

## Doğal Katkılı Aljinat Bazlı Hidrojellerin Akne Kaynaklı Bakterilere Karşı Etkinliğinin İncelenmesi

Investigation of the Efficacy of Natural Additive Alginate-Based Hydrogels against Acne-Causing Bacteria

Sena DEMİR<sup>1</sup>, Nazlı Aysel YILDIZ YARIŞ<sup>2</sup>, Nisa SİPAHİ<sup>3</sup>, Pınar AĞYAR YOLDAŞ<sup>4</sup>, İkrime ORKAN<sup>5</sup>

UÇAR<sup>5</sup>

### ÖZ

Hidrojel bazlı cilt koruyucu örtüler yarayı çevreleyerek nemli bir ortam sağlamaları, emici özelliklerinin bulunması ve iyileşme sürecini hızlandırmaları açısından ciltte mevcut bir problemin onarımı ve tedavisi için sıklıkla tercih edilmektedir. Hidrojellerin doğal ürün ekstraktları ile kombinasyonu mevcut biyolojik aktivitelerini artırıcı özellik taşımakla kalmayıp antimikrobiyal ilaçlara karşı direnç gelişiminin önüne geçmek, tedavinin sürecini kısaltmak ve tedavi masraflarını azaltmak açısından büyük önem taşımaktadır. Bu çalışmada aljinat-agar kompleksi ile elde edilen hidrojellerin, *Aloe vera*, *Plantago lanceolata* (damar otu) ve propolis ekstraktları ile kombine edilerek akne tedavisinde etkili olma potansiyelleri in vitro olarak araştırılmıştır. Elde edilen bulgular doğrultusunda doğal içerikli bu ekstraktların hepsinin test edilen bakteriler üzerinde inhibisyon zonu oluşturduğu, gram negatif bakterilerde en etkili ekstraktın *Aloe vera* ve %30 etanol içerikli damar otu olduğu, gram pozitif bakterilerde ise *Aloe vera* jel ekstraktının daha fazla inhibisyon zonu oluşturduğu tespit edilmiştir. Ekstrakt içeren tüm hidrojellerin ise bakteri içeren ortamlarda geniş inhibisyon bölgeleri oluşturduğu görülmüştür. Hidrojellerin biyouyumluluğu WST-1 testi ile araştırılmış ve herhangi bir toksisite gözlenmemiştir. Sonuç olarak elde edilen doğal içerikli hidrojellerin akne ve sivilce gibi enfeksiyöz cilt problemlerinin tedavisinde etkili birer terapötik ajan olabilecekleri öngörülmektedir.

**Anahtar Kelimeler:** Hidrojel, *Aloe vera*, *Plantago lanceolata*, Propolis, Akne

### ABSTRACT

Hydrogel-based skin protective dressings are frequently preferred for the repair and treatment of an existing problem in the skin, as they provide a moist environment by surrounding the wound, have absorbent properties and accelerate the healing process. The combination of hydrogels with natural product extracts not only increases the existing biological activities, but also it is of great importance in terms of preventing the development of resistance against antimicrobial drugs, shortening the treatment period and reducing the treatment costs. In this study, hydrogels obtained with alginate-agar complex were combined with *Aloe vera*, *Plantago lanceolata* and propolis extracts and their potential of effective in acne treatment was investigated by in vitro tests. In line with the findings, it was determined that all of these extracts with natural content formed an inhibition zone on the tested bacteria. The most effective extract was *Aloe vera* and 30% ethanol content of *P. lanceolata* in gram-negative bacteria, and *Aloe vera* gel extract formed more inhibition zones in gram-positive bacteria. It was observed that all hydrogels containing the extract formed large inhibition zones in media containing bacteria. The biocompatibility of the hydrogels was investigated by the WST-1 test and no toxicity was observed. As a conclusion, it is predicted that the obtained natural hydrogels can be effective therapeutic agents in the treatment of acne and maybe infectious skin problems.

**Keywords:** Hydrogel, *Aloe vera*, *Plantago lanceolata*, Propolis, Acne

Bu çalışma 4-7 Eylül 2023 tarihlerinde Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi tarafından düzenlenen 15. Ulusal Kimya Kongresinde sözlü bildiri olarak sunulmuş ve genişletilmiş özet bildiri kitapçığında yayınlanmıştır.

<sup>1</sup> Biyomedikal Mühendisi Sena DEMİR, Düzce Üniversitesi, Biyomedikal Mühendisliği Bölümü, 1senaa.demir@gmail.com, ORCID: 0000-0002-1357-7349

<sup>2</sup> Biyomedikal Mühendisi Nazlı Aysel YILDIZ YARIŞ, Düzce Üniversitesi, Biyomedikal Mühendisliği Bölümü, nazliayselbm@gmail.com ORCID: 0000-0002-8470-9548

<sup>3</sup> Dr. Öğr. Üy. Nisa SİPAHİ, Niğde Ömer Halis Demir Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Tıbbi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, sipahi.nisa@gmail.com, ORCID: 0000-0001-8915-3545

<sup>4</sup> Öğr. Gör. Dr. Pınar AĞYAR YOLDAŞ, Düzce Üniversitesi, Bilimsel ve Teknolojik Araştırmalar Uygulama ve Araştırma Merkezi, pinaragyaryoldas@duzce.edu.tr, ORCID: 0000-0002-9277-0648

<sup>5</sup> Dr. Öğr. Üyesi İkrime ORKAN UÇAR, Düzce Üniversitesi, Mühendislik Fakültesi, Biyomedikal Mühendisliği Bölümü, ikrimucar@duzce.edu.tr, ORCID: 0000-0003-4026-1830

Corresponding Author: Nisa SİPAHİ  
e-posta/e-mail: sipahi.nisa@gmail.com

Geliş Tarihi / Received: 26.09.2022  
Kabul Tarihi/Accepted: 27.11.2023

## GİRİŞ

Son yıllarda Geleneksel ve Tamamlayıcı Tıp Uygulamalarındaki yeni yaklaşımlar birçok sektörde yeni doğal ürünlerin geliştirilmesine neden olmuştur. Çeşitli arı ürünlerinden (bal, propolis gibi) veya tıbbi bitkilerden farklı formlarda birçok doğal ürün elde edilmektedir. Özellikle bitkisel kaynaklı doğal ürünlerin çeşitli cilt problemlerinde tıbbi ve kozmetik amaçla kullanımı giderek artmaktadır. Bunun en temel nedeni sentetik ürünlerin olumsuz yan etkilerine karşı toplumda oluşan farkındalıktır.<sup>1, 2</sup> Çünkü bitkisel ürünler düşük toksisiteye sahip ürünlerdir. Bununla birlikte tıbbi bitkilerin antioksidan, antimikrobiyal, anti inflamatuvar, güneş koruyucu, yara iyileştirici gibi pek çok biyolojik aktiviteye sahip olduğu da yapılan çalışmalarla gösterilmiştir.<sup>3, 4</sup> Tıbbi bitkiler bu aktivitelerini sahip oldukları etken maddeler sayesinde göstermektedir. Örneğin *Plantago lanceolata* içerdiği biyoaktif bileşenlerden dolayı antibakteriyel, antioksidan, diüretik, anti-inflamatuvar, hepatoprotektif gibi farmakolojik özelliklere sahip tıbbi bitki grubundadır.<sup>5</sup> Ayrıca cilt hastalıkları için topikal olarak kullanılmaktadır.<sup>6</sup> *Aloe vera* biyolojik aktivitesinin iki ana kaynağı olan polisakkaritler ve glikoproteinler dahil olmak üzere birçok doğal molekül ihtiva etmektedir.<sup>7, 8</sup> *Aleo vera*'nın yara iyileştirici etkisi de literatürde oldukça yaygındır.<sup>9</sup> Ayrıca ihtiva ettiği önemli biyoaktif bileşiklerden dolayı yara iyileşmesinde rol oynamasının yanı sıra bakteri üremesini engellemesi ve makrofaj aktivitesini uyardığı bildirilmiştir.<sup>7</sup>

Tıbbi bitkilerin yanı sıra sıklıkla doğal ürünlerde karşımıza çıkan diğer ürünler arı ürünleridir ve propolis arı ürünleri arasında antimikrobiyal etkinliği en fazla bilinen doğal bir üründür.<sup>10</sup> Böyle etkin doğal ürünlerden elde edilen çeşitli preparatların dermal sorunlarda, enfekte yaralarda ve akne tedavisinde kullanımı, vücutta metabolize olmadan direk olarak problemle temas etmesi ve sahip oldukları biyolojik aktiviteleri sebebiyle avantaj sağlamaktadır. Diğer yandan günümüzde birçok ajan, topikal ve sistemik olarak akne tedavisinde

kullanılmaktadır; ancak kolaylıkla uygulanabilen daha etkili ürün arayışı sürmektedir. Bu sebeple akne tedavisinde doğal ve bitkisel ürünler daha fazla dikkat çekmektedir.<sup>11</sup>

Akne, karmaşık bir patogenezi olan ve her yaş grubunda ortaya çıkabilen kozmopolit dermal bir sorundur. Mevcut floranın disbiyozisi, *Propionibacterium acnes*, *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis* gibi bazı bakterilerle ilişkili enflamasyon, artmış sebasöz aktivite ve foliküllerin tıkanması akne lezyonların oluşumuna katkı sağlamaktadır.<sup>12</sup> Bu sebeple antimikrobiyal etkiye sahip doğal içerikli örtülerin akne ve sivilce tedavisinde etkili olabileceği düşünülmektedir.

Ciltte, akne ve benzeri bir problemi tedavi edici, onarıcı veya cildi koruyucu örtülerin başında hidrojel temelli ürünler gelmektedir.<sup>13</sup> Hidrojeller, fazla miktarda su alarak şişebilen bünyesinde biyolojik sıvıyı hapsedebilen, üç boyutlu yapıya sahip, düşük oranda çapraz bağlı ve dolayısıyla suda çözünmeyen polimerik ağlardır.<sup>14, 15</sup> Kontrollü ilaç dağıtım sistemleri, kontakt lensler, kozmetik, farmasötik uygulamalar, hijyen ürünleri, implantlar, biyosensör membranları, doku mühendisliği ürünleri ve yara örtüleri hidrojellerin biyomedikal alana yönelik en çok bilinen uygulamalarıdır.<sup>13-16</sup> Doku mühendisliğinde, gıda enkapsülasyonlarında, kontrollü ilaç salınımı sağlayan sistemlerde (trans dermal terapötik sistem) ve kozmetik ürünlerde de kullanılan hidrojeller, biyoyumlu ve güvenli olduğundan tercih sebebi olmaktadır. Çünkü hidrojel maskeleri genellikle soğutma ve yatıştırıcı etkileri olan doğal polimerlerden elde edilmektedir.<sup>17</sup> Kitosan, hyalüronik asit, poli(etilen glikol) (PEG), polivinil pirolidon (PVP), karboksimetil selüloz (CMC) ve aljinat biyolojik açıdan sıklıkla tercih edilen hidrojellerdir.<sup>13</sup>

Uzun yıllardan beri gıda alanında sıklıkla kullanılan hidrojellerden biri olan aljinatların son yıllarda biyomedikal alanda da kullanımları yaygın hale gelmiştir. Sahip oldukları biyoyumluluk ve biyodegradasyon

yeteneği ile birlikte yara sıvısını absorbe ederek nemli bir ortamda kuru bir yara içeriği sunan aljinat hidrojel, bakteriyel enfeksiyonları minimum düzeye indirmeleri ve hızlı iyileşmeyi teşvik etmeleri açısından yara örtüsü olarak kullanılma potansiyeline sahiptirler.<sup>18</sup> Çünkü hassas ciltlerde kullanımı uygun olmaktadır. Elde edildiği maddelere göre hidrojel maskeler akne ve sivilce tedavisinde, cilt tonu

eşitsizliğinin giderilmesinde, cildin yağdan arındırılmasında etkili olmaktadır.<sup>17</sup>

Tüm bu bilgiler ışığında bu çalışmada antimikrobiyal etkiye sahip doğal içerikli hidrojel, elde edilmesi ve cilt sağlığında olumlu etkileri olan *Aloe vera*, *Plantago lanceolata*, ve propolisli kombinasyonlar oluşturularak akne tedavisinde etkili olma potansiyelinin in vitro araştırılması amaçlanmıştır.

## MATERYAL VE METOT

### Tıbbi Bitkiler ve Propolis

Çalışmada kullanılan *Aloe vera*, *Plantago lanceolata* (damar otu) ve ham propolis Düzce Üniversitesi Geleneksel ve Tamamlayıcı Tıp Uygulama ve Araştırma Merkezinden (DÜGETAM) temin edilmiştir.

### Test Suşları

Çalışmada ekstraktların antimikrobiyal etkinliğini belirlemek üzere *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13883 referans suşlar ve DÜGETAM kültür koleksiyonundan sağlanan önceki çalışmalarda akne irinlerinden izole edilerek tanımlanmış *S. epidermidis*, *S. aureus*, *S. warneri*, *Acinetobacter lwoffii* izolatları kullanılmıştır.

### Ekstraksiyon

50 gr ham propolis tartılarak %96'lık 500 ml etanol içerisinde 48 saat boyunca oda sıcaklığında karanlık bir ortamda 50°C' de 600 rpm'de çalkalanmış ve filtre edilmiştir. Filtrasyon işlemi sonrası evaporasyon ile alkol uçurularak %30 PEG 400-su (polietilen glikol) ile çözülmüştür.

Blenderden geçirilen damar otu bitkisinden 5 g alınarak 50 ml %10 ve %30 etanol içeren şişelere konulmuş ve her iki numune karanlık bir ortamda 12 saat boyunca 50°C' de 600 rpm'de çalkalanmıştır. Daha sonrasında 12 saat boyunca oda sıcaklığında ve karanlık bir ortamda bekletilmiştir. Ardından süzülerek tüplere alınmış ve

santrifüj edilmiştir. *Aloe vera* jel eldesi için yapraklar steril bir bistüri ucu ile kesilerek içerisindeki jel tüplere alınmıştır. Daha sonra içerisinde %90 *Aloe vera* olacak şekilde %10'luk etanol ile karıştırılarak vortekslenmiştir. Tüm ekstraktlar gözenek boyutu 0.45 µm olan filtreden geçirilmiştir.

### Ekstraktların Antimikrobiyal Etkinliklerinin Belirlenmesi

Elde edilen ekstraktlar jellerin içerisine eklenmeden önce etki yönünden değerlendirilmiştir. Numunelerin antimikrobiyal etkinlikleri disk difüzyon yönteminden yararlanılarak belirlenmiştir.<sup>19</sup> Bir gün önceden TSA (Tryptic soy agar, Merck) besiyerinde hazırlanmış kültürlerden 1-1,5x10<sup>8</sup> CFU konsantrasyonunda steril fizyolojik serumda (McFarland 0,5) hazırlanarak MHA (Mueller Hinton agar, Merck) üzerine 100 µl yayılarak ekilmiştir. Test numuneleri boş disklerle (Bioanalyse, blank disc, 6mm) emdirilmiş ve test petripleri 37°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Pozitif kontrol olarak Gentamisin (Bioanalyse, CN 10µg disc), Streptomisin (Bioanalyse, S 10µg disc) kullanılmıştır. İnkübasyon süresi sonrası inhibisyon zon çapları ölçülmüştür. Deneyleler üç tekrarlı olarak çalışılmıştır.

### Hidrojel Eldesi

Çalışmada %1 oranında sodyum aljinat (Merck), %1,5 oranında agar (VWR Chemicals) ve %20 oranında ekstrakt içerecek şekilde 4 farklı jel hazırlanmıştır. Jeller her bir maddenin içeriğe uygun olarak tartılması ve su ile karıştırılmasıyla oluşturulmuştur.

Sterilizasyon için otoklav kullanılmıştır. Ekstraktların içerdiği fenolik bileşenlerin bozulmaması için ekstraktlar otoklav sonrası henüz sıvı formda olan jel içeriğine karıştırılmış ve sonrasında 60x15 mm'lik petrilere (İsolab) dökülmüştür. Oda sıcaklığında 15-20 dk bekletilip jel formunu aldıktan sonra +4°C'de steril olarak saklanmış ve ters mikroskopla (LEICA) jel yapısı görüntülenmiştir.

### Hidrojel Kararlılığın Değerlendirilmesi

Jel örtülerin suya karşı mukavemetini ölçmek için 2x2 mm ölçüsünde kesilen jeller 1ml'lik saf su içerisine koyulmuş ve oda sıcaklığında 48 saat bekletilerek gözlenmiştir. Jellerin boyutu ve ağırlığı 0. ve 48. saat zaman dilimlerinde ölçülerek karşılaştırılmıştır.

### Hidrojellerin Şişme Denge Değerinin Ölçülmesi

Hidrojel numunelerinden 1x1 mm boyutlarında kesitler alınarak neminden tamamen uzaklaştırılmak için kurutma etüvünde 37°C'de kurumaya bırakılmış, işlem sonrası kuru jel tartımı (Wd1) yapılmıştır. Tartımı yapılan numuneler 24 ml distile su içerisine bırakılmıştır. Devamında şişme denge değerine ulaşana kadar 1., 2. ve 24. saatlerde olmak üzere 3 farklı zaman aralığında distile su içerisinden çıkarılıp fazla suları süzülerek şişmiş tartımı (Ws) alınmıştır. Hidrojellerin kütlece şişme denge değeri (S) Denklem 1 ile hesaplanmıştır.

$$S = \frac{Ws - Wd1}{Wd1} \quad (\text{Denklem 1})$$

### Hidrojellerde Antimikrobiyal Etkinliğinin İncelenmesi

Ekstraktların antimikrobiyal etkisi araştırılmış ve sonrasında jellere eklenmiştir. Ekstrakt içeren jellerin antimikrobiyal etkinliğine ayrıca bakılmıştır. Bakteriler üzerinde inhibisyon zonu oluşturduğu bilinen

doğal ekstrakt katkılı aljinat bazlı hidrojellerin antimikrobiyal etkinliği yine aynı şekilde disk difüzyon yöntemine benzer şekilde araştırılmıştır.<sup>20</sup> Buna göre 1-1,5x10<sup>8</sup> CFU konsantrasyonundaki bakteri stok çözeltisi MHA besiyeri üzerine yayılmış ve hidrojel numuneleri besi ortamıyla temas edecek şekilde plak üzerine bırakılarak 37°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi sonunda inhibisyon bölgelerinin varlığı gözlenmiştir.

### Hücre Kültürü ve WST-1 Hücre Canlılık Testi

Hazırlanan jellerden ağırlıkça %4 oranında kesit alınarak havanda ezilmiştir.<sup>21</sup> Parçalama işlemi sonrasında 1 ml'lik %1 DMSO (Sigma) içerisinden 15 dk boyunca vortekslenerek 24 saat boyunca 37°C'de bekletilmiştir. Ertesi gün tekrar oda sıcaklığında 10 dakika vortekslenerek 0,45 µm'lik filtreden geçirilmiştir. Ede edilen sıvı preparatlar sitotoksitesite testi için kullanılmıştır. Numunelerin toksisitesi sağlıklı canlı hücre hattı olan L929 fare fibroblast hücrelerinde denenmiştir. Hücre hattı kültüründe %10 FBS (fetal Bovine Serum, Sigma) içeren DMEM (Dulbecco's Modified Eagle Medium, Sigma) besiyeri kullanılmıştır. Ürünün toksisitesini belirlemek için WST-1 kiti (Takara, Japan) hücre proliferasyon test protokolü uygulanmıştır. Her kuyucuğa test numuneleri ve 5x10<sup>4</sup> oranında hücre bırakılarak 24 saat, 37°C, %5 CO<sub>2</sub> koşullarında inkübasyona tabi tutulmuş, inkübasyon sonrası mikropakanın her kuyucuğuna 10 µl WST solüsyonu eklenerek 1 saat boyunca aynı şartlarda inkübe edilmiştir. Sonrasında Elisa Reader (Biotek 800, USA) kullanılarak ölçümler gerçekleştirilmiştir. Hücre canlılığını %50 ve aşağısına düşüren konsantrasyonlar toksik olarak kabul edilmiştir. Deney sonuçları, hiçbir ürün verilmeyen sağlıklı hücreler (kontrol grubu) %100 canlı hücre kabul edilerek değerlendirilmiştir.

## BULGULAR VE TARTIŞMA

### Ekstraktların Antimikrobiyal Etkisi

Hidrojel içerisine eklenmek üzere 4 farklı ekstrakt elde edilmiştir. Ekstraktların antimikrobiyal etkinliği belirlendikten sonra hidrojel içerisine eklenmiştir. Ekstraktların her birinin her bir bakteri üzerinde disk difüzyon metodu kullanılarak oluşturduğu inhibisyon bölgeleri hesaplanmış ve sonuçlar standart sapma değerleriyle birlikte ( $\pm$ SD) verilmiştir (Tablo 1). Tüm bu sonuçlara göre ekstraktların her birinin test edilen bakteriler üzerinde inhibisyon zonu oluşturduğu ve gram negatif bakterilerde en etkili ekstraktın *Aloe vera* ve Damar otu-2 (%30 etanol) olduğu görülmüştür (Şekil 1). Gram pozitif bakterilerde ise *Aloe vera*'nın ve ekstraksiyon yönteminin daha fazla inhibisyon zonu oluşturduğu görülmüştür. Bitkilerin içerdiği fenolik bileşenlerin ortaya çıkarılması için en iyi çözücülerden birisi etanoldür.<sup>22</sup> Bu sebeple damar otu bitkisinin iki farklı etanol konsantrasyonunda ekstraksiyonu gerçekleştirilmiştir ve sonuç olarak %30 etanol ile elde edilen ekstraktın tüm bakterilerde daha etkili olduğu görülmüştür. Bu etkinin alkol oranından kaynaklanıp kaynaklanmadığı ise negatif kontrol olarak çözücülerin direkt olarak bakteriler üzerinde denenmesiyle doğrulanmıştır. Bitkisel molekül içermeyen %10 ve %30'luk etanolün disk difüzyon testi sonrasında bir inhibisyon bölgesi oluşturmadığı görülmüştür.

Bilindiği üzere cildin normal florasında bulunan *Staphylococcus* spp. türü bakteriler akne, sivilce ve yara gibi durumlarda fırsatçı patojen olarak fazlaca çoğalmaktadır. Ayrıca *Staphylococcus* spp. türlerinde sıklıkla antimikrobiyal ajan direncinin rapor edilmesi basit enfekte lezyonlar da bile tedavinin çıkmaza girmesine neden olabilmektedir. Aknenin tedavisi sabır gerektiren uzun bir süreçtir. Özellikle tedavide topikal uygulanan antimikrobiyal ilaca karşı direnç gelişimi tedavinin süresinin uzamasına ve tedavi masraflarının artmasına neden olabilmektedir.<sup>23</sup> Çoklu ilaç direnci (MDR) gösteren bakterilerin neden olduğu enfeksiyöz

durumlar bilim insanlarını alternatif tedavi ve terapötik ajan arayışına itmektedir. Dolayısıyla bakteriyel enfeksiyonlara karşı korunma ya da tedavide ulaşımı kolay, yan etkisi olmayan doğal ürünlere gereksinim oldukça artış göstermiştir.<sup>10</sup> Bu hususta doğal ürünlerin tedavide etkili olabilme potansiyelleri ve tıbbi bitkilerin profilaktik çözümleri araştırma konusu olmaktadır. Çeşitli tıbbi bitkilerden özütlenmiş ürünlere sıklıkla rastlanmakta ve "Fitoterapi" olarak karşımıza çıkmaktadır.<sup>24-26</sup> Bu çalışmada *P. lanceolata* ve *Aloe vera* tıbbi bitkileri kullanılmıştır. Halk arasında damar otu olarak bilinen *P. lanceolata*'nın birçok ülkede çeşitli sağlık sorunlarında ve özellikle sivilce ve abse gibi cilt sorunlarında kullanıldığı bilinmektedir.<sup>27</sup> Çalışmada kullanılan *Aloe vera* bitkisi de aynı şekilde egzamadan, yara, yanık tedavilerine kadar geniş bir yelpazede cilt problemlerinde sıklıkla kullanılan önemli bir tıbbi bitkidir.<sup>28</sup> Yapılan çalışmalarda son yıllarda antimikrobiyal etkisi ile öne çıkan diğer bir doğal ürün ise propolistir. Propolis sağlık için faydalı olduğu düşünülen önemli bir arı ürünüdür. Çok çeşitli farmasötik özelliklere ve biyolojik aktivitelere sahip zengin fenol içeriğine sahiptir.<sup>10</sup> Propolisin antibakteriyel etkinliğinin araştırıldığı bir çalışmada propolis enkapsüle edilmiş aljinat bazlı nanopartiküllerin çeşitli zararlı bakterilere karşı saf propolise veya antibiyotiğe (Klindamisin) göre daha büyük bir antimikrobiyal aktivite sergilediği ortaya koyulmuştur.<sup>29</sup> İçerisine propolis entegre edilmiş sodyum aljinat iskelelerinin çalışıldığı bir başka çalışmada ise bu iskelelerin *E. coli* ve *S. aureus* bakterilerine karşı antimikrobiyal aktiviteleri incelenmiş, ilaveten insan dermal fibroblast hücrelerine karşı sitotoksitesi araştırılmış ve nontoksik yapıya sahip olduğu belirlenen 3D basılmış bu sodyum aljinat iskelelerinin yara örtüsü uygulamaları için kullanılabileceği rapor edilmiştir.<sup>30</sup>

Dolayısıyla bu çalışmada hâlihazırda doğal biyopolimer olan aljinat hidrojellerin antimikrobiyal etkinliğinin doğal ekstrakt ilaveleri ile artırılarak akne tedavisi için etkili olabileceği düşünülmüştür. Bazı referans

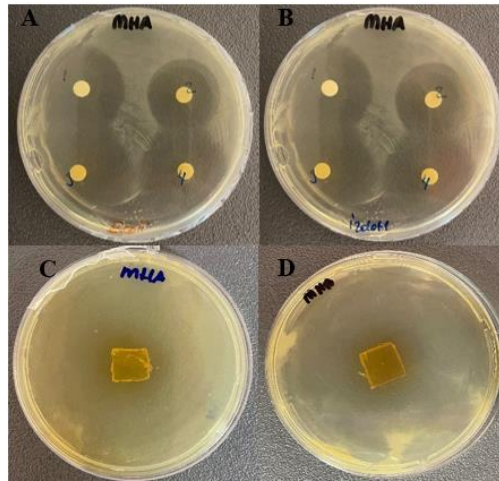
suşlar ve kültür koleksiyonundan sağlanan sivilce kaynaklı klinik izolatlar karşı bu ekstraktların etkin olması umut vaadedici olarak değerlendirilmiştir. Çalışmada ekstraktların etki spektrumunun değerlendirilmesi için önemli gram negatif

patojenlerden *K. pneumoniae* ve *E. coli* suşları da çalışmaya dahil edilmiştir. Sonuç olarak ekstraktların test edilen tüm bakteriler üzerinde inhibisyon zonu oluşturduğu görülmüştür.

Tablo 1. Ekstraktların Antimikrobiyal Etkileri

Bakteri Adı	<i>Aloe vera</i>	Damar otu-1	Damar otu-2	Propolis	S 10µg	CN 10µg
Zon Çapı mm (±SD)						
<i>E. coli</i>	30±3,51	20±0,57	25±1,52	25±1,52	20±0	25±0
<i>K. pneumoniae</i>	25±2	20±1	25±1,52	25±2	20±0	22±0,57
<i>S. aureus</i>	30±1	15±0,57	22±3,60	14±3,51	20±0	25±0
<i>S.epidermidis</i>	36±3,51	12±0,57	27±1,52	15±4,04	20±0	25±0
<i>S.epidermidis</i>	30±3,51	25±3,51	40±2	32±1,52	25±0	30±0
<i>S. aureus</i>	32±1,52	24±4,50	35±0	27±1,52	30±0	35±0
<i>S. warneri</i>	29±3,60	22±1,52	30±3,51	19±3,51	30±0	35±0
<i>A. lwoffii</i>	30±0,57	23±1,52	26±1,52	17±4,50	27±0,57	30±0

S: Streptomisin, CN: Gentamisin, SD:Standart Hata



Şekil 1. Antimikrobiyal Etkinlik Testleri: A-B: Ekstraktların antimikrobiyal etkisi için yapılan disk difüzyon testi, 1: *Aloe vera*, 2:Damar otu-1, 3: Damar otu-2, 4: Propolis, C-D: Ekstrakt içeren hidrojelilerin yayma plak üzerindeki inhibisyon testi, C: propolis içeren jel, D: Damar otu-2 içeren jel

### Hidrojel Yapıların Değerlendirilmesi

Hidrojel içerisine eklenmek üzere 4 farklı ekstrakt ve bu ekstraktların her birinden ayrı ayrı 4 farklı hidrojel elde edilmiştir. Aljinatlar, sentez yöntemleri ve içeriği itibarıyla

farklılaşarak jel film yapılar kolaylıkla dönüşmektedir. Bu sebeple hidrojel eldesinde sıklıkla kullanılmaktadır.<sup>31</sup> Hidrojel üretim sürecinde kullanılan malzemeler hem doğal hem de sentetik olabilirken bunun yanı sıra

doğal karışımları içeren hibrit hidrojel de bulunmaktadır. Bu doğal polimerler doğal kaynaklardan elde edilmektedir. Örneğin çeşitli polisakkaritler (örn., agaroz, aljinat, karagenan, kitosan), glikozaminoglikanlar (heparin, hyaluronik asit, keratan), tıbbi bitkiler, bakteri kültürleri veya hayvansal kaynaklı polipeptitler ve proteinler (örneğin kolajen, fibrin, jelatin, ipek) sıklıkla hidrojel sentezinde kullanılmaktadır.<sup>32</sup> Bu çalışmada aljinat-agar kompleksi ile hidrojel elde edilmiş ve biyolojik aktivitenin artırılması için içerisine doğal ürün ekstraktları eklenmiştir.

Gravimetrik analizler sonucu elde edilen verilere göre farklı ekstraktlarla hazırlanmış hidrojellerin su absorblama kabiliyetlerinin ekstrakt ilavesi ile yüksek oranda farklılık göstermediği, aljinat ile yapılan çalışmalara kıyasla agar ilavesinin şişme denge değerine %1 ila %3 civarında artırıcı etkisinin olduğu değerlendirilmiştir (Tablo 2). Jellerin dayanıklılığını ve suya karşı mukavemetini ölçmek için 2x2 mm ölçüsünde kesilen jeller 1ml'lik saf su içerisine koyulmuş ve oda sıcaklığında iki gün bekletilmiştir. Sonuç olarak jel yapısının bozulmadığı içerisindeki ekstraktın ise suda çözündüğü görülmüştür. Bu durum olumlu olarak değerlendirilmiştir. Çünkü antimikrobiyal etki gösteren bitkisel içeriğin deriye difüze olması gerekmektedir. Difüzyonun varlığı hidrojellerin antimikrobiyal etkinliğinin belirlenmesi sırasında da doğrulanmıştır. Gerçekleştirilen

bu çalışmada hidrojel bakteri içeren ortama bırakılmış ve jellerin antimikrobiyal ajan saldı, yayma plaklarda bakteriler üzerinde inhibisyon bölgeleri oluşturduğu görülmüştür (Şekil 1C ve 1D). Bu inhibisyon bölgelerinin ekstraktlar için yapılan disk difüzyon testinden daha büyük olduğu görülmüştür. Bunun nedeni olarak ortama bırakılan madde miktarının ikinci deneyde daha fazla olması ve aljinatın kendi antimikrobiyal etkisinin ekstraktlarla kombine etki yaratmasından kaynaklandığı düşünülmektedir. Çünkü aljinat gibi su bazlı jeller deriyi nemlendirmekte ve nemli deride ise jel içerisinde bulunan hidrofilik maddeler yavaş yavaş salınarak kolaylıkla difüze olabilmektedir.<sup>33</sup> Yapılan bir çalışmada aljinat-nişasta ile kapsüllenmiş biberiye uçucu yağının daha uzun süre korunabileceği ve yavaş salınımı nedeniyle etkisini daha uzun süreli gösterebileceği bildirilmiştir.<sup>34</sup>

Hidrojellerin kullanım alanlarına göre terapötik ajanın etkinliğinin artırılmasını sağlayacak özelliklerinden biri de yapışma kabiliyetleridir. Yapılan çalışmalarda bunun için çapraz bağlı ve enzimatik olarak çapraz bağlı bazı hidrojel çalışmalarının yapışma kabiliyetinin iyi olduğu yönünde değerlendirme yapılmıştır.<sup>35, 36</sup> Bu çalışmada elde edilen jel formun sivilce bölgesine tutunması noktasında ıslak ya da kuru zemin fark etmeksizin bir problem olmadığı gözlenmiştir.

**Tablo 2. Şişme Denge Değerleri**

Hidrojel	Şişme Denge Değeri		
	1. Saat	2. Saat	24. Saat
A	0,5	0,9	7,2
P	0,4	0,7	6,4
D1	0,5	0,9	7,4
D2	0,5	0,8	7,9

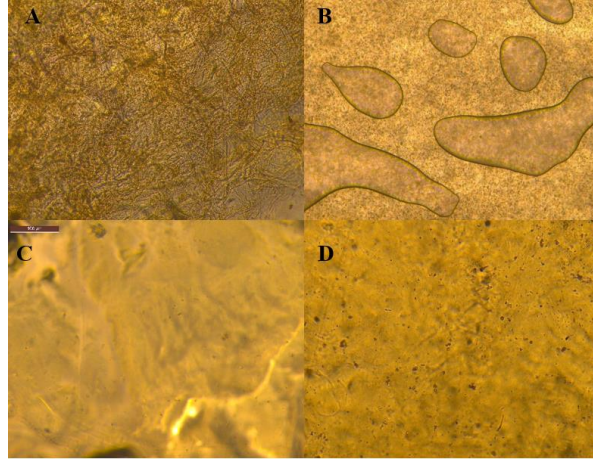
A: *Aloe vera* hidrojel, P: *Propolis* hidrojel, D1: *Damar otu* (%10 etanol) hidrojel, D2: *Damar otu* (%30 etanol) hidrojel

*Aloe vera* jel ekstraktı ilaveli hidrojin mikroskop görüntüsü analizlerine göre yapraklı kısmın damarlı karmaşık yapısı ve hidrojin katmanlı pürüzlü yapısı arasındaki

fark göze çarpmaktadır. *P. lanceolata* (%10 ve %30 etanol) içerikli hidrojelde yapının daha katmanlı ve yoğun olduğu yönünde değerlendirme yapılmıştır. *Propolis* ekstraktı

ilaveli jel görüntüsünde ise bazı bölgelerde katmanlı adacık şeklinde yapılar gözlenmiştir. Tüm mikroskop görüntülerinden yola çıkılarak ekstraktların tüm numunelerde yüzeyde homojen dağıldığı, kullanılan polimerlerin çapraz bağlanmadan kaynaklı olarak katmanlı ve yoğun bir yapıya sahip olduğu görülmüştür (Şekil 2). Aljinat ve agar kompleksi ile hazırlanan jellerin hidrofilik

yapısının agar ilavesiyle artırıldığı düşünülmektedir. Bu amaç doğrultusunda elde edilen jel formun gravimetrik analizine göre kitosan-akrilamid hidrojeline benzer sonuçlar elde edilmiştir. Kitosan polimeri tercih edilmiş bir çalışmada sentez için yapıya bir miktar akrilamid monomerinin dahil edilmesiyle hidrojel formun hidrofilik özelliklerinin artırıldığı görülmüştür.<sup>37</sup>



**Şekil 2. Hidrojellerin Mikroskop Altındaki Yüzey Görüntüleri** A: *Aloe vera* ekstraktı içeren hidrojel. B: Propolis ekstraktı içeren hidrojel. C: Damar otu 1 (%10 etanol) ekstraktı içeren hidrojel. D: Damar otu 2 (%30 etanol). Tüm görüntüler 20 X ile elde edilmiştir.

## Hidrojellerin Biyouyumluluğunun Değerlendirilmesi

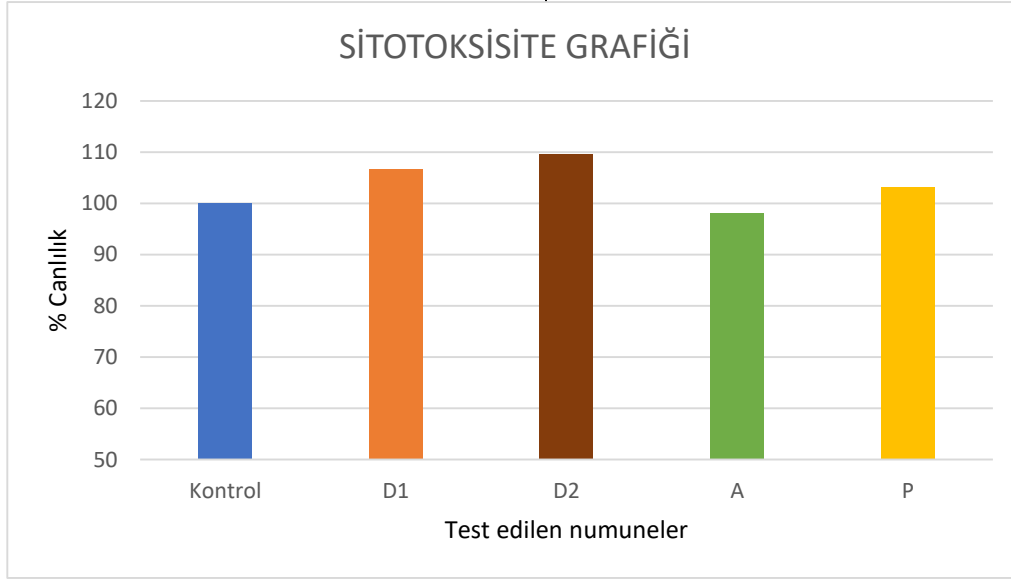
Hidrojellerin sitotoksitesite analizleri, suda çözünen tetrazolyum tuzlarından olan WST-1 ile belirlenmiştir. Hücre canlılığının kolorimetrik yöntemle belirlendiği bu testte uygulama yapılan hücrelerin canlılığı, uygulama yapılmayan hücrelerin canlılığını %100 kabul ederek % olarak hesaplanır. Buna göre; kontrole kıyasla, D1 numunesi %106,67, D2 numunesi %109,54, A numunesi %98,09, ve P numunesi %103,22 oranında canlılık göstermiştir (Şekil 3). Dolayısıyla ekstrakt katkılı aljinat bazlı hidrojellerin in vitro ortamda herhangi bir toksisitesine rastlanmamıştır. Yapılan çalışmalarda aljinatın doku mühendisliğinde 3D yapılar eldesi için oldukça uygun olduğu ve sitotoksitesite testlerinde yüksek hücre canlılığı sağladığı görülmüştür.<sup>38, 39</sup> Yine bazı çalışmalarda *Aloe vera*'nın polivinil alkol (PVA) ile karışımından elde edilen hidrojel filmlerde *Aloe vera*'nın PVA ya dahil

edilmesinin fibroblast hücrelerinin çoğalmasında önemli ölçüde iyileştirdiği ve yara iyileşmesini teşvik edebileceği savunulmaktadır.<sup>40</sup> *Aloe vera*'nın uzun süreli salınım özelliklerine odaklanan sodyum aljinat/polivinil alkol hidrojel matrislere yönelik yapılan bir başka çalışmada ise dermal fibroblast hücrelerinin *Aloe vera* katkılı hidrojel matrisler üzerinde mükemmel bir hücre yapışması gösterdiği, hücre yayılmasını ve çoğalmasında arttırdığı rapor edilmiştir.<sup>41</sup> Aranci ve arkadaşları propolis katkılı sodyum aljinat iskelelerinin insan dermal fibroblast hücrelerine karşı nontoksik yapıya sahip olduğunu ortaya koymuştur.<sup>30</sup> Bu sonuçlar bizim çalışmamızla paralellik göstermektedir. Sonuç olarak bu çalışmada elde edilen hidrojellerin fibroblast hücrelerinde toksitesite göstermediği ortaya



konmuştur. Hatta D2 hidrojelinin diğer jellere göre hücre proliferasyonunu artırdığı gözlenmiştir. Damar otu ekstraktı içeren her iki hidrojel propolis ve *Aleo vera* içerikli

numunelere kıyasla hücre proliferasyonunu artırdığı görülmüştür. Bu durum, dermal hasarda iyileşmenin daha hızlı olabileceğini düşündürmektedir.



**Şekil 3. Hidrojellerin Sitotoksitesisi:** Her bir jelin ağırlıkça %4'ü (0,1g/ml) sitotoksosite testi için kültür ortamına konmuştur. D1: Damar otu %10 etanol. D2: Damar otu %30 etanol. A: *Aleo vera*. P: Propolis

## SONUÇ VE ÖNERİLER

Aljinat hidrojeller son yıllarda yara, akne ve benzeri cilt sorunlarında sıklıkla kullanılmaktadır. Özellikle akne tedavisi için antibiyotik katkılı cilt örtülerine yönelik çalışmalarla birlikte doğal biyopolimer katkılı aljinat hidrojeller de elde edilmektedir. Buradaki amaç aljinatın mevcut biyolojik aktivitesinin artırılmasına yönelik olmaktadır. Çünkü aljinat yüksek biyoyumluluğa sahip doğal bir polimerdir. Bu sebeple bu çalışmada antimikrobiyal etkiyi artırmak için doğal bitkisel ekstraktlar kullanılması düşünülmüştür. Akne ve sivilcenin ciltte bakteriyel amplifikasyon ile birlikte oluşması ve yara benzeri ileri lezyonlara neden olma potansiyeli bulunduğundan ekstraktlar sivilce ilişkili bakterilerde denenmiştir. Çalışma bir AR-GE

çalışmasıdır. Mevcut bulgulardan yararlanılarak ileri çalışmalar düşünülmektedir. Sonuç olarak tıbbi bitkilerin ve propolisin antimikrobiyal etkinliği olduğu ve bakteriler üzerinde inhibisyon zonu oluşturduğu görülmüştür. Doğal ekstrakt katkılı hidrojellerin ise ortama antimikrobiyal ajan salarak bu etkiyi sürdürdüğü ve in vitro ortamda herhangi bir toksisiteye sahip olmadığı tespit edilmiştir. Çalışma bir in vitro çalışmadır. Mevcut bulgular, bu çalışmada elde edilen hidrojel numunelerinin etkili bir terapötik ajan olabileceğini düşündürse de hidrojellerin etkinliğinin klinik olarak araştırılması gerekmektedir.

## KAYNAKLAR

1. Sipahi, N. ve Ağyar Yoldaş, P. (2022). "Determination and Comparison of Phenolic Compound Content and Antimicrobial Activity of Some Propolis Samples in Turkey". *International Journal of Traditional and Complementary Medicine Research*, 3 (1), 39-44. <https://doi.org/10.53811/ijtcmr.1022146>
2. Aladağ Bayrak, Ö. ve Gönenç Güler, E. (2022). "Bütüncül Tamamlayıcı ve Alternatif Tıbbın (BTAT) Sağlık Turizmi ile Bütünleştirilmesinde Sağlık Hizmeti Yöneticilerinin BTAT Bilgi Düzeyleri ve Tutumları: Trakya Bölgesi Örneği". *Gümüşhane Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 11 (2), 522-532. <https://doi.org/10.37989/gumussagbil.947024>.

3. Üstündağ Okur, N, Karadağ, A. E, İpekçi, E. ve Özcan Bülbül, E. (2020). "Kozmetik Preparatlar ve Kozmetik Preparatlarda Kullanılan Bitkiler". *Journal of Literature Pharmacy Sciences*, 9 (3), 292-303. <https://dx.doi.org/10.5336/pharmsci.2020-73691>
4. Kulaksız Pişkin, B. ve Seyhan, G. V. (2021). "Natural Preservatives". *International Journal of Traditional and Complementary Medicine Research*, 2 (3), 184-192. <https://doi.org/10.53811/ijtcmr.987607>
5. Kósa, D, Petó, A, Fenyyesi, F, Váradi, J, Vecsernyés, M, Gonda, S, Vasas, G, Fehér, P, Bácskay, I. and Ujhelyi, Z. (2021). "Formulation of Novel Liquid Crystal (LC) Formulations with Skin-Permeation-Enhancing Abilities of *Plantago lanceolata* (PL) Extract and Their Assessment on HaCaT Cells". *Molecules*. 26 (4), 1023. <https://doi.org/10.3390/molecules26041023>
6. Oloumi, M. M, Vosough, D, Derakhshanfar, A. and Nematollahi, M. H. (2011). "The Healing Potential of *Plantago Lanceolata* Ointment on Collagenase-Induced Tendinitis in Burros (*Equus Asinus*)". *Journal of Equine Veterinary Science*, 31, 470-474. <https://doi.org/10.1016/j.jevs.2011.03.014>
7. Boateng, J. and Catanzano, O. (2015). "Advanced Therapeutic Dressings for Effective Wound Healing-A Review". *Pharmaceutical Sciences*, 104, 3653-3680. <https://doi.org/10.1002/jps.24610>
8. Hanif, W, Hardiansyah, A, Randy, A. and Asri, L.A.T.W. (2021). "Physically Crosslinked PVA/Graphene-Based Materials/Aloe Vera Hydrogel with Antibacterial Activity". *RSC Advances*, 11 (46), 29029-29041. <https://doi.org/10.1039/D1RA04992E>
9. Boudreau, M. D. and Beland, F. A. (2006). "An Evaluation of the Biological and Toxicological Properties of *Aloe Barbadensis* (Miller), *Aloe Vera*". *Journal of Environmental Science and Health Part C*, 24 (1),103-154.
10. Sipahi, N, Göç Rasgele, P, Kaya, E. (2021). "Apiterapi Ürünlerinin Farmakolojik Özellikleri". Atayoğlu AT, editör. Apiterapi. 1. Baskı. Ankara: Türkiye Klinikleri, 55-60.
11. Topaloğlu Demir, F. (2020). "Akne Tedavisinde Tamamlayıcı ve Alternatif Tedavi Yöntemleri". *Turkderm-Turk Arch Dermatol Venereol*, 54 (1), 62-66. <https://dx.doi.org/10.4274/turkderm.galenos.2020.66502>
12. Gurnee, E. A, Kamath, S. ve Kruse, L. (2019). "Complementary and Alternative Therapy for Pediatric Acne: A Review of Botanical Extracts, Dietary Interventions, and Oral Supplements". *Pediatric Dermatology*, 36, 596-601. DOI: 10.1111/pde.13904
13. Ulusoy, A. ve Dikmen, N. (2020). "Hidrojenlerin Tıpta Uygulamaları". *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*, 29 (2), 129-137. <https://doi.org/10.17827/akt.603432>
14. Varaprasad, K, Raghavendra, G. M, Jayaramudu, T, Yallapu, M. M. and Sadiku, R. (2017). "A Mini Review on Hydrogels Classification and Recent Developments in Miscellaneous Applications". *Materials Science and Engineering: C*, 79, 958-971. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2017.05.096>
15. Çolpankan Güneş, O, Özer, İ. E, Kara, A, Ziyilan Albayrak, A. ve Havıtcıoğlu, H. (2021). "Lif Kabağı Takviye Edilmiş Kitosan-İpek Hidrojel Kompozit Doku İskelelerinin Kırıkarak Doku Hasarı Tedavisinde Kullanımının Araştırılması". *Dokuz Eylül Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Fen ve Mühendislik Dergisi*, 23 (69), 937-950. <https://doi.org/10.21205/deufmd.2021236921>
16. Caló, E. and Khutoryanskiy, V. V. (2015). "Biomedical Applications of Hydrogels: A Review of Patents and Commercial Products". *European Polymer Journal*, 65, 252-267. <https://doi.org/10.1016/j.eurpolymj.2014.11.024>
17. Kadakal, T. (2019). "Vitamin A ve Gümüş Nanotanecek Katkılı Cilt Maskesi Üretimi". Yüksek Lisans Tezi. İstanbul Teknik Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
18. Uğur, S, Uğurlu, E, Saygılı, E. İ, Duysak, Ö. ve Sayın, S. (2022). "Aljinatın Biyomedikal Alanlarda Kullanımı". *Marine and Life Sciences*, 4 (1), 91-99. <https://doi.org/10.51756/marlife.1084547>
19. CLSI. (2018). "Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing". 28th ed. CLSI supplement M100-S28. Wayne, PA, USA: Clinical and Laboratory Standards Institute.
20. Palantöken, A, Yılmaz, M. S, Altıkatoğlu Yapaöz, M. ve Pişkin, S. (2016). "Metal ve Metaloksit Nanopartikülerini İçeren Hidrojellerin Antimikrobiyal özelliklerinin İncelenmesi". *Dokuz Eylül Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Fen ve Mühendislik Dergisi*, 18 (53), 224-238. DOI: 10.21205/deufmd.20165318383
21. Hou, J, Li, C, Guan, Y, Zhang, Y. and Zhu, X.X. (2015). "Enzymatically Crosslinked Alginate Hydrogels with Improved Adhesion Properties". *Polymer Chemistry*, 6 (12), 2204-2213. <https://doi.org/10.1039/C4PY01757A>
22. Temiz, M. A. ve Temur, A. (2017). "Effect of Solvent Variation on Polyphenolic Profile and Total Phenolic Content of Olive Leaf Extract". *Yuzuncu Yıl University Journal of Agricultural Sciences*, 27 (1), 43-50. <https://doi.org/10.29133/yyutbd.305097>
23. Demir, B, Denk, A, Erden, İ, Çiçek, D. ve Uçak, H. (2015). "Akne Vulgarisli Hastalarda Nazal Staphylococcus Aureus Taşıyıcılığının Değerlendirilmesi". *Türkderm-Deri Hastalıkları ve Frengi Arşivi Dergisi*, 49 (3), 196-199. DOI: 10.4274/turkderm.47550
24. Sakkas, H, Gousia P, Economou, V, Sakkas, V, Petsios, S. and Papadopoulou, C. (2016). "In vitro Antimicrobial Activity of Five Essential Oils on Multidrug Resistant Gram-Negative Clinical Isolates". *Journal of Intercultural Ethnopharmacology*, 5 (3), 212-218. DOI: 10.5455/jice.20160331064446
25. Güceyü, Ç, Goncagül, G, Günaydın, E. ve Akpınar, P. (2019). "Zencefil'in Antibakteriyel Etkisi". *Etilik ve Veteriner Mikrobiyoloji Dergisi*, 30 (1), 44-50.
26. Cengiz, S, Uçar, M, Değer, O, Uçar, F. ve Yiğit Gerigelmez, A. (2021). "Effects of Aged Garlic Extracts on Caspase-3 Activity in Myeloid Cancer Cell Lines". *Gümüşhane Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 10 (3), 513-520. <https://doi.org/10.37989/gumussagbil.943705>
27. Shah, M. Z, Guan, Z. H, Din, A. U, Ali, A, Rehman, A. U, Jan, K, Faisal, S, Saud, S, Adnan, M, Wahid, F, Alamri, S, Siddiqui, M. H, Ali, S, Nasim, W, Hammad, H. M, Fahad, S. (2021). "Synthesis of Silver Nanoparticles Using *Plantago Lanceolata* Extract and Assessing Their Antibacterial and Antioxidant Activities". *Scientific Reports*, 11 (1), article number: 20754, 1-14. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-00296-5>
28. Sánchez, M, González-Burgos, E, Iglesias, I. and Gómez-Serranillos, M. P. (2020). "Pharmacological Update Properties of *Aloe Vera* and its Major Active Constituents". *Molecules*, 25 (6), 1324. doi: 10.3390/molecules25061324.
29. Hegazi, A. G, El-Houssiny, A. S. and Fouad, E. A. (2019). "Egyptian Propolis 14: Potential Antibacterial Activity of Propolis-Encapsulated Alginate Nanoparticles against Different Pathogenic Bacteria Strains". *Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology*, 10, 045019, 1-8. DOI:10.1088/2043-6254/ab52f4
30. Aranci, K, Uzun, M, Su, S, Cesur, S, Ulag, S, Amin, A, Guncu, M. M, Aksu, B, Kolaylı, S, Ustundag, C. B, Silva, J. C, Ficali, D, Ficali, A. and Gunduz, O. (2020). "3D Propolis-Sodium Alginate Scaffolds: Influence on Structural Parameters, Release Mechanisms, Cell Cytotoxicity and Antibacterial Activity". *Molecules*, 25, 5082, 1-22. doi:10.3390/molecules25215082
31. Zhang, M. and Zhao, X. (2020). "Alginate Hydrogel Dressings for Advanced Wound Management". *International Journal of Biological Macromolecules*, 162, 1414-1428. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.07.311>
32. Łabowska, M. B, Cierluk, K, Jankowska, A. M, Kulbacka, J, Detyna, J. and Michalak, I. (2021). "A Review on the Adaption of Alginate-Gelatin Hydrogels for 3D Cultures and Bioprinting". *Materials*, 14 (4), 858, 1-24. <https://doi.org/10.3390/ma14040858>

33. İstanbulluoğlu, S, Timur, S. S. ve Gürsoy, R. N. (2019). Kozmetiklerde Kullanılan Biyoteknolojik Etkin ve Yardımcı Maddeler. Hacettepe University Journal of the Faculty of Pharmacy, 39 (2), 98-112.
34. Öztürk, F.S. (2016). Mikroenkapsüle Biberiye Esansiyel (Uçucu) Yağının İn Vitro Antioksidan Etkisinin İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi. İnönü Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Malatya.
35. Capanema, N. S. V, Mansur, A. A. P, de Jesus, A. C, Carvalho, S. M, de Oliveira, L. C. and Mansur H. S. (2018). "Superabsorbent Crosslinked Carboxymethyl Cellulose-PEG Hydrogels for Potential Wound Dressing Applications". International Journal of Biological Macromolecules, 106, 1218-1234. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.08.124>
36. Kim, M. H, Lee, J. N, Lee, J, Lee, H. and Park, W. H. (2020). "Enzymatically Cross-Linked Poly ( $\gamma$ -glutamic acid) Hydrogel with Enhanced Tissue Adhesive Property". ACS Biomaterials Science and Engineering, 6 (5), 3103-3113. <https://doi.org/10.1021/acsbiomaterials.0c00411>
37. Özbaş, Z. (2014). Uyarıya Duyarlı Biyopolimer Jellerin Sentezi, Karakterizasyonu ve İlaç Salımında Kullanımlarının İncelenmesi. Doktora Tezi. İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
38. Jalayeri, M, Pirmia, A, Najafabad, E. P, Varzi, A. M. and Gholami, M. (2017). "Evaluation of Alginate Hydrogel Cytotoxicity on Three-Dimensional Culture of Type A Spermatogonial Stem Cells". International Journal of Biological Macromolecules, 95, 888-894. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2016.10.074>
39. Bergonzi, C, Remaggi, G, Graiff, C, Bergamonti, L, Potenza, M, Ossiprandi, M. C, Zanotti, I, Bernini, F, Bettini, R. and Elvirri, L. (2020). "Three-Dimensional (3D) Printed Silver Nanoparticles/Alginate/Nanocrystalline Cellulose Hydrogels: Study of The Antimicrobial and Cytotoxicity Efficacy". Nanomaterials, 10 (5), 844. DOI: 10.3390/nano10050844
40. Hajian, M, Mahmoodi, M. and Imani, R. (2017). "In Vitro Assessment of Poly (Vinyl Alcohol) Film Incorporating Aloe Vera for Potential Application as a Wound Dressing". Journal of Macromolecular Science, Part B: Physics, 56 (7), 435-450. <https://doi.org/10.1080/00222348.2017.1330183>
41. Bialik-Was, K, Pluta, K, Malina, D, Barczewski, M, Malarz, K. and Mrozek-Wilczkiewicz, A. (2021). "Advanced SA/PVA-Based Hydrogel Matrices with Prolonged Release of Aloe Vera as Promising Wound Dressings". Materials Science & Engineering C, 120, 111667, 1-14. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2020.111667>