin hidrofobik özelliğinden dolayı üretilen Silymarin katkılı nanolifli yüzeyler de hidrofobik özellik sergilemişlerdir. Artan Silymarin konsantrasyonu ile temas açısı değerlerinde düşme gözlenmiştir. %10 Silymarin içeren yüzeylerin temas açısı ölçümleri 92° civarına inerek katkısız PCL yüzeylere göre daha iyi ıslanabilirlik sergilemişlerdir. Aynı şekilde damlacık damlatıldıktan sonra 10 saniye boyunca yapılan gözlemlerde artan Silymarin konsantrasyonu ile birlikte damlacığın daha hızlı bir şekilde emildiği görülmüştür. Yapılan ölçümler sonucunda elde edilen temas açısı değerleri Çizelge 4.3.'de verilmiştir.

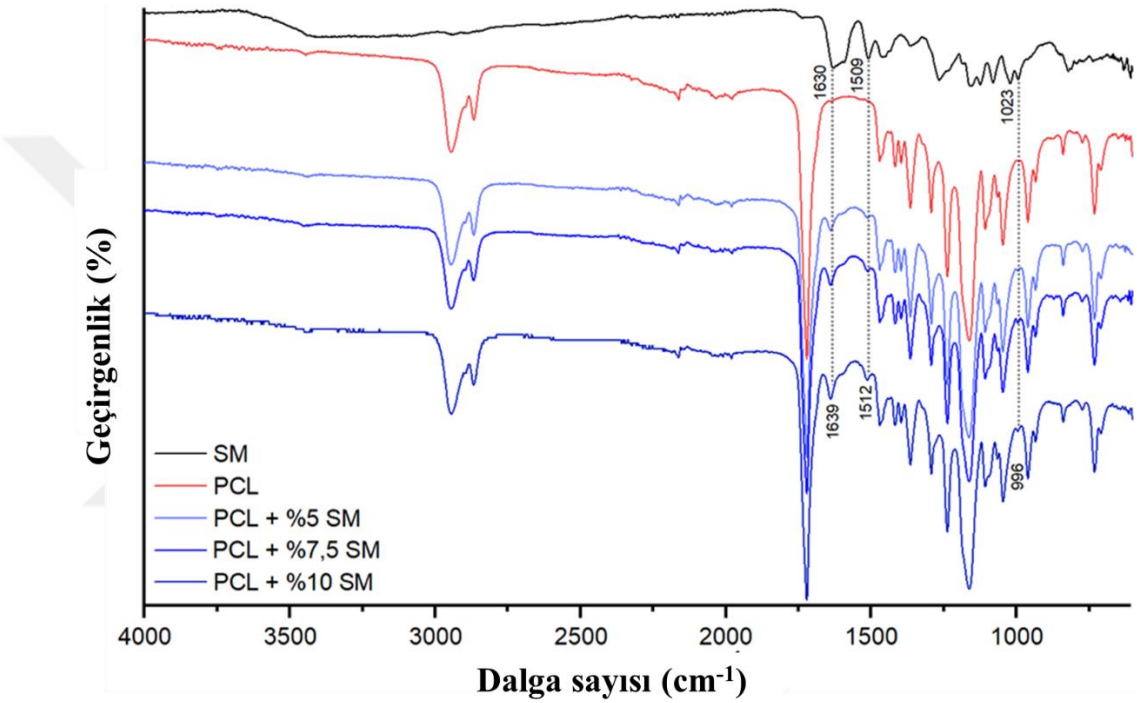
Çizelge 4.3. Nanolifli yüzeylerin özellikleri

Numune	**Lif çapı (nm)**	**Temas açısı (°)**	**Yüzey Gözenekliliği (%)**	**Gözenek boyutu (µm)**
PCL	248 ± 26	123,7	85,42	1,29
%5 SM	232 ± 32	115,8	84,76	1,13
%7,5 SM	365 ± 32	109,4	85,44	1,91
%10 SM	347 ± 23	92,1	74,27	1,04

Yüzeyin pürüzlülüğü ve morfolojisi, temas açısı değerine etki eden önemli faktörlerdir. Nanolif yüzeyin morfolojisi ve pürüzlülüğüne ise liflerin çapları, nanolifli yapıların gözenekliliği ve gözenek boyutu gibi faktörler etki etmektedir. Örneğin, gözenekliliği fazla olan yüzeylerin temas açısı değeri, yüzeye temas eden sıvı damlanın altında kalan hava birikiminden dolayı yüksek değerlerde olmaktadır (Darmanin ve Guittard, 2014). Bu tez çalışmasında üretilen Silymarin katkılı nanolifli yüzeyler, düşük Silymarin konsantrasyonlarında boncuklu yapılar göstermektedir ve bu durum yüzeylerde pürüzlülüğe neden olmaktadır. Bu nedenle, artan Silymarin konsantrasyonu ile birlikte temas açısı değerlerindeki düşüşün, elde edilen nanolifli yüzeylerin çap, pürüzlülük, yüzey gözenekliliği ve gözenek boyutu gibi özelliklerine bağlı olduğu düşünülmektedir.

4.1.4. FTIR analiz sonuçları

Çalışmada, etken madde ve polimerin kimyasında her hangi bir değişiklik olup olmadığının ve üretilen nanolifli yüzeyler içerisinde etken maddenin kimyasal olarak varlığının analizi için FTIR spektroskopisi yapılmıştır. Katkısız PCL, Silymarin ve Silymarin yüklenmiş PCL polimerinden elde edilen membranların FTIR spektrumları Şekil 4.3'te verilmiştir.



Şekil 4.3. FTIR spektrumu sırasıyla saf Silymarin, katkısız PCL ve %5- %7,5- %10 PCL/SM nanolif yüzeyler

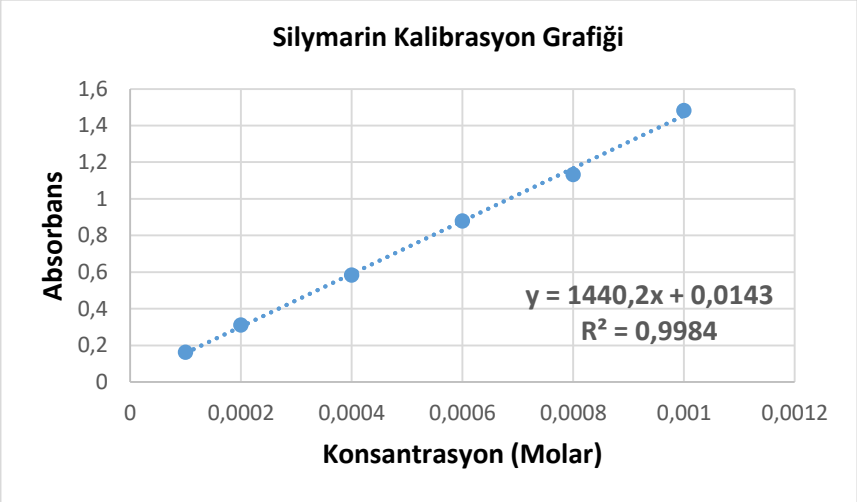
PCL nanolifli yüzeyinin FTIR spekrumunda bulunan 1721 cm^{-1}'deki şiddetli pik karbonil gerilme titreşimini (C=O) göstermektedir. Diğer önemli pikler ise şu şeklide sıralanmaktadır: C-H titreşim 2945 cm^{-1} ve C-C titreşim 1470 cm^{-1} absorbsiyon bantlarıdır (Benkaddour ve ark. 2013).

SM sırasıyla, 3368 cm^{-1} OH germe titreşimi, 2939 cm^{-1} C–H germe, 1630 cm^{-1} C–O germe, 1509–1460 cm^{-1}'de aromatik C=C halkası titreşimi, 1266 cm^{-1} C–O–C germe ve 1023 cm^{-1} C-O karakteristik pikler göstermiştir (Shaik ve ark. 2019).

Silymarin ve katkılı PCL/SM yüzeylerinin pikleri arasında karşılaştırma yapıldığında 1639 cm^{-1}, 1512 cm^{-1} ve 996 cm^{-1}'de piklerin olduğu görülmüştür. Bu pikler C–O germe ve aromatik C=C halkası titreşimine karşılık gelmektedir. Numunedeki Silymarin konsantrasyonu arttıkça da, bu piklerin şiddetinin arttığı gözlenmiştir. Bu sebeple, katkılı PCL nanolifli yapıların içerisine Silymarin katılmış olduğu anlaşılmıştır. Kullanılan çözeltinin konsantrasyonu FTIR spektrumundaki pik şiddetine etki etsede, pik veren dalga boyu değerleri konsantrasyondan etkilenmemektedir. Yaptığımız analizlerde Silymarin konsantrasyonu arttıkça piklerin değişmediği sadece pik şiddetinde bir artış olduğu görülmüştür.

4.2. Nanolifli yüzeylerden Silymarin salverilmesi çalışması

PCL/SM katkılı nanolifli yüzeylerden, Silymarin salıverilmesi performansı pH. 7,4 fosfat tampon çözeltisi içerisinde gerçekleştirilmiştir. Tampon çözelti içerisine salıverilen Silymarin miktarının tayini için öncelikle Silymarinin kalibrasyon grafiği çizilmiştir (Şekil 4.4).

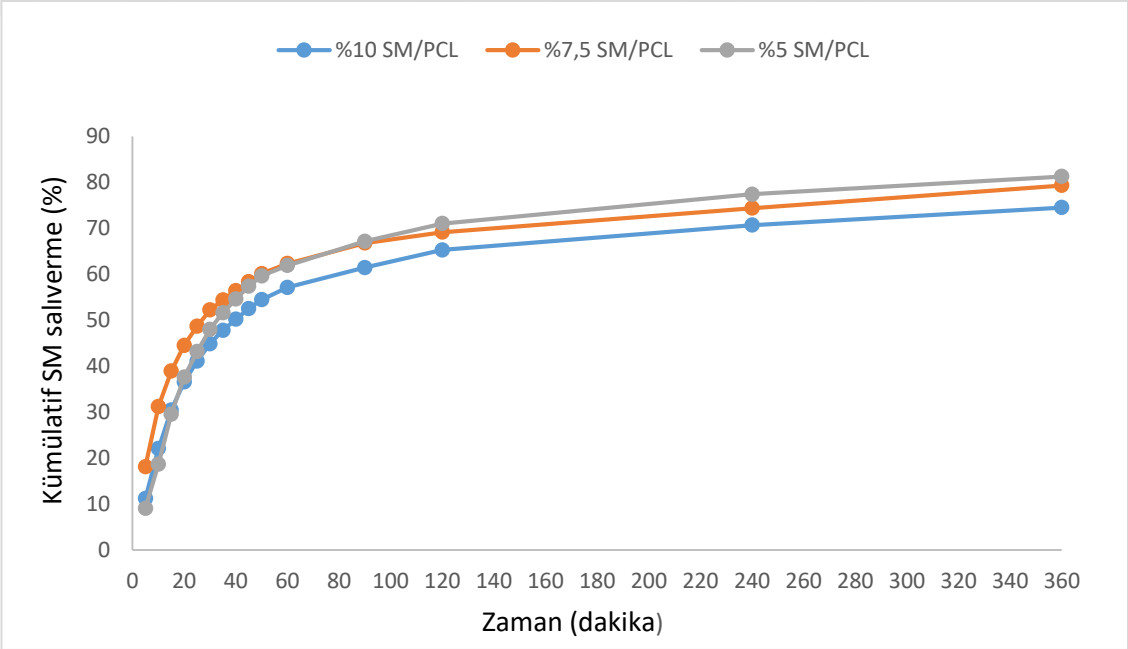


Şekil 4.4. Silymarin kalibrasyon grafiği

Elde edilen kalibrasyon grafiğinden, Silymarin miktarına bağlı olarak değişen absorbans değerini veren doğrunun denklemi ve R^2 değerleri belirlenerek PCL/SM nanolifli yüzeylerden salıverilen Silymarin miktarı hesaplanmıştır.

Tampon çözeltiye salıverilen Silymarin miktarının, nanolifli yüzeyin içerdiği toplam Silymarin miktarı ile karşılaştırılmasıyla kümülatif salıverilen miktar belirlenmiştir. Deneysel çalışmada elde edilen ölçümler ve kümülatif Silymarin miktarı EK 1'de verilmiştir.

In vitro salıverme grafiği, zamana göre kümülatif salıverme miktarı kullanılarak çizilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, ilk 6 saate %10 SM/PCL nanolifli yüzeyinin % 74,4 salıverdiği %7,5 SM/PCL nanolifli yüzeyinin % 79,3 ve %5 SM/PCL nanolifli yüzeyinin %81,2 oranında içerisindeki etken madde Silymarin'i ortama bıraktığı bulunmuştur.

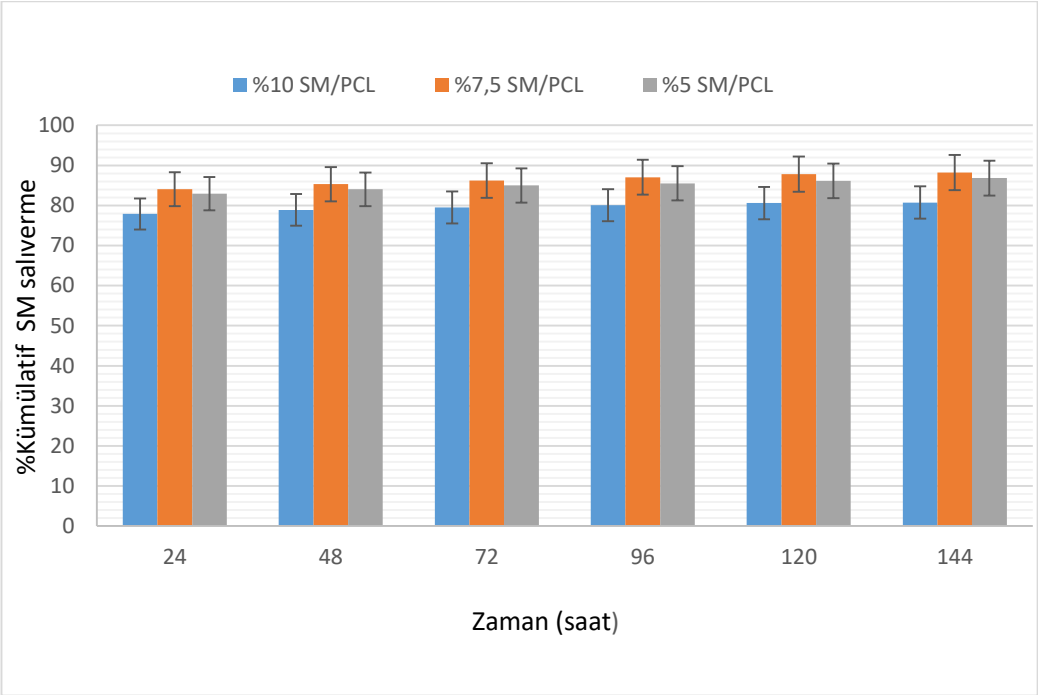


Şekil 4.5. İlk 6 saat içinde PBS ortamına salıverilen Silymarin grafiği

Kontrollü salıverme formülasyonlarının çoğunda, salıverme hızı stabil bir profile ulaşmadan önce yüksek miktarsa etken maddeyi ortama verir. Bu olay ilk başta yüksek bir ilaç dağıtımına yol açar ve sonrasında stabil bir salıverme profili çizer.

Bu çalışmada Silymarin yüklü nanolifli yüzeylerin salıverme profili 6'ıncı güne kadar izlenmiştir. İlk 24 saaten sonra salıverme hızının yavaşladığı ve kontrollü bir şekilde devam ettiği görülmüştür. 6'ıncı günün (144 saat) sonunda %10 SM/PCL nanolifli

yüzeyinin % 80,7 salıverdiği %7,5 SM/PCL nanolifli yüzeyinin % 88,2 ve %5 SM/PCL nanolifli yüzeyinin %86,8 oranında Silymarin'i salıverdiği hesaplanmış ve deney sonlandırılmıştır.



Şekil 4.6. 144 saat boyunca PBS ortamına salıverilen Silymarin grafiği

Difüzyon katsayısı, hidrasyon hızı, ilaç bağlanma afinitesi vb. gibi çeşitli faktörler, bir polimerik matristen etken maddenin salıverilmesine rehberlik eder (Chou ve diğerleri 2015). Biyoaktif bir molekülün dış uyaranların yokluğunda salıverme mekanizması, çözünmesi ve difüzyonu tarafından yönetilir.

Sulu bir çözelti içinde, polimer zincirleri, biyomoleküllerin difüzyonunu kısmen yavaşlatan bir difüzyon bariyeri oluşturur (Kishen ve diğerleri 2016). Adsorplanan biyomoleküller hemen salınırken, polimerik matris içinde tutulan moleküllerin salınımı difüzyon tarafından yönetilir ve sürekli salıvermeye katkıda bulunur.

Polimerik bileşimler ile liflerden ilaç salıverme mekanizması, difüzyon proseslerinin, polimer bozunmasının, polimerlerde ilaç bölünmesinin ve ilaç çözünmesinin bir kombinasyonuna atfedilebilir. Aynı zamanda şişmeyen, bozunabilir veya bozunabilir

olmayan polimerlerde, etken maddenin kütleye difüzyondan önce katı polimer matrisi boyunca yayılması gerekir. Polimer matrisinden ilaç difüzyon hızı, polimere su difüzyon hızı, ilacın polimer ve yığın arasında bölünmesi ve çözünürlüğü dâhil olmak üzere bir dizi işlemi yansıtır. Bozunmayan polimerler için, bir ilacın polimer matrisi boyunca yaydığı ortalama mesafe, sabit bir geometriye bağlıdır. Buna karşılık, biyolojik olarak bozunabilir bir polimerin geometrisi zamanla değişmektedir ve ortalama difüzyon mesafesi, polimer bozunma hızına bağlı olarak değişmektedir (Chou ve diğerleri 2015).

Yarı kristal ve camsı polimerler, daha yavaş su difüzyon hızından dolayı sürekli ilaç salıverme için sıklıkla kullanılır. Yohe ve arkadaşları (2012) yaptıkları çalışmada, katkı maddesi ile PCL liflerinin hidrofobikliğini kontrol etmenin, elektrospun gözenekli lif ağına su difüzyon hızını etkileyerek ilaç salıvermesini ayarlamak için etkili bir strateji olduğunu göstermişlerdir.

Farklı Silymarin katkı oranlarıyla üretilen nanolifli yüzeylerden, in *vivo* çalışmada kullanılmak üzere, Silymarin konsantrasyonuna bağlı olarak en düzgün nanolif yüzey morfolojisine ve etken madde salıverme kapasitesine sahip konsatrasyonun belirlenmesi amaçlanmıştır. Buna göre, yara iyileşmesi üzerine olan etkinliğin belirlenmesi için, en düzgün SEM görüntüleri ve etken maddeyi kontrollü ve yavaş bir şekilde sürekli salıverme profili gösteren %10 Silymarin içeren polikaprolakton nanolifli yüzey (%10 SM/PCL)'nin kullanımına karar verilmiştir

4.3. *In Vivo* Deneylerin Bulguları

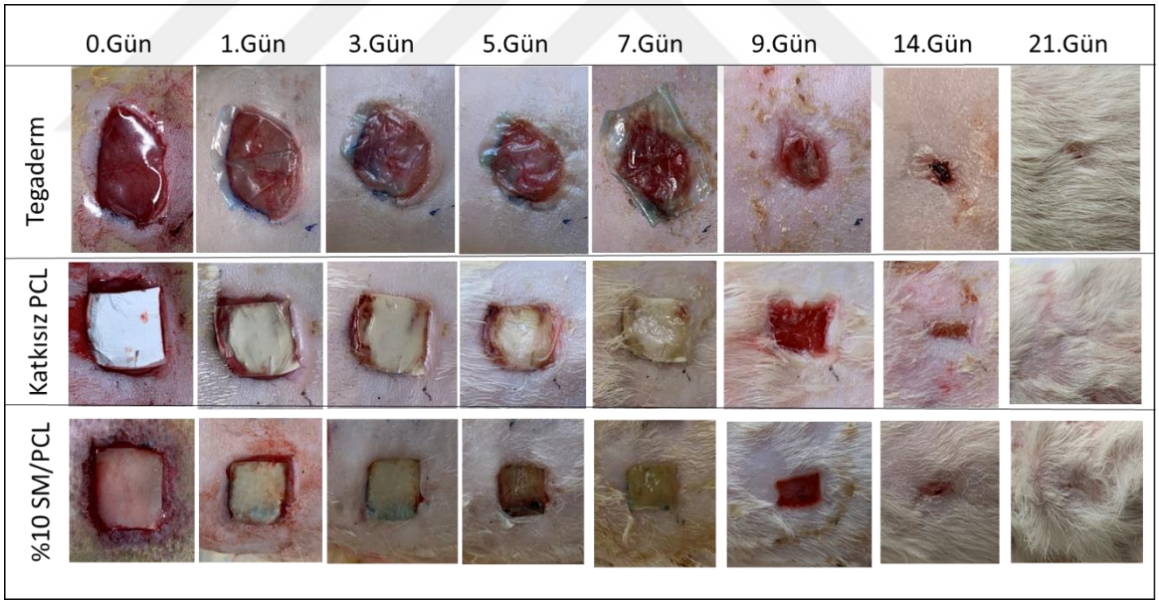
Üretilen nanolifli yüzeylerin, yara örtüsü olarak kullanım performaslarının incelenmesi, sıçanların sırt bölgelerinde oluşturulan tam kat eksizyon yaraların 21 gün boyunca takip edilmesi ile gerçekleştirilmiştir. Ticari yara örtüsü (Tegaderm), katkısız PCL nanolifli yüzey ve %10 Silymarin içeren nanolifli yüzeylerin yara iyileşmesine olan etkileri, yara küçülme yüzdelerinin ortalama ve standart hata değerleri hesaplanmıştır (Çizelge 4.5).

Çizelge 4.4. Yaraların belirli günlerdeki yara küçülmesi yüzdeleri (%)

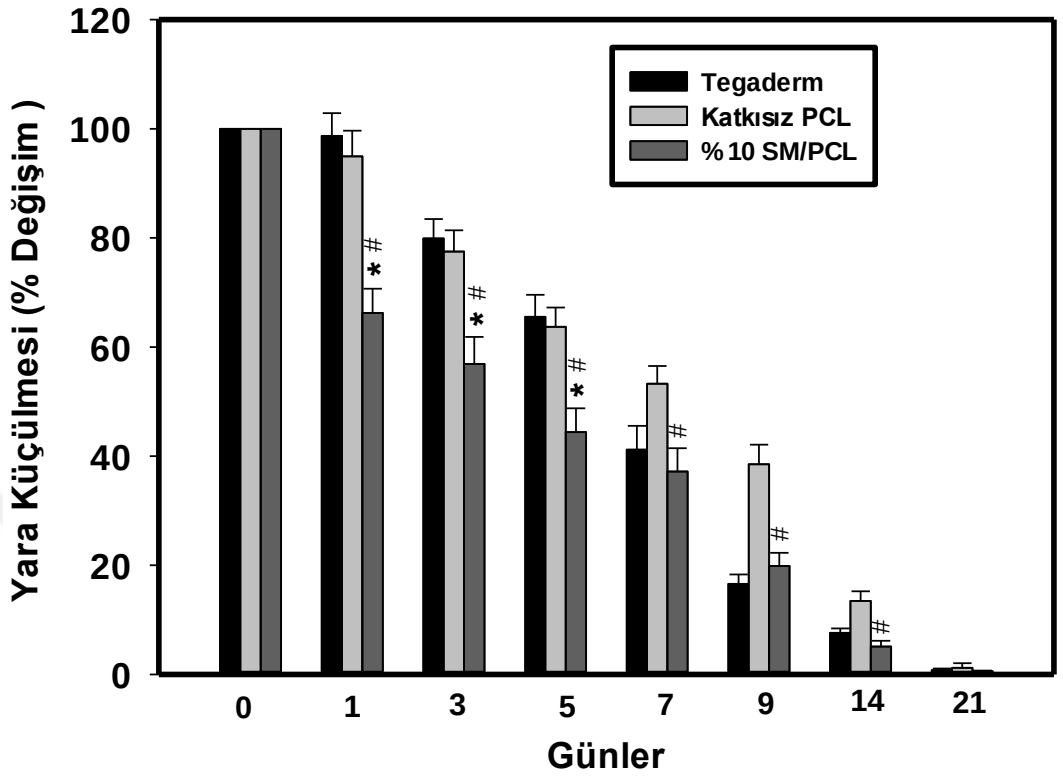
Yara Örtüsü	1.Gün	3.Gün	5.Gün	7.Gün	9.Gün	14.Gün	21.Gün
Tegaderm	2,3±4,1	21,1±3,5	35,5±4	59,9±4,3	84,5±1,7	93,4±0,8	99,2±0,2
Katkısız PCL	6,1±4,7	23,5±3,8	37,3±3,5	47,3±3,2	62,6±3,6	87,6±1,7	98,8±0,8
%10SM/PCL	34,8±4,4	44,1±4,9	56,7±4,3	63,5±4,2	81,2±2,4	95,1±1	99,5±0,1

Yara takibi boyunca, sıçanların ağırlıkları ölçülmüş ve yem-su alımları gözlemlenmiştir. Operasyon sonrası yara oluşumuna bağlı olarak, hayvanların ağırlıklarında az miktarda (%5) bir azalma görülmüştür, ilerleyen günlerde yara iyileşmesiyle de birlikte tekrardan düzenli bir şekilde ağırlık artışı meydana gelmiştir.

Yara iyileşmesi takibi boyunca, yara bölgesinin çekilen fotoğrafları Şekil 4.7 ve yara küçülmesi % değişim olarak grafiğe aktarılmış olarak toplu bir şekilde verilmiştir (Şekil 4.8)



Şekil 4.7. *in vivo* deneye ait yara kapanması görüntüleri



Şekil 4.8. Tam kat eksizyon yara modelinde yaraların zamana göre küçülmesi. Değerler 0. günde oluşturulan yaraların yüzey alanlarının günlere göre yüzde (%) olarak küçülmesini ortalama ± SEM olarak göstermektedir (n=8).
*, %10 SM/PCL ile Ticari Ürün (Tegaderm) arasındaki anlamlılığı,
#, Katkısız PCL ile %10 SM/PCL grubu arasındaki anlamlılığı ifade etmektedir ($p<0,001$). SM=Silymarin

Çekilen fotoğraflar ve analizler sonucu elde edilen grafikte görüldüğü üzere Silymarin katkılı nanolifli yara örtüsü kullanılan gurupta birinci günden itibaren ticari ürün Tegaderm ve Silymarin içermeyen katkısız PCL nanolifli yüzeye göre yaralar hızla küçülmeye başlamıştır. Bu süreç 5. güne kadar devam etmiştir. 7. günden itibaren ticari ürün ile Silymarin içeren nanolifli yüzey arasındaki grupta yara küçülmesi açısından anlamlılık kaybolmasına rağmen Silymarin içermeyen katkısız PCL nanolifli yüzey arasındaki anlamlılık 14. güne kadar devam etmiştir. Bu sonuç bize başlangıçta hızla salıverilen Silymarinin gözlemlenen etkide önemli katkısınının olduğunu düşündürmektedir. İlaç salıverme datası ile kıyaslandığında ilk 24 saatte %10 SM/PCL nanolifli yüzeyi, içinde bulunan etken madde Silymarinin yaklaşık olarak %77'sini salıverdiği görülmüştür. Buna bağlı olarak, yara kapanma yüzdelerine de baktığımızda

%10 SM/PCL membranının yerleştirildiği yaralar 1'inci günde %34,8 oranıyla ticari yara örtüsü Tegaderm ve katkısız PCL yüzeylerine göre anlamlı bir kapanma yüzdesi göstermiştir. Devam eden günlerde Silymarinin kontrollü ve düzenli bir şekilde ortama salıverilmesi, yara ortamında Silymarinin sürekli varlığından dolayı iyileşme ve yara kapanması hızlı bir şekilde devam etmiştir.

Azalan Silymarin miktarı ile birlikte nanolifli yüzeyden yara bölgesine salıverilen Silymarin miktarında azalma olması ve 9'uncu günde nanolifli yüzeylerin yara bölgesinden çıkartılması sonucunda, yara iyileşmesinin ticari yara örtüsü Tegaderm ile Silymarin katkılı nanolifli yüzeylerin arasında, anlamlı farkın kaybolmasına sebep olduğu düşünülmüştür.

Yara iyileşmesinin ilk 5 gününe baktığımızda; %10 SM/PCL nanolifli yara örtüsü % 56,7 ve katkısız PCL nanolifli yara örtüsünün % 37,3 ticari yara örtüsü Tegaderm'e göre % 35,5 daha iyi bir küçülme yüzdesi verdiği dikkat çekicidir. Burada nanolif yara örtülerinin sahip olduğu hücre dışı matris (ECM) mimarisini taklit edebilme (Miguel ve ark. 2019) gözenekli dokusu, gaz alışverişi, yaraların eksudalarının adsorbsiyonu, bakteriyel konteminasyonu engelleme, hücre penetrasyonu ve proliferasyonuna katkıda bulunma (Yuan ve diğerleri, 2018; Augustine ve diğerleri, 2020) özelliklerinin yara iyileşmesi sürecinde avantaj sağladığını birkez daha göstermektedir.

%10 Silymarin içeren nanolifli yüzeyin, katkısız PCL nanolifli yüzey ve ticari yara örtüsü Tegaderm'e göre yara iyileşmesi üzerine göstermiş olduğu anlamlı etki Silymarin'in sahip olduğu antiinflamatuar, antioksidan, immünomodülatör ve epitelizasyonu uyarıcı özelliklerinden dolayı yara iyileşmesini hızlandırdığını destekleyici bir bulgudur.

Yara iyileşmesi üç aşamaya ayrılır; inflamatuar faz (homeostaz ve inflamasyondan oluşur); proliferatif faz (granülasyon, kasılma ve epitelizasyondan oluşur) ve iyileşmiş dokunun görünümünü ve gücünü belirleyen yeniden şekillenme fazı (Diegelmann ve Evans, 2004). Kasılma ve epitelizasyon, tam kat deri yaralarını iyileştiren iki bağımsız süreçtir. Kasılma, kusurun kapanmasını kolaylaştırmak için dermisin ve epidermisin merkezcil hareketiyle yaranın boyutunu azaltır. Epitelizasyon, bir yaranın kenarındaki

epidermisteki hücrelerin çoğaldığı ve göç ettiği süreçtir (Swaim ve diğerleri, 1987). Yara iyileşmesi sürecinde inflamasyon ve oksidasyonun düzenlenmesi önemlidir.

Deri hasarına yanıt olarak serbest radikallerin üretimi, lipidlerin, proteinlerin ve hücre dışı matris elemanlarının yok edilmesi yoluyla yara iyileşmesine geciktirici etki gösterebilir. Silymarin, oksidatif hasarı önlemeye ve iyileşme sürecini desteklemeye yardımcı olacak önemli antioksidan aktiviteye sahiptir.

Silymarin oral uygulamasının, antioksidan enzimleri artırarak, asetaminofen kaynaklı toksisitede beyin dokularının lipid peroksidasyonunu azalttığı gösterilmiştir (Nencini ve diğerleri, 2007).

Sharifi ve arkadaşları (2012), Silymarin'in yaraların epitelizasyonunu artırabildiğini bulmuşlardır. Doku örneklerinin histopatolojik değerlendirilmesi ile de yara iyileşmesi sırasında Silymarin ile inflamatuar hücrelerin önemli ölçüde azaldığını göstermişlerdir. Silymarin, çoklu anti-inflamatuar özelliklerine ek olarak antioksidan özellikleri ve ROS süpürücü etkileri yoluyla epitelizasyonu artırabileceği gösterilmektedir. Bu nedenle Silymarin'in yara iyileşme süreci üzerindeki etkisi, epitelizasyon ve inflamasyon üzerindeki etkisine bağlanabilir. Yapılan çalışmanın sonuçlarına göre, Silymarin, sıçanlarda tam kat yarada epitelizasyonu önemli ölçüde uyarabileceği, ayrıca kutanöz yaralardaki iltihabı da azaltabilleceği gösterilmiştir.

Tabandeh ve arkadaşları (2013) yapmış oldukları bir çalışmada, Silymarin içerisinde en yüksek oranda bulunan Silibinin flavonolignantının topikal uygulamasında kollajen üretimini düzenleyerek yara iyileşmesini hızlandırdığını göstermiştir. Yara iyileşmesi sırasında kollajen içeriğinin bir indeksi olarak hidroksiprolin konsantrasyonundaki önemli bir artış olduğunu ve silibinin ile tedavi edilen hayvanların iyileşmiş dokusunun hidroksiprolin içeriğinin, tedavi edilmeyen hayvanlardan daha yüksek olduğunu bulmuşlardır. Bu bulgu, Silymarinin cilt yarası iyileştirme faktörlerini düzenleyen bazı bileşenlere sahip olabileceğini ve yara tedavisindeki potansiyel rolünü desteklediğini göstermiştir.

5. SONUÇ

Bu tez çalışmasında, Silymarin katkılı polikaprolakton (PCL) nanolifli yüzeyler elektro çekim yöntemi ile başarılı bir şekilde üretilerek, yara iyileşmesi üzerine olan etkinliği ve yara örtüsü olarak kullanım potansiyelleri araştırılmıştır.

Çalışmanın ilk adımı düzgün morfolojiye sahip nanolif yüzeylerin üretimidir. Bundan dolayı öncelikle elektro çekim cihazında nanolif yüzeylerin üretimi için uygun parametreler belirlenmiştir. Yapılan ön çalışmalar doğrultusunda PCL polimerinin konsantrasyonu sabit tutularak (%10 w/v); %5, %7,5 ve %10 (w/w) konsantrasyonlarında Silymarin içeren çözeltiler hazırlanmıştır. Elde edilen Silymarin katkılı çözeltilerin viskozite ölçümleri yapılmıştır. Eklenen Silymarin konsantrasyonları arttıkça çözeltilerin viskozite değerlerinin arttığı ve viskozitedeki bu artışın nanolif yüzey üretiminde düzgün morfolojiye ve birbirine yakın çaplarda liflerin üretimine olumlu etki yarattığı görülmüştür. Çözelti karakterizasyonlarının ardından, yüzeylerin üretimi 20 cm mesafeden, 0,7 mL/saat besleme oranı ve 19-21 kV'arası voltaj uygulaması ile düz plaka üzerinde gerçekleştirilmiştir.

Üretilen katkısız PCL, %5 SM/PCL, %7,5 SM/PCL ve %10 SM/PCL içeren nanolifli yüzeylerin SEM görüntüleri incelendiğinde; katkısız PCL yüzeylerinde görülen boncuk ve düzensiz morfolojideki liflerin eklenen Silymarin ile birlikte giderek azaldığı ve Silymarin konsantrasyonunun artışı ile çözelti viskozitesinin de artması sonucu boncukların kaybolduğu, düzgün morfolojiye sahip sürekli ve lif çaplarının birbirine daha yakın olduğu nanolif yüzeylerin elde edildiği görülmüştür. Katkısız PCL yüzeylerinin ortalama lif çapları 248 nm olarak en düşük ve %7,5 SM/PCL yüzeylerinin ortalama lif çapları 365 nm olarak en yüksek lif çapına sahip olduğu tespit edilmiştir. Yüzeylerin temas açısı değerleri incelendiğinde hem PCL hem de Silymarin'in hidrofobik özellikte olmasına rağmen, temas açısı değerlerinde bir azalma olduğu görülmüştür. Artan Silymarin konsantrasyonu ile birlikte düzgün morfolojiye ve yüzey gözenekliliğine sahip nanolifli yüzeylerin eldesi bizlere yüzey özelliklerinin ıslanabilirliğe ve temas açısı değerlerine etki ettiğini birkez daha göstermiştir.

Üretilen yüzeylerde Silymarinin kimyasal olarak varlığının tespiti için FTIR analizi kullanılmıştır. FTIR sonuçları, PCL polimerinin yapısında herhangi bir bozunma olmadan, yapıya Silymarin'in başarılı bir şekilde katıldığı elde edilen pikler ile görülmüştür.

In vitro çalışmalar ile üretilen Silymarin katkılı nanolifli yüzeylerin etken madde salıverme profili çizilmiştir. *İn vitro* deney 36,5 ℃ sıcaklık ve pH 7,4 fosfat tampon çözeltisi içerisinde UV-VIS spektrofotometre kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Silymarinin absorbsiyon spektrumu λmax değeri 325 nm olarak belirlenmiştir. Daha sonrasında Silymarin için kalibrasyon grafiği çizilerek y denklemi belirlenmiş ve R^2 değeri hesaplanmıştır. Zamana bağlı olarak Silymarin katkılı nanolifli yüzeylerden etken madde salıverme değerleri, absorbans cinsinden okunarak yapılan hesaplamalar sonucu salıverme profilleri belirlenmiştir. Yüzeylerden Silymarin salıverilmesi 6 gün boyunca takip edilmiştir sırasıyla en yüksek salıvermenin %7,5 SM/PCL %88 , %5 SM/PCL % 86 ve %10 SM/PCL %80 olduğu görülmüştür.

Yapılan tüm karakterizasyon ve etken madde salıverme çalışmaları sonucunda yara iyileşmesi üzerine Silymarin katkılı polikaprolakton nanolifli yüzeylerinin etkinliğinin incelenmesinde %10 SM/PCL içeren yüzeyin kullanılması uygun bulunmuştur. Yapılan *in vivo* çalışmalar %10 SM/PCL içeren yüzeyin yara iyileşmesi üzerine olan etkinliği ticari bir yara örtüsü olan Tegaderm ve katkısız olarak üretilen PCL nanolifli yüzeyleri ile kıyaslanarak gerçekleştirilmiştir. Sıçanların sırt bölgelerine tam kat eksizyon yaralar oluşturularak 1, 3, 5, 7, 9, 14 ve 21'inci günler boyunca yaraların alanları hesaplanarak, yara iyileşmesi takibi yapılmıştır. Elde edilen verilerden yara küçülme yüzdeleri hesaplandığında en iyi iyileşme ve yara küçülmesinin %10 SM/PCL nanolifli yüzeyinde olduğu görülmüştür. Bu sonuçlar Silymarin'in güçlü antioksidan, antiinflamatuar, serbest radikal temizleyici, epitelizasyonu ve kolajen üretimini uyarıcı özellikleri ile ilişkilendirilmiştir.

Yapılan tüm çalışmaların neticesinde; Silymarin'in polikaprolakton polimeri içerisine başarılı bir şekilde katılarak düzgün morfolojiye ve üniform lif dağılımına sahip nanolif yüzeylerin üretimi gerçekleştirilmiş, uzun süreli ve başarılı bir şekilde etken madde

salıverme potansiyeli göstermiş ve yapılan *in vivo* yara iyileşmesi takibi boyunca yara örtüsü olarak kullanım potansiyeli incelendiğinde. Silymarin katkılı yüzeyin başarılı bir sonuç gösterdiği ve ticari yara örtüsüne göre daha iyi performans sergilediği görülmüştür.

İleride yapılması planlanacak çalışmalarda; *in vitro* sitotoksisite çalışmaları, ilaç salıverme profillerinin bir aya kadar izlenebilmesi ve *in vivo* deneyler sonrasında histopatolojik analizlerin yapılması öneri olarak sunulmaktadır.

KAYNAKLAR

Abdelkader, H., & G Alany, R. (2012). Controlled and continuous release ocular drug delivery systems: pros and cons. Current drug delivery, 9(4), 421-430. https://doi.org/10.2174/156720112801323125

Abdo, J. M., Sopko, N. A., & Milner, S. M. (2020). The applied anatomy of human skin: Amodel for regeneration. Wound Medicine. https://doi.org/10.1016/j.wndm.2020.100179

Abdullah Shukry, N. A., Ahmad Sekak, K., & Ahmad, M. R. (2015). Effect of Molecular Weight on Morphological Structure of Electrospun PVA Nanofibre. Advanced Materials Research, 1134, 203–208. https://doi.org/10.4028/www.scientific.net/amr.1134.203

Abenavoli, L.; Capasso, R.; Milic, N.; Capasso, F. Milk thistle in liver diseases: Past, present, future. Phytother. Res. 2010, 24, 1423–1432. https://doi.org/10.1002/ptr.3207

Adeosun, S. O., Ilomuanya, M. O., Gbenebor, O. P., Dada, M. O., & Odili, C. C. (2020). Biomaterials for drug delivery: Sources, classification, synthesis, processing, and applications. Advanced Functional Materials, 141-167. https://doi.org/10.5772/intechopen.93368

Ali Aliabadi, Alireza Yousefi, Amirashkan Mahjoor and Maryam Farahmand (2011). Evaluation of Wound Healing Activity of Silymarin (Silybum marianum) in Streptozotocin Induced Experimental Diabetes in Rats. Journal of Animal and Veterinary Advances, 10: 3287-3292. https://doi.org/10.3923/javaa.2011.3287.3292

Alghoraibi, I., & Alomari, S. (2018). Different methods for nanofiber design and fabrication. Handbook of nanofibers, 1-46. https://doi.org/10.1007/978-3-319-42789-8_11-2

Alnaqbi, M. A., Greish, Y. E., Mohsin, M. A., Elumalai, E. J., & Al Blooshi, A. (2016). Morphological variations of micro-nanofibrous sorbents prepared by electrospinning and their effects on the sorption of crude oil. Journal of environmental chemical engineering, 4(2), 1850-1861. https://doi.org/10.1016/j.jece.2016.02.030

Amariei N, Manea L, Bertea A, Bertea A, Popa A (2017) The influence of polymer solution on the properties of electrospun 3D nanostructures. In Proceedings of the IOP Conference Series: Materials Science and Engineering; p. 012092. https://doi.org/10.1088/1757-899X/209/1/012092

Arts, I. C. & Hollman, P. C. (2005). Polyphenols and disease risk in epidemiologic studies. The American journal of clinical nutrition, 81(1), 317S-325S. https://doi.org/10.1093/ajcn/81.1.317S

Attinger CE, Janis JE, Steinberg J, Schwartz J, Al-Attar A, and Couch K (2006) : Clinical approach to wounds: debridement and wound bed preparation including the use of dressings and wound healing adjuvants. Plast Reconstr Surg ; 117(7S):72. https://doi.org/10.1097/01.prs.0000225470.42514.8f

Augustine, R., Rehman, S. R. U., Ahmed, R., Zahid, A. A., Sharifi, M., Falahati, M., & Hasan, A. (2020). Electrospun chitosan membranes containing bioactive and therapeutic agents for enhanced wound healing. International journal of biological macromolecules, 156, 153-170. https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.03.207

Auras, R. A., Lim, L. T., Selke, S. E., & Tsuji, H. (Eds.). (2011). Poly (lactic acid): synthesis, structures, properties, processing, and applications. John Wiley & Sons. https://doi.org/ 10.1002/9780470649848

Aydar, A. Y. & Bağdatlıoğlu, N. (2014). Yemeklik Yağların Yüzey Gerilimi ve Temas Açılarının Belirlenmesinde Uygulanan Yöntemler. Akademik Gıda, 12 (1) , 108-114. Retrieved from https://dergipark.org.tr/tr/pub/akademik-gida/issue/55791/763718

Aydogdu, A., Sumnu, G., & Sahin, S. (2018). A novel electrospun hydroxypropyl methylcellulose/polyethylene oxide blend nanofibers: Morphology and physicochemical properties. Carbohydrate polymers, 181, 234-246. https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2017.10.071

Ayesha Farhana, S., M Shantakumar, S., Shyale, S., Shalam, M., & Narasu, L. (2010). Sustained release of verapamil hydrochloride from sodium alginate microcapsules. Current Drug Delivery, 7(2), 98-108. https://doi.org/10.2174/156720110791011819

Ayhan, H. (2002). „‟ Biyomalzemeler’’, Hacettepe Üniversitesi. Bilim Teknik Dergisi.

Bak, S. Y., Yoon, G. J., Lee, S. W., & Kim, H. W. (2016). Effect of humidity and benign solvent composition on electrospinning of collagen nanofibrous sheets. Materials Letters, 181, 136-139. https://doi.org/10.1016/j.matlet.2016.06.019

Barhoum, A., Bechelany, M., & Makhlouf, A. S. H. (Eds.). (2019). Handbook of nanofibers (pp. 1-40). Cham, Switzerland: Springer International Publishing. https://doi.org/10.1007/978-3-319-53655-2

Basile, L., Pignatello, R., & Passirani, C. (2012). Active targeting strategies for anticancer drug nanocarriers. Current drug delivery, 9(3), 255-268. https://doi.org/10.2174/156720112800389089

Bawa, P., Pillay, V., Choonara, Y. E., & Du Toit, L. C. (2009). Stimuli-responsive polymers and their applications in drug delivery. Biomedical materials, 4(2), 022001. https://doi.org/10.1088/1748-6041/4/2/022001

Bayne, S. C., Ferracane, J. L., Marshall, G. W., Marshall, S. J., & van Noort, R. (2019). The Evolution of Dental Materials over the Past Century: Silver and Gold to

Tooth Color and Beyond. Journal of dental research, 98(3), 257–265. https://doi.org/10.1177/0022034518822808

Beachley V, Wen X (2010). Polymer nanofibrous structures: fabrication, biofunctionalization and cell interactions. Prog Polym Sci J 35(7):868–892. https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2010.03.003

Benkaddour, A., Jradi, K., Robert, S., & Daneault, C. (2013). Grafting of Polycaprolactone on Oxidized Nanocelluloses by Click Chemistry. Nanomaterials (Basel, Switzerland), 3(1), 141–157. https://doi.org/10.3390/nano3010141 10.3390/nano3010141

Benoit, D.S.; Overby, C.T.; Sims, K.R., Jr.; Ackun-Farmmer, M.A. (2020) Drug delivery systems. In Biomaterials Science; Elsevier: Amsterdam, The Netherlands, pp. 1237–1266.

Bentley, P. G., Owen, W. J., Girolami, P. L., & Dawson, J. L. (1978). Wound closure with Dexon (polyglycolic acid) mass suture. Annals of the Royal College of Surgeons of England, 60(2), 125–127.

Bezwada, R. S., Jamiolkowski, D. D., Lee, I. Y., Agarwal, V., Persivale, J., Trenka-Benthin, S., ... & Liu, S. (1995). Monocryl® suture, a new ultra-pliable absorbable monofilament suture. Biomaterials, 16(15), 1141-1148. https://doi.org/10.1016/0142-9612(95)93577-z

Bhardwaj, N., & Kundu, S. C. (2010). Electrospinning: a fascinating fiber fabrication technique. Biotechnology advances, 28(3), 325-347. https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2010.01.004

Bharti, R., Wadhwani, K. K., Tikku, A. P., & Chandra, A. (2010). Dental amalgam: An update. Journal of conservative dentistry: JCD, 13(4), 204–208. https://doi.org/10.4103/0972-0707.73380

Bhushan M, Young HS, Brenchley PE, Griffiths CE. (2002) Recent advances in cutaneous angiogenesis. Br J Dermatol; 147:418–425. https://doi.org/10.1046/j.1365-2133.2002.05003.x

Bijak M. (2017). Silybin, a Major Bioactive Component of Milk Thistle (Silybum marianum L. Gaernt.)-Chemistry, Bioavailability, and Metabolism. Molecules (Basel, Switzerland), 22(11), 1942. https://doi.org/10.3390/molecules22111942

Bijak, M., Dziedzic, A., Synowiec, E., Sliwinski, T., & Saluk-Bijak, J. (2017). Flavonolignans inhibit IL1-β-induced cross-talk between blood platelets and leukocytes. Nutrients, 9(9), 1022. https://doi.org/10.3390/nu9091022

Boateng, J.S., Matthews, K.H., Stevens, H.N.E., Eccleston, G.M. (2008). Wound Healing Dressings and Drug Delivery Systems: A Review. Journal of Pharmaceutical Sciences, 97(8), 2892–2923. https://doi.org/10.1002/jps.21210

Bobbio, A. (1972). The first endosseous alloplastic implant in the history of man. *Bulletin of the History of Dentistry*, *20*(1), 1-6.

Boutin, P. (1972). Total arthroplasty of the hip by fritted aluminum prosthesis. Experimental study and 1st clinical applications. Revue de chirurgie orthopedique et reparatrice del'appareil moteur, 58(3), 229-246. https://doi.org/10.1016/j.otsr.2013.12.004

Braghirolli, D. I., Steffens, D., Quintiliano, K., Acasigua, G. A. X., Gamba, D., Fleck, R. A.,... & Pranke, P. (2014). The effect of sterilization methods on electronspun poly (lactide-co-glycolide) and subsequent adhesion efficiency of mesenchymal stem cells. Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials, 102(4), 700-708. https://doi.org/10.1002/jbm.b.33049

Bravo, L. (1998). Polyphenols: chemistry, dietary sources, metabolism, and nutritional significance. Nutrition reviews, 56(11), 317-333. https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.1998.tb01670.x

Bulmer, C., Margaritis, A., & Xenocostas, A. (2012). Encapsulation and controlled release of recombinant human erythropoietin from chitosan-carrageenan nanoparticles. Current drug delivery, 9(5), 527-537. https://doi.org/10.2174/156720112802650680

Burger, C., Hsiao, B. S., & Chu, B. (2006). Nanofibrous materials and their applications. Annu. Rev. Mater. Res., 36, 333-368. https://doi.org/10.1146/annurev.matsci.36.011205.123537

Cai, P., Hu, B., Leow, W. R., Wang, X., Loh, X. J., Wu, Y. L., & Chen, X. (2018). Biomechano-interactive materials and interfaces. Advanced Materials, 30(31), 1800572. https://doi.org/10.1002/adma.201800572

Cai, Y., & Gevelber, M. (2013). The effect of relative humidity and evaporation rate on electrospinning: fiber diameter and measurement for control implications. Journal of Materials Science, 48(22), 7812-7826. https://doi.org/10.1007/s10853-013-7544-x

Carothers, W. H., Dorough, G. L., & Natta, F. V. (1932). Studies of polymerization and ring formation. X. The reversible polymerization of six-membered cyclic esters. Journal of the American Chemical Society, 54(2), 761-772. https://doi.org/10.1021/ja01341a046

Chambers, C.S.; Holečková, V.; Petrásková, L.; Biedermann, D.; Valentová, K.; Buchta, M.; Křen, V. (2017). The silymarin composition and why does it matter? Food Res. , 100, 339–353. https://doi.org/10.1016/j.foodres.2017.07.017

Chou, S. F., Carson, D., & Woodrow, K. A. (2015). Current strategies for sustaining drug release from electrospun nanofibers. Journal of Controlled Release, 220, 584-591. https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2015.09.008

Chaudhary, S., Garg, T., Murthy, R. S. R., Rath, G., & Goyal, A. K. (2014). Recent approaches of lipid-based delivery system for lymphatic targeting via oral route. Journal of drug targeting, 22(10), 871-882. https://doi.org/10.3109/1061186X.2014.950664

Chen, L. Q., Kang, X. J., Sun, J., Deng, J. J., Gu, Z. Z., & Lu, Z. H. (2010). Application of nanofiber-packed SPE for determination of salivary-free cortisol using fluorescence precolumn derivatization and HPLC detection. Journal of separation science, 33(15), 2369- 2375. https://doi.org/10.1002/jssc.201000071

Chevalier, J. (2006). What future for zirconia as a biomaterial?. Biomaterials, 27(4), 535-543. doi: 10.1016/j.biomaterials.2005.07.034

Correia, I.J. (2018). Electrospun polymeric nanofibres as wound dressings: A review. https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2018.05.011

Çırak, Z.D. , Yakıncı D.B. , (2020) 'Tıbbi Uygulamalarda Kullanılan Biyouyumlu Biyomalzemeler' İnönü Üniversitesi Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksek Okulu Dergisi, Cilt 8, Sayı 2, 2020, 515 – 526. https://doi.org/10.33715/inonusaglik.745301

Darmanin, T. and Guittard, F. (2014) Wettability of Conducting Polymers: From Superhydrophilicity to Superoleophobicity. Progress in Polymer Science, 39, 656-682. https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2013.10.003

De Souza Farias, S. A., da Costa, K. S., & Martins, J. (2021). Analysis of Conformational, Structural, Magnetic, and Electronic Properties Related to Antioxidant Activity: Revisiting Flavan, Anthocyanidin, Flavanone, Flavonol, Isoflavone, Flavone, and Flavan-3-ol. ACS omega, 6(13), 8908–8918. https://doi.org/10.1021/acsomega.0c06156

De Vrieze, S., Van Camp, T., Nelvig, A., Hagström, B., Westbroek, P., & De Clerck, K. (2009). The effect of temperature and humidity on electrospinning. Journal of materials science, 44(5), 1357-1362. https://doi.org/10.1007/s10853-008-3010-6

Demirezer LÖ, Ersöz T, Saracoğlu İ. ve Şener B. (2007). Türkiye'de Kullanılan Bitkiler. 'FFD Monografları'. MN Medikal ve Nobel Tıp Kitapevi.

Díaz, E., Sandonis, I., & Valle, M. B. (2014). In vitro degradation of poly (caprolactone)/nHA composites. Journal of Nanomaterials, 2014. http://hdl.handle.net/10810/17527

Diegelmann RF, Cohen IK, Kaplan AM. (1981) The role of macrophages in wound repair: a review. Plast Reconstr Surg; 68:107–113. https://doi.org/ doi:10.1097/00006534-198107000-00025

Diegelmann, R. F., & Evans, M. C. (2004). Wound healing: an overview of acute, fibrotic and delayed healing. Front biosci, 9(1), 283-289. https://doi.org/10.2741/1184

Ding, B., Li, C., Miyauchi, Y., Kuwaki, O., & Shiratori, S. (2006). Formation of novel 2D polymer nanowebs via electrospinning. Nanotechnology, 17(15), 3685. https://doi.org/ 10.1088/0957-4484/17/15/011

Ding, C., Fang, H., Duan, G., Zou, Y., Chen, S., & Hou, H. (2019). Investigating the draw ratio and velocity of an electrically charged liquid jet during electrospinning. RSC advances, 9(24), 13608-13613. https://doi.org/10.1039/c9ra02024a

Ding, J., Zhang, J., Li, J., Li, D., Xiao, C., Xiao, H., ... & Chen, X. (2019). Electrospun polymer biomaterials. Progress in Polymer Science, 90, 1-34. https://doi.org/ 10.1016/j.progpolymsci.2019.01.002

Duncan MR, Frazier KS, Abramson S, Williams S, Klapper H, Huang X, Grotendorst GR. (1999) Connective tissue growth factor mediates transforming growth factor beta-induced collagen synthesis: down-regulation by cAMP. FASEB J ;13:1774–1786.

Düzyer Gebizli, Ş. E. B. N. E. M., Koral Koc, S., Hockenberger, A., Evke, E., Kahveci, Z., & UĞUZ, A. (2013). Effects of different sterilization methods on polyester surfaces. Tekstil ve Konfeksiyon, 23(4), 319-324. https://aperta.ulakbim.gov.tr//record/15375

Elzein, T., Nasser-Eddine, M., Delaite, C., Bistac, S., & Dumas, P. (2004). FTIR study of polycaprolactone chain organization at interfaces. Journal of colloid and interface science, 273(2), 381-387. https://doi.org/10.1016/j.jcis.2004.02.001

Eren, H. B. & Şar, S. (2020). Meryemana Dikeni Bitkisinin Kullanımının Eczacılık Ve Tıp Tarihi Açısından İncelenmesi. Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Lokman Hekim Tıp Tarihi ve Folklorik Tıp Dergisi, 10 (1) , 23-27. https://doi.org/10.31020/mutftd.631944

Fang, L., Liang, B., Yang, G., Hu, Y., Zhu, Q., & Ye, X. (2014). Study of glucose biosensor lifetime improvement in 37 C serum based on PANI enzyme immobilization and PLGA biodegradable membrane. Biosensors and Bioelectronics, 56, 91-96. https://doi.org/10.1016/j.bios.2014.01.017

Federico, A.; Dallio, M.; Loguercio, C.; Tsai, T.-H.; Jeon, Y. (2017). Silymarin/Silybin and Chronic Liver Disease: A Marriage of Many Years. Molecules, 22, 191. https://doi.org/10.3390/molecules22020191

Fenton, O. S., Olafson, K. N., Pillai, P. S., Mitchell, M. J., & Langer, R. (2018). Advances in biomaterials for drug delivery. Advanced Materials, 30(29), 1705328. https://doi.org/10.1002/adma.201705328

Fong, H., Chun, I., & Reneker, D. H. (1999). Beaded nanofibers formed during electrospinning. Polymer, 40(16), 4585-4592. https://doi.org/10.1016/S0032-3861(99)00068-3

Frenette PS, Wagner DD. (1996) Molecular medicine, adhesion molecules. N Engl J Med; 334:1526–1529. https://doi.org/10.1056/NEJM199606063342308

Frenette PS, Wagner DD. (1996) Adhesion molecules, blood vessels and blood cells. N Engl J Med; 335:43–45. https://doi.org/10.1056/NEJM199607043350108

Fujihara, K., Kotaki, M., & Ramakrishna, S. (2005). Guided bone regeneration membrane made of polycaprolactone/calcium carbonate composite nano-fibers. Biomaterials, 26(19), 4139-4147. https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2004.09.014

Gailit J, Clark RAF. (1994) Wound repair in context of extracellular matrix. Curr Opin cell Biol; 6:717–725. https://doi.org/ 10.1016/0955-0674(94)90099-x

Garg, T., Malik, B., Rath, G., & Goyal, A. K. (2014). Development and characterization of nano-fiber patch for the treatment of glaucoma. European Journal of Pharmaceutical Sciences, 53, 10-16. https://doi.org/ 10.1016/j.ejps.2013.11.016

Garg, T., Murthy, R. S. R., Kumar Goyal, A., Arora, S., & Malik, B. (2012). Development, optimization & evaluation of porous chitosan scaffold formulation of gliclazide for the treatment of type-2 diabetes mellitus. Drug delivery letters, 2(4), 251-261. https://doi.org/ 10.2174/2210304x11202040003

Garg, T., Rath, G., & Goyal, A. K. (2014). Biomaterials-based nanofiber scaffold: targetednand controlled carrier for cell and drug delivery. Journal of Drug Targeting, 23(3), 202–221. https://doi.org/10.3109/1061186x.2014.992899

Garg, T., Singh, O., Arora, S., & Murthy, R. S. R. (2012). Scaffold: a novel carrier for cell and drug delivery. Critical Reviews™ in Therapeutic Drug Carrier Systems, 29(1-63). https://doi.org/ 10.1615/critrevtherdrugcarriersyst.v29.i1.10

Gazak, R.; Walterova, D.; Kren, V. (2007). Silybin and silymarin—New and emerging applications in medicine. Curr. Med. Chem. 14, 315–338. https://doi.org/ 10.2174/092986707779941159

Girlich, C., & Scholmerich, J. (2012). Topical delivery of steroids in inflammatory bowel disease. Current Drug Delivery, 9(4), 345-349. https://doi.org/ 10.2174/156720112801323071

González-Henríquez, C. M., Sarabia-Vallejos, M. A., & Rodriguez-Hernandez, J. (2019). Polymers for additive manufacturing and 4D-printing: Materials, methodologies, and biomedical applications. Progress in Polymer Science, 94, 57-116. https://doi.org/ 10.1016/j.progpolymsci.2019.03.001

Goodson, J. M., Holborow, D., Dunn, R. L., Hogan, P., & Dunham, S. (1983). Monolithic tetracycline-containing fibers for controlled delivery to periodontal pockets. Journal of periodontology, 54(10), 575-579. https://doi.org/ 10.1902/jop.1983.54.10.575

Goyal, G., Garg, T., Malik, B., Chauhan, G., Rath, G., & Goyal, A. K. (2015). Development and characterization of niosomal gel for topical delivery of benzoyl peroxide. Drug delivery, 22(8), 1027-1042. https://doi.org/ 10.3109/10717544.2013.855277

Goyal, G., Garg, T., Rath, G., & Goyal, A. (2014). Current nanotechnological strategies for an effective delivery of drugs in treatment of periodontal disease. Critical Reviews™ in Therapeutic Drug Carrier Systems, 31(2). https://doi.org/ 10.1615/critrevtherdrugcarriersyst.2014008117

Graf, B. A., Milbury, P. E., & Blumberg, J. B. (2005). Flavonols, flavones, flavanones, and human health: epidemiological evidence. Journal of medicinal food, 8(3), 281-290. https://doi.org/ 10.1089/jmf.2005.8.281

Guo, S., Zhu, X., & Loh, X. J. (2017). Controlling cell adhesion using layer-by-layer approaches for biomedical applications. Materials Science and Engineering: C, 70, 1163-1175. https://doi.org/ 10.1016/j.msec.2016.03.074

Gupta, B. P., Thakur, N., Jain, N. P., Banweer, J., & Jain, S. (2010). Osmotically controlled drug delivery system with associated drugs. Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences, 13(4), 571-588. https://doi.org/ 10.18433/j38w25

Gümüşderelioğlu, M. (2002). Biyomalzemeler bilim ve teknik tubitak, Temmuz.

Güven, Ş. (2014). 'BİYOUYUMLULUK VE BİYOMALZEMELERİN SEÇİMİ'. Mühendislik Bilimleri ve Tasarım Dergisi, vol. 2, no. 3, Dec. 2014, pp. 303–11.

Güven, Ş. Y. (2010). Ortopedik malzemelerin biyouyumlulukları ve mekanik özelliklerine göre seçimi. In 2nd National Design and Manufacturing Congress, Balıkesir (pp. 472-484).

H. Bahrami, S. H. Keshel, A. J. Chari, and E. Biazar (2016). "Human unrestricted somatic stem cells loaded in nanofibrous PCL scaffold and their healing effect on skin defects," Artif. Cells, Nanomedicine Biotechnol., vol. 44, no. 6, pp. 1556–1560.

Hackett, E.S.; Twedt, D.C.; Gustafson, D.L. (2013). Milk thistle and its derivative compounds: A review of opportunities for treatment of liver disease. *J. Vet. Intern. Med. 27,* https://doi.org/ 10–16. 10.1111/jvim.12002

Haghi, A. K., & Akbari, M. (2007). Trends in electrospinning of natural nanofibers. physica status solidi (a), 204(6), 1830-1834. https://doi.org/10.1002/pssa.200675301

Haider, S., Al-Zeghayer, Y., Ahmed Ali, F. A., Haider, A., Mahmood, A., Al-Masry, W. A., ... & Aijaz, M. O. (2013). Highly aligned narrow diameter chitosan electrospun nanofibers. Journal of Polymer Research, 20(4), 1-11. https://doi.org/ 10.1007/s10965-013-0105-9

Han, D., & Steckl, A. J. (2013). Triaxial electrospun nanofiber membranes for controlled dual release of functional molecules. ACS applied materials & interfaces, 5(16), 8241-8245. https://doi.org/ 10.1021/am402376c

Han, D., Filocamo, S., Kirby, R., & Steckl, A. J. (2011). Deactivating chemical agents using enzyme-coated nanofibers formed by electrospinning. ACS Applied Materials & Interfaces, 3(12), 4633-4639. https://doi.org/ 10.1021/am201064b

Han, H. S., Loffredo, S., Jun, I., Edwards, J., Kim, Y. C., Seok, H. K., ... & Glyn-Jones, S. (2019). Current status and outlook on the clinical translation of biodegradable metals. Materials Today, 23, 57-71. https://doi.org/ 10.1016/j.bioactmat.2021.09.025

Hardenia, A., Maheshwari, N., Hardenia, S. S., Dwivedi, S. K., Maheshwari, R., & Tekade, R. K. (2019). Scientific rationale for designing controlled drug delivery systems. In Basic Fundamentals of Drug Delivery (pp. 1-28). Academic Press. https://doi.org/10.3390/molecules26195905

Hayati, I., Bailey, A. I., & Tadros, T. F. (1987). Investigations into the mechanisms of electrohydrodynamic spraying of liquids: I. Effect of electric field and the environment on pendant drops and factors affecting the formation of stable jets and atomization. Journal of Colloid and Interface Science, 117(1), 205-221. https://doi.org/ 10.1016/0021-9797(87)90185-8

He, G., Eckert, J., Dai, Q. L., Sui, M. L., Löser, W., Hagiwara, M., & Ma, E. (2003). Nanostructured Ti-based multi-component alloys with potential for biomedical applications. Biomaterials, 24(28), 5115-5120. https://doi.org/ 10.1016/s0142-9612(03)00440-x

Hench, L. L. (1991). Bioceramics: from concept to clinic. Journal of the american ceramic society, 74(7), 1487-1510. https://doi.org/ 10.1111/j.1151-2916.1991.tb07132.x

Hench, L. L., Splinter, R. J., Allen, W. C., & Greenlee, T. K. (1971). Bonding mechanisms at the interface of ceramic prosthetic materials. Journal of biomedical materials research, 5(6), 117-141. https://doi.org/ 10.1002/jbm.820050611

Hermawan, H., Ramdan, D., & Djuansjah, J. R. (2011). Metals for biomedical applications. Biomedical engineering-from theory to applications, 1, 411-430. https://doi.org/10.5772/19033

Hernández-Rodríguez, P., Baquero, L.P., & Larrota, H.R. (2019). Flavonoids: Potential Therapeutic Agents by Their Antioxidant Capacity. https://doi.org/ 10.1016/B978-0-12-814774-0.00014-1

Hossain, M. F., Gong, R. H., & Rigout, M. (2016). Optimization of the process variables for electrospinning of poly (ethylene oxide)-loaded hydroxypropyl-β-cyclodextrin nanofibres. The Journal of the Textile Institute, 107(1), 1-11. https://doi.org/ 10.1016/j.wndm.2020.100179.

Huang, C., & Thomas, N. L. (2018). Fabricating porous poly (lactic acid) fibres via electrospinning. European Polymer Journal, 99, 464-476. https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2017.12.025

Hutmacher, D. W., Schantz, T., Zein, I., Ng, K. W., Teoh, S. H., & Tan, K. C. (2001). Mechanical properties and cell cultural response of polycaprolactone scaffolds designed and fabricated via fused deposition modeling. Journal of Biomedical Materials Research: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials, 55(2), 203-216. https://doi.org/10.1002/1097-4636(200105)55:2<203::aid-jbm1007>3.0.co;2-7

Janković, B., Pelipenko, J., Škarabot, M., Muševič, I., & Kristl, J. (2013). The design trend in tissue-engineering scaffolds based on nanomechanical properties of individual electrospun nanofibers. International journal of pharmaceutics, 455(1-2), 338-347. https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2013.06.083

Johal, H. S., Garg, T., Rath, G., & Goyal, A. K. (2016). Advanced topical drug delivery system for the management of vaginal candidiasis. Drug delivery, 23(2), 550-563. https://doi.org/10.3109/10717544.2014.928760

Jordan, D. R., Mawn, L. A., Brownstein, S., McEachren, T. M., Gilberg, S. M., Hill, V., Grahovac, S. Z., & Adenis, J. P. (2000). The bioceramic orbital implant: a new generation of porous implants. Ophthalmic plastic and reconstructive surgery, 16(5), 347–355. https://doi.org/10.1097/00002341-200009000-00008

Joshi, D., Garg, T., Goyal, A. K., & Rath, G. (2016). Advanced drug delivery approaches against periodontitis. Drug delivery, 23(2), 363-377. https://doi.org/ 10.3109/10717544.2014.935531

Kataria, K., Sharma, A., Garg, T., K Goyal, A., & Rath, G. (2014). Novel technology to improve drug loading in polymeric nanofibers. Drug delivery letters, 4(1), 79-86. https://doi.org/ 10.2174/22103031113036660018

Katti, D. S., Robinson, K. W., Ko, F. K., & Laurencin, C. T. (2004). Bioresorbable nanofiber-based systems for wound healing and drug delivery: optimization of fabrication parameters. Journal of biomedical materials research. Part B, Applied biomaterials, 70(2), 286–296. https://doi.org/10.1002/jbm.b.30041

Katsogiannis, K. A. G., Vladisavljević, G. T., & Georgiadou, S. (2016). Porous electrospun polycaprolactone fibers: Effect of process parameters. Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics, 54(18), 1878-1888. https://doi.org/ 10.1002/polb.24090

Kaur, M., Garg, T., Rath, G., & Goyal, A. K. (2014). Current nanotechnological strategies for effective delivery of bioactive drug molecules in the treatment of tuberculosis. Critical Reviews™ in Therapeutic Drug Carrier Systems, 31(1). https://doi.org/ 10.1615/critrevtherdrugcarriersyst.2014008285

Kaur, M., Malik, B., Garg, T., Rath, G., & Goyal, A. K. (2015). Development and characterization of guar gum nanoparticles for oral immunization against tuberculosis. Drug delivery, 22(3), 328-334. https://doi.org/10.3109/10717544.2014.894594

Kaur, V., Garg, T., Rath, G., & Goyal, A. K. (2014). Therapeutic potential of nanocarrier for overcoming to P-glycoprotein. Journal of Drug Targeting, 22(10), 859-870. https://doi.org/ 10.3109/1061186X.2014.947295

Khademhosseini, A., & Langer, R. (2016). A decade of progress in tissue engineering. Nature protocols, 11(10), 1775-1781. https://doi.org/ 10.1038/nprot.2016.123

Ki, C. S., Baek, D. H., Gang, K. D., Lee, K. H., Um, I. C., & Park, Y. H. (2005). Characterization of gelatin nanofiber prepared from gelatin–formic acid solution. Polymer, 46(14), 5094-5102. https://doi.org/ 10.1016/j.polymer.2005.04.040

Kim, G., & Kim, W. (2007). Highly porous 3D nanofiber scaffold using an electrospinning technique. Journal of Biomedical Materials Research Part B: Applied Biomaterials: An Official Journal of The Society for Biomaterials, The Japanese Society for Biomaterials, and The Australian Society for Biomaterials and the Korean Society for Biomaterials, 81(1), 104-110. https://doi.org/ 10.1002/jbm.b.30642

Kim, J. H., Lee, J. H., Kim, J. Y., & Kim, S. S. (2018). Synthesis of aligned TiO2 nanofibers using electrospinning. Applied Sciences, 8(2), 309. https://doi.org/ 10.3390/app8020309

Kim, N. C., Graf, T. N., Sparacino, C. M., Wani, M. C., & Wall, M. E. (2003). Complete isolation and characterization of silybins and isosilybins from milk thistle (Silybum marianum). Organic & biomolecular chemistry, 1(10), 1684–1689. https://doi.org/10.1039/b300099k

Kim, T. G., Lee, D. S., & Park, T. G. (2007). Controlled protein release from electrospun biodegradable fiber mesh composed of poly(epsilon-caprolactone) and poly(ethylene oxide). International journal of pharmaceutics, 338(1-2), 276–283. https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2007.01.040

Kishen, A., Shrestha, S., Shrestha, A., Cheng, C., & Goh, C. (2016). Characterizing the collagen stabilizing effect of crosslinked chitosan nanoparticles against collagenase degradation. Dental Materials, 32(8), 968-977. https://doi.org/10.1016/j.dental.2016.05.005

Kohse, S., Grabow, N., Schmitz, K. P., & Eickner, T. (2017). Electrospinning of polyimide nanofibres–effects of working parameters on morphology. Current Directions in Biomedical Engineering, 3(2), 687-690. https://doi.org/10.1007/s10853-021-06575-w

Koons, G. L., Diba, M., & Mikos, A. G. (2020). Materials design for bone-tissue engineering. Nature Reviews Materials, 5(8), 584-603. https://doi.org/ 10.1038/s41578-020-0204-2

Kopeček, J. (2013). Polymer–drug conjugates: Origins, progress to date and future directions. Advanced drug delivery reviews, 65(1), 49-59. https://doi.org/ 10.1016/j.addr.2012.10.014

Koski, A., Yim, K., & Shivkumar, S. J. M. L. (2004). Effect of molecular weight on fibrous PVA produced by electrospinning. Materials Letters, 58(3-4), 493-497. https://doi.org/ 10.1016/S0167-577X(03)00532-9

Kren, V., & Walterová, D. (2005). Silybin and silymarin--new effects and applications. Biomedical papers of the Medical Faculty of the University Palacky, Olomouc, Czechoslovakia, 149(1), 29–41. https://doi.org/ 10.5507/bp.2005.002

Kriegel, C., Arrechi, A., Kit, K., McClements, D. J., & Weiss, J. (2008). Fabrication, functionalization, and application of electrospun biopolymer nanofibers. Critical reviews in food science and nutrition, 48(8), 775-797. https://doi.org/ 10.1080/10408390802241325

Kumar P (2012) Effect of collector on electrospinning to fabricate aligned nanofiber. Department of Biotechnology & Medical Engineering National Institute of Technology, Rourkela

Langer, R. (1998). Drug delivery and targeting. Nature, 392(6679 Suppl), 5-10.

Lasprilla-Botero, J., Alvarez-Lainez, M., & Lagaron, J. M. (2018). The influence of electrospinning parameters and solvent selection on the morphology and diameter of polyimide nanofibers. Materials Today Communications, 14, 1-9. https://doi.org/ 10.1016/j.mtcomm.2017.12.003

Le Geros, R. Z. (1988). Calcium phosphate materials in restorative dentistry: a review. Advances in dental research, 2(1), 164-180. https://doi.org/10.1177/08959374880020011101

Li W-J, Shanti RM, Tuan RS (2006). Electrospinning technology for nanofibrous scaffolds in tissue engineering. Nanotechnologies Life Sci 9:135–186 https://doi.org/ 10.1002/9783527610419.NTLS0097

Li, D., & Xia, Y. (2004). Electrospinning of nanofibers: reinventing the wheel?. Advanced materials, 16(14), 1151-1170. https://doi.org/ 10.1002/adma.200400719

Li, J., & Mooney, D. J. (2016). Designing hydrogels for controlled drug delivery. Nat Publ Gr. 2016; 1: 1–18. https://doi.org/ 10.1038/natrevmats.2016.71

Li, X., Qiang, J., Wan, Y., Wang, H., & Gao, W. (2019). The effect of sonic vibration on electrospun fiber mats. Journal of Low Frequency Noise, Vibration and Active Control, 38(3-4), 1246-1251. https://doi.org/ 10.1177/1461348418813256

Liao, Y., Loh, C. H., Tian, M., Wang, R., & Fane, A. G. (2018). Progress in electrospun polymeric nanofibrous membranes for water treatment: Fabrication, modification and

applications. Progress in Polymer Science, 77, 69-94. https://doi.org/10.1016/j.progpolymsci.2017.10.003

Lin, Q., Lim, J., Xue, K., Su, X., & Loh, X. J. (2021). Polymeric hydrogels as a vitreous replacement strategy in the eye. Biomaterials, 268, 120547. https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2020.120547

Liu, G., Gu, Z., Hong, Y., Cheng, L., & Li, C. (2017). Electrospun starch nanofibers: Recent advances, challenges, and strategies for potential pharmaceutical applications. Journal of controlled release : official journal of the Controlled Release Society, 252, 95–107. https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2017.03.016

Liu, H., Shukla, S., Vera-González, N., Tharmalingam, N., Mylonakis, E., Fuchs, B. B., & Shukla, A. (2019). Auranofin Releasing Antibacterial and Antibiofilm Polyurethane Intravascular Catheter Coatings. *Frontiers in cellular and infection microbiology*, *9*, 37. https://doi.org/10.3389/fcimb.2019.00037

Liu, J., Liu, J., Xu, H., Zhang, Y., Chu, L., Liu, Q., Song, N., & Yang, C. (2014). Novel tumor-targeting, self-assembling peptide nanofiber as a carrier for effective curcumin delivery. International journal of nanomedicine, 9, 197–207. https://doi.org/10.2147/IJN.S55875

Liu, R., Xu, X., Zhuang, X., & Cheng, B. (2014). Solution blowing of chitosan/PVA hydrogel nanofiber mats. Carbohydrate polymers, 101, 1116-1121. https://doi.org/ 10.1016/j.carbpol.2013.10.056

Liu, W., Thomopoulos, S., & Xia, Y. (2012). Electrospun nanofibers for regenerative medicine. Advanced healthcare materials, 1(1), 10-25. https://doi.org/ 10.1002/adhm.201100021

Loh, X. J., Gong, J., Sakuragi, M., Kitajima, T., Liu, M., Li, J., & Ito, Y. (2009). Surface coating with a thermoresponsive copolymer for the culture and non-enzymatic recovery of mouse embryonic stem cells. Macromolecular bioscience, 9(11), 1069-1079. https://doi.org/ 10.1002/mabi.200900081

Lu T, Li Y, Chen T (2013). Techniques for fabrication and construction of three-dimensional scaffolds for tissue engineering. Int J Nanomedicine 8:337–350. https://doi.org/10.2147/IJN. S38635

Luo, C. J., Nangrejo, M., & Edirisinghe, M. (2010). A novel method of selecting solvents for polymer electrospinning. Polymer, 51(7), 1654-1662. https://doi.org/ 10.1016/j.polymer.2010.01.031

Luo, C. J., Stride, E., & Edirisinghe, M. (2012). Mapping the influence of solubility and dielectric constant on electrospinning polycaprolactone solutions. Macromolecules, 45(11), 4669-4680. https://doi.org/10.1021/ma300656u

Luzio, A., Canesi, E. V., Bertarelli, C., & Caironi, M. (2014). Electrospun polymer fibers for electronic applications. Materials, 7(2), 906-947 https://doi.org/ 10.3390/ma7020906

Mahalingam, S., Raimi-Abraham, B. T., Craig, D. Q., & Edirisinghe, M. (2015). Solubility–spinnability map and model for the preparation of fibres of polyethylene (terephthalate) using gyration and pressure. Chemical Engineering Journal, 280, 344-353. https://doi.org/10.1016/j.cej.2015.05.114.

Maira, F., Catania, A., Candido, S., Erika Russo, A., A McCubrey, J., Libra, M., ... & Fenga, C. (2012). Molecular targeted therapy in melanoma: a way to reverse resistance to conventional drugs. Current drug delivery, 9(1), 17-29. https://doi.org/ 10.2174/156720112798376032

Maitz, M. F. (2015). Applications of synthetic polymers in clinical medicine. Biosurface and Biotribology, 1(3), 161-176. https://doi.org/ 10.1016/j.bsbt.2015.08.002

Mantovani, D. (2000). Shape memory alloys: Properties and biomedical applications. Jom, 52(10), 36-44. https://doi.org/ 10.1007/s11837-000-0082-4

Marin, E., Boschetto, F., & Pezzotti, G. (2020). Biomaterials and biocompatibility: An historical overview. *Journal of biomedical materials research. Part A*, *108*(8), 1617–1633. https://doi.org/ 10.1002/jbm.a.36930

Mast BA, Schultz GS. (1996) Interactions of cytokines, growth factors, and proteases in acute and chronic wounds. Wound Rep Reg ; 4:411–420. https://doi.org/ 10.1046/j.1524-475X.1996.40404.x

Mattanavee, W., Suwantong, O., Puthong, S., Bunaprasert, T., Hoven, V. P., & Supaphol, P. (2009). Immobilization of biomolecules on the surface of electrospun polycaprolactone fibrous scaffolds for tissue engineering. ACS applied materials & interfaces, 1(5), 1076-1085. https://doi.org/ 10.1021/am900048t

Megelski, S., Stephens, J. S., Chase, D. B., & Rabolt, J. F. (2002). Micro-and nanostructured surface morphology on electrospun polymer fibers. Macromolecules, 35(22), 8456-8466. https://doi.org/ 10.1021/ma020444a

Metsger, D. S., Driskell, T. D., & Paulsrud, J. R. (1982). Tricalcium phosphate ceramic--a resorbable bone implant: review and current status. Journal of the American Dental Association (1939), 105(6), 1035-1038. https://doi.org/10.14219/jada.archive.1982.0408

Miguel, S. P., Sequeira, R. S., Moreira, A. F., Cabral, C. S., Mendonça, A. G., Ferreira, P., & Correia, I. J. (2019). An overview of electrospun membranes loaded with bioactive molecules for improving the wound healing process. European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics, 139, 1-22. https://doi.org/ 10.1016/j.ejpb.2019.03.010

Miguel, S.P. Figueira, D.R., Simões, D., Ribeiro, M.P., Coutinho, P., Ferreira, P., Minatel, I. O., Borges, C. V., Ferreira, M. I., Gomez, H. A. G., Chen, C. Y. O., & Lima, G. P. P. (2017). Phenolic compounds: Functional properties, impact of processing and bioavailability. Phenolic Compd. Biol. Act, 8, 1-24. https://doi.org/10.5772/66368

Mondal, K., Ali, M. A., Agrawal, V. V., Malhotra, B. D., & Sharma, A. (2014). Highly sensitive biofunctionalized mesoporous electrospun TiO2 nanofiber based interface for biosensing. ACS applied materials & interfaces, 6(4), 2516-2527. https://doi.org/10.1021/am404931f

Morie, A., Garg, T., Goyal, A. K., & Rath, G. (2016). Nanofibers as novel drug carrier–an overview. Artificial cells, nanomedicine, and biotechnology, 44(1), 135-143. https://doi.org/10.3109/21691401.2014.927879

Morin RJ. and Tomaselli NL (2007) : Interactive dressings and topical agents. *Clin Plast Surg* ; 34**:**643. https://doi.org/10.1016/j.cps.2007.07.004

Nair, L. S., & Laurencin, C. T. (2007). Biodegradable polymers as biomaterials. Progress in polymer science, 32(8-9), 762-798. https://doi.org/

Nakamura, T., Shimizu, Y., Matsui, T., Okumura, N., Hyon, S. H., & Nishiya, K. (1992). A novel bioabsorbable monofilament surgical suture made from (ε-caprolactone, L-lactide) copolymer. In Degradation phenomena on polymeric biomaterials (pp. 153-162). Springer, Berlin, Heidelberg. https://doi.org/

Nayak R, Padhye R, Kyratzis IL, Truong YB, Arnold L (2011). Recent advances in nanofibre fabrication techniques. Text Res J 82(2):129–147. https://doi.org/10.1177/0040517511424524

Nencini, C., Giorgi, G., & Micheli, L. (2007). Protective effect of silymarin on oxidative stress in rat brain. Phytomedicine, 14(2-3), 129-135. https://doi.org/10.1016/j.phymed.2006.02.005

Niinomi M. (2008). Metallic biomaterials. Journal of artificial organs: the official journal of the Japanese Society for Artificial Organs, 11(3), 105–110. https://doi.org/10.1007/s10047-008-0422-7

Niinomi, M. (2018). Recent progress in research and development of metallic structural biomaterials with mainly focusing on mechanical biocompatibility. Materials Transactions, 59(1), 1-13. https://doi.org/10.2320/matertrans.M2017180

Nonato, R. C., Morales, A. R., Vieira, A. F., Nista, S. V., Mei, L. H., & Bonse, B. C. (2016). Solution parameters in the manufacture of ceramic ZnO nanofibers made by electrospinning. Applied Physics A, 122(3), 1-11.Nursing clinics of North America.

O'Toole EA. (2001) Extracellular matrix and keratinocyte migration. Clin Exp Dermatol; 26:525–530. https://doi.org/ 10.1046/j.1365-2230.2001.00891.x

Okan D, Woo K, and Ayello EA (2007): The role of moisture balance in wound healing. *Adv Skin Wound Care* ; 20**:**39. https://doi.org/10.1097/00129334-200701000-00013

Oses, C., Toher, C., & Curtarolo, S. (2020). High-entropy ceramics. Nature Reviews Materials, 5(4), 295-309. https://doi.org/ 10.1038/s41578-019-0170-8

P. P. Bonvallet et al., (2015). “Microporous dermal-mimetic electrospun scaffolds preseeded with fibroblasts promote tissue regeneration in full-thickness skin wounds,” PLoS One, vol. 10, no. 3, pp. 1–17. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0122359

Panche, A. N., Diwan, A. D., & Chandra, S. R. (2016). Flavonoids: an overview. Journal of nutritional science, 5, e47. https://doi.org/ 10.1017/jns.2016.41

Parajuli, D., Koomsap, P., Parkhi, A. A., & Supaphol, P. (2016). Experimental investigation on process parameters of near-field deposition of electrospinning-based rapid prototyping. Virtual and Physical Prototyping, 11(3), 193-207. https://doi.org/10.1080/17452759.2016.1210314

Parhi, R., Suresh, P., Mondal, S., & Mahesh Kumar, P. (2012). Novel penetration enhancers for skin applications: a review. Current Drug Delivery, 9(2), 219-230. https://doi.org/ 10.2174/156720112800234585

Park, K. (2014). Controlled drug delivery systems: past forward and future back. Journal of Controlled Release, 190, 3-8. https://doi.org/ 10.1016/j.jconrel.2014.03.054

Pasinli, A. (2004). Biyomedikal uygulamalarda kullanılan biyomalzemeler. Makine Teknolojileri Elektronik Dergisi, 4(4), 25-34.

Patil, P. B., Uphade, K. B., & Saudagar, R. B. (2018). A Revıew: Osmotıc Drug Delıvery System. Pharma Science Monitor, 9(2).

Paul, W., Sharma, C.P. (2004). “Chitosan and Alginate Wound Dressings: A Short Review” Trends Biomater. Artif. Organs, 18 (1), 18-23.

Pavlovic, M. (2015). What Are Biomaterials?. In: Bioengineering. Springer, Cham. https://doi.org/10.1007/978-3-319-10798-1_18

Pezeshki-Modaress, M., Mirzadeh, H., & Zandi, M. (2015). Gelatin–GAG electrospun nanofibrous scaffold for skin tissue engineering: fabrication and modeling of process parameters. Materials Science and Engineering: C, 48, 704-712. https://doi.org/ 10.1016/j.msec.2014.12.023

Pham, Q. P., Sharma, U., & Mikos, A. G. (2006). Electrospun poly (ε-caprolactone) microfiber and multilayer nanofiber/microfiber scaffolds: characterization of scaffolds and measurement of cellular infiltration. Biomacromolecules, 7(10), 2796-2805. https://doi.org/10.1021/bm060680j

Pillay, V., Dott, C., Choonara, Y. E., Tyagi, C., Tomar, L., Kumar, P., ... & Ndesendo, V. M. (2013). A review of the effect of processing variables on the fabrication of electrospun nanofibers for drug delivery applications. Journal of Nanomaterials, 2013. https://doi.org/ 10.1155/2013/789289

Pramanik, S., Agarwal, A. K., & Rai, K. N. (2005). Chronology of total hip joint replacement and materials development. Trends in Biomaterials & Artificial Organs, 19(1), 15-26.

Qader, İ. N., Mediha, K. Ö. K., Dagdelen, F., & Aydoğdu, Y. (2019). A review of smart materials: researches and applications. El-Cezerî Journal of Science and Engineering, 6(3), 755-788. https://doi.org/ 10.31202/ecjse.562177

Rajendran, S. (Ed.). (2018). Advanced textiles for wound care. Woodhead Publishing.

Ramakrishna S, Fujihara K, Teo W-E, Lim T-C, Ma Z (eds) (2005). An introduction to electrospinning and nanofibers. World Scientific Publishing, Singapore. https://doi.org/ 10.1142/9789812567611_0003

Ray, S. S., Chen, S. S., Nguyen, N. C., Hsu, H. T., Nguyen, H. T., & Chang, C. T. (2017). Poly (vinyl alcohol) incorporated with surfactant based electrospun nanofibrous layer onto polypropylene mat for improved desalination by using membrane distillation. Desalination, 414, 18-27. https://doi.org/10.1016/j.desal.2017.03.032

Righi TM, Almeida RS, d'Ávila MA (2012) Electrospinning of gelatin/PEO blends: Influence of process parameters in the nanofiber properties. In Proceedings of the Macromolecular Symposia; pp. 230–234. https://doi.org/ 10.1002/masy.201100137

Riley, R. S., June, C. H., Langer, R., & Mitchell, M. J. (2019). Delivery technologies for cancer immunotherapy. Nature reviews Drug discovery, 18(3), 175-196. https://doi.org/ 10.1038/s41573-018-0006-z

Rumalla VK, Borah GL.(2001) Cytokines, growth factors, and plastic surgery. Plast Reconstr Surg ; 108:719–733. https://doi.org/ 10.1097/00006534-200109010-00019

Scalbert, A., Manach, C., Morand, C., Rémésy, C., & Jiménez, L. (2005). Dietary polyphenols and the prevention of diseases. Critical reviews in food science and nutrition, 45(4), 287-306. https://doi.org/ 10.1080/1040869059096

Semenza GL. (2002) HIF-1 and tumor progression: pathophysiology and therapeutics. Trends Mol Med ; 8:S62–S67. https://doi.org/10.1016/s1471-4914(02)02317-1

Sencadas, V., Correia, D. M., Areias, A., Botelho, G., Fonseca, A. M., Neves, I. C., ... & Mendez, S. L. (2012). Determination of the parameters affecting electrospun chitosan fiber size distribution and morphology. Carbohydrate Polymers, 87(2), 1295-1301. https://doi.org/ 10.1016/J.CARBPOL.2011.09.017

Shaik, M. M., Dapkekar, A., Rajwade, J. M., Jadhav, S. H., & Kowshik, M. (2019). Antioxidant-antibacterial containing bi-layer scaffolds as potential candidates for management of oxidative stress and infections in wound healing. *Journal of materials science. Materials in medicine*, *30*(1), 13. https://doi.org/10.1007/s10856-018-6212-8

Sharifi, R., Rastegar, H., Kamalinejad, M., Dehpour, A. R., Tavangar, S. M., Paknejad, M., Mehrabani Natanzi, M., Ghannadian, N., Akbari, M., & Pasalar, P. (2012). Effect of topical application of silymarin (Silybum marianum) on excision wound healing in albino rats. Acta medica Iranica, 50(9), 583–588.

Shin, D., Kim, M. S., Yang, C. E., Lee, W. J., Roh, T. S., & Baek, W. (2019). Radially patterned polycaprolactone nanofibers as an active wound dressing agent. *Archives of plastic surgery*, *46*(5), 399–404. https://doi.org/10.5999/aps.2019.00626

Siepmann, J., & Siepmann, F. (2012). Modeling of diffusion controlled drug delivery. Journal of controlled release, 161(2), 351-362. https://doi.org/ 10.1016/j.jconrel.2011.10.006

Siepmann, J., Siegel, R. A., & Rathbone, M. J. (2012). Fundamentals and applications of controlled release drug delivery (Vol. 3, pp. 33-34). New York: Springer. https://doi.org/10.1007/978-1-4614-0881-9

Sill, T. J., & Von Recum, H. A. (2008). Electrospinning: applications in drug delivery and tissue engineering. Biomaterials, 29(13), 1989-2006. https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2008.01.011

Singh, A. P., Biswas, A., Shukla, A., & Maiti, P. (2019). Targeted therapy in chronic diseases using nanomaterial-based drug delivery vehicles. Signal transduction and targeted therapy, 4(1), 1-21. https://doi.org/10.1038/s41392-019-0068-3

Singh, M. R., Saraf, S., Vyas, A., Jain, V., & Singh, D. (2013). Innovative approaches in wound healing: Trajectory and advances. Artificial Cells, Nanomedicine and Biotechnology. https://doi.org/ 10.3109/21691401.2012.716065.

Skallevold, H. E., Rokaya, D., Khurshid, Z., & Zafar, M. S. (2019). Bioactive Glass Applications in Dentistry. International journal of molecular sciences, 20(23), 5960. https://doi.org/ 10.3390/ijms20235960

Skórkowska Telichowska, K., Czemplik, M., Kulma, A., Szopa, J. (2013). The local treatment and available dressings designed for chronic wounds. Journal of the American Academy of Dermatology, 68(4), 117–126. https://doi.org/ 10.1016/j.jaad.2011.06.028

Son WK, Youk JH, Lee TS, Park WH (2004) The effects of solution properties and polyelectrolyte on electrospinning of ultrafine poly (ethylene oxide) fibers. Polymer, 45, 2959–2966. https://doi.org/ 10.1016/j.polymer.2004.03.006

Sood, A., Granick, M. S., & Tomaselli, N. L. (2014). Wound Dressings and Comparative Effectiveness Data. Advances in Wound Care. https://doi.org/ 10.1089/wound.2012.0401.

Sood, A., Granick, M. S., & Tomaselli, N. L. (2014). Wound Dressings and Comparative Effectiveness Data. Advances in Wound Care. https://doi.org/ 10.1089/wound.2012.0401.

Srikonda, S.; Kotamraj, P.; Barclay, B. (2006). Osmotic controlled drug delivery systems. Des. Controlled Release Drug Delivery Systems. 1, 203. https://doi.org/ 10.18433/J38W25

Srivastava, A., Yadav, T., Sharma, S., Nayak, A., Kumari, A. A., & Mishra, N. (2015). Polymers in drug delivery. Journal of Biosciences and Medicines, 4(1), 69-84. https://doi.org/ 10.4236/jbm.2016.41009

Stojanovska, E., Canbay, E., Pampal, E. S., Calisir, M. D., Agma, O., Polat, Y., ... & Kilic, A. (2016). A review on non-electro nanofibre spinning techniques. *RSC advances*, *6*(87), 83783-83801. https://doi.org/ 10.1039/C6RA16986D

Subramanian, A., Krishnan, U. M., & Sethuraman, S. (2013). In vivo biocompatibility of PLGA-polyhexylthiophene nanofiber scaffolds in a rat model. BioMed research international, 2013. https://doi.org/ 10.1155/2013/390518

Svobodová, A., Walterová, D., & Psotová, J. (2006). Influence of silymarin and its flavonolignans on H2O2-induced oxidative stress in human keratinocytes and mouse fibroblasts. Burns, 32(8), 973-979. https://doi.org/ 10.1016/j.burns.2006.04.004

Swaim, S. F., & Lee, A. H. (1987). Topical wound medications: a review. Journal of the American Veterinary Medical Association, 190(12), 1588-1593.

Szabelski, J., Karpiński, R., Krakowski, P., & Jonak, J. (2021). The Impact of Contaminating Poly (Methyl Methacrylate) (PMMA) Bone Cements on Their Compressive Strength. Materials (Basel, Switzerland), 14(10), 2555. https://doi.org/ 10.3390/ma14102555

Szala, M., & Borkowski, A. (2014). Toxicity assessment of SiC nanofibers and nanorods against bacteria. Ecotoxicology and environmental safety, 100, 287-293. https://doi.org/ 10.1016/j.ecoenv.2013.10.030

Tabandeh, M. R., Oryan, A., Mohhammad-Alipour, A., & Tabatabaei-Naieni, A. (2013). Silibinin regulates matrix metalloproteinase 3 (stromelysine1) gene expression, hexoseamines and collagen production during rat skin wound healing. Phytotherapy Research, 27(8), 1149-1153. https://doi.org/ 10.1002/ptr.4839

Taha, A. A., Hriez, A. A., Wu, Y. N., Wang, H., & Li, F. (2014). Direct synthesis of novel vanadium oxide embedded porous carbon nanofiber decorated with iron nanoparticles as a low-cost and highly efficient visible-light-driven photocatalyst. Journal of colloid and interface science, 417, 199-205. https://doi.org/ 10.1016/j.jcis.2013.11.015

Tahir, M., Cao, C., Mahmood, N., Butt, F. K., Mahmood, A., Idrees, F., ... & Aslam, I. (2014). Multifunctional g-C3N4 nanofibers: a template-free fabrication and enhanced optical, electrochemical, and photocatalyst properties. ACS applied materials & interfaces, 6(2), 1258-1265. https://doi.org/ 10.1021/am405076b

Tam, N., Oguz, S., Aydogdu, A., Sumnu, G., & Sahin, S. (2017). Influence of solution properties and pH on the fabrication of electrospun lentil flour/HPMC blend nanofibers. Food Research International, 102, 616-624. https://doi.org/ 10.1016/j.foodres.2017.09.049

Tan, S. H., Inai, R., Kotaki, M., & Ramakrishna, S. (2005). Systematic parameter study for ultra-fine fiber fabrication via electrospinning process. Polymer, 46(16), 6128-6134. https://doi.org/ 10.1016/j.polymer.2005.05.068

Tanaka, T., Tanaka, R., Ogawa, Y., Takagi, Y., & Asakura, T. (2020). Development of Small-diameter Polyester Vascular Grafts Coated with Silk Fibroin Sponge. Organogenesis, 16(1), 1–13. https://doi.org/ 10.1080/15476278.2019.1686295

Taylor, G. I. (1969). Electrically driven jets. Proceedings of the Royal Society of London. A. Mathematical and Physical Sciences, 313(1515), 453-475. https://doi.org/ 10.1098/rspa.1969.0205

Thompson, C. J., Chase, G. G., Yarin, A. L., & Reneker, D. H. (2007). Effects of parameters on nanofiber diameter determined from electrospinning model. Polymer, 48(23), 6913-6922.

Tian, H., Tang, Z., Zhuang, X., Chen, X., & Jing, X. (2012). Biodegradable synthetic polymers: Preparation, functionalization and biomedical application. Progress in Polymer Science, 37(2), 237-280. https://doi.org/ 10.1007/s10311-018-00838-w

Toklu, H. Z., Tunalı-Akbay, T., Erkanlı, G., Yüksel, M., Ercan, F., & Şener, G. (2007). Silymarin, the antioxidant component of Silybum marianum, protects against burn-induced oxidative skin injury. Burns, 33(7), 908-916.https://doi.org/10.1016/j.burns.2006.10.407Get

Topuz F, Satilmis B, Uyar T (2019) Electrospinning of uniform nanofibers of polymers of intrinsic microporosity (PIM-1): The influence of solution conductivity and relative humidity. Polymer, 178, 121610 https://doi.org/ 10.1016/j.polymer.2019.121610

Utreja, P., Jain, S., & K Tiwary, A. (2010). Novel drug delivery systems for sustained and targeted delivery of anti-cancer drugs: current status and future prospects. Current Drug Delivery, 7(2), 152-161. https://doi.org/ 10.2174/156720110791011783

Vaid, M.; Katiyar, S.K. (2010). Molecular mechanisms of inhibition of photocarcinogenesis by silymarin, a phytochemical from milk thistle (Silybum marianum L. Gaertn.) (Review). *Int. J. Oncol. 36*, 1053–1060. https://doi.org/ 10.3892/ijo_00000586

Vega-Lugo, A. C., & Lim, L. T. (2012). Effects of poly (ethylene oxide) and pH on the electrospinning of whey protein isolate. Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics, 50(16), 1188-1197. https://doi.org/ 10.1002/polb.23106

Vinogradov, G. V., & Malkin, A. Y. (1964). Temperature-independent viscosity characteristics of polymer systems. Journal of Polymer Science Part A: General Papers, 2(5), 2357-2372. https://doi.org/ 10.1002/pol.1964.100020525

Vostálová, J., Tinková, E., Biedermann, D., Kosina, P., Ulrichová, J., & Rajnochová Svobodová, A. (2019). Skin Protective Activity of Silymarin and its

Flavonolignans. *Molecules (Basel, Switzerland), 24*(6), 1022. https://doi.org/ 10.3390/molecules24061022

Vroman, I., & Tighzert, L. (2009). Biodegradable polymers. Materials, 2(2), 307-344.
Wan, Y. Q., He, J. H., Wu, Y., & Yu, J. Y. (2006). Vibrorheological effect on electrospun polyacrylonitrile (PAN) nanofibers. Materials Letters, 60(27), 3296-3300. https://doi.org/ 10.1016/j.matlet.2006.03.007

Wang, Z.; Shmeis, R.A. (2006). Dissolution controlled drug delivery systems. Des. Controlled Release Drug Delivery Systems, 139–172. https://doi.org/ 10.3390/molecules26195905

Wilhelm, S. K., Henrichsen, J. L., Siljander, M., Moore, D., & Karadsheh, M. (2018). Polyethylene in total knee arthroplasty: Where are we now?. Journal of orthopaedic surgery (Hong Kong), 26(3). https://doi.org/10.1177/2309499018808356

Williams, D. F. (2011). The williams dictionary of biomaterials. Liverpool, Liverpool University Press. https://doi.org/ 10.1016/S1369-7021(99)80066-2

Woo, K. Y., & Sibbald, R. G. (2010). Local wound care for malignant and palliative wounds. Advances in skin & wound care. https://doi.org/ 10.1097/01.ASW.0000383206.32244.e2

Woodruff, M. A., & Hutmacher, D. W. (2010). The return of a forgotten polymer—Polycaprolactone in the 21st century. Progress in polymer science, 35(10), 1217-1256. https://doi.org/ 10.1016/j.progpolymsci.2010.04.002

Xue, J., Wu, T., Dai, Y., & Xia, Y. (2019). Electrospinning and electrospun nanofibers: Methods, materials, and applications. Chemical reviews, 119(8), 5298-5415. https://doi.org/ 10.1021/acs.chemrev.8b00593

Yang, D., Liu, H., Liu, L., Sarina, S., Zheng, Z., & Zhu, H. (2013). Silver oxide nanocrystals anchored on titanate nanotubes and nanofibers: promising candidates for entrapment of radioactive iodine anions. Nanoscale, 5(22), 11011-11018. https://doi.org/ 10.1039/C3NR02412A

Yang, G. Z., Li, H. P., Yang, J. H., Wan, J., & Yu, D. G. (2017). Influence of working temperature on the formation of electrospun polymer nanofibers. Nanoscale research letters, 12(1), 1-10. https://doi.org/ 10.1186/s11671-016-1824-8

Yördem, O. S., Papila, M., & Menceloğlu, Y. Z. (2008). Effects of electrospinning parameters on polyacrylonitrile nanofiber diameter: An investigation by response surface methodology. Materials & design, 29(1), 34-44. https://doi.org/ 10.1016/j.matdes.2006.12.013

Yu, D. G., Gao, L. D., White, K., Branford-White, C., Lu, W. Y., & Zhu, L. M. (2010). Multicomponent amorphous nanofibers electrospun from hot aqueous solutions of a

poorly soluble drug. Pharmaceutical research, 27(11), 2466-2477. https://doi.org/ 10.1007/s11095-010-0239-y

Yu, G., Li, T. S., Xu, M., Andersson, M., Li, B., Tang, H., ... & Shao, J. (2017). Fabrication of nickel-YSZ cermet nanofibers via electrospinning. Journal of Alloys and Compounds, 693, 1214-1219. https://doi.org/ 10.1016/j.jallcom.2016.10.001

Yuan, T. T., Foushee, A. M. D., Johnson, M. C., Jockheck-Clark, A. R., & Stahl, J. M. (2018). Development of electrospun chitosan-polyethylene oxide/fibrinogen biocomposite for potential wound healing applications. Nanoscale research letters, 13(1), 1-12. https://doi.org/ 10.1186/s11671-018-2491-8

Yuan, X., Zhang, Y., Dong, C., & Sheng, J. (2004). Morphology of ultrafine polysulfone fibers prepared by electrospinning. Polymer international, 53(11), 1704-1710. https://doi.org/ 10.1002/pi.1538

Yun, Y. H., Lee, B. K., & Park, K. (2015). Controlled drug delivery: historical perspective for the next generation. Journal of Controlled Release, 219, 2-7. https://doi.org/ 10.1016/j.jconrel.2015.10.005

Yohe, S. T., Colson, Y. L., & Grinstaff, M. W. (2012). Superhydrophobic materials for tunable drug release: using displacement of air to control delivery rates. Journal of the American Chemical Society, 134(4), 2016-2019. https://doi.org/10.1021/ja211148a

Zahedi, P., Rezaeian, I., Ranaei-Siadat, S.O., Jafari, S.H., Supaphol, P. (2010). "A review on wound dressings with an emphasis on electrospun nanofibrous polymeric bandages" Polym. Adv. Technol., 21, 77-95. https://doi.org/ 10.1002/pat.1625

Zhang, T., Hong, Z. Y., Tang, S. Y., Li, W., Inglis, D. W., Hosokawa, Y., ... & Li, M. (2020). Focusing of sub-micrometer particles in microfluidic devices. Lab on a Chip, 20(1), 35-53. https://doi.org/ 10.1039/C9LC00785G

Zhang, X., & Lu, Y. (2014). Centrifugal spinning: an alternative approach to fabricate nanofibers at high speed and low cost. *Polymer Reviews*, *54*(4), 677-701. https://doi.org/ 10.1080/15583724.2014.935858

Zhao, J., Han, W., Tang, M., Tu, M., Zeng, R., Liang, Z., & Zhou, C. (2013). Structure, morphology and cell affinity of poly (L-lactide) films surface-functionalized with chitosan nanofibers via a solid–liquid phase separation technique. Materials Science and Engineering: C, 33(3), 1546-1553. https://doi.org/ 10.1016/j.msec.2012.12.060

Zhao, J., Han, W., Tang, M., Tu, M., Zeng, R., Liang, Z., & Zhou, C. (2013). Structure, morphology and cell affinity of poly (L-lactide) films surface-functionalized with chitosan nanofibers via a solid–liquid phase separation technique. *Materials Science and Engineering: C*, *33*(3), 1546-1553. https://doi.org/ 10.1016/j.msec.2012.12.060

Zhao, X., Seah, I., Xue, K., Wong, W., Tan, Q. S. W., Ma, X., ... & Loh, X. J. (2021). Antiangiogenic Nanomicelles for the Topical Delivery of Aflibercept to Treat Retinal

Neovascular Disease. Advanced Materials, 2108360. https://doi.org/10.1002/adma.202108360

Zong, X., Kim, K., Fang, D., Ran, S., Hsiao, B. S., & Chu, B. (2002). Structure and process relationship of electrospun bioabsorbable nanofiber membranes. polymer, 43(16), 4403-4412. https://doi.org/ 10.1016/S0032-3861(02)00275-6

EKLER

EK 1 İn vitro Silymarin salıverme absorbans ve miktarları

EK 2 6 günlük Silymarin salıverme 10 tabanında yarı logaritmik grafiği

EK 1 İn vitro Silymarin salıverme absorbans ve miktarları

Zaman	Absorbans			Numuneden salıverilen Silymarin miktarı (mg)			Kümülatif absorblanan Silymarin miktarı (mg)		
	%10 SM	%7,5SM	%5 SM	%10SM	%7,5SM	%5SM	%10SM	%7,5SM	%5 SM
5	1,924	1,915	0,846	1,279	1,273	0,557	11,22	18,14	9,09
10	1,858	1,385	0,892	1,235	0,918	0,588	22,06	31,22	18,68
15	1,443	0,821	1,011	0,957	0,541	0,668	30,45	38,92	29,57
20	1,052	0,604	0,748	0,695	0,395	0,492	36,55	44,54	37,59
25	0,794	0,449	0,527	0,522	0,291	0,343	41,13	48,69	43,19
30	0,653	0,385	0,456	0,428	0,248	0,296	44,88	52,23	48,02
35	0,508	0,244	0,346	0,331	0,154	0,222	47,79	54,42	51,64
40	0,428	0,227	0,284	0,277	0,142	0,181	50,22	56,45	54,59
45	0,410	0,213	0,274	0,265	0,133	0,174	52,55	58,34	57,43
50	0,342	0,203	0,218	0,219	0,126	0,136	54,47	60,14	59,65
60	0,467	0,241	0,222	0,303	0,152	0,139	57,13	62,31	61,92
90	0,752	0,482	0,496	0,494	0,313	0,322	61,47	66,76	67,18
120	0,661	0,262	0,366	0,433	0,166	0,235	65,26	69,13	71,01
240	0,933	0,564	0,597	0,616	0,368	0,391	70,66	74,37	77,39
360	0,666	0,532	0,370	0,436	0,347	0,238	74,49	79,32	81,27
1440	0,591	0,511	0,166	0,387	0,333	0,102	77,88	84,06	82,93
2880	0,186	0,148	0,115	0,115	0,089	0,068	78,89	85,33	84,03
4320	0,121	0,110	0,102	0,072	0,064	0,059	79,52	86,24	84,99
5760	0,106	0,098	0,106	0,061	0,056	0,062	80,06	87,04	86,00
7200	0,105	0,098	0,026	0,061	0,056	0,008	80,59	87,84	86,13
8640	0,035	0,053	0,078	0,014	0,026	0,042	80,71	88,21	86,82

EK 2 6 günlük Silymarin salıverme 10 tabanında yarı logaritmik grafiği

