

T.C.  
KIRIKKALE ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOMÜHENDİSLİK ANABİLİM DALI  
YÜKSEK LİSANS TEZİ

*HYPERICUM PERFORATUM* YAĞ EKSTRAKTI YÜKLÜ YARA ÖRTÜ  
MALZEMESİ ÜRETİMİ

HİLAL TOPUZ

AĞUSTOS 2019

Biyomühendislik Anabilim Dalında Hilal TOPUZ tarafından hazırlanan *HYPERICUM PERFORATUM* YAĞ EKSTRAKTI YÜKLÜ YARA ÖRTÜ MALZEMESİ ÜRETİMİ adlı Yüksek Lisans Tezinin Anabilim Dalı standartlarına uygun olduğunu onaylarım.

Prof. Dr. Mustafa YİĞİTOĞLU  
Anabilim Dalı Başkanı

Bu tezi okuduğumu ve tezin **Yüksek Lisans Tezi** olarak bütün gereklilikleri yerine getirdiğini onaylarım.

Dr. Öğr. Üyesi Murat İNAL  
Danışman

Jüri Üyeleri

Başkan : Prof. Dr. Mustafa YİĞİTOĞLU \_\_\_\_\_  
Üye (Danışman) : Dr. Öğr. Üyesi Murat İNAL \_\_\_\_\_  
Üye : Dr. Öğr. Üyesi Mine SİLİNDİR GÜNAY \_\_\_\_\_

...../...../.....

Bu tez ile Kırıkkale Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu Yüksek Lisans derecesini onaylamıştır.

Prof. Dr. Recep ÇALIN  
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

## ÖZET

### *HYPERICUM PERFORATUM* YAĞ EKSTRAKTI YÜKLÜ YARA ÖRTÜ MALZEMESİ ÜRETİMİ

TOPUZ, Hilal

Kırıkkale Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyomühendislik Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Murat İNAL

Ağustos 2019, 95 sayfa

Yara örtüleri genellikle iyileşme prosesinin hızı üzerinde küçük bir görev üstlenmektedir. Bu yüzden çeşitli etkenlerle kombine edilmelidir. Bu tez çalışmasında yara örtüsünün fiziksel bir bariyer olmasının yanı sıra doğal hücre dışı matriksi taklit eden poli(2-hidroksietil metakrilat) (PHEMA) liflere, halk tıbbında pek çok hastalığın tedavisinde kullanımı oldukça yaygın olan *Hypericum perforatum* yağ ekstraktı (HPYE) hapsedilmesiyle iyileşme süresinin kısaltacağına inanılmaktadır. Ayrıca HPYE yüklü PHEMA liflere poli([2-(metakriloiloksi)etil] trimetilamonyum klorür) (PMETAK) ilavesiyle hijyenik yüzeylerin alanının büyüyeceği düşünülmektedir.

Çalışmamızda kolay uygulanabilir bir yöntem olan elektroçirme yöntemiyle işlem parametreleri ayarlanarak HPYE yüklü PHEMA temelli lifler üretilmiştir. PHEMA lifler sentezlenirken, onlara antimikrobiyal özellik kazandırmak amacıyla %10 (w/w) oranında PMETAK ilave edilmiştir. PHEMA-PMETAK lifler (PHM-PMKNF) %10, 20 ve 40 (v/w) oranında HPYE içerecek şekilde oluşturulmuştur (sırasıyla HP10, HP20 ve HP40 olarak kısaltılmıştır). PHEMA temelli liflerin morfolojisi ve lif çapları taramalı elektron mikroskobu (SEM), HPYE içerikleri termogravimetrik analiz (TGA) ve yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) çalışmaları, fonksiyonel gruplarındaki değişimler fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (FTIR) ve PMETAK varlığı elemental analiz ile incelenmiştir. Liflerin

sitotoksitesini değerlendirmek için insan fibroblast hücreleri kullanılarak MTT testi yapılmıştır. *Staphylococcus aureus* ve *Escherichia coli* bakterilerine karşı antibakteriyel aktiviteleri değerlendirilmiştir. Yara örtü malzemesinin, serbest radikalleri yok ederek yara iyileşmesine katkısının bir ölçüsü olan antioksidan etkisinin incelenmesi için 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) radikal giderme testi yapılmıştır.

Çapları 344 ile 380 nm arasında değişen HPYE yüklü PHEMA-PMETAK lifleri elde edilmiştir. Karakterizasyon çalışmaları HPYE ve PMETAK varlığını kanıtlamıştır. Elde edilen MTT sonuçlarına göre yara örtülerinin toksik özellik göstermediği belirlenmiştir. Elde edilen HPYE yüklü liflerin hem *S. aureus* hem de *E.coli* bakterilerine karşı %100 inhibisyon gösterdikleri bulunmuştur. PHEMA-PMETAK lifinin ve sırasıyla %10, %20 ve %40 HPYE içeren PHEMA-PMETAK liflerinin DPPH radikal temizleme aktivitesi sırasıyla %3.86, %27.54, %64.40 ve %86.12 olarak elde edilmiştir.

Elde edilen bütün sonuçlar değerlendirildiği zaman, ülkemizde ilk defa *Hypericum perforatum* yağ ekstraktının PHEMA temelli liflere hapsedilmesiyle üretilen yara örtüleri, antibakteriyel ve antioksidan aktivitelere sahip olmaları ve toksik etki göstermemeleri nedeniyle potansiyel yara örtü malzemesi olarak kullanılabileceklerini göstermişlerdir.

**Anahtar Kelimeler:** *Hypericum Perforatum*, Poli(2-hidroksietil metakrilat), Poli([2-(metakriloiloksi)etil] trimetilamonyum klorür), Elektroeğirme, Yara Örtüsü

## ABSTRACT

### PRODUCTION OF WOUND DRESSING MATERIAL LOADED *HYPERICUM PERFORATUM* OIL EXTRACT

TOPUZ, Hilal

Kırıkkale University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Bioengineering, Master Thesis

Supervisor: Assist. Prof. Murat İNAL

Aug 2019, 95 pages

Wound dressings generally play a small role on the acceleration of the healing process. Therefore, it should be combined with various factors. In this thesis, besides being a physical barrier, the healing process is believed to be shortened by encapsulating *Hypericum perforatum* oil extract (HPYE) which is widely used in the treatment of many diseases in folk medicine to the poly(2-hydroxyethyl methacrylate) (PHEMA) fibers simulated the natural extracellular matrix. Furthermore, the area of hygienic surfaces will be increased by adding poly([2-(methacryloyloxy)ethyl]trimethylammonium chloride) (PMETAC) to PHEMA fibers loaded HPYE.

In our study, the process parameters were adjusted by electrospinning method which is an easily applicable method, and the fibers loaded *Hypericum perforatum* oil extract based on PHEMA were produced. When synthesizing PHEMA fibers, 10% (w/w) PMETAC was added to give them antimicrobial activities. PHEMA-PMETAC fibers (PHM-PMKNF) were formed to contain HPYE at 10, 20 and 40% (v/w) (abbreviated as HP10, HP20, and HP40, respectively). The morphology and diameters of PHEMA based fibers were determined by scanning electron microscopy (SEM), the content of HPYE was demonstrated by thermogravimetric (TGA) and high pressure liquid chromatography (HPLC) analyses. Changes in functional groups

determined by infrared spectroscopy (FTIR) and the presence of PMETAC demonstrated by elemental analysis. MTT test was performed using human fibroblast cells to evaluate the cytotoxicity of the fibers. Antibacterial activity against *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* strains were evaluated. 2, 2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) radical scavenging assay was performed to examine the antioxidant effect of the wound dressing in order to measure of its contribution to wound healing by eliminating free radicals.

The diameters of PHEMA-PMETAC fibers loaded HPYE were obtained ranging from 344 to 380 nm. Characterization studies were demonstrated the presence of HPYE and PMETAC. According to results obtained from MTT, it was determined that none of the wound dressings were cytotoxic. The obtained HPYE loaded fibers were found to show 100% inhibition against both *S. aureus* and *E. coli* bacteria. The DPPH radical scavenging activities of PHEMA-PMETAC fibers and PHEMA-PMETAC fibers that contain 10%, 20% and 40% HYPE were obtained 3.86%, 27.54%, 64.40% and 86.12% respectively.

When all obtained results were evaluated, the wound dressings produced by the encapsulating of *Hypericum perforatum* oil extract in PHEMA based fibers for the first time in our country showed that they have potential antibacterial and antioxidant activities and could be used as a potential wound dressing material due to their non-toxic effects.

**Key Words:** *Hypericum Perforatum*, Poly(2-hydroxyethyl methacrylate), Poly([2-(methacryloyloxy)ethyl]trimethylammonium chloride), Electrospinning, Wound Dressing

## TEŞEKKÜR

Çalıőmalarım boyunca bilimsel ve manevi desteğini benden esirgemeyen, bilgi ve deneyimlerini aktaran kıymetli danışman hocam Sayın Dr. Öğr. Üyesi Murat İNAL'a, verdiği öğütlerle bana yol gösteren ve kendisinden her konuda çok őey öğrendiğim kıymetli hocam Sayın Dr. Öğr. Gör. Yaőar ALUÇ'a, bilgi ve deneyimlerini paylaőmaktan kaçınmayan, TGA ve FTIR analizlerimde yardımcı olan değerli hocam Sayın Öğr. Gör. Oğün BOZKAYA'ya, sitotoksisite çalıőmamda imkan sağlayan ve yardımcı olan hocam Sayın Prof. Dr. Mustafa TÜRK'e ve Canan ÇAKIR'a, hayatımın her anında yanımda olan, ne olursa olsun her konuda beni destekleyen, varlıklarından her zaman güç aldığım ve minnet duyduğum annem Asiye TOPUZ, babam Mustafa TOPUZ ve ablalarım Kübra ŐİMŐEK ve Tuğba SARIÇAM'a çok teşekkür ederim.

# İÇİNDEKİLER DİZİNİ

Sayfa

<b>ÖZET</b> .....	i
<b>ABSTRACT</b> .....	iii
<b>TEŞEKKÜR</b> .....	v
<b>İÇİNDEKİLER DİZİNİ</b> .....	vi
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b> .....	viii
<b>ÇİZELGELER DİZİNİ</b> .....	x
<b>1. GİRİŞ</b> .....	1
1.1. Yara .....	3
1.2. Yara İyileşmesi.....	3
1.2.1. İnflamatuar Faz .....	4
1.2.2. Proliferasyon Fazı .....	5
1.2.3. Yeniden Şekillenme Fazı .....	6
1.3. Yara İyileşmesini Etkileyen Faktörler.....	6
1.4. Yara Örtüleri.....	7
1.5. Elektroğirme .....	8
1.5.1. Elektroğirme Teknikleri .....	10
1.5.2. Elektroğirilmiş Nanoliflere Aktif Ajanların Yüklenmesi.....	12
1.6. Poli(2- hidroksietil metakrilat) (PHEMA) .....	13
1.7. Poli([2-(metakriloiloksi) etil] trimetilamonyum klorür) (PMETAK) .....	14
1.8. <i>Hypericum Perforatum</i> .....	15
1.8.1. <i>Hypericum Perforatum</i> 'un Aktif Bileşikleri.....	16
1.8.2. <i>Hypericum Perforatum</i> 'un Yara İyileştirici Etkileri.....	22
1.9. Literatür Özeti .....	22
<b>2. MATERYAL VE YÖNTEM</b> .....	30
2.1. Kimyasal Maddeler .....	30
2.2. Kullanılan Cihazlar.....	31
2.3. PHEMA'nın Sentezi .....	32
2.4. PMETAK'ın Sentezi .....	32



2.5.	Elektroegirme Cözeltilerinin Hazırlanması.....	33
2.6.	Elektroegirme İşlemi .....	33
2.7.	Şişme Kapasitesi Tayini .....	34
2.8.	HPLC Analizi .....	34
2.9.	Antioksidan Aktivite Tayini .....	35
2.10.	İn Vitro Çalışmalar .....	36
2.10.1.	Antibakteriyel Aktivite.....	36
2.10.2.	Hücre Kültürü.....	37
2.10.3.	Sitotoksisite Testi .....	37
<b>3.</b>	<b>BULGULAR VE TARTIŞMA.....</b>	<b>39</b>
3.1.	Nanoliflerin Üretimi Ve Morfolojisi .....	39
3.2.	FTIR Analizi.....	47
3.3.	Termogravimetrik Analiz .....	50
3.4.	Elemental Analiz .....	54
3.5.	HPLC Analizi .....	55
3.6.	Şişme Kapasitesi Tayini .....	57
3.7.	Antioksidan Aktivite Tayini .....	58
3.8.	İn Vitro Çalışmalar .....	60
3.8.1.	Antibakteriyel Aktivite.....	60
3.8.2.	Sitotoksisite Testi .....	63
<b>4.</b>	<b>SONUÇ .....</b>	<b>65</b>
	<b>KAYNAKLAR .....</b>	<b>67</b>

## ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>ŞEKİL</u>	<u>Sayfa</u>
1.1. Zamana göre yara iyileşme fazları.....	4
1.2. Elektroğirme düzeneği.....	9
1.3. (a) karıştırma, (b) koaksiyel elektroğirme, (c) emülsiyon elektroğirme ve (d) yüzey modifikasyonu.....	12
1.4. <i>Hypericum perforatum</i> 'daki naftodiantronların kimyasal yapısı.....	16
1.5. <i>Hypericum perforatum</i> 'daki floroglusinollerin kimyasal yapısı.....	18
1.6. <i>Hypericum perforatum</i> 'daki flavonoidlerin kimyasal yapısı.....	19
1.7. <i>Hypericum perforatum</i> 'daki biflavonların kimyasal yapısı.....	20
2.1. Elektroğirme işlemi.....	34
3.1. Formik asit:etanol (1:1)'de %25'lik (w/v) PHEMA lifler (A) 20 kV, 15 cm, 10 µL/dak, (B) 15 kV, 15 cm, 10 µL/dak .....	40
3.2 PHMNF yara örtüsünün SEM fotoğrafı.....	43
3.3. PHM-PMKNF yara örtüsünün 500 büyütme (A) ve 5000 büyütme (B) SEM fotoğrafları.....	43
3.4. HP10 (A), HP20 (B) ve HP40 (C) liflerinin SEM fotoğrafları.....	46
3.5. PHMNF, PMETAK ve PHM-PMKNF liflerinin FTIR spektrumları .....	48
3.6. PHM-PMKNF, HP10, HP20, HP40 ve HPYE'nin FTIR spektrumları .....	49
3.7. PHMNF'nin TGA ve DTGA termogramı .....	50
3.8. PMETAK'ın TGA ve DTGA termogramı.....	51
3.9. PHM-PMKNF'nin TGA ve DTGA termogramı.....	52
3.10. PHMNF, PMETAK ve PHM-PMKNF liflerinin karşılaştırmalı TGA termogramları.....	53
3.11. HP40 ve PHM-PMKNF'nin TGA termogramları .....	54
3.12. HPYE, PHM-PMKNF ve HP40'ın HPLC kromatogramları .....	56
3.13. PHEMA temelli liflerin % şişme dereceleri.....	58
3.14. PHM-PMKNF, HP10, HP20 ve HP40 yara örtülerinin <i>E. coli</i> 'ye karşı % inhibisyonları .....	61
3.15. PHM-PMKNF, HP10, HP20 ve HP40 yara örtülerinin <i>S. aureus</i> 'a karşı % inhibisyonları .....	62

**3.16. % HÜCRE CANLILIĞI GRAFIGİ**..... 64



## ÇİZELGELER DİZİNİ

<u>ÇİZELGE</u>	<u>Sayfa</u>
<b>1.1.</b> Elektroğirme prosesini etkileyen faktörler .....	10
<b>2.1.</b> HPLC mobil fazları .....	35
<b>3.1.</b> Formik asit:etanol (1:1) çözücüsünde hazırlanan %25'lik PHEMA çözeltilsinin elektroğirme işlem parametreleri .....	39
<b>3.2.</b> Etanol:su (4:1) çözücüsünde hazırlanan %10'luk (w/v) PHEMA çözeltilsinin elektroğirme işlem parametreleri.....	42
<b>3.3.</b> Elde edilen liflerin ortalama çapları .....	45
<b>3.4.</b> Elemental analiz verileri .....	55
<b>3.5.</b> PHEMA temelli yara örtülerinin antioksidan aktiviteleri .....	60

## 1. GİRİŞ

Canlı dokunun anatomik ve fonksiyonel bütünlüğünün travma, cerrahi girişim ya da hastalıklar gibi farklı nedenlerle bozulmasına yara denir (Witte vd., 1997; Broughton vd., 2006a; Gurtner vd., 2007; Charles vd., 2009). Yara, onarım sürecine bağlı olarak akut veya kronik yara olarak sınıflandırılabilir. Yetersiz bir tedavi sonucu doku onarım süreci başarısız olursa, kronik yaralar meydana gelir. Bu kronik dermal yaralanmalar, hastaların yaşam kalitesini olumsuz etkiler, bunun yanı sıra bakım ihtiyaçları özellikle gelişmekte olan ülkeler için oldukça önemli bir sorun teşkil etmektedir.

Yara, bazı durumlarda kendiliğinden iyileşebildiği gibi bazen de bazı fiziksel, kimyasal ve biyolojik faktörler iyileşmeyi engeller. Bu gibi durumlarda yara yüzeyi ideal bir yara örtü malzemesi ile kapatılarak yara ara yüzeyinde nemli bir ortam sağlanıp doku dış etkenlere karşı korunur. İdeal bir yara örtü malzemesinin gaz alışverişine izin vermesi, yara ara yüzünde nemli bir ortam sağlaması, yara üzerinden travma oluşturmadan kolayca kaldırılabilmesi, mikroorganizmalara karşı bir bariyer oluşturması, kan ve yaradan sızan sıvıları absorblaması gerekmektedir. Ayrıca, antimikrobiyal, toksik olmayan, biyolojik olarak uyumlu ve yaranın iyileşmesini teşvik eden minimal işlem gerektiren bir biyolojik malzemedan yapılmış olması gerekmektedir (Jayakumar vd., 2011; Wang vd., 2012). İyileşme sürecini kısaltmak ve derinin kısa süre içinde yapı ve işlevini yeniden kazanmasına katkı sağlamak için yeni yara örtü malzemelerinin geliştirilmesi önem arz etmektedir.

Etkili bir biçimde kullanılacak ve aranan bütün gereksinimleri karşılayabilecek bir yara örtü malzemesi geliştirmek için bu malzemenin yapısal olarak uyarlanabilir ve özelliklerinin kontrol edilebilir olması gerekmektedir. Bu amaçla son yıllarda elektroğirme yöntemi ile elde edilen nanoliflerin kullanımı artmıştır (Dongargaonkar vd., 2013; Abdelgawad vd., 2014; Jin vd., 2014). Elektroğirme tekniği, mikro veya nano boyutlarda liflerin elde edilmesinde kullanılan basit, kurulumu ucuz, hızlı, süreç parametrelerinde rahatlıkla değişiklik yapılabilen, kullanılacak polimerlerin çok geniş bir çeşitlilik gösterdiği, ticari üretime

elverişli bir işlemdir. Bu işlemdede, bir şırınga yardımıyla polimer çözeltilisi kilovolt seviyesinde yüksek voltaj ile yüklenmiş iki plaka arasında oluşturulan bir çekim alanı ile bir plakadan diğereine çekilmekte ve bu şekilde lifler oluşturulmaktadır.

PHEMA, klinik kullanım için ABD Gıda ve İlaç Dairesi tarafından onaylanmış bir poli ( $\alpha$ -hidroksietil metakrilat) türevidir (Luke vd., 2002). PHEMA toksik olmayan iyi biyouyumluluğaa, kimyasal stabiliteye, mekanik özelliklere, esnekliğee ve aynı zamanda yüksek hidrasyon derecesine sahip sentetik bir polimerdir. Canlı dokuya benzer mekanik özelliklere ve su içeriğine sahip PHEMA hidrojeller birçok biyomedikal uygulama için ideal bir aday haline gelmiştir. Bununla birlikte PHEMA nanoliflerin yara örtü malzemesi olarak kullanımında sınırlı sayıda çalışma vardır (Alizadeh vd., 2014).

Cilt yaralarının acil bakımında yara iyileşmesinin hızlanmasını sağlamak için mikrobiyal enfeksiyonun önlenmesi çok önemlidir. Bundan dolayı da ideal bir yara örtü materyalinin antimikrobiyal bir özellikte olması gerekmektedir. Antimikrobiyal madde olarak düşük moleköl ağırlıklı maddeler yerine polimerik malzemelerin kullanılması hijyenik yüzeylerin alanını büyüterek yara örtülerininin zararlı mikroorganizmalarla temasında öldürme yeteneğini arttıracığı düşünülmektedir. Poli([2-(metakriloiloksi) etil] trimetilamonyum klorür) (PMETAK) bir dördüncül amonyum tuzu olarak iyi antibakteriyel özellikler, düşük toksisite ve cilt tahrişinin düşük olması gibi vücutta kullanım için önemli özelliklere sahiptir. Polikasyonik yapıya sahip dördüncül amonyum grupları bakteri hücre duvarındaki negatif yük ile etkileşime girmektedir.

*Hypericum peforatum* özütleri romatizma, yanık, kabız, yara ve yanık iyileştirici, çürük, şiş, depresyon, kurt düşürücü (Greenson vd., 2001), antiseptik ve enflamasyon tedavileri için ilaç olarak yıllardır geleneksel tıpta kullanılmaktadır (Hunt vd., 2001).

*Hypericum peforatum*, ülkemizde yara ve yanık iyileştirmede geleneksel kullanımıyla ünlüdür. *Hypericum peforatum* özütlerinin yara iyileşme aktivitesi esas olarak kollajen üretiminin uyarılmasındaki artıştan ve hasarlı bölgeyi kapatarak yara

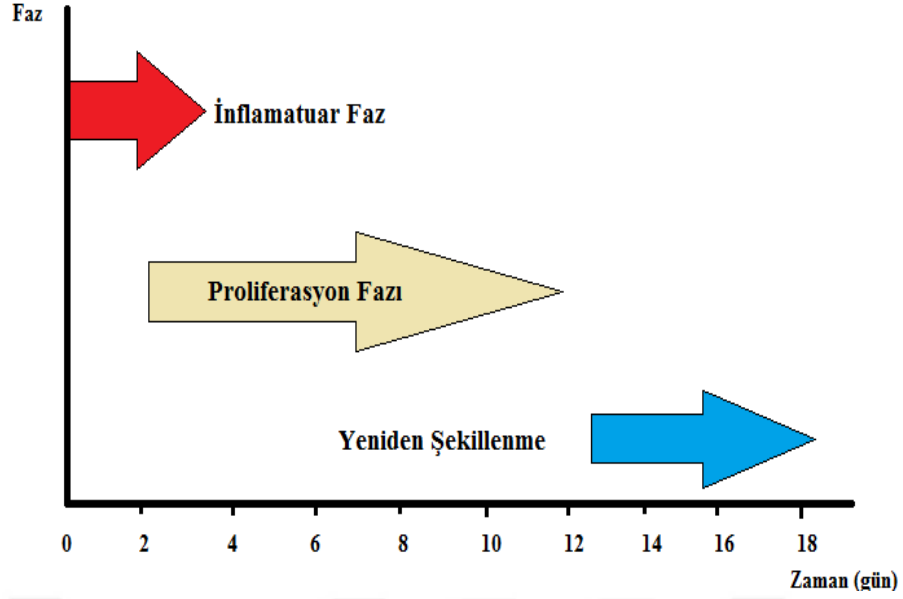
onarımında rol oynayan fibroblast hücrelerinin poligonal şekillere dönüştürülmesinden kaynaklanmaktadır (Öztürk vd., 2007).

### **1.1. Yara**

Canlı dokunun anatomik ve fonksiyonel bütünlüğünün travma, cerrahi girişim ya da hastalıklar gibi farklı nedenlerle bozulmasına yara denir (Witte vd., 1997; Broughton vd., 2006a; Gurtner vd., 2007; Charles vd., 2009). Bir dokunun yaralara bağlı olarak normal bağlantısındaki bozulma nedeniyle, cilt koruyucu rolünü kaybedebilir ve enfeksiyon birikimi istenmeyen sonuçlara neden olabilir (Pourhojat vd., 2017). Yaralar tiplerine göre akut ve kronik yaralar olmak üzere ikiye ayrılırlar. Yaraya neden olan etkenin geçici olduğu, kabul edilebilir sürede iyileşme sürecinin tamamlanıp fonksiyonel kapasitenin ve doku bütünlüğünün sağlandığı yaralara akut yaralar denir. Kronik yaralar ise devamlı bir etkenin neden olduğu yavaş veya az ilerleme göstererek çok sık tekrarlayan ve iyileşme ile sonuçlanmayan yaralardır.

### **1.2. Yara İyileşmesi**

Yara iyileşmesi, koordinasyon içinde iç içe geçmiş hücresel ve biyokimyasal olaylardan oluşan bir süreçtir (Brown vd., 1997). Şekil 1.1'de gösterildiği gibi yara iyileşmesi temelde birbiriyle bağlantılı üç fazda gerçekleşir.



**Şekil 1.1.** Zamana göre yara iyileşme fazları

### 1.2.1. İnflamatuvar Faz

Doku hasarının hemen ardından başlar. Doku yaralanmalarına verilen ilk cevap inflamasyon ve hemostazdır. Bu aşamanın fonksiyonel öncelikleri hemostazın sağlanması, ölü dokuların ortamdaki uzaklaştırılması, bakteri ve uyarının sınırlandırılması ve invaziv enfeksiyonların önlenmesidir (Emiroğlu ve Kaya, 2010). Mast hücreleri, fibroblast ve makrofaj gibi bağ doku üyeleri inflamatuvar fazda görev alan hücrelerdir. İnflamatuvar fazda öncelikle hemostaz başlar. Yara bölgesindeki bakterileri ve patojen maddeleri uzaklaştırmak için kanama meydana gelir. Damar duvarı zedelendiğinde, açılan damar duvarındaki kollajenler trombositlerle temas eder ve Hageman faktörünü (faktör XII) aktive ederler (Broughton vd., 2006b; Gurtner, 2007). Bu da trombositlerin sekresyonunu, büyüme faktörlerinin ve sitokinlerin salımını sağlamaktadır (Broughton vd., 2006a, 2006b; Gurtner, 2007; Gantwerker ve Hom, 2012). Dolaşımdaki trombositler hareketle yaralı alanda toplanırlar. Böylece hem damar duvarına hem de birbirlerine yapışarak fibrin matriks içinde primer bir trombosit tıkaçı oluştururlar (Eming vd., 2007; Gurtner vd., 2008). Trombosit agregasyonu ile koagülasyon sistemi aktive edilmiş olur. Bunun sonucunda, pıhtılaşma faktörleri protrombini trombine, fibrinojeni fibrine



dönüştürerek pıhtıyı meydana getirir. Meydana gelen pıhtı, açığa çıkan dokuların kısa süreli korunmasını sağlar ve hücre göçünü sağlayacak geçici bir matriks oluşturur. Pıhtı meydana geldikten sonra inflamasyon safhası gelişir. Trombositler tarafından üretilen sitokinler ve kemokinler yaralı alanın vazodilatasyonunu ve anjiyogenezisini aktif hale getirir (Martin, 1997).

Yaralanmadan birkaç saat sonra nötrofil ve monositler pıhtı içerisinde yer alırlar. Bu hücreler yara bölgesine geldiğinde çeşitli çevresel faktörlerin etkisiyle aktif hale gelirler. Nötrofillerin görevi, fagositoz ve proteaz salımı ile bakterilerle savaşmak ve hücre kalıntılarını ortamdaki uzaklaştırmaktır (Monaco ve Lawrence, 2003; Broughton vd., 2006b; Gurtner, 2007). Monositler ise makrofaja dönüşerek bakterileri öldürüp bakterileri ve ölü dokuları fagosite eder. Ayrıca sitokinleri ve çeşitli büyüme faktörlerini salgırlar. Bu büyüme faktörleri ve sitokinler endotelial hücreleri, keratinositleri ve fibroblastları aktive ederek yara bölgesinde onarımı başlatır (DiPietro, 1995). Makrofajlar ile aktive edilen lenfositlerin cevabı antijene özgüdür, antijenin belirlenmesiyle ona özgül lenfositler lenf düğümlerinde çoğalır ve savaşmak için bölgeye gönderilir (Peterson vd., 2014).

### **1.2.2. Proliferasyon Fazı**

İnflamasyon safhasının bitimine doğru başlar. İnflamasyonun yatışmasını takiben fibroblastların yara alanındaki sayılarında artış meydana gelir. Fibroblastlar fibrin ağını parçalar ve yeni dokunun sağlamlığını sağlayan kollajen liflerin oluşumunu başlatırlar (Clark, 1993). Bu evrede yaradaki granülasyon dokusunun oluşumu, epitelizasyon ve yara kontraksiyonu gerçekleşir. Yeni damarlanma ile granülasyon dokusu yara boşluğunu doldurmaya başlar. Bir sonraki adım yara kontraksiyonudur. Yara daralması ile yara boyutunda küçülme meydana gelir. Bu olayda miyofibroblastların rolü büyüktür. Proliferasyon fazı, granülasyon dokusunun oluşup epitelizasyonun tamamlanması ile sona erer.

### 1.2.3. Yeniden Şekillenme Fazı

Yara iyileşme sürecinin son basamağı olan ve yıllarca sürebilen bu evrede fibroblast aktivitesi azalır; kollajen, fibronektin ve proteoglikanlar yeniden şekillenir ve yara alanı etrafında oluşur (Boateng vd., 2008). Bu evrede tip III kollajen zamanla tip I kollajene dönüşür. Yara kapanmasının bir kısmı bu evrede gelişir. Yaranın rengi açılır ve hücre dışı matriks geri kazanılır.

### 1.3. Yara İyileşmesini Etkileyen Faktörler

Derinin anatomisini ve fizyolojisini, iyileşme sürecinin fazlarını, yara tiplerini ve yara onarım tiplerini tam olarak anlamak, yara iyileşmesini zorlaştırabilen veya geciktirebilen faktörleri tanımak için esastır. Çok sayıda faktör, yara iyileşmesinde bozulmaya neden olabilir. Genel olarak onarımı etkileyen faktörler lokal ve sistemik olarak sınıflandırılabilir. Lokal faktörler, yaranın özelliklerini doğrudan etkileyen faktörlerdir, sistemik faktörler ise bireyin iyileşme yeteneğini etkileyen genel sağlık veya hastalık durumudur. Bu faktörlerin çoğu birbiriyle ilişkilidir ve sistemik faktörler yara iyileşmesini etkileyen yerel etkiler yoluyla etki eder (Gua ve DiPietro, 2010).

- Lokal Faktörler (Hess vd., 2011)
  - Oksijenizasyon
  - Enfeksiyon veya anormal bakteri varlığı
  - Nekroz
  - Basınç
  - Travma ve ödem
  - Yabancı cisimler
- Sistemik Faktörler (Gua ve DiPietro, 2010; Hess vd., 2011)
  - Yaş ve cinsiyet
  - Vücut tipi

- Kronik hastalıklar
- İmmüsupresyon ve radyasyon tedavisi
- Beslenme
- Stres
- İlaçlar
- Alkoliklik ve sigara

#### **1.4. Yara Örtüleri**

Yara, bazı durumlarda kendiliğinden iyileşebildiği gibi bazen de bazı fiziksel, kimyasal ve biyolojik faktörler iyileşmeyi engeller. Bu gibi durumlarda yara yüzeyi ideal bir yara örtü malzemesi ile kapatılarak yara ara yüzeyinde nemli bir ortam sağlanıp doku dış etkenlere karşı korunur. İdeal bir yara örtü malzemesinin gaz alışverişine izin vermesi, yara ara yüzünde nemli bir ortam sağlaması, yara üzerinden travma oluşturmadan kolayca kaldırılabilmesi, mikroorganizmalara karşı bir bariyer oluşturması, kan ve yaradan sızan sıvıları absorblaması gerekmektedir.

Yara örtüleri bitkiler, hayvansal yağlar ve balların ham uygulamalarından doku mühendisliği iskelelerine kadar yıllar geçtikçe gelişmiştir. Yara örtüleri farklı şekillerde sınıflandırılmaktadır. Bu sınıflandırmalardan biri de pasif örtüler, interaktif örtüler ve biyoaktif örtüler şeklinde yapılmaktadır (Paul vd., 2004). Pasif örtüler ham pamuk, doğal ya da sentetik bandajları ve gazlı bezleri içerir. Birincil veya ikincil sargılar olarak kullanılabilirler veya her biri belirli bir işlevi yerine getiren örtülerin bir parçasını oluşturabilirler. Topikal farmasötik formülasyonların aksine bu örtüler kuru olup nemli yara ortamı sağlamazlar. İnteraktif yara örtüleri yapısında polimerik film veya köpük bulunduran, su buharı ve oksijene karşı geçirgenlik potansiyeline sahip şeffaf görünümdeki örtülerdir. Çok az seviyede yaradan sızan sıvıların oluşumu gözlenen yaraların tedavisinde tercih edilir. Biyoaktif yara örtüleri ise barındırdıkları etken ajanların kontrollü salımı ve kendi fonksiyonel özellikleri sayesinde yara iyileşme sürecinde aktif olarak görev almaktadırlar.

İyileşme sürecini kısaltmak ve derinin kısa süre içinde yapı ve işlevini yeniden kazanmasına katkı sağlamak için yeni yara örtü malzemelerinin geliştirilmesi önem arz etmektedir. Modern yara örtüleri üretildikleri materyallere, fiziksel şekillerine ve etken madde içeriklerine göre sınıflandırılabilir. Modern yara örtüleri içinde birim kütle başına çok geniş yüzey alanı, çok gözenekli mikro yapısı, yüksek gaz geçirgenliği ve fibriller arası küçük gözenek boyutu ile doğal hücre dışı matrise (ECM) çok benzemeleri sebebiyle nano/mikro liflerin kullanımı son yıllarda büyük önem kazanmıştır. Elektroğirme yöntemi ile elde edilen gözenekli nanoliflerin doğal ECM'yi mikromorfolojik olarak taklit edebilmesi, nano ölçekte yüzey yapısı ve özellikleri yara iyileşmesi için arzu edilen hücrelerin yapışması ve çoğalması gibi hücre davranışlarını arttırmaktadır. Ayrıca polimerlerin biyolojik olarak parçalanmasıyla, örtü malzemesinin yapısı zaman içinde buna uygun olarak değişerek tohum hücrelerinin çoğalmasına ve kendi doğal ECM'lerini üretmesine izin vermektedir (Zhong vd., 2010; Braghirolli vd., 2014).

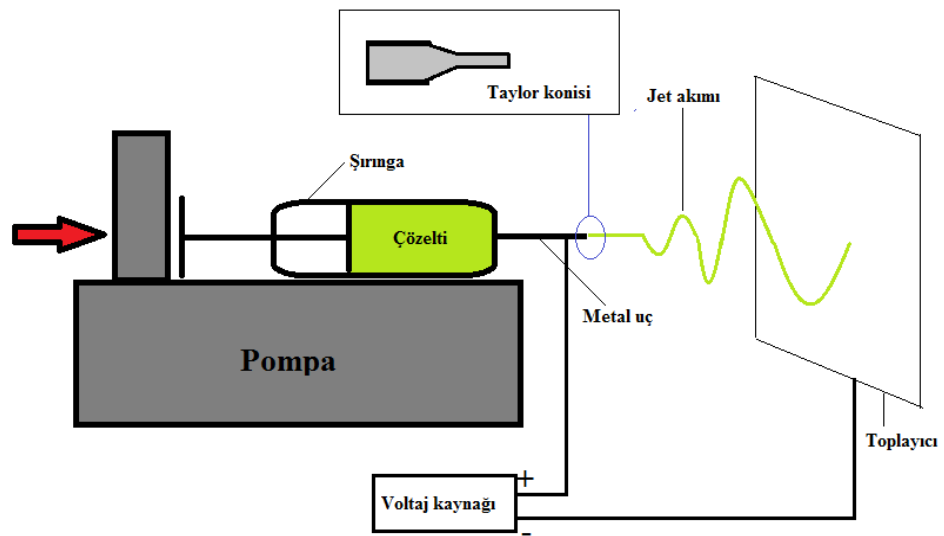
Fiziksel özelliklerin ötesinde, nanolifler yara iyileşme sürecini geliştirmek için terapötikler, büyüme faktörleri ve antifungaller gibi biyoaktif bileşenler ile birleştirildikten sonra biyolojik işlevselliği ifade edebilir veya koruyabilir. Lif örtülerin içine ilaçlar ve çeşitli aktif maddeler eklenebilir. Liflerden ilaç salımı eğirme koşullarının optimizasyonu ile değiştirilebilir ve kontrol edilebilir (Choi vd., 2015; Li vd., 2017).

### **1.5. Elektroğirme**

Nanolif üretimi için kullanılan en yaygın yöntem eletroğirmedir. Elektroğirme, yüksek voltaj kullanarak mikronaltı çap aralığında çok ince lifler üreten mekaniksel ve elektriksel bir tekniktir. Elektroğirme işlemi, nanolif sentezi için yüksek bir elektrik alandaki elektrostatik itme kuvvetlerinin kullanıldığı elektrostatik prensibe dayanmaktadır. Elektroğirmenin tarihi William Gilbert'in sıvıların elektrostatik çekimini ilk kaydettiği 1600 yılına dayanmaktadır. Bu yöntemin daha ileri araştırmaları 19. yüzyılın sonlarında Rayleigh (1882), Formhals (1930'lar) ve Taylor (1960) gibi araştırmacılar tarafından gerçekleştirilmiştir.

Temel bir elektroğirme düzeneği toplayıcı, pompa, iğne ve yüksek voltaj kaynağından oluşur. Lifli membranlar, polimerik bir sıvıya yüksek gerilim potansiyeli uygulanarak oluşturulur. Elektroğirme sırasında iğnenin ucundaki polimer yüksek gerilime maruz kalır. Böylelikle iğnenin ucundaki polimer damlacığı uzamış bir Taylor konisine dönüşür. Yük yoğunluğu kritik bir değeri aştığında, polimer çözeltisinin yüzey gerilimi aşılır ve ince lifler iğne ucundan iletken bir toplayıcıya toplanır. Lifler toplayıcıya geçerken çözücü, polimer çözeltisinden buharlaşır. Genelde 50-5000 nm aralığında lif çapları elde edilir (Ramakrishna vd., 2006).

Yüksek esnekliğe ve çok yönlülüğe sahip bu yöntem, hemen hemen her sentetik ve birçok doğal polimerden, kontrol edilebilir gözenek yapısına sahip sürekli ve homojen nanolifler ve yapılar üretmek için benzersiz avantajlar sağlar. Yüksek gözenekliliğe ve büyük yüzey/hacim oranına sahip elektroğirilmiş lifler çeşitli alanlarda, özellikle antibakteriyel ağlar (Gao vd., 2014), hemostaz matları (Jiang vd., 2014), yara örtüleri (Zahedi vd., 2009) ve ilaç salım sistemleri (Meinel vd., 2012; Balaji vd., 2015; Hu vd., 2017) gibi biyomedikal uygulamalarda uygulanmıştır. Bu nanolifler özellikle doku mühendisliğinde (Cui vd., 2010) kullanışlıdır, çünkü nanolifli membranlar doğal hücre dışı matrise benzerdir ve hücrelerin çoğalmasını ve göçünü (Bhardwaj ve Kundu, 2010) artırırlar.



Şekil 1.2. Elektroğirme düzeneği

Elektroegirme islemini etkileyen faktörler (Çizelge 1.1); çözelti özellikleri, çalışma parametreleri ve ortam parametreleri olarak sınıflandırılabilir (Ramakrishna vd., 2005). Bir elektroegirme islemi sırasında elektroegirilmiş jete etki eden dört ana kuvvet vardır: yüzey gerilimi, Coulomb kuvveti, viskoelastik kuvvet ve elektriksel kuvvet (Reneker vd., 2000; Ding vd., 2006; Pontrelli vd., 2014; Ghorani & Tucker, 2015). Kusursuz lifler üretmek için çalışma parametreleri ve çözelti özellikleri tarafından yönlendirilen kuvvetler iyi dengelenmelidir.

Polimer çözeltilerinin özellikleri elektroegirmeyi etkileyen en karmaşık faktörlerden biridir. Uygun çözelti özellikleri belirlendikten sonra çalışma parametreleri ayarlanabilir. Aynı polimer çözeltisini egirmek için çalışma parametrelerinin farklı kombinasyonları uygulanabilir. Çevre koşulları elektroegirmede son derece önemlidir. Çünkü sıcaklık ve nem çözücü buharlaşma hızını ve lif katılaşmasını doğrudan etkilemektedir (Pelipenko vd., 2013).

**Çizelge 1.1.** Elektroegirme prosesini etkileyen faktörler

<b>Çözelti Özellikleri</b>	<b>Çalışma Parametreleri</b>	<b>Ortam Koşulları</b>
Yüzey gerilimi	Akış oranı	Sıcaklık
Viskozite	Delik çapı	Nem
Konsantrasyon	Voltaj	
Zincir yapısı	İğne ucu ile toplayıcı	
Moleküler ağırlık ve dağılım	arasındaki mesafe	
İletkenlik	Toplayıcı tipi ve hareketi	
Buhar basıncı		

### **1.5.1. Elektroegirme Teknikleri**

Standart elektroegirme yönteminin verimliliğini arttırmak için çeşitli teknikler geliştirilmiştir. Bu yöntemler aşağıda verilmektedir.

- **Tek İğneden Çoklu Jetler**

Genellikle tek iğne elektroğirmesinde (SNE) elektrik alanının uygulanmasıyla Taylor konisinden bir tek jet oluşur. Bir SNE kurulumunda çoklu jetlerin oluşumu iki olası mekanizmaya bağlanmıştır: Elektrik alan dağılımındaki belirgin farklılık ve iğne ucunun bir miktar çözelti ile tıkanması. Bir başka yaklaşımda, bir SNE sisteminde çoklu Taylor konilerinden çoklu jetlerin oluşumu için kavisli bir toplayıcı kullanılmıştır (Vaseashta, 2007).

- **Çoklu İğnelerden Çoklu Jetler**

Çok iğneli elektroğirme (MNE) sistemi, verimliliği arttırmanın basit bir yoludur ve aynı çözücülerde kolayca çözünemeyen polimerlerden kompozit lifler üretmek için basit bir tekniktir. Çok iğneli elektroğirme sisteminde iğne sayısı, iğne numarası ve iğne konfigürasyonu önemli bir rol oynamaktadır.

Ding vd. (2004), dört hareketli şırınga ve topraklanmış dönebilen tübüler toplayıcılı MNE düzeneği ile biyolojik olarak parçalanabilen nanolifli matlar üretmişlerdir.

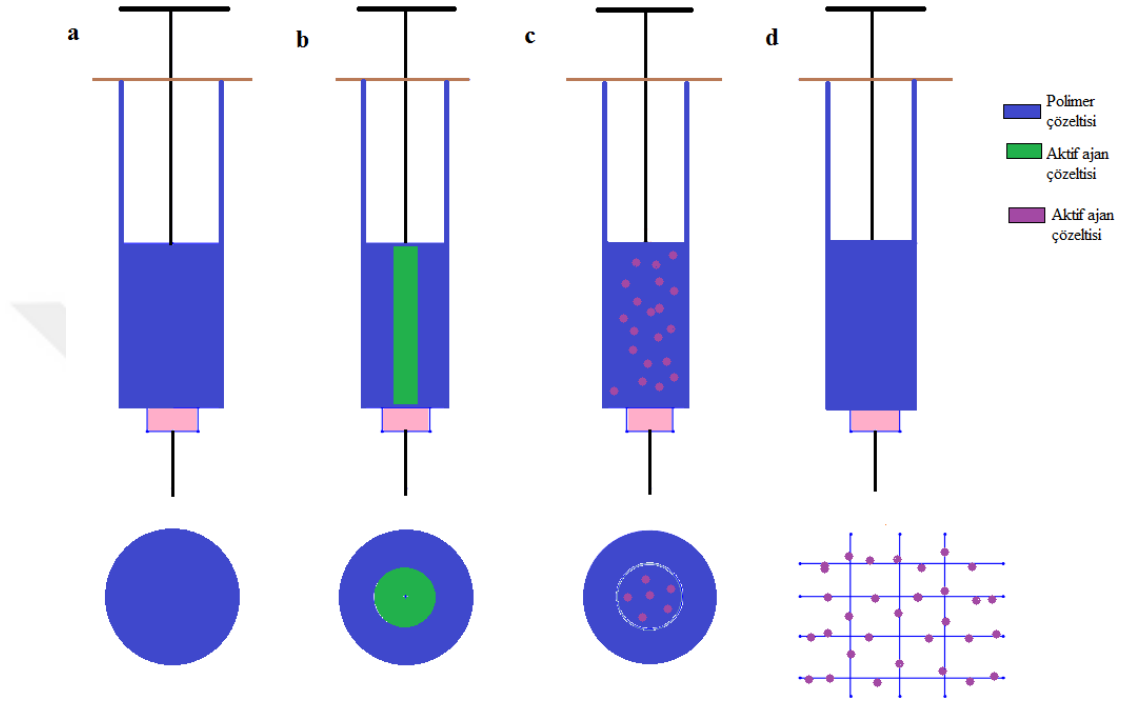
Farklı konumlardaki iğne uçları üzerindeki düzensiz elektrik alanı, iğne tıkanması, kararsızlık sorunları (damlayan veya çalışmayan iğneler gibi) ve düzensiz lif birikmesi MNE sistemlerinin en önemli sınırlamalarıdır (Yang vd., 2010).

- **İğnesiz Sistemlerden Çoklu Jetler**

Bu işlemde, uygulanan elektriksel voltaj şiddetinde mezoskopik ölçekte kendiliğinden organize olan iletken sıvı dalgaları jetler oluşturur. İğnesiz elektroğirme sistemi kullanıldığında nanoliflerin üretim hızını arttırma şansı çoklu jet kullanımı nedeniyle daha yüksektir. İğnesiz elektroğirmenin üretim hızı, geleneksel elektroğirme işleminin 12 katıdır, ancak daha geniş çaplı dağılım oluşturmaktadır (Nayak vd., 2012).

### 1.5.2. Elektroeğirilmiş Nanoliflere Aktif Ajanların Yüklenmesi

İlaç salımında kullanılan elektroeğirilmiş nano/mikro liflerin inşası için çeşitli yöntemler kullanılabilir. Bu yöntemler birkaç sınıfa ayrılabilir.



**Şekil 1.3.** (a) karıştırma, (b) koaksiyel elektroeğirme, (c) emülsiyon elektroeğirme ve (d) yüzey modifikasyonu

- **Karıştırma**

Bu yöntemde liflerin içine hapsedilecek aktif ajanlar polimer çözeltisi içinde çözdürülür veya dağıtılır. Basit bir yöntemdir. İlaç salım profili, ilaç moleküllerinin dağılımından ve nanoliflerin morfolojisinden etkilenir.

- **Çekirdek-Kabuk Elektroeğirme (Koaksiyel)**

İç jet ve polimer çözeltisi tarafından oluşturulan aktif ajan yüklü çözelti, iç püskürtme ile eşmerkezli olan dış püskürtmeden aynı anda elektroeğirilecektir.



Koaksiyel elektroğirme ilaç salımını uzatmak için çok yararlıdır (Acevedo vd., 2018).

- **Emülsiyon Elektroğirme**

Bu teknikte hidrofilik ilaç, polimer ozeltisi ile bir emülsiyon oluşturur. Elektroğirme işleminden sonra dşuk molekl ağırlıklı ilaç, nanoliflere dağıtılır ve nanolif üzerinde birikme önlenir (Xu vd., 2005). İlaç ve polimerler uygun ozclerde ozldğ için ortak bir ozcye gerek duyulmaksızın çeşitli hidrofilik ilaçlar ve lipofilik polimer kombinasyonları kullanılabilir.

- **Yüzey Modifikasyonu**

Yüzey modifikasyonu, üretilen lifin dokuya yapısal ve biyokimyasal olarak benzer olması için terapitik ajanların lif yüzeyine bağlandığı veya konjuge edildiği bir tekniktir. Bu durumda ilaç salımı azalacak ve biyomoleküllerin işlevselliği korunacaktır. Bu yöntem büyüme faktörlerinin ve enzimlerin salımı için uygundur.

### **1.6. Poli(2- hidroksietil metakrilat) (PHEMA)**

PHEMA, klinik kullanım için ABD Gıda ve İlaç Dairesi tarafından onaylanmış bir poli( $\alpha$ -hidroksi etil metakrilat) türüdür (Luke vd., 2002). PHEMA biyolojik uyumu, küçük metabolitlere yüksek geçirgenliği, yüksek hidrofiliكليęi, kan proteinlerinin ve hücrelerinin yapışmasına karşı direnci nedeniyle çeşitli biyomedikal uygulamalarda yerini almıştır. Poli(2-hidroksietil metakrilat) kontakt lensler, implantlar ve ilaç salım sistemleri gibi uygulamalar için biyomedikal alanda yaygın olarak çalışılan hidrofilik bir polimerdir (Kirschner ve Anseth, 2013). PHEMA toksik olmayan iyi biyoyumluluk, kimyasal stabilite, mekanik özellikler, esneklik aynı zamanda yüksek hidrasyon derecesine sahip sentetik bir polimerdir, ancak biyolojik olarak parçalanamaz ve vücuttan elimine edilemez (Bryant vd., 2007). PHEMA'nın, istenilen molekülün tutunması için gerekli olan hidroksil fonksiyonel gruplarına sahip olması onu çok yönlü bir biyomateryal yapar. Gözeneklilik, PHEMA esaslı malzemelerin sentezinde göz önünde bulundurulması gereken önemli bir konudur,

çünkü hidrojeller gibi çoğu iskele malzemesinde, iskele gözenekliliği doku oluşumunu ve fonksiyonunu yönlendirmede önemli bir rol oynamaktadır. Canlı dokuya benzer mekanik özelliklere ve su içeriğine sahip PHEMA hidrojeller birçok biyomedikal uygulama için ideal bir aday haline gelmiştir. PHEMA'dan oluşan hidrojeller, mükemmel biyoyumlulukları ve canlı dokulara benzer fizikokimyasal özellikleri nedeniyle elverişlidir (Simonida vd., 2010). Makul mekanik mukavemeti, esnekliği, hidrofilitesi, biyoyumluluğu, kimyasal çok yönlülüğü, uzun süredir tıpta başarılı bir şekilde kullanılması ve ayrıca çeşitli konfigürasyonlarda kolayca üretilmesinden dolayı, PHEMA hidrojeller biyomalzeme alanında sıklıkla kullanılmaktadır. İlaç verme sistemleri, hemodiyaliz membranları, yara iyileşme yapıları ve doku mühendisliği iskeleleri olarak kullanım için araştırılmıştır. Uygulamalardaki bu çeşitlilik ince filmler, gözenekli malzemeler ve katı plakalar gibi çeşitli mimarilerde PHEMA üretilmesini gerektirmektedir.

Bununla birlikte PHEMA nanoliflerin yara örtü malzemesi olarak kullanımında sınırlı sayıda çalışma vardır (Alizadeh vd., 2014).

### **1.7. Poli([2-(metakriloiloksi) etil] trimetilamonyum klorür) (PMETAK)**

Acil bakım gerektiren cilt yaralarının tedavisinde mikrobiyal enfeksiyonun önlenmesi yara iyileşmesini hızlandırmak için çok önemlidir. Yara örtülerinde düşük molekül ağırlıklı antimikrobiyal ajanlar yerine polimerik materyallerin kullanılması steril yüzeylerin alanını genişleterek örtülerin, zararlı mikroorganizmalarla temasında öldürme yeteneğini arttıracaktır. Antibakteriyel aktivitenin lokal olarak etki etmesiyle bakteri direnci gelişimi azalacaktır. Yara bölgesinin ihtiyacından fazla ilaç kullanılmasının önüne geçilecektir (Lee ve Park 2000).

Polikationik antimikrobiyal ajanların özellikle kuaterner amonyum ve fosfonyum tuzları içeren polimerlerin mükemmel antimikrobiyal ajanlar olduğu bildirilmiştir (Kanazawa vd., 1994; Murray vd., 1998; Gottenbos vd., 2002; Yoshinari vd., 2001; Kolhe ve Kumara, 2007). Polikationik yapıya sahip kuaterner amonyum grupları bakteri hücre duvarındaki negatif yük ile etkileşime girmektedir.

PMETAK bir dördüncül amonyum tuzu olarak iyi antibakteriyel özellikler, düşük toksisite ve cilt tahrişinin düşük olması gibi vücutta kullanım için önemli özelliklere sahiptir. PMETAK'ın kısa alkil zincir uzunluğu dikkate alındığında antimikrobiyal aktivite muhtemelen pozitif yükü yoğunlaştıran dördüncül amonyumun yüklü azot atomundan kaynaklanır (Pendleton vd., 2015). Negatif yüklü bakteriyel bölgelerle temas ettiğinde pozitif yüklü dördüncül amonyum bölgeleri hücre zarının elektrik dengesini bozar. Bakteriler daha sonra sitoplazmik sızıntı nedeniyle hasar görür veya ölür (Beyth vd.,2006; Namba vd., 2009).

### 1.8. *Hypericum Perforatum*

*H. perforatum* bitkisi geleneksel yöntemlerle yüzyıllardır tedavi amaçlı kullanılmaktadır. *Clusiaceae* familyası ve *Hypericaceae* alt familyasına ait olan *Hypericum Perforatum* halk arasında sarı kantaron, koyunkıran, binbirdelikotu, kanotu, yaraotu, kuzukıran, mayasılotu, kılıçotu gibi adlarla bilinen, Türkiye'de ve Avrupa'da yaygın yetişen çok yıllık, sarı çiçekli, otsu bir bitkidir. Avrupa literatüründe St. John's wort olarak bilinir. Bunun sebebi bitkinin çiçeklenme döneminin yaklaşık olarak Saint John gününe denk gelmesidir (Di Carlo vd., 2001).

*Hypericum* cinsinin dünyada 400 türü olup bunlardan 70 türü Türkiye'de mevcuttur (Ekren vd., 2010). Sıklıkla çimenli nehir kıyıları, tarla, orman, yol kenarları ve kışı nemli yazı kurak olan bölgelerde dağılım gösteren bitki, hazirandan eylül ayına kadar çiçek açabilir. Bitki 30-100 cm boyunda olup tüysüz, dik, çoğunlukla tabanı odunsu bir forma sahiptir. Yapraklar sapsız, 10-35 mm uzunlukta, oval ve doğrusal biçiminde olup deliklere benzeyen dış salgı bezleri içerir.

*H. perforatum* özütleri romatizma, yanık, kabız, yara ve yanık iyileştirici, çürük, şiş, depresyon (Greenson vd., 2001), kurt düşürücü, antiseptik, enflamasyon tedavileri için geleneksel ilaç olarak kullanılmaktadır (Hunt vd., 2001). *H. perforatum*, ülkemizde yara ve yanık iyileştirmede geleneksel kullanımıyla ünlüdür. Bu terapötik bitkinin antibakteriyel (Reichling vd., 2001), antitümör (Colasanti vd., 2000), antiviral (Tang vd., 1990), hepatoprotektif, antidepresan (Linde vd., 1996; Szegedi vd., 2005) ve

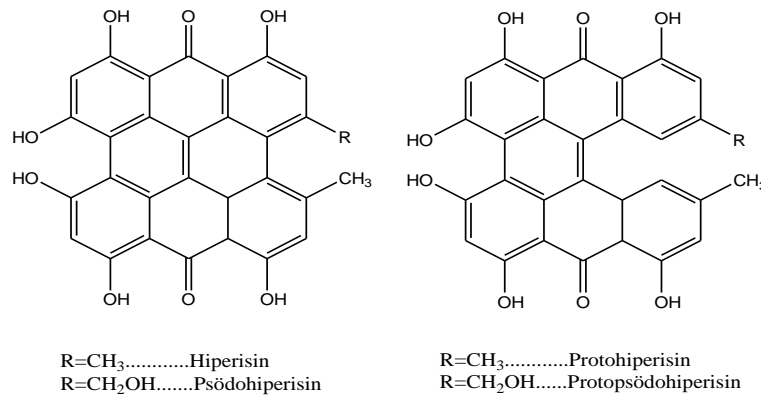
antiinflamatuvar (Raso vd., 2002; Abdel-Salam, 2005) aktivitelerinin olduğu belirlenmiştir.

### 1.8.1. *Hypericum Perforatum*'un Aktif Bileşikleri

Bitkinin toprak üstü kısımlarının hidroalkolik özütleri (%60 etanol veya %80 metanol) altı ana bileşik içerir: (1) Naftodiantronlar, (2) Floroglusinoller, (3) flavonoidler, (4) biflavonlar, (5) fenilpropanlar ve (6) proantosiyanidinler. Ek olarak, az miktarda tanenler, ksantonlar, uçucu yağlar ve amino asitler de mevcuttur (Nahrstedt ve Butterweck, 1997). Bu bileşikler her bitkide farklı konsantrasyonda bulunur. Bunun nedeni ekolojik büyüme şartları, genetik varyasyonlar, örneklerin hasat zamanı, örneğin ekstraksiyon yöntemi, depolanma koşulları ve ışığa maruz kalma koşullarındaki farklılıklardır (Nahrstedt ve Butterweck, 1997; Çaycı, 2006).

#### • Naftodiantronlar

Yoğun kırmızı renk ve fototoksik özellikleri ile *Hypericum* cinsi tipik bileşikleridir (Schey vd., 2000). Bu bileşik grubunun başlıca bileşeni hiperisinlerdir. Protohiperisin ve psödoprotoperisin, bitkiden izole edilir. Ancak kararsız yapıları nedeniyle daha kararlı ürünler olan hiperisin ve psödohiperisine dönüşürler.



Şekil 1.4. *Hypericum perforatum*'daki naftodiantronların kimyasal yapısı

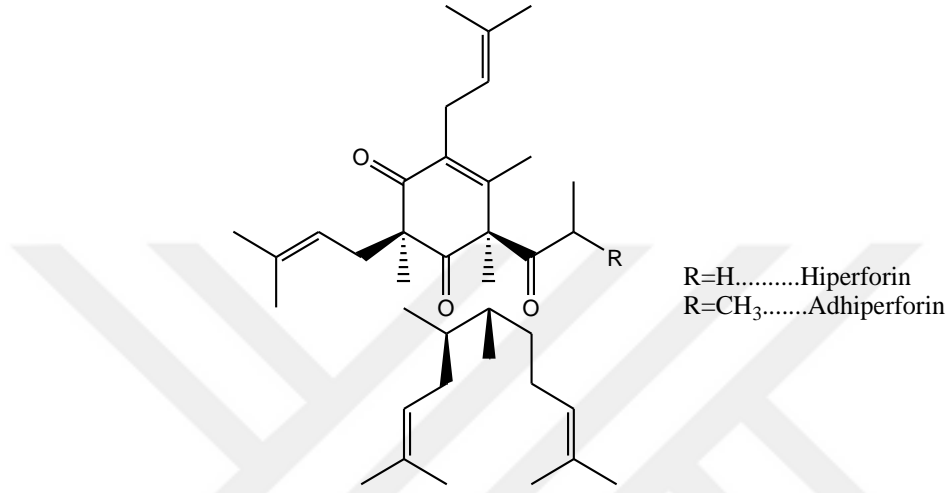
Hiperisin ve psödohiperisin, ham bitki materyalinin çiçek ve yapraklarında kuru ağırlığın %0,03'ü ile %0,3'ü arasındaki derişimlerde bitkinin gelişim evresine göre önemli farklılıklar göstererek bulunur (Cellarova vd., 1994). Psödohiperisin, *H. perforatum*'da ana naftodiantron olup, genellikle hiperisinden iki ile dört kat fazla miktarda bulunur. Psödohiperisinin bir oksidasyon ürünü olan siklopsödohiperisin *H. perforatum* özütlerinin kırmızı renginden kısmen sorumludur. Hiperisin içeriği (yaklaşık %0.1-0.15) hem hiperisin hem de psödohiperisini (Vanhaelen ve Vanhaelen-Fastre, 1983) kapsar ve bazen 'total hiperisinler' olarak adlandırılır.

Naftodiantronlar hemen hemen tüm çözücülerde sınırlı bir çözünürlük gösterirler, saf bileşikler özellikle hiperisinler ortam sıcaklığında suda hemen hemen hiç çözünmezler. Bununla birlikte, naftodiantron içeriğinin %40'ından fazlası, 60-80 °C'de su ile çay hazırlanır gibi ham bitki kurusundan elde edilebilir (yaklaşık %35 psödohiperisin ve %6 hiperisin). *Hypericum* türlerinin "çözünür" pigmentleri olarak hiperisin ve psödohiperisinin potasyum tuzları tanımlanır (Falk ve Schmitzberger, 1992). Hiperisinler, *H. perforatum*'un en dikkat çekici bileşikleridir ve bu bileşik sınıfı için birçok farmakolojik etki tanımlanmıştır. Hiperisin ve psödohiperisin, protein kinaz C'yi, sırasıyla, 1.7 mg L<sup>-1</sup> ve 15 mg L<sup>-1</sup> değerleriyle inhibe edip memeli hücrelerine karşı büyüme engelleyici etki göstermiştir. Bu durum, hiperisin ve psödohiperisinin hücrelerin viral enfeksiyonu sırasında protein kinaz C tarafından fosforilasyonun engellenmesini sağlayan antiretroviral aktivitesini açıklamıştır (Takahashi vd., 1989).

Hiperisinin, CD8+T hücresi aracılı sitotoksisite reaksiyonu üzerindeki inhibitör etkisi nedeniyle T hücresi kaynaklı hastalıkların tedavisinde de bir potansiyele sahip olduğu tespit edilmiştir (Lavie vd., 2000). Hiperisin, *H. perforatum*'u ışığa duyarlı hale getiren en önemli bileşendir ve fotodinamik kanser tedavisi için bir fotosensitizer olarak tavsiye edilmiştir (Vandenbogaerde vd., 1998).

- **Floroglusinoller**

*Hypericum* cinsinde floroglusinol türevleri yaygın olarak bulunur. Hiperforin ana floroglusin içeriğinin %2.0-4.5'ini oluştururken metil grubu içeren adhiperforin ise % 0.2-1.9'unu oluşturur.



**Şekil 1.5.** *Hypericum perforatum*'daki floroglusinollerin kimyasal yapısı

Bunlar, çiçeklerde yaklaşık %2, olgunlaşmış meyvelerde %4.4 ve olgunlaşmamış meyve içinde %4.5 oranında bulunur (Tekel'ova vd., 2000). Hiperforin oldukça kararsız olmasına rağmen (özellikle sulu çözeltilerde ışığa ve sıcaklığa maruz bırakıldığında) birçok ticari ekstraktta %0-6 konsantrasyonlarda bulunur.

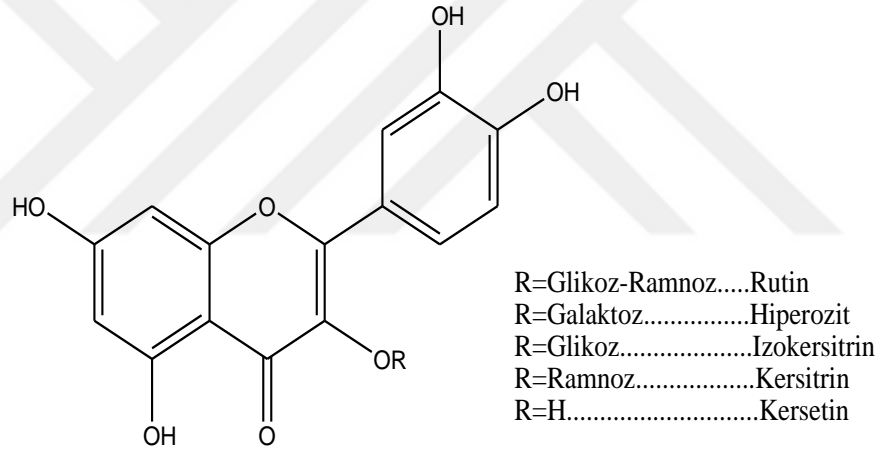
Hiperforinin in vitro olarak birden fazla nörotransmitter sistemi modüle veya inhibe ettiği gösterilmiştir. Dopamin, noradrenalin ve serotoninin kuvvetli bir geri alım inhibitörüdür (Chatterjee vd., 1998). Bu, hiperforinin bitkinin antidepresan aktivitesinde rol aldığını desteklemektedir. Antidepresan etkisi, nörotransmitterlerin sinaptik geri alımının inhibisyonu ile gerçekleşir (Chatterjee vd., 2001).

*H. perforatum*'un ve hiperforinin iltihabi cilt problemlerini tedavi etmede kullanılmasının sebebi, hiperforinin siklooksijenaz-1 ve 5-lipoksijenazın inhibitörlerinden biri olmasıdır (Albert vd., 2002).

Hiperforin aynı zamanda antimalaryal aktiviteye sahiptir ve mikromolar seviyede bir IC50 değeri ile *Plasmodium falciparum*'a karşı aktif olduğu bulunmuştur (Verotta vd., 2007).

- **Flavonoidler**

*H. perforatum*'daki biyolojik aktif bileşiklerin ana grubunu %2 ile 4 oranla flavonoidler oluşturmaktadır. Şimdiye kadar tanımlanan flavonol aglikonlar kemferol, luteolin, mirisetin ve kuersetini içerir (Nahrstedt and Butterweck, 1997; Kurth and Spreemann, 1998; Hansen vd., 1999). *H. perforatum* glikozitlerinde hiperozit ve rutin baskın olurken kuersitrin ve izokuersitrin onları takip eder (Pietta vd., 2001).



**Şekil 1.6.** *Hypericum perforatum*'daki flavonoidlerin kimyasal yapısı

Flavonoid glikozitlerin spazmolitik aktiviteye sahip olduğu gösterilmiştir (Morales ve Lozoya, 1994). Bu bileşikler monoamin oksidaz A'yı ve katekol-O-metil transferazı inhibe eder (Thiede ve Walper, 1994). Monoamin oksidaz A, biyojenik aminlerin katabolizmasından sorumludur.

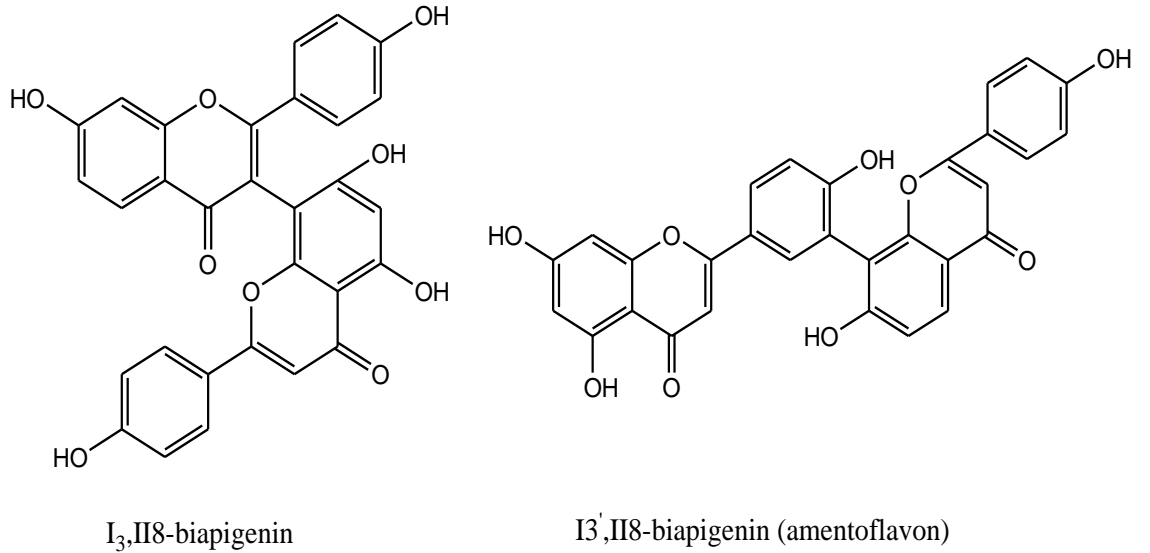
Bitkinin antiinflamatuvar etkisini göstermede kuersetin ve diğer flavonoidler yardımcı olmaktadır (Tedeschi vd., 2003).

Bazı flavonoidler, benzodiazepin reseptörüne bağlanabilir (Medina vd., 1997), *H. perforatum*'un flavonoidlerinin de aynı şekilde hareket edebileceği ileri sürülmüştür (Haeberlain vd., 1994; Viola vd., 1994).

Rutin, *H. perforatum* özütlerinin antidepresan aktivitesi için gerekli olduğu gösterilmiştir (Noldner ve Schotz, 2002). Aynı zamanda antiinflamatuvar ve kan damarlarının çapı üzerine bir etki göstermiştir (Ihme vd., 1996; Lindahl ve Tagesson, 1997).

- **Biflavonlar**

Biflavonlar, bazı sebze kaynaklarında da bulunabilen ender bir dimerik flavon grubudur. *H. perforatum*'da üç tane biflavon tespit edilmiştir. Bunlar; amentoflavon (%0.01–0.05), 3',8''-biapigenin (%0.1–0.5) (Berghoefter ve Hoelzl, 1987) ve 6',8''-dikuersetin'dir (Kurkin ve Pravdivtseva, 2007). Bu biflavonların terapötik önemi halen bilinmemektedir. Amentoflavonun analjezik ve antiinflamatuvar etkiye sahip olduğu gösterilmiştir (Kim vd., 1998).



**Şekil 1.7.** *Hypericum perforatum*'daki biflavonların kimyasal yapısı



- **Fenilpropanlar**

Bu bileşikler, genellikle kafeik asit ve p-kumarik asit gibi hidroksisinnamik asit esterleri olarak bulunurlar. Klorojenik asit, *H. perforatum* özütünde %1'in altındaki konsantrasyonlarda tespit edilmiştir (Nahrstedt ve Butterweck, 1997). *H. perforatum*'un farmakolojik etkisindeki görevi bilinmemektedir.

- **Proantosiyanidinler**

Proantosiyanidinler, taninler tarafından temsil edilmektedir. Toplam konsantrasyonları, %2 ile 4 arasında değişir ve çiçeklenme öncesinde maksimum bir konsantrasyonda bulunur. Dimerik prosiyanidin, trimerik ve tetramerik prosiyanidinlerle birlikte bitkiden izole edilmiştir.

Proantosiyanidinlerin çeşitli biyolojik etkileri arasında antioksidan (Bagchi vd., 2000), antiviral (De Bruyne vd., 1999) ve antimikrobiyal (Scalbert, 1991) aktiviteleri vardır.

- **Uçucu Yağlar**

*H. perforatum*'un esansiyel yağı, terpenoidleri ( $\alpha$ -pinen,  $\beta$ -pinen, geraniol,  $\beta$ -kariofilen,  $\beta$ -farnesene, humulen, ve germakren D) ve alifatik bileşikleri (2-metil oktan, n-nonan, n-dekan, n-undekan, n-tetradekanol, 2-metil-dekan ve 2-metil-dodekan) içermektedir (Bronz vd., 1983; Mockute vd., 2003).

- **Diğer Kimyasal Bileşenler**

Diğer tipik kimyasal bileşenler; karotenoidler, ksantonlar, asitler, kolin, pektin,  $\beta$ -sitosterol, nikotinamid, amino asitler, yağ asitleri, C vitamindir (Wirz vd., 2000).

### **1.8.2. *Hypericum Perforatum*'un Yara İyileştirici Etkileri**

*Hypericum* yağ infüzyonu yanıkların ve yaraların iyileşmesini hızlandırmada geleneksel olarak kullanılmaktadır. *H. perforatum* özütlerinin yara iyileşme aktivitesi esas olarak kollajen üretiminin uyarılmasındaki artıştan ve hasarlı bölgeyi kapatarak yara onarımında rol oynayan fibroblast hücrelerinin poligonal şekillere dönüştürülmesinden kaynaklanmaktadır (Öztürk vd., 2007).

Antimikrobiyal ve antiinflamatuvar aktiviteleri, fibroblast hareketliliği, kollajen üretimi ve keratinosit farklılaşması uyarımı, *Hypericum perforatum*'un yara iyileşmesinde etkili olan başlıca klinik faktörleri olarak kabul edilir (Süntar vd., 2010, Süntar vd., 2011; Wölfler vd., 2014).

*Hypericum perforatum*'un yaraların tedavisinde etkin kullanımı için klinik gerekçe, antimikrobiyal ve antiinflamatuvar aktivitelerinin yanı sıra fibroblast motilitesi, kollajen üretimi ve keratinosit farklılaşması üzerindeki uyarıcı etkileridir (Wölfler vd., 2014).

*Hypericum perforatum* türleri antiseptik özellik ile mikroorganizma çoğalmasını ve antiinflamatuvar özellik ile inflamasyonu önler, vazokonstriktif özellik ile kanamayı durdurur ve hücre oluşum özelliği ile yaranın daha hızlı iyileşmesine yardımcı olur.

### **1.9. Literatür Özeti**

PHEMA hidrojeller biyomalzeme alanında sıklıkla kullanılmaktadır. İlaç verme sistemleri, hemodiyaliz membranları, yara iyileştirici yapıları ve doku mühendisliği iskeleleri olarak kullanım için araştırılmıştır. Uygulamalardaki bu çeşitlilik ince filmler, gözenekli malzemeler ve katı plakalar gibi çeşitli mimarilerde PHEMA üretilmesini gerektirmektedir. Bununla birlikte PHEMA nanofiblerin yara örtü malzemesi olarak kullanımında sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır (Alizadeh vd., 2014).

Etkili bir biçimde kullanılabilir ve aranılan bütün gereksinimleri karşılayabilecek bir yara örtü malzemesi geliştirmek için bu malzemenin yapısal olarak uyarlanabilir ve özelliklerinin kontrol edilebilir olması gerekmektedir. Bu amaçla son yıllarda elektroğirme yöntemi ile elde edilen nanoliflerin kullanımı artmıştır (Dongargaonkar vd., 2013; Abdelgawad vd., 2014; Jin vd., 2014). Elektroğirme tekniği mikro veya nano boyutlarda liflerin elde edilmesinde kullanılan basit, kurulumu ucuz, hızlı, süreç parametrelerinde rahatlıkla değişiklik yapılabilen, kullanılabilir polimerlerin çok geniş bir çeşitlilik gösterdiği, ticari üretime elverişli bir işlemdir. Elektroğirilmiş nanolifler çok yüksek yüzey alanlarından, yüksek gözeneklilikten ve hücre dışı matrikse (ECM) benzerliklerinden dolayı geleneksel yara örtülerine karşı birçok avantaj göstermektedir.

Tomic vd. (2010) pH ve sıcaklığa hassas PHEMA ve kopolimer hidrojellerini sentezlemişlerdir. Elde edilen hidrojellerin morfolojisinin, mekanik ve termal özelliklerinin biyomedikal uygulamaların çoğu gereksinimini karşıladığı bulunmuştur. Hidrojellerin biyoyumluluğu in vitro ortamda incelenmiştir. Bulunan sonuçlar hidrojellerin hücre toksisitesine veya herhangi bir hemolitik aktiviteye sahip olmadığını göstermiştir. Ayrıca, mikroorganizma penetrasyon testi ne *Staphylococcus aureus* ne de *Escherichia coli*'nin hidrojellerden geçemediğini göstermiştir.

Zhang vd. (2011) elektroğirme yöntemi ile PHEMA nanoliflerini sentezlemişlerdir. Polimer çözeltisinin derişiminin ve akış hızının nanolif çaplarına olan etkisini araştırmışlardır. Normalde hazırlanan PHEMA hidrojellerin su absorpsiyon oranları %70 civarlarında iken nanoliflerin %280 su absorpladığı belirlenmiştir. Hazırlanan nanoliflerin 1 gramının, 120 mg bovin serum albümin bağlama kapasitesine sahip olduğunu bulmuşlardır. Ayrıca kollajen I ile fonksiyonel hale gelen PHEMA nanofibröz iskelelerin, fibroblast yapışması, yayılması ve çoğalmasını belirgin bir şekilde arttırdığını belirlemişlerdir. Yüksek su tutma kapasiteli ve kolaylıkla fonksiyonel hale getirilebilen elektroğirilmiş PHEMA nanoliflerinin, yara örtüleri, doku iskeleleri ve afinite membranları gibi birtakım potansiyel uygulamalarda kullanılabilirliği rapor edilmiştir.

Ramalingam vd. (2013) tıbbi uygulamalar için elektroğirme yöntemi kullanarak PHEMA nanoliflerini üretmişlerdir. Polimer derişimi, akış hızı, elektrik alanı ve iğne ile toplayıcı arasındaki mesafe gibi elektroğirme parametreleri karakterize edilmiştir. SEM görüntüleri nano ve mikrometre arasında değişen çaplara sahip lifler elde edildiğini göstermiştir. Çözücü buharlaşması, termal stabilite, kristallilik, depolama kararlılığı ve viskoelastik davranış sırasıyla FTIR, termal analiz, X-ışını kırınımı ve dinamik mekanik analiz kullanılarak belirlenmiştir. Mekanik mukavemeti, yüksek su tutma oranı ve iyi hücre canlılığı ile bu polimer lifleri, doku mühendisliği uygulamaları için mükemmel biyouyumlu bir polimer olarak gösterilmiştir.

Ramalingam vd. (2015) kurkumin yüklü PHEMA nanoliflerini elektroğirme yöntemi kullanarak üretmişlerdir. Nanolif iskelelerin, hücrelerin orijinal morfolojisini koruyarak hücre büyümesini ve yapışmasını desteklediğini göstermişlerdir. Kurkumin yüklü nanoliflerin, antibiyotik dirençli organizmaların (*Staphylococcus aureus* ve *Escherichia coli*) neden olduğu enfeksiyonlara karşı etkili olduğunu rapor etmişlerdir. Sonuç olarak, kurkumin yüklü nanoliflerin ilaca dirençli organizmaların neden olduğu enfeksiyon hastalıklarında yara örtü malzemesi olarak yara iyileşmesinde kullanılma potansiyeline sahip olduğu gösterilmiştir.

Ghitescu vd. (2015) yaptıkları çalışmada aktif bileşiklerin bozulma göstermediği homojen lifli membranlar elde etmek için saf PHEMA ve PHEMA/polifenol lif oluşumundaki elektroğirme parametrelerinin etkisini araştırmışlardır. Elde edilen liflerin salım karakteristikleri ve radikal süpürme deneyleri ile antioksidan aktiviteleri incelenmiştir. Polifenollerin eklenmesi, artan katkı maddesi konsantrasyonu ile birlikte lif çaplarının artmasına neden olmuştur. Polifenol salımı, birinci aşamada yüksek salım hızları sağlarken, ardından uzun vadede yavaş salım meydana gelmiştir. Antioksidan aktivitesini tayin etmek için kullanılan 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) deneyi, polifenollerin, PHEMA nanoliflerine dahil edildikten sonra etkinliklerini koruduğunu göstermiştir. Ayrıca, polifenollerin çevresel faktörlerin neden olduğu bozulmaları, PHEMA nanoliflerine enkapsülasyonu ile büyük ölçüde geciktirebildiği gösterilmiştir.

Poli([2-(metakrioloksi) etil] trimetilamonyum klorür) (PMETAK) bir dördüncül amonyum tuzu olarak iyi antibakteriyel özellikler, düşük toksisite ve cilt tahrişinin düşük olması gibi vücutta kullanım için önemli özelliklere sahiptir.

Goel vd. (2009)'nin yaptıkları çalışmada radyasyonla polimerleştirdikleri PMETAK ve METAK aşılınmış pamuk numuneleri çeşitli bakterilere karşı test edilmiştir. PMETAK ve METAK aşılınmış pamuk gram pozitif *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* ve gram negatif *Escherichia coli*, *Pseudomonas fluorescens* gibi bakterilere karşı iyi antibakteriyel aktivite göstermiştir. METAK aşıllı ürünün hastane personeli elbisesi ve hijyenik iç giyim malzemesi olarak kullanım potansiyeline sahip olabileceği düşünülmüştür.

Hu vd. (2015) Poli(HEMA-ko-METAK)/Polietilen glikol (PEG) hidrojellerini hazırlamışlardır. Hidrojellerin kimyasal yapısını FTIR, morfolojilerini SEM, TEM analizleriyle, termal stabilitelerini TGA ve mekanik özelliklerini elektronik universal test cihazı ile belirlemişlerdir. Şişme deneyleri, katyonik monomer METAK'ın varlığının hidrojellerin su tutma kapasitesini arttırdığını göstermiştir. Sitotoksik testleri, sentezlenmiş jellerin tatmin edici biyouyumluluğa sahip olduğunu göstermiştir. Deneysel sonuçlar hidrojellerin kullanım için uygun bir biyomateryal olduğunu kanıtlamıştır.

Çapraz bağlı poli([2- (metakrioloksi) etil] trimetilamonyum klorür) (PMETAK) ve bakteriyel nanoselülozdan (BNC) oluşan nanokompozitler karakterize edilip polimorfik mantar *Candida albicans*'a karşı test edilmiştir. Nanokompozitler yüksek su tutma kapasitesi, 200 °C'ye kadar termal stabilite, iyi viskoelastik ve mekanik özellikler sergilemiştir ve insan keratinositlerine (HaCaT hücreleri) sitotoksik etki göstermemiştir. Biyoaktif katyonik PMETAK ve hidrofilik BNC'nin kullanımı, polimorfik mantar *C. albicans*'ı etkisiz hale getirebilen nanokompozitler üretmiştir (Vilela vd., 2019).

Yara iyileşmesinde modern tıpta kullanılan tedavi edici ajanların yerine uygulaması basit, daha ucuz ve elde edilmesi daha kolay malzemelerin kullanımı yaygınlaşmıştır. Bitkisel yara iyileştiricilerinin, kimyasal antibiyotikler gibi sentetik ilaçların

kullanılmasının gerekliliğini azaltacağı ve bunları kullanmanın yan etkilerini önleyeceğine inanılmaktadır.

Hemostatik bileşenlere sahip nanolif çalışmasında, berberin yüklü elektroğirilmiş poli( $\epsilon$ -kaprolakton) nanolif membranların, yara kanamasını engellemede in vitro hemostazı, yara enfeksiyonunu önlemede bakterilerin üremesinin engellediği ve yara iyileşmesini kolaylaştırmada hücrelerin büyümesini sağladığı belirlenmiştir (Bao vd., 2013).

Diğer bir çalışmada selüloz temelli gözenekli liflere %1 ve %5'lik esansiyel yağlar (tarçın, limon otu ve nane) dahil edilmiş ve az miktarda esansiyel yağın bile *E. coli*'nin büyümesini inhibe ettiği belirlenmiştir (Liakos vd., 2015).

Yousefi vd. (2017) yaptıkları çalışmada kına ekstraktı yüklenmiş kitosan temelli nanoliflerin biyoyumluluğunu ve antimikrobiyal etkinliğini araştırmışlardır. Kına ekstraktının nanolif örtülere dahil edilmesi, bakterilere karşı yüksek antibakteriyel aktivite oluşmasını sağlamıştır. Deneysel çalışmalar hazırlanan liflerin sitotoksik olmadıklarını ve fibroblast hücrelerinin örtülerin yüzeyinde çoğalabildiklerini göstermiştir. Çalışmanın sonuçları, kına özütü yüklenmiş kitosan liflerin biyobozunur ve antibakteriyel yara örtüleri olarak kullanılmak üzere büyük bir potansiyele sahip olduğunu göstermiştir.

Garcia-Orue vd. (2017) yaptıkları çalışmada rekombinant insan Epidermal Büyüme Faktörü (rhEGF) ve Aloe vera (AV) özütü içeren poli(laktik-ko-glikolik asit) (PLGA) nanolif membranlar geliştirmişlerdir. İki maddeninde yara iyileşmesini teşvik ettiği bulunmuştur. Çünkü rhEGF zaten bir yara iyileşme aracı maddesidir. AV ise, fibroblastların çoğalmasını ve aktivitesini uyarmıştır. İn vitro canlılık analizleri, rhEGF ve AV içeren membranların fibroblast proliferasyonunu geliştirdiğini göstermiştir. Bu membranlar, fareler üzerinde gerçekleştirilen in vivo yara iyileşme deneyinde önemli ölçüde yara kapanmasını ve reepitelizasyonu hızlandırmıştır.

Başka bir çalışmada, elektroğirilmiş ipek fibroin (SF) membranlara antibakteriyel ve antioksidan özellik kazandırmak için timol ilave etmişlerdir. Timol (5mg/mL),

elektroegirme işleminden önce doğrudan SF ve hyaluronik asit (HA) karışımı ile karıştırılmıştır. Timolün bu nanoliflere dahil edilmesi, elyaf ortalama çaplarında  $306.8 \pm 85.6$  nm'den  $412.7 \pm 106.7$  nm'ye artışa neden olmuştur. Timolün nanoliflere dahil edilmesi %45.64 oranında antioksidan aktivite göstermiştir. Ayrıca *S. aureus* ve *P. aeruginosa*'yı sırasıyla %7.42 ve %58.43 oranında inhibe ettiği belirlenmiştir (Miguel vd., 2018).

*H. perforatum* bitkisi geleneksel yöntemlerle yüzyıllardır tedavi amaçlı kullanılmaktadır.

*H. perforatum*, ham ekstraktları uzun süredir geleneksel tıpta yara iyileşmesini doğal olarak teşvik etmek için kullanılan bir bitkidir. *H. perforatum* yağ infüzyonu yanıkların ve yaraların iyileşmesini hızlandırmada geleneksel olarak kullanılmıştır. Etkisinin bir kısmı, antibakteriyel aktivitesine bağlı olmaktadır. *H. perforatum*'un yara iyileşmesinde etkili bileşenleri arasında; hiperforin, hiperisin ve flavonoid grubundan hiperozid, izokuersetin, rutin ve epikatesin yer almaktadır. Bunlar arasında yara iyileşmesinde en çok hiperforinin etkili olduğu fakat diğer maddelerin de yardımcı olduğu gösterilmiştir (Altan vd., 2015).

İn vitro çalışmalar, *H. perforatum* ekstraktının ya da içeriklerinin inflamatuvar reaksiyon sürecindeki bazı basamakları inhibe ettiğini göstermiştir. Özellikle *H. perforatum* ekstraktlarının serbest radikal üretimini, myeloperoksidaz, siklooksijenaz-1, 5-lipoksijenaz ve indüklenbilir siklooksijenaz ve nitrik oksit sentaz basamaklarını inhibe ettiği belirtilmiştir (Savaş, 2014).

Pekşen (2013)'in yaptığı çalışmada *H. perforatum* yağı ile silverdin®'in yanık yarası üzerindeki etkileri karşılaştırılmıştır. Yara, inflamasyon bakımından incelendiğinde *H. perforatum* kullanılan gruplarda silverdin ve kontrol grubuna göre subkutan ödem ve hipereminin anlamlı derecede azaldığı aynı zamanda polimorfonükleer lökosit artışının, *H. perforatum* kullanılan gruplarda yüksek olduğu bulunmuştur.

Farklı bir çalışmada, *H. perforatum* özütünün topikal ve sistemik uygulamasının oral mukozit üzerindeki terapotik etkinliği araştırılmıştır. Hamsterlerin ağız kesesi steril bir iğne ile 1. ve 2. günlerde çizilmiştir. 12-17. günlerde %10 *H. perforatum* özütü

topikal jeli, *H. perforatum* özütü (300 mg/kg), jel bazı (topikal jelin hazırlanmasında kullanılan jel bazı) uygulanmıştır ve kontrol grubu ile kıyaslanmıştır. *H. perforatum* ekstraktları tedavi gruplarının her ikisi de oral mukozitte kontrol ve jel bazı grubuna kıyasla önemli bir gelişme göstermiştir. Oral veya topikal olarak verilen *H. perforatum* özütü, hamsterlerde kemoterapinin neden olduğu oral mukozit iyileşmesini hızlandırmıştır (Tanideh vd., 2014).

Yadollah-Damavandi vd. (2015) yaptıkları çalışmada, *Hypericum perforatum*'un (HP) tam kalınlıktaki diyabetik cilt yaraları üzerindeki iyileştirici etkilerini stereolojik yöntemler kullanarak değerlendirmeyi amaçlamışlardır. Kırk sekiz dişi sıçan jel bazı ile tedavi edilen, %5 HP içeren jel ile tedavi edilen, %10 HP içeren jel ile tedavi edilen ve tedavi edilmemiş kontrol grubu olarak rastgele dört gruba ayrılmıştır. Hayvanların boynunda 1 cm<sup>2</sup> tam kalınlıkta bir yara oluşturulup yara alanı her üç günde bir ölçülmüştür. Deri örnekleri sabitlenip stereolojik değerlendirmeler için hazırlanmıştır. Bu çalışmanın sonuçları, HP'nin fibroblast proliferasyonunu, kollajen demet sentezini ve revaskülarizasyonu arttırarak doku rejenerasyonunu geliştirme yeteneğine sahip olduğunu göstermiştir.

Çoban vd. (2016)'nin yaptıkları çalışmada, *H. perforatum* yağının etkisi yaranın erken aşamasında (ilk 7 gün) ve geç aşamasında (ikinci 7 gün) fareler üzerinde gösterilmiştir. Ayrıca, anjiyojenez yoluyla yara iyileşmesinde rol oynayan VEGFA, VEGFB, VEGFC, PDGFB ve FGF2 genlerinin gen ekspresyon profilleri gerçek zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu yöntemi ile çalışılmıştır. Sonuçlara göre, *H. perforatum* yağı, erken aşamalarda yara yüzeyinde olumlu etkiye sahiptir, ancak geç dönemlerde etkisi olmamıştır. VEGFA, VEGFB, VEGFC ve FGF2'nin gen ekspresyon seviyeleri, yara iyileşmesinin erken evrelerinde artmış, ancak geç evrelerde sadece VEGFA gen ekspresyon seviyesi artmıştır. Bu sonuçlar, *H. perforatum* yağının yara iyileşme süreci üzerindeki etkisinin, proliferasyon aşamasında VEGFA, VEGFB, VEGFC ve FGF2 genleri üzerinde meydana geldiğini göstermiştir.

Başka bir çalışmada, farklı konsantrasyonlarda (%10, 30 ve 50 v/v) *Hypericum perforatum* alkollü ekstraktının, elektroğirilmiş poli(ε-kaprolakton) nanoliflerine



hapsedilmesiyle biyouyumlu ve toksik olmayan bir yara örtüsü oluşturulmuştur. Bu elektroğirilmiş liflerin antibakteriyel aktivitesi, *S.aureus* suşunun farklı oranlarını inhibe etmede etkili olmuştur. Bitki özütünün eklenmesinden sonra, membranlar HSF (insan deri fibroblastı) hücrelerine toksik etki göstermemiştir (Pourhojat vd., 2017).



## 2. MATERYAL VE YÖNTEM

### 2.1. Kimyasal Maddeler

PHEMA'nın sentezinde kullanılan HEMA monomeri, etanol ve PMETAK sentezinde kullanılan METAK monomeri, aseton, peroksidisülfat, NaCl Merck (Almanya) ve amonyum persülfat Sigma (Almanya) firmalarından temin edilmiştir. Çalışmada kullanılan *H. perforatum* bitkisinin yağlı özütü, hazır olarak Mersin'in Tarsus ilçesine bağlı Sağlık köyünden temin edilmiştir. *H. perforatum* bitkisi Toros Dağlarından toplanmıştır.

Elektroegirme çözeltilerinde yağlı ekstraktın çözünürlüğünü arttırmak ve homojen dağılımını sağlamak için bir emülgatör olan Tween 80 Merck (Almanya) firmasından temin edilmiştir. HPLC analizinde kullanılan metanol, asetonitril Sigma (Almanya) ve formik asit Tekkim (Türkiye) firmalarından temin edilmiştir. Şişme deneyindeki fosfat tamponu için gerekli olan KCl, Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> ve KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> Sigma (Almanya) firmasından temin edilmiştir. Nanoliflerin antioksidan aktivitelerini belirlemede kullanılan 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) Merck (Almanya) firmasından temin edilmiştir.

İn vitro antibakteriyel aktivite deneylerinde kullanılan Nutrient Broth (N.B.) besiyeri Sigma (Almanya) firmasından temin edilmiştir. Mikroorganizmalardan; *Escherichia coli* ve *Staphylococcus aureus* suşları KUBTUAM'dan temin edilmiştir. İn vitro hücre kültürü çalışmalarında kullanılan; L929 fibroblast hücresi ATCC, PBS 1 BioShop (Kanada), Fetal bovin serum (FBS) Biological Industries (Amerika), Penicillin-Streptomycin (10,000 U/mL) Gibco (Amerika), DMEM-F12 Biological Industries (Amerika), DMEM (L-Glutamine w/v, Phenol Red w/v) Capricorn Scientific (Almanya), MTT kiti, izopropanol ve ribonükleaz A Merck (Almanya) firmalarından temin edilmiştir. Hücre kültür çalışmalarının tamamı, kültür kapları ve çok kuyucuklu plakalarda (Corning, ABD) gerçekleştirilmiştir.

## 2.2. Kullanılan Cihazlar

**Morfolofik inceleme:** Lif örtülerin morfolojileri, JSM 5600 marka (Tokyo, Japonya) taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile karakterize edilmiştir. Sentezlenen lifli örtülerin küçük bir kısmı analiz öncesinde altınla kaplanıp SEM numune tutucusuna yerleştirilmiştir. Liflerin ortalama çaplarını belirlemek için 50 farklı lifin çapı ölçülmüş ve ortalamaları alınmıştır.

**Fourier dönüşümlü kızılötesi spektroskopisi (FTIR) çalışmaları:** Örtülerin kimyasal bileşimini değerlendirmek ve yapısal değişikliklerini saptamak için 400-4000  $\text{cm}^{-1}$  aralığı içinde Bruker (Almanya) marka cihazla FTIR spektroskopisi gerçekleştirilmiştir.

**Termogravimetrik analiz (TGA) çalışmaları:** Lif örtülere HPYE'nin yüklendiği TGA Q500 model TA marka (Amerika) cihazla yapılacak termal analiz ile gösterilmiştir. Bu amaçla 10 mg'lık numuneler alüminyum panlara yerleştirilip oda sıcaklığından 900 °C'ye kadar azot gazı atmosferinde 10 °C/dakika ısıtma hızında ısıtılmıştır. Aynı zamanda METAK polimerinin lif örtülerdeki varlığı da TGA ile kanıtlanmıştır.

**Elemental analiz çalışmaları:** PMETAK'ın PHEMA lifli örtülere hangi oranda girdiğini tespit etmek için MICRO CHNS marka (Amerika) elemental analiz cihazı kullanılmıştır. 1 mg lif örtüler elemental analiz cihazının alüminyum örnek hücreesine yerleştirilip tartılmıştır. Lif örtüler cihaza konulup yakma işlemi sonucunda % azot analizi yapılmıştır.

**Yüksek performanslı sıvı kromatografisi (HPLC) çalışmaları:** Elde edilen HPYE yüklü lif örtülerdeki HPYE bileşenlerinin varlığını göstermek için Shimadzu (Japonya) marka HPLC kullanılmıştır.

**Elektroegirme düzeneği:** Elektroegirme prosesinde 0-25 kV arasında voltaj sağlayan PHYWE (Almanya) marka yüksek gerilim üretici, New Era (USA) marka şırınga pompası ve toplayıcı (alüminyum folyo) kullanılmıştır.

**UV spektrofotometresi çalışmaları:** İn vitro antibakteriyel ve antioksidan aktivite deneyleri için Shimadzu UV-1800 (Japonya) marka UV/VIS spektrofotometre kullanılmıştır.

**Kullanılan diğer cihazlar;**

Manyetik karıştırıcı (Tope MS300HS)

Santrifüj (Nüve NF 200)

Çalkalamalı su banyosu (Lab Companion BS 21)

Otoklav (Nüve OT 4060)

Sonikatör (Bandelin Sonorex Digital 10P)

Analitik terazi (Sartorius)

Çalkalamalı inkübatör (Edmund Bühler)

CO<sub>2</sub>'li inkübatör (Binder)

Elisa (BioTek, PowerWave XS2)

Inverted mikroskop (Leica DM6000B)

Laminar akış kabini (Esco Class II BSC)

### **2.3. PHEMA'nın Sentezi**

Üç boyunlu balondaki %66'lık (v/v) 90 mL etanol-su karışımı içerisine 12 mL HEMA eklenmiştir. Sonra bunun içerisine 0,12 g amonyum peroksidisülfat eklenip 70 °C'de su banyosunda 3 saat polimerizasyon gerçekleştirilmiştir. Polimerizasyon tamamlandıktan sonra çözelti, 2 L saf su içerisine dökülerek çöktürülmüştür. Elde edilen PHEMA 40 °C'de etüvde kurutulmuştur (Přádný vd., 2007).

### **2.4. PMETAK'ın Sentezi**

İlk olarak METAK monomeri, bazik alümina ile doldurulmuş cam kolondan geçirilerek durdurucusundan uzaklaştırılmıştır. Yaklaşık 20 gram METAK monomeri 3 boyunlu balona alınıp su ile 100 mL'ye seyreltilip, bundan 30 dakika süre ile azot gazı geçirilmiştir. Daha sonra monomere kütlece %2 olacak şekilde

amonyum peroksidisülfat ilave edilip 70 °C'de 4 saat süre ile geri soğutucu altında polimerleştirilmiştir. Sonra bu karışım 200 mL soğuk asetonda çöktürülüp, ayrılmıştır ve 40 °C'de vakum etüvünde kurutulmuştur.

## 2.5. Elektroğirme Çözeltilerinin Hazırlanması

Çalışmada kullanılan *Hypericum perforatum* bitkisinin yağ ekstraktı hazır olarak Mersin'in Tarsus ilçesine bağlı Sağlıklı köyünden temin edilmiştir. Bitkinin toprak üstü kısımları, şeffaf cam bir kavanoz içerisine yerleştirilmiş ve üzerini örtecek kadar saf zeytinyağı doldurulup güneş göreceğ şekilde gün aşırı karıştırılarak *H. perforatum* yağ ekstraktı (HPYE) elde edilmiştir. Oluşturulan zeytinyağlı bitki ekstraktı filtre kağıdından süzülüp deneysel çalışmada kullanılacak hale getirilmiştir. Çalışmada ilk olarak %10'luk (w/v) PHEMA çözeltileri, PHEMA'nın 4:1 (v/v) etanol:su karışımı içerisinde çözülmesiyle hazırlanmıştır. Çözeltiye PHEMA'ya göre kütlece %10 (w/w) olacak şekilde PMETAK ilave edilmiştir. Homojen karışım elde etmek için çözelti oda sıcaklığında manyetik karıştırıcı ile 24 saat süre ile karıştırılmıştır. Yağlı ekstraktın çözünürlüğünü arttırmak için bir emülgatör olan Tween 80, polimer çözeltisine eklenmiştir. Daha sonra bu homojen karışıma yine PHEMA'ya göre kütlece %10, 20 ve 40 (v/w) olacak şekilde HPYE ilave edilip homojen karışımlar elde edilene kadar çözeltiler oda sıcaklığında manyetik karıştırıcı ile ve daha sonra ultrasonik banyoda karıştırılmıştır.

## 2.6. Elektroğirme İşlemi

Elektroğirme prosesinde 0-25 kV arasında voltaj sağlayan yüksek gerilim üretici, şırınga pompası, toplayıcı (alüminyum folyo) kullanılmıştır. Oda sıcaklığında, beş farklı polimer çözeltisi 5 mL'lik şırınga içine çekilmiştir. Şırıngaya kör uçlu 21G yeşil iğne yerleştirilmiştir. Yüksek gerilim üreticisine bağlı pozitif yüklü kısaç şırınga iğnesine, negatif uç ise toplayıcıya bağlanmıştır. Optimum nano/mikro lif üretimi sağlanana kadar akım, polimerin akış hızı ve şırınga-toplayıcı arasındaki mesafe gibi parametreler değiştirilmiştir. Elde edilen lifler; PHMNF (sadece PHEMA), PHM-PMKNF (PHEMA-PMETAK) olarak isimlendirilmiştir. Sırasıyla

%10, %20 ve %40 HPYE ilave edilmiş PHEMA-PMETAK nanolifler ise HP10, HP20 ve HP40 şeklinde kısaltılmıştır.



**Şekil 2.1.** Elektroğirme işlemi

## 2.7. Şişme Kapasitesi Tayini

30 mg ( $W_0$ ) ağırlığındaki beş farklı lif örtü 5 mL fosfat tamponu (0,8 g NaCl, 0,2 KCl, 1,15 g  $Na_2HPO_4$  ve 0,2 g  $KH_2PO_4$  /1L distile su) içerisine atılmıştır. Cam tüplerdeki numuneler, 37 °C'deki su banyosu içine yerleştirilmiştir. Numuneler belirli zaman aralıklarında çıkartılarak, emilen tamponun fazlası her daldırma aralığında filtre kağıdı ile uzaklaştırılıp derhal ıslak ağırlığı ( $W_{tw}$ ) ölçülmüştür. Her ölçümde parçalanma sıvısı 5 mL taze tampon çözeltisi ile değiştirilmiştir.

Dengedeki şişme miktarı (Siafaka vd., 2016) Eşitlik 2.1 ile hesaplanmıştır.

$$\%Şişme\ derecesi = \frac{W_{tw} - W_0}{W_0} \times 100 \quad (2.1)$$

## 2.8. HPLC Analizi

HPLC numuneleri, bazı değişikliklerle Isaachi vd. (2007) tarafından tarif edildiği gibi hazırlanmıştır; PHEMA temelli boş lif ve HP40 liflerden 0,1028 gram

tartılmıştır. Lifler, iki farklı 5 mL'lik balon jodede metanol ile çözülmüştür. Diğer bir balon jojeye 32 µL *H. perforatum* yağı eklenip hacmi metanol ile 5 mL'ye tamamlanmıştır. Her numune analiz öncesi filtrelenmiştir.

35 °C fırın sıcaklığında ODS-4 kolon (250 mm x 4.6 mm I.D., 5µm) kullanılarak kromatografik ayrımlar sağlanmıştır. 40 mM formik asit (suda) (çözelti A) ve asetonitril (çözelti B) mobil fazları kullanılmıştır. Mobil fazlar analizden önce filtrelenmiştir. 1,0 mL/dakika akış hızında ve 20 µL/dakika enjeksiyon hacminde binary gradyan programı uygulanmıştır. Ölçüm, fotodiyot dizisi dedektörü (DAD) kullanılarak 200-650 nm dalga boyu aralığında yapılmıştır. Analiz süresi 75 dakika olarak belirlenmiştir.

**Çizelge 2.1.** HPLC mobil fazları

Zaman (dakika)	40 mM formik asit (suda) %	Asetonitril %
0	90	10
5,00	80	20
20,00	65	35
55,00	10	90
75,00	90	10

## 2.9. Antioksidan Aktivite Tayini

Lif örtülerin DPPH radikal süpürme aktiviteleri bazı değişikliklerle Ghitescu vd. (2015) tarafından tarif edilen yöntemle gerçekleştirilmiştir.

PHMNF, PHM-PMKNF, HP10, HP20 ve HP40 lifleri 10 mg olacak şekilde tartılıp falkon tüplerde 1,430 mL %70'lik etanol içerisinde çözülmüştür. Numuneler vortekslelendikten sonra sonike edilmiştir.

50 µM DPPH çözeltisi saf etanolde hazırlanmıştır. Çözülen numunelerin üzerine 1,430 mL DPPH ilave edilmiştir. Kör olarak kullanılan %70'lik 1,430 mL etanol üzerine 1,430 mL DPPH ilave edilmiştir. Kör ile beraber hazırlanan numuneler alüminyum folyo ile kaplanıp çalkalamalı inkübatörde oda sıcaklığında 2 saat inkübe edilmiştir. Koyu mordan açık sarıya olan renk değişimi 517 nm'de UV spektrofotometresi ile etanol körüne karşı ölçülmüştür. Lif örtülerin %DPPH süpürme aktivitesi aşağıdaki Eşitlik 2.2 ile hesaplanmıştır.

$$\% \text{ DPPH Süpürme Aktivitesi} = \frac{A_B - A_N}{A_B} \times 100 \quad (2.2)$$

$A_B$ ; 517 nm'de boş absorbans (kör) ve  $A_N$ ; 517 nm'de numune absorbanı.

## 2.10. İn Vitro Çalışmalar

### 2.10.1. Antibakteriyel Aktivite

Stok kültürden alınan *S. aureus* (gram-pozitif) ve *E.coli* (gram-negatif) suşları 10 mL'lik Nutrient Broth sıvı besiyerlerinde 24 saat inkübe edilmiştir. Taze hazırlanan Nutrient Broth sıvı besiyeri her erlende 10 mL olacak şekilde paylaştırılıp otoklavlanmıştır. Ağırlıkları yaklaşık 40 mg olan PHM-PMKNF, HP10, HP20 ve HP40 lifleri tartıldıktan sonra UV ışığı altında steril edilmiştir. Her lif örtü *S. aureus* ve *E.coli* suşlarındaki aktiviteleri için steril besiyeri bulunan erlenlere yerleştirilip üzerlerine 20 µL bakteri kültürü ilave edilmiştir. Kontrol grubu için 10 mL besiyerine 20 µL bakteri kültürü eklenmiştir. Erlenler 37 °C'de 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrasında spektrofotometrede 600 nm' de bulanıklık (OD) ölçülmüştür. % İnhibisyon, Eşitlik 2.3 ile hesaplanmıştır.

$$\% \text{ İnhibisyon} = \frac{OD_K - OD_N}{OD_K} \times 100 \quad (2.3)$$

$OD_K$ ; Kontrol optik yoğunluğu,  $OD_N$ ; Numune optik yoğunluğu.



### 2.10.2. Hücre Kültürü

Donmuş haldeki L929 fibroblast hücreleri 37 °C'de kısa sürede çözülmüştür. Steril laminar flow kabin içerisinde çözülen hücreler 15 mL'lik falkon tüpe aktarılmıştır. Falkona 3 mL DMEM/F-12 (%10 FBS, %1 antibiyotik içeren) besiyeri eklenmiştir. Hücrelerin bulunduğu falkon, 2500 rpm'de 2 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj işleminin ardından falkon içerisinde bulunan süpernatant atılıp pellet, besiyeri ile süspansiyon edilerek flaska aktarılmıştır. 37 °C de %5 CO<sub>2</sub> içeren inkübatöre alınan flaskalar, 24 saatte bir kontaminasyon ve hücre çoğalmalarının incelenmesi için kontrol edilmiştir. Hücreler flask yüzeyini tamamen kapladığında kültürler tripsin enzimi ile kaldırılmış ve pasajlanarak yeni flaskalara aktarılmıştır. Flaskalara aktararak çoğaltılan L929 fibroblast hücrelerinin yüzeyleri kaplama oranlarına bakılarak hücrelerin yüzeyden ayrılma işlemi gerçekleştirilmiştir. Hücreleri flasktan kaldırmak için içindeki vasat atılıp 2 mL PBS (1X) ile yıkanmıştır. Ardından 2mL Tripsin-EDTA eklenip 2 dakika boyunca etüvde bekletilmiştir. İnkübasyon işleminden sonra hücrelerin yüzeyden ayrılmaları mikroskop yardımı ile kontrol edildikten sonra taze besiyeri eklenip hücreler falkon tüpe aktarılmıştır. Aktarma işleminden sonra falkon tüpler 2000 rpm'de 2 dakika santrifüj edilmiştir. Yapılan santrifüj işleminin ardından süpernatant kısmı atılarak falkon tüpün en alt kısmında kalan pellet 1mL taze besiyeri (%89 DMEM/F-12, %10 FBS ve %1 Penisilin-Streptomisin) ile süspansiyon edilmiştir. Bu işlemin ardından hücre sayımı hücrelerin tripan mavisi ile boyanmasıyla gerçekleştirilmiştir.

### 2.10.3. Sitotoksikite Testi

Toksikite deneyi için 48 kuyucuklu plakalar kullanılmıştır. Hücre sayımından sonra canlı hücre sayısına göre her kuyucukta  $1 \times 10^4$  hücre olacak şekilde hesaplama yapılmıştır. 48 kuyucuklu plakalarda her kuyucuğa 200 µL hücre koyulup 24 saat süre ile inkübasyona bırakılmıştır. 24 saat sonunda hücrelerin plaka yüzeyine tutunup tutunmadığı kontrol edilmiştir. Kuyucuklardaki besiyeri boşaltılmıştır. Örnekler (PHMNF, PHM-PMKNF, HP10, HP20 ve HP40 nanolifleri) 1 mg/mL olacak şekilde besiyeri içerisinde hazırlanmıştır. Örnekler, 3 tekrarlı olarak yukarıdan aşağı doğru

100, 50, 25 ve 12,5 µg/mL konsantrasyonlarında kuyucuklardaki hücrelerin üzerine eklenmiştir. Kontrol grubuna sadece besiyeri eklenmiştir. Pozitif kontrole ise 50 µL sisplatin eklenmiştir. 24 saat inkübe edilmiştir. 1 mL' de 5 mg olacak şekilde Fenol kırmızı içermeyen DMEM kullanılarak MTT kit ürünü hazırlanmıştır. İnkübasyon sonunda plakalardaki besiyeri boşaltılmıştır. Fenol kırmızı içermeyen DMEM ortamından kuyucuklara 100 µL eklenmiştir. Daha sonra her bir kuyucuğa 10 µL MTT kit ürünü eklenmiştir. 37 °C'de 2-2,5 saat inkübe edildikten sonra vasat atılıp hücrelerin üzerine 100 µL izopropanol eklenmiştir. Hücre yaşayabilirliğinin tespiti için 48 kuyucuklu plakaların absorbans yoğunluk değerleri ELİSA okuyucuda 570 nm'de okunmuştur.



### 3. BULGULAR VE TARTIŞMA

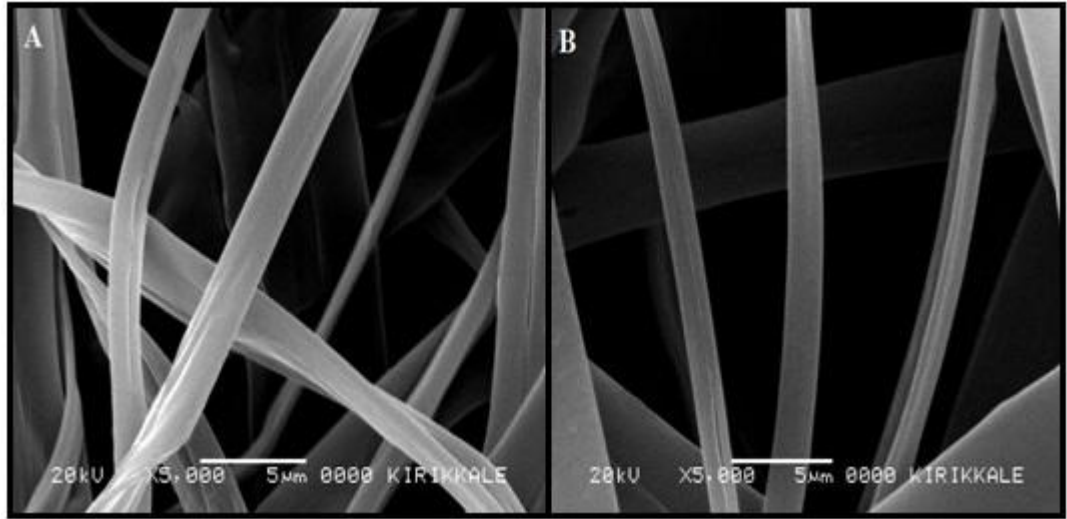
#### 3.1. Nanoliflerin Üretimi Ve Morfolojisi

Sürekli ve homojen lif üretimi için akış hızı, uygulanan voltaj, toplayıcı-iğne arasındaki mesafe ve polimer derişimi optimize edilmeye çalışılmıştır (Çizelge 3.1). Çalışmada formik asit:etanol (v/v=1:1) çözücü sistemi ile hazırlanan PHEMA çözeltisi ile elektroğirme işlemi yapılmıştır. Elektroğirme sonucunda elde edilen tüm lifler düz/şerit yapıda meydana gelmiştir. 10 µL/dakika ve 15 cm mesafede %25'lik (w/v) PHEMA çözeltilerine uygulanan voltajın 15 kV' dan 20 kV'ya çıkarılmasıyla şerit yapıdaki liflerin çapı ve sayısı artmıştır (Şekil 3.1).

**Çizelge 3.1.** Formik asit:etanol (1:1) çözücüsünde hazırlanan %25'lik PHEMA çözeltisinin elektroğirme işlem parametreleri

Voltaj (kV)	Akış Hızı (µL/dak)	Mesafe (cm)
		9
25	10	12
		18
	5	
15	10	15
	15	
	5	
20		15
	10	
	5	
25		15
	10	

Elektroğirme tekniği; tek tip, boncuklu, dallı, gözenekli, çekirdek-kabuk, içi boş ve düz/şerit gibi çeşitli şekil ve dokularda nano boyutlara kadar lifler üretebilir (Matthews vd., 2002; Huang vd., 2004; Ramakrishna vd., 2005; Khorshidi vd., 2016). Elektroğirme işleminde seçilen işlem parametreleri, uygun derişimde hazırlanan polimer çözeltilerinin lif morfolojilerini büyük ölçüde etkiler. Çözücünün buharlaştırılmasıyla oluşturulan lifin kesit şekli, çözücü moleküllerinin jetin kurutma yüzeyi boyunca taşınmasına dayanmaktadır. Jetin dairesel kesiti, çoğunlukla homojen olarak daralır ve dairesel bir kesite sahip lif oluşturur. Diğer uçta, jet üzerinde mekanik olarak kuvvetli bir kabuk oluşur fakat kalan çözücüler, kabuk boyunca yayılmadan önce kabuk katılaşıır. Buharlaşma ilerledikçe kabuk, içi boş bir tüp olarak kalır ve düz bir şeride veya diğer yapılara dönüşür.



**Şekil 3.1.** Formik asit:etanol (1:1)'de %25'lik (w/v) PHEMA lifler (A) 20 kV, 15 cm, 10 µL/dak, (B) 15 kV, 15 cm, 10 µL/dak

Topuz ve Uyar (2017) yaptıkları çalışmada elektroğirme işlem parametrelerindeki ve jelatin derişimindeki değişikliklerle jelatin liflerin düz/şerit benzeri morfolojilerini incelemişlerdir. Özellikle, uygulanan voltajdaki ve jelatin derişimindeki değişiklikler, lif şeklinin yuvarlaktan düz/şeride geçişine neden olmuştur. Düz şekilli liflerin oluşumu, uygulanan voltaj ve jelatin derişiminin artırılarak çözücünün (formik asit) lif matrisinden hızlı bir şekilde buharlaşmasına bağlanmıştır. Uygulanan

voltajın 10 kV'dan 20 kV'ya yükseltilmesiyle, yuvarlaktan şeride açık bir şekil geçişi gözlenmiştir. Diğer yandan, akış hızındaki değişiklikler liflerde bu tür morfolojik değişikliklere neden olmamıştır. Bu anlamda, formik asidin yüksek iletkenliği, elektroğirme sırasında jelatin çözeltilerinden düz şekilli liflerin oluşumuna neden olmuştur.

Benzer şekilde, yassı şekilli Naylon-11 liflerin formik asit içerisinde hazırlanan polimer çözeltisinin 20 kV voltajda elektroğirilmesi ile oluştuğu rapor edilmiştir (Dhanalakshmi ve Jog, 2008).

Polimer derişimi, çözeltilerin iletkenliği ve çözücü buharlaşması gibi çeşitli parametreler bu tür lif yapılarının oluşumunda rol oynar. Çözücünün lif matrisinden sabit bir şekilde buharlaşmasıyla dairesel kesitli lifler üretilebilir. Başlangıçta, formik asit:etanol ikilisi PHEMA'nın elektroğirilmesi için ideal bir çözücü olarak kabul edilmiştir. Ancak şerit liflerin oluşumundan dolayı ve etanol:su sisteminin formik asit:etanol ikilisine göre daha az toksik olacağı düşüncesiyle etanol:su çözücüsü tercih edilmiştir.

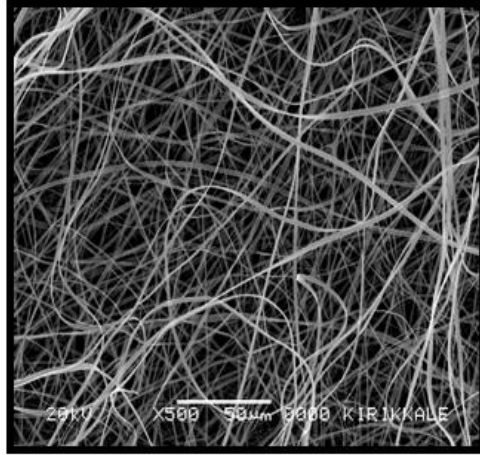
Etanol:su (v/v=4:1) çözücüsünde PHEMA çözeltisi ile elektroğirme işlemi yapılmıştır. Çeşitli işlem parametrelerinin birbiri arasında kombinasyonu yapılarak işlem parametreleri optimize edilmiştir (Çizelge 3.2). Sürekli ve homojen lif üretimi için optimize edilen akış hızı, voltaj ve mesafe sonraki çalışmalar için seçilmiştir.

Bu çalışmada, elektroğirme düzeneği kullanarak %10, 20 ve 40 (v/w) oranlarında HPYE ve %10 (w/w) PMETAK içeren PHEMA nanolifler 8 µL/dak akış hızı ile 15 kV voltaj uygulanarak 17 cm mesafedeki toplayıcı üzerinde üretilmiştir.

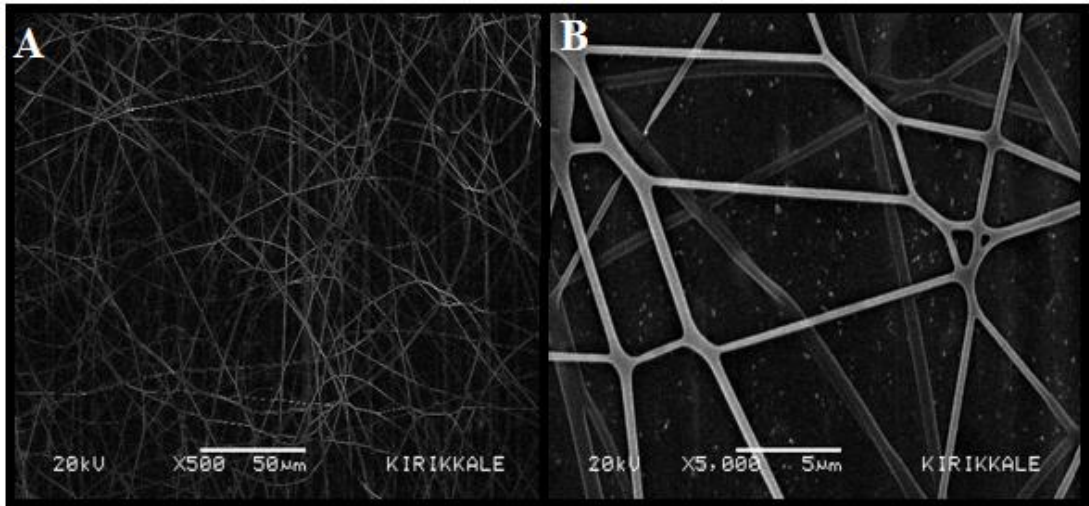
**Çizelge 3.2.** Etanol:su (4:1) çözücüsünde hazırlanan %10'luk (w/v) PHEMA çözeltilisinin elektroğirme işlem parametreleri

<b>Voltaj (kV)</b>	<b>Akış Hızı (<math>\mu</math>L/dak)</b>	<b>Mesafe (cm)</b>
15		
20	6	17
25		
15		
20	8	17
25		
15		
20	10	17
25		
15	6	20
15	8	20
15	10	20
20	8	23
20	8	26
15	8	23
15	8	26

Şekil 3.2'de PHMNF örtüsünün 500 büyütme ve Şekil 3.3'de PHM-PMKNF yara örtüsünün 500 büyütme (A) ve 5000 büyütme (B) SEM fotoğrafları verilmiştir. PHEMA çözeltilisinden optimize edilen şartlarda homojen dağılımlı tek tip dairesel kesitli lifler elde edilmiştir. Ancak çözeltiliye PMETAK polimerinin ilavesiyle PMETAK'daki amonyum grubunun su (çözücü) ile yaptığı güçlü hidrojen bağları sonucu çözücü buharlaşamayıp lifler birbirine yapışarak dallı yapılar oluşmuştur.



**Şekil 3.2.** PHMNF yara örtüsünün SEM fotoğrafı



**Şekil 3.3.** PHM-PMKNF yara örtüsünün 500 büyütmeli (A) ve 5000 büyütmeli (B) SEM fotoğrafları

Çözücü buharlaşma hızı düştüğünde, aşırı çözücü liflerin temas ettikleri yerde birleşerek, tabakalar arası ve tabaka içi bağlanma ile sonuçlanan birleşmeler oluşturmuştur. Bu durum, Sarhan vd. (2016a)'nin yaptıkları çalışmada toplanan nanolifli örtünün yoğunluğu göz önüne alınarak, yara iyileşmesi ve doku mühendisliği gibi hücre ile ilgili uygulamalarda daha faydalı olduğu kanıtlanan daha büyük interfiber boşluklarla sonuçlanmıştır.

Dallanmış lifler, birincil jetlerin yüzeyinden daha küçük jetlerin püskürtülmesiyle oluşturulur. Küçük bir jetin birincil jetin yüzeyinden püskürtülmesi, bir jetin yüklü bir damlacık yüzeyinden çıkışına benzemektedir. Bölünmüş lifler, birincil jetin iki küçük jete ayrılmasıyla oluşturulur. Dalların oluşumu, daha konsantre ve viskoz çözeltilerde tek bir jet üretmek için gereken minimum alandan daha yüksek elektrik alanlarında daha sık gözlenmektedir (Yarin vd., 2005).

Koombhongse vd. (2001) HEMA'nın (50:50 etanol ve formik asit karışımında % 20'lik (w/v) HEMA'dan düz bir jet ve 50:50 etanol ve formik asit karışımında %12'lik (w/v) HEMA'dan bükülme jeti) elektroğirilmiş liflerinde, birincil jet yüzeyinden daha küçük jetin püskürtülmesinden kaynaklanan dallı ve ayrık jetleri göstermişlerdir. İkincil jetlerin kaynaklandığı konilerin eksenleri, birincil jet eksenine göre 90° ye yakın bir açıda meydana gelmiştir.

Wang vd. (2010) Polietilenimin (PEI)/Polivinil alkol (PVA) nanolifli membranları elektroğirme tekniği ile üretmişlerdir. Yüksek miktardaki PEI'nın amin grupları ve çözücü (su) arasındaki güçlü hidrojen bağları nedeniyle, çözücü buharlaşmayıp lifler birbirine yapışarak gözenekliliği azalan düz bir membran oluşturmuştur. Kalan çözücüler, temas kurucu ağları oluştururken liflerin birbirine kaynaşmasına neden olabilir.

Elde edilen liflerin ortalama çapları ve standart sapmaları Çizelge 3.3'te verilmiştir.

PHEMA'ya bir dördüncül amonyum tuzu olan PMETAK'ın eklenmesiyle lif çapları 1,1586 µm'den 344,1 nm'ye düşmüştür. Çözelti iletkenliği arttıkça, lif çapı azalabilmektedir. Çözelti iletkenliği çözücüye, polimer tipine ve iyonlaştırılabilir grupların varlığına bağlıdır. PMETAK üzerindeki iyonlaşabilen dördüncül amonyum tuzunun varlığı polimer çözeltisini oldukça iyonik hale getirmiştir. İyonik şiddetin artışı çözelti iletkenliğinin artışına bunun da daha ince liflerin oluşumuna sebep olduğu düşünülmektedir.

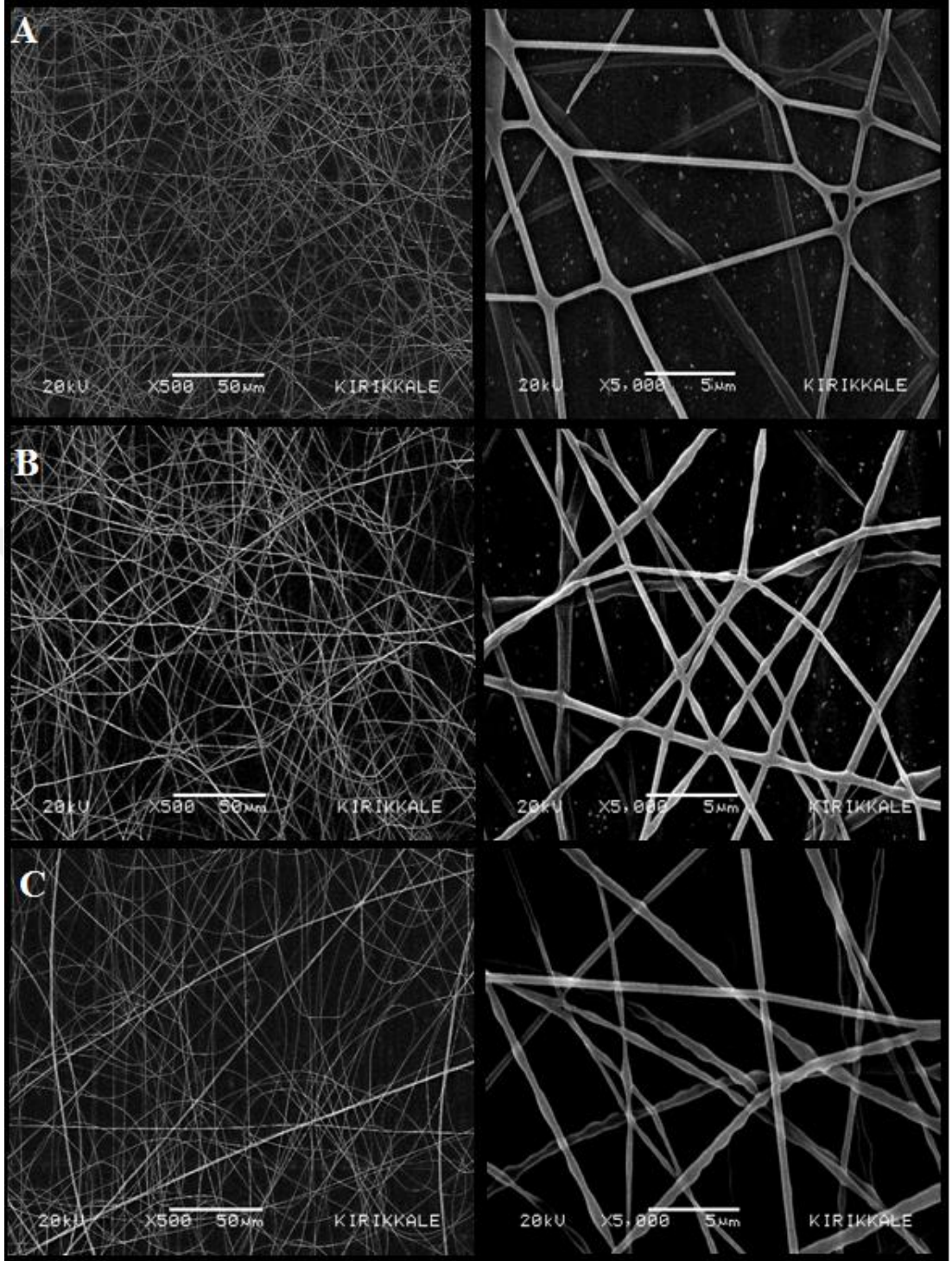


**Çizelge 3.3.** Elde edilen liflerin ortalama çapları

Üretilen Nano/Mikro Lif Örtüler	Ortalama Lif Çapları (nm)
PHMNF	1158,6±142,7
PHM-PMKNF	344,1±20,5
HP10	357,8±27,4
HP20	360,1±33,6
HP40	379,8±36,2

HPYE yüklenmiş PHM-PMKNF örtülerinin 500 ve 5000 büyütme SEM görüntüleri ise Şekil 3.4'te verilmiştir.

Şekil 3.4 incelendiğinde PHEMA-PMETAK çözeltilerine %10, 20 ve 40 (v/w) oranlarında HPYE ilavesi lif çaplarını etkilemiştir. Yağ miktarı arttıkça bu lif çaplarının artışına sebep olmuştur.



**Şekil 3.4.** HP10 (A), HP20 (B) ve HP40 (C) liflerinin SEM fotoğrafları

Pourhojat vd. (2017) polikaprolakton nanoliflerine *Hypericum perforatum*'un alkolik ekstraktını (%10, 30 ve 50 v/v) ilave etmişlerdir. Bitki ekstraktı içermeyen ve ortalama çapı 245 nm olan nanolifler tekil, tek biçimli ve rastgele yönlendirilmiş

lifler olarak tanımlanmıştır. *Hyericum perforatum* özütünün eklenmesi lif çaplarını çarpıcı bir şekilde etkilemiştir. *Hyericum perforatum* ilavesinden sonra ortalama lif çapları 400 nm'ye kadar çıkmıştır. Lif çaplarındaki bu artışın çözücü buharlaşma hızını azaltan özüt ilavesinden kaynaklandığı belirtilmiştir.

Kim vd. (2014) yara örtüsü olarak kullanılmak üzere nanolifli membranlar üretmek için propolis özütü (ağırlıkça %5, 10 ve 30) ve %10'luk (w/v) poliüretan (PU) karışımı hazırlamışlardır. Sadece PU ve sırasıyla %5, 10 ve 30 propolis ilavesi ile ortalama lif çaplarının 204,4, 321,4, 377,2 ve 556,6 nm olduğunu belirlemişlerdir.

Sarhan vd. (2016b) balın antibakteriyel ve yara iyileştirici aktivitesini, balı Polivinil alkol/kitosan nanoliflerine dahil ederek incelemişlerdir. Elde edilen sonuçlarla, daha yüksek bal içeriğinin (%10, 20 ve 30), artan çaplarda (sırasıyla 284±97 nm, 371±110 nm ve 464±185 nm) lif oluşumuna sebep olduğu gösterilmiştir.

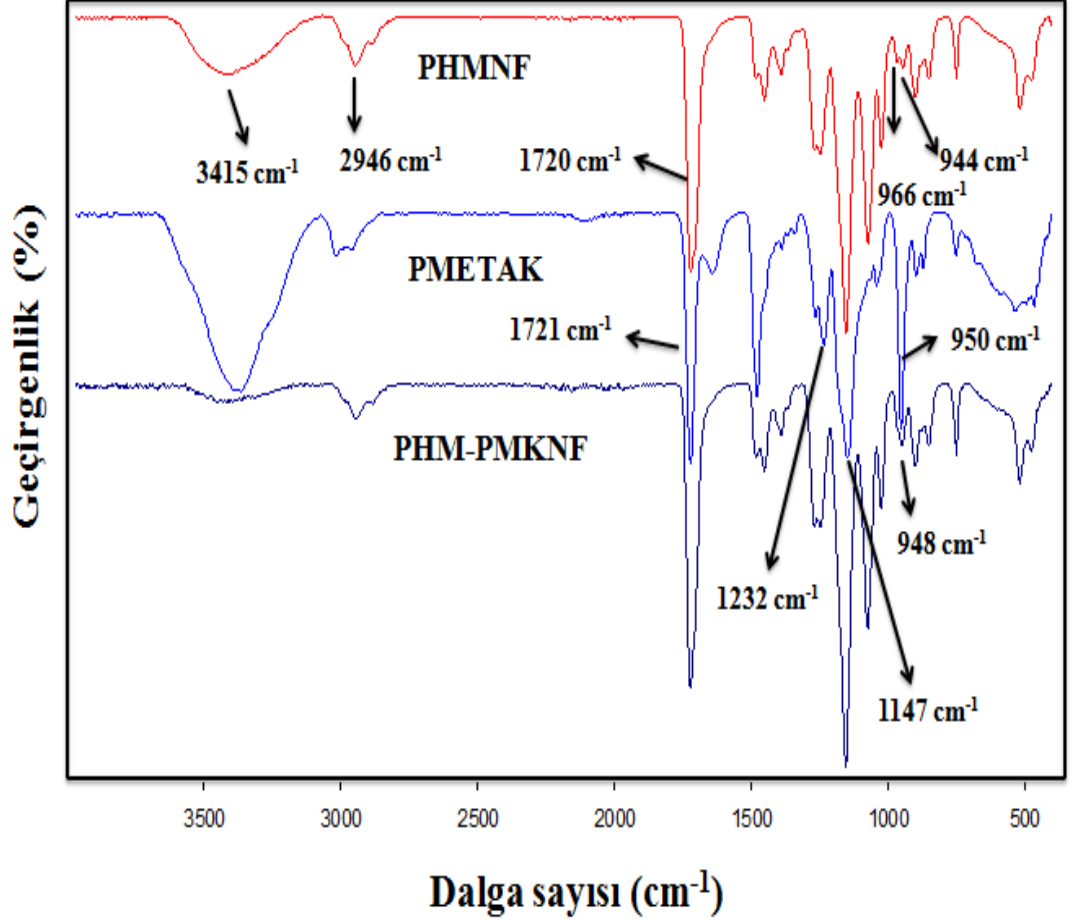
### 3.2. FTIR Analizi

Yara örtülerinin kimyasal bileşimini değerlendirmek ve yapısal değişikliklerini saptamak için FTIR spektrumları incelenmiştir.

Şekil 3.5'de PHMNF, PMETAK ve PHM-PMKNF liflerinin FTIR spektrumları görülmektedir. PHMNF yara örtüsünün FTIR spektrumu incelendiği zaman karakteristik olarak O-H gerilme titreşimi 3415 cm<sup>-1</sup>, alifatik -CH<sub>2</sub>-, C-H ve -CH<sub>3</sub> gruplarının gerilimine karşılık gelen zayıf bir omuza sahip absorpsiyon bantı 2946 cm<sup>-1</sup> ve ester grubunun C=O gerilme titreşimi 1720 cm<sup>-1</sup> civarında gözlenmiştir (Hu vd., 2014). Saf PMETAK'ın FTIR bantları ise dördüncül azot grubu 950 cm<sup>-1</sup>, metakriloksi grubu 1721 cm<sup>-1</sup>, C-O asimetrik gerilmesi 1147 cm<sup>-1</sup>, C-N gerilmesi 1232 cm<sup>-1</sup> civarında gözlenmiştir (Goel vd., 2009; Kim vd., 2019).

HEMA ve METAK'ın ana kimyasal yapıları HEMA'daki -OH ve METAK'daki - (CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>Cl grupları hariç aynıdır. Bu nedenle PHMNF ve PHM-PMKNF örtülerinin FTIR spektrumlarının hemen hemen aynı çıktığı gözlenmiştir. Normalde PHMNF spektrumunda ikiye yarılmış halde 944 ve 966 cm<sup>-1</sup>'de gözlenen pikin PHM-PMKNF

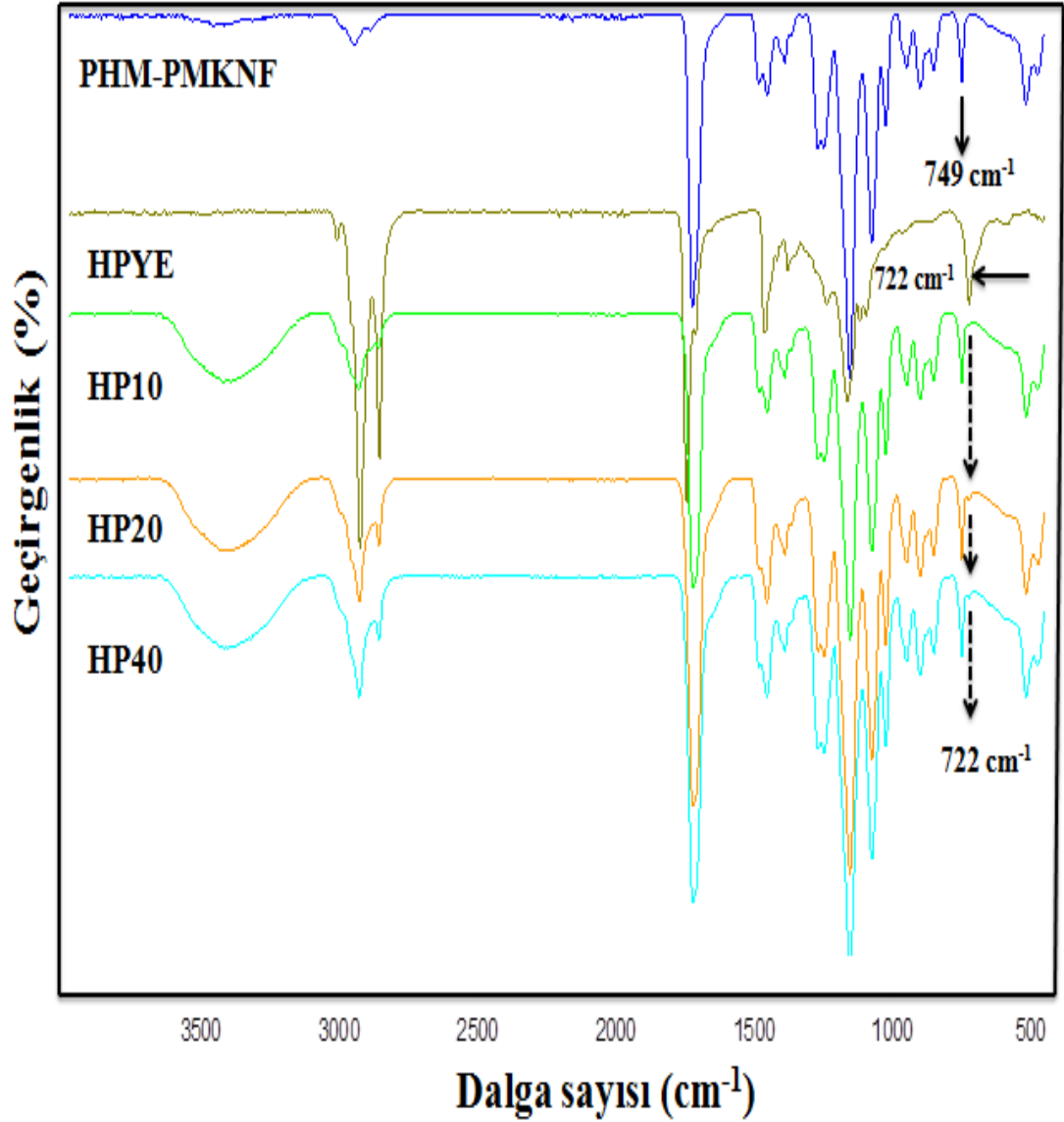
yara örtülerinin spektrumunda  $948\text{ cm}^{-1}$ 'de daha şiddetli bir pik şeklinde yarılmadan sadece  $970\text{ cm}^{-1}$  civarında omuz vererek çıktığı belirlenmiştir. Buda PMETAK'ın lif yapısına girdiğinin bir kanıtı olarak gösterilebilir.



Şekil 3.5. PHMNF, PMETAK ve PHM-PMKNF liflerinin FTIR spektrumları

Şekil 3.6'da ise PHM-PMKNF, HPYE yüklenmiş liflerin ve sadece HPYE'nin FTIR spektrumları görülmektedir. Buradaki amacımız HPYE'nin lifler içine hapsedildiğini kanıtlamaktır. HPYE'nin FTIR spektrumu incelendiği zaman  $722\text{ cm}^{-1}$  civarındaki bant doymamış yağ asidinin C-H gerilmesine atfedilebilir (Beşen vd., 2017). HP20 ve HP40 liflerinin spektrumlarına bakıldığında ekstrakt içermeyen liflerden tek farkının  $722\text{ cm}^{-1}$  civarındaki C-H gerilme titreşimi olduğu gözlenmiştir. PHM-

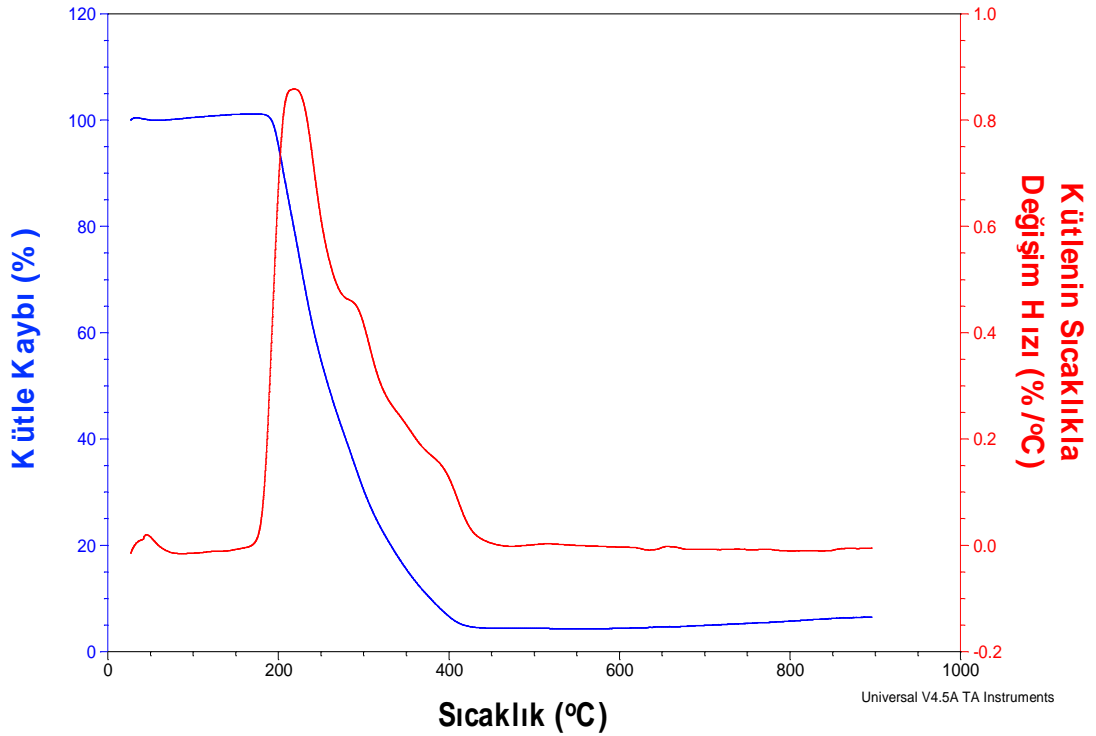
PMKNF örtülerde  $3433\text{ cm}^{-1}$  civarında görülen pik O-H gerilme titreşimini gösterirken HPYE yüklü liflerde bu pik  $3410\text{ cm}^{-1}$  civarına kaymıştır. Bunun lifler üzerindeki hidroksil grupları ile HPYE'nin etkileşiminden kaynaklandığı düşünülmektedir. FTIR spektrumlarından elde edilen sonuçlar HPYE'nin liflerdeki varlığını doğrulamıştır.



Şekil 3.6. PHM-PMKNF, HP10, HP20, HP40 ve HPYE'nin FTIR spektrumları

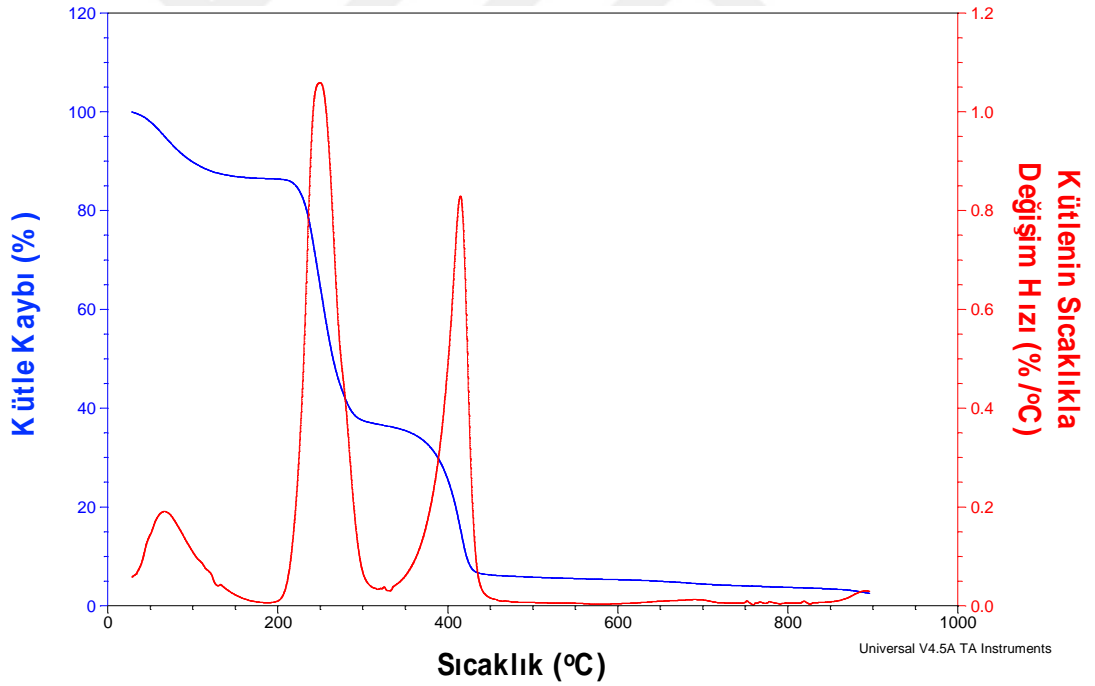
### 3.3. Termogravimetrik Analiz

PHEMA numunesine ait Şekil 3.7'deki TGA termogramı incelendiğinde bozulma 3 basamakta gerçekleşmiştir. İlk basamak 175–275 °C arasında ( $t_{max}=218$  °C) gerçekleşmiş olup burada polimer kütlesinin yaklaşık %32,5'ini kaybetmiştir. Bu kütle kaybının hidroksil ve ester gruplarının parçalanarak yapıdan ayrılmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. İkinci basamakta 275–320 °C ( $t_{max}=291$  °C) aralığında polimer kütlesinin %15'ini kaybetmektedir. Bu kütle kaybının yapıdaki karboksil gruplarından ve polimer zincirlerinin kırılması nedeniyle gerçekleştiğine inanılmaktadır. Bozulmanın son basamağı ise 320–420 °C aralıklarında gerçekleşmiş ve maksimum bozulma sıcaklığının 394 °C olduğu tespit edilmiştir. Bu basamakta polimer zincirlerinin kırılması nedeniyle polimerin kütlesinin %47,5'ini kaybettiği görülmektedir (Nahid vd., 2016).



Şekil 3.7. PHMNF'nin TGA ve DTGA termogramı

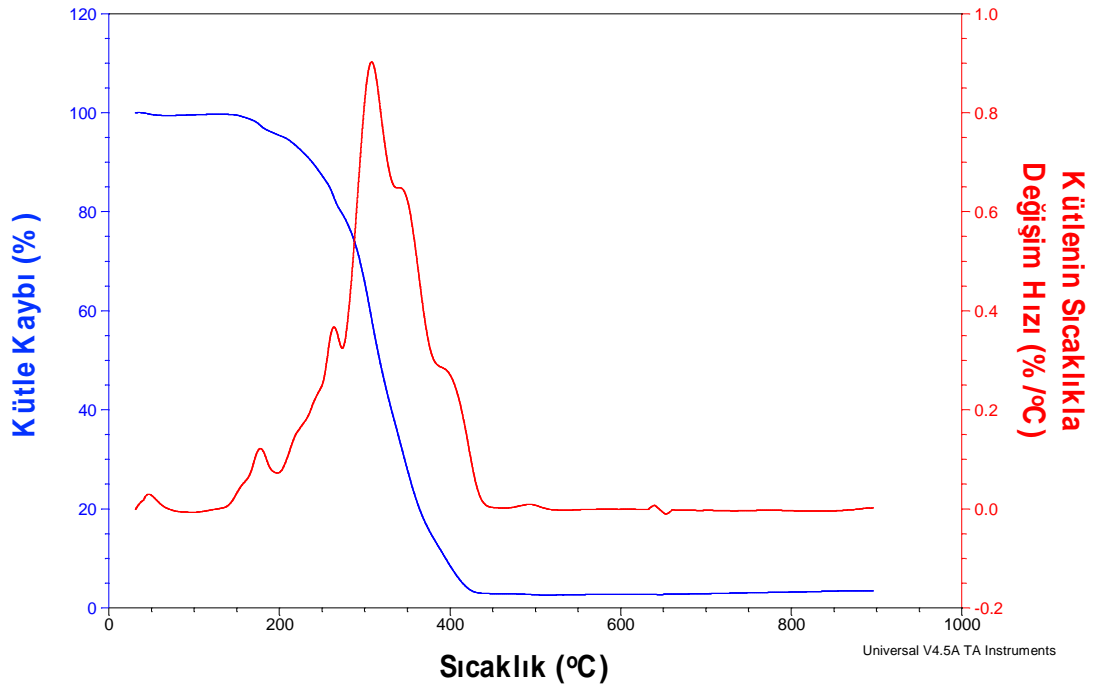
PMETAK numunesine ait Şekil 3.8'deki TGA termogramı incelendiğinde bozulma 5 basamakta gerçekleşmiştir. İlk basamak 25–110 °C arasında ( $t_{max}=66$  °C) gerçekleşmiş olup burada kütesinin yaklaşık %10'unu kaybetmiştir. Bu kütle kaybının yapıdaki suyun uzaklaşmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. İkinci ve üçüncü basamak 110–190 °C ( $t_{max}=176$  °C) ve 190–300 °C ( $t_{max}=249$  °C) aralığında polimer sırasıyla kütesinin %3'ünü ve %46,7'sini kaybetmektedir. Bu kütle kayıplarının dördüncül amonyum gruplarının parçalanması ve polimer zincirlerinin kırılması nedeniyle gerçekleştiği ve kütle kaybının en çok bu aşamada olduğu görülmektedir. Bozulmanın son iki basamağı ise 300–380 ve 380–435 °C aralıklarında gerçekleşmiş ve maksimum bozulma sıcaklıklarının sırasıyla 340 ve 414 °C olduğu tespit edilmiştir. Bu basamaklar da polimer zincirlerinin kırılması nedeniyle polimerin kütesinin sırasıyla %8,5'ini ve %25'ini kaybettiği görülmektedir (Dizman vd., 2006a, 2006b).



**Şekil 3.8.** PMETAK'ın TGA ve DTGA termogramı

PHM–PMKNF numunesine ait Şekil 3.9'daki TGA termogramı incelendiğinde bozulma 6 basamakta gerçekleşmiştir. Burada bozulmaların 3 basamağının

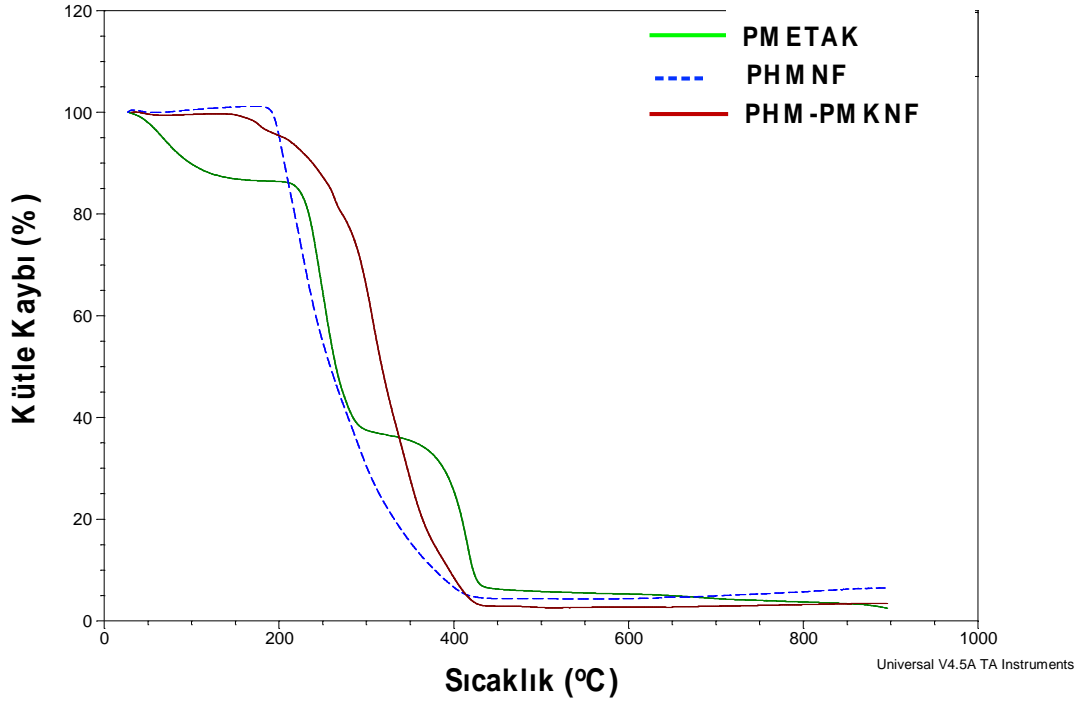
PHEMA'dan, 3 basamağının ise PMETAK'tan kaynaklandığı düşünülmüştür. PMETAK'ın parçalanmasına ait 160–200 °C arasında %2,5 ( $t_{max}=177$  °C), 250–280 °C arasında %12 ( $t_{max}=263$  °C) ve 330–370 °C arasında %25 ( $t_{max}=343$  °C) kütle kayıpları görülmektedir. Buna karşılık PHEMA'nın parçalanmasına ait 200–250 °C arasında %7,5 ( $t_{max}=225$  °C), 280–330 °C arasında %33 ( $t_{max}=307$  °C) ve 370–425 °C arasında %17,5 ( $t_{max}=395$  °C) kütle kayıpları görülmektedir. Tabiki 370–425 °C aralığındaki kütle kaybı yalnızca PHEMA'dan kaynaklanmamaktadır, burada PMETAK zincirlerinin parçalanması da meydana gelmektedir.



**Şekil 3.9.** PHM-PMKNF'nin TGA ve DTGA termogramı

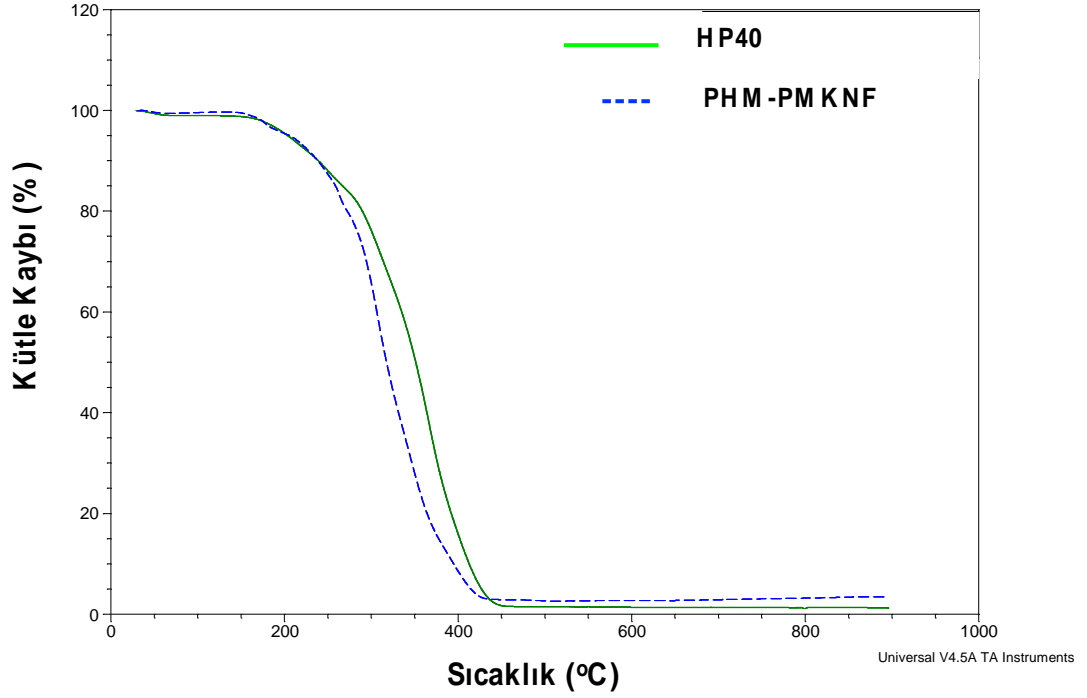
PHMNF, PMETAK ve PHM-PMKNF liflerinin karşılaştırmalı termogramları Şekil 3.10'da verilmiştir.





**Şekil 3.10.** PHMNF, PMETAK ve PHM-PMKNF liflerinin karşılaştırmalı TGA termogramları

Şekil 3.11'de HP40 ve PHM-PMKNF yara örtülerine ait TGA termogramları verilmiştir. 275 °C'ye kadar HP40 ve PHM-PMKNF aynı termal davranışı göstermişlerdir. Bununla birlikte 275 °C'den sonra HP40'ın termal kararlılığının daha yüksek olduğu termogramdan açıkça görülmektedir. Fakat her iki lifinde yaklaşık 430 °C'de sadece kütlelerinin %5'inin kaldığı belirlenmiştir. HP40'ın termal dayanıklılığının HPYE içinde bulunan zeytinyağından dolayı arttığı düşünülmektedir. HP40 lifler içinde kütlece %40 oranında HPYE bulunmaktadır. HPYE'nin içinde biyoaktif moleküllerin miktarı çok kısıtlı iken bunun büyük bir kısmını da zeytinyağı oluşturmaktadır. Zeytinyağının 275–430 °C aralığında termal dayanımının liflere göre biraz daha yüksek olması nedeniyle HP40 liflerin bozunma sıcaklığının bir miktar arttığı belirlenmiştir (Balasubramanian ve Kodam, 2014).



**Şekil 3.11.** HP40 ve PHM-PMKNF'nin TGA termogramları

### 3.4. Elemental Analiz

Liflerin elemental analizi PMETAK'ın liflerin yapısına girdiğini kanıtlamak için yapılmıştır. Veriler Çizelge 3.4'de verilmiştir. PHMNF'de azot bulunmazken, PHM-PMKNF'deki deneysel azot içeriği %0.61 olarak bulunmuştur. PHM-PMKNF yara örtüsündeki azot içeriği teorik olarak aşağıdaki gibi hesaplanabilir;

1 g PHEMA-PMETAK lifi için; PMETAK, PHEMA'nın kütlece %10'u kadar liflere dahil edilmiştir. 1 g lifte 0,1 g PMETAK vardır.

METAK'ın molekül ağırlığı 207,70 g/mol'dür. 1 tane METAK molekülünde kütlece %6 oranında azot vardır. 0,1 g PMETAK da ise 0,006 g azot atomu bulunmaktadır. 1 g lifteki azot 0,006 g ise 100 g lifte teorik olarak azot miktarının 0,6 g olması gerekmektedir. Teorik olarak hesaplanan değer elde edilen sonuçlarla çok iyi uyum içinde çıkmıştır.

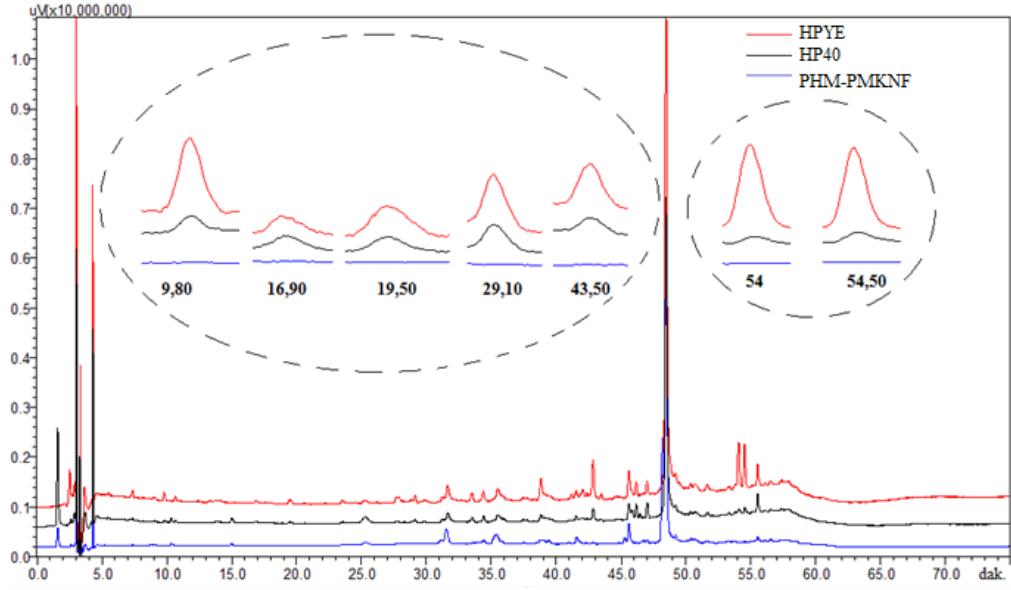
**Çizelge 3.4.** Elemental analiz verileri

<b>Örnek</b>	<b>%C</b>	<b>%H</b>	<b>%N</b>
PHMNF	53,77	7,99	-
PHM-PMKNF	52,91	8,11	0,61

### **3.5. HPLC Analizi**

Elde edilen liflerdeki HPYE bileşenlerinin varlığını göstermek için HPLC analizi yapılmıştır. Yapılan analizde HPYE içindeki bileşenler, standart kimyasalların kullanımı ile tanımlanmamıştır. Bu çalışma ile sadece HPYE, PHM-PMKNF ve HP40 örnekleri uygun yöntem ile hazırlandıktan sonra HP40 liflerindeki HPYE içindeki bileşenlerinin varlığı gösterilmiştir.

Analiz sonucunda, 270 nm dalga boyunda PHM-PMKNF lifinde bulunmayan yalnızca HPYE ve HP40 lifinde bulunan 9,80, 16,90 19,50, 29,10 43,50, 54,00 ve 54,50 dakika alıkonma zamanlarında 7 tane pik elde edilmiştir. Kromotogramlar (Şekil 3.12), PHEMA temelli liflere hapsedilen HPYE'nin aktif bileşenlerinin varlığını doğrulamıştır.



**Şekil 3.12.** HPYE, PHM-PMKNF ve HP40'ın HPLC kromotogramları

Brolis vd. (1998) RP-18 kolonu ve su-metanol-asetonitril-fosforik asit mobil faz sistemi kullanarak *Hypericum perforatum* alkolik ekstraktları bileşenlerinin tanımlanması için HPLC yöntemi geliştirmişlerdir. Klorojenik asit, kuersetin, kuersitrin, izokuersitrin, rutin, hiperozit, I<sub>3</sub>,II8-biapigenin, psödohiperisin, hiperisin, hiperforin ve adhiperforin 50 dakika içinde 270 nm dalga boyunda HPLC-DAD ile analiz edilmiştir.

Başka bir çalışmada ana aktif bileşiklerin, naftodiantronların ve floroglusinollerin hızlı bir şekilde belirlenmesi için bir HPLC-DAD yöntemi ile 12 dakika içinde hiperisin, protohiperisin, psödohiperisin, protopsödohiperisin, hiperforin ve adhiperforin tayin edilmiştir. Düşük kantitatif tayin seviyeleri, hiperforin için 2 µg/mL ve hiperisin için 0,5 µg/mL'iken, dedeksiyon sınırları sırasıyla 0,1 ve 0,02 µg/mL bulunmuştur (Tolonen vd., 2003).

Başka bir çalışmada floroglusinol türevlerinin en yüksek derişimini ve stabilitesini elde etmek için *Hypericum perforatum* yağlarına farklı hazırlama teknikleri uygulanmış, süre ve sıcaklık gibi çeşitli parametrelerin modifikasyonları ile elde edilen beş yağ örneği HPLC-MS analizinden önce 10 mL kloroform:metanol (v/v=4:6) ile ekstrakte edilmiştir. Yapılan çalışma ile yağlarda sadece I<sub>3</sub>,II8-

biapigenin, hiperforin, adhiperforin ve furohiperforin içeriği analiz edilmiştir. (Isaachi vd., 2007).

Orhan vd. (2013) metanol ile ekstrakte edilen *Hypericum perforatum* yağ örneklerini Eclipse XDB-C18 kolonu kullanarak asetonitril ve formik asit (suda) mobil fazları ile lineer gradyanda analiz etmişlerdir. Ölçüm DAD dedektörü kullanılarak 270 nm'de yapılmıştır. Tüm yağ örneklerinin çeşitli miktarlarda hiperisin, psödohiperisin, hiperforin, adhiperforin ve flavonoidler gibi biyoaktif bileşenleri içerdiği bulunmuştur.

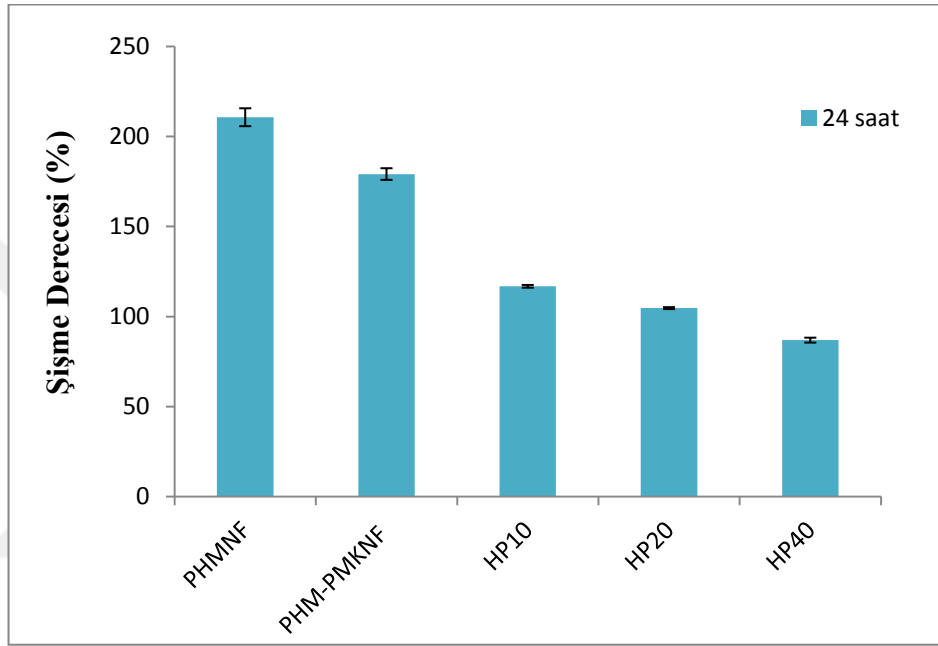
HPLC analizinde yapılan çalışmalarla elde edilen sonuçlara göre, uygulanan metot ve numune hazırlama şartları çok önemlidir. Yapılan bu değişiklikler ile bileşenlerin alıkonma zamanları arasında farklılıklar çıkabilmektedir. Toplanan bitkinin yaş ya da kuru olması, özütün bitkinin hangi kısmından hazırlandığı elde edilen yağlardaki aktif bileşen içeriğini değiştirmektedir. Doğru bir şekilde tanımlanmış bir *H. perforatum* örneğinin kullanılmasıyla, geleneksel yolla zeytinyağında hazırlanan HPYE'den biyoaktif bileşenler elde edilebilmektedir.

### 3.6. Şişme Kapasitesi Tayini

Şişme çalışmaları fizyolojik koşulları simüle eden pH 7,4 fosfat tamponu içinde ve 37 °C'de yapılmıştır. Şişme özelliği, yara örtülerinde yara sıvılarının ve yaradan sızan akıntıların emilmesinde rol oynar. PHEMA temelli liflerin şişme özelliği yara iyileşmesinde ve deri rejenerasyonunda yara bölgesinin akıntıları ve nem ortamı için önemli bir özelliktir. Bir yara örtüsü için istenen şişme derecesi esas olarak yaranın tipine bağlıdır (Kokabi vd., 2007). Liflerin şişmesi su difüzyonu, hidrojen ve iyonik bağların ayrışması ve amino veya karboksil gruplarının iyonlaşması ile ilgilidir (Mathew vd., 2006).

PHEMA temelli liflerin şişme dereceleri Şekil 3.13'de verilmiştir. En yüksek şişme derecesine % 210,66 ile PHMNF sahipken en düşük şişme derecesine %86,88 ile HP40 lifleri sahip olmuştur. Sonuçlar, PHM-PMKNF yara örtülerinin PHMNF örtülere göre daha az şiştiğini göstermiştir. Bunun PMETAK'ın pozitif yüklü olması

ve pH 7,4'te ortam negatif yüklü olacağı için elektrostatik çekme kuvvetlerinden kaynaklanabileceği düşünülmüştür. HPYE yüklü liflerin şişmesinin azalmasının ekstraktın hazırlandığı zeytinyağından kaynaklandığına inanılmaktadır. Çünkü yağ fazı hidrofobik olduğundan dolayı suyun liflerin içine difüzyonunu azaltıcı etki yapacaktır. Zaten liflerde bulunan yağ içeriğinin artışı ile şişme derecesinin azalmasıda bunu kanıtlamaktadır.



Şekil 3.13. PHEMA temelli liflerin % şişme dereceleri

### 3.7. Antioksidan Aktivite Tayini

Elde edilen lif örtülerin antioksidan aktiviteleri %DPPH süpürme kapasiteleri ile değerlendirilmiştir. 517 nm'de maksimum absorpsiyona sahip DPPH, bir antioksidan tarafından kolayca temizlenebilen bir radikaldir (Lu ve Yeap Foo, 2001).

Reaktif oksijen türleri (ROS) aerobik hücrelerin metabolizmasında normal olarak meydana gelen birçok redoks işlemi ile üretilir. Bu türler oldukça reaktif ve hücelere zararlıdır. Yok edilmezlerse protein, DNA ve lipid gibi önemli moleküllere zarar verebilirler. Serbest radikaller yara alanında doku hasarına neden olarak iyileşme

sürecini bozabilmektedirler. Özellikle O<sup>-</sup> anyonu ve OH radikalleri kollajendeki prolin ve hidroksprolini parçalayarak fibroblastların proliferasyonunu, adezyonunu ve canlılığını değiştirebilirler. Ayrıca hidrojen peroksit bir taraftan keratinositlerin göçünü engellerken diğer taraftan epidermal büyüme faktörü (EGF) sinyal iletişimini engelleyerek fibroblastlarda ciddi hasarlara neden olur (Yager vd., 2007).

Bir bitki ekstraktının antioksidan aktivitesinin fenolik içeriği ile ilişkili olduğu yaygın olarak kabul edilmektedir (Elmastas vd., 2006). Aslında, fenolik bileşiklerin radikal temizleyici aktiviteleri, benzen halkasına bağlı hidroksil grubu sayısına bağlıdır. Bu bileşiklerin antioksidan aktivitesi esas olarak indirgen ajanlar, hidrojen vericiler ve metal şelatlama kapasitelerine sahip tekli oksijen söndürücüler olarak hareket etmelerini sağlayan redoks özelliklerinden kaynaklanmaktadır (Kahkonen vd., 1999; Eghdami ve Sadeghi, 2010). *H. perforatum* özütlerinin antioksidan aktivitesi, birkaç ROS'u temizleyebilen birçok bileşiğin içeriğinden kaynaklanmıştır. Bu özellik cilt yaraları, egzama ve iltihaplanma gibi oksidatif stres içeren çeşitli patolojik hastalıkların popüler kullanımlarını açıklar. Deneysel modeller üzerinde yapılan çeşitli çalışmalar ile *H. perforatum*'un antiinflamatuvar aktiviteye ve serbest radikal temizleme yeteneğine sahip olduğu bildirilmiştir (Casrto vd., 2012; Kıyan vd., 2015). *H. perforatum*'un özütlerinin içeriğinde birkaç antioksidan bileşik tanımlanmıştır: hiperozit (Gioti vd., 2009), rutin (Nöldner ve Schötz, 2002), I<sub>3</sub>,II8-biapigenin (Colovic ve Caccia, 2008), kateşin (Ploss vd., 2001) ve klorojenik asit (Gioti vd., 2009; Tusevski vd., 2013). Bununla birlikte, *Hypericum perforatum*'un antioksidan özellikleri toplandığı bölgeye bağlı olarak büyük ölçüde farklılık göstermektedir (Marrelli vd., 2014). *H. perforatum*'un toprak üstü kısımlarından elde edilen ekstraktaların antioksidan aktivitesi çoğunlukla flavonoidlere ve fenolik asitlere dayandırılmışken, floroglusinol, biflavonlar ve naftodiantronların önemli bir aktivite sağlamadığı gösterilmiştir (Apak vd., 2007; Silva vd., 2008; Orčić vd., 2011).

Çizelge 3.5'de gösterildiği gibi elde edilen PHM-PMKNF, HP10, HP20 ve HP40 liflerinin DPPH süpürme aktiviteleri sırasıyla %3,66, %27,54, %64,40 ve %86,12 olarak bulunmuştur. Bu sonuç bize elektroegirme işleminden sonra da HPYE'lerin lifler içerisinde antioksidan aktivitesini koruduğunu göstermiştir.

**Çizelge 3.5.** PHEMA temelli yara örtülerinin antioksidan aktiviteleri

<b>Örnek</b>	<b>%DPPH Süpürme Aktivitesi</b>
PHM-PMKNF	3,86
HP10	27,54
HP20	64,40
HP40	86,12

Han vd. (2009) shikonin yüklü Polikaprolakton/Poli(trimetilen karbonat) çözeltilerinin ve elektroğirme ile üretilen liflerin DPPH radikali kullanarak antioksidan aktivitelerini incelemişlerdir. Sonuç, elektroğirme işleminden sonra shikoninin DPPH süpürme aktivitesi için anlamlı bir fark olmadığını ve ilaç materyalinin, lif üretme işlemi sırasında yüksek bir elektrik potansiyeline maruz kaldıktan sonra bile antioksidan aktivitesini koruyabildiğini göstermiştir.

Yapılan bir çalışma da etil asetat, metanol ve su ile ekstrakte edilen *H. perforatum*, 1000 µg/mL derişimde sırasıyla %63,25, %89,80 ve %20,35 DPPH süpürme aktivitesi göstermiştir. Etanol ekstraktının antioksidan aktivitesinin daha yüksek olması yüksek fenolik bileşik içeriğinden kaynaklanmıştır (Altun vd., 2013).

### **3.8. İn Vitro Çalışmalar**

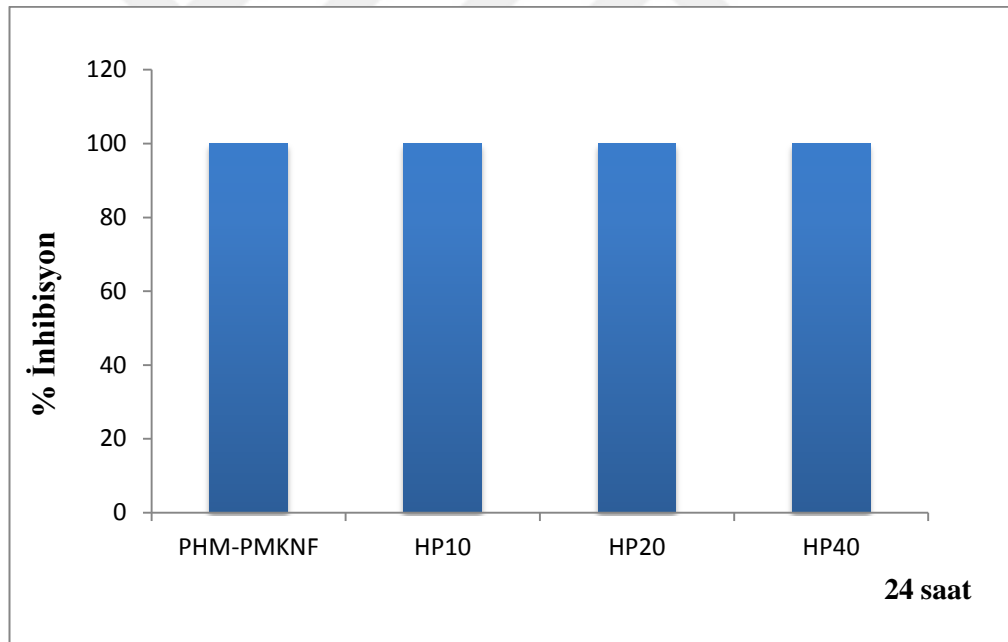
#### **3.8.1. Antibakteriyel Aktivite**

Lif örtülerin antibakteriyel aktiviteleri, enfeksiyon etkeni olarak çeşitli ortamlardan izole edilen *Escherichia coli* ve *Staphylococcus aureus*'a karşı incelenmiştir. Antibakteriyel aktivite 600 nm'de optik yoğunluk ölçülerek değerlendirilmiştir.

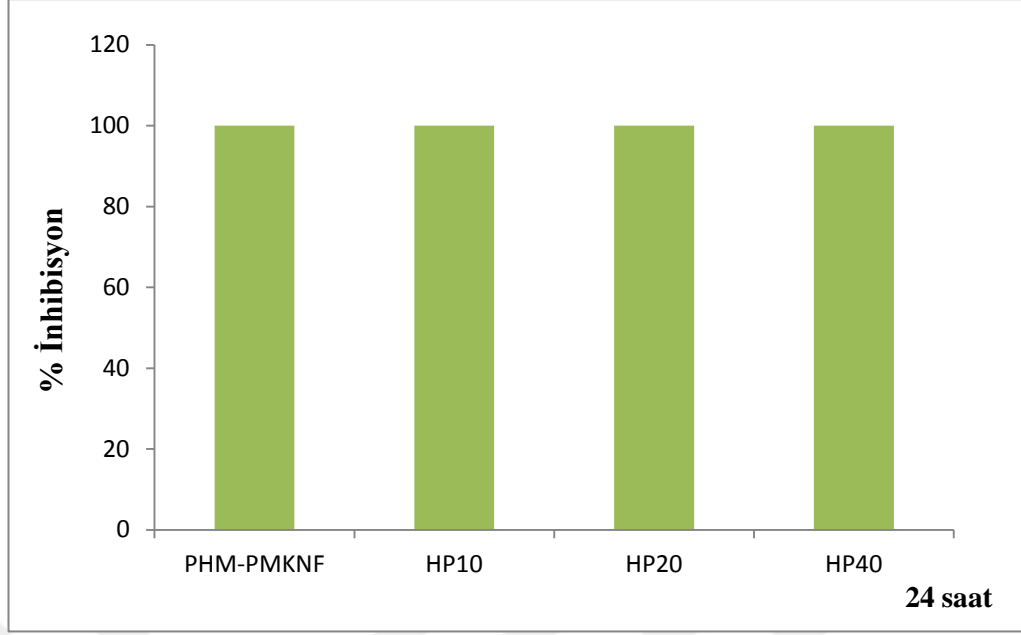


Çalışmamızda PMETAK'ın lifler içerisine ilave edilmesinin sebebi onlara antibakteriyel özellik kazandırmak içindir. Sonuçlar incelendiği zaman PMETAK'ın yürütülen deney şartlarında hem gram (+) hem de gram (-) bakterilere karşı mükemmel antibakteriyel özellik gösterdiği ve mikroorganizmaların hiç çoğalamadığı görülmektedir. Lifler içerisinde antibakteriyel aktivite gösteren polikatyonik yapıdaki METAK polimeridir. METAK'ın polikatyonik yapıya sahip dördüncül amonyum grupları bakteri hücre duvarındaki negatif yük ile etkileşime girmektedir. Etkileşim sonucunda bakterilerin hücre zarının elektrik dengesi bozulur ve daha sonra bakteriler sitoplazmik sızıntı nedeniyle hasar görür veya ölür (Beyth vd.,2006; Namba vd., 2009).

PHM-PMKNF, HP10, HP20 ve HP40 yara örtüleri *E. coli* (Şekil 3.14) ve *S. aureus*'a (Şekil 3.15) karşı %100 inhibiyon göstermişlerdir.



**Şekil 3.14.** PHM-PMKNF, HP10, HP20 ve HP40 yara örtülerinin *E. coli*'ye karşı % inhibisyonları



**Şekil 3.15.** PHM-PMKNF, HP10, HP20 ve HP40 yara örtülerinin *S. aureus*'a karşı % inhibisyonları

PMETAK ve METAK aşılınmış pamuk, *Staphylococcus aureus*, *Bacillus cereus* gibi gram pozitif bakterilere ve *Escherichia coli*, *Pseudomonas fluorescens* gibi gram negatif bakterilere karşı iyi antibakteriyel aktivite göstermiştir (Goel vd., 2009).

Poli(para-fenilen etilen) (PPE) ve Poli(para-fenilen vinilen) (PPV)-PMETAK aşı kopolimerleri çeşitli bakterilere karşı test edilmiştir. Sonuçlar, bu konjuge polielektrolitlerin aktif olduğunu göstermiştir. PPE-g-PMETAK, özellikle *Enterococcus faecium*, Metisiline dirençli *Staphylococcus aureus* (MRSA), *Escherichia coli* ve *Acinetobacter baumannii*'ye karşı en yüksek antimikrobiyal aktivite sergilemiştir (Damavandi vd., 2018).

Collares vd. (2017) METAK ilavesi ile deneysel bir yapışkan geliştirip mekanik özelliklerini ve in vitro antibakteriyel aktivitesini değerlendirmişlerdir. Yapışkan reçineyle kopolimerize edilmiş METAK, *Streptococcus mutans*'a karşı çok iyi antibakteriyel aktivite sergilemiştir.

### 3.8.2. Sitotoksisite Testi

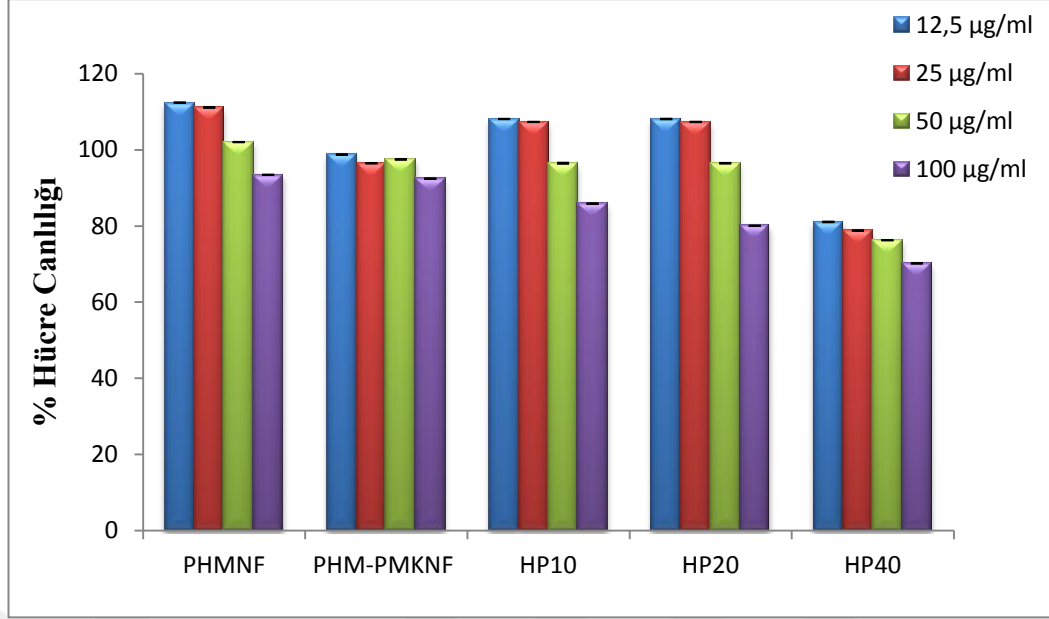
HPYE yüklü 100, 50, 25 ve 12,5 µg/mL derişimlerdeki PHEMA temelli liflerin in vitro hücre canlılığı MTT testi kullanılarak değerlendirilmiştir. 24 saat sonunda 570 nm'deki spektroskopik ölçüm ile % hücre canlılığı hesaplanmıştır.

PHMNF yara örtüleri en yüksek hücre canlılığını sergilemiştir. PHEMA temelli liflerin tümünde % hücre canlılığı en yüksek 12,5 µg/mL derişimde ortaya çıkmıştır. Diğer derişimlerde (100, 50, 25 µg/ml) elde edilen % hücre canlılığı değerleri biyoyumluluk sınırlarına dahil çıkmıştır. L929 hücre canlılığı sonuçları hem PHMNF, PHM-PMKNF hem de HPYE yüklü liflerin sitotoksik etki sergilemediğini göstermiştir (Şekil 3.16).

Güneş vd. (2017) HPYE yüklü kitosan filmlerin in vitro hücre canlılığını WST-1 deneyi kullanarak değerlendirmişlerdir. NIH3T3 hücre canlılığı sonuçları hem kitosan hem de yağ yüklü kitosan filmlerinin sitotoksik etki sergilemediğini göstermiştir.

PHEMA'ya PMETAK ilavesi ile % canlılık değeri düşmüştür. Bunun nedeni katyonik bir yapıya sahip olan PMETAK polimerindeki yüklü grupların sağlıklı hücrelerin hücre duvarlarına yapışmasıyla işlev bozukluklarına ve hücre ölümlerine yol açmasıdır.

Grup sayısından ve katyonik grupların üç boyutlu düzenlenmesinden kaynaklanan yük yoğunluğu, bir malzeme için sitotoksisiteye neden olan önemli faktörlerdir. Önceden yapılan çalışmalarla poli-L-lisin, poli-L-arjinin ve protamin gibi katyonik polimerlerin sitotoksisitelerinin, yüzey yükü yoğunluğu ile doğrudan ilişkili olduğu bildirilmiştir (Huang vd., 2004).



**Şekil 3.16.** % Hücre canlılığı grafiği

HP40 liflerde % hücre canlılığı düşmüştür. Pourhojat vd. (2017) yaptıkları çalışmada benzer sonuçları elde etmişlerdir.

SEM sonuçları, lif dallanmalarının bir nedeninin de çözücü buharlaşma hızını azaltan HPYE ilavesinden kaynaklandığını göstermiştir. Bu sonuçlar, yağ konsantrasyonunun artmasıyla lif üretiminde kullanılan toksik çözücü kalıntılarının hücre canlılığını düşürebileceğini ortaya koymuştur.

#### 4. SONUÇ

- Bu tez çalışmasında yara iyileşmesini hızlandıran yara örtülerinin üretilmesi hedeflenmiştir. Bu hedefe yönelik HPYE yüklü PHEMA temelli nanolif yara örtüleri üretilmiş ve bu örtülerin karakterizasyonları, sitotoksik etkileri, antibakteriyel ve antioksidan aktiviteleri incelenmiştir.
- Nanolifli yara örtülerinin eldesi için elektroğirme yöntemi kullanılmıştır. Elektroğirme işlemi sonunda mikro boyutta, dairesel kesitli, homojen dağılımlı PHEMA lifleri ve nano boyutta, lifler arasında dallanma olan PHM-PMKNF ve HPYE yüklü PHM-PMKNF yara örtüleri üretilmiştir. PHMNF, PHM-PMKNF ve HPYE içeren yara örtüleri sırasıyla ortalama 1,2 µm, 344,1 nm ve 365,9 nm lip çaplarına sahip çıkmışlardır.
- FTIR spektrumlarından elde edilen sonuçlar HPYE'nin ve PMETAK'ın liflerdeki varlığını doğrulamıştır.
- TGA analizleri, yara örtülerindeki HPYE ve PMETAK varlığını kanıtlamıştır. Zeytinyağı, HP40 yara örtülerinin bozunma sıcaklığını bir miktar arttırmıştır.
- Elemental analiz ile azot elementi analiz edilerek yara örtülerindeki PMETAK varlığı kanıtlanmıştır.
- HPLC analizlerinde PHEMA temelli yara örtülerindeki HPYE bileşenlerinin varlığı gösterilmiştir. Analiz sonunda, PHEMA lifinde bulunmayan sadece HPYE'de ve HP40 lifinde bulunan 7 tane pik elde edilmiştir.
- En yüksek şişme derecesine % 210,66 ile PHMNF sahipken en düşük şişme derecesine % 86,88 ile HP40 yara örtüsü sahip olmuştur.
- Elde ettiğimiz yara örtüleri antioksidan aktivite göstermiştir. HPYE konsantrasyonu arttıkça antioksidan aktivite artmıştır.

- Yara örtülerinin antibakteriyel aktiviteleri *Escherichia coli* ve *Staphylococcus aureus*'a karşı incelenmiştir. Elde edilen HPYE yüklü yara örtülerinin hem *S. aureus*'a hem de *E. coli*'ye karşı %100 inhibisyon gösterdikleri bulunmuştur.
- L929 hücre canlılığı sonuçları hem PHMNF, PHM-PMKNF hem de HPYE yüklü yara örtülerinin sitotoksik etki sergilemediğini göstermiştir.
- Ülkemizde ilk defa HPYE'nin PHEMA temelli liflere hapsedilmesiyle üretilen yara örtüleri, antibakteriyel ve antioksidan aktivitelere sahip olmaları ve toksik etki göstermemeleri nedeniyle potansiyel yara örtü malzemesi olarak kullanılacaklarını göstermişlerdir.



## KAYNAKLAR

- Abdel-Salam, O. M. E., Anti-Inflammatory, Antinociceptive, and gastric effects of *Hypericum perforatum* in rats. *The Scientific World Journal*, 5, 586–595, 2005.
- Abdelgawad, A. M., Hudson, S. M., Rojas, O. J., Antimicrobial wound dressing nanofiber mats from multicomponent (chitosan/silver-NPs/polyvinyl alcohol) systems. *Carbohydrate Polymers*, 100, 166–178, 2014.
- Acevedo, F., Hermosilla, J., Sanhueza, C., Mora-Lagos, B., Fuentes, I., Rubilar, M., Concheiro, A., Alvarez-Lorenzo, C., Gallic acid loaded PEO-core/zein-shell nanofibers for chemopreventive action on gallbladder cancer cells. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 119, 49–61, 2018.
- Albert, D., Zündorf, I., Dinger, T., Müller, W. E., Steinhilber, D., Werz, O., Hyperforin is a dual inhibitor of cyclooxygenase-1 and 5-lipoxygenase. *Biochemical Pharmacology*, 64(12), 1767–1775, 2002.
- Alizadeh, R., Karimi, M., Mofrad, R. T., Entezami, A. A., Preparation of electrospun electroactive nanofibers of aniline/2-hydroxyethyl methacrylate/ $\epsilon$ -caprolactone brush copolymer blended with polycaprolactone. *Journal of Polymer Research*, 21(8), 521, 2014.
- Altan, A., Damlar, İ., Aras, M. H., & Alpaslan, C., Sarı kantaronun (*Hypericum Perforatum*) yara iyileşmesi üzerine etkisi. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*, 24(4), 578, 2015.
- Altun, M. L., Yılmaz, B. S., Orhan, I. E., Citoglu, G. S., Assessment of cholinesterase and tyrosinase inhibitory and antioxidant effects of *Hypericum perforatum* L. (St. John's wort). *Industrial Crops and Products*, 43, 87–92, 2013.
- Apak, R., Güçlü, K., Demirata, B., Özyürek, M., Çelik, S., Bektaşoğlu, B., Berker, K. I., Özyurt, D., Comparative evaluation of various total antioxidant capacity assays applied to phenolic compounds with the CUPRAC assay. *Molecules*, 12(7), 1496–1547, 2007.
- Bagchi, D., Bagchi, M., Stohs, S. J., Das, D. K., Ray, S. D., Kuszynski, C. A., Joshi, S.S., Pruess, H. G., Free radicals and grape seed proanthocyanidin extract: importance in human health and disease prevention. *Toxicology*, 148(2–3), 187–197, 2000.
- Balaji, A., Vellayappan, M. V., John, A. A., Subramanian, A. P., Jaganathan, S. K., Supriyanto, E., Razak, S. I. A., An insight on electrospun-nanofibers-inspired modern drug delivery system in the treatment of deadly cancers. *RSC Advances*, 5(71), 57984–58004, 2015.
- Balasubramanian, K., & Kodam, K. M., Encapsulation of therapeutic lavender oil in an electrolyte assisted polyacrylonitrile nano fibers for antibacterial

- applications. *RSC Advances*, 4, 54892–54901, 2014.
- Bao, J., Yang, B., Sun, Y., Zu, Y., Deng, Y., A berberine-loaded electrospun poly-( $\epsilon$ -caprolactone) nanofibrous membrane with hemostatic potential and antimicrobial property for wound dressing. *Journal of Biomedical Nanotechnology*, 9(7), 1173–1180, 2013.
- Bennett, D. A., Phun, L., Polk, J. F., Voglino, S. A., Zlotnik, V., Raffa, R. B., Neuropharmacology of St. John's Wort ( *Hypericum* ). *Annals of Pharmacotherapy*, 32(11), 1201–1208, 1998.
- Berghöfer, R., Hölzl, J., Biflavonoids in *Hypericum perforatum* 1 ; Part 1. Isolation of I3, II8-Biapigenin. *Planta Medica*, 53(02), 216–217, 1987.
- Berghoefler, R., Hoelzl, J., Isolation of 13',II8-Biapigenin (amentoflavone) from *Hypericum perforatum*. *Planta Medica*, 55(01):91-91, 1989.
- Beşen, B. S., Balcı, O., Güneşoğlu, C., Orhan, M., İnci Somuncuoğlu, E., İrem Tatlı, İ., Obtaining medical textiles including microcapsules of the ozonated vegetable oils. *Fibers and Polymers*, 18(6), 1079–1090, 2017.
- Beyth, N., Yudovin-Farber, I., Bahir, R., Domb, A. J., Weiss, E. I., Antibacterial activity of dental composites containing quaternary ammonium polyethylenimine nanoparticles against *Streptococcus mutans*. *Biomaterials*, 27(21), 3995–4002, 2006.
- Bhardwaj, N., Kundu, S. C., Electrospinning: A fascinating fiber fabrication technique. *Biotechnology Advances*, 28(3), 325–347, 2010.
- Boateng, J. S., Matthews, K. H., Stevens, H. N. E., Eccleston, G. M., Wound healing dressings and drug delivery dystems: A Review. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 97(8), 2892–2923, 2008.
- Braghirolli, D. I., Steffens, D., Pranke, P., Electrospinning for regenerative medicine: a review of the main topics. *Drug Discovery Today*, 19(6), 743–753, 2014.
- Brolis, M., Gabetta, B., Fuzzati, N., Pace, R., Panzeri, F., Peterlongo, F., Identification by high-performance liquid chromatography–diode array detection–mass spectrometry and quantification by high-performance liquid chromatography–UV absorbance detection of active constituents of *Hypericum perforatum*. *Journal of Chromatography A*, 825(1), 9–16, 1998.
- Brondz, I., Greibrokk, T., Aasen, A. J., n-Alkanes of *hypericum perforatum*: a revision. *Phytochemistry*, 22(1), 295–296, 1983.
- Broughton, G., Janis, J. E., Attinger, C. E., The basic science of wound healing. *Plastic and Reconstructive Surgery*, 117(Supplement), 12S-34S, 2006a.
- Broughton, G., Janis, J. E., & Attinger, C. E., Wound healing: An overview. *Plastic*



and Reconstructive Surgery, 117(Supplement), 1e-S-32e-S, 2006b.

Bryant, S. J., Cuy, J. L., Hauch, K. D., & Ratner, B. D., Photo-patterning of porous hydrogels for tissue engineering. *Biomaterials*, 28(19), 2978–2986, 2007.

Butterweck, V., Jürgenliemk, G., Nahrstedt, A., Winterhoff, H., Flavonoids from *Hypericum perforatum* show antidepressant activity in the forced swimming test. *Planta Medica*, 66(1), 3–6, 2000.

Castro, F. C. B., Magre, A., Cherpinski, R., Zelante, P. M., Neves, L. M. G., Esquisatto, Mendonça, F., Santos, G., Effects of microcurrent application alone or in combination with topical *Hypericum perforatum* L. and *Arnica montana* L. on surgically induced wound healing in Wistar rats. *Homeopathy*, 101(3), 147–153, 2012.

Čellárová, E., Kimáková, K., Halušková, J., Daxnerová, Z., The variability of the hypericin content in the regenerants of *Hypericum perforatum*. *Acta Biotechnologica*, 14(3), 267–274, 1994.

Chatterjee, S., Nöldner, M., Koch, E., Erdelmeier, C., Antidepressant activity of *Hypericum perforatum* and Hyperforin: the neglected possibility. *Pharmacopsychiatry*, 31(S 1), 7–15, 1998.

Chatterjee, S. S., Bhattacharya, S. K., Wonnemann, M., Singer, A., Müller, W. E., Hyperforin as a possible antidepressant component of hypericum extracts. *Life Sciences*, 63(6), 499–510, 1998.

Chatterjee, S. S., Biber, A., Weibezahn, C., Stimulation of glutamate, aspartate and gamma-aminobutyric acid release from synaptosomes by hyperforin. *Pharmacopsychiatry*, 34 (1), S11-9, 2001.

Choi, J. S., Kim, H. S., Yoo, H. S., Electrospinning strategies of drug-incorporated nanofibrous mats for wound recovery. *Drug Delivery and Translational Research*, 5(2), 137–145, 2015.

Clark, R. A., Basics of cutaneous wound repair. *The Journal of Dermatologic Surgery and Oncology*, 19(8), 693–706, 1993.

Çoban, Z. D., Yener, M., Benli, A. S., Amanov, K., Altaylı, E., Demir, H., Kılıçarslan, Ö., Güran, Ş., Molecular view to the effect of centaury oil on wound healing. *Cumhuriyet Medical Journal*, 38(2), 131, 2016.

Colasanti, A., Kisslinger, A., Liuzzi, R., Quarto, M., Riccio, P., Roberti, G., Tramontano, D., Villani, F., Hypericin photosensitization of tumor and metastatic cell lines of human prostate. *Journal of Photochemistry and Photobiology. B, Biology*, 54(2–3), 103–107, 2000.

Collares, F. M., Leitune, V. C. B., Franken, P., Parollo, C. F., Oghari, F. A., Samuel, S. M., Influence of addition of [2-(methacryloyloxy)ethyl]trimethylammonium

- chloride to an experimental adhesive. *Brazilian Oral Research*, 31(0), 2017.
- Colovic, M., & Caccia, S., Liquid chromatography–tandem mass spectrometry of I3,II8-biapigenin, the major biflavone in *Hypericum perforatum* extracts. *Journal of Chromatography B*, 863(1), 74–79, 2008.
- Cui, W., Zhou, Y., & Chang, J., Electrospun nanofibrous materials for tissue engineering and drug delivery. *Science and Technology of Advanced Materials*, 11(1), 014108, 2010.
- Damavandi, M., Pilkington, L. I., Whitehead, K. A., Wilson-Nieuwenhuis, J., McBreaarty, J., Dempsey-Hibbert, N., Travis-Sejdic, J., Barker, D., Poly(para-phenylene ethynylene) (PPE)- and poly(para-phenylene vinylene) (PPV)-poly[(2-(methacryloyloxy)ethyl) trimethylammonium chloride] (PMETAC) graft copolymers exhibit selective antimicrobial activity. *European Polymer Journal*, 98, 368–374, 2018.
- De Bruyne, T., Pieters, L., Witvrouw, M., De Clercq, E., Vanden Berghe, D., Vlietinck, A. J., Biological evaluation of Proanthocyanidin dimers and related polyphenols. *Journal of Natural Products*, 62(7), 954–958, 1999.
- Dhanalakshmi, M., & Jog, J. P., Preparation and characterization of electrospun fibers of Nylon 11. *Express Polymer Letters*, 2(8), 540–545, 2008.
- Di Carlo, G., Borrelli, F., Ernst, E., & Izzo, A. A., St John's wort: Prozac from the plant kingdom. *Trends in Pharmacological Sciences*, 22(6), 292–297, 2001.
- Ding, B., Kimura, E., Sato, T., Fujita, S., Shiratori, S., Fabrication of blend biodegradable nanofibrous nonwoven mats via multi-jet electrospinning. *Polymer*, 45(6), 1895–1902, 2004.
- Ding, B., Li, C., Miyauchi, Y., Kuwaki, O., Shiratori, S., Formation of novel 2D polymer nanowebs via electrospinning. *Nanotechnology*, 17(15), 3685–3691, 2006.
- DiPietro, L. A., Wound healing: the role of the macrophage and other immune cells. *Shock (Augusta, Ga.)*, 4(4), 233–240, 1995.
- Dizman, B., Elasri, M. O., Mathias, L. J., Synthesis and antibacterial activities of water-soluble methacrylate polymers containing quaternary ammonium compounds. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*, 44(20), 5965–5973, 2006a.
- Dizman, B., Elasri, M. O., Mathias, L. J., Synthesis and characterization of antibacterial and temperature responsive Methacrylamide polymers. *Macromolecules*, 39, 5738-5746, 2006b.
- Dongargaonkar, A. A., Bowlin, G. L., Yang, H., Electrospun blends of Gelatin and Gelatin–Dendrimer conjugates as a Wound-Dressing and Drug-Delivery platform. *Biomacromolecules*, 14(11), 4038–4045, 2013.

- Doshi, J., Reneker, D. H., Electrospinning process and applications of electrospun fibers. *Journal of Electrostatics*, 35(2–3), 151–160, 1995.
- Eghdami, A., Sadeghi, F., Determination of total phenolic and flavonoids contents in methanolic and aqueous extract of *Achillea Millefolium*. In *Org. Chem. J*, 2, 81–84, 2010.
- Ekren, S., Sönmez, Ç., BAYRAM, E., Sarı Kantaron (*Hypericum perforatum* L.) klonlarında bazı tarımsal ve kalite özelliklerinin belirlenmesi. *Tarım Bilimleri Dergisi*, 16, 225–234, 2010.
- Elmastaş, M., Gülçin, İ., Beydemir, Ş., İrfan Küfrevioğlu, Ö., Aboul-Enein, H. Y., A, Study on the in vitro antioxidant activity of Juniper ( *Juniperus communis* L.) Fruit Extracts. *Analytical Letters*, 39(1), 47–65, 2006.
- Eming, S. A., Krieg, T., Davidson, J. M., Inflammation in wound repair: Molecular and cellular mechanisms. *Journal of Investigative Dermatology*, 127(3), 514–525, 2007.
- Falk, H., Schmitzberger, W., On the nature of ?soluble? hypericin in *Hypericum* species. *Monatshefte Für Chemie Chemical Monthly*, 123(8–9), 731–739, 1992.
- Filipović, V. V., Božić Nedeljković, B. Đ., Vukomanović, M., & Tomić, S. L., Biocompatible and degradable scaffolds based on 2-hydroxyethyl methacrylate, gelatin and poly(beta amino ester) crosslinkers. *Polymer Testing*, 68, 270–278, 2018.
- Gantwerker, E. A., Hom, D. B., Skin: Histology and physiology of wound healing. *Clinics in Plastic Surgery*, 39(1), 85–97, 2012.
- Gao, Y., Bach Truong, Y., Zhu, Y., Louis Kyrtzsis, I., Electrospun antibacterial nanofibers: Production, activity, and in vivo applications. *Journal of Applied Polymer Science*, 131(18), 40797, 2014.
- Garcia-Orue, I., Gainza, G., Gutierrez, F. B., Aguirre, J. J., Evora, C., Pedraz, J. L., Hernandez, RM, Delgado, A., Igartua, M., Novel nanofibrous dressings containing rhEGF and Aloe vera for wound healing applications. *International Journal of Pharmaceutics*, 523(2), 556–566, 2017.
- Georgiade, G. S., Riefkohl, R., & Levin, L. S., *Georgiade plastic, maxillofacial, and reconstructive surgery*. Williams & Wilkins, 1997.
- Ghitescu, R.-E., Popa, A.-M., Popa, V. I., Rossi, R. M., & Fortunato, G., Encapsulation of polyphenols into pHEMA e-spun fibers and determination of their antioxidant activities. *International Journal of Pharmaceutics*, 494(1), 278–287, 2015.
- Ghorani, B., Tucker, N., *Fundamentals of electrospinning as a novel delivery vehicle*

- for bioactive compounds in food nanotechnology. *Food Hydrocolloids*, 51, 227–240, 2015.
- Ginsberg, M. H., Du, X., Plow, E. F., Inside-out integrin signalling. *Current Opinion in Cell Biology*, 4(5), 766–771, 1992.
- Gioti, E. M., Fiamegos, Y. C., Skalkos, D. C., & Stalikas, C. D., Antioxidant activity and bioactive components of the aerial parts of *Hypericum perforatum* L. from Epirus, Greece. *Food Chemistry*, 117(3), 398–404, 2009.
- Goel, N. K., Kumar, V., Bhardwaj, Y. K., Chaudhari, C. V., Dubey, K. A., & Sabharwal, S., Swelling response of radiation synthesized 2-Hydroxyethylmethacrylate-co-[2-(methacryloyloxy)ethyl] trimethylammonium chloride hydrogels under various in vitro conditions. *Journal of Biomaterials Science, Polymer Edition*, 20(5–6), 785–805, 2009.
- Goel, N. K., Rao, M. S., Kumar, V., Bhardwaj, Y. K., Chaudhari, C. V., Dubey, K. A., & Sabharwal, S., Synthesis of antibacterial cotton fabric by radiation-induced grafting of [2-(Methacryloyloxy)ethyl]trimethylammonium chloride (MAETC) onto cotton. *Radiation Physics and Chemistry*, 78(6), 399–406, 2009.
- Gottenbos, B., van der Mei, H. C., Klatter, F., Nieuwenhuis, P., Busscher, H. J., In vitro and in vivo antimicrobial activity of covalently coupled quaternary ammonium silane coatings on silicone rubber. *Biomaterials*, 23(6), 1417–1423, 2002.
- Greenson, J. M., Sanford, B., Monti, D. A., St. John's wort (*Hypericum perforatum*): a review of the current pharmacological, toxicological, and clinical literature. *Psychopharmacology*, 153(4), 402–414, 2001.
- Güneş, S., Tihminlioğlu, F., *Hypericum perforatum* incorporated chitosan films as potential bioactive wound dressing material. *International Journal of Biological Macromolecules*, 102, 933–943, 2017.
- Guo, S., DiPietro, L. A., Factors affecting wound healing. *Journal of Dental Research*, 89(3), 219–229, 2010.
- Gurtner, G. C., Werner, S., Barrandon, Y., Longaker, M. T., Wound repair and regeneration. *Nature*, 453(7193), 314–321, 2008.
- Haeberlein, H., Tschiersch, K. P., Schäfer, H. L., Flavonoids from *Leptospermum scoparium* with affinity to the benzodiazepine receptor characterized by structure activity relationships and in vivo studies of a plant extract. *Die Pharmazie*, 49(12), 912–922, 1994.
- Han, J., Chen, T.-X., Branford-White, C. J., Zhu, L.-M., Electrospun shikonin-loaded PCL/PTMC composite fiber mats with potential biomedical applications. *International Journal of Pharmaceutics*, 382(1–2), 215–221, 2009.

- Hansen, S. H., Jensen, A. G., Cornett, C., Bjørnsdottir, I., Taylor, S., Wright, B., Wilson, I. D., High-performance liquid chromatography on-line coupled to high-field NMR and mass spectrometry for structure elucidation of constituents of *Hypericum perforatum* L. *Analytical Chemistry*, 71(22), 5235–5241, 1999.
- Hu, J., Ye, H., Tian, L., Ding, X., Ramakrishna, S., Electrospinning of poly(glycerol sebacate)-based nanofibers for nerve tissue engineering. *Materials Science and Engineering: C*, 70, 1089–1094, 2017.
- Hu, Y.-Y., Zhang, J., Fang, Q.-C., Jiang, D.-M., Lin, C.-C., Zeng, Y., Jiang, J.-S., Salt and pH sensitive semi-interpenetrating polyelectrolyte hydrogels poly(HEMA-co-METAC)/PEG and its BSA adsorption behavior. *Journal of Applied Polymer Science*, 132(9), 41537, 2014.
- Huang, M., Khor, E., Lim, L.-Y., Uptake and cytotoxicity of Chitosan molecules and nanoparticles: Effects of molecular weight and degree of deacetylation. *Pharmaceutical Research*, 21(2), 344–353, 2004.
- Huang, Z.-M., Zhang, Y. Z., Ramakrishna, S., Lim, C. T., Electrospinning and mechanical characterization of gelatin nanofibers. *Polymer*, 45(15), 5361–5368, 2004.
- Hunt, E. J., Lester, C. E., Lester, E. A., Tackett, R. L., Effect of St. John's wort on free radical production. *Life Sciences*, 69(2), 181–190, 2001.
- Ihme, N., Kiesewetter, H., Jung, F., Hoffmann, K. H., Birk, A., Müller, A., Grütznert, K. I., Leg oedema protection from a buckwheat herb tea in patients with chronic venous insufficiency: a single-centre, randomised, double-blind, placebo-controlled clinical trial. *European Journal of Clinical Pharmacology*, 50(6), 443–4470, 1996.
- Isacchi, B., Bergonzi, M. C., Carnevali, F., van der Esch, S. A., Vincieri, F. F., Bilia, A. R., Analysis and stability of the constituents of St. John's wort oils prepared with different methods. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 45(5), 756–761, 2007.
- Jayakumar, R., Prabakaran, M., Sudheesh Kumar, P. T., Nair, S. V., Tamura, H., Biomaterials based on chitin and chitosan in wound dressing applications. *Biotechnology Advances*, 29(3), 322–337, 2011.
- Jiang, K., Long, Y.-Z., Chen, Z.-J., Liu, S.-L., Huang, Y.-Y., Jiang, X., Huang, Z.-Q., Airflow-directed in situ electrospinning of a medical glue of cyanoacrylate for rapid hemostasis in liver resection. *Nanoscale*, 6(14), 7792, 2014.
- Jin, G., Prabhakaran, M. P., Ramakrishna, S., Photosensitive and biomimetic core-shell nanofibrous scaffolds as wound dressing. *Photochemistry and Photobiology*, 90(3), 673–681, 2014.
- Kähkönen, M. P., Hopia, A. I., Vuorela, H. J., Rauha, J. P., Pihlaja, K., Kujala, T. S.,

- Heinonen, M., Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(10), 3954–3962, 1999.
- Kanazawa, A., Ikeda, T., Endo, T., Polymeric phosphonium salts as a novel class of cationic biocides. IX. Effect of side-chain length between main chain and active group on antibacterial activity. *Journal of Polymer Science Part A: Polymer Chemistry*, 32(10), 1997–2001, 1994.
- Khorshidi, S., Solouk, A., Mirzadeh, H., Mazinani, S., Lagaron, J. M., Sharifi, S., & Ramakrishna, S., A review of key challenges of electrospun scaffolds for tissue-engineering applications. *Journal of Tissue Engineering and Regenerative Medicine*, 10(9), 715–738, 2016.
- Kim, H. K., Son, K. H., Chang, H. W., Kang, S. S., Kim, H. P., Amentoflavone, a plant biflavone: a new potential anti-inflammatory agent. *Archives of Pharmacal Research*, 21(4), 406–410, 1998.
- Kim, H., Lee, B. S., Lee, Y., Lee, J. K., Choi, I. S., Solid-phase extraction of nerve agent degradation products using poly[(2-(methacryloyloxy)ethyl) trimethylammonium chloride] thin films. *Talanta*, 197, 500–508, 2019.
- Kim, J. I., Pant, H. R., Sim, H.-J., Lee, K. M., Kim, C. S., Electrospun propolis/polyurethane composite nanofibers for biomedical applications. *Materials Science and Engineering: C*, 44, 52–57, 2014.
- Kirschner, C. M., & Anseth, K. S., Hydrogels in healthcare: From static to dynamic material microenvironments. *Acta Materialia*, 61(3), 931–944, 2013.
- Kıyan, S., Uyanıkgil, Y., Altuncı, Y. A., Çavuşoğlu, T., Çetin Uyanıkgil, E. Ö., Karabey, F., Investigation of acute effects of *Hypericum perforatum* (St. John's Wort-Kantaron) treatment in experimental thermal burns and comparison with silver sulfadiazine treatment. *Ulusal Travma ve Acil Cerrahi Dergisi = Turkish Journal of Trauma & Emergency Surgery*, 21(5), 323–336, 2015.
- Kokabi, M., Sirousazar, M., Hassan, Z. M., PVA–clay nanocomposite hydrogels for wound dressing. *European Polymer Journal*, 43(3), 773–781, 2007.
- Kolhe, S. M., Kumar, A., Radiation-induced grafting of vinyl benzyl trimethyl ammonium chloride onto nylon-6 fabric. *Radiation Physics and Chemistry*, 76(5), 901–906, 2007.
- Koombhongse, S., Liu, W., Reneker, D. H., Flat polymer ribbons and other shapes by electrospinning. *Journal of Polymer Science Part B: Polymer Physics*, 39(21), 2598–2606, 2001.
- Kurkin, V. A., Pravdivtseva, O. E., Flavonoids from the aerial part of *Hypericum perforatum*. *Chemistry of Natural Compounds*, 43(5), 620–621, 2007.

- Kurth, H., Spreemann, R., Phytochemical characterization of various St. John's Wort extracts. *Advances in Therapy*, 15(2), 117–128, 1998.
- Lavie, G., Meruelo, D., Aroyo, K., Mandel, M., Inhibition of the CD8 T cell-mediated cytotoxicity reaction by hypericin: potential for treatment of T cell-mediated diseases. In *International Immunology*, 12(4), 479-86, 2000.
- Lazarus, G. S., Cooper, D. M., Knighton, D. R., Margolis, D. J., Percoraro, R. E., Rodeheaver, G., Robson, M. C., Definitions and guidelines for assessment of wounds and evaluation of healing. *Wound Repair and Regeneration*, 2(3), 165–170, 1994.
- Lee, C. K., Hansen, S. L., Management of acute wounds. *Surgical Clinics*, 89(3), 659–676, 2009.
- Lee, J. W., Park, J. H., Robinson, J. R., Bioadhesive-based dosage forms: The next generation. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 89(7), 850–866, 2000.
- Li, Q., Niu, Y., Diao, H., Wang, L., Chen, X., Wang, Y., Dong, L., Wang, C., In situ sequestration of endogenous PDGF-BB with an ECM-mimetic sponge for accelerated wound healing. *Biomaterials*, 148, 54–68, 2017.
- Liakos, I., Rizzello, L., Hajiali, H., Brunetti, V., Carzino, R., Pompa, P. P., Athanassiou, A., Mele, E., Fibrous wound dressings encapsulating essential oils as natural antimicrobial agents. *Journal of Materials Chemistry B*, 3(8), 1583–1589, 2015.
- Lindahl, M., Tagesson, C., Flavonoids as phospholipase A2 inhibitors: importance of their structure for selective inhibition of group II phospholipase A2. *Inflammation*, 21(3), 347–356, 1997.
- Linde, K., Ramirez, G., Mulrow, C. D., Pauls, A., Weidenhammer, W., Melchart, D., St John's wort for depression-an overview and meta-analysis of randomised clinical trials. *BMJ*, 313(7052), 253–258, 1996.
- Lucke, A., Kiermaier, J., Göpferich, A., Peptide acylation by poly(alpha-hydroxy esters). *Pharmaceutical Research*, 19(2), 175–181, 2002.
- Lu, Y.R., Yaep Foo, L., Foo Antioxidant activities of polyphenols from sage (*Salvia officinalis*). *Food Chem.*, 75, 197-202, 2001.
- Marrelli, M., Conforti, F., Toniolo, C., Nicoletti, M., Statti, G., Menichini, F., *Hypericum perforatum*: Influences of the habitat on chemical composition, photo-induced cytotoxicity, and antiradical activity. *Pharmaceutical Biology*, 52(7), 909–918, 2014.
- Martin, P., Wound healing--aiming for perfect skin regeneration. *Science*, 276(5309), 75–81, 1997.

- Mathew, S., Brahmakumar, M., Abraham, T. E., Microstructural imaging and characterization of the mechanical, chemical, thermal, and swelling properties of starch–chitosan blend films. *Biopolymers*, 82(2), 176–187, 2006.
- Matthews, J. A., Wnek, G. E., Simpson, D. G., Bowlin, G. L., Electrospinning of collagen nanofibers. *Biomacromolecules*, 3(2), 232–238, 2002.
- Medina, J. H., Viola, H., Wolfman, C., Marder, M., Wasowski, C., Calvo, D., Paladini, A. C., Overview--flavonoids: a new family of benzodiazepine receptor ligands. *Neurochemical Research*, 22(4), 419–425, 1997.
- Meinel, A. J., Germershaus, O., Luhmann, T., Merkle, H. P., Meinel, L., Electrospun matrices for localized drug delivery: Current technologies and selected biomedical applications. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 81(1), 1–13, 2012.
- M. E. Pekşen, *Hypericum perforatum* bitkisinden elde edilen yağın %1'lik Gümüş sülfodiazin (Silverdin®) ile yanık iyileşmesi üzerine etkisinin karşılaştırılması. Uzmanlık tezi. Cumhuriyet Üniversitesi, Sivas, 2013.
- Miguel, S. P., Simões, D., Moreira, A. F., Sequeira, R. S., Correia, I. J., Production and characterization of electrospun silk fibroin based asymmetric membranes for wound dressing applications. *International Journal of Biological Macromolecules*, 121, 524–535, 2019.
- M.K. Çaycı, *Hypericum perforatum* ve *Tarantula cubensis* özütlerinin sıçanlarda oluşturulan deneysel mide mukozası hasarına etkilerinin histopatolojik olarak incelenmesi. Doktora Tezi. Dumlupınar Üniversitesi, Kütahya, 2006.
- Monaco, J. L., Lawrence, W. T., Acute wound healing an overview. *Clinics in Plastic Surgery*, 30(1), 1–12, 2003.
- Montheard, J.-P., Chatzopoulos, M., Chappard, D., 2-Hydroxyethyl methacrylate (HEMA): Chemical properties and applications in biomedical fields. *Journal of Macromolecular Science, Part C: Polymer Reviews*, 32(1), 1–34, 1992.
- Morales, M., Lozoya, X., Calcium-antagonist effects of Quercetin on aortic smooth muscle. *Planta Medica*, 60(04), 313–317, 1994.
- Murray, P. R., Niles, A. C., Heeren, R. L., Microbial inhibition on hospital garments treated with Dow Corning 5700 antimicrobial agent. *Journal of Clinical Microbiology*, 26(9), 1884–1886, 1988.
- Nahid, M., Hamid, H., Tsagkalias, I., Softas, C., Ioannidou, M. D., Achilias, D. S., Thermochemica Acta Synthesis and characterization of poly (2-hydroxyethyl methacrylate )/ silver hydrogel nanocomposites prepared via in situ radical polymerization. *Thermochemica Acta*, 643, 53–64, 2016.
- Nahrstedt, A., Butterweck, V., Biologically active and other chemical constituents of



- the herb of *Hypericum perforatum* L. *Pharmacopsychiatry*, 30(S 2), 129–134, 1997.
- Namba, N., Yoshida, Y., Nagaoka, N., Takashima, S., Matsuura-Yoshimoto, K., Maeda, H., Van Meerbeek, B., Suzuki, K., Takashiba, S., Antibacterial effect of bactericide immobilized in resin matrix. *Dental Materials*, 25(4), 424–430, 2009.
- Namviriyachote, N., Lipipun, V., Akkhawattanangkul, Y., Charoonrut, P., Ritthidej, G. C., Development of polyurethane foam dressing containing silver and asiaticoside for healing of dermal wound. *Asian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 14(1), 63–77, 2019.
- Nayak, R., Padhye, R., Kyratzis, I. L., Truong, Y. B., Arnold, L., Recent advances in nanofibre fabrication techniques. *Textile Research Journal*, 82(2), 129–147, 2012.
- Neely, A., Brown, R., Clendening, CE., Orloff, MM., Gardner, J., Greenhalgh DG., Proteolytic activity in human burn wounds. *Wiley Online Library*, 5(4), 302-9, 1997.
- Nöldner, M., Schötz, K., Rutin is essential for the antidepressant activity of *Hypericum perforatum* extracts in the forced swimming test. *Planta Medica*, 68(7), 577–580, 2002.
- Orčić, D. Z., Mimica-Dukić, N. M., Francišković, M. M., Petrović, S. S., Jovin, E. Đ. Antioxidant activity relationship of phenolic compounds in *Hypericum perforatum* L. *Chemistry Central Journal*, 5(1), 34, 2011.
- Orhan, I. E., Kartal, M., Gülpinar, A. R., Cos, P., Matheussen, A., Maes, L., Tasdemir, D., Assessment of antimicrobial and antiprotozoal activity of the olive oil macerate samples of *Hypericum perforatum* and their LC–DAD–MS analyses. *Food Chemistry*, 138(2–3), 870–875, 2013.
- Öztürk, N., Korkmaz, S., Öztürk, Y., Wound-healing activity of St. John's Wort (*Hypericum perforatum* L.) on chicken embryonic fibroblasts. *Journal of Ethnopharmacology*, 111(1), 33–39, 2007.
- Paul, W., Sharma, C. P., Chitosan and Alginate wound dressings: A short review. In *Trends Biomater. Artif. Organs*, 18(1), 18-23, 2004.
- Pelipenko, J., Kristl, J., Janković, B., Baumgartner, S., Kocbek, P., The impact of relative humidity during electrospinning on the morphology and mechanical properties of nanofibers. *International Journal of Pharmaceutics*, 456(1), 125–134, 2013.
- Pendleton, J. N., Gilmore, B. F., The antimicrobial potential of ionic liquids: A source of chemical diversity for infection and biofilm control. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 46(2), 131–139, 2015.

- Pérez-Recalde, M., Ruiz Arias, I. E., Hermida, É. B., Could essential oils enhance biopolymers performance for wound healing? A systematic review. *Phytomedicine*, 38, 57–65, 2018.
- Peterson, N., Stevenson, H., Sahni, V., Size matters: How accurate is clinical estimation of traumatic wound size? *Injury*, 45(1), 232–236, 2014.
- Pietta, P., Gardana, C., Pietta, A., Comparative evaluation of St. John's wort from different Italian regions. *Il Farmaco*, 56(5–7), 491–496, 2001.
- Ploss, O., Petereit, F., Nahrstedt, A., Procyanidins from the herb of *Hypericum perforatum*. *Die Pharmazie*, 56(6), 509–511, 2001.
- Pontrelli, G., Gentili, D., Coluzza, I., Pisignano, D., Succi, S., Effects of non-linear rheology on electrospinning process: A model study. *Mechanics Research Communications*, 61, 41–46, 2014.
- Pourhojat, F., Sohrabi, M., Shariati, S., Mahdavi, H., & Asadpour, L., Evaluation of poly  $\epsilon$ -caprolactone electrospun nanofibers loaded with *Hypericum perforatum* extract as a wound dressing. *Research on Chemical Intermediates*, 43(1), 297–320, 2017.
- Přádný, M., Martinová, L., Michálek, J., Fenclová, T., Krumbholcová, E., Electrospinning of the hydrophilic poly (2-hydroxyethyl methacrylate) and its copolymers with 2-ethoxyethyl methacrylate. *Open Chemistry*, 5(3), 779–792, 2007.
- Prisăcaru, A. I., Andrițoiu, C. V., Andriescu, C., Hăvârneanu, E. C., Popa, M., Motoc, A. G. M., Sava, A., Evaluation of the wound-healing effect of a novel *Hypericum perforatum* ointment in skin injury. *Romanian Journal of Morphology and Embryology=Revue Roumaine de Morphologie et Embryologie*, 54(4), 1053–1059, 2013.
- Ramakrishna, S., Fujihara, K., Teo, W.-E., Lim, T.-C., Ma, Z., An Introduction to electrospinning and nanofibers. World Scientific Publishing Co. Pte. Ltd., New Jersey, 2005.
- Ramakrishna, S., Fujihara, K., Teo, W.-E., Yong, T., Ma, Z., Ramaseshan, R., Electrospun nanofibers: solving global issues. *Materials Today*, 9(3), 40–50, 2006.
- Ramalingam, N., Natarajan, T. S., Rajiv, S., Development and characterization of electrospun Poly(2-hydroxy ethyl methacrylate) for tissue engineering applications. *Advances in Polymer Technology*, 32(3), 21348, 2013.
- Ramalingam, N., Natarajan, T. S., Rajiv, S., Preparation and characterization of electrospun curcumin loaded poly(2-hydroxyethyl methacrylate) nanofiber-A biomaterial for multidrug resistant organisms. *Journal of Biomedical Materials*

Research Part A, 103(1), 16–24, 2015.

Raso, G. M., Pacilio, M., Di Carlo, G., Esposito, E., Pinto, L., Meli, R., In-vivo and in-vitro anti-inflammatory effect of *Echinacea purpurea* and *Hypericum perforatum*. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 54(10), 1379–1383, 2002.

Reichling, J., Weseler, A., Saller, R., A current review of the antimicrobial activity of *Hypericum perforatum* L. *Pharmacopsychiatry*, 34 Suppl 1, S116-8., 2001.

Reneker, D. H., Yarin, A. L., Fong, H., Koombhongse, S., Bending instability of electrically charged liquid jets of polymer solutions in electrospinning. *Journal of Applied Physics*, 87(9), 4531–4547, 2000.

Saddiqe, Z., Naeem, I., Maimoona, A., A review of the antibacterial activity of *Hypericum perforatum* L. *Journal of Ethnopharmacology*, 131(3), 511–521, 2010.

Sarhan, W. A., Azzazy, H. M. E., El-Sherbiny, I. M., Honey/Chitosan nanofiber wound dressing enriched with *Allium sativum* and *Cleome droserifolia*: enhanced antimicrobial and wound healing activity. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 8(10), 6379–6390, 2016a.

Sarhan, W. A., Azzazy, H. M. E., El-Sherbiny, I. M., The effect of increasing honey concentration on the properties of the honey/polyvinyl alcohol/chitosan nanofibers. *Materials Science and Engineering: C*, 67, 276–284, 2016b.

Scalbert, A., Antimicrobial properties of tannins. *Phytochemistry*, 30(12), 3875–3883, 1991.

Schey, K. L., Patat, S., Chignell, C. F., Datillo, M., Wang, R. H., Roberts, J. E., Photooxidation of lens alpha-crystallin by hypericin (active ingredient in St. John's Wort). *Photochemistry and Photobiology*, 72(2), 200–203, 2000.

Siafaka, P. I., Zisi, A. P., Exindari, M. K., Karantas, I. D., Bikiaris, D. N., Porous dressings of modified chitosan with poly(2-hydroxyethyl acrylate) for topical wound delivery of levofloxacin. *Carbohydrate Polymers*, 143, 90–99, 2016.

Silva, B., Oliveira, P. J., Dias, A., Malva, J. O., Quercetin, kaempferol and biapigenin from *Hypericum perforatum* are neuroprotective against excitotoxic insults. *Neurotoxicity Research*, 13(3–4), 265–279, 2008.

Süntar, I., Akkol, E. K., Keleş, H., Oktem, A., Başer, K. H. C., Yeşilada, E., A novel wound healing ointment: A formulation of *Hypericum perforatum* oil and sage and oregano essential oils based on traditional Turkish knowledge. *Journal of Ethnopharmacology*, 134(1), 89–96, 2011.

Süntar, I. P., Akkol, E. K., Yilmazer, D., Baykal, T., Kırmızıbekmez, H., Alper, M., Yeşilada, E., Investigations on the in vivo wound healing potential of *Hypericum perforatum* L. *Journal of Ethnopharmacology*, 127(2), 468–477,

2010.

- Szegedi, A., Kohnen, R., Dienel, A., Kieser, M., Acute treatment of moderate to severe depression with hypericum extract WS 5570 (St John's wort): randomised controlled double blind non-inferiority trial versus paroxetine. *BMJ (Clinical Research Ed.)*, 330(7490), 503, 2005.
- Takahashi, I., Nakanishi, S., Kobayashi, E., Nakano, H., Suzuki, K., Tamaoki, T., Hypericin and pseudohypericin specifically inhibit protein kinase C: Possible relation to their antiretroviral activity. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 165(3), 1207–1212, 1989.
- Tang, J., Colacino, J. M., Larsen, S. H., Spitzer, W., Virucidal activity of hypericin against enveloped and non-enveloped DNA and RNA viruses. *Antiviral Research*, 13(6), 313–325, 1990.
- Tanideh, N., Namazi, F., Andisheh Tadbir, A., Ebrahimi, H., Koohi-Hosseiniabadi, O., Comparative assessment of the therapeutic effects of the topical and systemic forms of *Hypericum perforatum* extract on induced oral mucositis in golden hamsters. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 43(10), 1286–1292, 2014.
- Tedeschi, E., Menegazzi, M., Margotto, D., Suzuki, H., Förstermann, U., Kleinert, H., Anti-inflammatory actions of St. John's Wort: Inhibition of human inducible nitric-oxide synthase expression by Down-regulating signal transducer and activator of transcription-1 (STAT-1) activation. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*, 307(1), 254–261, 2003.
- Tekel'ová, D., Repcák, M., Zemková, E., Tóth, J., Quantitative changes of dianthrones, hyperforin and flavonoids content in the flower ontogenesis of *Hypericum perforatum*. *Planta Medica*, 66(8), 778–780, 2000.
- Thiede, H. M., Walper, A., Inhibition of MAO and COMT by hypericum extracts and hypericin. *Journal of Geriatric Psychiatry and Neurology*, 7(1), 56–56, 1994.
- Thiele, B., Brink, I., Ploch, M., Modulation of cytokine expression by *Hypericum* extract. *Journal of Geriatric Psychiatry and Neurology*, 7(1), 60–62, 1994.
- Thomas Hess, C., Checklist for factors affecting wound healing. *Advances in Skin & Wound Care*, 24(4), 192, 2011.
- Thorne, C., Grabb, W. C., Smith, J. W., James W., *Grabb and Smith's plastic surgery*. Wolters Kluwer Health/Lippincott Williams & Wilkins, 2007.
- Tolonen, A., Hohtola, A., Jalonen, J., Fast high-performance liquid chromatographic analysis of naphthodianthrones and phloroglucinols from *Hypericum perforatum* extracts. *Phytochemical Analysis*, 14(5), 306–309, 2003.

- Tomić, S. L. J., Mičić, M. M., Filipović, J. M., Suljovrujić, E. H., Synthesis, characterization and controlled release of cephalexin drug from smart poly(2-hydroxyethyl methacrylate/poly(alkylene glycol)(meth)acrylates hydrogels. *Chemical Engineering Journal*, 160(2), 801–809, 2010.
- Tomić, S. L., Mičić, M. M., Dobić, S. N., Filipović, J. M., Suljovrujić, E. H., Smart poly(2-hydroxyethyl methacrylate/itaconic acid) hydrogels for biomedical application. *Radiation Physics and Chemistry*, 79(5), 643–649, 2010.
- Topuz, F., Uyar, T., Electrospinning of gelatin with tunable fiber morphology from round to flat/ribbon. *Materials Science and Engineering: C*, 80, 371–378, 2017.
- Tusevski, O., Petreska Stanoeva, J., Stefova, M., Simic, S. G., Phenolic profile of Dark-grown and photoperiod-exposed *Hypericum perforatum* L. hairy root cultures. *The Scientific World Journal*, 2013, 1–9, 2013.
- U. Savaş, Deneysel temas tipi yanıklarda *Hypericum perforatum* (Sarı kantaron) tedavisi ile *Alpina officinarum* (Havlıcan) tedavisinin yara iyileşmesi üzerine etkilerinin karşılaştırılması. *Tıpta uzmanlık. Ege Üniversitesi, İzmir*, 2014.
- Vandenbogaerde, A. L., Kamuhabwa, A., Delaey, E., Himpens, B. E., Merlevede, W. J., de Witte, P. A., Photocytotoxic effect of pseudohypericin versus hypericin. *Journal of Photochemistry and Photobiology. B, Biology*, 45(2–3), 87–94, 1998.
- Vanhaelen, M., Vanhaelen-Fastre, R., Quantitative determination of biologically active constituents in medicinal plant crude extracts by thin-layer chromatography—densitometry: I. *Aesculus hippocastaneum* L., *Arctostaphylos uva-ursi* Spreng, *Fraxinus excelsior* L., *Gentiana lutea* L., *Glycyrrhiza glabra* L., *Hamamelis virginiana* L., *Hypericum perforatum* L., *Olea europea* L., *Salix alba* L. and *Silybum marianum* Gaertn. *Journal of Chromatography A*, 281, 263–271, 1983.
- Vaseashta, A., Controlled formation of multiple Taylor cones in electrospinning process. *Applied Physics Letters*, 90(9), 093115, 2007.
- Verotta, L., Appendino, G., Bombardelli, E., Brun, R., In vitro antimalarial activity of hyperforin, a prenylated acylphloroglucinol. A structure–activity study. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 17(6), 1544–1548, 2007.
- Vieira, V. A., Campos, L. V., Silva, L. R., Guerra, M. O., Peters, V. M., Sá, R. de C. S., Sá, R. de C. S., Evaluation of postpartum behaviour in rats treated with *Hypericum perforatum* during gestation. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, 23(5), 796–801, 2013.
- Vilela, C., Oliveira, H., Almeida, A., Silvestre, A. J. D., Freire, C. S. R., Nanocellulose-based antifungal nanocomposites against the polymorphic fungus *Candida albicans*. *Carbohydrate Polymers*, 217, 207–216, 2019.
- Viola, H., Wolfman, C., Levi de Stein, M., Wasowski, C., Peña, C., Medina, J. H.,

- Paladini, A. C., Isolation of pharmacologically active benzodiazepine receptor ligands from *Tilia tomentosa* (Tiliaceae). *Journal of Ethnopharmacology*, 44(1), 47–53, 1994.
- Wagner, H., Bladt, S., Pharmaceutical quality of *Hypericum* extracts. *Journal of Geriatric Psychiatry and Neurology*, 7(1), 65–68, 1994.
- Wang, T., Zhu, X.-K., Xue, X.-T., Wu, D.-Y., Hydrogel sheets of chitosan, honey and gelatin as burn wound dressings. *Carbohydrate Polymers*, 88(1), 75–83, 2012.
- Wang, X., Ding, B., Sun, M., Yu, J., Sun, G., Nanofibrous polyethyleneimine membranes as sensitive coatings for quartz crystal microbalance-based formaldehyde sensors. *Sensors and Actuators B: Chemical*, 144(1), 11–17, 2010.
- Wirz, A., Simmen, U., Heilmann, J., Calis, I., Meier, B., Sticher, O., Bisanthraquinone glycosides of *Hypericum perforatum* with binding inhibition to CRH-1 receptors. *Phytochemistry*, 55(8), 941–947, 2000.
- Witte, M. B., Barbul, A., General principles of wound healing. *Surgical Clinics of North America*, 77(3), 509–528, 1997.
- Wölfle, U., Seelinger, G., Schempp, C., Topical application of St. John's Wort (*Hypericum perforatum*). *Planta Medica*, 80(02/03), 109–120, 2013.
- Xu, X., Yang, L., Xu, X., Wang, X., Chen, X., Liang, Q., Zeng, J., Jing, X., Ultrafine medicated fibers electrospun from W/O emulsions. *Journal of Controlled Release*, 108(1), 33–42, 2005.
- Yadollah-Damavandi, S., Chavoshi-Nejad, M., Jangholi, E., Nekouyian, N., Hosseini, S., Seifaei, A., Rafiee, S., Karimi, H., Ashkani-Esfahani, S., Parsa, Y., Mohsenikia, M., Topical *Hypericum perforatum* improves tissue regeneration in full-thickness excisional wounds in diabetic rat model. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2015, 1–4, 2015.
- Yager, D. R., Kulina, R. A., Gilman, L. A., Wound Fluids: A Window Into the Wound Environment? *The International Journal of Lower Extremity Wounds*, 6(4), 262–272, 2007.
- Yang, Y., Jia, Z., Li, Q., Hou, L., Liu, J., Wang, L., Guan, Z., Zahn, M., A shield ring enhanced equilateral hexagon distributed multi-needle electrospinning spinneret. *IEEE Transactions on Dielectrics and Electrical Insulation*, 17(5), 1592–1601, 2010.
- Yarin, A. L., Kataphinan, W., Reneker, D. H., Branching in electrospinning of nanofibers. *Journal of Applied Physics*, 98(6), 064501, 2005.
- Yoshinari, M., Oda, Y., Kato, T., Okuda, K., Influence of surface modifications to

titanium on antibacterial activity in vitro. *Biomaterials*, 22(14), 2043–2048, 2001.

Yousefi, I., Pakravan, M., Rahimi, H., Bahador, A., Farshadzadeh, Z., & Haririan, I., An investigation of electrospun Henna leaves extract-loaded chitosan based nanofibrous mats for skin tissue engineering. *Materials Science and Engineering: C*, 75, 433–444, 2017.

Zahedi, P., Rezaeian, I., Ranaei-Siadat, S.-O., Jafari, S.-H., Supaphol, P., A review on wound dressings with an emphasis on electrospun nanofibrous polymeric bandages. *Polymers for Advanced Technologies*, 21(2),77-95, 2009.

Zhang, B., Lalani, R., Cheng, F., Liu, Q., Liu, L., Dual-functional electrospun poly(2-hydroxyethyl methacrylate). *Journal of Biomedical Materials Research Part A*, 99A(3), 455–466, 2011.

