



**BİTKİSEL KAYNAKLI KOZMETİK ÜRÜN GELİŞTİRİLMESİ ÜZERİNE
FARMAKOGNOZİK ARAŞTIRMALAR**

Fatma Sezer ŞENOL

**DOKTORA TEZİ
FARMAKOGNOZİ ANABİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

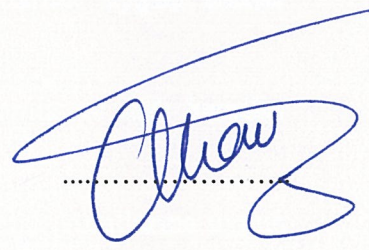
MART 2016

Fatma Sezer ŞENOL tarafından hazırlanan “Bitkisel Kaynaklı Kozmetik Ürün Geliştirilmesi Üzerine Farmakognozik Araştırmalar” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ / OY ÇOKLUĞU ile Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Anabilim Dalı’nda DOKTORA TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Prof. Dr. İlkay ERDOĞAN ORHAN

Farmakognozi Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

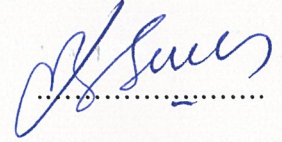
Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum/onaylamıyorum



Başkan : Prof. Dr. Bilge ŞENER

Farmakognozi Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

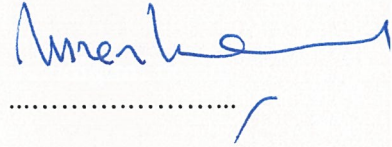
Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum/onaylamıyorum



Üye : Prof. Dr. Turhan BAYKAL

Farmakognozi Anabilim Dalı, Gazi Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum/onaylamıyorum



Üye : Prof. Dr. Şebnem HARPUT

Farmakognozi Anabilim Dalı, Hacettepe Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum/onaylamıyorum



Üye : Prof. Dr. İ. İrem TATLI ÇANKAYA

Farmasötik Botanik Anabilim Dalı, Hacettepe Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Doktora Tezi olduğunu onaylıyorum/onaylamıyorum



Tez Savunma Tarihi: 16/02/2016

Jüri tarafından kabul edilen bu tezin Doktora Tezi olması için gerekli şartları yerine getirdiğini onaylıyorum.

Doç. Dr. Ufuk KOCA ÇALIŞKAN
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYAN

Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Fatma Sezer ŞENOL

16.02.2016

BİTKİSEL KAYNAKLI KOZMETİK ÜRÜN GELİŞTİRİLMESİ ÜZERİNE
FARMAKOĞNOZİK ARAŞTIRMALAR

(Doktora Tezi)

Fatma Sezer ŞENOL

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Mart 2016

ÖZET

Kozmesötik ürünler etkili madde olarak sentetik, hayvansal ve bitkisel kaynaklı ürünleri içermektedir. Ancak son yıllarda bitkisel ekstrelerin kozmetik formülasyonlarda kullanımı; özellikle sentetik maddelerin yan etkileri nedeniyle oldukça artmıştır. Bağ dokusu elemanlarından oluşan ve cildin orta tabakası olan dermis, derinin esneklik ve direncini sağlar. Bağ dokusunun ana bileşenlerinden iki önemli protein olan elastin ve kolajen, cildin direnci ve elastikiyetinden sorumludur ve serbest oksijen radikallerinin tetiklediği elastaz ve kolajenaz enzimleri ile parçalanmaları cilt yaşlanmasına eşlik eden kırışıklıklara neden olur. Serbest oksijen radikalleri kararlı olmayıp, pek çok fizyolojik hasara neden olmakta, birçok hastalığın yanı sıra, çeşitli dokularda hücre hasarı ile de ilişkilendirilmektedir. Antioksidan maddeler, çeşitli sebepler sonucunda vücutta üretilen zararlı serbest radikalleri süpüren maddelerdir. Tirozinaz ise mikroorganizma, bitki ve hayvanlarda yaygın olarak bulunan ve bakır içeren melanojenik bir enzimdir. Son zamanlarda hiperpigmentasyon tedavisinde, cilt beyazlatma ve leke giderme amacıyla güvenli ve etkili tirozinaz inhibitörleri arayışı önem kazanmıştır. Bu bilgiler doğrultusunda, tez kapsamında yaklaşık 100 adet bitkisel ekstrelin ve propolisin elastaz, kollajenaz ve tirozinaz enzim inhibitör etkileri, ELISA mikrotiter plak yöntemi ile geniş çaplı bir tarama uygulanarak incelenmiş ve antioksidan etkileri de bir dizi *in vitro* yöntemle tespit edilmiştir. Taramada kullanılan enzimlere karşı aktif ekstrelelere biyoaktivite-yönlendirmeli fraksiyonlama işlemi uygulanmış ve aktiviteden sorumlu olması muhtemel madde(ler)in izolasyonu ve yapı tayinleri gerçekleştirilmiştir. Etkili ekstrelerden 2 tanesinden hareketle mikroemülsiyon, 2 tanesi ile de krem şeklinde kozmetik formülasyonlar geliştirilmiş, marka ismi yaratılmış ve prototip ürünler hazırlanmıştır.

Bilim Kodu : 1017

Anahtar Kelimeler : Enzim inhibisyonu, elastaz, kolajenaz, tirozinaz, antioksidan aktivite, kozmetik, kozmesötik, formülasyon

Sayfa Adedi : 174

Danışman : Prof. Dr. İlkey ERDOĞAN ORHAN

PHARMACOGNOSTICAL RESEARCH ON DEVELOPING PLANT-BASED
COSMETIC PRODUCTS

(Ph. D. Thesis)

Fatma Sezer ŞENOL

GAZI UNIVERSITY
INSTITUTE OF HEALTH SCIENCES

March 2016

ABSTRACT

Cosmeceuticals contain synthetic, plant-, and animal-derived materials. However, use of herbal ingredients in cosmetic formulations are on increase mostly due to side effects of synthetic compounds. Dermis, which is the middle layer of the skin consisting of connective tissue components, provides flexibility and resistance to skin. Elastin and collagen, two important proteins being the main components of the connective tissue, are responsible for resistance and elasticity of the skin. Hydrolysis of them through elastase and collagenase triggered by free oxygen radicals cause wrinkle formation accompanied by skin aging. Reactive oxygen species are not stable and cause a huge level of physiological damage, while they are associated with cell damage in various tissues in addition to many diseases. Antioxidant compounds are the substances that may scavenge harmful free radicals produced in the body by different reasons. Tyrosinase is a copper-containing melanogenic enzyme that is present in microorganisms, plant, and animal tissues. Recently, search on reliable and potent tyrosinase inhibitors have gained importance for skin-bleaching purpose in hyperpigmentation therapy. In the light of this information, approximately 100 herbal extracts and propolis were investigated for their elastase, collagenase, and tyrosinase inhibitory effects using ELISA microtiter assays in a large screening in the thesis, while their antioxidant effect was determined using various *in vitro* methods. The active extracts against the enzymes used in the screening were subjected to bioactivity-guided fractionation and the isolation and structural characterization of the active compound(s) were realized. The cosmetic formulations, 2 in microemulsion and 2 in cream form from the effective extracts, were developed, a brand name was created, and the prototype products were prepared.

Science Code : 1017

Key Words : Enzyme inhibition, elastase, collagenase, tyrosinase, antioxidant activity, cosmetic, cosmeceutical, formulation

Page Number : 174

Supervisor : Prof. Dr. İlkey ERDOĞAN ORHAN

TEŞEKKÜR

Tez konum için beni yönlendiren ve çalışmalarım sırasında bana her konuda destek verip cesaretlendiren, bilgi ve tecrübelerinden yararlandığım ve her zaman örnek aldığım değerli hocam Prof. Dr. İlkey ERDOĞAN ORHAN'a tüm emekleri için çok teşekkür ederim.

Tez çalışmama değerli yorum ve önerileri ile katkıda bulunan, bilgi ve tecrübelerini benimle paylaşan Farmakognozi Anabilim Dalı Başkanı sayın hocam Prof. Dr. Bilge ŞENER'e çok teşekkür ederim.

Çalışmalarım sırasında bilgi, destek ve önerilerini benden esirgemeyen, doktora tez izleme komitesi üye hocalarım Prof. Dr. Turhan BAYKAL ve Prof. Dr. Şebnem HARPUT'a, ayrıca Farmakognozi Anabilim Dalı'ndaki tüm hocalarıma teşekkürlerimi sunarım.

Mikroemülsiyon formülasyonlarının hazırlanması aşamasında yardımlarını ve desteklerini esirgemeyen sayın hocam Prof. Dr. Figen TIRNAKSIZ'a ve Arş. Gör. Dr. Şeyda AKKUŞ ARSLAN'a çok teşekkür ederim.

Her zaman bana yardımcı olan, çalışmalarım sırasında da önemli ölçüde desteğini hissettiğim değerli hocam Prof. Dr. İ. İrem TATLI ÇANKAYA'ya çok teşekkür ederim.

Krem formülasyonlarının geliştirilmesinde, hazırlanmasında ve her aşamasında sağladıkları destek ve imkanlar için Mikro-Gen İlaç Firması'nın kozmetik grubu Vivatinell Cosmeceuticals ailesine, özellikle de Uzm. Dr. Özgür GÖKNEL ve Uzm. Dr. Altuğ BARUT'a teşekkürlerimi sunarım.

Çalışılan bazı bitki örneklerinin teminindeki yardım ve destekleri için Mehmet ÖTEN'e (BATEM) çok teşekkür ederim.

HPTLC analizleri için sağladıkları destek için CAMAG (İsviçre) Ar-Ge Laboratuvar sorumlusu Dr. Eike REICH ve Dr. Anita ANKLI'ye, NMR spektrumlarının temin edilmesindeki yardımlarından dolayı Doç. Dr. Hasan YUSUFOĞLU'na çok teşekkür ederim.

Bu süreçte beni hiç yalnız bırakmayan ve hep destek olan, kardeş bildiğim arkadaşlarıma çok teşekkür ederim.

Maddi ve manevi her konuda beni destekleyen, sonsuz sevgi ve ilgilerini hep üzerimde hissettiğim annem İnci ŞENOL'a, babam Emin Hulusi ŞENOL'a ve sevgili aile üyelerime teşekkürü borç bilirim.

“Yurt İçi Doktora Burs Programı” (2211) ile sağladığı maddi imkan için Türkiye Bilimsel ve Teknolojik Araştırma Kurumu'na (TÜBİTAK) çok teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	x
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	xii
RESİMLERİN LİSTESİ	xiv
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xv
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	5
2.1. Derinin Yapısı	5
2.2. Cilt ve Yaşlanma	6
2.3. Cilt ve Antioksidan Etki	7
2.4. Biyolojik Aktivite Çalışmalarımızda Kullanılan Enzimler.....	11
2.4.1. Elastaz enzimi	11
2.4.2. Kolajenaz enzimi	13
2.4.3. Tirozinaz enzimi	15
2.5. Kozmetik Ürünlerde Kullanılan Formülasyonlar ve Mikroemülsiyonlar.....	19
2.6. Tez Araştırmamızda Biyolojik Aktivite Ön Taraması İçin Seçilen Bitkiler Hakkında Genel Bilgiler	23
2.7. BAYF’da Kullanılan Bitki Türlerine Ait Botanik Bilgiler	33
2.7.1. Anacardiaceae	33
2.7.2. Moraceae	36
2.8. <i>Cotinus coggyria</i> Scop. Bitkisi Üzerinde Yapılan Çalışmalar.....	39

	Sayfa
2.8.1. Biyolojik aktivite çalışmaları	39
2.8.2. Fitokimyasal çalışmalar	46
2.9. <i>Maclura pomifera</i> (Rafin.) Schneider Bitkisi Üzerinde Yapılan Çalışmalar	50
2.9.1. Biyolojik aktivite çalışmaları	50
2.9.2. Fitokimyasal çalışmalar	55
3. GEREÇ VE YÖNTEM	57
3.1. Gereç	57
3.2. Yöntem.....	62
3.2.1. Ekstraksiyon ve örneklerin hazırlanması	62
3.2.2. Biyolojik aktivite çalışmaları	63
3.2.3. Biyolojik aktivite-yönlendirmeli fraksiyonlama işlemi (BAYF).....	71
3.2.4. Mikroemülsiyon formülasyonları ile ilgili çalışmalar	74
3.2.5. Krem formülasyonu geliştirilmesi ile ilgili çalışmalar	75
4. BULGULAR	77
4.1. Ekstre ve Fraksiyon Verimlerine Ait Bulgular	77
4.2. Enzim İnhibisyonu Tayinlerine Ait Bulgular	79
4.3. Antioksidan Aktivite Tayinlerine Ait Bulgular	91
4.4. BAYF İşlemine Ait Bulgular	104
4.4.1. İTK ve HPTLC analizlerine ait bulgular.....	104
4.4.2. ¹ H- ve ¹³ C-NMR spektrumlarına ait bulgular	108
4.5. Mikroemülsiyon Formülasyonlarına Ait Bulgular.....	127
4.6. Krem Formülasyonlarına Ait Bulgular	129
5. TARTIŞMA.....	133
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	139

Sayfa

KAYNAKLAR 141

ÖZGEÇMİŞ 169

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. Biyolojik aktivite taramasında kullanılan bitkiler ve seçilme nedenleri	23
Çizelge 2.2. <i>C. coggryia</i> ekstrelerinde tespit edilen ana bileşenler	50
Çizelge 3.1. Bitkisel materyallerin toplanma / temin edilme yerleri, tarihleri ve ailya bilgileri.....	58
Çizelge 3.2. Krem formülasyonlarında kullanılan bileşikler, kullanım amaçları ve % oranları	76
Çizelge 4.1. Hazırlanan etanol ekstrelerinin % verimleri (a/a).....	77
Çizelge 4.2. CÇHD EtOAc fraksiyonunun açık kolon kromatografisine (sabit faz: poliamit) uygulanması ile elde edilen ve İTK analizine göre birleştirilen fraksiyonlar ve % verimleri (a/a)	79
Çizelge 4.3. Ön taramada kullanılan ekstrelerin ve saf maddelerin elastaz, kolajenaz ve TYR enzim inhibisyonları	81
Çizelge 4.4. <i>Curcuma longa</i> rizomlarından hazırlanan etanol ekstresinin seyreltilmiş konsantrasyonlardaki TYR ve elastaz enzim inhibisyonları.....	85
Çizelge 4.5. CÇDT EtOAc fraksiyonu, kolon kromatografisi (sabit faz: poliamit) ile fraksiyonlanmasıyla elde edilen alt fraksiyonların elastaz, kolajenaz ve TYR enzim inhibisyonları	90
Çizelge 4.6. Birleştirilen PA 30-34 ve PA 35-43 alt fraksiyonlarının MPLC ile fraksiyonlanmasıyla elde edilen alt fraksiyonların elastaz, kolajenaz ve TYR enzim inhibisyonları	90
Çizelge 4.7. Etanol ekstrelerinin, Calendula® firmasından temin edilen ekstrelerin ve propolis'in 5 mg/mL konsantrasyonda DPPH, DMPD, NO radikal süpürücü ve metal şelasyon etkileri	92
Çizelge 4.8. Etanol ekstrelerinin, Calendula® firmasından temin edilen ekstrelerin ve propolis'in 5 mg/mL konsantrasyonda FRAP, PRAP, CUPRAC deneylerine ait bulgular	96
Çizelge 4.9. Etanol ekstrelerinin, Calendula® firmasından temin edilen ekstrelerin ve propolis'in toplam fenol ve toplam flavonoit miktar tayinlerine ait bulgular	100
Çizelge 4.10. Gallik asit metil esteri'nin (RP 36-37 Prep 4) ¹ H-NMR (500 MHz, CD ₃ OD) ve ¹³ C-NMR (125 MHz, CD ₃ OD) spektrum değerleri	109

Çizelge	Sayfa
Çizelge 4.11. Kersetin-3-O-galaktozit'in (RP 38 Prep 1) ^1H -NMR spektrum değerleri (500 MHz, CD_3OD).....	113
Çizelge 4.12. Kersetin-3-O-galaktozit'in (RP 38 Prep 1) ^{13}C -NMR spektrum değerleri (125 MHz, CD_3OD).....	114
Çizelge 4.13. Kersetin-3-O-glukozit'in (RP 39-40 Prep 2) ^1H -NMR spektrum değerleri (500 MHz, CD_3OD).....	118
Çizelge 4.14. Kersetin-3-O-glukozit (RP 39-40 Prep 1A) ve Kersetin-3-O-galaktozit'in (RP 39-40 Prep 1B) ^1H -NMR spektrum değerleri (500 MHz, CD_3OD)..	120
Çizelge 4.15. Kersetin-3-O-glukozit (RP 39-40 Prep 1A) ve Kersetin-3-O-galaktozit'in (RP 39-40 Prep 1B) ^{13}C -NMR spektrum değerleri (125 MHz, CD_3OD)	121
Çizelge 4.16. Kemferol-3-O-glukozit'in (RP 41-44 Prep 2) ^1H -NMR spektrum değerleri(500 MHz, CD_3OD).....	125
Çizelge 4.17. Mikroemülsiyonların ortalama damlacık büyüklüğü değerleri (nm), dağılımları ve PDI değerleri.....	127

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Sivelestat.....	13
Şekil 2.2. Melanin biyosentez yolağı.....	16
Şekil 2.3. TYR enzimini inhibe eden bazı bileşikler	18
Şekil 2.4. <i>C. coggyria</i> 'nın Türkiye'deki yayılışı	35
Şekil 2.5. <i>C. coggyria</i> bitkisinde bulunan flavonoit yapısındaki bazı bileşikler	47
Şekil 2.6. <i>C. coggyria</i> bitkisinde bulunan auron yapısındaki bazı bileşikler.....	48
Şekil 2.7. Osajin (A) ve pomiferin (B)	53
Şekil 3.1. Salım deneyinde kullanılan hücrelerin şematik gösterimi.....	75
Şekil 4.1. CYET ekstresine ait fraksiyonlama işlemi ve % enzim inhibisyon sonuçları	86
Şekil 4.2. MPYH ekstresine ait fraksiyonlama işlemi ve % enzim inhibisyon sonuçları	87
Şekil 4.3. CÇDT ekstresine ait fraksiyonlama işlemi ve % enzim inhibisyon sonuçları	88
Şekil 4.4. CÇDT EtOAc fraksiyonunun BAYF işlemine ait genel şema	89
Şekil 4.5. <i>Citrus</i> ekstrelerinin HPTLC profilleri (3-15)-1	106
Şekil 4.6. <i>Citrus</i> ekstrelerinin HPTLC profilleri (3-15)-2	107
Şekil 4.7. <i>Citrus</i> ekstrelerinin HPTLC profilleri (3-15)-3	108
Şekil 4.8. Gallik asit metil esteri.....	110
Şekil 4.9. RP 36-37 Prep 4 kodlu bileşiğe ait ¹ H-NMR spektrumu.....	110
Şekil 4.10. RP 36-37 Prep 4 kodlu bileşiğe ait ¹³ C-NMR spektrumu.....	111
Şekil 4.11. Kersetin-3-O-galaktozit	112
Şekil 4.12. RP 38 Prep 1 kodlu bileşiğe ait ¹ H-NMR spektrumu	115
Şekil 4.13. RP 38 Prep 1 kodlu bileşiğe ait ¹³ C-NMR ve DEPT spektrumları.....	116
Şekil 4.14. RP 38 Prep 1 kodlu bileşiğe ait ¹ H- ¹ H- COSY spektrumu.....	117
Şekil 4.15. Kersetin-3-O-glukozit.....	118

Şekil	Sayfa
Şekil 4.16. RP 39-40 Prep 2 kodlu bileşiğe ait ^1H -NMR spektrumu.....	119
Şekil 4.17. RP 39-40 Prep 1 kodlu fraksiyona ait ^1H -NMR spektrumu	122
Şekil 4.18. RP 39-40 Prep 1 kodlu fraksiyona ait ^{13}C -NMR ve DEPT spektrumları.....	123
Şekil 4.19. RP 39-40 Prep 1 kodlu fraksiyona ait ^1H - ^1H - COSY spektrumu	124
Şekil 4.20. Kemferol-3- <i>O</i> -glukozit	125
Şekil 4.21. RP 41-44 Prep 2 kodlu bileşiğe ait ^1H -NMR spektrumu.....	126
Şekil 4.22. Boş (A), üzüm çekirdeği (B) veya yeşil çay (C) ekstresi içeren mikroemülsiyonların damlacık büyüklükleri (n=3)	128
Şekil 4.23. Yeşil çay ve üzüm çekirdeği ekstresi içeren mikroemülsiyonlara ait salım verileri	129
Şekil 4.24. <i>C. coggia</i> ekstresi içeren kırıxıklık karşıtı krem formülasyonuna ait stabilite raporları	130
Şekil 4.25. <i>M. pomifera</i> ekstresi içeren leke giderici krem formülasyonuna ait stabilite raporları	131

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 2.1. Epidermisin yapısı ve katmanları	5
Resim 2.2. Genç ciltte hücresel ve hücre dışı bileşenler	6
Resim 2.3. Doğal ve dış faktörlere bağlı yaşlanma ile ekstrasellüler matriks yapılarında gözlenen değişimler	10
Resim 2.4. <i>C. coggyria</i> 'nın genel görünüşü (Haziran-2013, Ankara).....	36
Resim 2.5. <i>C. coggyria</i> 'nın genel görünüşü (Temmuz-2014, Ankara).....	36
Resim 2.6. <i>M. pomifera</i> 'nın genel görünüşü ve meyvesi.....	38
Resim 4.1. Kolon kromatografisi (poliamit) ve MPLC ile elde edilerek birleştirilen alt fraksiyonlara ait İTK kromatogramları	104
Resim 4.2. RP 31-34 fraksiyonuna uygulanan kolon kromatografisi (silika jel) ile elde edilen alt fraksiyonlara ait İTK kromatogramı	105
Resim 4.3. Mikroemülsiyon formülasyonlarına uygulanan toplam proantosiyanidin ve toplam fenol miktar tayini yöntemlerine ait mikrolaklar	127
Resim 4.4. <i>Cotinus coggyria</i> ve <i>Maclura pomifera</i> ekstreleri kullanılarak hazırlanan krem formülasyonlarına ait prototip ürün örneği görselleri	129

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler	Açıklamalar
°C	Santigrad derece
µg	Mikrogram
µL	Mikrolitre
µm	Mikrometre
µM	Mikromolar
dk	Dakika
g	Gram
kDa	Kilodalton
kg	Kilogram
M	Molar
mg	Miligram
mL	Mililitre
mM	Milimolar
nm	Nanometre
ppm	Milyonda bir birim

Kısaltmalar	Açıklamalar
ABTS	2,2'-Azinobis(3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit)
AChE	Asetilkolinesteraz
ALP	Alkalen fosfataz
ALT	Alanin aminotransferaz
AST	Aspartat aminotransferaz
BATEM	Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü
BAYF	Biyoaktivite-yönlendirmeli fraksiyonlama
BChE	Bütirikolinesteraz

Kısaltmalar**Açıklamalar**

BHT	Butil hidroksitoluen
CÇDT	<i>Cotinus coggyria</i> 'nın tüylü pedisel etanol ekstresi
CHCl₃	Kloroform
CH₂Cl₂	Diklorometan
CUPRAC	Bakır-indirgeme antioksidan gücü
CYET	<i>Cotinus coggyria</i> 'nın yaprak etanol ekstresi
DEPT	Distortionless enhancement by polarization transfer
DMSO	Dimetilsülfoksit
DPPH	1,1-difenil-2-pikrilhidrazil
EDTA	Etilendiamin tetraasetik asit
EGCG	Epigallokateşin gallat
EROD	7-Etoksirezorufin-O-deetilaz
EtOAc	Etil asetat
FALGPA	N-(3-[2-furil]akriloil)-Leu-Gly-Pro-Ala
FDA	Food and Drug Administration
FRAP	Demir-indirgeme antioksidan gücü
GK/KS	Gaz kromatografisi-kütle spektrometresi
HAS	Hyaluronan sentaz
Homo-COSY	Homonükleer korelasyon spektroskopisi
HPLC	Yüksek basınçlı sıvı kromatografisi
HPTLC	Yüksek performanslı ince tabaka kromatografisi
INCI	International nomenclature of cosmetic ingredients
ip	Intraperitoneal
İTK	İnce tabaka kromatografisi
L-DOPA	3,4-Dihidroksi-L-fenilalanin
MDA	Malondialdehit
MeOH	Metanol
MİK	Minimum inhibisyon konsantrasyonu
MMP	Matriks metalloproteinaz
MPLC	Orta basınçlı sıvı kromatografisi
MPYH	<i>M. pomifera</i> yaprak etanol ekstresi
n-BuOH	n-Butanol

Kısaltmalar**Açıklamalar**

NMR	Nükleer magnetik rezonans
NPR	Natural product reagent
ORAC	Oksijen radikal absorbands kapasitesi
PDI	Polidispersite indeksi
PEG	Polietilen glikol
PRAP	Fosfomolibdenyum-indirgeme antioksidan gücü
ROT	Reaktif oksijen türleri
SLRL	Eşeye bağlı çekinik letal test
SOD	Süperoksit dismutaz
STAT3	Signal transducer and activator of transcription
TCA	Trikloroasetik asit
TEAC	Troloks eşdeğeri antioksidan kapasite
TPA	12-O-Tetradekanoil-13-asetat
TRAP	Peroksil radikali-yakalama antioksidan parametresi
TÜİK	Türkiye İstatistik Kurumu
TYR	Tirozinaz
USD	Amerikan doları
UV	Ultraviyole
WRT	Beyaz ışık (reflektans / transmittans)
YEM	Yüzey etkin madde
YYEM	Yüzey etkin madde + yardımcı yüzey etkin madde



GAZİ GELECEKTİR..

1. GİRİŞ

Kozmetik ürün; insan vücudunun epiderma, tırnaklar, kıllar, saçlar, dudaklar ve dış genital organlar gibi değişik dış kısımlarına, dişlere ve ağız mukozasına uygulanmak üzere hazırlanmış, tek veya temel amacı bu kısımları temizlemek, koku vermek, görünümünü değiştirmek ve/veya vücut kokularını düzeltmek ve/veya korumak veya iyi bir durumda tutmak olan bütün preparatlar veya maddelerdir ("Kozmetik Yönetmeliği, Birinci Bölüm, Amaç, Kapsam, Dayanak ve Tanımlar," 2005). Hedeflenen sonuca fizyolojik etki göstererek ulaşan, deri ve deriye bağlı oluşumların yapı ve fonksiyonlarını pozitif olarak etkileyen, fiziksel, farmasötik ve tıbbi standartlara uygun hazırlanmış kozmetik ile farmasötikler arasındaki ürünler ise "kozmesötik" veya "aktif kozmetikler" olarak tanımlanmaktadır. Bunlar klasik kozmetik tanımına tam olarak uymayan, ilaç ve kozmetik arasında yer alan preparatlardır (Çomoğlu, 2012). Kozmesötik terimi ilk kez 1946 yılında FDA (Food and Drug Administration – Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi) tarafından kullanılmıştır. Amerika'da "kozmesötik" terimi kullanılırken, Avrupa'da ve ülkemizde ise daha çok "dermokozeetik" tabiri benimsenmiştir (Kahraman, 2011).

Kozmetik formülasyonlarda bitkisel ekstrelerin kullanımı, son yıllarda hayvansal kaynaklı ekstrelere göre oldukça artmıştır. Hayvan hakları hususundaki hassasiyetten dolayı, hayvansal kaynaklı ekstreler sentetik maddeler ile değiştirilmek istenmiş, fakat aynı seviyede etki gözlenmemiştir (Aburjai ve Natsheh, 2003). Etkili madde olarak monoetanolamin, dietanolamin, sodyum lauril sülfat, trietanolamin gibi sentetik maddeleri içeren kozmesötik ürünlerin de alerjik kontakt dermatit, iritan kontakt dermatit, fototoksisite ve fotoalerjik reaksiyonlar gibi yan etkilere neden olmaları bitkisel ekstrelere olan ilgiyi oldukça arttırmıştır. Doğal cilt bakım ürünleri yüzeysel katmanlardan kolaylıkla absorbe olmakta ve genellikle hipoalerjenik olarak bilinmektedir (Mukherjee, Maity, Nema ve Sarkar, 2011). Bitki kısımlarının cilt bakımında kullanım alanları, serbest radikal süpürücü, antienflamatuvar, yaşlanma karşıtı ve cilt koruyucu etkileri yanında kuruluk, egzema ve akne tedavisi olarak sayılabilir. Saç bakımında da saç uzama stimulanı, saç renklendirici ve kepek gibi saç ve saç derisi şikâyetlerinde kullanılırlar. Bunun yanı sıra uçucu yağlar da cildi yumuşatmak ve elastikiyetini arttırmak, parfümeride güzel koku vermek, saç bakım ürünlerinde ise parlaklık vermek ve nemlendirmek amacıyla kullanılmaktadır (Aburjai ve Natsheh, 2003).

Cilt sırasıyla epidermis, dermis ve hipodermis olmak üzere 3 ana tabakadan meydana gelir. Orta tabaka olan dermis, bağ dokusu elemanlarından oluşur ve derinin esneklik ve sağlamlığından sorumludur. Elastin ve kolajen, bağ dokusunun ana bileşeni olan 2 önemli proteindir. Bu proteinler cildin direnci ve elastikiyetinden sorumludur ve serbest oksijen radikallerinin oluşumu ile indüklenen elastaz ve kolajenaz enzimleri ile parçalanmaları cilt yaşlanmasına eşlik eden kırışıklıklara neden olur. Serbest oksijen radikalleri kararlı olmayıp pek çok fizyolojik hasardan sorumlu tutulmakta, insanlarda görülen birçok hastalığın yanı sıra çeşitli doku ve hücre hasarı ile de ilişkilendirilmektedir. Antioksidan maddeler çeşitli sebepler (oksijen metabolizması, stres, sigara, radyasyon, pestisitler vs.) sonucunda vücutta üretilen zararlı serbest radikalleri süpüren veya yok eden maddelerdir. Tirozinaz (TYR) ise mikroorganizma, bitki ile hayvanlarda yaygın olarak bulunan ve bakır içeren melanojenik bir enzimdir. Son zamanlarda hiperpigmentasyon tedavisi, cilt beyazlatıcı ve leke giderici amaçla kullanılmak üzere güvenli ve etkili TYR inhibitörleri arayışı önem kazanmıştır.

Cilt, harici ve dahili zararlı ajanlardan kozmetik ürünler ile korunarak cilt güzelliği ve sağlığı desteklenebilir. Dermokozmetik ürünler hiperpigmentasyon, cilt yaşlanması, kırışıklık ve pürüzlü cilt dokusu gibi rahatsızlıklarda en iyi seçimlerden biridir. Son yıllarda kozmetik formülasyonların etkisi ve güvenilirliği ile ilgili yapılan *in vitro* çalışmalara ilgi, zaman tasarrufu sağladığı, daha az masraflı olduğu için ve gönüllü denek sayısının daha az olması nedeniyle oldukça artmıştır (Roy ve diğerleri, 2013).

Türkiye bitki çeşitliliği açısından dünyanın en zengin ülkeleri arasında yer almaktadır. Ülkemiz florası damarlı bitkilerin 10 000'den fazla türüne ev sahipliği yapmakta olup, bunların % 31'i (3 035) endemiktir (Ekim, 2014; Güner, Aslan, Ekim, Vural ve Babaç, 2012). Yüzyıllardan beri ülkemizde de bitkiler tıbbi amaçla, gıda olarak, süs amaçlı, tarım aracı, mobilya, inşaat malzemesi olarak kullanılmaktadır (Kızılarıslan ve Özhatay, 2012). Günümüzde ise doğal kökenli bileşiklerden yola çıkılarak üretilen ilaçlar, mevcut ilaçların yaklaşık % 50'sini oluşturmaktadır (Süzgeç Selçuk ve Eyisan, 2012). Bunun yanı sıra kozmetik ürünlerde de bitkisel ekstraktlar ve doğal bileşikler yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Kozmetik sektöründe ürün gruplarının klasik formülasyonlarının bitkisel içerik ilavesiyle zenginleştirilmesi, gerek iç, gerekse dış piyasalarda pazar payının hızla artırılmasında etkili unsurlardan biri olarak göze çarpmaktadır. Kozmetik sektörünün büyüklüğü dünyada 250 milyar Amerikan doları (USD) iken, Türkiye'de 2,5 milyar USD'a ulaşmış durumdadır. İstanbul Kimyevi Maddeler ve Mamülleri İhracatçıları Birliği (İKMİB)

ve Türkiye İstatistik Kurumu (TÜİK) rakamlarına göre 2013 yılı kozmetik ürün ihracatı 1,17 milyar USD iken, ithalat rakamları 2,01 milyar USD'dır (Şahin İpekoğlu, 2015). Kozmetik pazarının yaklaşık % 10'u dermokozmetik ürünlerin satışından oluşmaktadır. Ülkemizde 100'ün üzerinde dermokozmetik ürün markası bulunmaktadır ve en büyük pazar payına Fransız menşeli markalar sahiptir. Türkiye dermokozmetik pazarı, dünya ile karşılaştırıldığında daha hızlı büyümesine rağmen, bu alandaki yerli marka sayısı oldukça azdır (Altun, 2015).

“Bitkisel Kaynaklı Kozmetik Ürün Geliştirilmesi Üzerine Farmakognozik Araştırmalar” başlıklı doktora tez çalışmalarımız kapsamında, etkili olduğu tespit edilen ekstrelerden hareketle hazırlanan dermokozmetik ürünlerin bir kısmı için mikroemülsiyon formülasyonu tercih edilmiştir. Dermokozmetik ürün formülasyonu geliştirilmesi amacıyla, taramalarımızda yüksek etki tespit ettiğimiz ve ülkemizde yetişen *Camellia sinensis* (L.) Kuntze (Theaceae) ve *Vitis vinifera* L. (Vitaceae) bitkilerinin ilgili kısımlarından hazırlanan ekstreler ile mikroemülsiyon formülasyonu çalışmaları yürütülmüştür. Mikroemülsiyonlar yağ ve su fazlarının yüzey etkin madde (YEM), YEM karışımı veya YEM + yardımcı yüzey etkin madde (YYEM) karışımı ile emülsifiye edilmesi sonucu oluşan şeffaf veya yarı şeffaf, optik olarak izotropik, termodinamik olarak dayanıklı sistemlerdir (Goddeeris, Cuppo, Reynaers, Bouwman ve Van den Mooter, 2006; Y. D. Kim, Kim, Cho ve Kim, 2004; Kogan ve Garti, 2006; Lawrence ve Rees, 2000; Magdassi, 1997; Mehta ve Bala, 2000; Raman, Suhaimi ve Tiddy, 2003; Sintov ve Shapiro, 2004; Spornath ve Aserin, 2006; Y. W. Xie, Ye ve Liu, 2007). Bu sistemlerin viskoziteleri düşüktür ve Newtonian akış özelliğine sahiptir (Kreilgaard, 2002; Lawrence ve Rees, 2000; Spornath ve Aserin, 2006; Spiclin, Homar, Zupancic-Valant ve Gasperlin, 2003). Çoğunun yüksek oranda YEM içermesi, deri ile etkileşimin artmasını sağlar ve etkin bileşenler için formülasyonlarında kullanılan YYEM'lerin deriden penetrasyonu artırıcı özellikleri vardır (Changez, Chander ve Dinda, 2006; Escibano, Calpena, Queralt, Obach ve Domenech, 2003; Jurkovic, Sentjurc, Gasperlin, Kristl ve Pecar, 2003; Kogan ve Garti, 2006; Osborne, Ward ve O'Neill, 1988; Polizelli, Telis, Amaral ve Feitosa, 2006; Spiclin ve diğerleri, 2003; X. Zhao, Liu, Zhang ve Li, 2006). Mikroemülsiyon sistemleri çok düşük yüzey gerilimine sahip olmaları nedeniyle deri ile çok iyi temas ederler (Carlfors, Blute ve Schmidt, 1991; Diec, Eitrich, Schmidt, Sokolowski ve Schreiber, 2001). Büyük yüzey alanına sahip olmaları nedeniyle, hem lipofilik hem de hidrofilik karakterdeki bileşenleri yüksek oranda çözebilmektedirler (Polizelli ve diğerleri, 2006; Spiclin, Gasperlin ve Kmetec, 2001; Spiclin ve diğerleri, 2003).

Lokal veya sistemik etkili maddelerin dermal yoldan kullanımı için geliştirilmiş olan mikroemülsiyonların, hem hidrofilik hem de hidrofobik etkin bileşenlerin deri geçirgenliklerini ve deriden emilimlerini artırdığını gösteren çok sayıda çalışma bulunmaktadır (Kogan ve Garti, 2006; Sintov ve Shapiro, 2004; Y. W. Xie ve diğerleri, 2007).

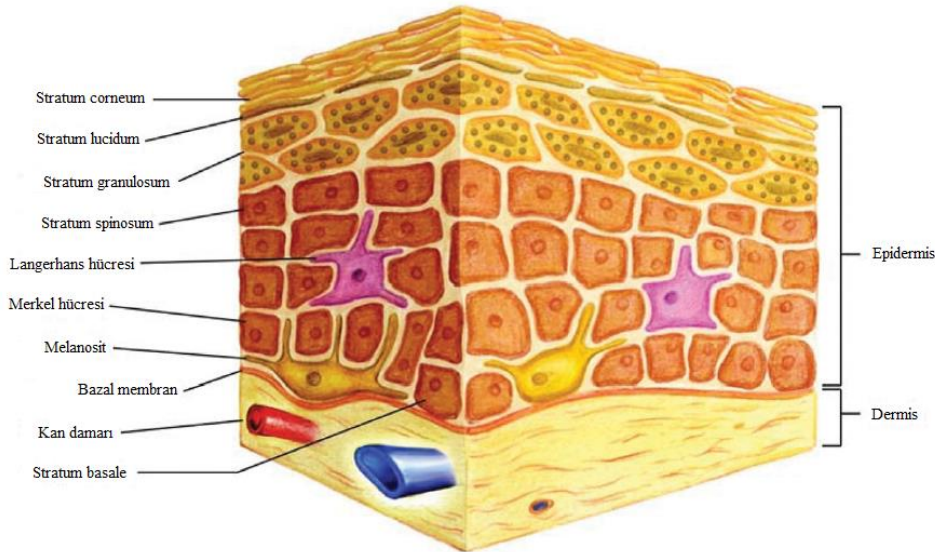
Bu bilgiler ışığında, tez araştırmamızda 99 adet bitkisel ekstre, propolis ve bazı bitkisel kaynaklı saf maddeler (osajin, pomiferin, resveratrol) elastaz, kolajenaz ve TYR enzim inhibisyonları ve antioksidan aktiviteleri yönünden geniş kapsamlı bir ön taramaya tabi tutulmuştur. Taramamız sonucunda aktif oldukları saptanan *Cotinus coggyria* Scop. (Anacardiaceae) ve *Maclura pomifera* (Raf.) C. K. Schneid. (Moraceae) bitkilerinin ilgili kısımlarına etkili madde/madde gruplarını saptamak amacıyla biyolojik-aktivite yönlendirmeli fraksiyonlama (BAYF) işlemi uygulanmıştır.

BAYF işlemi için seçilen *Cotinus coggyria* bitki ekstrelerinden kırıksıklık karşıtı, *Maclura pomifera* ekstresinden ise leke açıcı amaçlarla kullanılmak üzere krem formülasyonları hazırlanmıştır. Bu amaçla, Mikro-Gen İlaç Firması'nın kozmetik grubu olan "Vivatinell Cosmeceuticals" ile ortak Ar-Ge çalışmalarımız sonucunda tarafımızdan "Vitabell" adlı bir marka ismi yaratılmış ve iki ürün geliştirilmiştir. Hazırlanan krem formülasyonlarının stabilite çalışmaları da yapılmış olup, çalışılan şartlarda krem formülasyonlarının stabil oldukları gözlenmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

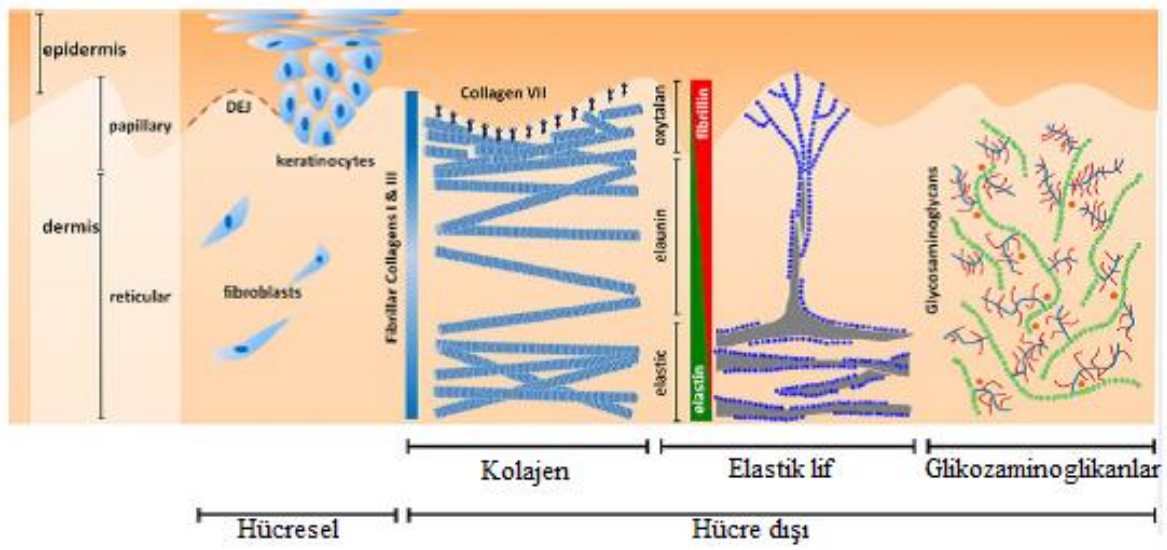
2.1. Derinin Yapısı

Cildin genel yapısı 3 katmandan meydana gelmektedir. En üst tabaka olan epidermis korneositleri, keratinositler ile melanin sentezinden sorumlu olan melanositleri içerir. Epidermis, *stratum corneum*, *stratum granulosum*, *stratum spinosum* ve *stratum germinativum/basale*'den oluşur ve bu katmanda kan damarları bulunmamaktadır. *Stratum lucidum* tabakası normalde kalın epidermiste görülür ve *stratum granulosum*'dan *stratum corneum*'a geçiş sağlar (Poonawalla ve Diven, 2008). *Stratum basale*, keratinosit ve melanositlerden meydana gelir. Melanositler ultraviyole (UV) radyasyonu absorblayan melanini sentezler. *Stratum corneum* tabakası ise bölünme özelliği olmayan veya “korneosit” adı verilen ölü hücrelerden oluşur ve ana bileşeni seramittir. Seramit su tutulması, cildin nemli kalması ve korunması için önemli bir role sahiptir. Primer lipidler olan yağ asitleri, kolesterol ve seramit, çift katmanlı, amfifilik özellikte lipidlerdir. Enzimler gibi iç ve dış proteinler bu katmanların arasında sıkışmış halde bulunur. Sağlıklı bir *stratum corneum*, epidermis için en iyi korumayı ve sağlıklı cilt görünümünü sağlar. Epidermiste bulunan diğer hücreler ise Langerhans ve Merkel hücreleridir (Farage, Miller, Elsner ve Maibach, 2007).



Resim 2.1. Epiderminin yapısı ve katmanları (Farage ve diğerleri, 2007)

Epidermisten sonraki tabaka olan dermis; ince papiller tabaka ve daha kalın retiküler tabaka olmak üzere 2 kısımdan oluşur. Dermis, kolajen, elastin ve yapısal proteoglikanları üreten fibroblastlar ile birlikte immünokompetan mast hücreleri ve makrofajları içerir. Cildin özelliklerini korumasının yanı sıra cilt için nem kaynağı görevi yapar (Bensouliah ve Buck, 2006; Kusumawati ve Indrayanto, 2013). En alt tabaka olan hipodermis ise dermisin altında bulunur ve cildi iç organlara bağlayan gevşek bağ dokudan oluşur. Bu tabaka gözenekli doku ile birlikte deri altı yağ içerir ve tamponlama ile vücudun ısısının düzenlenmesi dışında dermisi iç organlara bağlayarak cilde direnç kazandırır (Farage ve diğerleri, 2007).



Resim 2.2. Genç ciltte hüresel ve hücre dışı bileşenler (Naylor, Watson ve Sherratt, 2011)

2.2. Cilt ve Yaşlanma

Yaşlanma süreci doğduğumuz andan itibaren başlamaktadır. Cildimiz ise bu sürecin belirgin olarak fark edilmesini sağlayan en dıştaki organımızdır. Son yıllarda da yaşlanma etkilerini azaltmak için yapılan bilimsel çalışmalar oldukça artmıştır. Cilt yaşlanması; zamanla oluşan kronik yaşlanma ve güneşe maruziyet ile oluşan fotoyaşlanma olmak üzere 2 tiptir. Kronik olarak yaşanan bir cildin klinik görünümünde kuruluk, gevşeme, kırışıklık, seboroik keratoz ve çilek anjiom gibi iyi huylu tümörler yer alır (Binic, Lazarevic, Ljubenovic, Mojsa ve Sokolovic, 2013). Terim olarak ilk kez 1986 yılında kullanılan fotoyaşlanmanın, klinik belirtileri arasında düzensiz kuruluk, koyu/açık pigmentasyon, solgunluk, derin kırışıklık veya ileri derecede atrofi, telenjektazi, premalign lezyonlar, gevşeme ve kösele görünümü, elastik dokunun dejenerasyonu ve aktinik purpura yer alır (Mukherjee ve diğerleri, 2011).

Çevre kirliliğine bağlı olarak stratosferik ozon tabakasının koruyucu etkisinin azaldığı ve UV radyasyonun dünya yüzeyine ulaştığı bilinmektedir. UV radyasyonun artması cilt rahatsızlıklarını, kutanöz maligniteleri, immünosupresyonu, kırıxıklığı ve yaşlanmayı tetiklemiştir. Güneşin yaydığı UV radyasyon; UV C (270-290 nm), UV B (290-320 nm) ve UV A (320-400 nm) olmak üzere 3'e ayrılır. UV A da kendi arasında UVA2 (320-340 nm) ve UVA1 (340-400 nm) şeklinde 2'ye ayrılır. UV A ve UV B radyasyon, dünya yüzeyine önemli oranda ulaşır biyolojik etkilere neden olurken, UV C stratosferde ozon tabakası tarafından tutulması nedeniyle dünya yüzeyine ulaşmamaktadır (Roy ve diğerleri, 2013).

UV radyasyon ile cilt yüzeyinin etkileşimi serbest radikallerin veya serbest oksijen radikallerinin oluşumuna ayrıca kolajen, elastin ve bağ dokusunda biyokimyasal değişimlere neden olur. Bu durum da cildin dayanıklılığını ve elastikiyetini etkiler, cildin kurumasına ve kırıxıklık oluşmasına yol açar. Reaktif oksijen türleri (ROT), reaktif azot türleri, atomik hidrojen, ağır geçiş metalleri, klor, bazı ilaçlar, iyonize radyasyon ve çevresel atıklar serbest radikallerin farklı tipleridir. ROT, cildin yapısını ve fonksiyonunu içten ve dıştan olumsuz etkilemektedir. UV radyasyon (% 95-98'i UV A, % 2-5'i UV B) cildi etkileyen serbest radikallerin % 80'ini üretirken, bu radyasyonun ana hedefi olan O₂ epidermisin orta ve daha alt bölgelerinde bulunur (Kusumawati ve Indrayanto, 2013).

2.3. Cilt ve Antioksidan Etki

Biyolojik moleküllerin çoğu radikal özeliğine sahip olmayıp en dış yörüngelerinde bulunan 2 elektron (elektron çifti) ile karakterizedir. Kimyasal bir reaksiyon ile bu elektronların bağı kırıldığında, ortaklanmamış hale gelirler ve "serbest radikal" olarak adlandırılırlar. Serbest radikaller kararsızdır ve reaktif özellikleri elektron kazanma veya kaybetme kapasitelerine bağlıdır. Hücresel metabolizma aracılığı ile sürekli oluşabilmeleri dışında, serbest radikaller UV radyasyon, kimyasallar, hava kirliliği, sigara dumanı, ilaçlar, pestisitler, anestezikler ve endüstriyel çözücüler gibi dış faktörler ile de meydana gelebilirler. Serbest radikallerin hücre ve hücre zarının önemli bileşenleri ile reaksiyonu, hücre fonksiyonlarını etkilediği veya hücre ölümüne neden olduğu için oldukça tehlikelidir. Enzimler, reseptörler ve hücre bileşenleri ile kovalent bağ oluşturarak ve iletim süreçlerini etkileyerek metabolizma düzensizliklerine neden olabilir. Lipitler, proteinler, DNA ve karbonhidratlar oksidasyona oldukça hassas hücre bileşenleridir. Serbest radikallerin lipitlerle etkileşmesi sonucunda lipit

peroksidasyonu gerçekleşir, hücre geçirgenliği artar ve hücresel hasara kadar giden zincir reaksiyonlar başlar (Kusumawati ve Indrayanto, 2013).

Serbest radikal-aracılı zincir reaksiyon yoluyla oluşan oksidasyonun başlıca özellikleri başlama, yayılma, dallanma ve bitiş basamaklarıdır (Antolovich, Prenzler, Patsalides, McDonald ve Robards, 2002). Primer antioksidanlar, düşük miktarda bile radikal ile reaksiyona girerek başlama basamağını geciktirebilir, inhibe edebilir veya peroksil ya da alkoksil radikalleri ile reaksiyona girerek yayılma basamağını engelleyebilirler. Sekonder veya koruyucu antioksidanlar ise oksidasyon hızını geciktirirler. Bunu da substratı ortamdaki uzaklaştırmak veya singlet oksijeni bastırmak gibi çeşitli yollar ile yapabilirler (Frankel ve Meyer, 2000). Antioksidan aktivite değerlendirme yöntemleri, ölçüm mekanizmaları dikkate alınarak spektrofotometrik, elektrokimyasal, kromatografik ve biyosensör metotları altında sınıflandırılmaktadır (Pisoschi ve Negulescu, 2011). Reaksiyon tipine göre sınıflandırıldığında ise hidrojen atom transferine ve elektron transferine dayalı yöntemler olarak 2'ye ayrılır. Oksijen radikal absorban kapasitesi (oxygen radical absorbance capacity - ORAC), toplam peroksil radikali yakalama antioksidan parametresi (total radical-trapping antioxidant parameter - TRAP), β -karoten soldurma yöntemi gibi yöntemlerde mekanizma hidrojen atom transferine dayanırken, bizim de tez araştırmalarımızda kullanmış olduğumuz 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl - DPPH) radikal süpürücü etki, demir-indirgeme antioksidan gücü (ferric-reducing antioxidant power - FRAP), bakır indirgeme antioksidan gücü (cupric ion-reducing antioxidant capacity - CUPRAC), *N,N*-dimetil-*p*-fenilendiamin (*N,N*-dimethyl-*p*-phenylendiamine - DMPD) radikal süpürücü aktivite gibi yöntemler kolorimetrik olarak ölçülen ve elektron atom transferine dayanan yöntemlerdir (Apak ve diğerleri, 2013; Badarinath ve diğerleri, 2010; Pisoschi ve Negulescu, 2011).

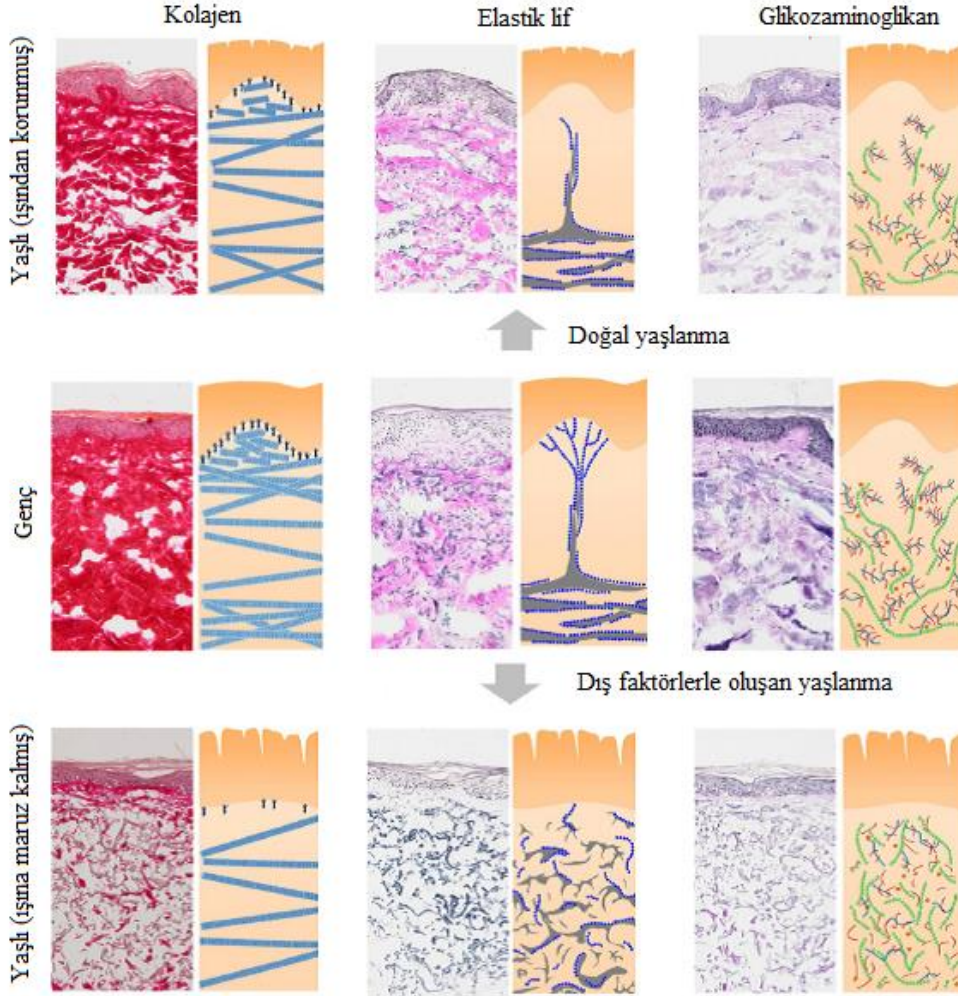
Cildin serbest oksijen radikallerine karşı savunma sistemleri “enzimatik” ve “enzimatik olmayan” mekanizmalar şeklindedir. Enzimatik savunma sistemleri süperoksit dismutaz (SOD), katalaz ve glutatyon peroksidazdan oluşurken, enzimatik olmayan mekanizmalar düşük molekül ağırlıklı antioksidanlar üzerinden gerçekleşmektedir. Her iki mekanizma da, serbest radikalleri süpürerek ve oksidasyonu yavaşlatarak ilerleyen serbest radikallerin oluşumunu engeller. Cilt güneşten gelen UV ışınlarına maruz kaldığında antioksidanların miktarı azalmaya başlar, antioksidan enzimler inaktif hale geçer ve ciltte lipid peroksidasyon artarak sonuç olarak cilt problemleri meydana gelir. UV radyasyona karşı cildin en önemli

savunma sistemleri melanogenez ve DNA onarımının arttırılmasıdır. Serbest oksijen radikalleri, lipid peroksidasyonunu stimüle eder ve TYR enziminin aktivitesinin artmasıyla epidermiste hiperpigmentasyona ve melanogeneze neden olur. Epidermiste hiperpigmentasyonun oluşması ile güneş lekeleri, enflamasyon sonrası gelişen melanoderma, solar lentigo gibi dermatolojik rahatsızlıklar oluşur ve cilt rengi koyulaşır. TYR enzimi L-tirozini, 3,4-dihidroksi-L-fenilalanin'e (L-DOPA) ve L-DOPA'yı da dopakinon'a oksitler ki, bu iki reaksiyon da melanin sentez yolağındaki hız kısıtlayıcı basamaklardandır. Sonuçta UV radyasyonu absorblayan bir cilt pigmenti olan melanin oluşur. *Stratum basale* tabakasında bulunan melanositler feomelanin ve ömelanin üretilmesini sağlarlar. İnsan cildinde melanin pigmentinin fazla oluşması ve birikmesi ise cilt renginin değişmesine, cildin kırışmasına ve yaşlanmasına neden olur. Melanin biyosentezi UV maruziyetinden kaçınarak, melanositlerin metabolizmalarını, proliferasyonlarını ve TYR enzimini inhibe ederek azaltılabilir (Kusumawati ve Indrayanto, 2013; Roy ve diğerleri, 2013).

UV ışınlarına maruz kalınması sonucunda cilt proteinlerinden kolajen, elastin ve glikozaminoglikanlar yapısal ve fonksiyonel değişime uğrarlar. Dermisin ana bileşeni olan tip-1 kolajenin azalması cildin yaşlanmasına neden olur. İnsan cildinde “nötrofil elastaz” ve “cilt fibroblast elastaz” olmak üzere 2 tip elastaz enzimi mevcuttur. Her ikisi de kırışıklık oluşumuna neden olan esnek yapıların bozulmasından sorumludur. ROT, elastazların aşırı üretimine, kolajenin bozulmasına ve azalmasına, glikozaminoglikanların ise birikmesine neden olur. Bu süregelen düzensizlikten dermisin hücrelerarası matriksinde bulunan kolajen dışında, HAS-1 (hyaluronan sentaz), HAS-2 ve HAS-3 isimli HAS'ların ürettiği glikozaminoglikanlardan olan hyaluronan da sorumludur. Hyaluronanın su bağlama kapasitesi çok yüksek olduğu için cildin viskoelastik özelliklerinin düzenlenmesinde ve kolajen ile elastin ağının ince ayarında görev alır. Ancak yaşlanma ile glikozaminoglikan içeriği azalır ve kırışıklık oluşur (Knott ve diğerleri, 2008; Roy ve diğerleri, 2013).

Serbest radikallerin olumsuz etkileri ile baş etmek için cildin, dahili ve harici antioksidanlar aracılığı ile oluşturduğu kendi savunma mekanizması vardır. Dahili antioksidanlar melaninden kaynaklanırken, harici antioksidanlar oral veya topikal olarak uygulanabilir. Sağlıklı ciltte dahili antioksidanlar cildi serbest radikallere karşı koruyabilir. Ancak yaşlı ciltte savunma sistemleri bozulmuştur ve dışarıdan oral veya topikal antioksidan desteğine ihtiyacı vardır. Antioksidanlar radikal elektronunu stabilize etmek için hidrojen atomu

verebilme kapasitesine sahip oldukları için zincir reaksiyonların başlamasını veya ilerlemesini geciktirip en az düzeye indirerek cilt hasarını önlerler.



Resim 2.3. Doğal ve dış faktörlere bağlı yaşlanma ile ekstrasellüler matriks yapılarında gözlenen değişimler (Naylor ve diğerleri, 2011)

Antioksidan bileşikler kozmetik formülasyonlara serbest radikalleri yok edici etkileri nedeniyle eklenmektedir. Fakat antioksidanların çoğunun kararlı olmaması, kozmetik formülasyonlarda bazı problemlere neden olabilmektedir. Bu nedenle kozmetik formülasyonlarda antioksidanların ve konsantrasyonlarının mutlaka optimize edilmesi gerekmektedir. Antioksidanlar kozmetik ürünlerin içerisinde kararlı kalmalı ve içerikteki diğer bileşenler ile etkileşmeksizin oksijen radikallerine karşı koruma sağlamalıdır. Günümüzde bitkisel kaynaklı antioksidanların kozmetiklerde kullanımı, bu nedenle sentetik antioksidanlara göre daha çok tercih edilmektedir. Bitkisel antioksidan etkili ekstrelerin,

doğal bileşenleri karışım halinde içermesi sinerjik etkiye yol açar ve bu yüzden daha yüksek etki, daha düşük toksisite gözlenir.

Harici antioksidanlar ise vitaminler (C, E vitamini vs.), iz elementler (bakır, çinko, demir v.b.) ve bitkisel antioksidanlardır. Selenyum, bakır, çinko, manganez ve demir gibi iz elementler enzimatik antioksidanlar için kofaktör görevi görürler. Bitkisel antioksidanlar ise genellikle terpen ve polifenoller içeren bitki ekstraktlarıdır. Fenolik gruplar, peroksil radikalini süpürerek lipid peroksidasyonunu inhibe ettikleri için protein fosforilasyonunu düzenlerler. Diğer yandan flavonoidler ve stilbenler, polifenoliklerin en büyük grubunu oluştururken singlet oksijeni süpüren karotenoidler terpenlerin en büyük grubudur (Kusumawati ve Indrayanto, 2013). Antosiyaninler ve tanenler gibi polifenolik antioksidanların taşıdıkları ortaklanmamış elektronlar, aromatik halkaların rezonansı ile yer değiştirdikleri için diğer antioksidanlara göre daha yüksek stabilite ve daha düşük reaktivite sağlarlar. Ayrıca polifenollerin toksisiteleri yok ettikleri radikallere göre daha düşüktür (Saeidnia ve Abdollahi, 2013).

2.4. Biyolojik Aktivite Çalışmalarımızda Kullanılan Enzimler

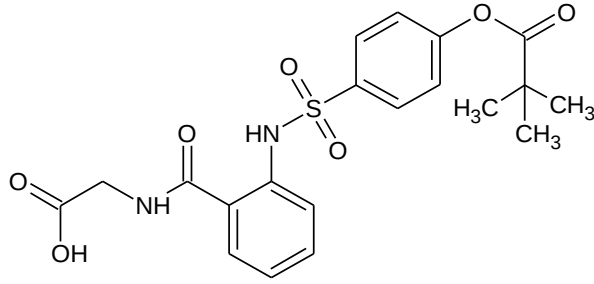
2.4.1. Elastaz enzimi

Elastazlar önemli bir doku proteini olan ve omurgalıların dokularında dağılım gösteren, özellikle akciğer, arterler, cilt ve bağ dokuda bol miktarda bulunan elastini parçalayan serin proteazlar grubundandır. Bu proteazlar arasında nötrofil elastaz (lökosit elastaz), pankreatik elastaz, makrofaj elastaz ve fibroblast elastaz yer almaktadır. İnsan nötrofil elastazı 30 kDa ağırlığında bir glikoprotein olup, kimotripsin benzeri serin proteaz aktiviteye sahiptir. Ön enzim olarak sentezlenir ve aktif hale gelmesi için iki ayrı amino-terminal işlem sürecinden geçmesi gerekir (Siedle, Hrenn ve Merfort, 2007). Elastaz enzimi elastin dışında kolajen, fibronektin ve diğer hücrelerarası matriks proteinlerini de parçalayabilmektedir. Matriks metalloproteinazlar (MMP) gibi normal şartlarda elastaz aktivitesi de, yara oluşumundan sonra doku iyileşmesini sağlamak için nötrofiller tarafından gerçekleştirilen fagositoz ile oluşan yabancı proteinlerin parçalanması için gereklidir (Thring, Hili ve Naughton, 2009). Nötrofillerden salınan serin proteazların birincil görevi fagositoz ve mikroorganizmaları yok etmektir. Nötrofiller, salgıladıkları insan nötrofil elastaz ve MMP'lar (jelatinaz A ve B) gibi proteazlar bakteriyel kaynaklı olmayan enflamasyon süreci ile de ilişkilidir. Elastaz

aktivitesinin akciğer dokusunu sindirme yeteneği vardır ve akciğerdeki nötrofillerin sayısının artmasına ya da elastaz içeren granülleri salgılanmasına neden olan bir uyarı ile aktivite artmaktadır. Fizyolojik şartlarda insan nötrofil elastaz aktivitesi endojen inhibitör olan α_1 -antitripsin ile kontrol edilir. Uyarılan nötrofillerden salgılanan serbest radikaller α_1 -antitripsin aktivitesini azaltabilir. Kontrolsüz elastaz aktivitesi, amfizeme, yara iyileşmesinin gecikmesine ve kutanöz yaraların geç kapanmasına da neden olabilmektedir (Atasoy, 2010; Benedek, Kopp ve Melzig, 2007; Siedle ve diğerleri, 2007). Liu ve ark. tarafından yapılan bir çalışmada, nötrofil elastaz, endotelial hücreleri hasara uğratarak ve nötrofilik infiltrasyonu arttırarak sıçanlardaki stres kaynaklı gastrik mukozal lezyon oluşumuna katkı sağlamaktadır. Nötrofil aktivasyonunun inhibisyonu, gastrik mukozal hasar oluşumunu önleyebilir (Liu ve diğerleri, 1998). Normal fizyolojik şartlarda endojen inhibitörler sağlıklı dokuyu hasardan korurken denge bozulduğunda akciğer rahatsızlıkları, kardiyovasküler hastalıklar, ateroskleroz ve kanser gibi çeşitli rahatsızlıklar ortaya çıkabilir (Sahasrabudhe ve Deodhar, 2010).

Elastin, hücrelerarası matrikste bulunan önemli bir proteindir ve cilt, akciğer, ligamentler ile arteriyel duvarlar gibi pek çok dokuya elastikiyet veren elastik liflerin ana bileşenidir (Xu ve diğerleri, 2010). Molekül ağırlığı 64-66 kDa olan elastin, düzensiz veya bir sarmal şeklinde olup 830 aminoasit ünitesinden oluşmaktadır. Elastin cildin dermis tabakasında bağ doku hücreleri (fibroblast) tarafından üretilir (Ko, Kim, Hyun, Jung ve Lee, 2011).

Biyolojik olarak, yaşlanma ile birlikte elastaz aktivitesi artar. UV radyasyona maruziyet ile oluşan fotoyaşlanmada da nötrofiller önemli rol oynamakta ve MMP'ların ekspresyonu artmaktadır. Böylece elastin ve kolajen parçalanır, cildin elastikiyeti azalır, kırışıklık ve çatlak oluşumu artar. Dolayısıyla elastaz aktivitesinin inhibisyonu cilt yaşlanmasına karşı korumada etkili bir yöntem olarak kullanılmaktadır (Leu ve diğerleri, 2006; Masuda ve diğerleri, 2009; Xu ve diğerleri, 2010). Sivelestat, klinik aşamaya gelmiş tek sentetik elastaz inhibitörüdür. Yapılan araştırmalarda; flavonoidler, tanenler ve sinamik asit türevleri gibi fenolikler de insan nötrofil elastaz inhibitörleri olarak tespit edilmiştir (Siedle ve diğerleri, 2007).



Şekil 2.1. Sivelestat

Daha önce yapılan çalışmalarda, *Achillea millefolium* L., *Aesculus hippocastanum* L., *Agrimonia eupatoria* L., *Alpinia katsumadai* Hayata, *Arctium lappa* L., *Areca catechu* L., *Astilbe chinensis* (Maxim.) Franch. et. Savat., *Callistemon lanceolatus* (Sm.) Sweet, *Camellia sinensis* (L.) Kuntze, *Cinnamomum cassia* (L.) J. Presl., *Cornus kousa* Bürger ex Miq., *Cornus macrophylla* Wall., *Cucumis sativus* L., *Curcuma longa* L., *Distylium racemosum* Siebold & Zucc., *Diospyros kaki* Thunb., *Filipendula ulmaria* (L.) Maxim., *Fucus vesiculosus* L., *Galium aparine* L., *Garcinia indica* (Thouars) Choisy, *Glycine max* (L.) Merr., *Morinda citrifolia* L., *Myristica fragrans* Houtt., *Potentilla tormentilla* Neck., *Sanguisorba officinalis* L. ile *Tagetes erecta* L. bitkilerinden hareketle hazırlanan ekstrelerin ve *Illicium anisatum* L. bitkisinin uçucu yağının *in vitro* elastaz inhibisyonu yaptığı bildirilmiştir (Benedek ve diğerleri, 2007; Bos ve diğerleri, 1996; J. H. Kim, Byun, Bandi, Hyun ve Lee, 2009; J. Y. Kim ve diğerleri, 2009; S. S. Kim ve diğerleri, 2007; Ko ve diğerleri, 2011; K.K. Lee, Cho, Park ve Choi, 2001; K. K. Lee, Kim, Cho ve Choi, 1999; S. H. Lee, Sancheti, Sancheti ve Seo, 2009; Maity, Nema, Abedy, Sarkar ve Mukherjee, 2011; Masuda ve diğerleri, 2009; Nema, Maity, Sarkar ve Mukherjee, 2011; Piwowarski, Kiss ve Kozłowska-Wojciechowska, 2011; Sahasrabudhe ve Deodhar, 2010; Sultana ve Lee, 2007; Thring ve diğerleri, 2009; Tsukahara, Moriwaki, Fujimura ve Takema, 2001; R. B. Zhao ve diğerleri, 2009).

2.4.2. Kolajenaz enzimi

Kolajen kemik, diş ve korneanın organik bileşeni olması yanında cildin, tendonların ve kıkırdığın da ana ögesidir. Memeli organizmasındaki toplam proteinin yaklaşık % 25-33'ünü kolajen oluşturmakta ve bu kolajenin % 80'i cildin dermis tabakasında ve kemiklerde bulunmaktadır. Kolajen yaklaşık 300 nm uzunluğunda ve 3 paralel polipeptit zinciri taşıyan büyük bir moleküldür (Calleja-Agius, Brincat ve Borg, 2013; Harrington, 1996).

Cildin hücrelerarası matriksinde bulunan hemen hemen tüm bileşenleri parçalayabilme kapasitesine sahip olan MMP'lar çinko veya kalsiyum-bağımlı endoproteinazlar ailesinde yer alırlar. MMP'lar; kolajenazlar, jelatinazlar, sitromelizinler, matrilizinler, membran tip-MMP'lar ve diğer sınıflandırılmayan MMP'lar olmak üzere çeşitli alt sınıflara ayrılır. Kolajenazlar sınıflandırıldığında ise MMP-1 (kolajenaz-1), MMP-8 (kolajenaz-2) ve MMP-13 (kolajenaz 3) olmak üzere 3 adet memeli kolajenazı bulunmaktadır (Cawston ve Wilson, 2006; Sim ve diğerleri, 2007). İnsan cildinin *in vivo* UV radyasyona akut maruziyeti, cilt kolajenini parçalayan MMP-1, MMP-3 (sitromelizin-3) ve MMP-9 (92 kd jelatinaz-B) gibi bazı MMP'ların sentezini düzenlemektedir (Fisher ve diğerleri, 1996; Fisher ve diğerleri, 1997; Sim ve diğerleri, 2007). MMP'lar yara iyileşmesi, kemiğin yenilenmesi, uterus ve meme dokusunun fonksiyonları, ovülasyon, embriyogenez, embriyo implantasyonu ve laktasyon gibi fizyolojik süreçlerde yer aldığı gibi aynı zamanda artrit, tümör hücresinin invazyonu ve metastaz gibi patolojik süreçlerde de rol oynar. Bu nedenle MMP'lar yeni antikanser, antiartirit ve antienflamatuvar süreçleri düzenleyen yararlı diğer farmakolojik öğelerin araştırılmasında cazip hedefler arasındadır (Apakkan Aksun, Özmen ve Bayındır, 2001; S. P. Gupta ve Kumaran, 2003).

Diğer yandan, kolajen liflerinin kolajenaz enzimi ile parçalanması periodontal rahatsızlıkların önemli göstergelerinden biridir. Bu nedenle periodontal hastalıkların gelişiminde kolajenaz önemli bir patojenik faktördür (Choi ve diğerleri, 2012) Yapılan çalışmalar ile periodontal rahatsızlıklar ile dişeti oluğu salgısındaki yüksek kolajenaz aktivitesi arasında pozitif korelasyon saptanmıştır (Makimura ve diğerleri, 1993). Ayrıca ağır artrit vakalarında, kıkırdak ve kemik yıkımı ile eklem normal fonksiyonunu yerine getirememektedir. Kemik ve kıkırdakta bulunan kolajen de, yine kolajenaz enzimi ile parçalanmaktadır. Kolajenaz inhibitörleri artrit hastalarındaki doku yıkımını önlemede etkili olmasa da, kombinasyon ilaç tedavileri ile hastalardaki eklem yıkımının önlenebileceği saptanmıştır (Cawston ve Wilson, 2006).

Cildin dermis tabakasının % 97,5'i kolajenden oluşurken, geriye kalan % 2,5'lik kısım elastindir. Kolajen lifleri dermisin esnekliğinden sorumludur. Daha önce de bahsedildiği gibi, dış faktörlerle oluşan yaşlanmaya etki eden birkaç faktörden en büyük pay sahibi ise uzun süreli güneşe maruziyettir. UV ışınları, timin ve pirimidin dimerlerinin oluşumu ile enflamatuvar cevabın başlaması ve kolajenaz enziminin üretiminin artması ile cilde zarar vermektedir (Calleja-Agius ve diğerleri, 2013). Bulgular, MMP'ların fotoyaşlanmış ciltler

gibi enflamasyonlu ciltlerde de aktif olduğunu ve elastin ile kolajen gibi proteinleri parçalayarak cilt hasarı ve kırışıklık oluşumuna neden olduğunu göstermiştir (Sin ve Kim, 2005).

Clostridium histolyticum'dan elde edilen kolajenaz enzimi de hücrelerarası matriks proteinlerini parçalar. Bakteriyel kaynaklı bu kolajenaz, fizyolojik şartlarda kolajen üçlü sarmalını, *in vitro* koşullarda ise substrat olarak kullanılan sentetik peptitleri hidroliz eder (Thring ve diğerleri, 2009).

Önceki çalışmalar ile *Camellia sinensis* (L.) Kuntze, *Crataegus pinnatifida* Bunge, *Diospyros kaki* Thunb., *Viola yedoensis* Makino ve bazı deniz yosunları [*Enteromorpha linza* (L.) Ag., *Sargassum sagamianum* Yendo, *Ulva pertusa* Kjellman] ekstrelerinin, *Aloe barbadensis* Mill. jeli ile bazı flavonoidlerin ve çay kateşinlerinin kolajenaz enzimini *in vitro* olarak inhibe ettiği bildirilmiştir (An ve diğerleri, 2005; Barrantes ve Guinea, 2003; Choi ve diğerleri, 2012; Makimura ve diğerleri, 1993; Moon, Kim, Cho ve Kim, 2010; Oshima, Narukawa, Takeda ve Kiuchi, 2013; Sin ve Kim, 2005; Thring ve diğerleri, 2009).

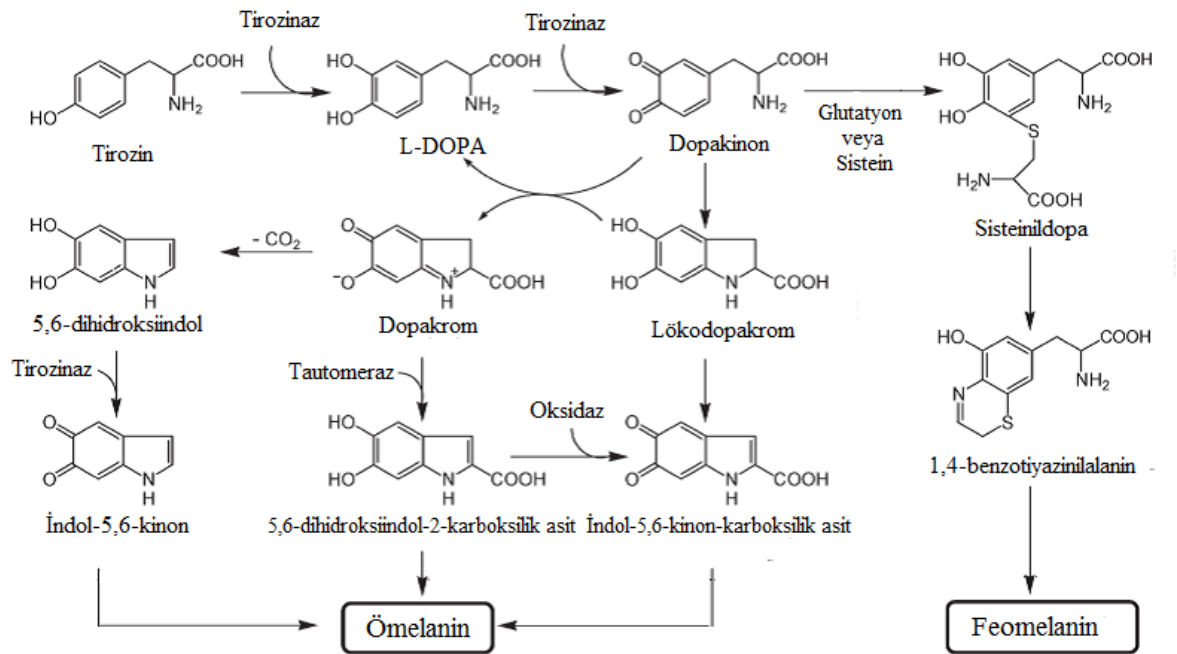
2.4.3. Tirozinaz enzimi

TYR (sin: polifenol oksidaz) enzimi oksidaz ailesinden, multifonksiyonel ve bakır içeren bir enzimdir. Bu enzim, melanin sentezinde iki farklı reaksiyon olan monofenolün hidroksilasyonu ve *o*-difenol'ün *o*-kinon'a dönüşümünü katalizler. Memelilerdeki molekül ağırlığı yaklaşık 60-70 kDa arasındadır. Enzim endoplazmik retikulum üzerinde bulunan melanozomal ribozomlar tarafından sentezlenir. Daha sonra glikolize olur ve inaktif formda melanozomlara taşınır. Üç alandan oluşan enzimin merkez alanında 2 adet bakır-bağlanma bölgesi mevcuttur. Enzimin aktif bölgesinde 6 adet histidin artığı bir çift bakır iyonuna bağlanır ve bu yapı moleküler oksijen ve fenolik yapıdaki substrat ile etkileşir (Mahmud Tareq Hassan Khan, 2007; Y. J. Kim ve Uyama, 2005; Parvez ve diğerleri, 2006).

TYR enzimi üzerindeki ilk biyokimyasal araştırmalar 1895 yılında, kesildikten sonra hava ile temas edince önce kırmızı sonra siyah renge dönen *Russula nigricans* mantarı üzerinde gerçekleştirilmiştir. Yapıları en iyi şekilde karakterize edilen TYR'lar *Streptomyces glaucescens*, *Neurospora crassa* ve *Agaricus bisporus* kaynaklıdır. *S. castaneoglobisporus*, *Bacillus megaterium* ve *A. bisporus*'dan elde edilen mantar TYR'larının X-ışını

kristalografisi ile kristal yapıları aydınlatılmıştır, fakat insan TYR'ı ile ilgili X-ışını yapı aydınlatması henüz yapılmamıştır (Chang, 2009; Yoshimori ve diğerleri, 2014).

Epiderminin bazal tabakasında bulunan melanositlerde, melanin biyosentezinde TYR, L-tirozin'in 3,4-dihidroksi-L-fenilalanin'e (L-DOPA) hidroksilasyonu ve L-DOPA'nın dopakinon'a oksidasyonundan sorumludur. İnsanlarda dopakinon, siklizasyon ve oksidatif polimerizasyon gibi bir seri kompleks reaksiyon ile değişir ve sonunda melanin oluşur. Melaninin görevi güneş ışığından absorblanan UV radyasyondan cildi korumak ve serbest oksijen radikallerini yok etmektir. Melaninin tipi, miktarı ve keratinositler etrafında dağılımı cildin gerçek tonunu belirler. Fazla miktarda epidermal pigmentasyon oluşumu ve melanin birikimi melazma, yaşa bağlı lekeler ve aktinik rahatsızlıklar gibi çeşitli dermatolojik rahatsızlıklara neden olur (Mahmud Tareq Hassan Khan, 2007; Y. J. Kim ve Uyama, 2005; Parvez, Kang, Chung ve Bae, 2007).



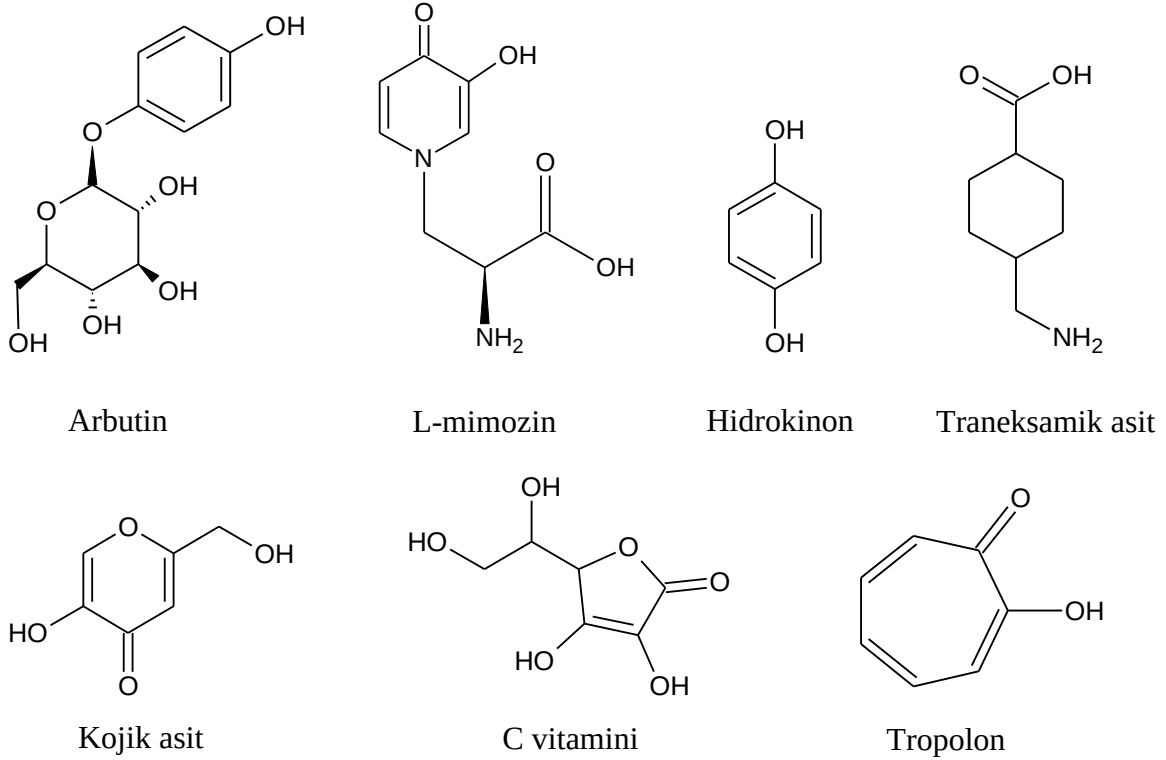
Şekil 2.2. Melanin biyosentez yolağı (Y. J. Kim ve Uyama, 2005; Kobayashi, Viera, Potterf, Sakai ve Imokawa, 1995)

Melanin pigmenti aynı zamanda memeli beyinde de bulunur. TYR enzimi insan beyinde nöromelanin oluşumunda rol oynayarak Parkinson hastalığı ile ortaya çıkan nörodejenerasyon ile ilgili olan dopamin nörotoksisitesine sebep olabilir. Enzimin santral sinir sistemindeki varlığı tartışmalı olsa da, bazı çalışmalar nigral nöronlarda TYR geninin ekspresyonunu, proteinini ve katalitik aktivitesini göstermiştir. Ayrıca TYR'ın ana substratı

olan dopamin bakımından zengin bir bölge olan *substantia nigra*'da TYR aktivitesinin daha yüksek olduğu bulunmuştur (Hasegawa, 2010; Mahmud Tareq Hassan Khan, 2007).

TYR enzimi meyve ve sebzelerin hasadı sonrasında oluşan ve istenmeyen enzimatik kararmada da rol oynar. Enzim aynı zamanda böceklerde melanogenez, yara iyileşmesi, parazit enkapsülasyonu ve skleritizasyonda da görev alır. Bu nedenle yeni TYR inhibitörlerinin geliştirilmesi, pigmentasyon problemlerinin önlenmesi ve tedavisinde kullanılacak tıbbi ve kozmetik ürünler için olduğu kadar tarım ve gıda alanında da oldukça önemlidir (Y. J. Kim ve Uyama, 2005).

TYR enzimini inhibe eden doğal ve sentetik kaynaklı maddeler bulunmaktadır. Endüstriyel bir kimyasal madde olan hidrokinon bunlardan biridir ve fenolik yapıdadır. Ancak topikal steroidler ile kolayca tedavi edilebilen deri irritasyonu veya kontakt dermatit, hidrokinon'un bilinen yan etkileri arasında yer almaktadır. Ekzojen okronozis ise daha nadir görülen ve hidrokinon uygulanan bölgede mavimsi siyah hiperpigmentasyona neden olan ciddi bir yan etkidir. Bu rahatsızlığın tedavisi zor olmakla birlikte önlemek daha kolaydır (Kılınç ve Metin, 2011; Parvez ve diğerleri, 2006). Fungal bir metabolit olan kojik asit, üzerinde oldukça fazla çalışma yapılmış olan bir diğer TYR inhibitörüdür. Mantar kaynaklı TYR'in monofenolaz aktivitesinde yarışmalı, difenolaz aktivitesinde ise karışık inhibisyona yol açar. TYR'in yavaş bağlanan diğer inhibitörleri ise oldukça güçlü bir inhibitör olan tropolon ve substrat analogu L-mimozin'dir (Cabanès, Garcia-Canovas, Tudela, Lozano ve Garcia-Carmona, 1987; Espin ve Wichers, 1999). Polifenoller, benzaldehit ve benzoat türevleri, uzun zincirli lipidler ve steroidler diğer TYR inhibitörlerinin yer aldığı bazı kimyasal gruplardır (Chang, 2009). Arbutin, C vitamini, retinol, traneksamik asit ve azelaik asit güçlü TYR inhibitör etkileri nedeniyle kozmetik endüstrisinin kullanımına sunulmuştur (Şekil 2.3.). Fakat retinoik asit (izotretinoin), azelaik asit ve hidrokinon'un cilt beyazlatıcı ajan olarak kullanımları yüksek sitotoksiteleri ve ciltte oluşturdıkları yan etkiler nedeniyle yasaklanmış olup, sadece reçete ile kullanılmalarına müsaade edilmektedir (An ve diğerleri, 2005).



Şekil 2.3. TYR enzimini inhibe eden bazı bileşikler

Bir başka mantar türü olan *Agaricus bisporus*'tan izole edilen TYR, memeli TYR ile yüksek oranda homolog olduğu, melanogenez çalışmalarına uygun olduğu ve ticari olarak kolayca temin edilebildiği için yaygın olarak kullanılmaktadır (Chang, 2009). Yapılan araştırmalarda tespit edilen TYR inhibitörlerinin çoğu fenol yapısı taşıyan veya metal bağlayan bileşiklerdir. Fakat günümüzde yan etkileri ve düşük aktiviteleri nedeniyle bunların sadece bir kısmı kullanılmaktadır. Bu nedenle TYR'ı yan etki göstermeden, etkili bir biçimde inhibe edecek bileşik adayları bulmaya yönelik çalışmalar son derece gereklidir (Si ve diğerleri, 2012).

Daha önce yapılan çalışmalar ile *Alhagi camelorum* Fisch., *Arbutus andrachne* L., *Artocarpus lakoocha* Roxb., *Astilbe chinensis* (Maxim.) Franch. et. Savat., *Blechnum orientale* L., *Camellia sinensis* (L.) Kuntze, *Cinnamomum cassia* (L.) J. Presl., *Citrus aurantifolia* (Cristm.) Swingle, *C. aurantium* L., *C. grandis* (L.) Osbeck, *C. hassaku* hort. ex Yu. Tanaka, *Cudrania cochinchinensis* (Lour.) Kudo & Masam., *Cuminum cyminum* L., *Cypraea moneta* L., *Dalea elegans* Gillies ex Hook. & Arn., *Etlintera elatior* (Jack) R. M. Smith, *Glycyrrhiza glabra* L., *Lavandula angustifolia* Mill., *L. stoechas* L., *Lawsonia inermis* L., *Lepechinia meyenii* (Walp.) Epling, *Lithrea molleoides* (Vell.) Engl., *Maackia*

fauriei (H. Lev.) Takeda, *Macaranga pruinosa* Müll. Arg., *Mangifera indica* L., *Morinda citrifolia* L., *Morus alba* L., *M. Bombycis* Koidz., *Phormium tenax* J. R. Forst. & G. Forst., *Portulaca oleracea* L., *Punica granatum* L., *Quercus infectoria* Oliv., *Syzygium aromaticum* (L.) Merr. & L. M. Perry, *Terminalia chebula* Retz., *Thalictrum decipiens* B. Boivin. ve *Vaccinium arctostaphylos* L. ekstrelerinin TYR enzimini farklı düzeylerde *in vitro* olarak inhibe ettikleri bildirilmiştir (Adhikari ve diğerleri, 2008; Chan ve diğerleri, 2008; Chiari, Joray, Ruiz, Palacios ve Carpinella, 2010; Hsu, Chang, Lu ve Chung, 2007; Issa, Afifi ve Amro, 2008; Itoh ve diğerleri, 2009; Khazaeli, Goldoozian ve Sharififar, 2009; I. Y. Kim, Lee, Shim ve Chun, 2013; J. M. Kim, Ko, Jung, Kim ve Lee, 2010; S. S. Kim ve diğerleri, 2007; Lai, Lim ve Tan, 2009; S. H. Lee ve diğerleri, 2009; Lim, Lim ve Yule, 2009; Maisuthisakul ve Gordon, 2009; Masuda ve diğerleri, 2009; Ngoc ve diğerleri, 2009; No ve diğerleri, 1999; Tengamnuy, Pengrungruangwong, Pheansri ve Likhitwitayawuid, 2006; S. J. Wu, Ng, Tzeng, Ho ve Shyu, 2011; Zheng, Zhu, Fan, Tan ve Wang, 2011).

2.5. Kozmetik Ürünlerde Kullanılan Formülasyonlar ve Mikroemülsiyonlar

Günümüzde dünya genelindeki tüketiciler kişisel bakım ürünlerinden çok çaba harcamadan daha çok fayda sağlamayı ve aynı zamanda son teknolojik yenilikleri, inovatif formülasyonlarda görmeyi istemektedir. Bu nedenlerle üreticiler, tedavinin yanı sıra estetik üzerine de yoğunlaşan, multifonksiyonel ürünler geliştirmek için çaba göstermektedir. Yeni ürünlerin önemli bir kısmı yeni nesil etkin maddeleri içermektedir. Ancak bu, yeni nesil etkin maddeler ile tek bir kozmetik üründe birden fazla etki elde edilmeye çalışılması, uygun formülasyonun seçimi, geliştirilmesi ve stabilitenin sağlanması gibi formülasyon zorlukları ortaya çıkarmıştır. Kozmetoloji, patolojik olmayan cilt tedavisi ile ilgilenen bir disiplinken, günümüzde dermatoloji ile de ilgili hale gelmiştir.

Kozmetik ürünlerde kullanılan taşıyıcı sistemler, veziküler sistemler (lipozomlar, silikon veziküller, çok tabakalı taşıyıcı sistemler), emülsiyonlar (mikroemülsiyonlar, sıvı kristaller, çoklu emülsiyonlar, nanoemülsiyonlar), tanecikli sistemler (mikropartiküller, poröz polimerik sistemler, nanopartiküller), moleküler taşıyıcılar (siklodekstrin kompleksler) ve kozmetik etkili yamalar olarak sınıflandırılabilir (Patravale ve Mandawgade, 2008).

Mikroemülsiyonlar şeffaf görünümlü, düşük viskoziteli, YEM ve YYEM ile yüzeyler arası film oluşturularak yağ ve suyun stabilize edildiği dispersiyonlardır. Sistemin

oluşturulmasında genellikle polihidroksi bir bileşik, kısa-zincirli veya orta-zincirli alkol gibi bir maddenin kullanılması gerekmektedir.

Mikroemülsiyonlar kimyasal yapısına ve bileşenlerin miktarına göre değişen dispersiyon karakterlerine ve yağ/su faz oranlarına göre temelde 2 grupta incelenebilir. Genellikle su içinde yağ (y/s) veya yağ içinde su (s/y) sistemleridir. Yağ fazının az olduğu durumlarda mikroemülsiyonda y/s damlacıkları, bunun aksine su fazının az olduğu durumlarda ise s/y damlacıkları görülmektedir. Su ve yağ miktarlarının nispeten eşit olduğu sistemlerde ise sürekli mikroemülsiyonlar oluşmaktadır. Mikroemülsiyonlarda damlacık boyutu 10-140 nm arasında değişmektedir.

Mikroemülsiyon terimi, 1940'ların başında Hoar ve Schulman tarafından süt kıvamında bir emülsiyonun orta-zincirli bir alkol ile titrasyonu sonucu belirgin, tek fazlı bir çözelti elde etmeleri ile ortaya atılmıştır. O zamandan beri de yakıt, deterjan, kimyasal tarım, gıda, farmasötik ve kozmetik gibi pek çok alanda kullanılmıştır.

Kozmetik ürünler arasında yer alan cilt bakım ürünleri her zaman yoğun talep görmektedir. Cildin en dış tabakası olan ve bariyer rolü oynayan *stratum corneum*, 10-20 µm kalınlığındadır ve bu tabakanın oluşumundan epidermis (50-100 µm) sorumludur. Kolajen ve elastin lifleri yanında, su bağlanmış hyalüronik asit içeren dermis tabakası ise cilde mekanik destek sağlar. Yaşlanma ile birlikte kolajenin yıkımı ve patolojik elastin birikimi nedeniyle dermal bağ dokunun yapısı bozulur. Bu nedenle etkili bir yaşlanma karşıtı aktivite için etkin maddelerin stabilitesi yanında bu maddelerin dermal absorpsiyonları ve antioksidan bileşiklerin epidermisten dermise nüfuz etmeleri önkoşuldur (Zillich, Schweiggert-Weisz, Hasenkopf, Eisner ve Kerscher, 2013).

Stratum corneum tabakasının esnekliği ve koruyucu görevi nem içeriği ile ilişkilidir. Nem içeriğini etkileyen 3 temel faktör bulunmaktadır ve bunlar dermisteki suyun *stratum corneum* tabakasına ulaşma hızı, suyun buharlaşma ile uzaklaşma hızı ve *stratum corneum*'un su tutma kapasitesidir (Azeem ve diğerleri, 2008). Nemlendiriciler, beyazlatıcı ve antioksidan ajanlar gibi kozmetik bileşenlerin perkütan absorpsiyonları ciltteki *stratum corneum* tabakasının bariyer fonksiyonu nedeniyle düşüktür. Cildin su içeriği %10-20 arasında değişirken, farmasötik ve kozmetik sektörlerinde kullanılan etken maddelerin %40'ından fazlasının suda çözünürlüğü oldukça zayıftır. Bu bileşenlerin cilt

geçirgenliklerini arttırmak ve *stratum corneum*'un bariyer fonksiyonunu aşmak amacıyla çeşitli stratejiler geliştirilmiştir. Bazı araştırmacılar tarafından kozmetik bileşenlerin ve ilaçların ciltte taşınmalarının basit çözeltiler veya konvansiyonel dozaj formlarına göre daha iyi olduğunu gösterdikleri yararlı formülasyonlardan bir tanesi de mikroemülsiyonlardır. Mikroemülsiyonların cilt geçirgenliğini arttırıcı özelliklerini bazı mekanizmalar ile açıklamak mümkündür. Bunlar şu şekilde sıralanabilir;

- Yüksek çözme kapasiteleri nedeniyle fazla miktarda etken madde formülasyonda yer alabilmektedir.
- Mikroemülsiyon içindeki etken maddenin termodinamik etkisi nedeniyle transdermal akışta bir artış beklenebilir ki; bu da *stratum corneum* 'a dağılma konusunda olumlu bir değişim sağlayabilir.
- Mikroemülsiyonlarda bulunan yüzey etkin maddeler *stratum corneum*'un difüzyonel bariyer özelliğini azaltabilirler.
- Mikroemülsiyonlar etken madde deposu görevi görebilirler, böylece etken madde içindeki fazdan dıştaki faza ve sonra da cilde salınır.
- Mikroemülsiyon damlacıkları *stratum corneum* yüzeyinde dağılabilir ve böylece içeriklerini cilt yüzeyine salabilirler.
- Mikroemülsiyonun sürekli fazında dağılmış olan nano boyuttaki damlacıklar *stratum corneum* boyunca rahatlıkla ilerleyebilir ve etken maddeyi cilt bariyerinden geçirerek taşıyabilir.
- Eğer mikroemülsiyon içindeki su içeriği yeterliyse, *stratum corneum* 'un nemlenmesi ile etken maddenin perkütan absorpsiyonu artabilir.

Mikroemülsiyonlar güzel görünüşleri, termodinamik stabiliteleri, yüksek çözme güçleri ve uygulama kolaylıklarının yanı sıra kozmetik ürünlerin daha etkili ve dayanıklı olmalarını sağlarlar (Boonme, 2007; Tal-Figiel ve Figiel, 2008). Işık ve ısıya hassas olan doğal bileşiklerin de mikroemülsiyon formlarının sulu çözeltilerine göre daha dayanıklı olduğu tespit edilmiştir (Chanchal ve Swarnlata, 2008). Bir çalışmada da, suda çözünürlüklerinin az olması nedeniyle genellikle biyoyararlanımı zayıf olan polifenoller, mikroemülsiyon formunda uygulandıklarında *stratum corneum* tabakasını geçerek epidermis ve dermiste tespit edilmiştir (Zillich ve diğerleri, 2013).

Mikroemülsiyon çalışmalarında, mikroemülsiyonların oluştuğu alanın saptanması için üçgen faz diyagramlarından yararlanılır (S. Q. Cheng ve diğerleri, 2007; Tenjarla, 1999). Üçgen faz diyagramları, mikroemülsiyonun oluştuğu alandaki bileşenlerin % oranını belirlemek için kullanılır (X. Zhao ve diğerleri, 2006). Mikroemülsiyon bölgesi, “berrak ve şeffaf formülasyonların saptandığı alan” olarak tanımlanır (Constantinides ve Scalart, 1997). Üçgen faz diyagramlarının çizilebilmesi ve bunun sonucunda mikroemülsiyon oluşumu için gerekli madde oranlarının belirlenebilmesi için titrasyon yöntemi kullanılır (Tenjarla, 1999).

Ülkemiz üzüm (*Vitis vinifera* L.) üretiminde dünyada 6. büyük üretici konumundadır ve 2013 yılında yaklaşık 4 milyon ton üretim gerçekleşmiştir ("Food and Agriculture Organization of the United Nations Statistics Division," 2015). Üretilen bu üzümün % 52'si sofralık, % 38'i kurutmalık, % 10'u ise şıralık ve şaraplık olarak kullanılmaktadır. Yaş meyve ağırlığının % 20'sini oluşturan üzüm çekirdeği ise şarap ve meyve suyu üretiminde yan ürün olarak elde edilir (Taşçı, 2013). Üzüm çekirdeğinde bulunan polifenoller antioksidan özellikleri nedeniyle son yıllarda oldukça değer kazanmıştır. Çay üretimi ise 1924 yılında Karadeniz Bölgesi'nde *Camellia sinensis* (L.) Kuntze bitkisinin kültüre alınmasıyla başlamış ve daha sonra bu bölgede hızla yayılmıştır. Türkiye'de 2013 yılındaki çay üretimi 210 000 ton civarındadır ve ülkemiz, dünyada 6. büyük çay üreticisi konumundadır ("Çaykur- Processing Technology," 2015; "Food and Agriculture Organization of the United Nations Statistics Division," 2015). Bitkinin genç sürgünleri işlenerek beyaz çay, yeşil çay, oolong çayı ve siyah çay üretilmektedir. Yeşil çayda bulunan polifenollerin oranı iklim, mevsim veya çeşidine göre kuru ağırlığın % 36'sına kadar çıkmaktadır (Taşçı, 2013). Yeşil çay ekstresinde bulunan polifenoller ve kateşinler antioksidan özelliğe sahiptir. Üzüm çekirdeği ve yeşil çay ekstralarında bulunan polifenoller yapılarında bulunan aktif hidroksil grupları aracılığı ile serbest radikallerle etkileşerek lipid peroksidasyonunu önlerler. Bu etkileri yanında, tespit edilen diğer farmakolojik özellikleri nedeniyle her iki ekstrenin fonksiyonel gıda olarak kullanımı da önem kazanmıştır (Perumalla ve Hettiarachchy, 2011). Ülkemizde kolaylıkla temin edilebildikleri için mikroemülsiyon formülasyon çalışmalarımızda öncelikle, TYR enzim inhibisyonu etkisini saptadığımız yeşil çay ekstresi ile elastaz ve kolajenaz enzim inhibisyonu etkisini saptadığımız üzüm çekirdeği ekstresi denenmiş ve iki ayrı formülasyon hazırlanmıştır.

2.6. Tez Araştırmamızda Biyolojik Aktivite Ön Taraması İçin Seçilen Bitkiler Hakkında Genel Bilgiler

Tez çalışmalarımız kapsamında araştırılan bitkiler, halk arasında cilt ile ilgili kullanımlarına dair kayıtların bulunması, fenolik içeriklerinin yüksek olması, kozmetik ürünlerde yer almaları veya üzerinde benzer çalışmalar olması gibi özellikleri dikkate alınarak taramaya dahil edilmişlerdir. Taramada kullanılan bitkiler ve seçilme nedenleri Çizelge 2.1.'de verilmiştir.

Çizelge 2.1. Biyolojik aktivite taramasında kullanılan bitkiler ve seçilme nedenleri

Bitkilerin Latince ve Türkçe isimleri	Seçilme nedeni
<i>Aesculus hippocastanum</i> L. (At kestanesi)	Kozmetik ürünlerin bileşiminde yer almaktadır ve tür üzerinde yapılmış benzer çalışma bulunmaktadır (Kapoor, Dureja ve Chadha, 2009; "Personal Care Products Council - International Buyers' Guide," 2008; Piwowarski ve diğerleri, 2011).
<i>Aloe vera</i> (L.) Burm. f. (Sarısabır)	Kozmetik ürünlerin bileşiminde yer almaktadır ve tür üzerinde yapılmış benzer çalışma bulunmaktadır (Barrantes ve Guinea, 2003; "Personal Care Products Council - International Buyers' Guide," 2008).
<i>Arbutus unedo</i> L. (Koca yemiş)	Kozmetik ürünlerin bileşiminde yer almaktadır, farklı türü üzerinde yapılmış benzer çalışma bulunmaktadır. İtalya'da halk arasında yara iyileştirmek için kullanıldığına dair kayıt vardır (Ballero, Poli, Sacchetti ve Loi, 2001; Issa ve diğerleri, 2008; "Personal Care Products Council - International Buyers' Guide," 2008).
<i>Calendula arvensis</i> L. (Nergis)	Farklı bir türü, kozmetik ürünlerin bileşiminde yer almaktadır. Bu türün Pakistan'da halk arasında yara iyi edici olarak kullanıldığına dair kayıt vardır (Abbasi ve diğerleri, 2010; "Personal Care Products Council - International Buyers' Guide," 2008).
<i>Camellia sinensis</i> (L.) Kuntze (Çay)	Kozmetik ürünlerin bileşiminde sıklıkla yer almaktadır ve bu tür üzerinde yapılmış benzer çalışma bulunmaktadır. Tür geleneksel Çin tıbbında cilt bakımı için kullanılmaktadır (B. Li ve diğerleri, 2011; "Personal Care Products Council - International Buyers' Guide," 2008; Thring ve diğerleri, 2009).
<i>Cassia</i> L. sp. (Sinameki)	Kozmetik ürünlerin bileşiminde yer almaktadır ve tür üzerinde yapılmış benzer çalışma bulunmaktadır. Türün geleneksel olarak cilt rahatsızlıklarında kullanıldığı belirtilmiştir (Ahshawat, Saraf ve Saraf, 2008; "Personal Care Products Council - International Buyers' Guide," 2008; Srivastava ve diğerleri, 2006).
<i>Cinnamomum cassia</i> (L.) J. Presl (Tarçın)	Kozmetik ürünlerin bileşiminde yer almaktadır ve tür üzerinde yapılmış benzer çalışma bulunmaktadır. (M. S. A. Khan ve Ahmad, 2011; "Personal Care Products Council - International Buyers' Guide," 2008).

Çizelge 2.1. (devam) Biyolojik aktivite taramasında kullanılan bitkiler ve seçilme nedenleri

<i>Citrus aurantium</i> L. (Turunç)	
<i>Citrus deliciosa</i> Ten. (Akdeniz mandalinası)	
<i>Citrus limon</i> (L.) Osbeck (Limon)	
<i>Citrus maxima</i> (Burm.) Merr. (Çin greyturdu)	
<i>Citrus paradisi</i> Macfad. (Greyfurt)	
<i>Citrus reticulata</i> Blanco (Mandalina)	
<i>Citrus reticulata</i> × <i>Citrus paradisi</i>	
<i>Citrus sinensis</i> Osbeck (Portakal)	
<i>Citrus japonica</i> Thunb. (Kamkat)	
<i>Cotinus coggyria</i> Scop. (Boyacı sumacı)	Kozmetik ürünlerin bileşiminde yer almaktadır, ülkemizde ve Rusya'da yara iyi edici olarak kullanıldığına dair kayıt vardır (Kültür, 2007; Mamedov, Gardner ve Craker, 2005; "Personal Care Products Council - International Buyers' Guide," 2008; Tuzlacı ve Alparslan, 2007).
<i>Crataegus monogyna</i> Jacq. (Adi alıç)	<i>C. monogyna</i> kozmetik ürünlerin bileşiminde yer almaktadır ve farklı bir türü üzerinde yapılmış benzer çalışma bulunmaktadır (X. X. Huang ve diğerleri, 2014; "Personal Care Products Council - International Buyers' Guide," 2008).
<i>Crataegus szovitsii</i> Pojark. (Koyun alıcı)	
<i>Cupressus sempervirens</i> L. (Servi)	Kozmetik ürünlerin bileşiminde yer almaktadır ve bu tür üzerinde yapılmış benzer çalışma bulunmaktadır (Meunier, Villie ve Bastide, 1994; "Personal Care Products Council - International Buyers' Guide," 2008).
<i>Curcuma longa</i> L. (Zerdeçal)	Kozmetik ürünlerin bileşiminde yer almaktadır ve tür üzerinde yapılmış benzer çalışma bulunmaktadır. Asya'da geleneksel olarak cilt üzerinde kullanıldığına dair kayıt vardır (K. K. Lee ve diğerleri, 1999; "Personal Care Products Council - International Buyers' Guide," 2008; Sumiyoshi ve Kimura, 2009).
<i>Ficus carica</i> L. (İncir)	Kozmetik ürünlerin bileşiminde yer almaktadır ve fenolik içeriği yüksektir. Farklı bir türü üzerinde yapılmış benzer çalışma bulunmaktadır (Debib, Tir-Touil, Mothana, Meddah ve Sonnet, 2014; S. H. Park ve diğerleri, 2012; "Personal Care Products Council - International Buyers' Guide," 2008).
<i>Garcinia mangostana</i> L. (Mangostan)	Kozmetik ürünlerin bileşiminde yer almaktadır. Fenolik içeriği yüksektir ve Tayland'da geleneksel olarak cilt enfeksiyonlarına karşı kullanıldığına dair kayıt vardır (Mahabusarakam, Wiriyaichitra ve Taylor, 1987; "Personal Care Products Council - International Buyers' Guide," 2008; Zadernowski, Czaplicki ve Naczka, 2009).
<i>Hedera helix</i> L. (Duvar sarmaşığı)	Kozmetik ürünlerin bileşiminde yer almaktadır. Tür üzerinde yapılmış benzer çalışma bulunmaktadır (Facino, Carini, Stefani, Aldini ve Saibene, 1995).
<i>Laurus nobilis</i> L. (Defne)	Kozmetik ürünlerin bileşiminde yer almaktadır ve İtalya'da halk arasında cilt enfeksiyonlarına karşı kullanıldığına dair kayıt vardır ("Personal Care Products Council - International Buyers' Guide," 2008; Pieroni ve diğerleri, 2004).
<i>Lamium purpureum</i> L. (Eflatun çiçekli ballıbaba)	Fenolik içeriği yüksek bulunmuştur ve farklı bir tür üzerinde yapılmış benzer çalışmalar bulunmaktadır (K. I. Alipieva, Taskova, Evstatieva, Handjieva ve Popov, 2003; Nugroho ve diğerleri, 2009).

Çizelge 2.1. (devam) Biyolojik aktivite taramasında kullanılan bitkiler ve seçilme nedenleri

<i>Maclura pomifera</i> (Raf.) C. K. Schneider (Ayı elması)	Kozmetik ürünlerin bileşiminde yer almaktadır ve fenolik içeriği yüksektir ("Personal Care Products Council - International Buyers' Guide," 2008; Tsao, Yang ve Young, 2003).
<i>Malus</i> Mill. sp. (Elma)	<i>Malus</i> türleri kozmetik ürünlerin bileşiminde yer almaktadır ve türler üzerinde benzer çalışmalar bulunmaktadır (Leu ve diğerleri, 2006; "Personal Care Products Council - International Buyers' Guide," 2008)
<i>Olea europaea</i> L. (Zeytin)	Kozmetik ürünlerin bileşiminde yer almaktadır ve fenolik içeriği yüksektir. Türün Sudan'da halk arasında ve Anadolu halk tıbbında cilt hastalıkları için kullanıldığına dair kayıt vardır. Ayrıca tür üzerinde yapılmış benzer çalışmalar vardır (Battinelli ve diğerleri, 2006; Kubo ve Kinst-Hori, 1999; "Personal Care Products Council - International Buyers' Guide," 2008; Sezik ve diğerleri, 2001).
<i>Origanum onites</i> L. (Bilyalı kekik)	<i>Origanum</i> türleri kozmetik ürünlerin bileşiminde yer almaktadır, farklı bir tür üzerinde yapılmış benzer çalışmalar bulunmaktadır (Binic ve diğerleri, 2013; Chou, Ding, Lin, Liang ve Liang, 2010; "Personal Care Products Council - International Buyers' Guide," 2008).
<i>Passiflora incarnata</i> L. (Çarkifelek)	Kozmetik ürünlerin bileşiminde yer almaktadır. Farklı bir türü üzerinde yapılmış benzer çalışmalar bulunmaktadır (Matsui ve diğerleri, 2010; "Personal Care Products Council - International Buyers' Guide," 2008).
<i>Persea americana</i> Mill. (Avokado)	Kozmetik ürünlerin bileşiminde yer almaktadır ve fenolik içeriği yüksektir (Kosinska ve diğerleri, 2012; "Personal Care Products Council - International Buyers' Guide," 2008).
<i>Pistacia vera</i> L. (Antep fıstığı)	Kozmetik ürünlerin bileşiminde yer almaktadır ve fenolik içeriği yüksektir ("Personal Care Products Council - International Buyers' Guide," 2008; Tomaino ve diğerleri, 2010).
<i>Portulaca oleracea</i> L. (Semizotu)	Kozmetik ürünlerin bileşiminde yer almaktadır. Türün Hindistan'da halk arasında yara ve yanık tedavisinde kullanıldığına dair kayıt vardır ve tür üzerinde yapılmış benzer çalışmalar vardır (Çakılcıoğlu ve Türkoğlu, 2010; I. Y. Kim ve diğerleri, 2013; "Personal Care Products Council - International Buyers' Guide," 2008)
<i>Primula vulgaris</i> Huds. (Mart çiçeği)	Kozmetik ürünlerin bileşiminde yer almaktadır ("Personal Care Products Council - International Buyers' Guide," 2008)
<i>Punica granatum</i> L. (Nar)	Kozmetik ürünlerin bileşiminde yer almaktadır ve fenolik içeriği yüksektir. Tür üzerinde yapılmış benzer çalışmalar vardır (Pacheco-Palencia, Noratto, Hingorani, Talcott ve Mertens-Talcott, 2008; "Personal Care Products Council - International Buyers' Guide," 2008; Thring ve diğerleri, 2009).
<i>Rosa canina</i> L. (Kuşburnu)	Kozmetik ürünlerin bileşiminde yer almaktadır ve fenolik içeriği yüksektir. Tür üzerinde yapılmış benzer çalışmalar vardır ve Anadolu halk tıbbında yara iyi edici olarak kullanım kaydı vardır (Fujii ve Saito, 2009; "Personal Care Products Council - International Buyers' Guide," 2008; Roman, Stanila ve Stanila, 2013; Sezik ve diğerleri, 2001).
<i>Rosmarinus officinalis</i> L. (Biberiye)	Kozmetik ürünlerin bileşiminde yer almaktadır ve fenolik içeriği yüksektir. Tür üzerinde yapılmış benzer çalışmalar vardır ("Personal Care Products Council - International Buyers' Guide," 2008; Thring ve diğerleri, 2009).

Çizelge 2.1. (devam) Biyolojik aktivite taramasında kullanılan bitkiler ve seçilme nedenleri

<i>Salix alba</i> L. (Söğüt)	Kozmetik ürünlerin bileşiminde yer almaktadır ve fenolik içeriği yüksektir (Harbourne, Marete, Jacquier ve O'Riordan, 2009; "Personal Care Products Council - International Buyers' Guide," 2008).
<i>Salvia fruticosa</i> Mill. (Ada çayı)	Kozmetik ürünlerin bileşiminde yer almaktadır ve fenolik içeriği yüksektir. Farklı türlerin Anadolu halk tıbbında ciltteki yara ve enfeksiyonlara karşı kullanıldığına dair kayıt vardır ve yapılmış benzer çalışmalar bulunmaktadır (Honda ve diğerleri, 1996; "Personal Care Products Council - International Buyers' Guide," 2008; Süntar, Akkol, Şenol, Keleş ve Orhan, 2011; Şenol ve diğerleri, 2010).
<i>Tripleurospermum oreades</i> (Boiss.) Rech. (Hoşhoş)	Farklı bir tür kozmetik ürünlerin bileşiminde yer almaktadır ve Anadolu halk tıbbında cilt enfeksiyonlarına karşı kullanıldığına dair kayıt vardır (Özgen, Mavi, Terzi, Coşkun ve Yıldırım, 2004; "Personal Care Products Council - International Buyers' Guide," 2008).
<i>Verbascum insulare</i> Boiss. & Heldr. (Ada sığırkuyruğu)	Çeşitli <i>Verbascum</i> türleri kozmetik ürünlerin bileşiminde yer almaktadır ve farklı türlerin Anadolu halk tıbbında cilt enfeksiyonlarına karşı kullanıldığına dair kayıt vardır ("Personal Care Products Council - International Buyers' Guide," 2008; Tatlı, Akdemir, Yeşilada ve Küpeli, 2008).
<i>Veronica thymoides</i> P. H. Davis (Bozkır mavişi)	Çeşitli <i>Veronica</i> türleri kozmetik ürünlerin bileşiminde yer almaktadır ve farklı türlerin Anadolu halk tıbbında yara iyi edici olarak kullanıldığına dair kayıt vardır (Baytop, 1999; "Personal Care Products Council - International Buyers' Guide," 2008; Saraçoğlu, Varel, Harput ve Nagatsu, 2004).
<i>Vitis vinifera</i> L. (Asma)	Kozmetik ürünlerin bileşiminde yer almaktadır fenolik içeriği yüksektir. Anadolu halk tıbbında cilt üzerinde kullanıldığına dair kayıt vardır (Nassiri-Asl ve Hosseinzadeh, 2009; "Personal Care Products Council - International Buyers' Guide," 2008; Sezik ve diğerleri, 2001).

Ön taramamızda bahsi geçen bitkisel ekstraların yanı sıra, kozmetik ürünlerin bileşiminde yer alan ve fenolik içeriği yüksek, hayvansal bir ürün olan propolis (Miguel ve Antunes, 2011; "Personal Care Products Council - International Buyers' Guide," 2008) enzim inhibisyonları ve antioksidan aktiviteleri açısından incelenmiştir. Bitkilerin toplanma veya temin edilme yerlerine ait çizelge "Gereç" bölümünde yer almaktadır. Deneysel sonuçlara dayanarak elastaz ve kolajenaz enzimlerini inhibe eden *Cotinus coggyria* ve TYR enzimini inhibe ettiği tespit edilen *Maclura pomifera* bitkileri BAYF işlemi için seçilmiştir. Bunların dışında taramamıza dahil edilen ve en az iki enzime karşı orta veya yüksek derecede inhibisyon saptanan diğer bitki türlerine ait fitokimyasal çalışmalar, biyolojik aktivite çalışmaları ve geleneksel kullanımları hakkındaki bilgiler aşağıda verilmektedir.

Camellia sinensis (L.) Kuntze (Theaceae)

C. sinensis'in (-)-epikateşin ve gallat türevleri gibi flavan-3-ol türevi bileşikler, flavonoidler (kersetin, kemferol, mirisetin, kersetin-3-O-glukozit, kersetin-3-O-galaktozit, kersetin-3-O-rutinozit, kemferol-3-O-rutinozit), gallik asit, gallik, kumarik ve kafeik asit kinik esterleri, pürin alkaloidleri (teobromin, teofilin, kafein), proantosiyanidinler (prosiyanidin dimer ve trimerleri), aminoasitler (yüksek oranda teanin), yağ asitleri ile uçucu yağ taşıdığı bildirilmiştir (Friedman ve diğerleri, 2005; Friedman, Levin, Choi, Lee ve Kozukue, 2009; V. S. Y. Lee ve diğerleri, 2008; Lin, Chen ve Harnly, 2008; L. Wang ve diğerleri, 2010; C. Y. Wu, Xu, Heritier ve Andlauer, 2012). Bu bileşikler dışında, bitkinin fermente edilmiş örneklerinde flavon-3-ol yapısındaki bileşiklerin kompleks kondensasyon ürünleri olan teaflavinler (teaflavin, teaflavin-3-gallat, teaflavin-3'-gallat, teaflavin-3,3'-gallat, teaflavat A ve B) ve teaflavinlerin polimerleri olan tearubiginler bulunmaktadır (Del Rio ve diğerleri, 2004; Lin ve diğerleri, 2008).

Geleneksel Çin tıbbında yeşil çay baş ve boyun ağrısına karşı ve sindirim sistemi ile immün sistemi desteklemesi için önerilmektedir (Ercişli, Orhan, Özdemir, Şengül ve Güngör, 2008). Geleneksel olarak çay, kan akışını arttırmak, toksinleri uzaklaştırmak ve hastalıklara karşı direnç sağlamak amacıyla tüketilmiştir (Balentine, Wiseman ve Bouwens, 1997; Dufresne ve Farnworth, 2001). Çin'de yaprakların yanı sıra çiçekler de cilt bakımında, koku gidermede, öksürük kesmek ve balgam söktürmek amacıyla kullanılmıştır (B. Li ve diğerleri, 2011). Yapılan çalışmalar çayın diş çürüklerine, koroner ve vasküler rahatsızlıklara karşı koruma sağladığını göstermiştir. Çay tüketimi ile kardiyovasküler hastalık riskinde azalma birbiriyle ilişkilendirildiği gibi kafein ve farklı çayların tüketimi obezite tedavisinde kilo kaybı için bir strateji olarak kullanılmaktadır (Serpen ve diğerleri, 2012; M. Xie, von Bohlen, Klockenkamper, X ve Gunther, 1998). Çay ve çay ürünlerinin çeşitli kanserler ile ilgili hayvan modellerinde tümör oluşumunu inhibe ettiği gösterilmiştir (N. Khan ve Mukhtar, 2007). Çay çiçek ekstresi kullanılarak yapılan farmakolojik çalışmalarda, antioksidan, insan göğüs kanseri hücreleri üzerinde apoptotik, anti-proliferatif ve serum trigliserit yükselmesini inhibe edici etki tespit edilmiştir (B. Li ve diğerleri, 2011).

Crataegus monogyna L. (Rosaceae)

Yapılan çalışmalarda *C. monogyna*'nın farklı kısımlarında flavonoidler (rutin, hiperozit, izokersitin, viteksin, viteksin-2''-O-ramnozit, asetilviteksin-2''-O-ramnozit, viteksin-4''-O-glikozit), oligomerik prosiyanidinler (epikateşin ve kateşin türevleri), fenolik asitler (klorojenik ve kafeik asit) ve triterpen asitler (oleanolik, ursolik ve betulitik asit) bulunmuştur (Caligiani ve diğerleri, 2013; McCune, 2013; Tadic ve diğerleri, 2008). Ayrıca çiçeklerde 5-O-kafeoilkinik asit, *trans*-4-O-*p*-kumaroilkinik asit, prosiyanidin trimer, kersetin-3-O-rutinozit, kersetin-3-O-glikozit, 2''-O-ramnoz-C-asetilheksozit apigenin, izoramnetin asetilheksozit, tokoferoller, askorbik asit, n-6/n-3 yağ asitleri (Banos, Duenas, Carvalho, Ferreira ve Santos-Buelga, 2012), meyvelerde antosiyaninler (siyanidin-3-O-glikozit, siyanidin-3-O-pentozit), olgunlaşmış meyvelerde karbonhidrat, şeker, doymuş yağ asitleri, olgunlaşmamış meyvelerde de çoklu doymamış yağ asitleri tespit edilmiştir (Rodrigues ve diğerleri, 2012).

Bitkinin Avrupa'da kalp hastalıkları, ateroskleroz, artrit, hipertansiyon ve solunum sistemi hastalıklarına karşı kullanımı mevcuttur (Banos ve diğerleri, 2012). Ayrıca Portekiz'de sinir sistemi rahatsızlıklarında (migren, konfüzyon, hafıza kaybı), obezite, selülit ve menapoz tedavisinde de kullanıldığı kayıtlıdır (Barreira, Rodrigues, Carvalho ve Ferreira, 2013; Neves, Matos, Moutinho, Queiroz ve Gomes, 2009). Meyvelerinin boğaz ağrısına, meyve suyundan hazırlanan topikal ürünün ciltte ağrı ve tutulmalara karşı, çiçeklerin ise cilt yumuşatıcı olarak kullanıldığı çeşitli çalışmalarda belirtilmiştir (Barreira ve diğerleri, 2013; Pieroni ve diğerleri, 2004). Geleneksel Çin tıbbında da sindirim stimulanı, kan akışını düzenleyici olarak, diyare, karın ağrısı, hipertansiyon ve hiperlipidemiye karşı (Tadic ve diğerleri, 2008), ülkemizde de halk arasında yılan sokmalarına karşı kullanımı kayıtlıdır (Kültür, 2007).

Curcuma longa L. (Zingiberaceae)

C. longa fenolik bileşikler ve fenilpropan türevleri (kalebin A, vanilik asit, vanilin), çeşitli terpenoidler, diarilheptanoit, diarilpentanoit, steroller ve alkaloit içermektedir. Çiçek ve yaprak uçucu yağında monoterpenler (*p*-simen, β -fellandren, terpinolen, *p*-simen-8-ol, sineol ve mirsen) ve seskiterpenler (α -turmeron, β -turmeron, turmeronol A ve turmeronol B) tespit edilmiştir (S. C. Gupta ve diğerleri, 2013). Rizomların uçucu yağı ise α -fellandren,

sabinen, sineol, borneol, zingiberen ve seskiterpen içerir. Rizomları ayrıca kurkumin başta olmak üzere kurkuminoitler bakımından zengindir (Hegde, Haniadka, Alva, Periera Colaco ve Baliga, 2013).

Bitkinin güneş maruziyetine bağlı cilt yaşlanmasının tedavisinde, cildin sıkılığını ve elastikiyetini arttırmada kullanıldığı, ayrıca cilt yaralanmalarına karşı etkili olduğunu belirten çalışmalar bulunmaktadır (Sumiyoshi ve Kimura, 2009; Zaman ve Akhtar, 2013). Geleneksel olarak yara iyi edici, enflamasyon ve mide asidine karşı kullanımı olmakla birlikte, yapılan çalışmalar ile antiaterosklerotik, antidiyabetik, antimutajenik, antikanser ve antioksidan etkileri olduğu da gösterilmiştir (M. T. Huang ve diğerleri, 1994; Y. Kim ve diğerleri, 2014; Nishiyama ve diğerleri, 2005). Son çalışmalar, kurkumin'in de birçok farmakolojik aktiviteye sahip olduğuna işaret etmiştir. Kurkumin'in kardiyoprotektif, nöroprotektif (Alzheimer hastalığı), antidiyabetik (tip II diyabet), antiaterosklerotik ve yara iyi edici etkilerinin olması yanında, romatoid artrit, akciğer toksisitesi, fibrosiz ve multipl skleroza karşı etkili olduğu bildirilmiştir. Aynı zamanda karaciğer hasarına karşı koruyucu ve katarakt oluşumunu önleyici etkileri de mevcuttur (Asai ve Miyazawa, 2001; Naksuriya, Okonogi, Schiffelers ve Hennink, 2014; Nguyen, Ghosh, Hwang, Tran ve Park, 2013).

Garcinia mangostana L. (Clusiaceae)

Asya ve Afrika'da yetişen tropikal bir ağaç türü olan *G. mangostana*'da tespit edilen ana sekonder metabolitler α ve δ -mangostin, β -mangostin, 1-izomangostin, 3-izomangostin, 9-hidroksikalabaksanton, 8-deoksigartanin, demetikalabaksanton, garsinon B, garsinon D, garsinon E, gartanin, mangostanol, mangostanin, mangostinon gibi ksanton türevleridir ve çoğunlukla meyve kabuğunda, dalda, ağaç ortasındaki sert kısımda ve tohumlarda bulunmaktadır. Benzofenonlar (garsimangoson D, maklurin ve kolanon), flavonoidler, antosiyaninler (krisantemin, siyanidin-3-O-glikozit ve siyanidin-3-O-soforozit) ile kondanzenler bitkide tespit edilen diğer kimyasal madde gruplarıdır (Obolskiy, Pischel, Siriwatanametanon ve Heinrich, 2009; Zadernowski ve diğerleri, 2009).

Bitkinin meyve kabuğu Güneydoğu Asya'da cilt enfeksiyonlarında, yaralarda ve amipli dizanteriye karşı kullanılır. Ayurvedik tıpta ise yine meyve kabuğu, enflamasyon, diyare, kolera ve dizanteriye karşı kullanılır (Pedraza-Chaverri, Cardenas-Rodriguez, Orozco-Ibarra ve Perez-Rojas, 2008). Yapraklar ve gövde kabuğunun, antienflamatuvar etkisi nedeniyle

egzema tedavisinde, hiperkeratoziste ve psöriasiz gibi diğer cilt hastalıklarında kullanımı bildirilmiştir (Obolskiy ve diğerleri, 2009).

Lamium purpureum L. (Lamiaceae)

Lamium L. üzerinde yapılan çalışmalarda iridoitler (lameriozit, lamalbit, sesamozit, lamiit, 6- β -OH ipolamiit, ipolamiit, lamiol, 5-deoksiamiol, şaşızit metil ester, karyoptozit, eriyobiyozit, penstemozit, dehiropenstemozit, lamiozit ve barlerin), flavonoitler (kersetin, kersetin-3-O-glukozit, rutin, izokersitrin, kemferol-3-O-glukozit ve tilirozit), fenolik bileşikler (protokateşik, klorojenik, vanilik ve kafeik asit), fenilpropanoitler (lamalbozit, akteozit ve izoakteozit), polisakkaritler, triterpen saponinler, tanenler ve fitoekdisteroitler (arbutasteron, inokosteron, polipodin B ve pterosteron) tespit edilen sekonder metabolit gruplarıdır (K. Alipieva, Kokubun, Taskova, Evstatieva ve Handjieva, 2007; K. I. Alipieva ve diğerleri, 2003; Pereira, Domingues, Silva ve Cardoso, 2012; Savchenko, Blackford, Sarker ve Dinan, 2001; Yalçın, Kaya, Çalış, Ersöz ve Palaska, 2008). Uçucu yağ üzerinde yapılan analizlerde de germakren D (% 35,4), α -pinen (% 13,4), β -pinen (% 26,8) ve seskiterpen hidrokarbonlar (% 47,1) ile az miktarda terpen alkoller (linalool ve 4-terpineol) tanımlanmıştır (Flamini, Cioni ve Morelli, 2005).

L. album, *L. maculatum* ve *L. purpureum* türlerinin antispazmodik, antienflamatuvar, antioksidan ve antiproliferatif özellikleri vardır ve halk tıbbında travma, kırık, felç, hipertansiyon tedavilerinin yanı sıra vajinal akıntı, menoraji, rahimde kanama, vajinal ve servikal enflamasyon gibi rahatsızlıklarda kullanımı kayıtlıdır (Akkol ve diğerleri, 2008; Matkowski ve Piotrowska, 2006; Paduch, Wojciak-Kosior ve Matysik, 2007; Shuya, Xingguo ve Zhid, 2003; Trouillas ve diğerleri, 2003). Anadolu halk tıbbında da tonik, romatizmada ağrı kesici olarak ve konstipasyon tedavisinde kullanımı mevcuttur (Akkol ve diğerleri, 2008; Baytop, 1999).

Pistacia vera L. (Anacardiaceae)

Ülkemizde de yetişen *P. vera*'nın meyvesinin dış kabuğunda antosiyaninler (siyanidin-3-O-galaktozit ve siyanidin-3-O-glikozit), flavonoit türevleri (kateşin, epikateşin, kersetin, naringenin, luteolin ve kemferol) ve gallik asit bulunmaktadır (Martorana ve diğerleri, 2013). Dış kabuk, taze ve kuru yapraklar, gövde üzerinde yapılan çalışma da yağ asiti

bakımından zengin olduğu, özellikle taze yaprakların önemli oranda linolenik asit (% 30,4 $\pm$ 3,28) taşıdığı tespit edilmiştir (Aslan ve Orhan, 2006). Kabukların ham protein miktarı % 7,27 - % 14,99 arasında değişirken, kondanse tanen oranının % 2,03 - % 2,63 arasında değiştiği saptanmıştır (Boğa, Güven, Atalay ve Kaya, 2013). Fıstık kısmında yapılan analizlerde de doymamış yağ asitleri (tekli ve çoklu doymamış yağ asitleri), protein, diyet lif, magnezyum, potasyum, K vitamini, fitosteroller, lutein, γ -tokoferol ve polifenol türevleri tespit edilmiştir (Dreher, 2012).

Yine fıstıkların kan lipit profilini düzenleyici, oksidatif ve enflamatuvar stresi azaltıcı, damar sağlığını destekleyici, glisemik kontrol ve kilo kontrolü sağlayıcı etkileri vardır (Dreher, 2012). Yapılan çalışmalar ile bitkinin farklı kısımlarından hazırlanan lipofilik ekstraktlarda antifungal, antiviral ve antiprotozoal etki tespit edilmiştir (İ. Orhan, Aslan, Şener, Kaiser ve Taşdemir, 2006; Özçelik, Aslan, Orhan ve Karaoğlu, 2005)

Punica granatum L. (Punicaceae)

Bitkinin farklı kısımları üzerinde yapılan çalışmalar ile alkaloitler (pelletierin, izopelletierin ve psödopelletierin), flavonoitler, polifenolik bileşikler (delfinidin, siyanidin ve pelargonidin) ile hidrolize olabilen tanenler (punikalin, pedunkulagin, punikalagin, gallik ve elajik asitin glikoz esterleri) tespit edilmiştir (Bagri, Ali, Aeri, Bhowmik ve Sultana, 2009; Mohammad ve Kashani, 2012). Çiçekler, özellikle polifenoller (gallik asit, elajik asit, etil brevifolin-karboksilat) bakımından zengindir. Ayrıca triterpenler (oleanolik, ursolik, maslinik ve asiyaik asit), sterol yapısında daukosterol ve flavonoit olarak punikaflavon izole edilmiştir (T. H. W. Huang ve diğerleri, 2005a, 2005b; R. F. Wang ve diğerleri, 2006; Zhang, Fu ve Zhang, 2011).

Bitkinin çiçekleri geleneksel olarak antidiyabetik ve astrenjan özellikleri için kullanılmıştır (Jafri, Aslam, Javed ve Singh, 2000; Y. Li, Qi, Huang, Yamahara ve Roufogalis, 2008). Yine çiçekleri özellikle çocuklarda oluşan kronik diyarenin tedavisinde ve Çin tıbbında genç erkeklerdeki saç beyazlamasına karşı kullanılmıştır. Çiçeklerden hazırlanan dekoksiyon gargara şeklinde ağız ve boğaz enflamasyonu için kullanılır. Çiçek tomurcukları toz edilerek bronşit, diyare ve çocuklardaki dizanteriyi önlemek için verilir (Bagri ve diğerleri, 2009; Zhang ve diğerleri, 2011). Olgunlaşmış meyvesi tonik, astrenjan, laksatif ve diüretik özellikte olup, bronşit, kulak ağrısı ve göğüs hastalıklarında da kullanılmıştır. Ağaç kabuğu

ve meyve kabuğu ise dizanteri, diyare ve bronşit tedavisinde, ayrıca antihelmintik amaçla oral yolla kullanılmıştır (Bagri ve diğerleri, 2009).

Vitis vinifera L. (Vitaceae)

Üzüm çekirdekleri yaklaşık % 4-5 oranında flavonoit (kemferol-3-O-glikozitler, kersetin-3-O-glikozitler, kersetin ve mirisetin) ve % 60-70 oranında polifenol [flavan-3-ol türevleri, (+)-kateşin, (-)-epikateşin, (-)-epikateşin-3-O-gallat, prosiyanidin dimerleri (B1-B5), prosiyanidin C1, prosiyanidin B5-3'-gallat, gallik asit esterleri] içermektedir (Escribano-Bailon, Gutierrez-Fernandez, Rivas-Gonzalo ve Santos-Buelga, 1992; Nassiri-Asl ve Hosseinzadeh, 2009; J. Zhao, Wang, Chen ve Agarwal, 1999). Antosiyaninler (siyanidin, delfinidin, peonidin, petunidin ve malvidin 3-glikozitler, 3-asetilglikozitler, 3-kumaroilglikozitler, 3-kafeoilglikozitler, 3,5-diglikozitler, 3-asetil-5-diglikozitler, 3-kumaroil-5-diglikozitler ve 3-kafeoil-5-diglikozitler) ile stilben türevleri (*trans*-resveratrol) *V. vinifera*'da bulunan diğer kimyasal madde gruplarıdır (Iriti ve Faoro, 2006; Nassiri-Asl ve Hosseinzadeh, 2009; H. B. Wang, Race ve Shrikhande, 2003).

V. vinifera yapraklarının astrenjan ve hemostatik özellikleri vardır ve Anadolu'da halk arasında diyare, hemoraji, hemoroit, ağrı, hepatit ve enflamatuvar rahatsızlıkların tedavisinde kullanılmıştır (Baytop, 1999; Deliorman Orhan, Orhan, Özçelik ve Ergun, 2009). Yapılan çalışmalar özellikle çekirdeklerde yoğunlaşmış, antioksidan, kardiyoprotektif, hepatoprotektif, antikarsinojenik, antimikrobiyal, antiviral, yara iyi edici, antidiyabetik etkilerinin yanında merkezi sinir sistemi üzerine etkilerinin olduğu belirlenmiştir (Ahn, Grun ve Mustapha, 2004; Bomser, Singletary, Wallig ve Smith, 1999; Caillet, Salmieri ve Lacroix, 2006; M. Cheng ve diğerleri, 2007; Cui, Cordis, Tosaki, Maulik ve Das, 2002; Feng, Liu, Fratkens ve LeBlanc, 2005; Jayaprakasha, Selvi ve Sakariah, 2003; Khanna ve diğerleri, 2002; Nassiri-Asl ve Hosseinzadeh, 2009; Ray, Kumar ve Bagchi, 1999; J. Zhao ve diğerleri, 1999). Üzüm çekirdeği proantosiyanidinlerinin farelerde oral yolla veya topikal uygulandığında kimyasal kaynaklı veya fotokarsinogeneze karşı koruyucu etkisi olduğu gösterilmiştir (Cronin ve Draelos, 2010; Wright, Spencer ve Flowers, 2006).

Propolis

Ön taramamızda kullanılan tek hayvansal kaynaklı ürün olan propolis üzerinde de fazla sayıda araştırma bulunmaktadır. Propolis, *Apis mellifera* türü arının, kovanını dış etkenlerden korumak ve iyi durumda tutmak için ağaçlardan topladığı reçinemi karışımlara verilen isimdir (Greenaway, Scaysbrook ve Whatley, 1990). Rengi toplandığı bölgeye göre sarı-yeşilden koyu kahverengiye kadar değişebilir (Lotfy, 2006). Propolisin kimyasal bileşimi elde edildiği bitkinin kaynağına, bölgesine ve mevsime göre değişmekle birlikte genellikle reçine (% 50), mum (% 30), uçucu yağ (% 10), polen (% 5) ve diğer organik bileşiklerden (% 5) oluşur (Miguel ve Antunes, 2011). Yapılan bir çalışmada, propolis ekstresinde flavonoidler (pinokembrin, asasetin, krizin, rutin, kateşin, naringenin, galangin, luteolin, kemferol, apigenin, mirisetin ve kersetin), fenolik asitler, (sinamik ve kafeik asit) ve bir stilben türevi (resveratrol) tespit edilmiştir (Lotfy, 2006; Volpi, 2004). Bu madde grupları dışında β -amilaz, polifenolik bileşikler, flavonlar, flavononlar, fenolik asit ve esterleri ile yağ asitlerinin de varlığı bildirilmiştir (Bankova, Popov ve Marekov, 1982, 1983; Kaczmarek ve Debowski, 1983; Lotfy, 2006).

Antik Mısır'da dahi kullanıldığı bildirilen propolisin antienflamatuvar, hipotansif, immün sistem stimülanı, bakteriyostatik ve bakterisit etki gibi çeşitli farmakolojik etkileri vardır (Lotfy, 2006). Yapılan çalışmalar ile de antimikrobiyal, antioksidatif, antiülser, antitümöral, karaciğer, beyin ve kalp koruyucu etkilerinin olduğu gösterilmiştir (Boyanova ve diğerleri, 2003; El-Khatib, Agha, Mahran ve Khayyal, 2002; Fuliang ve diğerleri, 2005; İlhan ve diğerleri, 2004; Kimoto ve diğerleri, 2001; Lotfy, 2006; E. H. Park ve Kahng, 1999; Uğur ve Arslan, 2004). Antibakteriyel ve antienflamatuvar özellikleri nedeniyle öksürük şurupları ve pastiller gibi farmasötik formların yanı sıra şampuanlar, yumuşatıcılar, rujlar, dudak balsamları, losyonlar, diş macunları ile diğer bazı kozmetik preparatların bileşimine de girmektedir (Davies ve Johnston, 2011).

2.7. BAYF'da Kullanılan Bitki Türlerine Ait Botanik Bilgiler

2.7.1. Anacardiaceae

Cotinus coggyria Scop., Anacardiaceae familyasına mensup olup familya üyeleri genellikle kabuklarında reçine taşıyan çalılar veya ağaçlardır. Yapraklar alternan dizilişli, basit, trifoliat

veya pennat, stipulasız veya belirsiz stipulalıdır. Çiçekler aktinomorf, genellikle tek eşeyli nadiren hermafrodittir. Sepaller 3-5 adettir ve genellikle tabanda birleşmiştir, nadiren yoktur. Petaller 3-5 adet ve serbesttir veya yoktur. Stamenler 5 veya 10 adettir ve bir tabla üzerine bağlanmıştır. Ovaryum üst durumlu ve tek lokulusludur, olgunlaşmama sonucu 3 lokulus bire inmiştir. Ovüller 1 (-3) adet ve genellikle bazaldır. Stilus 1-3 adettir, meyve tek tohumlu drupadır ve genellikle meyillidir, oldukça kurudur. Familyada özellikle tropik, subtropik ve ılıman bölgelerde yetişen, 82 cinse bağlı 700 tür bulunmaktadır. Ülkemizde ise familya üyesi 3 cinse bağlı 8 tür yetişmektedir. (*Cotinus coggyria* Scop., *Rhus coriaria* L., *Pistacia lentiscus* L., *P. atlantica* Desf., *P. eurycarpa* Yalt., *P. vera* L., *P. khinjuk* Stocks, *P. terebinthus* L.) (Davis, 1967; Matić, Stanić, Mihailović ve Bogojević, in press; Min ve Barfod, 2008).

Ülkemizde yetişen cinslere ait tayin anahtarı şu şekildedir;

1. Bazı pediseller abortif çiçekler taşır, meyveye geçtiğinde uzar ve plumoz tüylü olur; yapraklar basittir 1. *Cotinus*
1. Tüm pediseller verimli çiçekler taşır, meyveye geçtiğinde uzamaz ve plumoz tüylü değildir; yapraklar pennat veya trifoliat, nadiren basittir
2. Petaller vardır; yaprakçıklar dişlidir 2. *Rhus*
2. Petaller yoktur; yaprakçıklar parçalı değildir 3. *Pistacia*

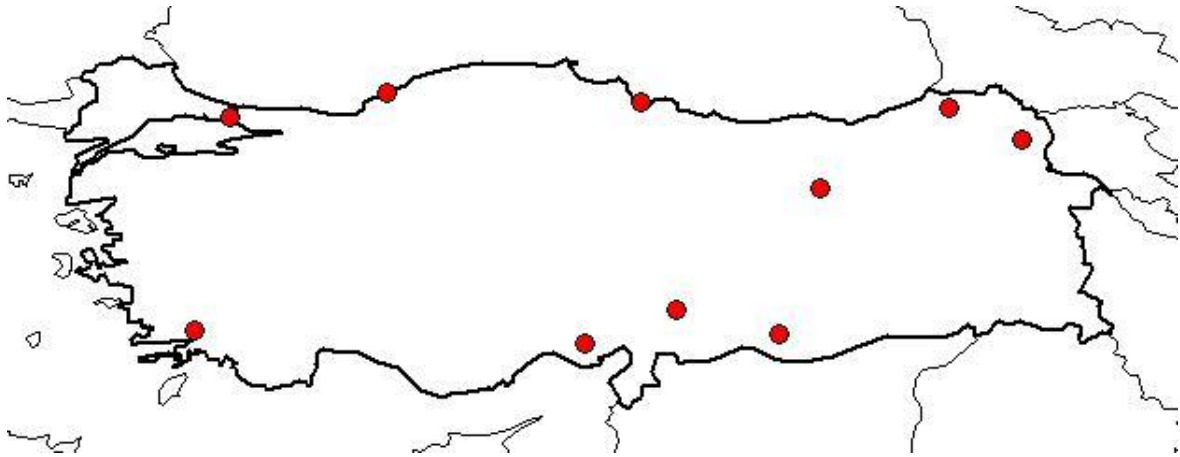
Cotinus Mill.

Alem	:	Plantae
Bölüm	:	Magnoliophyta
Sınıf	:	Magnoliopsida
Altsınıf	:	Rosidae
Takım	:	Sapindales
Familya	:	Anacardiaceae
Cins	:	<i>Cotinus</i> Mill. (Babaç, 2004; Bakis, Babaç ve Uslu, 2011)

Yaprakları alternan dizilişli, basit ve belirli dönemlerde dökülen çalılardır. Çiçek durumu rasemoz-panikuladır. Çiçekler hermafrodittir ve 5 üyelidir. Stilus 3 adettir. Pedisellerin çoğu abortif çiçekler taşır, meyvede uzamıştır ve plumoz-villöz tipte çok hücreli tüyler taşır.

Meyve kuru, tek tohumlu ve drupadır. Asya, Avrupa ve Kuzey Amerika’da yetişen 5 türü bulunmakla birlikte, ülkemizde tek türü yetişmektedir (Davis, 1967; Min ve Barfod, 2008).

C. coggyria Scop. (sin: *Rhus cotinus* L.) ülkemizde “boyacı sumağı, pamuklu sumak, sarı boya, sarı can, sarı yaprak, tetre, tetra, tetere, duman ağacı” isimleri ile bilinmektedir. Boyu 5 m’ye ulaşabilmektedir. Yapraklar petiolat, 3-8 cm, obovattan geniş eliptik-orbikulara kadar değişebilmektedir. Sepaller 1,5 mm, petaller beyazımsı yeşil renkte 1-2 mm’dir. Drupa tipi meyve meyilli obovattır, buruşuk ve 4-5 × 3-4 mm’dir. Güney Avrupa ve Anadolu’da yaygındır. Bu türün kökleri “sarı kök veya sarı odun” adı altında ipliği, deriyi ve kumaşı sarı renge boyamak için kullanılmıştır. Yaprakları ise antiseptik, kabız, kan kesici ve ateş düşürücü etkilerinden ötürü dahilen % 5’lik infüzyonu halinde kullanılmıştır (Baytop, 1999, 2007; Davis, 1967; Kültür ve Bitiş, 2007).



Şekil 2.4. *C. coggyria*’nın Türkiye’deki yayılışı (Adana, İstanbul, Kars, Zonguldak, Artvin, Erzincan, Kahramanmaraş, Muğla, Samsun, Şanlıurfa) ("Türkiye bitkileri veri servisi (TÜBİVES)," 2015)



Resim 2.4. *C. coggyria*'nın genel görünüşü (Haziran-2013, Ankara) (Resim: F. Sezer Şenol)



Resim 2.5. *C. coggyria*'nın genel görünüşü (Temmuz-2014, Ankara) (Resim: F. Sezer Şenol)

2.7.2. Moraceae

Maclura pomifera (Rafin.) Schneider, Moraceae familyasına mensup olup, familya üyeleri lateks taşıyan ağaç veya çalı tipinde bitkilerdir. Yaprakları basit, alternan dizilişli, dişli veya

loblu, stipulaları genellikle düşüçüdür. Çiçekler tek eşeyli, genellikle baş şeklinde veya şişe şeklindeki etli reseptakulum çukuruna yerleşmiş biçime indirgenmiş, monoik veya dioik, apetaldir. Periant lobları 4 adet, daha az veya hiç yoktur. Erkek çiçeklerde stamenler 1-4 adet arasında, genellikle sepalsiz, filamentler tomurcukta sert veya düzdür. Dişi çiçeklerde ovaryum sinkarptır, üst durumludan alt durumluşa değişir, 2'şer karpel ve 2 stilusa sahiptir, karpelin bir tanesi genellikle düşüçüdür, ovül tektir ve uçtan sarkmıştır. Etli sinkarplar sıktır, meyve küçük akenler, nukslar veya drupalar halindedir. Ilıman bölgelerde daha az yayılışı olmakla birlikte genellikle tropikal ve subtropikal bölgelerde yetişen 37-43 cinse bağlı, 1100-1400 tür mevcuttur. Ülkemizde yetişen 2 cinse bağlı 4 tür (*Morus alba* L., *M. nigra* L., *M. rubra* L., *Ficus carica* L.) bulunmaktadır. *Maclura pomifera* (Rafin.) Schneider ve *Broussonetia papyrifera* L. ise genellikle çit çevrelerine ve bahçelere dekoratif amaçla dikilmektedir (Davis, 1982; Zhekun ve Gilbert, 2003).

Ülkemizde yetişen cinslere ait tayin anahtarı şu şekildedir;

1. Çiçekler kısa, sık spikalar halinde; sinkarp elips şeklinde, morumsu, pembemsi veya beyaz etli drupalar meydana getirir. 1. *Morus*
1. Çiçekler etli reseptakulum çukurunu çevrelemiş; sinkarp küremsi veya armut şeklinde, kahverengimsi, mor, yeşilimsi veya sarımsı 2. *Ficus*

Maclura Nutt.

Alem	:	Plantae
Bölüm	:	Magnoliophyta
Sınıf	:	Magnoliopsida
Altsınıf	:	Hamamelididae
Takım	:	Urticales
Familya	:	Moraceae
Cins	:	<i>Maclura</i> Nutt. (" <i>Maclura pomifera</i> (Raf.) C.K. Schneid., Osage-orange," 2015)

Maclura Nutt. cinsi üyeleri ağaçlar, küçük ağaçlar, çalılar, tırmanıcı çalılar veya odunsu sarmaşıklar, yaprak dökmeyen veya belirli dönemlerde döken, lateksli, dioik bitkilerdir. Dikenler genellikle olgunlaşma döneminde ortaya çıkar, aksiller, düz veya kıvrılmıştır. Stipulalar serbesttir. Yapraklar spiral şeklinde veya iki sıra halinde dizilmiştir, ince uzun ve

kenarları tam, damarlanma pennattır. Çiçek durumu aksiller, küre, spika veya rasemustur. İnvolukral brakteler yoktur, fakat çiçek durumunun dibinde pek çok brakte mevcuttur. Dişi çiçek durumları küre şeklindedir, çiçekler serbest veya bitişiktir. Erkek çiçeklerde kaliks lobları 3-5 adet, imbrikat, serbest veya dipten birleşiktir. Stamenlerin sayısı kaliks loblarının sayısı kadardır, stamenler dik ve tomurcukta düzdür. Dişi çiçekler sesildir, kaliks peltat, etli, serbest veya dipte birleşiktir, ovaryum serbest veya reseptakuluma gömülmüştür, stilus kısa, stigma 1 veya 2 adettir ve eşit değildir. Drupalar ovaldır, yüzeyi kabuksu ve etli kaliks ile sarılmıştır. Afrika, Asya, Avustralya, Kuzey Amerika, Güney Amerika, Pasifik adaları ve Çin’de yaklaşık 12 türü yetişmektedir (Zhekun ve Gilbert, 2003).

Maclura pomifera (Rafin.) Schneider (sin: *M. aurantiaca* Nutt., *Ioxylon pomiferum* Raf., *Toxylon pomiferum* Raf. ex. Sarg.) dikenli, büyük (10-15 cm çapta) portakal biçiminde, önce açık yeşil, sonra sarı renkli ve reçinemsi kokulu meyveleri, beyaz çiçekleri ve tam, ovat yaprakları olan çalı veya ağaçlardır. Kuzey Amerika’da sınırlı bir bölgede doğal olarak yetişmektedir. Fakat ekildiği yerlerde de o bölgeye özgü olmamasına rağmen, kolaylıkla naturalize olabilmektedir. Ülkemizde de “ayı elması, hint portakalı ve yalancı portakal ağacı” isimleriyle bilinmekte ve çit bitkisi olarak bahçe kenarlarında yetiştirilmektedir. Köklerinden hazırlanan dekoksiyon Komançiler tarafından iltihaplı gözlerin tedavisinde kullanılmıştır (Baytop, 1999, 2007; Davis, 1982; Gilman ve Watson, 1994; İ. Orhan, Şenol, Kartal, ve diğerleri, 2009).



Resim 2.6. *M. pomifera*’nın genel görünüşü ve meyvesi (Ekim-2013, Atatürk Orman Çiftliği, Ankara) (Resim: F. Sezer Şenol)

2.8. *Cotinus coggyria* Scop. Bitkisi Üzerinde Yapılan Çalışmalar

2.8.1. Biyolojik aktivite çalışmaları

In vitro çalışmalar

Antimikrobiyal aktivite

Türkiye’de yetişen *C. coggyria* örneğinin topraküstü kısımlarından hareketle hazırlanan etanollü ekstrelerin antimikrobiyal aktivitesi disk difüzyon yöntemi ile araştırılmıştır. Çalışmada *Bacillus cereus*, *B. subtilis*, *Enterobacter aerogenes*, *Escherichia coli*, *Micrococcus luteus*, *Proteus vulgaris*, *Pseudomonas aeruginosa*, *P. putida*, *Salmonella typhimurium*, *S. typhi* ve *Staphylococcus aureus* türü bakteriler ile *Candida albicans*, *C. utilis*, *Debaryomyces hansenii*, *Hanseniaspora guilliermondii*, *Rhodotorula rubra*, *Kluyveromyces fragilis* ve *K. marxianus* mantar suşları kullanılmıştır. Ekstreler bakterilere karşı güçlü antibakteriyel etki gösterirken, mantarlara karşı zayıf etki göstermişlerdir (Dülger, Hacıoğlu ve Bilen, 2009). Yine ülkemizde yapılan bir başka çalışmada, Yalova’da yetişen bitkinin yapraklarından hazırlanan etanollü, metanollü, sulu, kloroformlu (CHCl_3), asetonlu ve petrol eterli ekstrelerin antibakteriyel etkileri disk difüzyon yöntemi ile *B. subtilis*, *E. coli*, *Enterococcus faecalis*, *P. aeruginosa*, *S. typhimurium*, *S. aureus* ve *S. epidermis* suşları kullanılarak araştırılmış ve ekstrelerin farklı oranlarda bu mikroorganizmaların üremesini inhibe ettiği tespit edilmiştir. Bitkinin su ve metanol ekstrelerinin *S. aureus*, *S. epidermis* ve *E. faecalis*’e karşı oldukça etkili olduğu gözlenmiştir (Tunç, Hoş ve Güneş, 2013).

Sırbistan’da yapılan bir çalışmada, bitkinin gövdesinden hareketle metanol ekstresi hazırlanmış ve bu ekstrenin yanı sıra gallik asit’in de *B. subtilis*, *Klebsiella pneumoniae*, *E. coli*, *S. aureus* ve *Micrococcus lysodeikticus* ile *C. albicans* suşlarına karşı antimikrobiyal etkileri silindir plak ve makrodilüsyon yöntemleri ile araştırılmıştır. Metanol ekstresi bütün mikroorganizmalara karşı antimikrobiyal etki gösterirken, gallik asit’in ekstreye göre daha düşük aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir (Matic, Stanic, Solujic, Milosevic ve Niciforovic, 2011).

Bitkinin genç sürgünlerinden hareketle hazırlanan ekstrelerin antimikrobiyal, antioksidan, antienflamatuar etkilerinin araştırıldığı bir başka çalışmada, aseton ekstresi ve bu ekstrede elde edilen etil asetat fraksiyonu Gram-pozitif ve Gram-negatif bakterilerin büyümesini önemli ölçüde inhibe ederken, (minimum inhibisyon konsantrasyonu, MİK: 25-200 µg/mL), *C. albicans*'a karşı CHCl₃ fraksiyonu inhibitör etki göstermiştir (Marcetic ve diğerleri, 2013).

İtalya'da yapılan bir çalışmada, yara iyi edici olarak kullanılan 72 adet bitkiden hazırlanan hekzan, etanol ve su ekstrelerinin agar difüzyon yöntemi ile diş çürüklerine neden olan mikroorganizmalara karşı antibakteriyel etkileri incelenmiştir. Yöntemde oral patojenik bakteriler olarak *Streptococcus mutans*, *S. sobrinus*, *Lactobacillus casei* ve *Actinomyces viscosus* kullanılmıştır. Ekstrelerin hepsi % 10 dimetilsülfoksit (DMSO) içeren suda çözülmüş ve son konsantrasyonları 12,5-200 mg/mL arasında olacak şekilde seyreltilmiştir. Çalışmada pozitif kontrol olarak diş macunları ve ağız yıkama sularında antigingivit ajan olarak yer alan triklosan % 0,3 konsantrasyonda kullanılmıştır. Ekstrelerin MİK değerleri beyin-kalp infüzyon ortamında standart mikrodilüsyon metodu ile hesaplanmıştır. Ekstrelerin 6,25-100 mg/mL konsantrasyon aralığındaki dilüsyonları kullanılarak taranan ekstreler arasında 22 ekstre dikkate değer antibakteriyel etki göstermiştir. En yüksek etkiyi ise *C. coggyria*'dan hareketle hazırlanan sulu ekstre göstermiştir ve tüm bakterilere karşı denenen bütün konsantrasyonlarda antibakteriyel etki saptanmıştır. Bu etkinin de ekstrenin fazla miktardaki fenolik içeriğinden kaynaklanabileceği yorumu yapılmıştır (Ferrazzano ve diğerleri, 2013).

Sırbistan'da bitkinin iki farklı bölgede yetişen örneğinin yaprak ve genç dallarından elde edilen uçucu yağların analizi yapılmış ve antimikrobiyal etkileri incelenmiştir. Bunun için *B. cereus*, *B. subtilis*, *E. coli*, *Micrococcus flavus*, *M. luteus*, *Proteus mirabilis*, *S. typhimurium*, *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. faecalis* ile *Aspergillus niger*, *A. ochraceus*, *A. versicolor*, *A. flavus*, *A. fumigatus*, *Penicillium ochrochloron*, *P. funiculosum*, *Trichoderma viride*, *C. albicans* ve *Trichophyton mentagrophytes* suşları kullanılmıştır. Antibakteriyel ve antifungal etkinin tayini için disk difüzyonu ve mikrodilüsyon yöntemleri kullanılmıştır. İki uçucu yağın da etkisi streptomisin ile karşılaştırıldığında, özellikle Gram-pozitif bakterilere karşı disk difüzyon yönteminde daha yüksek, mikrodilüsyon yönteminde ise daha düşük aktivite saptanmıştır. Antifungal etkileri de ticari fungusit olarak satılan bifonazol'e göre daha yüksek bulunmuştur (Novakovic ve diğerleri, 2007).

Antioksidan aktivite

Sırbistan'da yetişen 6 bitkinin (*Ballota nigra*, *C. coggyria*, *Echium rubrum*, *E. vulgare*, *Gentiana asclepiadea*, *Halacsysa sendtneri*) antioksidan aktiviteleri toplam antioksidan kapasite, DPPH serbest radikal süpürücü etki, lipit peroksidasyonunu inhibe edici etki, FRAP, demir şelasyon kabiliyeti ve hidroksil radikali süpürücü aktivitesi gibi yöntemler ile araştırılmış, aynı zamanda etanol ekstrelerinin toplam fenol ve flavonoit miktarları hesaplanmıştır. *C. coggyria* etanol ekstresinin toplam fenol miktarı gallik asit eşdeğeri olarak 413 mg/g kuru ekstre bulunmuş ve taranan bitkiler arasında en yüksek fenolik içeriğe sahip olduğu tespit edilmiştir. Yine *C. coggyria*'dan hazırlanan metanol ekstresinin toplam antioksidan kapasitesi (313 mg/g kuru ekstre askorbik asit eşdeğeri), DPPH radikal süpürücü etkisi ($IC_{50} = 9 \mu\text{g/mL}$), lipit peroksidasyonunu inhibe edici aktivitesi ($IC_{50} = 3 \mu\text{g/mL}$) ve FRAP değerinin, tüm ekstreler arasında en yüksek olduğu belirlenmiştir. (Niciforovic ve diğerleri, 2010)

Bulgaristan'da yapılan bir çalışmada, halk arasında solunum, gastrointestinal ve enflamatuvar rahatsızlıklara karşı kullanılan 21 bitkinin troloks eşdeğeri antioksidan kapasiteleri (TEAC) ölçülmüştür. Bunun için bitkilerden halk arasında kullanımlarına uygun şekilde çaylar hazırlanmış ve sulu kısımlarının antioksidan aktiviteleri 2,2'-Azinobis(3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit) (ABTS) radikal soldurma yöntemi ile yeşil çay, siyah çay, rooibos çayı, mate çayı ve *Cyclopia* sp. (honeybush, Fabaceae) çayı gibi oldukça sık tüketilen bitkisel çaylar ile karşılaştırılmıştır. *C. coggyria* yapraklarından hazırlanan çayın, hazırlanan çayların hepsinden daha yüksek antioksidan potansiyeli ($7,05 \pm 0,19 \text{ mM}$ troloks eşdeğeri) olduğu tespit edilmiştir. Folin-Ciocalteu yöntemine göre spektrofotometrik olarak tayin edilen toplam fenol miktarı ise antioksidan aktivitesine paralel olarak, oldukça yüksek bulunmuştur ($923,23 \pm 14,19 \mu\text{M}$ kersetin eşdeğeri) (Ivanova, Geroval, Chervenkov ve Yankova, 2005).

Antioksidan aktivite ile ilgili yapılan bir başka çalışmada ise, *C. coggyria* çiçekleri ve yapraklarından hazırlanan metanol ekstresinin aktivitesi DPPH radikal süpürücü etki ve lipit peroksidasyon inhibisyon yöntemleri ile test edilmiştir. DPPH radikal süpürücü aktivite tayininde hem çiçeklerden hem de yapraklardan hazırlanan ekstreler oldukça yüksek etki gösterirken (sırasıyla $IC_{50} = 3,8 \mu\text{g/mL}$ ve $IC_{50} = 2,6 \mu\text{g/mL}$), lipit peroksidasyon yönteminde orta derecede etki göstermiştir (sırasıyla $IC_{50} = 31,9 \mu\text{g/mL}$ ve $IC_{50} = 35,8 \mu\text{g/mL}$).

Ekstrelerin antioksidan etkileri yanında Folin-Ciocalteu yöntemi ile toplam fenolik madde miktarları, Avrupa Farmakopesi 5.0'da yer alan yöntemle göre de toplam tanen miktarları tayin edilmiştir. Bu deneylerin sonuçlarına göre çiçek ekstresinde 76,5 mg/g gallik asit eşdeğeri toplam fenolik madde, % 13,7 oranında da toplam tanen, yaprak ekstresinde ise 515,5 mg/g gallik asit eşdeğeri toplam fenolik madde, % 18,5 oranında da toplam tanen olduğu bulunmuştur (Savikin ve diğerleri, 2009).

Sitotoksik etki

C. coggyria'nın yaprak ve çiçeklerinden hareketle hazırlanan metanollü ekstrelerin antioksidan aktivitelerinin araştırıldığı bir çalışmada aynı zamanda sitotoksik etkileri de incelenmiştir. Bu amaçla HeLa ve LS174 insan kanser hücre hatları kullanılmıştır. Ekstreler HeLa hücrelerinin büyümesini LS174 hücrelerinin büyümesine göre daha çok inhibe etmiş ve sitotoksik etki göstermiştir (çiçek ekstresi: IC₅₀HeLa: 29,4 µg/mL, IC₅₀LS174: 41,3 µg/mL; yaprak ekstresi: IC₅₀HeLa: 19,1 µg/mL, IC₅₀LS174: 65,4 µg/mL). Tuzlu su karidesi toksisite testinde ise ekstreler çok düşük toksisite göstermiştir (Savikin ve diğerleri, 2009).

İtalya'da yapılan, özellikle diş rahatsızlıklarında rolü olan bakterilere karşı antimikrobiyal aktivitenin araştırıldığı çalışmada, ekstrelerin sitotoksik etkileri de araştırılmıştır. Bunun için hücre proliferasyon testlerinden XTT [sodyum 2,3-bis(2-metoksi-4-nitro-5-sülfenil)-2H-tetrazolyum-5-karboksianilit tuzu] yöntemi, normal insan gingival fibroblast ve ölümsüzleştirilmiş HaCaT hücre hatları kullanılmıştır. *C. coggyria* sulu ekstresi hem fibroblast, hem de HaCat hücrelerinin büyümesini düşük seviyede inhibe etmiştir. Aynı bitkinin etanollü ekstresi ise, test edilen hücre hatlarında toksik etki göstermiştir (Ferrazzano ve diğerleri, 2013).

In vivo çalışmalar

Antienflamatuvar aktivite

Bitkinin genç sürgünlerinden hazırlanan aseton ekstresinin antimikrobiyal aktivitesinin araştırıldığı çalışmada, ekstrenin etil asetat fraksiyonun antienflamatuvar etkisi de incelenmiştir. Bahsi geçen fraksiyonun karragen-nedenli sıçan pençe ödemi doza bağlı olarak, 50 mg/kg ve 100 mg/kg dozda sırasıyla % 46,5 ± 18,5 ve % 76,7 ± 0,0 azalttığı

gözlenmiştir. Ayrıca etil asetat fraksiyonunun 100 mg/kg dozda antienflamatuvar ilaç indometazin'den ($\% 53,8 \pm 14,6$) daha yüksek etki gösterdiği saptanmıştır (Marcetic ve diğerleri, 2013).

Antiülserojenik etki

C. coggyria yapraklarından hareketle hazırlanan sulu infüzyonun indometazin-nedenli gastrik mukozal hasarlar üzerine etkisi Wistar tipi sıçanlarda araştırılmıştır. Çalışmada 1-2-4 g bitki/100 mL kaynar su olacak şekilde 3 farklı konsantrasyon kullanılmış ve infüzyonlar tek doz indometazin (100 mg/kg) uygulamasından 3 gün önce gastrik gavaj ile 10 mL/kg dozda uygulanmıştır. İndometazin uygulamasından 4 saat sonra gastrik ülser oluşumu morfometrik ve histopatolojik olarak incelenmiştir. Serumda ve midede bulunan malondialdehit (MDA) miktarı lipid oksidasyonunun biyokimyasal belirleyicisi olarak ölçülmüştür. Ayrıca gastrik nekrozlar alkalen fosfataz (ALP) ve ürik asit yöntemleri ile tayin edilmiştir. Midenin morfometrik incelemesinde 2/100 konsantrasyondaki infüzyonun ülser sayısı ve alanını önemli ölçüde azalttığı tespit edilmiştir. Histopatolojik incelemelerde de infüzyonların indometazin-nedenli mukozal lezyonların derinlik ve şiddetinde azalmaya yol açtığı gözlenmiştir. Aynı zamanda infüzyonlar indometazin ile artan gastrik MDA, ALP ve ürik asit düzeylerini azaltmıştır (Pavlov ve diğerleri, 2013).

Genotoksik etki

Kosova'nın kuzeyinde bulunan bir dağdan toplanan *C. coggyria* gövdesinden hareketle Soxhlet aparatı kullanılarak metanol ekstresi hazırlanmıştır. Bu ekstrenin *Drosophila melanogaster* üzerinde eşeye bağlı çekinik letal test (sex-linked recessive lethal test, SLRL) ile genotoksik etkileri araştırılmıştır. Etil metansülfonat 0,75 ppm, ekstre ise $\% 5$ 'lik konsantrasyonda *D. melanogaster* erkek bireylerin X kromozomunda önemli mutasyonlara yol açmıştır. Aynı ekstrenin $\% 2$ 'lik konsantrasyonu ise etil metansülfonatın (pozitif kontrol) cinsiyet hücre hatlarında (spermatozoitler ve spermatitler) oluşturduğu genotoksiteyi azaltmıştır. Bu anti-genotoksik etkiden, ekstrede bulunan flavonoidlerin ve diğer fenolik maddelerin kombinasyonunun sorumlu olduğu düşünülmüştür (Stanić ve diğerleri, 2011). Aynı grubun yapmış olduğu bir başka çalışmada ise, yine bitkinin gövdesinden hazırlanan metanol ekstresinin SLRL yanı sıra alkali Comet yöntemi ile genotoksik potansiyeli araştırılmıştır. Comet yöntemi intraperitoneal (ip) uygulamadan 24 ve 72 saat sonra sıçan

karaciğeri ve kemik iliğinde yürütülmüştür. Ekstre, tuzlu solüsyondaki çözünme limitlerine göre 500, 1000 ve 2000 mg/kg vücut ağırlığı dozlarda test edilmiştir. Kontrol grubuna göre 500 mg/kg doz uygulanan grupta, uygulamadan 24 ve 72 saat sonra Comet kuyruk momenti ve toplam skorları anlamlı fark göstermezken, aynı şartlarda 1000 ve 2000 mg/kg doz ekstre uygulanan hayvan gruplarında skorlar istatistiksel olarak farklı bulunmuştur. Bütün dozlarda 72 saat uygulama ile Comet skoru ve kuyruk momentinde zayıf bir azalma görülmesi *C. coggyria* nedenli DNA hasarının zaman ile azaldığını göstermiştir (Matic, Stanic, Bogojevic, ve diğerleri, 2011).

Hepatoprotektif etki

Daha önceki yayınlarında, *C. coggyria* metanol ekstresinin genotoksik/antigenotoksik potansiyelini inceleyen aynı araştırma grubu, yine aynı bitkinin metanol ekstresinin hepatotoksik bir bileşik olan pirogallol'e maruz kalmış sıçanlardaki karaciğer koruyucu etkisini araştırmışlardır. Aynı zamanda kantitatif HPLC (yüksek basınçlı sıvı kromatografisi) ile analiz ettikleri ekstrenin fenolik asitler ve flavonoidlerce zengin olduğu, mirisetin'in ise ana bileşik olduğu tespit edilmiştir. Daha önceki çalışmada, genotoksik olmayan doz olarak tespit edilen 500 mg/kg dozda ekstre ve eşit miktarda mirisetin, akut karaciğer hasarına neden olan pirogallol (100 mg/kg) verilmesinden 2 veya 12 saat önce sıçanlara uygulanmıştır. Ekstre ve mirisetin hepatik fonksiyonların iyileşmesini pirogallol-nedenli yükselen serum enzimleri aspartat aminotransferaz (AST), alanin aminotransferaz (ALT), ALP ve toplam bilirubin düzeylerini önemli ölçüde düşürerek desteklemiştir. Ayrıca alkali Comet yöntemi ile karaciğerdeki DNA hasarının ekstre ve mirisetin ile azaldığı doğrulanmıştır. Sonuçlar sürdürülen Akt aktivitesi ve STAT3 (signal transducer and activator of transcription) protein ekspresyonunun, ekstrenin DNA hasarını azaltarak karaciğer koruyucu etki göstermesinde önemli rolü olduğunu da göstermiştir. Aynı zamanda metanol ekstresinin antigenotoksik ve pirogallol-nedenli karaciğer toksisitesine karşı hepatoprotektif etkilerinden, ekstrenin ana bileşeni olan mirisetin'in sorumlu olduğu sonucuna varılmıştır (Matic ve diğerleri, 2013).

İmmünostimulan etki

Bilen ve ark. tarafından yapılan çalışmada, kurutulan ve toz edilen *C. coggyria* örneği suya konulmuş, "gökkuşağı alabalığı" olarak bilinen *Oncorhynchus mykiss* türü balıklar 3 hafta

boyunca % 0,5 ve % 1 dozda bitki içecek solüsyonlar ile beslenmiş ve bitkinin balıklar üzerinde spesifik olmayan immün etkileri araştırılmıştır. Bu süre sonunda 6 hafta temel diyet ile beslenmelerine devam edilmiştir. İlk 3 hafta sonunda ve temel diyetle beslenen sürede de, 3 haftada bir hücre dışı ve hücre içi solunum patlaması aktiviteleri, lökositlerdeki fagositoz özellikleri, lizozim aktiviteleri ve toplam plazma protein düzeyleri ölçülmüştür. 3., 6. ve 9. haftaların sonunda bitki solüsyonu ile beslenen grupta hücre dışı ve hücre içi solunum patlaması aktiviteleri, fagositik aktivite, lizozim aktivitesi ve toplam protein düzey parametreleri kontrol grubuna göre daha yüksek bulunmuştur. Spesifik olmayan immün parametrelerde en yüksek değer % 1 doz ile beslenen grupta gözlenmiştir. Fakat bitki solüsyonu ile beslenen gruptaki balıkların spesifik büyüme oranlarında ve ortalama ağırlıklarında önemli bir farklılık saptanmamıştır (Bilen, Bulut ve Bilen, 2011). Aynı araştırmacıların yapmış olduğu benzer bir çalışmada ise, bitkinin Kırklareli'nden toplanmış yapraklarından hazırlanan metanol ekstresinin koi balıklarında (*Cyprinus carpio carpio*) *Vibrio anguillarum* enfeksiyonuna karşı etkileri incelenmiştir. Ortalama ağırlıkları $4,14 \pm 0,08$ g olan koiler üç farklı dozda (0; 0,5; 1; 1,5 g/kg) ekstre içeren yemlerle 4 hafta boyunca beslenmişlerdir. Süre sonunda balıklar *Vibrio anguillarum* ile enfekte edilmiş ve kontrol testi yapılmıştır. Ekstrenin balıkların büyüme performansı üzerinde etkisi bulunmazken, nitromavisi tetrazolyum aktivitesi en yüksek 1,5 g/kg dozda ekstre verilen grupta saptanmıştır. Lizozim ve miyeloperoksidaz aktiviteleri ekstre uygulanan gruplarda kontrol grubuna göre önemli ölçüde yüksek bulunurken, akyuvar ve hemogloblin konsantrasyonları 1 g/kg ekstre uygulanan grupta daha yüksek bulunmuştur. 0; 0,5; 1 ve 1,5 g/kg ekstre ile beslenen gruplarda yapılan kontrol testlerinde ölüm oranları sırasıyla % 37,50, % 31,94, % 18,06 ve % 12,50 olarak tespit edilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre ekstrenin koiler için etkili bir immunostimulan olduğu sonucuna varılmıştır (Bilen, Yılmaz ve Bilen, 2013).

Yara iyi edici aktivite

Türkiye'de Aksoy ve diğerleri tarafından yapılan bir çalışmada, bitkinin geleneksel kullanımına dayanarak yapraklarından hazırlanan etanol ekstresinin yara iyi edici aktivitesi sıçanlarda eksizyon yara modeli ile araştırılmıştır. Yara dokularındaki MDA, katalaz, süperoksit dismutaz, glutatyon ve hidrokspirolin miktarları tayin edilmiş ve ayrıca histopatolojik inceleme yapılmıştır. Tedavi grubundaki granülasyon dokusunun hidrokspirolin içeriği ve glutatyon miktarı kontrol grubuna kıyasla önemli ölçüde yüksek bulunurken, MDA miktarları oldukça düşük bulunmuştur. Flavonoidler ve terpenoidler gibi

fitokimyasal bileşiklerin, astrenjan ve antimikrobiyal etkilerinden dolayı yarası bızdükleri ve epitelizasyonu arttırdıkları için yara iyileşmesini hızlandırdığı son çalışmaları ile gösterilmiş ve bu çalışmada da, bahsi geçen bileşiklerin bitkide bulunmasından dolayı yara iyi edici aktivitesi ile ilişkilendirilebileceği yorumu yapılmıştır (Aksoy ve diğeri, 2016).

Diğeri etkiler ile ilgili çalışmaları

Bitkisel ekstrelerin Ellman yöntemi ile asetilkolinesteraz (AChE) enzim inhibisyonlarının tarandığı bir çalışmada *C. coggyria* öz odunundan hazırlanan metanol ekstrelerinin en yüksek etkiyi ($IC_{50}=89,3 \mu g/mL$) gösterdiği tespit edilmiştir. Biyoaktivite-yönlendirmeli fraksiyonlama işlemi ile eterli fraksiyonun ana bileşeni olan sülfüretin, aktif bileşik ($IC_{50}=29,9 \mu M$) olarak bildirilmiştir. Bu sonuçlardan hareketle, bitkinin eterli fraksiyonunun sıçan beyinlerinde kolinerjik iletimi geliştirme üzerine etkisi “it-çek tekniği” ile araştırılmıştır. İpsilateral serebral ventriküle 10 mg/kg dozda eterli fraksiyonun enjeksiyonu, sıçan beyindeki hücre dışı asetilkolin konsantrasyonunu bazal salım ile karşılaştırıldığında % 220 oranında arttırmıştır (Antal ve diğeri, 2008).

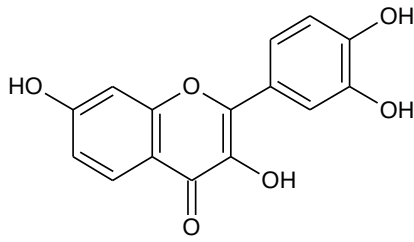
Tükürük bileşiminin ağız sağlığı için önemli bir faktör olması nedeniyle, farklı bitkilerden hazırlanan sulu ekstrelerin tükürük bileşimine etkisi araştırılmıştır. Sağlıklı ve benzer oral hijyene sahip olan deneklerden alınan tükürük örneklerine ekstreler son konsantrasyonları 1 mg ekstre/mL tükürük örneği olacak şekilde karıştırılmış ve 37°C’de 1 saat inkübasyona bırakılmıştır. Ekstrelerin uygulanmasından önce ve sonra tükürük örnekleri pH, tamponlama kapasiteleri, glutatyon düzeyi, doku faktörü ve süperoksit dismutaz aktiviteleri yönünden sitolojik olarak incelenmiştir. *C. coggyria* yapraklarından hazırlanan ekstre diğeri ekstreler ile kıyaslandığında tamponlama kapasitesini arttırdığı, bakteriyel agregasyonu önlediği ve glutatyon düzeyini yükselttiği için dikkati çekmiş ve daha ileri çalışmalarda kullanılması planlanmıştır (Yarat ve diğeri, 2013).

2.8.2. Fitokimyasal çalışmaları

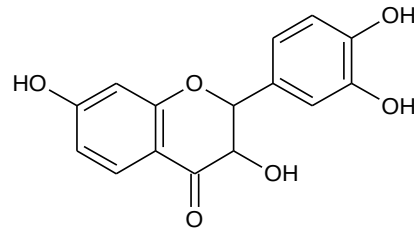
C. coggyria üzerinde yapılan çalışmalara göre, bitkinin farklı kısımlarında aşağıda verilen sekonder metabolit grupları ve bileşikler bildirilmiştir.

- Flavonoitler

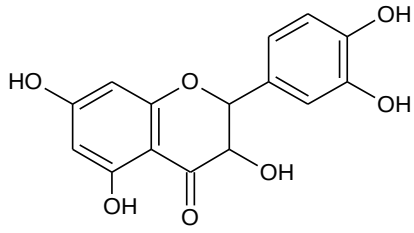
Fisetin (3',4',7-trihidroksiflavanonol), fustin (3',4',7-trihidroksiflavanonol), kersetin (3',4',5,7-tetrahidroksiflavanonol), kemferol-3-*O*-glukozit, luteolin-7-*O*-glukozit, apigenin, dihidrokersetagetin, mirisetin (3,3',4,5,5',7-hekzahidroksiflavanonol), taksifolin (3',4',5,7-tetrahidroksiflavanonol), eriyodiktiyol, butin (3',4',7-trihidroksiflavanon), butinin C3/C3" dimeri, likuritigenin (4',7-dihidroksiflavanon), 4',5,7-trihidroksiflavanon, 4',7-dihidroksiflavanol



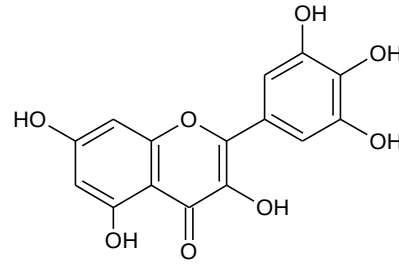
Fisetin



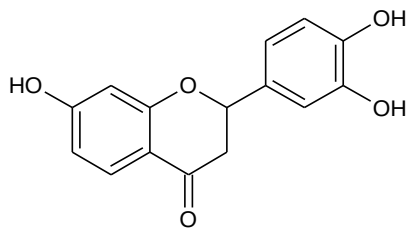
Fustin



Taksifolin



Mirisetin

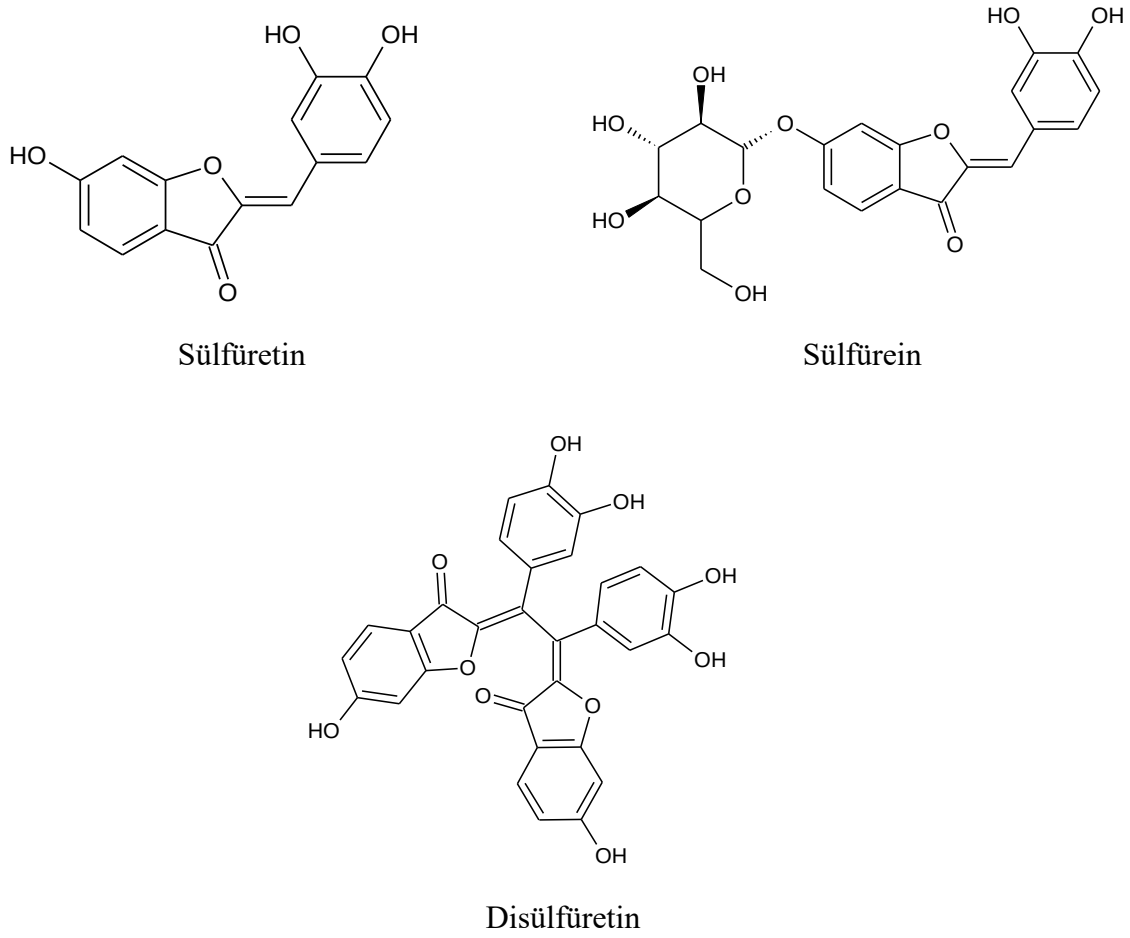


Butin

Şekil 2.5. *C. coggyria* bitkisinde bulunan flavonoit yapısındaki bazı bileşikler

- Auronlar

Sülfüretin (3',4',6-trihidroksiauron), disülfüretin (2,2'-[1,2-bis(3,4-dihidroksifenil)-1,2-etandiliden]- bis [6-hidroksi-3(2*H*)-benzofuranon]), sülfüre in (2-[(3,4-dihidroksifenil) metiliden]-6-[(2*S*,4*S*,5*S*)-3,4,5-trihidroksi-6-(hidroksimetil) oksan-2-il] oksi-1-benzofuran-3-on)



Şekil 2.6. *C. coggyria* bitkisinde bulunan auron yapısındaki bazı bileşikler

- Kalkonlar

Butein (*trans*-2',3,4,4'-tetrahidroksikalkon), izolikuritigenin (*trans*-2',4,4'-trihidroksikalkon)

- Antosiyaninler

Delfinidin-3-galaktozit, siyanidin-3-galaktozit, petunidin-3-glikozit, delfinidin-7-glikozit, siyanidin-3-glikozit-7-ramnozit, lökodelfinidin, lökosiyanidin

- Kateşinler

Fisetinidol-(4 α →8)-(+)-kateşin, epifisetinidol-(4 β →8)-(+)-kateşin

- Diğer fenolikler

Gallik asit, metil gallat ve pentagalloil glikoz

(Antal, Schwaiger, Ellmerer-Muller ve Stuppner, 2010; Kültür ve Bitiş, 2007; Marcetic ve diğerleri, 2013; Tanchev ve Timberlake, 1969; Valianou ve diğerleri, 2009; Westenburg ve diğerleri, 2000).

- Uçucu yağ

Farklı ülkelerde bitkinin uçucu yağı ile ilgili çalışmalar da yapılmıştır. Türkiye’de yapılan bir çalışmada, bitkinin yapraklarından % 0,87 (h/a) verim ile elde edilen uçucu yağın gaz kromatografisi-kütle spektrometresi (GK-KS) ile yapılan analizinde ana bileşenler limonen (% 48,5), (Z)- β -osimen (% 27,9), (E)- β -osimen (% 9,7) olarak tayin edilmiştir (Demirci, Demirci ve Başer, 2003).

Yunanistan’da yapılan çalışmada, üç farklı bölgede yetişen bitkinin yaprakları, çiçek durumu ve meyve durumlarının uçucu yağları analiz edilmiş ve uçucu yağların monoterpenler bakımından zengin olduğu görülmüştür. Mt. Pilio bölgesinde yetişen bitkinin yaprak ve çiçek durumundan elde edilen uçucu yağlarda, limonen (sırasıyla % 67,4 ve % 41,4) α -pinen (sırasıyla % 14,7 ve % 32,4) ve terpinolen (sırasıyla % 8,6 ve % 14,3) başlıca bileşenler olarak bulunmuştur. Mt. Elikon örneğinin yaprak ve meyve durumuna ait uçucu yağların ana bileşenleri ise mirsen (sırasıyla % 32 ve % 29,5), sabinen (sırasıyla % 18 ve % 15,5) ve α -pinen (sırasıyla % 15,9 ve % 10,5) olarak tespit edilmiştir. Evvoia bölgesi bitkisinin yapraklarından ve meyve durumundan elde edilen uçucu yağlarda ise sabinen (sırasıyla % 24,2 ve % 41,4), mirsen (sırasıyla % 14 ve % 9,3), limonen (sırasıyla % 10,9 ve % 6,5) ve terpin-4-ol (sırasıyla % 10,9 ve % 8,8) ana bileşenler olarak tayin edilmiştir (Tzakou, Bazos ve Yannitsaros, 2005).

Sırbistan’da yetişen *C. coggyria* örneği üzerinde yapılan uçucu yağ analizinde de genç dallar ve yapraklar iki farklı lokaliteden (Deliblatska pescara ve Zemun) toplanmış ve sırasıyla % 0,23 (a/a) ve % 0,20 (a/a) verimle uçucu yağ elde edilmiştir. İki uçucu yağ örneğinde de başlıca madde grupları monoterpenlerdir ve yine iki örnekte de limonen (sırasıyla % 42 ve % 39,2) ana bileşen olarak tespit edilmiştir (Novakovic ve diğerleri, 2007). İtalya’da yapılan çalışmada ise bitkinin çiçekli kısımlarından elde edilen uçucu yağ analiz edilmiş ve ana bileşenler olarak limonen (% 47,1), (Z)- β -osimen (% 15,2), α -pinen (% 8,5) ve (E)- β -osimen (% 5,3) tespit edilmiştir (Fraternale ve Ricci, 2014).

Bu ülkeler dışında, Fransa’da doğal olarak yetişen bitkinin uçucu yağında mirsen (% 50), α -pinen (% 10), kamfen (% 8), linalool ve α -terpineol, Macaristan’da kültür bitkisinden elde edilen uçucu yağda α -pinen ve limonen ana bileşenler olarak tespit edilmiştir. Macaristan örneğinde kamfen, mirsen, α -terpinen, terpinolen ve δ -3-karen bulunduğu bildirilmiştir.

Bulgaristan’da elde edilen uçucu yağda ise α -pinen (% 44), limonen (% 20) ve β -pinen ana bileşenler olarak analiz edilmiştir (Demirci ve diğerleri, 2003).

Çizelge 2.2. *C. coggyria* ekstrelerinde tespit edilen ana bileşenler (Matić ve diğerleri, in press)

Çözücü	Bitki kısmı	Bileşenler	Kaynaklar
Etil asetat	Tüm bitki	Disülfüretin	(Westenburg ve diğerleri, 2000)
Etil asetat	Sürgünler	Gallik asit	(Simic, Vucicevic, Milenkovic ve Kovacevic, 2008)
Etanol	Dallar	1,2,3,4,6-penta-O-galloil- β -D-glikoz	(Cha ve diğerleri, 2009)
Metanol	Öz odun	Sülfüretin Fisetin Fustin Kersetin Taksifolin Butin	(Valianou ve diğerleri, 2009)
Metanol	Çiçekler, yapraklar	Gallik asit	(Savikin ve diğerleri, 2009)
Kuru ekstre	Öz odun	3',4',7-trihidroksiflavanon	(Antal ve diğerleri, 2010)
Metanol	Gövde	Mirisetin	(Matic ve diğerleri, 2013)
Aseton	Dallar	Gallik asit	(Marcetic ve diğerleri, 2013)

2.9. *Maclura pomifera* (Rafin.) Schneider Bitkisi Üzerinde Yapılan Çalışmalar

2.9.1. Biyolojik aktivite çalışmaları

In vitro çalışmalar

Antikanser etki

Histon deasetilaz inhibitörleri, hayvan modellerinde ve hücre kültürlerinde tümör hücrelerinin apoptozis ve farklılaşmasını tetiklediği ve proliferasyonu inhibe ettiği için antikanser ajan araştırmalarında yer almaktadır. *M. pomifera* meyvelerinden izole edilen osajin ve pomiferin’in histon deasetilaz enzim inhibisyonunun araştırıldığı bir çalışmada, pomiferin enzimi inhibe etmiştir. Aynı zamanda HCT-15 kolon tümör hücre dizisine daha hassas olmakla birlikte 5 insan tümör hücre dizisi üzerinde büyümeyi inhibe edici etki göstermiştir (Son, Chung, Lee, Yang ve Moon, 2007).

Yapılan son araştırmalar ile glioma hastalığında kemo- ve radyo-dirençli kök-benzeri hücrelerin varlığı tespit edilmiştir. Gliomaya karşı 48 doğal bileşiğin etkinliğinin araştırıldığı

bir çalışmada, özellikle pomiferin dikkat çekmiştir. *M. pomifera* meyvelerinden izole edilen pomiferinin hücre yaşayabilirliğini, kök-benzeri hücre popülasyonunu, tabaka oluşumunu ve glioma nörosfer hücrelerinin invazyon yeteneğini inhibe ettiği tespit edilmiştir. Aynı çalışmada, glioma nörosfer hücrelerinin pomiferin ile tedavisi sonucu çoklu köklülük-ilişkili genlerin de (BIM1, Nestin ve Nanog) azalarak düzenlendiği gözlenmiştir (D. Zhao ve diğerleri, 2013).

Antioksidan aktivite

M. pomifera bitkisinin meyvesinden hareketle hazırlanan etil asetat ekstresinden izole edilen izoflavon yapısındaki osajin ve pomiferin'in antioksidan aktiviteleri FRAP ve β -karoten-linoleik asit soldurma yöntemi ile araştırılmıştır. Pomiferin her iki yöntemde de C ve E vitaminleri ile sentetik antioksidan olan bütül hidroksitoluen (BHT) ile karşılaştırıldığında güçlü antioksidan etki gösterirken, osajin etki göstermemiştir (Tsao ve diğerleri, 2003).

M. pomifera meyvelerinin başlıca bileşikler olan osajin ve pomiferin'in peroksinitrit süpürücü etkisi, lipid peroksidasyon inhibisyonları, DPPH süpürücü etkisi ve fare hepatik mikrozomal 7-etoksirezorufin-O-deetilaz aktiviteleri (EROD) araştırılmıştır. Pomiferin antioksidan aktivite testlerinde referans bileşikler (kateşin, ürik asit, BHT) ile kıyaslandığında yüksek etki gösterirken, osajin düşük etki göstermiştir. Bileşiklerin EROD testi sonuçlarında ise antioksidan aktivite sonuçlarının aksine yakın etki saptanmıştır (Vesela, Kubinova, Muselik, Zemlicka ve Suchy, 2004).

Bizim grubumuz tarafından yapılan bir çalışmada, bitkinin yaprak ve meyvelerinden hazırlanan ekstrelerin, bitkiden izole edilen osajin, pomiferin, makturaksanton ile yarı sentetik türevleri izoosajin ve izopomiferin'in farklı yöntemlerle antioksidan etkileri tayin edilmiştir. Meyveden hazırlanan sulu ekstre DMPD ve NO radikallerine karşı en yüksek süpürücü etkiyi gösterirken, etil asetat ekstresi önemli ölçüde DPPH radikal süpürücü etki ($68,61 \pm 2,53$) göstermiştir. Test edilen bileşikler arasında en yüksek DPPH ($91,74 \pm 0,26$) ve DMPD ($30,63 \pm 1,31$) radikal süpürücü etki makturaksanton ile elde edilmiştir. Metal şelasyon kapasitesi yöntemi dışında kalan yöntemlerde pomiferin ve izopomiferin, osajin ve izoosajin'e göre daha yüksek etki göstermiştir (İ. E. Orhan ve diğerleri, in press).

Antikolinesteraz etki

Araştırma grubumuzun yaptığı çalışmada, bitkinin yaprakları, çiçekleri, meyveleri ve gövde kabuğundan hazırlanan metanol ekstraktları ile ana bileşenler olan osajin, pomiferin ve yarı sentetik türevleri izosajin, izopomiferin'in AChE ve bütirikolinesteraz (BChE) inhibitör etkileri Ellman yöntemi ile araştırılmıştır. Osajin ve pomiferin AChE enzimini dikkate değer şekilde inhibe ederken (sırasıyla IC_{50} = 2,239 ve 0,096 mM) yarı sentetik türevler daha düşük inhibisyon göstermişlerdir. Ekstreler ve bileşiklerin BChE enzimini test edilen konsantrasyonlarda inhibe etmedikleri gözlenmiştir (İ. Orhan, Şenol, Kartal, ve diğerleri, 2009).

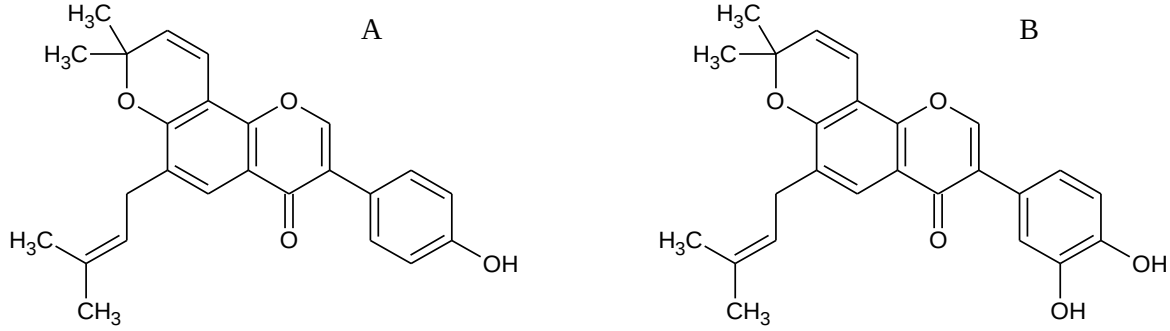
Böcek kovucu etki

Bitkinin meyvesi ve meyveden hazırlanan pentanlı ekstre ile yapılan bir ön çalışmada Avrupa'da görülen ev cırcır böceği (*Gryllus domesticus*) üzerinde böcek kovucu etkisi olduğu tespit edilmiştir. Bunun üzerine meyveden izoamilalkol ve 2-metil-2-butanol izole edilmiş ve bu bileşiklerin tek başlarına ve birlikte böcek kovucu özelliklere sahip olduğu gözlenmiştir (Ufkes ve Grams, 2007). Bir başka çalışmada ise meyve hidrodistilasyon, hekzanla maserasyon ve hekzanla Soxhlet aparatı ile ekstraksiyon işlemlerine tabi tutulmuş, elde edilen ekstraktlar ve tespit edilen bazı saf maddelerin Alman hamamböceğine (*Blattella germanica*) karşı böcek kovucu etkileri araştırılmıştır. Ekstrelerin hepsi, test edilen bileşiklerden de farnesol, α -kubeben, elemol ve osajin uygulanan konsantrasyonlarda hamamböceğine karşı böcek kovucu etki gösterirken, pomiferin ve α -kopaen etkisiz bulunmuştur (Peterson, Zhu ve Coats, 2002).

Cilt üzerine etki

M. pomifera meyvelerinden izole edilen ve antioksidan etkisi tespit edilen pomiferin ile yapılan bir çalışmada, *in vitro* ve *ex vivo* yöntemler kullanılmıştır. Normal insan dermal fibroblastları ile yapılan çalışmada, pomiferin'in önemli bir ekstrasellüler matriks protein stimulanı olduğu tespit edilmiştir. Kolajen, elastin miktarını ve fibrillin ekspresyonunu artırma konusunda aynı konsantrasyondaki retinol ile karşılaştırıldığında daha üstün olduğu gözlenmiştir. *Ex vivo* saç folikül yönteminde de pomiferin 0,05-5 ppm konsantrasyon aralığında kolajen ve elastin ekspresyonunda kıyaslanabilir etki göstermiştir. Farklı

yöntemlerin kullanıldığı bu çalışmada elde edilen sonuçlar dikkate alındığında, pomiferin'in ekstrasellüler matriks protein ekspresyon düzenlenmesinin önemli olduğu topikal cilt ve kafa derisi tedavilerinde kullanmak için ilginç bir bileşen olduğu sonucuna varılmıştır (Gruber, Holtz, Sikkink ve Tobin, 2014).



Şekil 2.7. Osajin (A) ve pomiferin (B)

In vivo çalışmalar

Antienflamatuvar aktivite

Bitkinin meyvelerinden hareketle hazırlanan etanol ve CHCl_3 ekstreleri ile meyvelerden izole edilen prenil izoflavon yapısındaki skandenon ve aurikulasin'in antienflamatuvar ve antinosiseptif etkisi araştırılmıştır. Çalışmada antienflamatuvar etki tayini için karragen-nedenli arka pençe ödemi ve 12-O-tetradekanoil-13-asetat (TPA)-nedenli fare kulak ödemi yöntemleri, antinosiseptif aktivite tayini için ise *p*-benzokinon-nedenli kıvrınma testi kullanılmıştır. Skandenon, CHCl_3 ve etanol ekstreleri 100 mg/kg dozda antinosiseptif etki ve karragen-nedenli arka pençe ödemi yönteminde de antienflamatuvar etki göstermiştir. Aynı bileşik ve ekstreler TPA-nedenli fare kulak ödemi yönteminde de oldukça yüksek etki gösterirken, aurikulasin ve sulu ekstre tüm yöntemlerde etkisiz bulunmuştur (Küpeli, Orhan, Toker ve Yeşilada, 2006).

Kardiyoprotektif etki

M. pomifera meyvelerinden izole edilen pomiferin'in kardiyoprotektif etkisinin araştırıldığı 15 günlük bir çalışmada, izole, modifiye Langendorff-perfüze sıçan kalbi kullanılmış ve kalpte iskemi; koroner akışın 30 dk durdurulmasının ardından, 60 dk reperfüzyon ile

sağlanmıştır. Wistar sıçanlar 3 gruba ayrılmış, tedavi uygulanan gruba % 0,5 Avicel içinde 5 mg/kg/gün dozda pomiferin, plasebo gruba % 0,5 Avicel verilmiş, 3. gruba ise hiçbir uygulama yapılmamıştır. Oksidatif hasarın biyokimyasal belirteçleri olan, lipid peroksidasyon ürünü MDA, antioksidan enzimler (süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz) ve serum ile miyokarttaki toplam antioksidan aktivite ölçülmüştür. Aynı zamanda pomiferin'in iskemi ve reperfüzyondan sonraki kardiyak fonksiyonlar üzerindeki etkileri de araştırılmıştır. Sonuçlar pomiferinin iskemi-reperfüzyon ile oluşan miyokardiyal disfonksiyonu hafiflettiğini göstermiştir. Bunun yanı sıra toplam antioksidan aktivite ve antioksidan enzim değerleri artmıştır. Pomiferin tedavisi ile oluşan kardiyoprotektif etkinin oksidatif hasarın baskılanması ve ventriküler fonksiyonun geliştirilmesi ile ilişkili olabileceği düşünülmüştür (Necas ve diğerleri, 2007).

Üreme sistemi üzerine etki

Türkiye'de yapılan bir çalışmada, *M. pomifera* meyvelerinden hazırlanan sulu ekstrenin sisplatin uygulanan erkek ratların spermatolojik parametreleri üzerine etkileri incelenmiştir. Çalışmada Sprague Dawley tipi sıçanlar kullanılmış ve 3 deney grubu oluşturulmuştur. Grup 1'de (kontrol grubu) yer alan hayvanlara *ip* serum fizyolojik enjeksiyonuyla birlikte, enjeksiyondan 5 gün öncesi ve sonrası boyunca oral gavaj yoluyla yine serum fizyolojik verilmiştir. Grup 2'de yer alan hayvanlara bir kez *ip* 7 mg/kg sisplatin enjeksiyonundan 5 gün öncesi ve sonrası boyunca oral yolla serum fizyolojik verilmiştir. Grup 3'de yer alan hayvanlara ise bir kez *ip* 7 mg/kg sisplatin enjeksiyonuyla birlikte, enjeksiyondan 5 gün öncesi ve sonrası boyunca oral yolla günlük 500 mg/kg dozda ekstre verilmiştir. Çalışma sonunda sıçanlar dekapite edilmiş, testis ve kauda epididimis ağırlıkları ile epididimal sperm parametreleri incelenmiştir. Sisplatin enjeksiyonu ile sperm motilitesi ve yoğunluğu önemli derecede azalırken ölü spermatozoa sayısı artmıştır. Ekstre ve sisplatinin birlikte uygulandığı grup, sadece sisplatin uygulanan grup ile kıyaslandığında toplam testis ağırlığı ve toplam kauda epididimis ağırlığı önemli derecede azalmış ancak canlı sperm sayısında önemli bir artış olmuştur. Sonuç olarak ekstre ve sisplatin uygulanan grubun, sisplatin grubuna kıyasla toplam testis ve kauda epididimis ağırlığı üzerine olumsuz bir etki göstermesiyle birlikte, ölü sperm sayısını önemli oranda azalttığı tespit edilmiştir (Aksu, Akman, Özkaraca, Ömür ve Uçar, 2015).

2.9.2. Fitokimyasal çalışmalar

M. pomifera bitkisi üzerinde yapılan çalışmalara göre, bitkinin farklı kısımlarında aşağıda verilen sekonder metabolit grupları ve bileşikler bildirilmiştir.

- Flavonoitler

5,7,2',4'-tetrahidroksi-6-[3''-metilbut-3''-enil]-flavon, 5,7,4'-trihidroksi-6-[3''-metilbut-3''-enil]-flavon, 5,7,4'-trihidroksi-6,7-[2,2-dimetilchromen]-flavon, 5,7,4',2''-tetrahidroksi-6-[3''-metil-but-3''-enil]-flavon, 5,4'-dihidroksi-2''-(1-hidroksi-1-metiletil)-3''-metoksifurano (4'',5''(6,7)-flavon, kemferol-7-O-glikozit, dihidrokemferol-7-O-glikozit, ökrestaflavanon B, ökrestaflavanon C

- İzoflavonlar

Osajin, pomiferin, 5,7,4',2''-tetrahidroksi-6-[3''-metil-3''-butenil]-izoflavon, 5,7,4'-trihidroksi-6-[3,3-DMA]-izoflavon, 5,4'-dihidroksi-2''-(1-hidroksi-1-metiletil)-3''-metoksifurano (4'',5''(6,7) izoflavon

- Ksantonlar

Osanjaksanton, alvaksanton, makluraksanton, 8-preniltoksiloksanton

- Triterpenler

Lupeol, lupan-3 β ,20-diol, lupan-3,28-diol, lup-20(29)-en-3-3(R)-hidroksiheksadekanoat, 19 α -H-lupeol, butirospermol sitosterol, stigmasterol, uvaol (S. J. Lee, Ahmed, Wood ve Mabry, 1997; S. J. Lee, Wood, Maier, Dixon ve Mabry, 1998; Teixeira ve da Costa, 2005; Tian, Blount ve Dixon, 2006).

- Uçucu bileşenler

Yapılan bir araştırma ile meyveden farklı yöntemlerle ekstre edilmiş ve GK/KS ile yapılan analizde genellikle seskiterpen yapısında bileşikler tespit edilmiştir. Bunlar arasında elemol/hedikaryol, α -kopaen, α -kubeben, δ -kadinen, β -elemen, β -karyofillen, α -ylangen/halensen, (Z,E)-farnesol ve yeşil, uçucu hekzil hekzanoat yer almaktadır (Peterson ve diğerleri, 2002). Bir başka çalışmada ise, yine bitkinin meyvesinde bulunan serbest ve bağlı uçucu bileşenler araştırılmış ve alifatik bileşenler, fenilpropan türevleri, monoterpenler, seskiterpenler ve diğer bileşikler tespit edilmiştir. Toplamda 39 bağlı uçucu bileşen tespit edilirken bunlar arasında öjenol ve p-krezol ana bileşenlerdir. Uçucu yağında bulunan başlıca bileşikler ise elemol (% 19,2), 1-dodekanol (% 9,7), *trans*-karyofillen (% 5,6) ve *n*-hekzil hekzanoattır (% 5,4) (Jerkovic, Mastelic ve Marijanovic, 2007). Yine bitkinin meyvesi üzerinde yapılan çalışmada izole edilen izomerik alkol yapısındaki uçucu

bileşenlerin izoamilalkol ve 2-metil-2-butanol olduğu tespit edilmiştir (Ufkes ve Grams, 2007). Bizim grubumuzun yaptığı bir çalışmada, meyve ile erkek ve dişi ağaçların yapraklarından elde edilen uçucu yağ GK/KS ile incelenmiş, yaprak uçucu yağlarında fitol, meyve uçucu yağında ise β -karyofilen ana bileşen olarak tespit edilmiştir (İ. E. Orhan ve diğerleri, in press).

Bitkinin tohumlarından elde edilen sabit yağ üzerinde yapılan analizlerde ise linoleik (% 76,19), oleik (% 13,87), stearik (% 6,76) ve palmitik asit (% 2,40) başlıca yağ asitleri olarak bulunmuştur. Bunların yanı sıra sterol (β -sitosterol, kampesterol, stigmasterol, lupeol, Δ^5 -avenesterol) ve tokoferol (α -, γ -, β - ve δ -tokoferol) yapısında bileşikler tohum yağında tespit edilmiştir (Saloua, Eddine ve Hedi, 2009).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

Deneyssel çalışmalarımızda kullanılan bitkisel materyallerin toplanma veya temin edilme yerleri, tarihleri ve familya bilgileri Çizelge 3.1.'de verilmiştir. Toplanan materyallere ait herbaryum örnekleri Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Herbaryumu'nda (GUE) saklanmaktadır ve örneklere ait herbaryum numaraları Çizelge 3.1.'de belirtilmiştir. Diğer materyaller Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü (BATEM, Antalya) ve Gazi Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakognozi Anabilim Dalı'nda muhafaza edilmektedir. Bu materyallerin yanı sıra hayvansal kaynaklı bir ürün olan propolis (Zhejiang Shaoxing Dongling Health Food Co. Ltd., Çin, Batch no: 912052), Slovakya'da bitkisel ekstre üretimi yapan Calendula® firmasına ait bazı ekstreler (*Aesculus hippocastanum* L. tohum, *Arctium lappa* L. kök, *Betula pendula* Roth. yaprak, *Urtica dioica* L. kök, *Rosa canina* L. meyve, *Vaccinium myrtillus* L. meyve ekstreleri), *M. pomifera*'dan önceden izole edilmiş osajin, pomiferin ve makluraksanton (M. T. H. Khan ve diğerleri, 2009) ile yarı-sentetik türevler olan izoosajin, izopomiferin ve resveratrol (Nutraceuticals, Batch no: 20120405) de enzim inhibisyonu ön tarama çalışmalarımıza dahil edilmiştir.

Çizelge 3.1. Bitkisel materyallerin toplanma / temin edilme yerleri, tarihleri ve familya bilgileri

Bitki	Herbaryum numarası	Kısım	Toplanma/Temin edilme yerleri, Tarih	Familiya
<i>Aesculus hippocastanum</i>	GUE 3397	Flos	Ankara, Mayıs 2013	Hippocastanaceae
		Folia		
		Pericarpium	Ankara, Eylül 2013	
		Semen		
<i>Aloe vera</i>		Folia	Gazimagosa (Kıbrıs), 2011	Liliaceae
<i>Arbutus unedo</i>	GUE 3403	Folia	Uludağ (Bursa), Eylül 2013	Ericaceae
		Fructus (olgunlaşmamış)		
<i>Calendula arvensis</i>	GUE 3395	Herba	Sincan (Ankara), Haziran 2013	Asteraceae
<i>Camellia sinensis</i>		Siyah çay (Folia)	Çay işletmeleri genel müdürlüğü (ÇAYKUR), 2013	Theaceae
		Yeşil çay (Folia)		
<i>Cassia sp.</i>		Folia	Ankara'dan satın alındı, Ocak 2012	Fabaceae
<i>Cinnamomum cassia</i>		Cortex	Ankara'dan satın alındı, Ocak 2012	Lauraceae
<i>Citrus aurantium</i>		Albedo	Batı Akdeniz Tarımsal Araştırma Enstitüsü Müdürlüğü (BATEM-Antalya), 2011	Rutaceae
		Flavedo		
		Folia		
<i>Citrus deliciosa</i>		Pericarpium		
<i>Citrus limon</i> cv. Interdonato		Albedo		
		Flavedo		
<i>Citrus limon</i> cv. Kara limon		Albedo		
		Flavedo		
<i>Citrus limon</i> cv. Kıbrıs		Albedo		
		Flavedo		
<i>Citrus maxima</i>		Albedo		
		Flavedo		
		Semen		

Çizelge 3.1. (devam) Bitkisel materyallerin toplanma / temin edilme yerleri, tarihleri ve familya bilgileri

Bitki		Kısım	Toplanma/Temin edilme yerleri, Tarih	Familya
<i>Citrus paradisi</i> var. Henderson		Albedo	BATEM (Antalya), 2011	Rutaceae
		Flavedo		
<i>Citrus paradisi</i> var. Red blush		Albedo		
		Flavedo		
<i>Citrus paradisi</i> var. Star ruby		Albedo		
		Flavedo		
<i>Citrus reticulata</i> -Lee		Pericarpium		
<i>Citrus reticulata</i> -Nova		Pericarpium		
<i>Citrus reticulata</i> × <i>Citrus paradisi</i>		Pericarpium		
<i>Citrus sinensis</i> cv. Navelina		Albedo		
		Flavedo		
<i>Citrus sinensis</i> cv. Shamouti		Albedo		
		Flavedo		
<i>Citrus sinensis</i> cv. Valencia late		Albedo		
		Flavedo		
<i>Citrus sinensis</i> cv. Washington navel		Albedo		
		Flavedo		
<i>Citrus japonica (Fortunella margarita)</i>		Pericarpium		
<i>Cotinus coggyria</i>	GUE 3391	Folia	Ankara, Haziran 2013	Anacardiaceae
		Pedicel (meyveli)		
<i>Crataegus monogyna</i> ssp. <i>monogyna</i>	GUE 3394	Flos	GÜEF Bahçesi, Mayıs 2013	Rosaceae
		Folia		
		Fructus		
<i>Crataegus szovitsii</i>	GUE 3392	Flos	Kızılcahamam (Ankara), Mayıs 2013	
		Folia		
<i>Cupressus sempervirens</i>	GUE 3404	Folia	GÜEF Bahçesi (Ankara), Mayıs 2013	Cupressaceae
<i>Curcuma longa</i>		Rhizoma	Ankara'dan satın alındı, Ocak 2012	Zingiberaceae

Çizelge 3.1. (devam) Bitkisel materyallerin toplanma / temin edilme yerleri, tarihleri ve familya bilgileri

Bitki	Kısım	Toplanma/Temin edilme yerleri, Tarih	Familya
<i>Ficus carica</i>	Folia	Aydın'dan satın alındı, Eylül 2012	Moraceae
<i>Garcinia mangostana</i>	Pericarpium	Tayland'dan satın alındı, Haziran 2011	Clusiaceae
<i>Hedera helix</i>	GUE 3398	Folia	Keçiören (Ankara), Mayıs 2013
<i>Laurus nobilis</i>	Folia	BATEM (Antalya), 2011	Lauraceae
	Gemmae		
<i>Lamium purpureum</i>	Herba	Sincan (Ankara), Mayıs 2012	Lamiaceae
<i>Lamium purpureum</i> var. <i>purpureum</i>	GUE 3405	Işık Dağı, Kızılcahamam (Ankara), Mayıs 2012	
<i>Maclura pomifera</i>	GUE 3402	Folia	Moraceae
		Fructus	
<i>Malus</i> sp.	Pericarpium	Ankara'dan satın alındı, Kasım 2012	Rosaceae
<i>Olea europaea</i>	Cortex	Denizli, 2012	Oleaceae
	Folia	Denizli, 2012	
	Folia	Kıbrıs, 2012	
<i>Origanum onites</i>	Herba	BATEM (Antalya), 2011	Lamiaceae
<i>Passiflora incarnata</i>	Herba	Köyceğiz (Muğla), Ekim 2013	Passifloraceae
	Flos		
	Fructus		
<i>Persea americana</i>	Folia	BATEM (Antalya), 2011	Lauraceae
	Fructus		
	Pericarpium		
	Semen		
<i>Pistacia vera</i>	Pericarpium	Gaziantep, 2011	Anacardiaceae
<i>Portulaca oleracea</i>	Herba	Sincan (Ankara), Eylül 2013	Portulacaceae
<i>Primula vulgaris</i> ssp. <i>vulgaris</i>	GUE 3400	Herba	Işık Dağı, Kızılcahamam (Ankara), Mayıs 2012

Çizelge 3.1. (devam) Bitkisel materyallerin toplanma / temin edilme yerleri, tarihleri ve familya bilgileri

Bitki		Kısım	Toplanma/Temin edilme yerleri, Tarih	Familya
<i>Punica granatum</i>		Flos	Köyceğiz (Muğla), 2013	Punicaceae
		Pericarpium	Ankara'dan satın alındı, 2012	
		Semen	Kilis, 2013	
<i>Rosa canina</i>	GUE 3401	Stipites	Kızılcahamam (Ankara), Mayıs 2013	Rosaceae
		Fructus	Kızılcahamam (Ankara), Ekim 2013	
<i>Rosa sp.</i>		Fructus	Tunceli, 2011	
		Fructus	Doğancı Köyü (Bursa), 2011	Lamiaceae
<i>Rosmarinus officinalis</i>		Herba	Gazimagosa (Kıbrıs), 2011	
		Herba	BATEM (Antalya), 2011	
<i>Salix alba</i>	GUE 3399	Stipites	Beypazarı (Ankara), Mayıs 2012	Salicaceae
<i>Salvia fruticosa</i>		Herba	BATEM (Antalya), 2011	Lamiaceae
<i>Tripleurospermum oreades</i> var. <i>oreades</i>	GUE 3393	Herba	Kızılcahamam (Ankara), Mayıs 2013	Asteraceae
<i>Verbascum insulare</i>	GUE 3396	Flos	Kızılcahamam (Ankara), Mayıs 2013	Scrophulariaceae
		Folia		
<i>Veronica thymoides</i> ssp. <i>pseudocinerea</i>	GUE 3390	Herba	Işık Dağı, Kızılcahamam (Ankara), Mayıs 2012	
<i>Vitis vinifera</i>		Semen	Denizli, 2013	Vitaceae

3.2. Yöntem

3.2.1. Ekstraksiyon ve örneklerin hazırlanması

Çizelge 3.1.'de verilen araştırma materyallerini teşkil eden bitki türleri gölgede kurutulmuş ve toz edilmiştir. Daha sonra her örnek tartılmış, üzerine % 96'lık etanol ilave edilmiş ve 5 gün boyunca, oda sıcaklığında ara sıra elle çalkalanarak maserasyona bırakılmıştır. Süre sonunda filtre kâğıdından süzülen organik çözücüler alçak basınç altında 42°C'de evaporatörde (Büchi, İsviçre) kuruluğa kadar yoğunlaştırılmıştır. Elde edilen ekstreler tartılarak verimleri (a/a) hesaplanmış ve ön tarama deneylerinde kullanılmak üzere +4°C'de saklanmıştır.

Biyolojik aktivite taramaları tamamlandıktan sonra BAYF işlemi için seçilen *Cotinus coggyria*'nın tüylü pediselleri ve yaprakları ile *Maclura pomifera* yaprakları ekstre miktarını arttırmak amacıyla tekrar toplanmış, aynı şekilde etanol ekstreleri hazırlanmış ve CÇDT (*C. coggyria*'nın tüylü pedisellerinden hazırlanan etanol ekstresi), CYET (*C. coggyria*'nın yapraklarından hazırlanan etanol ekstresi) ve MPYH (*M. pomifera* yapraklarından hazırlanan etanol ekstresi) olarak kodlanmıştır. Mikroemülsiyon formülasyonu çalışmaları için *V. vinifera* tohumları ve *C. sinensis* (yeşil) yapraklarından da aynı şekilde ekstreler hazırlamak suretiyle ekstre miktarları arttırılmıştır.

Biyolojik aktivite çalışmaları arasında yer alan enzim inhibisyon tayin yöntemlerini gerçekleştirmek üzere ekstreler uygun miktarda tartılmış ve stok konsantrasyonları 10 mg/mL olacak şekilde DMSO (Merck, Almanya) içinde çözülmüştür. Renklerinin koyu olmasından dolayı absorbans ölçümünü zorlaştıran bitki ekstreleri ise konsantrasyonları 5 mg/mL olacak şekilde yine DMSO kullanılarak seyreltilmiştir. Taramaya dahil edilen saf maddeler de stok konsantrasyonları 1 mg/mL olacak şekilde DMSO içinde çözülmüşlerdir. Antioksidan aktivite tayin yöntemlerinde kullanılmak üzere ekstrelerden uygun miktarda tartılmış ve konsantrasyonları 5 mg/mL olacak şekilde etanolde çözülmüşlerdir. Bu yöntemler arasından sadece nitrik oksit radikal süpürücü etki tayini yönteminde kullanılan ekstreler konsantrasyonları 5 mg/mL olacak şekilde tartılmış ve DMSO içinde çözülmüşlerdir.

3.2.2. Biyolojik aktivite çalışmaları

Enzim inhibisyon tayin yöntemleri

Elastaz enzim inhibisyonu

Elastaz enzim inhibisyonu Kraunsoe ve diğerleri'nin, Lee ve diğerleri tarafından modifiye edilmiş spektrofotometrik yöntemi kullanılarak test edilmiştir (Kraunsoe, Claridge ve Lowe, 1996; S. H. Lee ve diğerleri, 2009). Enzim kaynağı olarak domuz pankreatik elastazı (Tip IV, Sigma, EC 3.4.21.36) kullanılırken, substrat olarak N-Suc-(Ala)₃-p-nitroanilit (Sigma, ABD) kullanılmıştır. Yöntemin esası, substrattan salınan nitroanilin'in 410 nm dalga boyunda ölçülmesine dayanmaktadır. 1,015 mM substrat 0,1 M Tris-Cl (pH 8,0) tamponunda hazırlanmış ve bu çözelti (130 µL) DMSO'da çözülen ekstreler (10 µL) ile 96 kuyucuklu mikropakta karıştırılmıştır. Mikropak 25 C°'de 5 dk ön-inkübasyona bırakıldıktan sonra 0,5 ünite/mL (15 µL) enzim solüsyonu eklenmiştir. Enzim eklendikten sonra mikropak 25°C'de 30 dk inkübe edilmiş ve substrattan salınan p-nitroanilin miktarı 410 nm'de ELISA mikropak okuyucuda (Versamax tunable microplate reader, ABD) okutulmuştur. Referans olarak oleanolik asit (Sigma), kontrol olarak ise DMSO kullanılmıştır. Örneklerin % elastaz inhibisyonları aşağıda verilen formüle göre hesaplanmıştır. Her örnek 4 paralel olarak çalışılmış ve sonuçlar 4 deneyden elde edilen % inhibisyonların ortalaması ± standart sapma olarak verilmiştir.

$$\% \text{ İnhibisyon} = 100 - [(A_1 / A_2) \times 100]$$

A₁= Örnek çözeltilerinin 410 nm dalga boyundaki absorbansı

A₂= Kontrol çözeltilerinin 410 nm dalga boyundaki ortalama absorbansı

Kolajenaz enzim inhibisyonu

Kolajenaz enzim inhibisyonu Wart ve Steinbrink tarafından geliştirilen, modifiye edilmiş spektrofotometrik yöntem kullanılarak ölçülmüştür (Barrantes ve Guinea, 2003; Van Wart ve Steinbrink, 1981). Enzim kaynağı olarak *Clostridium histolyticum* kolajenazı (Sigma, EC 3.4.23.3) kullanılırken, substrat olarak N-(3-[2-furil]akriloil)-Leu-Gly-Pro-Ala (FALGPA) (Sigma, ABD) kullanılmıştır. 0,8 ünite/mL enzim 50 mM trisin tamponunda (10 mM CaCl₂ ve 400 mM NaCl ile pH 7,5) çözülmüştür. Substrat FALGPA 2 mM olacak şekilde aynı

tamponda çözülmüştür. 25 µL tampon, 25 µL DMSO veya ekstre ve 25 µL enzim 96 kuyucuklu mikropalak kuyucuğunda karıştırılmıştır. 15 dk ön-inkübasyondan sonra 50 µL substrat eklenmiştir. Absorbans 340 nm’de 20 dk boyunca 2 dk aralıkla ELISA mikropalak okuyucuda (Versamax tunable microplate reader, ABD) okutulmuştur. Referans olarak (-)-epigallokateşin gallat (EGCG, Sigma), kontrol olarak ise DMSO kullanılmıştır. Örneklerin % kolajenaz inhibisyonları aşağıda verilen formüle göre hesaplanmıştır. Her örnek 4 paralel olarak çalışılmış ve sonuçlar 4 deneyden elde edilen % inhibisyonların ortalaması ± standart sapma olarak verilmiştir.

$$\% \text{ İnhibisyon} = 100 - [(A_1 / A_2) \times 100]$$

A₁= Örnek çözeltilerinin 340 nm dalga boyundaki absorbansı

A₂= Kontrol çözeltilerinin 340 nm dalga boyundaki ortalama absorbansı

TYR enzim inhibisyonu

TYR enzim inhibisyonu Masamoto ve diğerleri tarafından geliştirilen L-DOPA’nın (Sigma, ABD) substrat olarak kullanıldığı spektrofotometrik bir yöntemle tayin edilmiştir (S. H. Lee ve diğerleri, 2009; Masamoto, Iida ve Kubo, 1980). Substratın enzim ile reaksiyonu sonucu oluşan dopakromun absorbansının 492 nm dalga boyunda ölçülmesi yöntemin esasını oluşturmaktadır. Yönteme göre, 96 kuyucuklu mikropalağa 10 µL örnek çözeltisi veya DMSO eklenmiştir. Ardından 80 µL 67 mM fosfat tamponu (pH 6,8) ve 30 µL 5 mM L-DOPA ilave edilmiştir. 37°C’de 10 dk inkübasyonun ardından 30 µL mantar kaynaklı tirozinaz (Sigma, EC 1.14.18.1) enzim solüsyonu eklenmiştir. 20 dk daha inkübasyondan sonra 492 nm’de absorbans ELISA mikropalak okuyucuda (Versamax tunable microplate reader, ABD) ölçülmüştür. Referans olarak *alfa*-kojik asit, kontrol olarak ise DMSO kullanılmıştır. Örneklerin % TYR inhibisyonları aşağıda verilen formüle göre hesaplanmıştır. Her örnek 4 paralel olarak çalışılmış ve sonuçlar 4 deneyden elde edilen % inhibisyonların ortalaması ± standart sapma olarak verilmiştir.

$$\% \text{ İnhibisyon} = 100 - [(A_1 / A_2) \times 100]$$

A₁= Örnek çözeltilerinin 492 nm dalga boyundaki absorbansı

A₂= Kontrol çözeltilerinin 492 nm dalga boyundaki ortalama absorbansı

Antioksidan aktivite tayin yöntemleri

2,2-Difenil-1-pikril hidrazil (DPPH) serbest radikal süpürücü aktivite

Örneklerin DPPH radikale karşı süpürücü etkileri, koyu-viyole renkten açık-sarı renge dönüşümün UV/görünür bölgede 515 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülmesiyle tayin edilmiştir (Barros, Baptista ve Ferreira, 2007; Hatano, Kagawa, Yasuhara ve Okuda, 1988). Çalışmada uygulanan yöntemle göre, 0,138 mg/mL DPPH solüsyonu ölçümlerden önce hazırlanmış ve örnek çözeltilerinden 10 µL alınarak 96 kuyucuklu mikroyağa eklenmiştir. Üzerlerine 90'ar µL DPPH solüsyonu ilave edilmiştir. Daha sonra örnek ve DPPH solüsyonları, karanlıkta, oda sıcaklığında 30 dk bekletilerek inkübe edilmiştir. Kontrol olarak etanol kullanılmış ve tüm solüsyonların absorbanları 515 nm'de ELISA mikroyağ okuyucuda (Versamax tunable microplate reader, ABD) okutulmuştur. Tüm örnekler için deney 3 paralel olarak uygulanmış ve kersetin referans madde olarak kullanılmıştır.

% Süpürücü etki ise şu formüle göre hesaplanmıştır:

$$\% \text{ Süpürücü etki} = [(A_1 - A_2) / A_1] \times 100$$

A_1 = DPPH stok solüsyonunun 515 nm dalga boyundaki absorbanı

A_2 = Örnek solüsyonunun 515 nm dalga boyundaki absorbanı

N,N-Dimetil-p-fenilendiamin (DMPD) radikal süpürücü aktivite

Örneklerin DMPD radikale karşı süpürücü etkileri, mor renkli DMPD^+ katyonunun redüksiyonu sonucu açılan rengin 505 nm dalga boyunda spektrofotometrik olarak ölçülmesiyle tayin edilmiştir. Hidrofil özellikte bir madde olan DMPD uygun oksidan çözelti ile (FeCl_3) asidik pH'da mor renkli DMPD^+ katyonunu oluşturur. Antioksidan özelliği olan maddeler hidrojen atomu transferi ile DMPD^+ katyonunun renginin yok olmasına neden olur. Uygulanan yöntemle göre, 100 mM DMPD çözeltisi, 0,1 M asetat tamponu (pH: 5,25) ve 0,05 M demir-III-klorür çözeltisi ile karıştırılarak mor-viyole renkli DMPD^+ solüsyonu ölçümlerden önce taze hazırlanmıştır (Schlesier, Harwat, Bohm ve Bitsch, 2002). Örnek çözeltilerinden 10 µL alınarak, üzerlerine 200 µL DMPD solüsyonu ilave edilmiştir. Daha sonra örnek ve DMPD solüsyonları oda sıcaklığında 10 dk bekletilerek inkübe edilmiştir.

Kontrol olarak etanol kullanılmış ve tüm solüsyonların absorbansları 505 nm’de ELISA mikropalak okuyucuda (Versamax tunable microplate reader, ABD) okutulmuştur. Tüm örnekler için deney 3 paralel olarak çalışılmış ve askorbik asit referans madde olarak kullanılmıştır.

% Süpürücü etki ise şu formüle göre hesaplanmıştır:

$$\% \text{ Süpürücü etki} = [(A_1 - A_2) / A_1] \times 100$$

A_1 = DMPD stok solüsyonunun 505 nm dalga boyunda absorbansı

A_2 = Örnek solüsyonunun 505 nm dalga boyunda absorbansı

Nitrik oksit (NO) süpürücü etki tayini

Örneklerin NO süpürücü etkilerini tayin etmek için bazı modifikasyonlar ile Sreejayan ve Rao’nun yöntemi kullanılmıştır (Sreejayan ve Rao, 1997; Tsai, Tsai, Yu ve Ho, 2007). Deneye başlamadan önce % 5’lik fosforik asit içinde % 1’lik sülfanilamit ve % 0,1’lik naftiletilendiamin diklorür hazırlanmış, bu iki çözelti karıştırılarak Griess reajanı elde edilmiştir. Örneklerden ve kontrol çözeltisini hazırlamak için DMSO’dan 60 µL alınmış ve üzerine 60 µL 10 mM sodyum nitroprussit çözeltisinden ilave edildikten sonra karışım 150 dk, oda sıcaklığında inkübasyona bırakılmıştır. Süre sonunda 120 µL Griess reajanı eklenmiştir ve 10 dk bekledikten sonra absorbanslar 577 nm’de ELISA mikropalak okuyucuda (Versamax tunable microplate reader, ABD) okutulmuştur. Tüm örnekler için deney üç paralel olarak çalışılmış ve askorbik asit referans madde olarak kullanılmıştır.

% Süpürücü etki ise şu formüle göre hesaplanmıştır:

$$\% \text{ Süpürücü etki} = [(A_1 - A_2) / A_1] \times 100$$

A_1 = Kontrol çözeltilerinin 577 nm dalga boyundaki ortalama absorbansı

A_2 = Örnek çözeltilerinin 577 nm dalga boyundaki absorbansı

Metal (demir) iyonu şelasyon etki tayini

Örneklerin demir iyonu-şelasyon etkilerini tayin etmek için Carter’ın modifiye edilmiş yöntemi uygulanmıştır (Carter, 1971; Lantto ve diğerleri, 2009). Ferrozin ve demir (II), 562

nm dalga boyunda güçlü absorbsiyon veren bir kompleks oluştururlar. Deneyde kullanılmak üzere 2 mM demir-II-klorür ile 5 mM ferrozin çözeltisi hazırlanmıştır. Yönteme göre; her bir örnekten ve kontrolden (etanol) 20 µL mikropipet ile alınarak 96 kuyucuklu mikroploğa konulmuş, üzerlerine 10 µL demir-II-klorür ve ardından 40 µL ferrozin çözeltisi eklenmiştir. Daha sonra, son miktar 160 µL olacak şekilde etanol ilave edilmiştir, karışım 10 dk oda sıcaklığında bekletilmiş ve süre sonunda absorbans 562 nm dalga boyunda ELISA mikroploak okuyucuda (Versamax tunable microplate reader, ABD) okutulmuştur. Örneklerin % şelasyonları aşağıda verilen formüle göre hesaplanmıştır. Her örnek 3 paralel olarak çalışılmış ve sonuçlar 3 deneyden elde edilen % şelasyonların ortalaması $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir. Referans madde olarak etilendiamintetraasetikasit (EDTA, Sigma) kullanılmıştır.

$$\% \text{ Şelasyon} = [(A_1 - A_2) / A_1] \times 100$$

A_1 = Kontrol çözeltisinin 562 nm dalga boyundaki absorbansı

A_2 = Örnek çözeltilerinin 562 nm dalga boyundaki absorbansı

Demir-indirgeme antioksidan gücünün tayini (FRAP)

Örneklerin demir-indirgeme antioksidan gücü (ferric-reducing antioxidant power, FRAP), bazı modifikasyonlar ile Oyaizu'nun yöntemine göre tayin edilmiştir (Ferreira, Baptista, Vilas-Boas ve Barros, 2007; Oyaizu, 1986). Düşük pH'da demir III'ün demir II'ye indirgenmesi renkli demir (II)-tripiridiltriazin kompleksinin oluşmasını sağlar (Benzie ve Strain, 1996). Yönteme göre; örnek çözeltilerinden 10 µL alınarak, 0,2 M pH değeri 6,6 olan 25 µL fosfat tamponu ve 25 µL potasyum ferrisiyanür ilave edilmiş, elde edilen karışım 50°C'de 20 dk ön-inkübasyona bırakılmıştır. Süre sonunda 25 µL % 10 trikloroasetik asit (TCA, Sigma) eklenmiştir. Daha sonra üzerine 85 µL distile su ve 17 µL demir-III-klorür eklenmiştir. Oda sıcaklığında 30 dk daha inkübasyona bırakıldıktan sonra, absorbanslar 700 nm dalga boyunda ELISA mikroploak okuyucuda (Versamax tunable microplate reader, ABD) okutulmuştur. Her örnek 3 paralel olarak çalışılmış ve sonuçlar 3 deneyden elde edilen absorbansların ortalaması $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir. Referans madde olarak kersetin kullanılmıştır. Sonuçlar, artan absorbans değerlerinin indirgeme gücünün arttığına işaret etmesi şeklinde yorumlanmaktadır.

Fosfomolibdenyum-indirgeme antioksidan gücünün tayini (PRAP)

Örneklerin fosfomolibdenyum-indirgeme antioksidan gücü (phosphomolybdenum-reducing antioxidant power, PRAP), bazı modifikasyonlar ile Falcioni ve diğerleri'nin yöntemine göre tayin edilmiştir (Falcioni ve diğerleri, 2002; Prieto, Pineda ve Aquilar, 1999). Antioksidan güç, molibden-VI'nın (sarı) molibden-V'e indirgenmesi sonucu oluşan yeşil rengin ölçümü esasına dayanmaktadır. Yönteme göre; örnek çözeltilerinden 300 µL alınarak üzerlerine 1 mL % 10'luk fosfomolibdik asit (Sigma) ilave edilmiştir. Elde edilen karışım 80°C'de 30 dk inkübasyona bırakılmıştır. Süre sonunda uygun miktarda karışım mikropiplara aktarılmış ve absorbanslar 600 nm dalga boyunda ELISA mikropiplak okuyucuda (Versamax tunable microplate reader, ABD) okutulmuştur. Her örnek 3 paralel olarak çalışılmış ve sonuçlar 3 deneyden elde edilen absorbansların ortalaması $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir. Referans madde olarak kersetin kullanılmıştır. Sonuçlar, artan absorbans değerlerinin indirgeme gücünün arttığına işaret etmesi şeklinde yorumlanmaktadır.

Bakır-indirgeme antioksidan gücünün tayini (CUPRAC)

Örneklerin bakır-indirgeme antioksidan güçlerini (cupric reducing antioxidant capacity, CUPRAC) tayin etmek amacıyla Apak ve diğerleri'nin mikropiplakta uygulanmak üzere modifiye edilmiş yöntemi uygulanmıştır (Apak, Güçlü, Özyürek ve Karademir, 2004; Ribeiro, Magalhaes, Reis, Lima ve Segundo, 2011). Yöntemin esası; bakır-neokuproin kompleksinin (Cu(II)-Nc) antioksidan etkili maddeler ile Cu(I)-Nc'e redüksiyonuna dayanır. Bunun için 25 µL 10 mM bakır (II) klorür, 25 µL 7,5 mM neokuproin, 25 µL 1 M amonyum asetat (pH 7), 25 µL ekstre ve 100 µL distile su 96 kuyucuklu mikropiplak kuyucuğunda karıştırılmıştır. Daha sonra mikropiplak 30 dk inkübe edilmiştir. Süre sonunda absorbanslar 450 nm dalga boyunda ELISA mikropiplak okuyucuda (Versamax tunable microplate reader, ABD) okutulmuştur. Her örnek üç paralel olarak çalışılmış ve sonuçlar üç deneyden elde edilen absorbansların ortalaması $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir. Referans madde olarak gallik asit kullanılmıştır. Sonuçlar, artan absorbans değerlerinin indirgeme gücünün arttığına işaret etmesi şeklinde yorumlanmaktadır.

Spektrofotometrik miktar tayini yöntemleri

Toplam fenol miktar tayini

Toplam fenol miktarını tayin etmek için Singleton ve Rossi'nin (Singleton ve Rossi, 1965) modifiye edilmiş Folin-Ciocalteu yöntemi kullanılmıştır (İ. Orhan, Şenol, Gülpınar, ve diğerleri, 2009). Bitki ekstraları uygun miktarda tartılıp, konsantrasyon 5 mg/mL olacak şekilde etanol'de (% 75) çözülmüştür. Daha sonra her örnekten 10 µL alınıp, üzerine sırasıyla, 30 µL Folin-Ciocalteu reaktifi (Sigma, suda seyreltilmiş $\times 2$) ve 150 µL % 3,5'lik sodyum karbonat (Na_2CO_3) çözeltisi eklenmiştir. Diğer taraftan kalibrasyon eğrisi için 0,0312 mg/mL, 0,0625 mg/mL, 0,125 mg/mL, 0,25 mg/mL, 0,5 mg/mL konsantrasyonlarda gallik asit dilüsyonları hazırlanmış ve örnekler yerine gallik asit dilüsyonları konularak diğer çözeltiler aynen ilave edilmiştir. Mikroplak 40°C'de 30 dk inkübasyona bırakılmıştır. Süre sonunda absorbanslar 765 nm dalga boyunda ELISA mikroplak okuyucuda (Versamax tunable microplate reader, ABD) okunmuştur. Her örnek 3 paralel olarak çalışılmıştır. Örneğin ortalama absorbansından, gallik asit kalibrasyon çözeltileri yardımıyla hazırlanan kalibrasyon eğrisine göre, toplam fenol konsantrasyonu gallik asit eşdeğeri olarak hesaplanmış ve ekstrenin toplam fenol miktarı mg/g ekstre $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir.

Belirtilen yöntem aynı şekilde üzüm çekirdeği ve yeşil çay etanol ekstralarına, bu ekstralar ile hazırlanan mikroemülsiyon formülasyonlarına, ekstraların formülasyona ne kadar geçtiğini hesaplamak amacıyla ve aynı formülasyonlar ile yapılan salım çalışmasında da uygulanmıştır. Bu çalışmalarda kontrol olarak ekstre içermeyen boş formülasyon kullanılmıştır.

Toplam flavonoit miktar tayini

Toplam flavonoit miktarını tayin etmek için Woisky ve Salatino'nun (Woisky ve Salatino, 1998) geliştirdiği alüminyum klorür (AlCl_3) kolorimetrik yöntemi uygulanmıştır. Bitki ekstraları yeterli miktarda tartılıp, konsantrasyonu 5 mg/mL olacak şekilde etanolde (% 75) çözülmüştür. Daha sonra örnekten 96 kuyucuklu mikroplak kuyucuğuna 25 µL konulmuştur. Üzerine sırasıyla 75 µL etanol (% 75), 5 µL % 10'luk AlCl_3 , 5 µL 1 M sodyum asetat çözeltisi ve 100 µL distile su eklenmiştir. Diğer taraftan kalibrasyon eğrisi için 0,0312

mg/mL, 0,0625 mg/mL, 0,125 mg/mL, 0,25 mg/mL, 0,5 mg/mL konsantrasyonlarda kersetin kalibrasyon çözeltileri hazırlanmış ve örnekler yerine kersetin dilüsyonları konularak diğer çözeltiler aynen ilave edilmiştir. Karışımlar 30 dk oda sıcaklığında inkübasyona bırakılmıştır. Süre sonunda absorbanslar 415 nm dalga boyunda ELISA mikropalak okuyucuda (Versamax tunable microplate reader, ABD) okunmuştur. Her örnek 3 paralel olarak çalışılmıştır. Örneğin ortalama absorbansından, kersetin kalibrasyon çözeltileri yardımıyla hazırlanan kalibrasyon eğrisine göre, toplam flavonoit konsantrasyonu kersetin eşdeğeri olarak hesaplanmış ve ekstrenin toplam flavonoit miktarı mg/g ekstre $\pm$ standart sapma olarak verilmiştir.

Toplam proantosiyanidin miktar tayini

Üzüm çekirdeği ve yeşil çay etanol ekstrelerine, bu ekstreler ile hazırlanan mikroemülsiyon formülasyonlarına, ekstrelerin formülasyonlardaki miktarını hesaplamak amacıyla toplam fenol miktar tayini yanı sıra, toplam proantosiyanidin miktar tayini de uygulanmıştır. Bunun için modifiye edilmiş vanilin-hidroklorik asit (vanilin-HCl) yöntemi kullanılmıştır (Herald, Gadgil, Perumal, Bean ve Wilson, 2014; Price, Van Scoyoc ve Butler, 1978). Hazırlanan mikroemülsiyon formülasyonlarından ve konsantrasyonları 1 mg/mL olacak şekilde tartılıp metanolde (MeOH, Merck) çözülmüş ekstre örneklerinden 96 kuyucuklu mikropalak kuyucuğuna 20 μ L konulmuştur. Üzerine 100 μ L vanilin reajanı ilave edilmiş ve 1 dk sonra her kuyucuğa 100 μ L % 4'lük HCl çözeltisi eklenmiştir. Diğer taraftan kalibrasyon eğrisini oluşturabilmek için 0,0625 mg/mL, 0,125 mg/mL, 0,25 mg/mL, 0,5 mg/mL ve 1 mg/mL konsantrasyonlarda (+)-kateşin kalibrasyon çözeltileri hazırlanmış ve örnekler yerine (+)-kateşin dilüsyonları konularak diğer çözeltiler aynen ilave edilmiştir. Karışımlar 20 dk oda sıcaklığında inkübasyona bırakılmıştır. Süre sonunda absorbanslar 500 nm dalga boyunda ELISA mikropalak okuyucuda (Versamax tunable microplate reader, ABD) okunmuştur. Her örnek 3 paralel olarak çalışılmıştır. Örneğin ortalama absorbansından, (+)-kateşin kalibrasyon çözeltileri yardımıyla hazırlanan kalibrasyon eğrisine göre, toplam proantosiyanidin konsantrasyonu (+)-kateşin eşdeğeri olarak hesaplanmıştır.

İstatistiksel analiz

İstatistiksel analizler, GraphPad Prism 6.0. programında tek yönlü varyans analizi (One way ANOVA), Dunnett çoklu karşılaştırma testi uygulanarak gerçekleştirilmiştir.

3.2.3. Biyoaktivite-yönlendirmeli fraksiyonlama işlemi (BAYF)

Sıvı-sıvı ekstraksiyon

Taramada elastaz ve kolajenaz enzimlerine karşı inhibisyon gösterdiği saptanan *C. coggyria* tüylü pediselleri (CÇDT), yaprakları (CYET) ve TYR'a karşı etkili bulunan *M. pomifera* yapraklarından (MPYH) hareketle hazırlanan etanol ekstrelerinden tam olarak 4 g tartılmıştır. Tartılan bu ekstreler öncelikle % 90'lık MeOH'de tamamen çözülmüş ve ilk olarak *n*-hekzan (Merck) ile ayırma hunisinde sıvı-sıvı ekstraksiyona tabi tutulmuştur. Geriye kalan MeOH'lü fazın MeOH kısmı evaporatörde uçurulmuş ve elde edilen ekstre distile suda çözülmüştür. Daha sonra distile su ile çözülen ekstre sırasıyla diklorometan (CH₂Cl₂, Merck), etil asetat (EtOAc, Merck), *n*-butanol (*n*-BuOH, Merck) ile ayırma hunisinde fraksiyonlanmış ve ayrı ayrı toplanan organik fazlar evaporatörde uçurulmuştur. Geriye kalan sulu ekstre de liyofilizatörde 2 gün boyunca bekletilmiş ve sonuçta her bir ana ekstreten 5 adet fraksiyon elde edilmiş, tartılarak % verimleri (a/a) hesaplanmıştır. Elde edilen bu fraksiyonlar uygun miktarda tartılarak DMSO'da çözülmüş ve enzim inhibisyon testleri uygulanmıştır.

Kolon kromatografisi

Sıvı-sıvı ekstraksiyon ile elde edilen fraksiyonlara enzim inhibisyon testleri uygulanmış ve yüksek inhibisyon saptanan, CÇDT etil asetat fraksiyonu (CÇDT EtOAc) ilerleyen çalışmalar için seçilmiştir. Bu amaçla kolon kromatografisinde ilk önce adsorban olarak poliamit kullanılmıştır. Yaklaşık 40 g tartılan poliamit üzerine su ilave edilmiş ve şişmesini sağlamak amacıyla 30 dk boyunca karıştırılmıştır. Bahsi geçen fraksiyondan 1,02 g tartılmış ve MeOH'de çözülmüştür. Elüsyon, gradient sistem uygulanarak gerçekleştirilmiş ve toplama hacmi 100 mL olarak belirlenmiştir. Kolona tatbik edilen fraksiyon sırasıyla % 100 distile su (4 × 100 mL), % 10 MeOH (4 × 100 mL), % 20 MeOH (4 × 100 mL), % 30 MeOH (4 × 100 mL), % 40 MeOH (6 × 100 mL), % 50 MeOH (4 × 100 mL), % 60 MeOH (4 × 100 mL), % 70 MeOH (4 × 100 mL), % 80 MeOH (4 × 100 mL), % 90 MeOH (4 × 100 mL) ve % 100 MeOH (16 × 100 mL) ile elüe edilmiştir. Kolon kromatografisi sonucu elde edilen fraksiyonlar ince tabaka kromatografisi (İTK) ile değerlendirilmiş, benzer bileşikler içeren fraksiyonlar birleştirilmiş ve toplam 5 alt fraksiyon elde edilmiştir.

Daha sonra enzim inhibisyon testleri uygulanan alt fraksiyonlardan yüksek inhibisyon saptanan PA 35-43, miktarını arttırmak amacıyla benzer madde grupları taşıyan PA 30-34 alt fraksiyonu ile birleştirilmiştir. Birleştirilen bu fraksiyonlar orta basınçlı sıvı kromatografisi (medium pressure liquid chromatography, MPLC) ile fraksiyonlanmıştır. MPLC uygulaması ile ilgili detaylı bilgi aşağıda verilmiştir.

MPLC ile elde edilen ve enzim inhibisyon testleri uygulanan alt fraksiyonlardan yüksek inhibisyon saptanan RP 34, miktarını arttırmak amacıyla benzer madde grupları taşıyan RP 31-33 alt fraksiyonu ile birleştirilmiştir. Birleştirilen bu fraksiyon, 15 g silika jelin $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH}$ (90:10) karışımında süspande edilmesi ile kurulan kolona tatbik edilmiştir. Elüsyon, gradient sistem uygulanarak gerçekleştirilmiş ve toplama hacmi 10 mL olarak belirlenmiştir. Kolona tatbik edilen fraksiyon sırasıyla $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH}$ (9:1)-4 $\times$ 75 mL, $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH}$ (8:2)-2 $\times$ 75 mL, $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH}$ (7,5:2,5)-3 $\times$ 75 mL, $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH}$ (7:3)-2 $\times$ 75 mL ve $\text{CH}_2\text{Cl}_2:\text{MeOH}$ (6:4)-2 $\times$ 75 mL ile elüe edilmiştir. Kolon kromatografisi sonucu elde edilen fraksiyonlar İTK ile değerlendirilmiş, benzer bileşikler içeren fraksiyonlar birleştirilmiş ve toplam 15 alt fraksiyon elde edilmiştir.

İnce tabaka kromatografisi (İTK)

Kolon kromatografisi sonucu elde edilen fraksiyonların takip edilmesinde, normal faz silika jel kaplı alüminyum plaklar (Merck, Silica gel 60 F₂₅₄) kullanılarak İTK yöntemi uygulanmıştır. Hareketli faz olarak $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}:\text{Su}$ (61:32:7), revelatör olarak vanilin / sülfürik asit, kullanılmıştır. Plaklar sürüklendikten sonra kurutulmuş, UV 254 ve UV 366 nm’de incelenmiş, reaktif püskürtüldükten sonra 110°C’de yaklaşık 10 dk ısıtılarak lekeler belirlenmiştir.

Aynı marka plaklar preparatif amaçla da kullanılmıştır. Solvan sistemi olarak RP 36-37 ve RP 39-40 alt fraksiyonları için $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}:\text{Su}$ (80:20:2), RP 38 alt fraksiyonu için ise $\text{EtOAc}:\text{MeOH}:\text{Su}$ (100:17:13) kullanılmıştır. RP 21-30, RP 41-44 ve RP 48-53 alt fraksiyonlarının preparatif İTK uygulaması için kullanılan solvan sistemleri Şekil 4.4’de verilmiştir. Plaklar, kararlaştırılan solvan sistemlerinde sürüklendikten sonra kurutulmuş, UV 254 ve UV 366 nm’de incelenmiş ve belirlenen lekeler kesilmiştir. Kesilen alüminyum plaklar üzerindeki silika jel kazınarak MeOH ile yıkanmıştır. Silika jel ve madde içeren

MeOH'lü çözeltiler süzgeç kağıdından (Whatman®, blue ribbon) süzölmüş ve elde edilen maddeler İTK ile kontrol edilmişlerdir.

Orta basınçlı sıvı kromatografisi (MPLC)

MPLC'de adsorban olarak ters faz silika jel [LiChroprep C₁₈ (40-63 µm, Merck)], kolon olarak Büchi kolon (2,5 × 45 cm), pompa olarak ise Dionex P680 kullanılmıştır. Yeterli miktarda adsorban kuru sistemle kolona doldurularak, basınç altında sıkıştırılmış, yeterli miktarda MeOH geçirilerek adsorbanın yerleşmesi sağlanmıştır. Kolon yeterli miktarda su ile şartlandırılmıştır. Kolon kromatografisi (adsorban: poliamit) sonucu elde edilen alt fraksiyonlardan yüksek enzim inhibisyonu saptanan PA 35-43, miktarını arttırmak amacıyla benzer madde grupları taşıyan PA 30-34 alt fraksiyonu ile birleştirilerek 1-2 mL solvan sistemi içinde çözölerek bir enjektör yardımıyla kolona enjekte edilmiştir. Elüsyon gradient sistem uygulanarak gerçekleştirilmiş, sırasıyla % 0 MeOH (%100 su), % 5, % 15, % 25, % 35, % 40, % 45, % 50, % 55, % 60, % 65, % 70, % 75, % 80, % 85, % 90, % 95 ve % 100 MeOH geçirilmiştir. Toplama hacmi 20 mL olarak belirlenmiştir. MPLC sonucunda elde edilen alt fraksiyonlar İTK ile değerlendirilmiş ve benzer bileşikleri içeren fraksiyonlar birleştirilmiştir. Sonuçta toplam 14 alt fraksiyon elde edilmiştir. Elde edilen fraksiyonlar ve miktarları Şekil 4.4'de verilmektedir.

Yüksek performanslı ince tabaka kromatografisi (high performance thin layer chromatography-HPTLC)

İsviçre'de bulunan CAMAG firmasının Ar-Ge Laboratuvarı ile halen devam eden ortak projemiz kapsamında, *Citrus* türlerinin farklı kısımlarından hareketle hazırlanan etanol ekstreleri HPTLC ile analiz edilmiştir. Analiz için CAMAG HPTLC sistemi (İsviçre) ve silika jel plaklar (HPTLC glass 20 × 10, silica gel 60 F₂₅₄) kullanılmıştır. Ekstreler 5 mg/mL, referans olarak kullanılan hesperidin ve kafeik asit sırasıyla 0,4 mg/mL ve 0,2 mg/mL konsantrasyonda olacak şekilde MeOH'de çözölümüştür. Referanslar ve örnek çözeltileri 5, 10 veya 15 µL miktarda, plağın alt kenarından 8 mm yukarıda olacak şekilde tatbik edilmiştir. Hareketli faz olarak etil asetat:formik asit:su (75:15:10) sistemi kullanılmıştır ve tank 20 dk boyunca bu sistemin buharı ile doyurulmuştur. Sürüklenme, plağın alt kenarından 70 mm yukarıda sonlandırılmış ve plak 5 dk kurutulmuştur. Kromatogram UV 254 ve UV 366 nm'de incelenmiş, revelatör olarak AlCl₃ (% 1), NPR (natural product reagent, % 0,5)

ve polietilen glikol400 (PEG, % 5) kullanılmış, beyaz ışık (WRT) altında görüntüleri alınmıştır.

Nükleer magnetik rezonans (NMR) analizleri

BAYF işlemi ile fraksiyonlanan, kolon kromatografisi veya preparatif İTK ile elde edilen ve miktarı yeterli olan maddelerin, Prens Sattam bin Abdulaziz Üniversitesi, Eczacılık Koleji, Farmakognozi Anabilim Dalı (Suudi Arabistan), NMR laboratuvarında, Bruker Ultrashield 500 plus NMR spektrometresi (Almanya) ile ^1H - (500 MHz) ve ^{13}C -NMR (125 MHz) analizleri, CD_3OD 'da çözülerek gerçekleştirilmiştir. Bazı örneklerle ait DEPT (Distortionless enhancement by polarization transfer) spektrumları ve ^1H - ^1H -Homonükleer Korelasyonlu Spektrumlar (Homo-COSY) da mevcuttur. RP 36-37 Prep 4, RP 38 Prep 1, RP 39-40 Prep 1, RP 39-40 Prep 2 ve RP 41-44 Prep 2 kodlu fraksiyonlarda bulunan bazı bileşiklerin yapı tayinine ait yorumlar “Bulgular” bölümünde verilmiştir.

3.2.4. Mikroemülsiyon formülasyonları ile ilgili çalışmalar

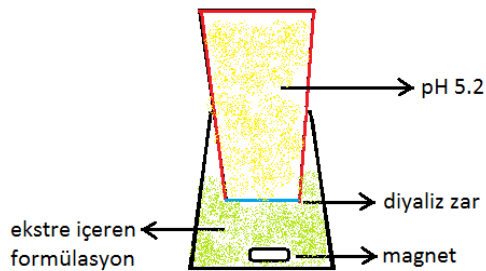
Mikroemülsiyon formülasyonlarının geliştirilmesi

Çalışmamızın formülasyon geliştirilmesi bölümünde, yüksek enzim inhibisyonu saptanan, sırasıyla % 21,9 ve % 11,9 verimle elde edilen yeşil çay ve üzüm çekirdeği ekstralarının bir taşıyıcı sistem içinde kullanılıp, tüketiciye sunulacak bir forma dönüştürülmesi planlanmıştır. Bu amaçla mikroemülsiyonun en uygun sistem olduğuna karar verilmiştir. Ekstreleri içeren mikroemülsiyon sistemleri Gazi Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı Kozmetoloji Bilim Dalı ile beraber hazırlanmış, kontrolleri yapılmış ve en uygun mikroemülsiyon formülasyonunun yağ içinde su emülsiyonu olduğuna karar verilmiştir. Bu emülsiyonun oluşturulması amacıyla kullanılan maddeler kaprilik/kaprik/linoleik trigliserit (yağ fazı), absölü etanol (YYEM), yumurta lesitini (YEM) ve distile sudur. Formülasyonların hazırlanması için gerekli tüm aşamalarda Gazi Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Teknoloji Anabilim Dalı, Kozmetoloji Bilim Dalı'nda Prof. Dr. Figen Tırnaksız danışmanlığında tamamlanan, Dr. Ecz. Şeyda Akkuş Arslan'a ait yüksek lisans tezi esas alınmıştır (Akkuş, 2007). Ekstre içeren mikroemülsiyon formülasyonlarında kalite kontrol amacıyla damlacık büyüklüğü ve damlacık büyüklüğü dağılımı ile polidispersite indeksi (PDI) incelenmiş ve

formülasyonlardan salım çalışmaları yapılmıştır. Ekstre içeren mikroemülsiyonların hazırlanması için, ekstreler önce etanolde çözülmüş, daha sonra diğer aşamalara geçilmiştir. Elde edilen mikroemülsiyonların damlacık büyüklükleri ve dağılımları Malvern Zeta Sizer Nano ZS (İngiltere) ile ölçülmüştür.

Mikroemülsiyon formülasyonlarında yapılan salım çalışması

Ekstre içeren mikroemülsiyonlardan, ekstrelerde bulunan fenolik madde gruplarının salım çalışmasının yapılması için 20 mL donör ve 9 mL reseptör faz kullanılmıştır. Zar olarak molekül ağırlığı 12 000 g/mol'den küçük olan moleküllerin geçişini sağlayan diyaliz zar seçilmiş ve deney 32°C'de gerçekleştirilmiştir. Salım ortamı olarak pH 5,2 tampon kullanılmış, salım alanı ise 3,8 cm² olarak belirlenmiştir. Hücrelerin donör odacığı, deney süresince sabit hızda manyetik karıştırıcı ile karıştırılmıştır. Ekstrelerin salım ortamındaki çözünürlüklerinin düşük olması nedeniyle, reseptör odacıkta sink koşulun sağlanabilmesi için, her bir numune aralığında, reseptör odacığındaki tüm sıvı ortam çekilip, taze tampon ile yeniden doldurulmuştur. Örnekler 60., 120., 180., 240. ve 360. dk'larda alınmış ve alınan örneklerin toplam fenol miktar tayinleri spektrofotometrik olarak ölçülmüştür. Ekstrelerde bulunan etkin bileşenlerin salımını incelemek amacıyla ters diyaliz tekniği kullanılmıştır. Bu amaçla Şekil 3.1.'de gösterilen özel diyaliz hücreleri yaptırılmıştır.



Şekil 3.1. Salım deneyinde kullanılan hücrelerin şematik gösterimi

3.2.5. Krem formülasyonu geliştirilmesi ile ilgili çalışmalar

Mikro-Gen İlaç Firması'nın (İstanbul) kozmetik grubu olan "Vivatinell Cosmeceuticals" ile ortak Ar-Ge çalışmalarımız sonucunda *Cotinus coggyria* tüylü pedisel ve yaprak ekstreleri kullanılarak kırışıklık karşıtı, *Maclura pomifera* yaprak ekstresi kullanılarak leke giderici krem formülasyonları geliştirilmiştir. Hazırlanan krem formülasyonlarının içeriği, kullanım amaçları ve % oranları Çizelge 3.2.'de verilmektedir. Belirtilen bileşiklerin yanı sıra, leke

giderici ürün formülasyonunda *Maclura pomifera* yaprak ekstresi (% 0,45), kırıxıklık karşıtı krem formülasyonunda *Cotinus coggyria* tüylü pedisel ekstresi (% 0,14) ile yaprak ekstresi (% 0,16) kullanılmıştır.

Hazırlanan krem formülasyonlarının stabiliteleeri 3 ay boyunca 25°C, % 65 nem ve 45°C, % 75 nem koşullarında test edilmiştir. Bu işlemdede, formülasyonların görünüş, pH, yoğunluk, viskozite, donma çözölme döngüsü ve mikrobiyolojik limitleri gibi özellikleri tayin edilmiştir.

Çizelge 3.2. Krem formülasyonlarında kullanılan bileşikler, kullanım amaçları ve % oranları

Bileşik ismi (INCI name)	Kullanım amacı	% Oran
Su (Aqua)	Çözücü	69,63
Etilhekzil metoksisinamat (Ethylhexyl methoxycinnamate)	UV absorbe edici	9
Setearil glukozit ve setearil alkol (Cetearyl glucoside, cetearyl alcohol)	Emülgatör ve emoliyan	2,5
C12-15 Alkil benzoat (C12-15 Alkyl benzoate)	Emoliyan	2,5
Niasinamid (Niacinamide)	Yatıştırıcı	2
Dikaprilil karbonat (Dicaprylyl carbonate)	Emoliyan	1,5
Kaprilik/Kaprik trigliserit (Caprylic/capric triglyceride)	Emoliyan	1,5
Pantenol (Panthenol)	Antistatik	1,5
<i>Oenothera biennis</i> yağı (<i>Oenothera biennis</i> oil - EPO)	Emoliyan	1,5
Butil metoksidibenzoilmetan (Butyl methoxydibenzoylmethane)	UV absorbe edici	1,5
Sorbitol (Sorbitol)	Nemlendirici	1
Siklometikon (Cyclomethicone)	Antistatik	0,6
VP/Hekzadesen kopolimer (VP/Hexadecene copolymer)	Viskozite düzenleyici	0,6
Sodyum poliakrilat (Sodium polyacrylate)	Viskozite düzenleyici	0,55
Trietanolamin (Triethanolamine)	Tamponlama ajanı	0,55
<i>Borago officinalis</i> tohum yağı (<i>Borago officinalis</i> seed oil)	Emoliyan	0,5
Gliseril stearat SE (Glyceryl stearate SE)	Emülgatör ve emoliyan	0,5
Potasyum setil fosfat (Potassium cetyl phosphate)	Sümfaktan	0,5
Tegosoft® DC (Diethylhexyl carbonate)	Emoliyan	0,5
Koku verici		0,45
Sitrik asit (Citric acid)	Tamponlama ajanı	0,25
Tokoferol (Tocopherol)	Antioksidan	0,12
Bisabolol (Bisabolol)	Yatıştırıcı	0,1
Sorbik asit (Sorbic acid)	Koruyucu	0,1
Bütil hidroksitoluen (BHT)	Antioksidan	0,1

4. BULGULAR

4.1. Ekstre ve Fraksiyon Verimlerine Ait Bulgular

Tez gereçlerimizi teşkil eden bitkisel materyallerden hareketle hazırlanan etanol ekstreleri tartılarak hesaplanan % verimleri (a/a) Çizelge 4.1’de verilmektedir. Ön taramada etkili olduğunu tespit ettiğimiz ve miktarı arttırılan CÇDT, CYET ve MPYH ekstrelerinin ve bu ekstrelerden sıvı-sıvı ekstraksiyon ile elde edilen fraksiyonların % verimleri (a/a) Şekil 4.1 ve Şekil 4.2’de verilmiştir. CÇDT EtOAc fraksiyonunun kolon kromatografisine (sabit faz: poliamit) uygulanması ile elde edilen ve İTK analizine göre birleştirilen fraksiyonlar ve % verimleri (a/a) Çizelge 4.2.’de verilmektedir.

Çizelge 4.1. Hazırlanan etanol ekstrelerinin % verimleri (a/a)

Bitki	Kısım	% Verim (a/a)
<i>Aesculus hippocastanum</i>	Flos	8,44
	Folia	11,68
	Semen	2,56
	Pericarpium	2,69
<i>Aloe vera</i>	Folia	1,11
<i>Arbutus unedo</i>	Folia	17,70
	Fructus (olgunlaşmamış)	6,51
<i>Calendula arvensis</i>	Herba	10,58
<i>Camellia sinensis</i>	Folia (Siyah)	6,38
	Folia (Yeşil)	13,70
<i>Cassia sp.</i>	Folia	8,66
<i>Cinnamomum cassia</i>	Cortex	2,98
<i>Citrus aurantium</i>	Albedo	22,02
	Flavedo	8,48
	Folia	5,87
<i>Citrus deliciosa</i>	Pericarpium	10,81
<i>Citrus limon</i> cv. Interdonato	Albedo	13,83
	Flavedo	11,74
<i>Citrus limon</i> cv. Kara limon	Albedo	20,86
	Flavedo	14,17
<i>Citrus limon</i> cv. Kıbrıs	Albedo	14,56
	Flavedo	7,23
<i>Citrus maxima</i>	Albedo	15,89
	Flavedo	14,48
	Semen	11,42
<i>Citrus paradisi</i> var. Henderson	Albedo	26,82
	Flavedo	12,25

Çizelge 4.1. (devam) Hazırlanan etanol ekstratlarının % verimleri (a/a)

Bitki	Kısım	% Verim (a/a)
<i>Citrus paradisi</i> var. Red blush	Albedo	24,61
	Flavedo	12,47
<i>Citrus paradisi</i> var. Star ruby	Albedo	33,79
	Flavedo	15,86
<i>Citrus reticulata</i> -Lee	Pericarpium	7,86
<i>Citrus reticulata</i> -Nova	Pericarpium	9,37
<i>Citrus reticulata</i> Blanco × <i>Citrus paradisi</i>	Pericarpium	11,39
<i>Citrus sinensis</i> cv. Navelina	Albedo	18,00
	Flavedo	9,49
<i>Citrus sinensis</i> cv. Shamouti	Albedo	16,45
	Flavedo	13,49
<i>Citrus sinensis</i> cv. Valencia late	Albedo	15,36
	Flavedo	7,56
<i>Citrus sinensis</i> cv. Washington navel	Albedo	22,80
	Flavedo	13,27
<i>Citrus japonica</i>	Pericarpium	13,42
<i>Cotinus coggia</i>	Tüylü pedisel (meyveli)	10,10
	Folia	19,86
<i>Crataegus monogyna</i> ssp. <i>monogyna</i>	Flos	12,48
	Folia	10,72
	Fructus	7,95
<i>Crataegus szovitsii</i>	Flos	12,06
	Folia	11,99
<i>Cupressus sempervirens</i>	Folia	10,72
<i>Curcuma longa</i>	Rhizoma	1,70
<i>Ficus carica</i>	Folia	8,76
<i>Garcinia mangostana</i>	Pericarpium	21,37
<i>Hedera helix</i>	Folia	8,18
<i>Laurus nobilis</i>	Folia	9,72
	Gemmae	8,16
<i>Lamium purpureum</i>	Herba	5,85
<i>Lamium purpureum</i> ssp. <i>purpureum</i>	Herba	8,96
<i>Maclura pomifera</i>	Folia	7,44
	Fructus	9,42
<i>Malus</i> sp.	Pericarpium (Kırmızı)	32,63
	Pericarpium (Yeşil)	21,42
<i>Olea europaea</i>	Cortex	0,87
	Folia (Denizli)	21,12
	Folia (Kıbrıs)	18,37
<i>Origanum onites</i>	Herba	4,80
<i>Passiflora incarnata</i>	Herba	29,08
	Flos	1,09
	Fructus	16,31

Çizelge 4.1. (devam) Hazırlanan etanol ekstralarının % verimleri (a/a)

Bitki	Kısım	% Verim (a/a)
<i>Persea americana</i>	Folia	9,53
	Fructus	5,35
	Pericarpium	9,47
	Semen	3,01
<i>Pistacia vera</i>	Pericarpium	11,20
<i>Portulaca oleracea</i>	Herba	1,43
<i>Primula vulgaris ssp. vulgaris</i>	Herba	11,37
<i>Punica granatum</i>	Flos	7,08
	Pericarpium	14,71
	Semen	1,06
<i>Rosa canina</i>	Stipites	7,75
	Fructus	9,49
<i>Rosa sp.</i>	Fructus (Bursa)	3,67
	Fructus (Tunceli)	5,62
<i>Rosmarinus officinalis</i>	Herba	13,37
	Herba	9,06
<i>Salix alba</i>	Stipites	8,61
<i>Salvia fruticosa</i>	Herba	7,95
<i>Tripleurospermum oreades</i>	Herba	6,90
<i>Verbascum insulare</i>	Flos	14,54
	Folia	7,74
<i>Veronica thymoides ssp. pseudocinerea</i>	Herba	22,23
<i>Vitis vinifera</i>	Semen	2,45

Çizelge 4.2. CÇDT EtOAc fraksiyonunun kolon kromatografisine (sabit faz: poliamit) uygulanması ile elde edilen ve İTK analizine göre birleştirilen fraksiyonlar ve % verimleri (a/a)

Fraksiyon kodları	% Verim
CÇDT EtOAc PA 1-20	10,41
CÇDT EtOAc PA 21-29	5,25
CÇDT EtOAc PA 30-34	16,75
CÇDT EtOAc PA 35-43	41,71
CÇDT EtOAc PA 44-68	6,18

4.2. Enzim İnhibisyonu Tayinlerine Ait Bulgular

Tez gereçlerimizi teşkil eden bitkisel materyallerden hareketle hazırlanan etanollü ekstraların, Calendula® firmasından temin edilen ekstraların ve propolis örneğinin 666

$\mu\text{g/mL}$ final konsantrasyondaki elastaz, kolajenaz ve TYR enzim inhibisyonlarına ait bulgular Çizelge 4.3.'de verilmektedir. Bazı ekstrelere ait DMSO'lu çözeltilerin renklerinin koyu olmasının absorbanlarının okunmasını zorlaştırması nedeniyle final konsantrasyonları $133 \mu\text{g/mL}$ olacak şekilde DMSO ile seyreltilerek iki konsantrasyonda da enzim inhibisyonları test edilmiştir. *Curcuma longa* rizomlarından hareketle hazırlanan etanollü ekstrenin test edilen konsantrasyonlarda kolajenaz enzim inhibisyonu saptanmazken, aynı konsantrasyonda ekstrenin sarı renginden dolayı TYR ve elastaz enzim inhibisyonları testlerinde absorbanların okunması mümkün olmamış, bu nedenle daha düşük konsantrasyonlarda denenmiştir. Bu ekstreye ait enzim inhibisyon bulguları da Çizelge 4.4.'de verilmektedir

Veterinerlik ve Farmasötik Bilimler Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi (Brno, Çek Cumhuriyeti) ile ortak çalışmalar yaptığımız araştırma grubu tarafından *M. pomifera*'dan daha önce izole edilmiş osajin, pomiferin ve makluraksanton ile yarı-sentetik türevler olan izoosajin ve izopomiferinin, ayrıca resveratrol'ün $66,6 \mu\text{g/mL}$ final konsantrasyondaki elastaz, kolajenaz ve TYR enzim inhibisyonlarına ait bulgular da Çizelge 4.3.'de verilmektedir.

BAYF işlemine tabi tutulan CÇDT ekstresinden, bunun yanı sıra CYET ve MPYH ekstrelerinden sıvı-sıvı ekstraksiyon ile elde edilen fraksiyonların elastaz, kolajenaz ve TYR enzim inhibisyonlarına ait bulgular Şekil 4.1., Şekil 4.2. ve Şekil 4.3.'de verilmektedir. İlerleyen çalışmalar için seçilen CÇDT EtOAc fraksiyonunun BAYF işlemine ait genel şema Şekil 4.4.'de verilmektedir. Aynı fraksiyonun, kolon kromatografisi (sabit faz: poliamit) ile fraksiyonlanmasıyla elde edilen alt fraksiyonların elastaz, kolajenaz ve TYR enzim inhibisyonlarına ait bulgular ise Çizelge 4.5.'de verilmektedir. Birleştirilen PA 30-34 ve PA 35-43 alt fraksiyonlarının MPLC ile fraksiyonlanmasıyla elde edilen alt fraksiyonların elastaz, kolajenaz ve TYR enzim inhibisyonlarına ait bulgular Çizelge 4.6'da verilmektedir. Bu fraksiyonlardan RP 31-34 kodlu alt fraksiyon kolon kromatografisi (sabit faz: silika jel) ile fraksiyonlanmış, elde edilen alt fraksiyonlardan 31-34 Fr 49-54 kodlu fraksiyona enzim inhibisyon testleri uygulanmıştır. Fraksiyon $133 \mu\text{g/mL}$ konsantrasyonda, elastaz enzimini $\% 30,40 \pm 1,24$, TYR enzimini $\% 11,88 \pm 1,25$ oranında inhibe ederken, kolajenaz enzim inhibisyonu saptanmamıştır.

Çizelge 4.3. Ön taramada kullanılan ekstrelerin ve saf maddelerin elastaz, kolajenaz ve TYR enzim inhibisyonları

Familya	Bitki	Kısım	TYR Enzim İnhibisyonu (% İnhibisyon $\pm$ S.S. ^a)		Elastaz Enzim İnhibisyonu (% İnhibisyon $\pm$ S.S.)		Kolajenaz Enzim İnhibisyonu (% İnhibisyon $\pm$ S.S.)	
			133 μ g/mL ^b	666 μ g/mL	133 μ g/mL	666 μ g/mL	133 μ g/mL	666 μ g/mL
Anacardiaceae	<i>Cotinus coggyria</i>	Pedisel (meyveli)	§	61,97 $\pm$ 1,80 ^d	§	3,01 $\pm$ 1,18 ^d	§	55,30 $\pm$ 4,68 ^d
		Folia	17,19 $\pm$ 4,35 ^d	64,43 $\pm$ 2,80 ^d	2,09 $\pm$ 0,71 ^d	51,76 $\pm$ 2,33*	- ^c	-
	<i>Pistacia vera</i>	Pericarpium	§	6,75 $\pm$ 1,92 ^d	§	64,33 $\pm$ 1,83 ^d	§	50,33 $\pm$ 4,68*
Araliaceae	<i>Hedera helix</i>	Folia	14,95 $\pm$ 0,23 ^d	47,35 $\pm$ 3,41 ^d	-	32,53 $\pm$ 4,52 ^d	-	-
Asteraceae	<i>Calendula arvensis</i>	Herba	11,05 $\pm$ 3,92 ^d	51,66 $\pm$ 0,57 ^d	-	8,40 $\pm$ 1,30 ^d	-	-
	<i>Tripleurospermum oreades</i>	Herba	35,30 $\pm$ 0,12 ^d	57,01 $\pm$ 0,53 ^d	4,45 $\pm$ 1,36 ^d	23,36 $\pm$ 2,45 ^d	-	-
Clusiaceae	<i>Garcinia mangostana</i>	Pericarpium	9,13 $\pm$ 0,51 ^d	52,55 $\pm$ 0,40 ^d	-	36,50 $\pm$ 3,43 ^d	-	52,99 $\pm$ 2,63***
Cupressaceae	<i>Cupressus sempervirens</i>	Folia	11,63 $\pm$ 0,94 ^d	33,39 $\pm$ 1,24 ^d	-	26,09 $\pm$ 1,28 ^d	-	-
Ericaceae	<i>Arbutus unedo</i>	Folia	1,85 $\pm$ 0,80 ^d	32,21 $\pm$ 2,41 ^d	-	3,49 $\pm$ 0,15 ^d	-	14,05 $\pm$ 1,34 ^d
		Fructus (olgunlaşmamış)	§	11,82 $\pm$ 1,54 ^d	§	2,29 $\pm$ 0,74 ^d	§	10,41 $\pm$ 1,83 ^d
Fabaceae	<i>Cassia</i> sp.	Folia	-	30,09 $\pm$ 5,63 ^d	12,74 $\pm$ 2,17 ^d	54,37 $\pm$ 2,83***	4,64 $\pm$ 1,28 ^d	-
Hippocastanaceae	<i>Aesculus hippocastanum</i>	Flos	§	40,59 $\pm$ 0,33 ^d	§	48,75 $\pm$ 1,64	§	-
		Folia	-	15,55 $\pm$ 3,06 ^d	11,86 $\pm$ 2,45 ^d	64,67 $\pm$ 2,32 ^d	-	-
		Pericarpium	§	12,81 $\pm$ 1,95 ^d	§	4,11 $\pm$ 0,78 ^d	§	8,35 $\pm$ 0,06 ^d
		Semen	§	18,00 $\pm$ 0,86 ^d	§	3,53 $\pm$ 0,61 ^d	§	42,05 $\pm$ 0,87
Lamiaceae	<i>Lamium purpureum</i>	Herba	21,01 $\pm$ 0,12 ^d	57,67 $\pm$ 1,15 ^d	-	25,54 $\pm$ 2,63 ^d	-	-
	<i>Lamium purpureum</i> ssp. <i>purpureum</i>	Herba	29,57 $\pm$ 1,64 ^d	60,34 $\pm$ 1,31 ^d	4,62 $\pm$ 0,56 ^d	49,27 $\pm$ 2,70	-	-
	<i>Origanum onites</i>	Herba	15,31 $\pm$ 1,03 ^d	25,55 $\pm$ 2,40 ^d	-	28,00 $\pm$ 1,65 ^d	-	-
	<i>Rosmarinus officinalis</i>	Herba (BATEM)	5,70 $\pm$ 1,70 ^d	29,36 $\pm$ 3,12 ^d	-	24,80 $\pm$ 1,58 ^d	-	20,09 $\pm$ 1,09 ^d
		Herba (Kıbrıs)	13,10 $\pm$ 1,96 ^d	35,13 $\pm$ 4,27 ^d	-	29,48 $\pm$ 1,46 ^d	-	17,75 $\pm$ 2,41 ^d
	<i>Salvia fruticosa</i>	Herba	24,86 $\pm$ 1,68 ^d	-	2,65 $\pm$ 0,70 ^d	18,76 $\pm$ 2,13 ^d	-	-
Lauraceae	<i>Cinnamomum cassia</i>	Cortex	23,34 $\pm$ 0,58 ^d	60,82 $\pm$ 3,87 ^d	-	11,10 $\pm$ 1,38 ^d	-	-
	<i>Laurus nobilis</i>	Folia	3,51 $\pm$ 1,17 ^d	28,47 $\pm$ 3,31 ^d	-	16,78 $\pm$ 1,75 ^d	-	-
		Gemmae	§	33,04 $\pm$ 4,84 ^d	§	-	§	24,27 $\pm$ 0,47 ^d
	<i>Persea americana</i>	Folia	3,39 $\pm$ 0,94 ^d	34,09 $\pm$ 0,31 ^d	-	12,01 $\pm$ 0,78 ^d	-	-
		Fructus	§	31,30 $\pm$ 4,27 ^d	§	-	§	-

Çizelge 4.3. (devam) Ön taramada kullanılan ekstrelerin ve saf maddelerin elastaz, kolajenaz ve TYR enzim inhibisyonları

Familya	Bitki	Kısım	TYR Enzim İnhibisyonu (% İnhibisyon $\pm$ S.S. ^a)		Elastaz Enzim İnhibisyonu (% İnhibisyon $\pm$ S.S.)		Kolajenaz Enzim İnhibisyonu (% İnhibisyon $\pm$ S.S.)	
			133 μ g/mL ^b	666 μ g/mL	133 μ g/mL	666 μ g/mL	133 μ g/mL	666 μ g/mL
Lauraceae	<i>Persea americana</i>	Pericarpium	§	33,73 $\pm$ 0,62 ^d	§	-	§	15,80 $\pm$ 3,44 ^d
		Semen	§	27,61 $\pm$ 1,98 ^d	§	56,68 $\pm$ 1,74 ^d	§	10,81 $\pm$ 1,60 ^d
Liliaceae	<i>Aloe vera</i>	Folia	5,66 $\pm$ 1,22 ^d	40,89 $\pm$ 1,66 ^d	17,37 $\pm$ 1,67 ^d	37,58 $\pm$ 1,49 ^d	-	-
Moraceae	<i>Ficus carica</i>	Folia	7,31 $\pm$ 1,88 ^d	40,70 $\pm$ 0,62 ^d	-	23,53 $\pm$ 3,31 ^d	-	-
	<i>Maclura pomifera</i>	Folia	48,43 $\pm$ 1,06 ^d	67,40 $\pm$ 3,05 ^d	-	30,69 $\pm$ 2,98 ^d	26,98 $\pm$ 4,68 ^d	10,12 $\pm$ 3,65 ^d
		Fructus	§	54,31 $\pm$ 3,29 ^d	§	-	§	-
Oleaceae	<i>Olea europaea</i>	Cortex	2,70 $\pm$ 0,11 ^d	21,50 $\pm$ 1,54 ^d	-	-	18,49 $\pm$ 1,60 ^d	16,90 $\pm$ 0,64 ^d
		Folia (Denizli)	2,77 $\pm$ 0,65 ^d	7,29 $\pm$ 0,31 ^d	-	15,70 $\pm$ 3,08 ^d	-	-
		Folia (Kıbrıs)	3,24 $\pm$ 1,26 ^d	22,24 $\pm$ 3,86 ^d	-	-	-	-
Passifloraceae	<i>Passiflora incarnata</i>	Herba	10,22 $\pm$ 1,74 ^d	46,33 $\pm$ 1,80 ^d	-	27,48 $\pm$ 2,18 ^d	-	9,11 $\pm$ 2,10 ^d
		Flos	§	3,58 $\pm$ 0,31 ^d	§	4,50 $\pm$ 0,95 ^d	§	37,98 $\pm$ 2,61 ^{**}
		Fructus	§	-	§	-	§	-
Portulacaceae	<i>Portulaca oleracea</i>	Herba	6,81 $\pm$ 0,23 ^d	38,30 $\pm$ 2,01 ^d	-	13,42 $\pm$ 2,65 ^d	7,53 $\pm$ 3,49 ^d	-
Primulaceae	<i>Primula vulgaris</i> ssp. <i>vulgaris</i>	Herba	12,29 $\pm$ 1,41 ^d	44,08 $\pm$ 0,38 ^d	2,74 $\pm$ 0,84 ^d	34,80 $\pm$ 1,62 ^d	-	-
Punicaceae	<i>Punica granatum</i>	Flos	§	47,45 $\pm$ 0,27 ^d	§	-	§	64,88 $\pm$ 2,07 ^d
		Pericarpium	§	22,63 $\pm$ 2,74 ^d	§	-	§	-
		Semen	§	20,44 $\pm$ 2,20 ^d	§	-	§	27,01 $\pm$ 1,23 ^d
Rosaceae	<i>Crataegus monogyna</i> ssp. <i>monogyna</i>	Flos	§	53,25 $\pm$ 1,66 ^d	§	-	§	-
		Folia	3,15 $\pm$ 1,35 ^d	33,39 $\pm$ 3,24 ^d	-	34,30 $\pm$ 1,21 ^d	-	-
		Fructus	§	30,82 $\pm$ 1,52 ^d	§	-	§	-
	<i>Crataegus szovitsii</i>	Flos	§	44,74 $\pm$ 0,66 ^d	§	-	§	-
		Folia	6,56 $\pm$ 1,70 ^d	19,56 $\pm$ 1,04 ^d	-	17,64 $\pm$ 1,07 ^d	-	-
	<i>Malus</i> sp.	Pericarpium (Kırmızı)	§	22,48 $\pm$ 0,90 ^d	§	-	§	-
		Pericarpium (Yeşil)	§	19,34 $\pm$ 2,72 ^d	§	-	§	-
	<i>Rosa canina</i>	Stipites	9,63 $\pm$ 0,47 ^d	51,01 $\pm$ 0,57 ^d	-	27,60 $\pm$ 0,58 ^d	-	6,94 $\pm$ 0,64 ^d
		Fructus	§	3,28 $\pm$ 0,93 ^d	§	-	§	-
	<i>Rosa</i> sp.	Fructus (Bursa)	§	24,99 $\pm$ 1,77 ^d	§	-	§	8,02 $\pm$ 1,59 ^d
		Fructus (Tunceli)	§	11,84 $\pm$ 0,96 ^d	§	-	§	-

Çizelge 4.3. (devam) Ön taramada kullanılan ekstrelerin ve saf maddelerin elastaz, kolajenaz ve TYR enzim inhibisyonları

Familya	Bitki	Kısım	TYR Enzim İnhibisyonu (% İnhibisyon $\pm$ S.S. ^a)		Elastaz Enzim İnhibisyonu (% İnhibisyon $\pm$ S.S.)		Kolajenaz Enzim İnhibisyonu (% İnhibisyon $\pm$ S.S.)	
			133 μ g/mL ^b	666 μ g/mL	133 μ g/mL	666 μ g/mL	133 μ g/mL	666 μ g/mL
Rutaceae	<i>Citrus aurantium</i>	Albedo	§	14,51 $\pm$ 1,86 ^d	§	47,26 $\pm$ 3,90	§	-
		Flavedo	§	7,45 $\pm$ 1,60 ^d	§	20,03 $\pm$ 5,37	§	-
		Folia	15,50 $\pm$ 1,57 ^d	21,93 $\pm$ 2,84 ^d	-	58,28 $\pm$ 3,37***	-	-
	<i>Citrus deliciosa</i>	Flavedo	§	2,33 $\pm$ 0,58 ^d	§	-	§	-
	<i>Citrus limon</i> cv. İnterdonato	Albedo	§	5,45 $\pm$ 0,86 ^d	§	9,02 $\pm$ 2,07 ^d	§	-
		Flavedo	§	5,08 $\pm$ 1,36 ^d	§	24,22 $\pm$ 2,35 ^d	§	-
	<i>Citrus limon</i> cv. Kara limon	Albedo	§	2,47 $\pm$ 1,04 ^d	§	2,17 $\pm$ 0,76 ^d	§	-
		Flavedo	§	4,89 $\pm$ 1,15 ^d	§	20,26 $\pm$ 2,14 ^d	§	-
	<i>Citrus limon</i> cv. Kıbrıs	Albedo	§	7,82 $\pm$ 0,68 ^d	§	4,09 $\pm$ 2,00 ^d	§	-
		Flavedo	§	4,97 $\pm$ 1,38 ^d	§	6,71 $\pm$ 2,89 ^d	§	-
	<i>Citrus maxima</i>	Albedo	§	12,46 $\pm$ 0,76 ^d	§	37,42 $\pm$ 4,88**	§	-
		Flavedo	§	6,27 $\pm$ 1,46 ^d	§	-	§	-
		Semen	§	-	§	27,06 $\pm$ 4,37 ^d	§	-
	<i>Citrus paradisi</i> var. Henderson	Albedo	§	13,36 $\pm$ 1,62 ^d	§	43,69 $\pm$ 4,23	§	-
		Flavedo	§	8,95 $\pm$ 2,01 ^d	§	22,86 $\pm$ 4,70 ^d	§	-
	<i>Citrus paradisi</i> var. Red blush	Albedo	§	15,01 $\pm$ 2,32 ^d	§	25,79 $\pm$ 3,14 ^d	§	-
		Flavedo	§	13,56 $\pm$ 0,41 ^d	§	22,46 $\pm$ 5,97 ^d	§	-
	<i>Citrus paradisi</i> var. Star ruby	Albedo	§	5,01 $\pm$ 1,57 ^d	§	-	§	-
		Flavedo	§	9,88 $\pm$ 2,71 ^d	§	13,36 $\pm$ 2,88 ^d	§	-
	<i>Citrus reticulata</i> -Lee	Flavedo	§	2,40 $\pm$ 1,34 ^d	§	17,60 $\pm$ 5,30 ^d	§	-
	<i>Citrus reticulata</i> -Nova	Flavedo	§	3,74 $\pm$ 1,71 ^d	§	15,66 $\pm$ 5,98 ^d	§	-
	<i>Citrus reticulata</i> Blanco $\times$ <i>Citrus paradisi</i>	Flavedo	§	7,00 $\pm$ 2,84 ^d	§	27,02 $\pm$ 3,87 ^d	§	-
	<i>Citrus sinensis</i> cv. Navelina	Albedo	§	17,79 $\pm$ 1,84 ^d	§	2,23 $\pm$ 1,88 ^d	§	-
		Flavedo	§	6,31 $\pm$ 1,43 ^d	§	20,44 $\pm$ 3,47 ^d	§	-
	<i>Citrus sinensis</i> cv. Shamouti	Albedo	§	7,41 $\pm$ 0,97 ^d	§	-	§	-
		Flavedo	§	3,84 $\pm$ 1,36 ^d	§	10,99 $\pm$ 1,82 ^d	§	-
	<i>Citrus sinensis</i> cv. Valencia late	Albedo	§	2,19 $\pm$ 0,97 ^d	§	14,87 $\pm$ 1,95 ^d	§	-
		Flavedo	§	11,86 $\pm$ 1,60 ^d	§	22,19 $\pm$ 3,26 ^d	§	-

Çizelge 4.3. (devam) Ön taramada kullanılan ekstrelerin ve saf maddelerin elastaz, kolajenaz ve TYR enzim inhibisyonları

Familya	Bitki	Kısım	TYR Enzim İnhibisyonu (% İnhibisyon $\pm$ S.S. ^a)		Elastaz Enzim İnhibisyonu (% İnhibisyon $\pm$ S.S.)		Kolajenaz Enzim İnhibisyonu (% İnhibisyon $\pm$ S.S.)	
			133 μ g/mL ^b	666 μ g/mL	133 μ g/mL	666 μ g/mL	133 μ g/mL	666 μ g/mL
Rutaceae	<i>Citrus sinensis</i> cv. Washington navel	Albedo	§	11,07 $\pm$ 2,25 ^d	§	27,69 $\pm$ 5,77 ^d	§	-
		Flavedo	§	9,03 $\pm$ 1,58 ^d	§	9,76 $\pm$ 4,46 ^d	§	-
	<i>Citrus japonica</i>	Flavedo	§	-	§	20,34 $\pm$ 3,06 ^d	§	-
Salicaceae	<i>Salix alba</i>	Stipites	20,10 $\pm$ 3,11 ^d	57,67 $\pm$ 0,82 ^d	-	12,31 $\pm$ 1,30 ^d	-	-
Scrophulariaceae	<i>Verbascum insulare</i>	Flos	§	61,90 $\pm$ 0,77 ^d	§	-	§	-
		Folia	4,98 $\pm$ 0,23 ^d	23,42 $\pm$ 0,47 ^d	-	19,77 $\pm$ 3,01 ^d	-	3,50 $\pm$ 1,90 ^d
	<i>Veronica thymoides</i> ssp. <i>pseudocinerea</i>	Herba	26,66 $\pm$ 2,00 ^d	56,70 $\pm$ 0,74 ^d	-	20,25 $\pm$ 1,46 ^d	-	27,14 $\pm$ 3,24 ^d
Theaceae	<i>Camellia sinensis</i>	Folia (Siyah)	5,90 $\pm$ 0,35 ^d	37,65 $\pm$ 3,67 ^d	-	15,92 $\pm$ 1,46 ^d	-	-
		Folia (Yeşil)	24,09 $\pm$ 2,11 ^d	77,99 $\pm$ 0,82 ^{**}	-	9,94 $\pm$ 3,57 ^d	2,08 $\pm$ 0,46 ^d	-
Vitaceae	<i>Vitis vinifera</i>	Semen	§	27,70 $\pm$ 2,55 ^d	§	70,74 $\pm$ 1,19 ^d	§	59,79 $\pm$ 2,88 ^d
CALENDULA®	<i>Aesculus hippocastanum</i>	Semen	§	23,75 $\pm$ 1,32 ^d	§	-	§	-
	<i>Arctium lappa</i>	Radix	§	18,41 $\pm$ 1,70 ^d	§	9,39 $\pm$ 2,18 ^d	§	56,96 $\pm$ 3,80 ^d
	<i>Betula pendula</i>	Folia	6,59 $\pm$ 0,99 ^d	39,24 $\pm$ 2,09 ^d	-	17,70 $\pm$ 2,64 ^d	5,05 $\pm$ 1,56 ^d	2,91 $\pm$ 0,37 ^d
	<i>Urtica dioica</i>	Radix	§	30,83 $\pm$ 2,52 ^d	§	-	§	-
	<i>Rosa canina</i>	Fructus	2,77 $\pm$ 0,65 ^d	33,85 $\pm$ 2,62 ^d	-	-	-	-
	<i>Vaccinium myrtillus</i>	Fructus	7,76 $\pm$ 2,62 ^d	29,65 $\pm$ 1,42 ^d	-	9,36 $\pm$ 0,83 ^d	-	-
	Propolis		47,92 $\pm$ 1,24 ^d	64,38 $\pm$ 2,89 ^d	-	45,43 $\pm$ 5,22	-	7,81 $\pm$ 1,35 ^d
	Izoosajin (66,6 μ g/mL)		12,62 $\pm$ 2,65 ^d		-		-	
	Izopomiferin (66,6 μ g/mL)		29,97 $\pm$ 2,50 ^d		-		-	
	Makluraksanton (66,6 μ g/mL)		15,91 $\pm$ 1,93 ^d		24,42 $\pm$ 2,28 ^d		19,13 $\pm$ 1,66 ^d	
	Osajin (66,6 μ g/mL)		-		-		-	
	Pomiferin (66,6 μ g/mL)		-		-		-	
	Resveratrol (66,6 μ g/mL)		23,97 $\pm$ 1,02 ^d		-		-	

Çizelge 4.3. (devam) Ön taramada kullanılan ekstrelerin ve saf maddelerin elastaz, kolajenaz ve TYR enzim inhibisyonları

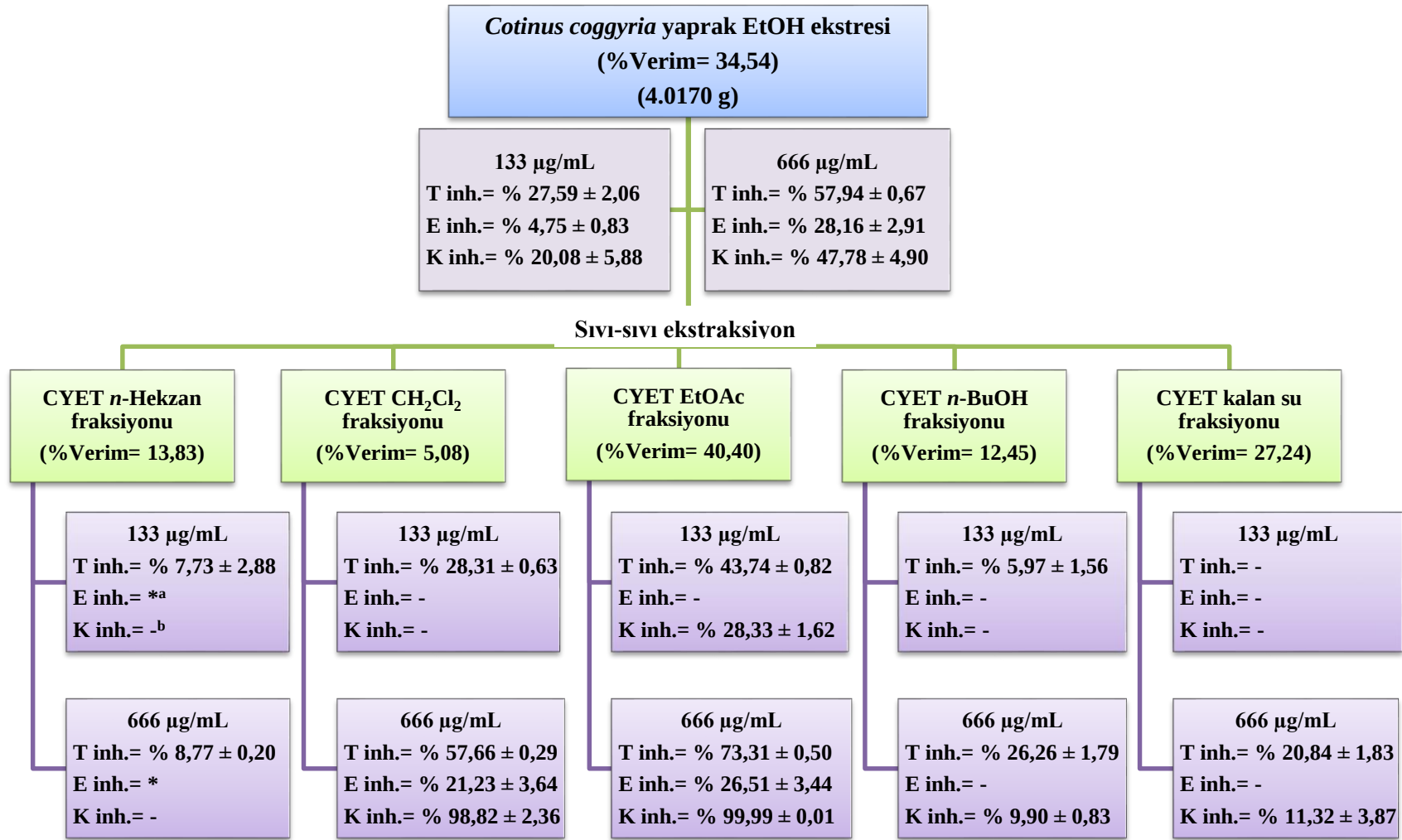
		TYR Enzim İnhibisyonu (% İnhibisyon $\pm$ S.S. ^a)	Elastaz Enzim İnhibisyonu (% İnhibisyon $\pm$ S.S.)	Kolajenaz Enzim İnhibisyonu (% İnhibisyon $\pm$ S.S.)
Referans	Kojik asit (133 μ g /mL ^b)	83,06 $\pm$ 0,79	§	§
	EGCG (1 mM ^b)	§	§	44,64 $\pm$ 2,87
	Oleanolik asit (1 mM ^b)	§	46,90 $\pm$ 3,66	§

^a Standart sapma, ^b Kuyucuktaki final konsantrasyon, ^c Etki gözlenmedi, § Denenmedi, ^d **** (p<0,0001), * p<0,05, ** p<0,01, *** p<0,001

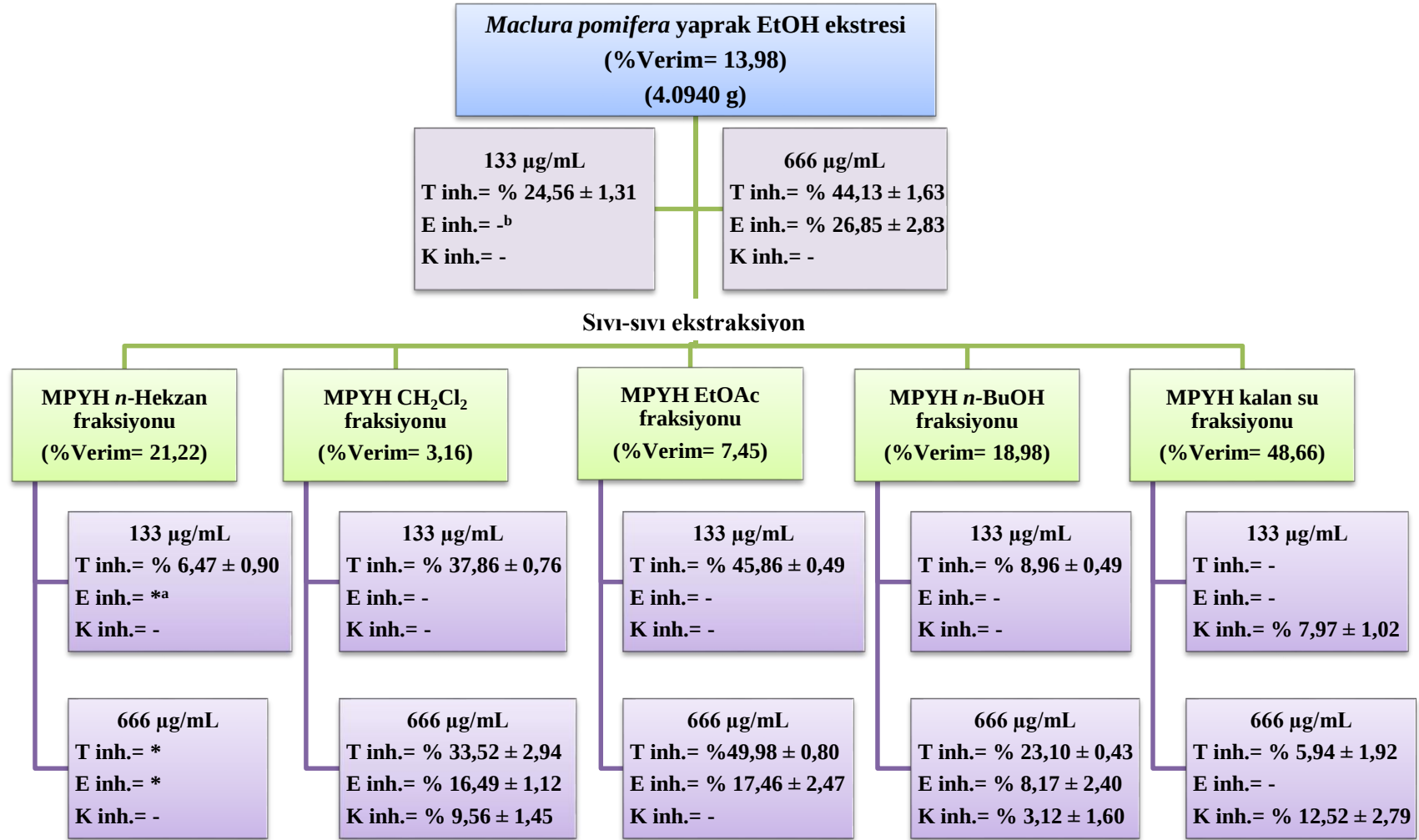
Çizelge 4.4. *Curcuma longa* rizomlarından hazırlanan etanol ekstresinin seyreltilmiş konsantrasyonlardaki TYR ve elastaz enzim inhibisyonları

Bitki	Kısım	TYR Enzim İnhibisyonu (% İnhibisyon $\pm$ S.S. ^a)				Elastaz Enzim İnhibisyonu (% İnhibisyon $\pm$ S.S.)			
		6,66 μ g/mL ^b	33,3 μ g/mL	66,6 μ g/mL	133 μ g/mL	6,66 μ g/mL	33,3 μ g/mL	66,6 μ g/mL	133 μ g/mL
<i>Curcuma longa</i> (Zingiberaceae)	Rhizoma	15,28 $\pm$ 1,48 ^d	38,59 $\pm$ 2,24 ^d	42,19 $\pm$ 1,50 ^d	56,81 $\pm$ 3,27 ^d	- ^c	-	8,54 $\pm$ 3,15 ^d	27,80 $\pm$ 0,74 ^d

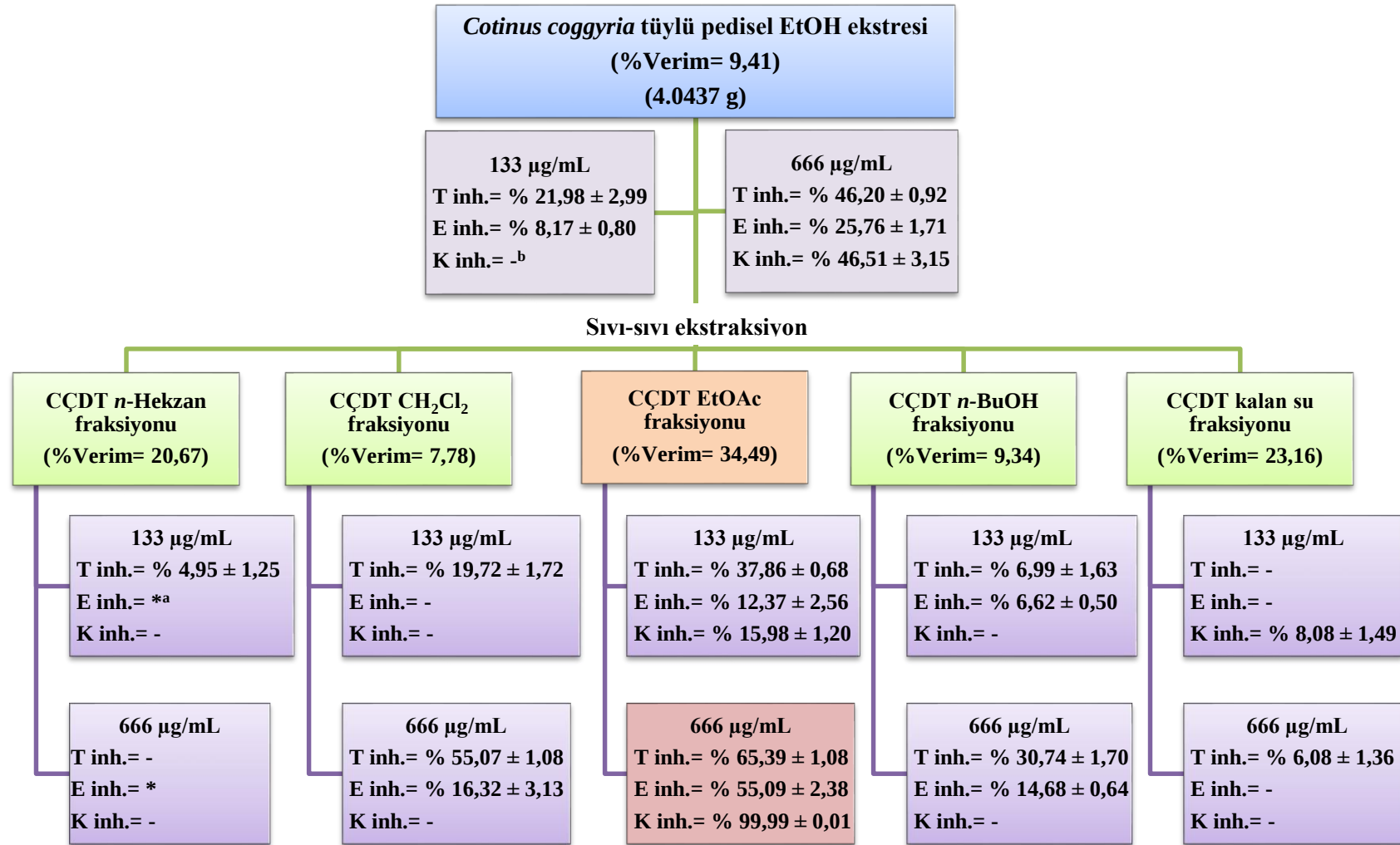
^a Standart sapma, ^b Kuyucuktaki final konsantrasyon, ^c Etki gözlenmedi, ^d **** (p<0,0001)



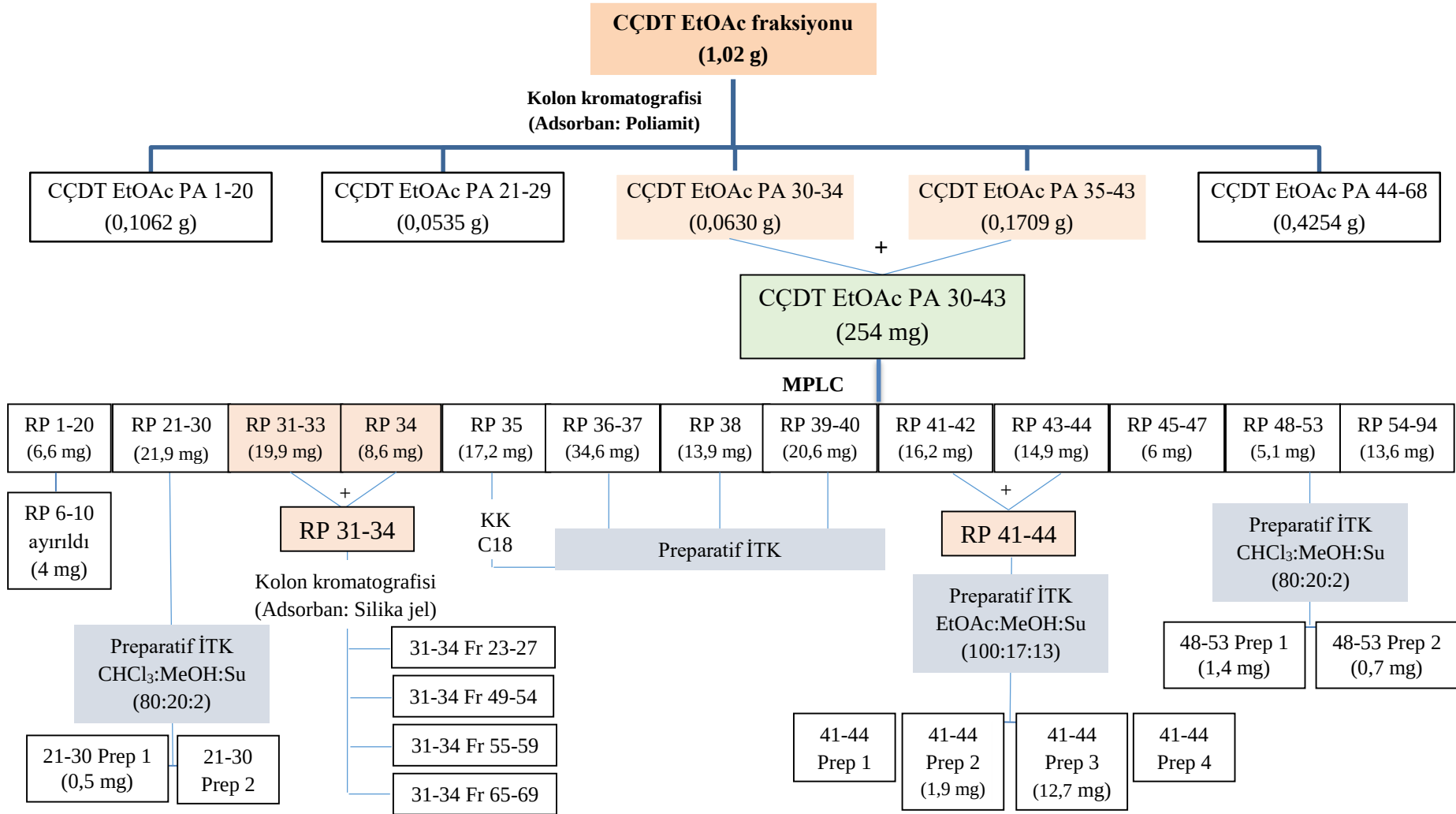
Şekil 4.1. CYET ekstresine ait fraksiyonlama işlemi ve % enzim inhibisyon sonuçları (T: TYR, E: Elastaz, K: Kolajenaz enzim inhibisyonları, ^a Absorbans okunamadı, ^b Etki gözlenmedi)



Şekil 4.2. MPYH ekstresine ait fraksiyonlama işlemi ve % enzim inhibisyon sonuçları (^a Absorbans okunamadı, ^b Etki gözlenmedi)



Şekil 4.3. CÇDT ekstresine ait fraksiyonlama işlemi ve % enzim inhibisyon sonuçları (^a Absorbans okunamadı, ^b Etki gözlenmedi)



Şekil 4.4. CÇDT EtOAc fraksiyonunun BAYF işlemine ait genel şema

Çizelge 4.5. CÇDT EtOAc fraksiyonu, kolon kromatografisi (sabit faz: poliamit) ile fraksiyonlanmasıyla elde edilen alt fraksiyonların elastaz, kolajenaz ve TYR enzim inhibisyonları

Alt fraksiyon kodları	TYR Enzim İnhibisyonu (% İnhibisyon $\pm$ S.S. ^a)		Elastaz Enzim İnhibisyonu (% İnhibisyon $\pm$ S.S.)		Kolajenaz Enzim İnhibisyonu (% İnhibisyon $\pm$ S.S.)	
	133 $\mu\text{g/mL}^b$	666 $\mu\text{g/mL}$	133 $\mu\text{g/mL}$	666 $\mu\text{g/mL}$	133 $\mu\text{g/mL}$	666 $\mu\text{g/mL}$
Ana fraksiyon CÇDT EtOAc	37,86 $\pm$ 0,68	65,39 $\pm$ 1,08	12,37 $\pm$ 2,56	55,09 $\pm$ 2,38	15,98 $\pm$ 1,20	99,99 $\pm$ 0,01
PA 1-20	17,21 $\pm$ 0,42	34,07 $\pm$ 1,96	4,81 $\pm$ 0,46	9,35 $\pm$ 1,01	33,71 $\pm$ 3,00	31,66 $\pm$ 2,37
PA 21-29	27,52 $\pm$ 0,30	46,86 $\pm$ 2,07	11,69 $\pm$ 0,83	59,28 $\pm$ 1,95	17,94 $\pm$ 4,07	79,67 $\pm$ 2,88
PA 35-43	36,19 $\pm$ 1,24	45,82 $\pm$ 1,25	34,22 $\pm$ 1,38	91,41 $\pm$ 3,67	39,80 $\pm$ 2,42	91,38 $\pm$ 2,96
PA 44-68	20,72 $\pm$ 3,69	42,39 $\pm$ 1,69	- ^c	19,18 $\pm$ 0,91	90,61 $\pm$ 3,30	94,67 $\pm$ 3,01
Referans	87,17 $\pm$ 0,42 ^d		46,90 $\pm$ 3,66 ^e		44,64 $\pm$ 2,87 ^f	

^a Standart sapma, ^b Kuyucuktaki final konsantrasyon, ^c Etki gözlenmedi, ^d Kojik asit (133 $\mu\text{g/mL}$), ^e Oleanolik asit (1mM), ^f Epigallokateşin gallat (1mM)

Çizelge 4.6. Birleştirilen PA 30-34 ve PA 35-43 alt fraksiyonlarının MPLC ile fraksiyonlanmasıyla elde edilen alt fraksiyonların elastaz, kolajenaz ve TYR enzim inhibisyonları

Alt fraksiyon kodları	TYR Enzim İnhibisyonu (% İnhibisyon $\pm$ S.S. ^a)		Elastaz Enzim İnhibisyonu (% İnhibisyon $\pm$ S.S.)		Kollajenaz Enzim İnhibisyonu (% İnhibisyon $\pm$ S.S.)	
	133 $\mu\text{g/mL}^b$	666 $\mu\text{g/mL}$	133 $\mu\text{g/mL}$	666 $\mu\text{g/mL}$	133 $\mu\text{g/mL}$	666 $\mu\text{g/mL}$
Ana fraksiyon PA 30-43	36,19 $\pm$ 1,24	45,82 $\pm$ 1,25	34,22 $\pm$ 1,38	91,41 $\pm$ 3,67	39,80 $\pm$ 2,42	91,38 $\pm$ 2,96
RP 6-10	- ^c	14,79 $\pm$ 1,36	7,81 $\pm$ 0,90	15,57 $\pm$ 1,81	31,97 $\pm$ 0,70	86,18 $\pm$ 3,95
RP 34	30,92 $\pm$ 2,19	65,05 $\pm$ 3,50	44,52 $\pm$ 1,67	Absorbans okunamadı	-	99,99 $\pm$ 0,01
RP 36-37	26,74 $\pm$ 0,84	51,54 $\pm$ 0,36	32,97 $\pm$ 0,26	88,66 $\pm$ 1,19	-	99,99 $\pm$ 0,01
RP 45-47	7,47 $\pm$ 0,10	23,57 $\pm$ 0,43	36,56 $\pm$ 1,26	79,23 $\pm$ 1,09	-	5,15 $\pm$ 2,46
RP 48-53	8,01 $\pm$ 1,51	17,83 $\pm$ 2,51	19,91 $\pm$ 0,22	79,72 $\pm$ 2,77	27,54 $\pm$ 4,19	63,98 $\pm$ 4,08
Referans	92,70 $\pm$ 0,54 ^d		46,90 $\pm$ 3,66 ^e		44,64 $\pm$ 2,87 ^f	

^a Standart sapma, ^b Kuyucuktaki final konsantrasyon, ^c Etki gözlenmedi, ^d Kojik asit (133 $\mu\text{g/mL}$), ^e Oleanolik asit (1mM), ^f Epigallokateşin gallat (1mM)

4.3. Antioksidan Aktivite Tayinlerine Ait Bulgular

Tez gereçlerimizi teşkil eden bitkisel materyallerden hareketle hazırlanan etanol ekstralarının, Calendula® firmasından (Slovakya) temin edilen ekstraların ve propolisin 5 mg/mL stok konsantrasyonda DPPH, DMPD ve NO radikal süpürücü ile metal şelasyon etkilerine ait bulgular Çizelge 4.7.'de verilmektedir. Aynı materyallerin FRAP, PRAP ve CUPRAC deneylerine ait bulgular Çizelge 4.8.'de, toplam fenol ve toplam flavonoit miktar tayinlerine ait bulgular ise Çizelge 4.9.'da verilmektedir.

Çizelge 4.7. Etanol ekstrlerinin, Calendula® firmasından temin edilen ekstrelerin ve propolis'in 5 mg/mL konsantrasyonda DPPH, DMPD, NO radikal süpürücü ve metal şelasyon etkileri

Familiya	Bitki	Kısım	DPPH Serbest Radikal Süpürücü Etki (%Süpürme $\pm$ S.S. ^a)	DMPD Serbest Radikal Süpürücü Etki (%Süpürme $\pm$ S.S.)	NO Radikal Süpürücü Etki (%Süpürme $\pm$ S.S.)	Metal Şelasyon Etki (%Şelasyon $\pm$ S.S.)
Anacardiaceae	<i>Cotinus coggyria</i>	Pedisel (meyveli)	90,01 $\pm$ 0,71	16,03 $\pm$ 0,16 ^c	36,73 $\pm$ 2,96 ^c	7,17 $\pm$ 2,03 ^c
		Folia	86,47 $\pm$ 0,22**	- ^b	-	-
	<i>Pistacia vera</i>	Pericarpium	90,31 $\pm$ 0,93	57,98 $\pm$ 3,28 ^c	-	8,50 $\pm$ 1,60 ^c
Araliaceae	<i>Hedera helix</i>	Folia	83,69 $\pm$ 0,27 ^c	75,67 $\pm$ 1,43	51,32 $\pm$ 0,58 ^c	2,44 $\pm$ 0,51 ^c
Asteraceae	<i>Calendula arvensis</i>	Herba	12,67 $\pm$ 1,72 ^c	28,48 $\pm$ 0,01 ^c	5,73 $\pm$ 1,41 ^c	48,12 $\pm$ 3,50 ^c
	<i>Tripleurospermum oreades</i>	Herba	86,51 $\pm$ 1,13**	30,49 $\pm$ 2,54 ^c	28,82 $\pm$ 3,86 ^c	12,75 $\pm$ 0,67 ^c
Clusiaceae	<i>Garcinia mangostana</i>	Pericarpium	87,16 $\pm$ 0,45**	30,37 $\pm$ 2,76 ^c	57,17 $\pm$ 0,62 ^c	17,64 $\pm$ 3,96 ^c
Cupressaceae	<i>Cupressus sempervirens</i>	Folia	44,43 $\pm$ 2,20 ^c	-	39,68 $\pm$ 4,31 ^c	2,99 $\pm$ 0,17 ^c
Ericaceae	<i>Arbutus unedo</i>	Folia	90,38 $\pm$ 0,91	43,26 $\pm$ 3,51 ^c	86,28 $\pm$ 2,28	6,91 $\pm$ 1,45 ^c
		Fructus (olgunlaşmamış)	89,03 $\pm$ 0,27	55,50 $\pm$ 1,76 ^c	73,91 $\pm$ 3,35**	5,56 $\pm$ 0,85 ^c
Fabaceae	<i>Cassia sp.</i>	Folia	27,97 $\pm$ 1,97 ^c	-	47,70 $\pm$ 0,38 ^c	11,57 $\pm$ 0,36 ^c
Hippocastanaceae	<i>Aesculus hippocastanum</i>	Flos	73,38 $\pm$ 0,77 ^c	14,57 $\pm$ 1,90 ^c	65,09 $\pm$ 0,90 ^c	9,61 $\pm$ 1,89 ^c
		Folia	80,80 $\pm$ 0,41 ^c	30,04 $\pm$ 0,95 ^c	4,32 $\pm$ 1,85 ^c	-
		Pericarpium	89,65 $\pm$ 0,68	43,44 $\pm$ 1,76 ^c	73,39 $\pm$ 1,93**	3,68 $\pm$ 0,71 ^c
		Semen	89,69 $\pm$ 1,65	50,35 $\pm$ 2,51 ^c	63,87 $\pm$ 1,29 ^c	4,60 $\pm$ 0,41 ^c
Lamiaceae	<i>Lamium purpureum</i>	Herba	74,27 $\pm$ 3,98 ^c	51,91 $\pm$ 1,11 ^c	10,68 $\pm$ 0,58 ^c	12,71 $\pm$ 0,37 ^c
	<i>Lamium purpureum ssp. purpureum</i>	Herba	82,98 $\pm$ 0,37 ^c	26,79 $\pm$ 0,79 ^c	21,00 $\pm$ 3,40 ^c	10,86 $\pm$ 1,80 ^c
	<i>Origanum onites</i>	Herba	77,69 $\pm$ 2,53 ^c	-	56,54 $\pm$ 3,49 ^c	5,34 $\pm$ 1,72 ^c
	<i>Rosmarinus officinalis</i>	Herba (BATEM)	91,63 $\pm$ 0,16	11,28 $\pm$ 3,37 ^c	79,67 $\pm$ 0,65	6,43 $\pm$ 0,76 ^c
		Herba (Kıbrıs)	92,02 $\pm$ 0,05	20,28 $\pm$ 0,77 ^c	76,84 $\pm$ 2,58	6,09 $\pm$ 1,55 ^c
	<i>Salvia fruticosa</i>	Herba	88,92 $\pm$ 3,27	-	79,78 $\pm$ 3,00	12,73 $\pm$ 0,11 ^c

Çizelge 4.7. (devam) Etanol ekstrlerinin, Calendula® firmasından temin edilen ekstrelerin ve propolis'in 5 mg/mL konsantrasyonda DPPH, DMPD, NO radikal süpürücü ve metal şelasyon etkileri

Familya	Bitki	Kısım	DPPH Serbest Radikal Süpürücü Etki (%Süpürme $\pm$ S.S. ^a)	DMPD Serbest Radikal Süpürücü Etki (%Süpürme $\pm$ S.S.)	NO Radikal Süpürücü Etki (%Süpürme $\pm$ S.S.)	Metal Şelasyon Etki (%Şelasyon $\pm$ S.S.)
Lauraceae	<i>Cinnamomum cassia</i>	Cortex	73,34 $\pm$ 5,26 ^c	-	85,12 $\pm$ 1,33	-
	<i>Laurus nobilis</i>	Folia	58,08 $\pm$ 1,64 ^c	-	9,01 $\pm$ 0,78 ^c	-
		Gemmae	64,40 $\pm$ 2,69 ^c	-	3,59 $\pm$ 0,36 ^c	30,99 $\pm$ 1,46 ^c
	<i>Persea americana</i>	Folia	87,72 $\pm$ 0,74	-	13,31 $\pm$ 0,01 ^c	-
		Fructus	4,68 $\pm$ 0,93 ^c	-	-	66,27 $\pm$ 0,49 ^c
		Pericarpium	28,96 $\pm$ 2,08 ^c	-	4,94 $\pm$ 1,21 ^c	11,94 $\pm$ 3,58 ^c
		Semen	92,07 $\pm$ 0,26	-	-	14,06 $\pm$ 3,40 ^c
Liliaceae	<i>Aloe vera</i>	Folia	-	51,74 $\pm$ 0,15 ^c	66,01 $\pm$ 1,94 ^c	81,93 $\pm$ 0,27 ^c
Moraceae	<i>Ficus carica</i>	Folia	23,55 $\pm$ 1,68 ^c	45,29 $\pm$ 3,17 ^c	29,91 $\pm$ 3,99 ^c	2,48 $\pm$ 0,71 ^c
	<i>Maclura pomifera</i>	Folia	43,72 $\pm$ 1,11 ^c	-	-	-
		Fructus	76,87 $\pm$ 1,09 ^c	29,61 $\pm$ 1,25 ^c	45,29 $\pm$ 1,54 ^c	32,61 $\pm$ 1,05 ^c
Oleaceae	<i>Olea europaea</i>	Cortex	90,81 $\pm$ 1,70	24,73 $\pm$ 3,37 ^c	58,65 $\pm$ 0,52 ^c	17,25 $\pm$ 1,88 ^c
		Folia (Denizli)	91,36 $\pm$ 0,05	40,13 $\pm$ 1,23 ^c	83,43 $\pm$ 1,93	-
		Folia (Kıbrıs)	90,48 $\pm$ 1,04	24,08 $\pm$ 2,15 ^c	78,18 $\pm$ 1,32	2,29 $\pm$ 0,88 ^c
Passifloraceae	<i>Passiflora incarnata</i>	Herba	56,81 $\pm$ 0,39 ^c	23,58 $\pm$ 4,26 ^c	69,59 $\pm$ 1,84 ^c	91,27 $\pm$ 0,89**
		Flos	24,47 $\pm$ 1,92 ^c	-	45,71 $\pm$ 1,04 ^c	34,75 $\pm$ 3,45 ^c
		Fructus	11,11 $\pm$ 0,62 ^c	49,47 $\pm$ 0,25 ^c	52,55 $\pm$ 2,39 ^c	74,06 $\pm$ 3,12 ^c
Portulacaceae	<i>Portulaca oleracea</i>	Herba	42,51 $\pm$ 0,54 ^c	38,90 $\pm$ 0,48 ^c	42,91 $\pm$ 0,77 ^c	67,26 $\pm$ 1,95 ^c
Primulaceae	<i>Primula vulgaris</i> ssp. <i>vulgaris</i>	Herba	24,23 $\pm$ 1,48 ^c	19,62 $\pm$ 0,79 ^c	26,05 $\pm$ 2,64 ^c	32,04 $\pm$ 0,48 ^c
Punicaceae	<i>Punica granatum</i>	Flos	88,09 $\pm$ 0,60	28,19 $\pm$ 0,25 ^c	86,10 $\pm$ 0,92*	20,18 $\pm$ 3,51 ^c
		Pericarpium	91,85 $\pm$ 0,05	60,30 $\pm$ 0,31 ^c	66,39 $\pm$ 1,00 ^c	8,70 $\pm$ 0,93 ^c
		Semen	69,14 $\pm$ 2,59 ^c	47,52 $\pm$ 3,01 ^c	13,81 $\pm$ 2,69 ^c	-
Rosaceae	<i>Crataegus monogyna</i> ssp. <i>monogyna</i>	Flos	78,55 $\pm$ 3,31 ^c	16,26 $\pm$ 1,43 ^c	78,05 $\pm$ 1,48	6,43 $\pm$ 2,16 ^c
		Folia	59,03 $\pm$ 3,38 ^c	30,72 $\pm$ 1,59 ^c	75,00 $\pm$ 4,24**	-
		Fructus	70,99 $\pm$ 2,67 ^c	23,54 $\pm$ 0,01 ^c	67,45 $\pm$ 1,03 ^c	-
	<i>Crataegus szovitsii</i>	Flos	67,95 $\pm$ 3,65 ^c	6,61 $\pm$ 1,11 ^c	66,86 $\pm$ 0,19 ^c	2,93 $\pm$ 0,54 ^c
		Folia	86,87 $\pm$ 0,06*	41,48 $\pm$ 3,81 ^c	79,14 $\pm$ 1,09	6,24 $\pm$ 0,63 ^c

Çizelge 4.7. (devam) Etanol ekstrlerinin, Calendula® firmasından temin edilen ekstrelerin ve propolis'in 5 mg/mL konsantrasyonda DPPH, DMPD, NO radikal süpürücü ve metal şelasyon etkileri

Familiya	Bitki	Kısım	DPPH Serbest Radikal Süpürücü Etki (%Süpürme $\pm$ S.S. ^a)	DMPD Serbest Radikal Süpürücü Etki (%Süpürme $\pm$ S.S.)	NO Radikal Süpürücü Etki (%Süpürme $\pm$ S.S.)	Metal Şelasyon Etki (%Şelasyon $\pm$ S.S.)
Rosaceae	<i>Malus sp.</i>	Pericarpium (Kırmızı)	17,91 $\pm$ 1,48 ^c	15,29 $\pm$ 2,91 ^c	46,37 $\pm$ 2,78 ^c	5,93 $\pm$ 0,21 ^c
		Pericarpium (Yeşil)	6,75 $\pm$ 1,08 ^c	23,97 $\pm$ 0,77 ^c	31,80 $\pm$ 0,06 ^c	30,95 $\pm$ 1,89 ^c
	<i>Rosa canina</i>	Stipites	87,69 $\pm$ 2,60 ^c	10,31 $\pm$ 1,90 ^c	75,82 $\pm$ 0,26*	11,92 $\pm$ 1,88 ^c
		Fructus	44,12 $\pm$ 1,81 ^c	65,60 $\pm$ 2,51 ^c	49,85 $\pm$ 2,32 ^c	13,17 $\pm$ 0,70 ^c
	<i>Rosa sp.</i>	Fructus (Bursa)	36,08 $\pm$ 1,13 ^c	31,95 $\pm$ 2,06 ^c	56,09 $\pm$ 3,09 ^c	13,94 $\pm$ 0,36 ^c
		Fructus (Tunceli)	19,95 $\pm$ 2,39 ^c	21,52 $\pm$ 0,32 ^c	48,27 $\pm$ 1,54 ^c	3,56 $\pm$ 1,71 ^c
Rutaceae	<i>Citrus aurantium</i>	Albedo	3,31 $\pm$ 0,24 ^c	17,96 $\pm$ 1,42 ^c	73,75 $\pm$ 1,92**	-
		Flavedo	6,24 $\pm$ 2,37 ^c	7,57 $\pm$ 1,91 ^c	72,02 $\pm$ 1,89***	-
		Folia	11,85 $\pm$ 0,41 ^c	-	53,21 $\pm$ 2,89 ^c	10,94 $\pm$ 0,21 ^c
	<i>Citrus deliciosa</i>	Flavedo	-	-	48,22 $\pm$ 3,78 ^c	-
	<i>Citrus limon</i> cv. İnterdonato	Albedo	-	7,09 $\pm$ 1,42 ^c	52,05 $\pm$ 2,48 ^c	-
		Flavedo	-	4,02 $\pm$ 0,57 ^c	53,49 $\pm$ 3,59 ^c	-
	<i>Citrus limon</i> cv. Kara limon	Albedo	-	5,46 $\pm$ 2,74 ^c	38,92 $\pm$ 2,83 ^c	-
		Flavedo	-	3,26 $\pm$ 1,28 ^c	57,38 $\pm$ 1,86 ^c	-
	<i>Citrus limon</i> cv. Kıbrıs	Albedo	-	4,60 $\pm$ 2,01 ^c	55,82 $\pm$ 0,74 ^c	-
		Flavedo	-	-	35,47 $\pm$ 1,81 ^c	-
	<i>Citrus maxima</i>	Albedo	-	2,44 $\pm$ 0,61 ^c	69,68 $\pm$ 3,96 ^c	-
		Flavedo	-	6,90 $\pm$ 1,25 ^c	61,93 $\pm$ 3,07 ^c	-
		Semen	5,47 $\pm$ 0,38 ^c	-	41,57 $\pm$ 3,20 ^c	-
	<i>Citrus paradisi</i> var. Henderson	Albedo	-	10,06 $\pm$ 0,81 ^c	79,54 $\pm$ 0,42	-
		Flavedo	-	2,16 $\pm$ 1,06 ^c	69,05 $\pm$ 1,90 ^c	-
	<i>Citrus paradisi</i> var. Red blush	Albedo	-	8,91 $\pm$ 1,60 ^c	79,76 $\pm$ 0,58	-
		Flavedo	-	3,45 $\pm$ 1,72 ^c	77,77 $\pm$ 1,34	-
	<i>Citrus paradisi</i> var. Star ruby	Albedo	-	8,33 $\pm$ 1,15 ^c	76,04 $\pm$ 1,15	-
		Flavedo	-	3,54 $\pm$ 2,23 ^c	74,62 $\pm$ 0,40*	-
	<i>Citrus reticulata</i> -Lee	Flavedo	-	-	51,88 $\pm$ 0,66 ^c	-

Çizelge 4.7. (devam) Etanol ekstrlerinin, Calendula® firmasından temin edilen ekstrelerin ve propolis'in 5 mg/mL konsantrasyonda DPPH, DMPD, NO radikal süpürücü ve metal şelasyon etkileri

Familiya	Bitki	Kısım	DPPH Serbest Radikal Süpürücü Etki (%Süpürme ± S.S. ^a)	DMPD Serbest Radikal Süpürücü Etki (%Süpürme ± S.S.)	NO Radikal Süpürücü Etki (%Süpürme ± S.S.)	Metal Şelasyon Etki (%Şelasyon ± S.S.)
Rutaceae	<i>Citrus reticulata</i> -Nova	Flavedo	5,07 ± 0,30 ^c	-	42,71 ± 2,32 ^c	-
	<i>Citrus reticulata</i> Blanco × <i>Citrus paradisi</i>	Flavedo	-	12,36 ± 1,04 ^c	62,11 ± 2,21 ^c	-
	<i>Citrus sinensis</i> cv. Navelina	Albedo	-	4,31 ± 1,04 ^c	48,99 ± 1,14 ^c	-
		Flavedo	-	-	44,39 ± 1,75 ^c	-
	<i>Citrus sinensis</i> cv. Shamouti	Albedo	-	3,07 ± 0,83 ^c	56,31 ± 3,80 ^c	-
		Flavedo	-	-	45,79 ± 0,57 ^c	12,61 ± 0,33 ^c
	<i>Citrus sinensis</i> cv. Valencia late	Albedo	-	6,03 ± 1,44 ^c	59,06 ± 3,00 ^c	-
		Flavedo	-	-	58,50 ± 0,60 ^c	-
	<i>Citrus sinensis</i> cv. Washington navel	Albedo	-	2,49 ± 0,17 ^c	64,16 ± 2,90 ^c	-
		Flavedo	-	-	58,92 ± 1,64 ^c	-
	<i>Citrus japonica</i>	Flavedo	-	-	29,31 ± 1,72 ^c	-
Salicaceae	<i>Salix alba</i>	Stipites	85,87 ± 0,21***	-	47,68 ± 0,74 ^c	7,13 ± 3,60 ^c
Scrophulariaceae	<i>Verbascum insulare</i>	Flos	14,38 ± 1,66 ^c	26,01 ± 0,32 ^c	52,50 ± 1,35 ^c	2,13 ± 0,41 ^c
		Folia	26,09 ± 1,56 ^c	21,64 ± 3,33 ^c	28,36 ± 1,16 ^c	-
	<i>Veronica thymoides</i> ssp. <i>pseudocinerea</i>	Herba	89,19 ± 0,39	59,75 ± 1,11 ^c	57,32 ± 2,38 ^c	2,99 ± 0,67 ^c
Theaceae	<i>Camellia sinensis</i>	Folia (Siyah)	83,44 ± 0,82 ^c	29,26 ± 2,06 ^c	18,82 ± 0,51 ^c	2,26 ± 0,84 ^c
		Folia (Yeşil)	88,83 ± 0,22	27,24 ± 0,79 ^c	49,59 ± 2,39 ^c	-
Vitaceae	<i>Vitis vinifera</i>	Semen	90,45 ± 0,38	50,53 ± 5,77 ^c	73,11 ± 1,19***	-
Zingiberaceae	<i>Curcuma longa</i>	Rhizoma	81,76 ± 1,71 ^c	-	-	25,25 ± 2,85 ^c
	<i>Propolis</i>		85,77 ± 0,80***	-	-	3,54 ± 0,10 ^c
CALENDULA®	<i>Aesculus hippocastanum</i>	Semen	-	57,70 ± 1,84 ^c	30,96 ± 1,91 ^c	19,8 ± 2,53 ^c
	<i>Arctium lappa</i>	Radix	-	17,46 ± 0,77 ^c	32,30 ± 3,65 ^c	8,34 ± 2,28 ^c
	<i>Betula pendula</i>	Folia	79,35 ± 3,10 ^c	47,61 ± 1,69 ^c	81,53 ± 1,96	33,54 ± 3,59 ^c
	<i>Rosa canina</i>	Fructus	-	80,48 ± 0,31	67,55 ± 1,81 ^c	19,40 ± 3,87 ^c
	<i>Urtica dioica</i>	Radix	-	65,73 ± 1,23 ^c	52,52 ± 3,53 ^c	63,96 ± 0,67 ^c
	<i>Vaccinium myrtillus</i>	Fructus	68,92 ± 3,96 ^c	69,96 ± 0,15***	75,04 ± 0,91**	40,62 ± 0,50 ^c

Çizelge 4.7. (devam) Etanol ekstrlerinin, Calendula® firmasından temin edilen ekstrelerin ve propolis'in 5 mg/mL konsantrasyonda DPPH, DMPD, NO radikal süpürücü ve metal şelasyon etkileri

		DPPH Serbest Radikal Süpürücü Etki (%Süpürme $\pm$ S.S. ^a)	DMPD Serbest Radikal Süpürücü Etki (%Süpürme $\pm$ S.S.)	NO Radikal Süpürücü Etki (%Süpürme $\pm$ S.S.)	Metal Şelasyon Etki (%Şelasyon $\pm$ S.S.)
Referans	Kersetin (1 mg/mL)	91,96 $\pm$ 0,08	§	§	§
	Askorbik asit (2 mg/mL)	§	77,64 $\pm$ 1,27	81,18 $\pm$ 1,53	§
	EDTA (2 mg/mL)	§	§	§	97,14 $\pm$ 0,06
	Bütilhidroksianisol (BHA) (1 mg/mL)	91,32 $\pm$ 0,23	39,36 $\pm$ 2,51	-	2,62 $\pm$ 1,00

^a Standart sapma, ^b Etki gözlenmedi, § Denenmedi, ^c **** (p<0,0001), * p<0,05, ** p<0,01, *** p<0,001

Çizelge 4.8. Etanol ekstrlerinin, Calendula® firmasından temin edilen ekstrelerin ve propolis'in 5 mg/mL konsantrasyonda FRAP, PRAP, CUPRAC deneylerine ait bulgular

Familiya	Bitki	Kısım	FRAP (Absorbans $\pm$ S.S. ^a)	PRAP (Absorbans $\pm$ S.S.)	CUPRAC (Absorbans $\pm$ S.S.)
Anacardiaceae	<i>Cotinus coggyria</i>	Pedisel (meyveli)	2,151 $\pm$ 0,057	0,278 $\pm$ 0,023 ^b	1,689 $\pm$ 0,260 ^b
		Folia	2,173 $\pm$ 0,026	0,490 $\pm$ 0,017	1,643 $\pm$ 0,134 ^b
	<i>Pistacia vera</i>	Pericarpium	2,441 $\pm$ 0,054 ^b	0,495 $\pm$ 0,005	1,642 $\pm$ 0,034 ^b
Araliaceae	<i>Hedera helix</i>	Folia	1,108 $\pm$ 0,097 ^b	0,333 $\pm$ 0,013 ^b	1,794 $\pm$ 0,092 ^b
Asteraceae	<i>Calendula arvensis</i>	Herba	0,456 $\pm$ 0,016 ^b	0,232 $\pm$ 0,009 ^b	0,329 $\pm$ 0,045 ^b
	<i>Tripleurospermum oreades</i>	Herba	1,388 $\pm$ 0,099 ^b	0,256 $\pm$ 0,043 ^b	1,961 $\pm$ 0,043 ^b
Clusiaceae	<i>Garcinia mangostana</i>	Pericarpium	2,322 $\pm$ 0,054 ^b	0,844 $\pm$ 0,009 ^b	1,226 $\pm$ 0,038 ^b
Cupressaceae	<i>Cupressus sempervirens</i>	Folia	0,782 $\pm$ 0,024 ^b	0,301 $\pm$ 0,007 ^b	0,839 $\pm$ 0,017 ^b
Ericaceae	<i>Arbutus unedo</i>	Folia	1,926 $\pm$ 0,026	0,391 $\pm$ 0,013 ^b	2,499 $\pm$ 0,136**
		Fructus (olgunlaşmamış)	1,316 $\pm$ 0,044 ^b	0,366 $\pm$ 0,007 ^b	1,678 $\pm$ 0,013 ^b
Fabaceae	<i>Cassia sp.</i>	Folia	0,815 $\pm$ 0,018 ^b	0,546 $\pm$ 0,023	0,651 $\pm$ 0,058 ^b
Hippocastanaceae	<i>Aesculus hippocastanum</i>	Flos	0,952 $\pm$ 0,058 ^b	0,213 $\pm$ 0,006 ^b	1,770 $\pm$ 0,099 ^b
		Folia	2,176 $\pm$ 0,057	0,615 $\pm$ 0,020 ^b	2,314 $\pm$ 0,094 ^b
		Pericarpium	2,022 $\pm$ 0,060	0,640 $\pm$ 0,012 ^b	2,541 $\pm$ 0,033*
		Semen	1,892 $\pm$ 0,058*	0,566 $\pm$ 0,023*	1,613 $\pm$ 0,065 ^b

Çizelge 4.8. (devam) Etanol ekstrlerinin, Calendula® firmasından temin edilen ekstrelerin ve propolis'in 5 mg/mL konsantrasyonda FRAP, PRAP, CUPRAC deneylerine ait bulgular

Familya	Bitki	Kısım	FRAP (Absorbans $\pm$ S.S. ^a)	PRAP (Absorbans $\pm$ S.S.)	CUPRAC (Absorbans $\pm$ S.S.)
Lamiaceae	<i>Lamium purpureum</i>	Herba	1,104 $\pm$ 0,059 ^b	0,300 $\pm$ 0,018 ^b	1,702 $\pm$ 0,115 ^b
	<i>Lamium purpureum</i> ssp. <i>purpureum</i>	Herba	1,551 $\pm$ 0,060 ^b	0,410 $\pm$ 0,002 ^b	2,011 $\pm$ 0,005 ^b
	<i>Origanum onites</i>	Herba	1,285 $\pm$ 0,078 ^b	0,431 $\pm$ 0,003***	1,880 $\pm$ 0,051 ^b
	<i>Rosmarinus officinalis</i>	Herba (BATEM)	2,031 $\pm$ 0,038	0,471 $\pm$ 0,002	1,961 $\pm$ 0,087 ^b
		Herba (Kıbrıs)	2,077 $\pm$ 0,021	0,640 $\pm$ 0,016 ^b	2,127 $\pm$ 0,071 ^b
	<i>Salvia fruticosa</i>	Herba	1,139 $\pm$ 0,097 ^b	0,322 $\pm$ 0,005 ^b	1,907 $\pm$ 0,045 ^b
Lauraceae	<i>Cinnamomum cassia</i>	Cortex	0,748 $\pm$ 0,021 ^b	0,603 $\pm$ 0,052 ^b	1,514 $\pm$ 0,098 ^b
	<i>Laurus nobilis</i>	Folia	0,852 $\pm$ 0,024 ^b	0,412 $\pm$ 0,010 ^b	1,112 $\pm$ 0,078 ^b
		Gemmae	0,965 $\pm$ 0,144 ^b	0,320 $\pm$ 0,010 ^b	1,629 $\pm$ 0,044 ^b
	<i>Persea americana</i>	Folia	1,183 $\pm$ 0,104 ^b	0,393 $\pm$ 0,016 ^b	1,273 $\pm$ 0,072 ^b
		Fructus	0,501 $\pm$ 0,018 ^b	0,171 $\pm$ 0,003 ^b	0,149 $\pm$ 0,018 ^b
		Pericarpium	0,803 $\pm$ 0,068 ^b	0,210 $\pm$ 0,004 ^b	0,613 $\pm$ 0,033 ^b
		Semen	2,268 $\pm$ 0,033**	0,424 $\pm$ 0,007 ^b	1,602 $\pm$ 0,095 ^b
Liliaceae	<i>Aloe vera</i>	Folia	0,452 $\pm$ 0,024 ^b	0,366 $\pm$ 0,017 ^b	0,693 $\pm$ 0,022 ^b
Moraceae	<i>Ficus carica</i>	Folia	0,513 $\pm$ 0,018 ^b	0,323 $\pm$ 0,010 ^b	0,510 $\pm$ 0,008 ^b
	<i>Maclura pomifera</i>	Folia	0,843 $\pm$ 0,017 ^b	0,438 $\pm$ 0,015 ^b	0,126 $\pm$ 0,007 ^b
		Fructus	0,640 $\pm$ 0,002 ^b	0,245 $\pm$ 0,031 ^b	0,924 $\pm$ 0,063 ^b
Oleaceae	<i>Olea europaea</i>	Cortex	1,971 $\pm$ 0,096	0,346 $\pm$ 0,013 ^b	2,012 $\pm$ 0,074 ^b
		Folia (Denizli)	2,098 $\pm$ 0,016	0,323 $\pm$ 0,018 ^b	2,333 $\pm$ 0,090 ^b
		Folia (Kıbrıs)	1,934 $\pm$ 0,056**	0,254 $\pm$ 0,011 ^b	1,977 $\pm$ 0,038 ^b
Passifloraceae	<i>Passiflora incarnata</i>	Herba	0,616 $\pm$ 0,014 ^b	0,275 $\pm$ 0,006 ^b	0,997 $\pm$ 0,006 ^b
		Flos	0,446 $\pm$ 0,013 ^b	0,239 $\pm$ 0,008 ^b	0,389 $\pm$ 0,031 ^b
		Fructus	0,244 $\pm$ 0,010 ^b	0,211 $\pm$ 0,004 ^b	0,216 $\pm$ 0,020 ^b
Portulacaceae	<i>Portulaca oleracea</i>	Herba	0,818 $\pm$ 0,010 ^b	0,358 $\pm$ 0,030 ^b	1,275 $\pm$ 0,018 ^b
Primulaceae	<i>Primula vulgaris</i> ssp. <i>vulgaris</i>	Herba	0,650 $\pm$ 0,014 ^b	0,301 $\pm$ 0,002 ^b	0,589 $\pm$ 0,029 ^b
Punicaceae	<i>Punica granatum</i>	Flos	2,118 $\pm$ 0,036	0,324 $\pm$ 0,009 ^b	1,748 $\pm$ 0,062 ^b
		Pericarpium	2,100 $\pm$ 0,002	0,279 $\pm$ 0,008 ^b	1,813 $\pm$ 0,021 ^b
		Semen	0,991 $\pm$ 0,033 ^b	0,379 $\pm$ 0,001 ^b	1,081 $\pm$ 0,080 ^b

Çizelge 4.8. (devam) Etanol ekstrlerinin, Calendula® firmasından temin edilen ekstrelerin ve propolis'in 5 mg/mL konsantrasyonda FRAP, PRAP, CUPRAC deneylerine ait bulgular

Familiya	Bitki	Kısım	FRAP (Absorbans $\pm$ S.S. ^a)	PRAP (Absorbans $\pm$ S.S.)	CUPRAC (Absorbans $\pm$ S.S.)
Rosaceae	<i>Crataegus monogyna</i> ssp. <i>monogyna</i>	Flos	1,110 $\pm$ 0,072 ^b	0,229 $\pm$ 0,004 ^b	1,868 $\pm$ 0,135 ^b
		Folia	0,796 $\pm$ 0,013 ^b	0,373 $\pm$ 0,010 ^b	1,470 $\pm$ 0,144 ^b
		Fructus	0,879 $\pm$ 0,066 ^b	0,246 $\pm$ 0,022 ^b	1,675 $\pm$ 0,091 ^b
	<i>Crataegus szovitsii</i>	Flos	0,953 $\pm$ 0,080 ^b	0,227 $\pm$ 0,008 ^b	1,772 $\pm$ 0,147 ^b
		Folia	1,553 $\pm$ 0,071 ^b	0,341 $\pm$ 0,005 ^b	2,061 $\pm$ 0,029 ^b
	<i>Malus</i> sp.	Pericarpium (Kırmızı)	0,414 $\pm$ 0,014 ^b	0,206 $\pm$ 0,008 ^b	0,541 $\pm$ 0,017 ^b
		Pericarpium (Yeşil)	0,320 $\pm$ 0,040 ^b	0,207 $\pm$ 0,004 ^b	0,240 $\pm$ 0,015 ^b
	<i>Rosa canina</i>	Stipites	2,100 $\pm$ 0,058	0,610 $\pm$ 0,043 ^b	2,283 $\pm$ 0,059 ^b
		Fructus	0,566 $\pm$ 0,028 ^b	0,276 $\pm$ 0,005 ^b	1,078 $\pm$ 0,007 ^b
	<i>Rosa</i> sp.	Fructus (Bursa)	0,560 $\pm$ 0,019 ^b	0,218 $\pm$ 0,009 ^b	0,913 $\pm$ 0,001 ^b
		Fructus (Tunceli)	0,394 $\pm$ 0,015 ^b	0,197 $\pm$ 0,001 ^b	0,612 $\pm$ 0,003 ^b
Rutaceae	<i>Citrus aurantium</i>	Albedo	0,466 $\pm$ 0,035 ^b	0,163 $\pm$ 0,011 ^b	1,449 $\pm$ 0,046 ^b
		Flavedo	0,514 $\pm$ 0,023 ^b	0,164 $\pm$ 0,013 ^b	1,473 $\pm$ 0,016 ^b
		Folia	0,767 $\pm$ 0,043 ^b	0,383 $\pm$ 0,014 ^b	0,917 $\pm$ 0,009 ^b
	<i>Citrus deliciosa</i>	Flavedo	0,291 $\pm$ 0,009 ^b	0,124 $\pm$ 0,004 ^b	0,526 $\pm$ 0,025 ^b
		Albedo	0,471 $\pm$ 0,005 ^b	0,121 $\pm$ 0,005 ^b	1,164 $\pm$ 0,065 ^b
	<i>Citrus limon</i> cv. Interdonato	Flavedo	0,378 $\pm$ 0,001 ^b	0,120 $\pm$ 0,006 ^b	0,758 $\pm$ 0,021 ^b
		Albedo	0,468 $\pm$ 0,009 ^b	0,139 $\pm$ 0,003 ^b	1,059 $\pm$ 0,057 ^b
	<i>Citrus limon</i> cv. Kara limon	Flavedo	0,468 $\pm$ 0,004 ^b	0,122 $\pm$ 0,003 ^b	0,996 $\pm$ 0,042 ^b
		Albedo	0,313 $\pm$ 0,014 ^b	0,108 $\pm$ 0,005 ^b	0,642 $\pm$ 0,012 ^b
	<i>Citrus limon</i> cv. Kıbrıs	Flavedo	0,443 $\pm$ 0,007 ^b	0,159 $\pm$ 0,016 ^b	0,908 $\pm$ 0,044 ^b
		Albedo	0,242 $\pm$ 0,010 ^b	0,117 $\pm$ 0,004 ^b	0,376 $\pm$ 0,022 ^b
	<i>Citrus maxima</i>	Flavedo	0,314 $\pm$ 0,004 ^b	0,131 $\pm$ 0,004 ^b	0,537 $\pm$ 0,048 ^b
		Semen	0,512 $\pm$ 0,025 ^b	0,154 $\pm$ 0,004 ^b	0,580 $\pm$ 0,016 ^b
		Albedo	0,309 $\pm$ 0,004 ^b	0,154 $\pm$ 0,008 ^b	0,574 $\pm$ 0,061 ^b
	<i>Citrus paradisi</i> var. Henderson	Flavedo	0,299 $\pm$ 0,027 ^b	0,128 $\pm$ 0,008 ^b	0,472 $\pm$ 0,025 ^b
		Albedo	0,281 $\pm$ 0,007 ^b	0,108 $\pm$ 0,003 ^b	0,602 $\pm$ 0,055 ^b
	<i>Citrus paradisi</i> var. Red blush	Flavedo	0,320 $\pm$ 0,024 ^b	0,125 $\pm$ 0,004 ^b	0,555 $\pm$ 0,044 ^b
		Albedo	0,299 $\pm$ 0,014 ^b	0,112 $\pm$ 0,006 ^b	0,603 $\pm$ 0,015 ^b
	<i>Citrus paradisi</i> var. Star ruby	Flavedo	0,284 $\pm$ 0,006 ^b	0,111 $\pm$ 0,006 ^b	0,592 $\pm$ 0,020 ^b
		Albedo			

Çizelge 4.8. (devam) Etanol ekstrlerinin, Calendula® firmasından temin edilen ekstrelerin ve propolis'in 5 mg/mL konsantrasyonda FRAP, PRAP, CUPRAC deneylerine ait bulgular

Familya	Bitki	Kısım	FRAP (Absorbans ± S.S. ^a)	PRAP (Absorbans ± S.S.)	CUPRAC (Absorbans ± S.S.)
Rutaceae	<i>Citrus reticulata</i> -Lee	Flavedo	0,367 ± 0,020 ^b	0,172 ± 0,004 ^b	0,538 ± 0,025 ^b
	<i>Citrus reticulata</i> -Nova	Flavedo	0,351 ± 0,008 ^b	0,208 ± 0,004 ^b	0,758 ± 0,021 ^b
	<i>Citrus reticulata</i> Blanco × <i>Citrus paradisi</i>	Flavedo	0,320 ± 0,002 ^b	0,122 ± 0,008 ^b	0,760 ± 0,030 ^b
	<i>Citrus sinensis</i> cv. Navelina	Albedo	0,256 ± 0,001 ^b	0,117 ± 0,002 ^b	0,516 ± 0,024 ^b
		Flavedo	0,309 ± 0,001 ^b	0,149 ± 0,010 ^b	0,567 ± 0,016 ^b
	<i>Citrus sinensis</i> cv. Shamouti	Albedo	0,251 ± 0,008 ^b	0,104 ± 0,005 ^b	0,596 ± 0,029 ^b
		Flavedo	0,208 ± 0,007 ^b	0,106 ± 0,002 ^b	0,426 ± 0,020 ^b
	<i>Citrus sinensis</i> cv. Valencia late	Albedo	0,276 ± 0,003 ^b	0,131 ± 0,007 ^b	0,588 ± 0,017 ^b
		Flavedo	0,291 ± 0,007 ^b	0,142 ± 0,005 ^b	0,550 ± 0,018 ^b
	<i>Citrus sinensis</i> cv. Washington navel	Albedo	0,264 ± 0,023 ^b	0,157 ± 0,051 ^b	0,541 ± 0,071 ^b
		Flavedo	0,297 ± 0,007 ^b	0,141 ± 0,002 ^b	0,550 ± 0,033 ^b
	<i>Citrus japonica</i>	Flavedo	0,190 ± 0,014 ^b	0,101 ± 0,003 ^b	0,140 ± 0,078 ^b
Salicaceae	<i>Salix alba</i>	Stipites	1,418 ± 0,019 ^b	0,341 ± 0,013 ^b	2,008 ± 0,207 ^b
Scrophulariaceae	<i>Verbascum insulare</i>	Flos	0,368 ± 0,025 ^b	0,433 ± 0,032 ^{**}	0,520 ± 0,009 ^b
		Folia	0,571 ± 0,020 ^b	0,348 ± 0,011 ^b	1,071 ± 0,001 ^b
	<i>Veronica thymoides</i> ssp. <i>pseudocinerea</i>	Herba	1,985 ± 0,012	0,254 ± 0,006 ^b	2,217 ± 0,012 ^b
Theaceae	<i>Camellia sinensis</i>	Folia (Siyah)	2,115 ± 0,047	0,581 ± 0,036 ^{**}	1,566 ± 0,015 ^b
		Folia (Yeşil)	2,200 ± 0,019 ^{**}	0,632 ± 0,011 ^b	2,033 ± 0,013 ^b
Vitaceae	<i>Vitis vinifera</i>	Semen	2,361 ± 0,006 ^b	0,550 ± 0,010	1,807 ± 0,146 ^b
Zingiberaceae	<i>Curcuma longa</i>	Rhizoma	1,171 ± 0,105 ^b	0,477 ± 0,026	0,986 ± 0,034 ^b
	<i>Propolis</i>		2,786 ± 0,032 ^b	0,428 ± 0,001 ^{**}	1,598 ± 0,025 ^b
CALENDULA®	<i>Aesculus hippocastanum</i>	Semen	0,420 ± 0,015 ^b	0,440 ± 0,030 [*]	0,699 ± 0,029 ^b
	<i>Arctium lappa</i>	Radix	0,470 ± 0,035 ^b	0,288 ± 0,092 ^b	0,592 ± 0,055 ^b
	<i>Betula pendula</i>	Folia	2,062 ± 0,081	0,507 ± 0,057	2,134 ± 0,020 ^b
	<i>Rosa canina</i>	Fructus	2,051 ± 0,038	0,823 ± 0,006 ^b	1,911 ± 0,006 ^b
	<i>Urtica dioica</i>	Radix	0,515 ± 0,023 ^b	0,361 ± 0,051 ^b	0,548 ± 0,062 ^b
	<i>Vaccinium myrtillus</i>	Fructus	1,448 ± 0,029 ^b	0,534 ± 0,004	1,976 ± 0,009 ^b

Çizelge 4.8. (devam) Etanol ekstrlerinin, Calendula® firmasından temin edilen ekstrelerin ve propolis'in 5 mg/mL konsantrasyonda FRAP, PRAP, CUPRAC deneylerine ait bulgular

		FRAP (Absorbans $\pm$ S.S. ^a)	PRAP (Absorbans $\pm$ S.S.)	CUPRAC (Absorbans $\pm$ S.S.)
Referans	Kersetin (1 mg/mL)	2,061 $\pm$ 0,049	0,509 $\pm$ 0,011	§
	Gallik asit (1 mg/mL)	§	§	2,764 $\pm$ 0,106
	BHA (1 mg/mL)	2,306 $\pm$ 0,023	0,245 $\pm$ 0,011	2,251 $\pm$ 0,038

^a Standart sapma, § Denenmedi, ^b **** (p<0,0001), * p<0,05, ** p<0,01, *** p<0,001

Çizelge 4.9. Etanol ekstrlerinin, Calendula® firmasından temin edilen ekstrelerin ve propolis'in toplam fenol ve toplam flavonoit miktar tayinlerine ait bulgular

Familya	Bitki	Kısım	Toplam Fenol Miktar Tayini (Gallik asit eşdeğeri mg / g ekstre $\pm$ S.S. ^a)	Toplam Flavonoit Miktar Tayini (Kersetin eşdeğeri mg / g ekstre $\pm$ S.S.)
Anacardiaceae	<i>Cotinus coggyria</i>	Pedisel (meyveli)	207,87 $\pm$ 0,26	56,68 $\pm$ 2,17
		Folia	165,26 $\pm$ 2,19	47,35 $\pm$ 0,85
	<i>Pistacia vera</i>	Pericarpium	156,02 $\pm$ 3,29	25,38 $\pm$ 5,95
Araliaceae	<i>Hedera helix</i>	Folia	40,30 $\pm$ 0,69	15,56 $\pm$ 1,09
Asteraceae	<i>Calendula arvensis</i>	Herba	16,03 $\pm$ 0,09	^b
	<i>Tripleurospermum oreades</i>	Herba	61,07 $\pm$ 1,16	44,18 $\pm$ 1,86
Clusiaceae	<i>Garcinia mangostana</i>	Pericarpium	193,11 $\pm$ 5,37	19,32 $\pm$ 1,75
Cupressaceae	<i>Cupressus sempervirens</i>	Folia	44,62 $\pm$ 0,34	10,90 $\pm$ 1,53
		Folia	149,45 $\pm$ 6,11	41,46 $\pm$ 0,61
Ericaceae	<i>Arbutus unedo</i>	Fructus (olgunlaşmamış)	61,83 $\pm$ 0,59	6,24 $\pm$ 0,49
Fabaceae	<i>Cassia sp.</i>	Folia	17,39 $\pm$ 0,46	22,57 $\pm$ 3,20
Hippocastanaceae	<i>Aesculus hippocastanum</i>	Flos	71,01 $\pm$ 3,35	46,09 $\pm$ 6,91
		Folia	107,02 $\pm$ 4,13	86,86 $\pm$ 4,96
		Pericarpium	206,48 $\pm$ 3,88	23,06 $\pm$ 3,47
		Semen	122,48 $\pm$ 3,64	12,02 $\pm$ 0,24
Lamiaceae	<i>Lamium purpureum</i>	Herba	44,25 $\pm$ 0,69	24,92 $\pm$ 1,82
	<i>Lamium purpureum</i> ssp. <i>purpureum</i>	Herba	49,54 $\pm$ 1,03	21,26 $\pm$ 4,16

Çizelge 4.9. (devam) Etanol ekstrelerinin, Calendula® firmasından temin edilen ekstrelerin ve propolis'in toplam fenol ve toplam flavonoit miktar tayinlerine ait bulgular

Familiya	Bitki	Kısım	Toplam Fenol Miktar Tayini (Gallik asit eşdeğeri mg / g ekstre $\pm$ S.S. ^a)	Toplam Flavonoit Miktar Tayini (Kersetin eşdeğeri mg / g ekstre $\pm$ S.S.)
Lamiaceae	<i>Origanum onites</i>	Herba	70,50 $\pm$ 5,58	11,27 $\pm$ 0,85
	<i>Rosmarinus officinalis</i>	Herba (BATEM)	75,95 $\pm$ 3,04	9,39 $\pm$ 1,33
		Herba (Kıbrıs)	84,49 $\pm$ 6,29	27,57 $\pm$ 4,52
	<i>Salvia fruticosa</i>	Herba	44,55 $\pm$ 2,21	10,65 $\pm$ 2,06
Lauraceae	<i>Cinnamomum cassia</i>	Cortex	21,43 $\pm$ 0,33	8,85 $\pm$ 1,87
	<i>Laurus nobilis</i>	Folia	38,16 $\pm$ 5,75	4,88 $\pm$ 1,74
		Gemmae	39,45 $\pm$ 1,92	12,67 $\pm$ 1,23
	<i>Persea americana</i>	Folia	46,23 $\pm$ 0,42	5,91 $\pm$ 0,04
		Fructus	11,15 $\pm$ 0,04	2,78 $\pm$ 0,49
		Pericarpium	23,70 $\pm$ 0,87	22,78 $\pm$ 0,75
		Semen	93,91 $\pm$ 4,46	10,69 $\pm$ 6,49
Liliaceae	<i>Aloe vera</i>	Folia	19,54 $\pm$ 1,42	10,33 $\pm$ 4,58
Moraceae	<i>Ficus carica</i>	Folia	16,85 $\pm$ 0,65	3,73 $\pm$ 0,82
	<i>Maclura pomifera</i>	Folia	67,61 $\pm$ 0,65	10,27 $\pm$ 0,45
		Fructus	38,88 $\pm$ 2,94	5,26 $\pm$ 0,16
Oleaceae	<i>Olea europaea</i>	Cortex	85,49 $\pm$ 3,71	16,93 $\pm$ 0,52
		Folia (Denizli)	117,56 $\pm$ 8,58	16,87 $\pm$ 0,77
		Folia (Kıbrıs)	66,46 $\pm$ 6,96	28,82 $\pm$ 0,86
Passifloraceae	<i>Passiflora incarnata</i>	Herba	48,19 $\pm$ 1,18	30,47 $\pm$ 1,17
		Flos	23,13 $\pm$ 0,88	18,05 $\pm$ 0,36
		Fructus	6,58 $\pm$ 0,53	3,35 $\pm$ 0,61
Portulacaceae	<i>Portulaca oleracea</i>	Herba	28,71 $\pm$ 0,73	3,02 $\pm$ 0,71
Primulaceae	<i>Primula vulgaris</i> ssp. <i>vulgaris</i>	Herba	29,50 $\pm$ 0,90	14,60 $\pm$ 0,63
Punicaceae	<i>Punica granatum</i>	Flos	234,42 $\pm$ 1,18	23,09 $\pm$ 5,30
		Pericarpium	68,02 $\pm$ 6,08	13,57 $\pm$ 0,26
		Semen	53,18 $\pm$ 1,88	23,43 $\pm$ 4,09
Rosaceae	<i>Crataegus monogyna</i> ssp. <i>monogyna</i>	Flos	40,08 $\pm$ 0,39	24,94 $\pm$ 0,62
		Folia	27,61 $\pm$ 2,62	5,89 $\pm$ 0,82
		Fructus	30,96 $\pm$ 0,39	1,27 $\pm$ 0,16

Çizelge 4.9. (devam) Etanol ekstrlerinin, Calendula® firmasından temin edilen ekstrelerin ve propolis'in toplam fenol ve toplam flavonoit miktar tayinlerine ait bulgular

Familiya	Bitki	Kısım	Toplam Fenol Miktar Tayini (Gallik asit eşdeğeri mg / g ekstre ± S.S. ^a)	Toplam Flavonoit Miktar Tayini (Kersetin eşdeğeri mg / g ekstre ± S.S.)
Rosaceae	<i>Crataegus szovitsii</i>	Flos	34,15 ± 0,01	10,86 ± 0,88
		Folia	56,60 ± 4,47	28,74 ± 0,12
	<i>Malus sp.</i>	Pericarpium (Kırmızı)	5,29 ± 0,08	2,12 ± 0,19
		Pericarpium (Yeşil)	0,64 ± 0,17	-
	<i>Rosa canina</i>	Stipites	135,25 ± 7,74	58,06 ± 4,76
		Fructus	28,62 ± 1,12	2,60 ± 0,36
	<i>Rosa sp.</i>	Fructus (Bursa)	13,90 ± 1,98	2,39 ± 0,006
		Fructus (Tunceli)	3,65 ± 0,65	0,67 ± 0,19
Rutaceae	<i>Citrus aurantium</i>	Albedo	29,88 ± 1,37	27,88 ± 1,27
		Flavedo	30,20 ± 0,27	21,31 ± 2,55
		Folia	40,07 ± 0,12	15,86 ± 0,75
	<i>Citrus deliciosa</i>	Flavedo	22,63 ± 2,05	8,49 ± 0,80
	<i>Citrus limon cv. İnterdonato</i>	Albedo	22,85 ± 2,28	9,30 ± 0,38
		Flavedo	18,72 ± 3,60	5,66 ± 0,98
	<i>Citrus limon cv. Kara limon</i>	Albedo	26,57 ± 3,12	9,76 ± 1,15
		Flavedo	22,96 ± 3,11	8,27 ± 1,29
	<i>Citrus limon cv. Kıbrıs</i>	Albedo	13,53 ± 2,25	4,81 ± 0,47
		Flavedo	20,59 ± 0,75	6,91 ± 0,60
	<i>Citrus maxima</i>	Albedo	17,97 ± 3,29	8,01 ± 1,18
		Flavedo	24,03 ± 1,30	8,76 ± 0,75
		Semen	26,45 ± 2,60	3,70 ± 1,17
	<i>Citrus paradisi var. Henderson</i>	Albedo	16,29 ± 0,85	19,48 ± 0,80
		Flavedo	9,49 ± 3,23	9,21 ± 0,62
	<i>Citrus paradisi var. Red blush</i>	Albedo	16,67 ± 0,27	21,97 ± 0,05
		Flavedo	13,77 ± 1,34	14,02 ± 0,44
	<i>Citrus paradisi var. Star ruby</i>	Albedo	18,98 ± 0,62	25,89 ± 0,98
		Flavedo	14,37 ± 0,43	18,10 ± 0,89
	<i>Citrus reticulata-Lee</i>	Flavedo	11,99 ± 1,68	5,63 ± 0,80
	<i>Citrus reticulata-Nova</i>	Flavedo	27,59 ± 1,74	7,81 ± 1,33

Çizelge 4.9. (devam) Etanol ekstrelerinin, Calendula® firmasından temin edilen ekstrelerin ve propolis'in toplam fenol ve toplam flavonoit miktar tayinlerine ait bulgular

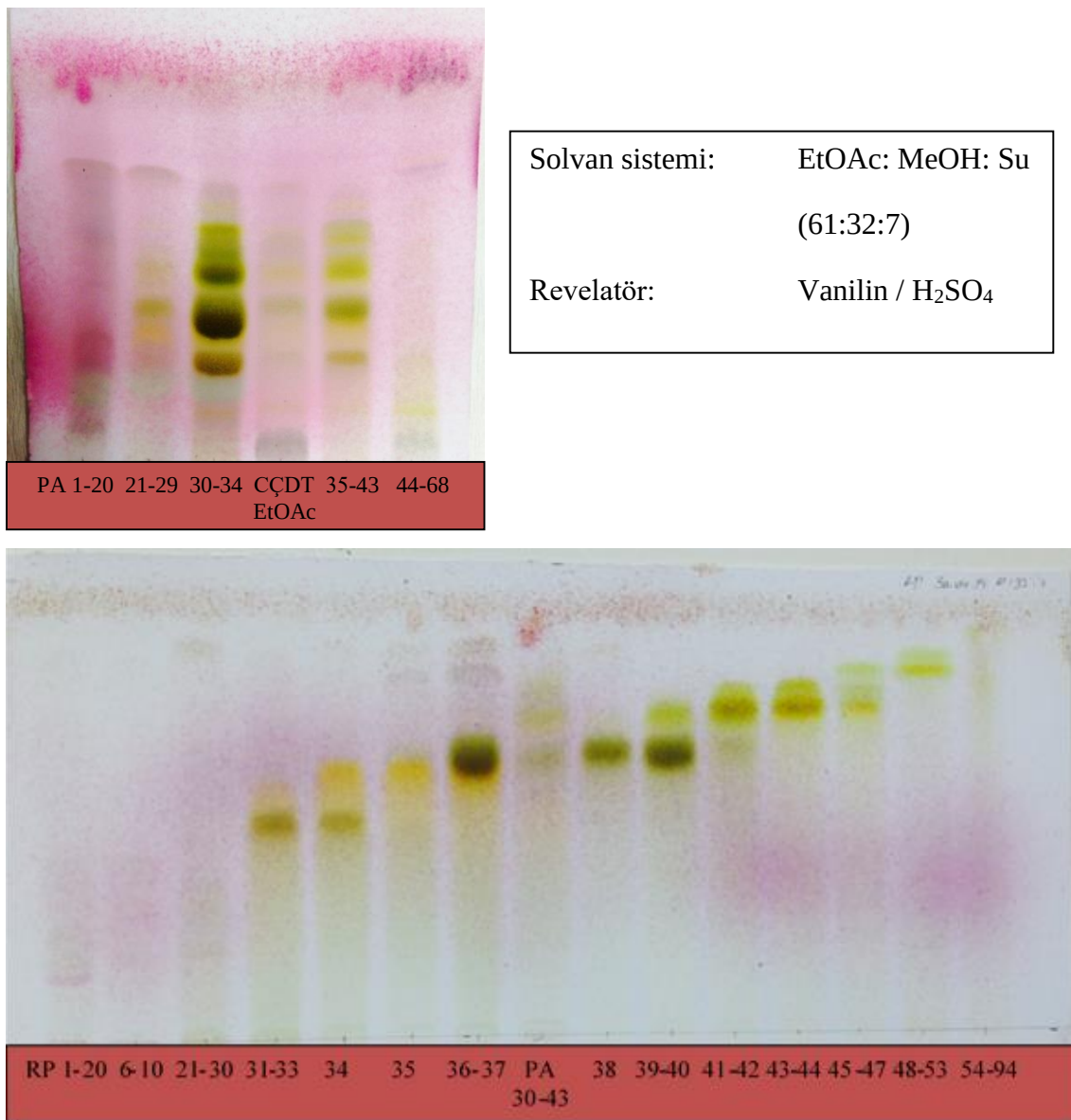
Familya	Bitki	Kısım	Toplam Fenol Miktar Tayini (Gallik asit eşdeğeri mg / g ekstre ± S.S. ^a)	Toplam Flavonoit Miktar Tayini (Kersetin eşdeğeri mg / g ekstre ± S.S.)
Rutaceae	<i>Citrus reticulata</i> Blanco × <i>Citrus paradisi</i>	Flavedo	21,73 ± 0,67	10,61 ± 0,46
	<i>Citrus sinensis</i> cv. Navelina	Albedo	11,91 ± 2,17	6,69 ± 0,22
		Flavedo	11,34 ± 1,10	5,77 ± 0,56
	<i>Citrus sinensis</i> cv. Shamouti	Albedo	14,24 ± 2,91	9,14 ± 0,71
		Flavedo	11,86 ± 1,12	4,82 ± 0,16
	<i>Citrus sinensis</i> cv. Valencia late	Albedo	20,65 ± 1,62	9,29 ± 0,84
		Flavedo	17,02 ± 2,65	7,45 ± 1,55
	<i>Citrus sinensis</i> cv. Washington navel	Albedo	12,01 ± 1,45	6,66 ± 0,15
		Flavedo	12,10 ± 1,10	5,28 ± 0,38
	<i>Citrus japonica</i>	Flavedo	12,57 ± 3,57	1,10 ± 0,25
Salicaceae	<i>Salix alba</i>	Stipites	64,78 ± 2,97	10,82 ± 1,41
Scrophulariaceae	<i>Verbascum insulare</i>	Flos	11,25 ± 1,59	4,71 ± 0,03
		Folia	18,25 ± 0,82	4,28 ± 0,97
	<i>Veronica thymoides</i> ssp. <i>pseudocinerea</i>	Herba	131,17 ± 3,27	27,91 ± 0,65
Theaceae	<i>Camellia sinensis</i>	Folia (Siyah)	97,62 ± 5,20	22,78 ± 0,32
		Folia (Yeşil)	232,87 ± 0,01	20,32 ± 0,23
Vitaceae	<i>Vitis vinifera</i>	Semen	278,11 ± 4,53	15,11 ± 1,05
Zingiberaceae	<i>Curcuma longa</i>	Rhizoma	75,00 ± 6,87	8,64 ± 1,42
	<i>Propolis</i>		205,61 ± 6,76	122,22 ± 3,88
CALENDULA®	<i>Aesculus hippocastanum</i>	Semen	5,64 ± 0,67	5,76 ± 3,02
	<i>Arctium lappa</i>	Radix	2,37 ± 0,21	2,06 ± 0,49
	<i>Betula pendula</i>	Folia	82,66 ± 4,79	37,82 ± 2,16
	<i>Rosa canina</i>	Fructus	128,17 ± 8,75	25,84 ± 3,59
	<i>Urtica dioica</i>	Radix	10,56 ± 0,79	3,67 ± 0,82
	<i>Vaccinium myrtillus</i>	Fructus	73,53 ± 4,04	18,14 ± 6,57
Kalibrasyon denklemi			y=2,4057x + 0,0953, r ² =0,9992	y=3,7891x + 0,0734, r ² =0,9999

^a Standart sapma, ^b Az miktarda olduğu için hesaplanamadı

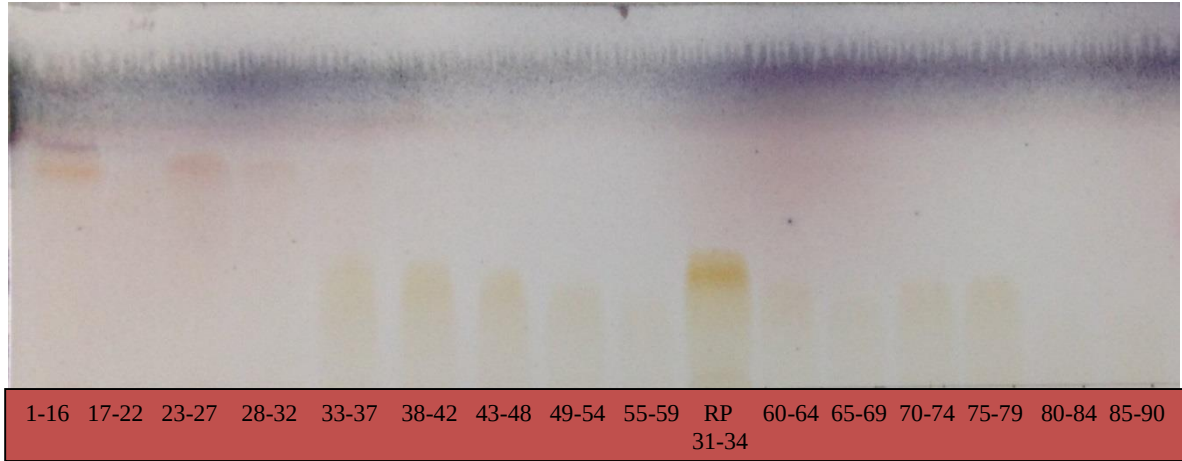
4.4. BAYF İşlemine Ait Bulgular

4.4.1. İTK ve HPTLC analizlerine ait bulgular

BAYF işlemi için uygulanan kolon kromatografisi (poliamit) ve MPLC ile elde edilerek birleştirilen alt fraksiyonlara ait İTK kromatogramları Resim 4.1.'de, RP 31-34 fraksiyonuna uygulanan kolon kromatografisi (silika jel) ile elde edilen alt fraksiyonlara ait İTK kromatogramı ise Resim 4.2.'de verilmiştir.

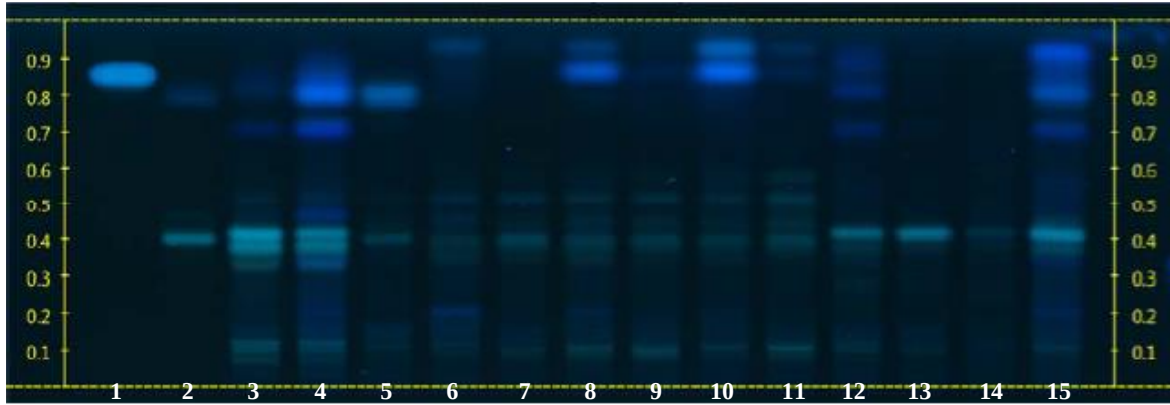


Resim 4.1. Kolon kromatografisi (poliamit) ve MPLC ile elde edilerek birleştirilen alt fraksiyonlara ait İTK kromatogramları

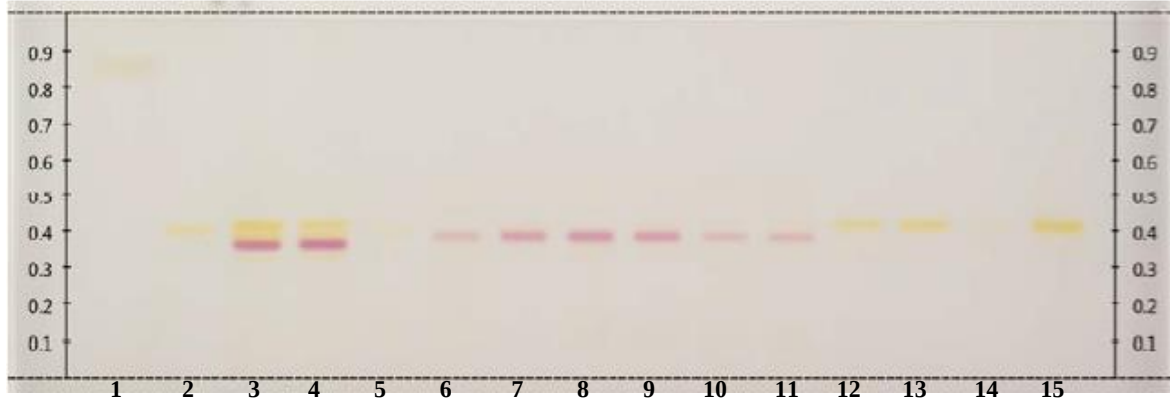


Resim 4.2. RP 31-34 fraksiyonuna uygulanan kolon kromatografisi (silika jel) ile elde edilen alt fraksiyonlara ait İTK kromatogramı

Citrus sp. ekstrelerine uygulanan HPTLC analizlerine ait bulgular ise Şekil 4.5., 4.6. ve 4.7.'de verilmiştir. HPTLC kromatogramlarına göre flavedo ekstreleri, albedo ekstrelerine göre UV 366 nm'de daha yoğun lekeler vermiştir. WRT'de görüntülenen sonuçlara göre, albedo örneklerinde gözlenen sarı lekeler flavedo örneklerinde tespit edilenlere göre daha yoğundur. Bulgularımıza göre; *C. aurantium*, *C. deliciosa*, *C. limon*, *C. maxima*/*C. paradisi* ve *C. sinensis*/*C. reticulata* örneklerini, kromatogramlar ile ayırt etmek mümkündür. *C. maxima* ve *C. paradisi*'ye ait kromatogramlar çok benzediği için, bu iki türü ayırt etmek mümkün değildir. Aynı durum *C. sinensis* ve *C. reticulata* türleri için de geçerlidir. *C. aurantium* türüne ait albedo ve flavedo ekstrelerinin kromatogramlarının da WRT'de, R_f değeri (retention factor) ~ 0.36 olan, yoğun kırmızı bir leke ve yukarısında farklı sarı lekeler vererek birbirine çok benzer olduğu gözlemlenmiştir (Şekil 4.5.). *C. limon* kültürlerine ait tüm ekstrelerin kromatogramlarında, WRT'de R_f değeri ~ 0.39 olan karakteristik kırmızı bir leke gözlenmiştir. *C. maxima* türüne ait albedo ve flavedo ekstrelerine ait kromatogramlarda, R_f değeri hesperidin'den büyük olan sarı lekeler mevcuttur. *C. paradisi* varyetelerine ait analizlerde, benzer ve hesperidin içeren kromatogramlar gözlenmiş, *C. reticulata* ve *C. sinensis* cv. Navelina ekstrelerine ait kromatogramların da birbirine çok benzediği tespit edilmiştir (Şekil 4.6.). Şekil 4.7.'de verilen kromatogramda, bütün *C. sinensis* kültürlerinde, bir tanesi hesperidin ile aynı R_f değerine sahip, 2 sarı leke gözlenmiştir.

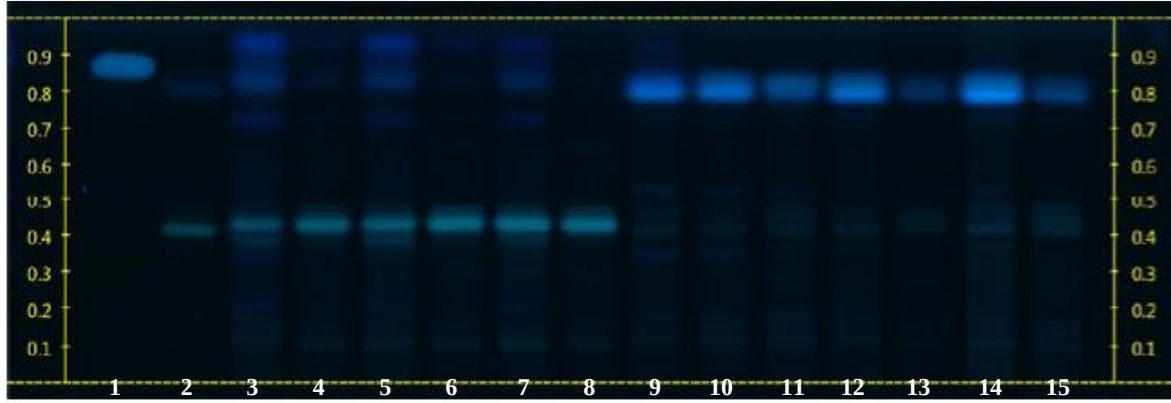


(A)

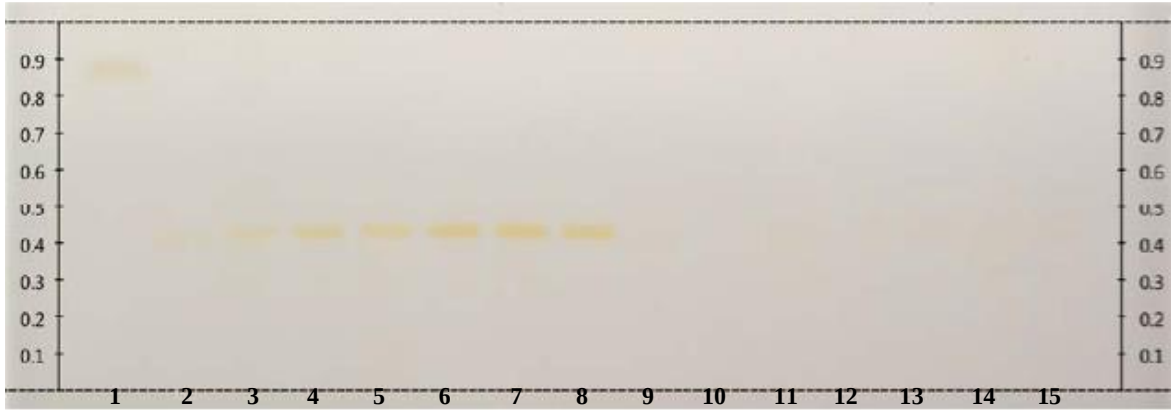


(B)

Şekil 4.5. *Citrus* ekstrelerinin HPTLC profilleri (3-15)-1, A) AlCl_3 ile derivatize edilen plağın UV 366 nm'deki görüntüsü, B) WRT (AlCl_3 , sonra NP ve PEG400) ile derivatize edilen plağın görüntüsü [1: Kafeik asit, 2: Hesperidin, 3 ve 4: *C. aurantium* (albedo ve flavedo), 5: *C. deliciosa* (pericarpium), 6 ve 7: *C. limon* cv. Interdonato (flavedo ve albedo), 8 ve 9: *C. limon* cv. Kara limon (flavedo ve albedo), 10 ve 11: *C. limon* cv. Kıbrıs (flavedo ve albedo), 12 ve 13: *C. maxima* (flavedo ve albedo), 14 ve 15: *C. maxima* (15: 15 μL).

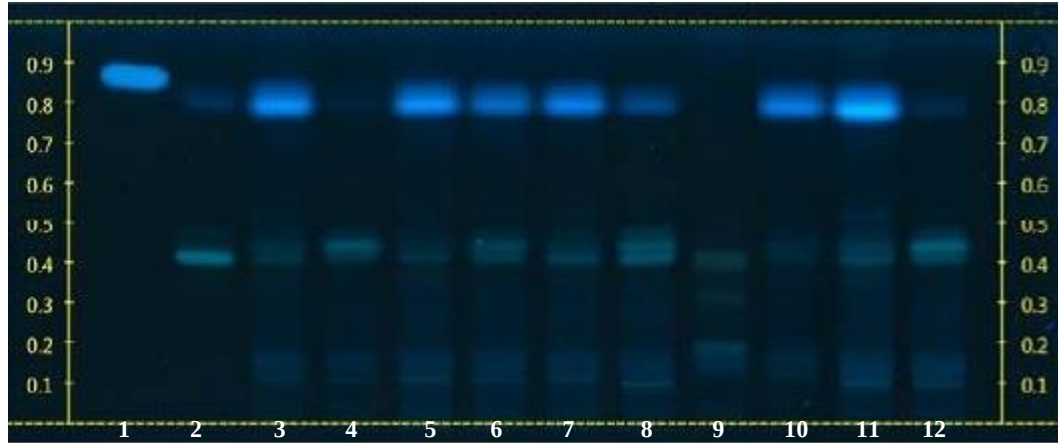


(A)

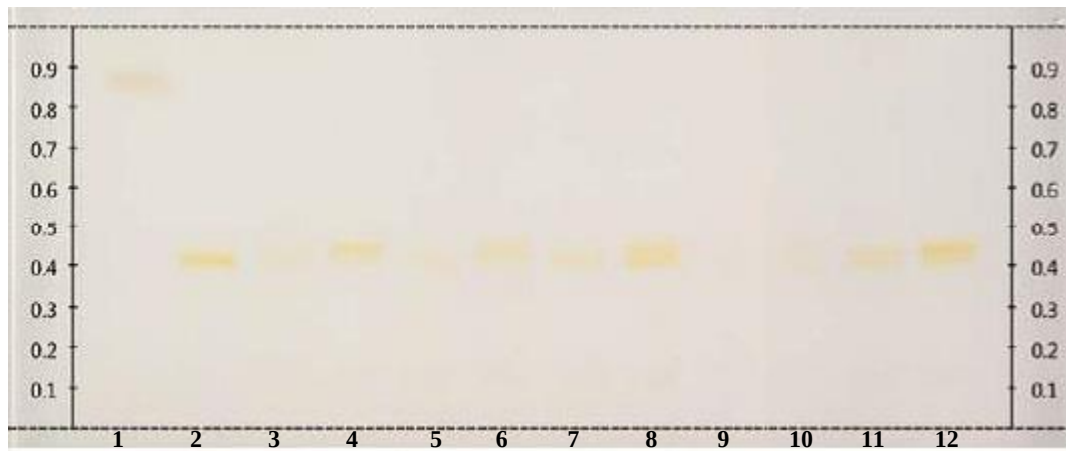


(B)

Şekil 4.6. *Citrus* ekstrelerinin HPTLC profilleri (3-15)-2, A) AlCl_3 ile derivatize edilen plağın UV 366 nm'deki görüntüsü, B) WRT (AlCl_3 , sonra NP ve PEG400) ile derivatize edilen plağın görüntüsü [1: Kafeik asit, 2: Hesperidin, 3 ve 4: *C. paradisi* var. Henderson (flavedo ve albedo), 5 ve 6: *C. paradisi* var. Red blush (flavedo ve albedo), 7 ve 8: *C. paradisi* var. Star ruby (flavedo ve albedo), 9: *C. reticulata*-Lee (pericarpium), 10: *C. reticulata*- Nova (pericarpium), 11: *C. reticulata* Blanco $\times$ *C. paradisi* (pericarpium), 12 ve 13: *C. sinensis* cv. Navelina (flavedo ve albedo), 14 ve 15: *C. sinensis* cv. Navelina-15 μL (flavedo ve albedo).



(A)



(B)

Şekil 4.7. *Citrus* ekstrelerinin HPTLC profilleri (3-12)-3, A) AlCl_3 ile derivatize edilen plağın UV 366 nm'deki görüntüsü, B) WRT (AlCl_3 , sonra NP ve PEG400) ile derivatize edilen plağın görüntüsü [1: Kafeik asit, 2: Hesperidin, 3 ve 4: *C. sinensis* cv. Shamouti (flavedo ve albedo), 5 ve 6: *C. sinensis* cv. Valencia (flavedo ve albedo), 7 ve 8: *C. sinensis* cv. Washington navel (flavedo ve albedo), 9: *C. japonica*-10 μL (pericarpium), 10 ve 11: *C. sinensis* cv. Shamouti-5 ve 15 μL (flavedo), 12: *C. sinensis* cv. Shamouti-15 μL (albedo).

4.4.2. ^1H - ve ^{13}C -NMR spektrumlarına ait bulgular

BAYF işlemi ile elde edilen, miktarı yeterli olması nedeniyle, kimyasal karakterizasyonu yapılan bileşiklere ait bulgular şu şekildedir;

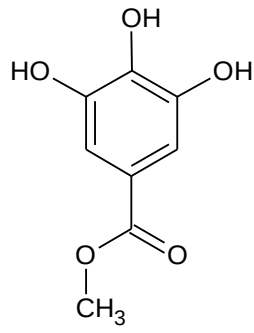
Gallik asit metil ester (RP 36-37 Prep 4)

RP 36-37 Prep 4 kodlu bileşiğe ait ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR spektrum değerleri Çizelge 4.10'da verilmiştir. Bileşiğin ^1H -NMR spektrumunda, biri aromatik sahada 6,95 ppm'de,

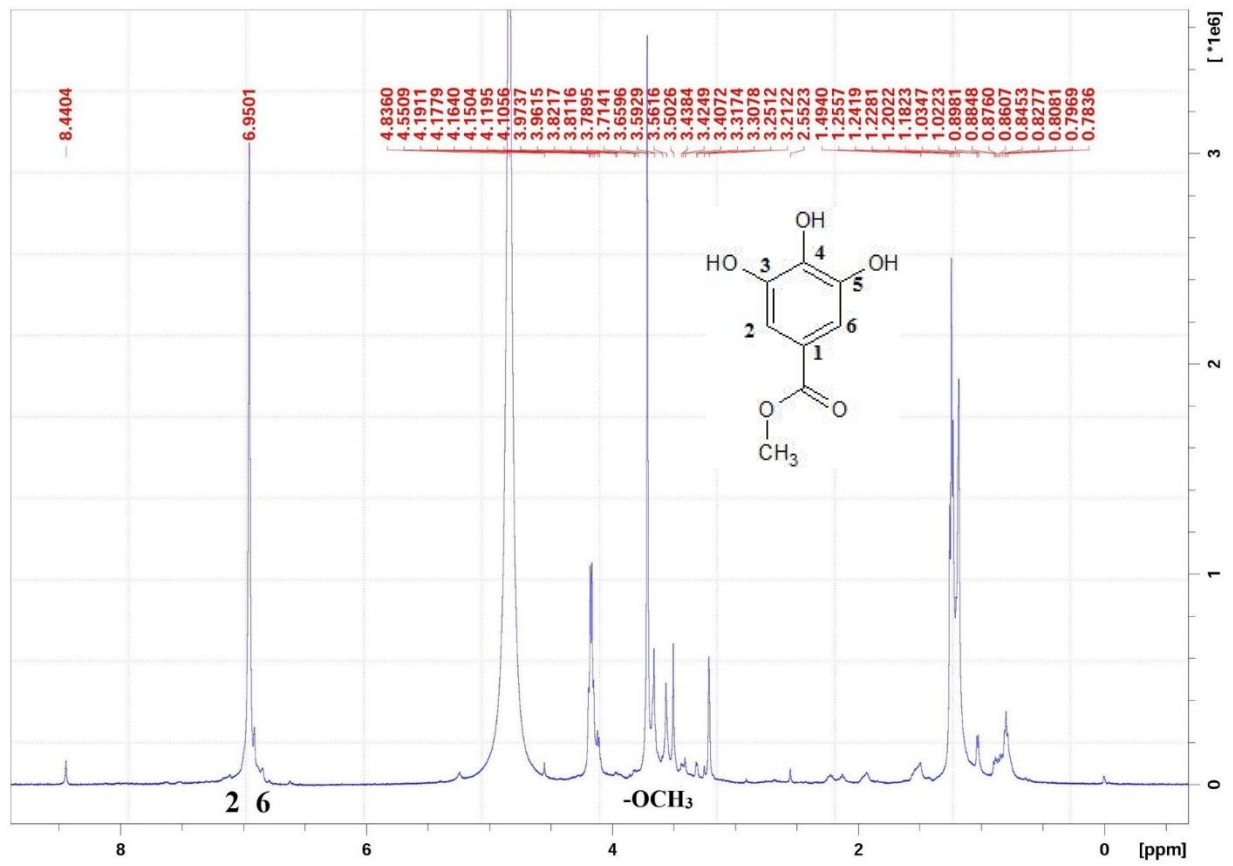
diğeri ise 3,71 ppm'de, her ikisi de singlet olan pikler gözlenmiştir. Aromatik sahada gözlenen sinyaller 1,3,4,5-tetrasüstitüe fenil grubunun simetrik H-2 ve H-6 protonları olarak yorumlanmıştır. 3,71 ppm'de gözlenen sinyal ise metoksil grubu olarak yorumlanmıştır. RP 36-37 Prep 4 kodlu bileşiğe ait ^1H -NMR spektrumu Şekil 4.9'da verilmiştir. Bileşiğin, ^{13}C -NMR spektrumu incelendiğinde; 6 tip karbon atomuna ait sinyal tespit edilmiştir. Bu rezonanslar, C=O grubunu (168,84 ppm), iki adet simetrik oksijenize aromatik karbon atomunu (146,50 ppm, C-3 ve C-5), bir adet oksijenize aromatik karbon atomunu (139,74 ppm, C-4), bir adet kuaterner aromatik karbon atomunu (121,63 ppm, C-1) ve iki adet simetrik aromatik metin karbon atomunu (110,07 ppm, C-2 ve C-6) işaret etmektedir. 49,56 ppm'de gözlenen sinyal ise karbonil ester yapısındaki metoksil grubu olarak yorumlanmıştır. RP 36-37 Prep 4 kodlu bileşiğe ait ^{13}C -NMR spektrumu, Şekil 4.10'da verilmiştir. ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR bulgularının, literatürdeki değerler ile karşılaştırılması sonucunda RP 36-37 Prep 4 kodlu bileşiğin gallik asit metil esteri olduğu saptanmıştır (Akdemir ve diğerleri, 2001; Hisham, Lip, Noh, Normah ve Nabilah, 2011).

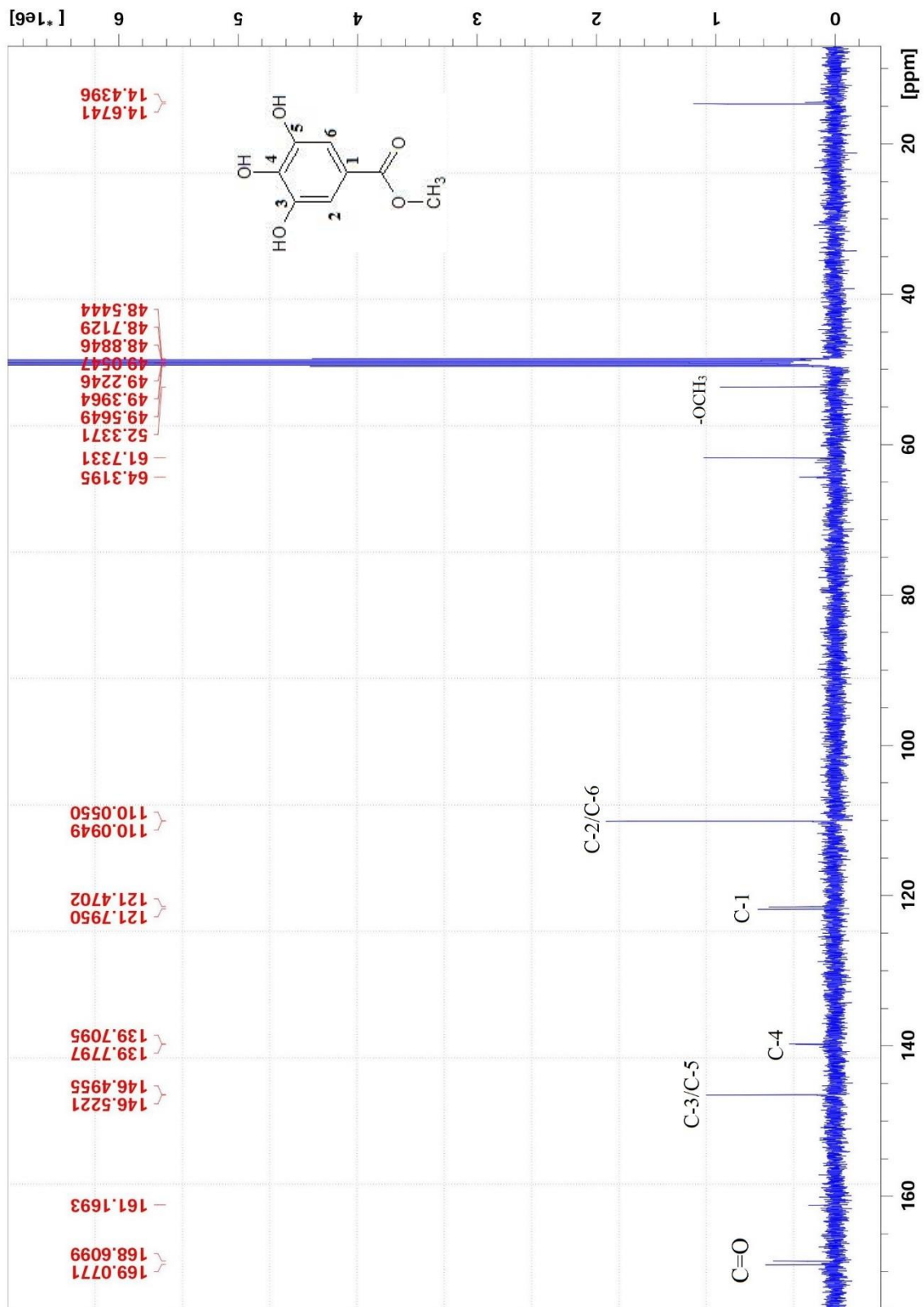
Çizelge 4.10. Gallik asit metil esteri'nin (RP 36-37 Prep 4) ^1H -NMR (500 MHz, CD_3OD) ve ^{13}C -NMR (125 MHz, CD_3OD) spektrum değerleri

H-atomu	δ (ppm)	C-atomu	δ (ppm)
2	6,95 s	1 s	121,63
6	6,95 s	2 d	110,07
-OCH ₃	3,71 s	3 s	146,50
		4 s	139,74
		5 s	146,50
		6 d	110,07
		C=O s	168,84
		-OCH ₃ q	49,56



Şekil 4.8. Gallik asit metil ester

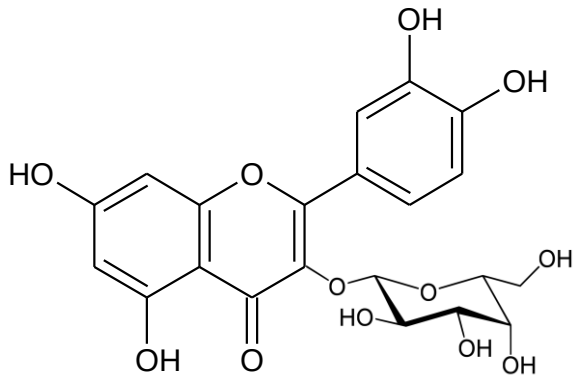
Şekil 4.9. RP 36-37 Prep 4 kodlu bileşiğe ait ¹H-NMR spektrumu



Şekil 4.10. RP 36-37 Prep 4 kodlu bileşiğe ait ¹³C-NMR spektrumu

Kersetin-3-O-galaktozit (RP 38 Prep 1)

RP 38 Prep 1 kodlu bileşiğe ait ^1H -NMR spektrum değerleri Çizelge 4.11.'de, ^{13}C -NMR spektrum değerleri ise Çizelge 4.12'de verilmiştir. Bileşiğin ^1H -NMR spektrumunda, aromatik bölgede bileşiğe ait 5 adet sinyal görülmektedir [6,10 ppm ve 6,30 ppm, d, $J=1,5$ Hz (*m*-etkileşim), sırasıyla H-6 ve H-8; 6,77 ppm, d, $J=8,5$ Hz (*o*-etkileşim), H-5'; 7,48 ppm, dd, $J=8,4/1,55$ Hz (*o*- ve *m*-etkileşim), H-6'; 7,74 ppm, d, $J=1,65$ Hz (*m*-etkileşim), H-2']. 5,03 ppm'de (d, $J=7,8$ Hz) gözlenen sinyalin de anomerik oz protonuna ait olduğu düşünülmektedir. RP 38 Prep 1 kodlu bileşiğe ait ^1H -NMR spektrumu Şekil 4.12'de verilmiştir. Bileşiğe ait ^{13}C -NMR ve DEPT (135°) spektrumları ise Şekil 4.13'de verilmiş olup, C atomlarına ait kimyasal kayma değerlerinin bazıları, gürültü nedeniyle tespit edilememiştir. Bileşiğe ait ^1H - ^1H -COSY spektrumu da Şekil 4.14'de verilmiştir. ^1H -NMR ve ^{13}C -NMR bulgularının, literatürde verilen değerler ile karşılaştırılması sonucunda RP 38 Prep 1 kodlu bileşiğin kersetin-3-O-galaktozit olduğu saptanmıştır (Akdemir ve diğerleri, 2001; Güvenalp ve Demirezer, 2005).



Şekil 4.11. Kersetin-3-O-galaktozit

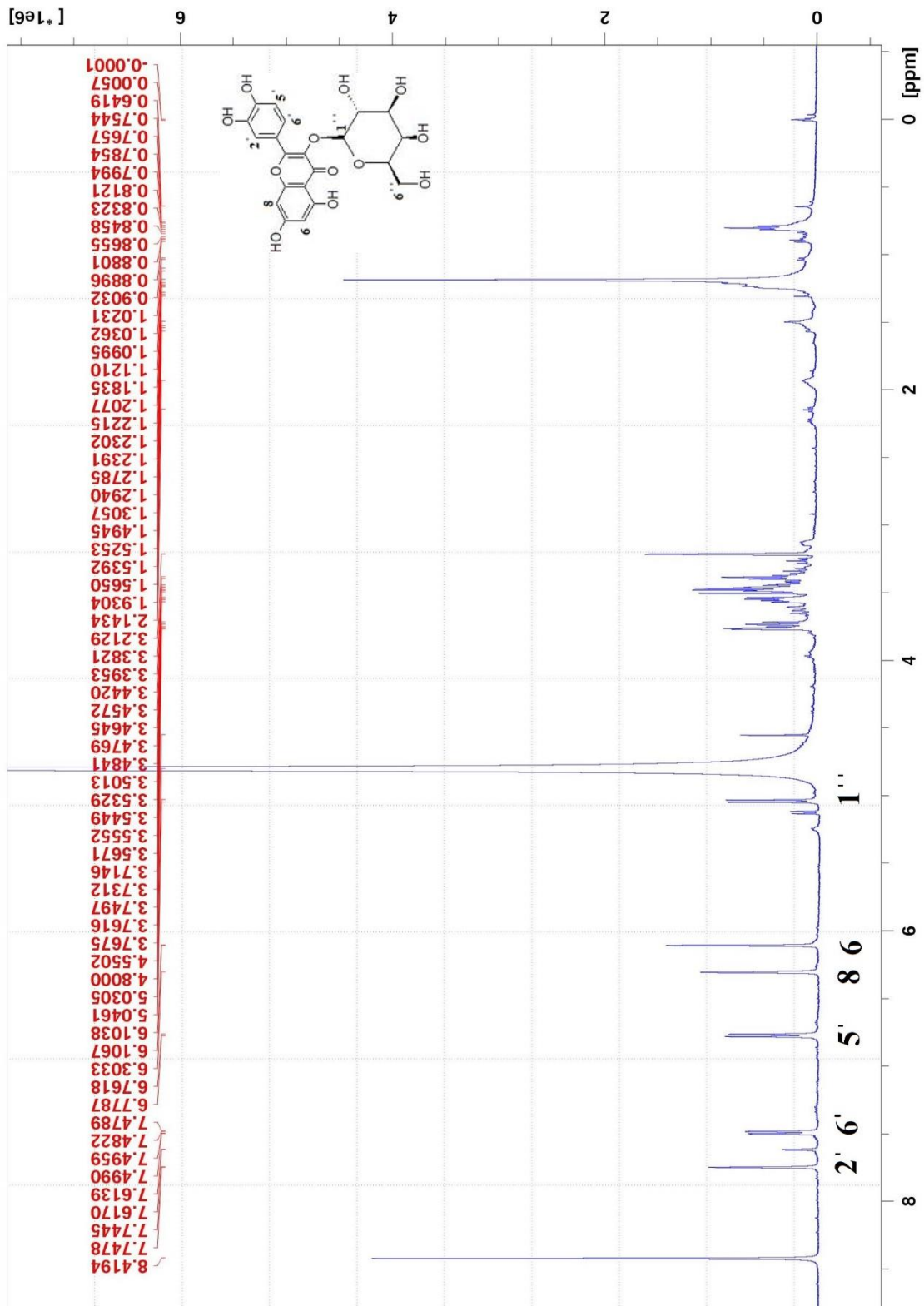
Çizelge 4.11. Kersetin-3-O-galaktozit'in (RP 38 Prep 1) ^1H -NMR spektrum değerleri (500 MHz, CD_3OD)

H-atomu	RP 38 Prep 1 δ (ppm)	J (Hz)
Aglikon		
6	6,10 d	1,5
8	6,30 Φ	Φ
2'	7,74 d	1,65
5'	6,77 d	8,5
6'	7,48 Φ	8,4/1,55
Galaktoz		
1''	5,03 d	7,8
2''	3,76 d	9,25
3''	3,55 Φ	Φ
4''	3,76 d	2,95
5''	3,39 m	
6''a	3,47 d	7,2
6''b	3,75 Φ	Φ

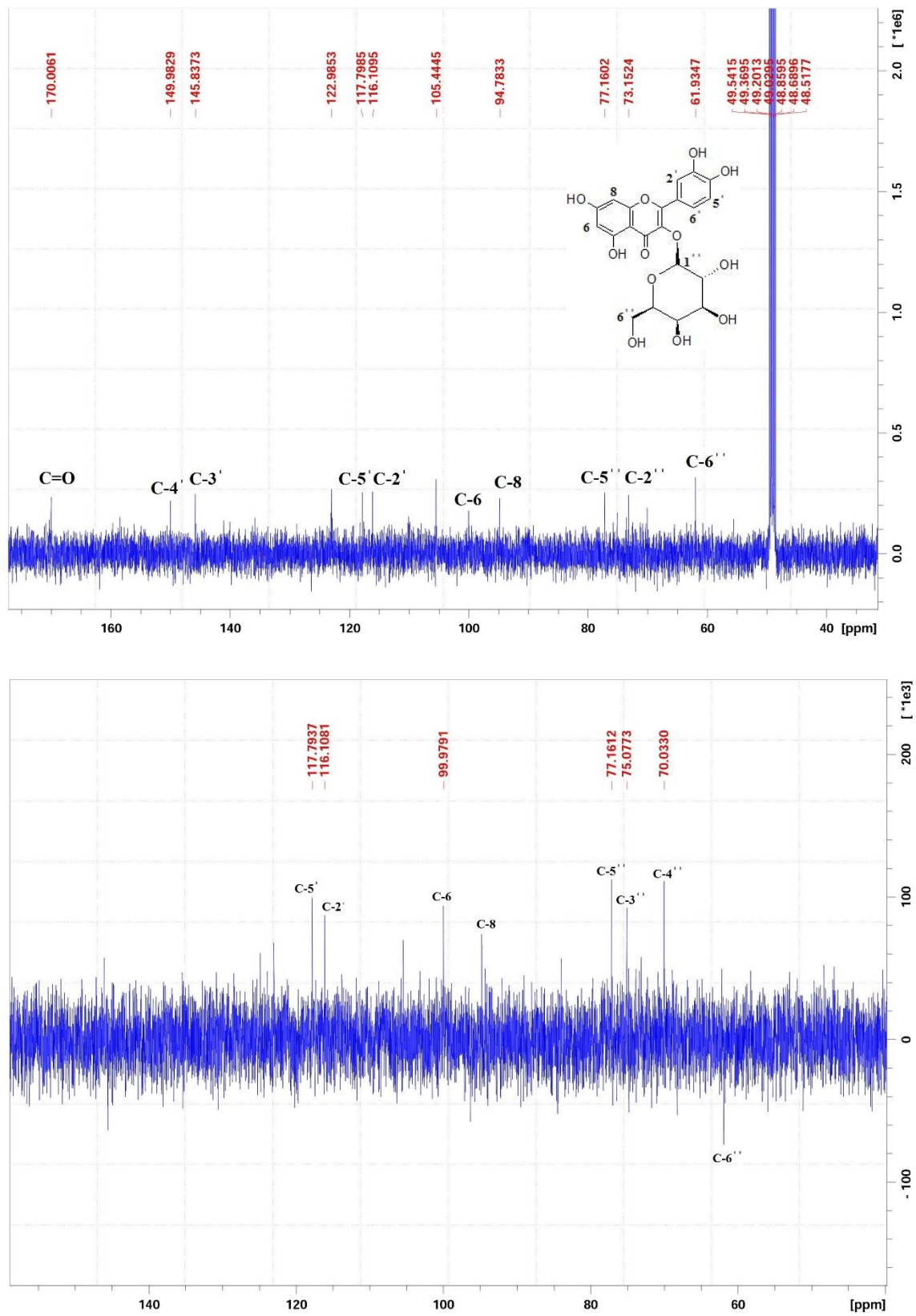
Φ Çözülemedi

Çizelge 4.12. Kersetin-3-O-galaktozit'in (RP 38 Prep 1) ^{13}C -NMR spektrum değerleri (125 MHz, CD_3OD)

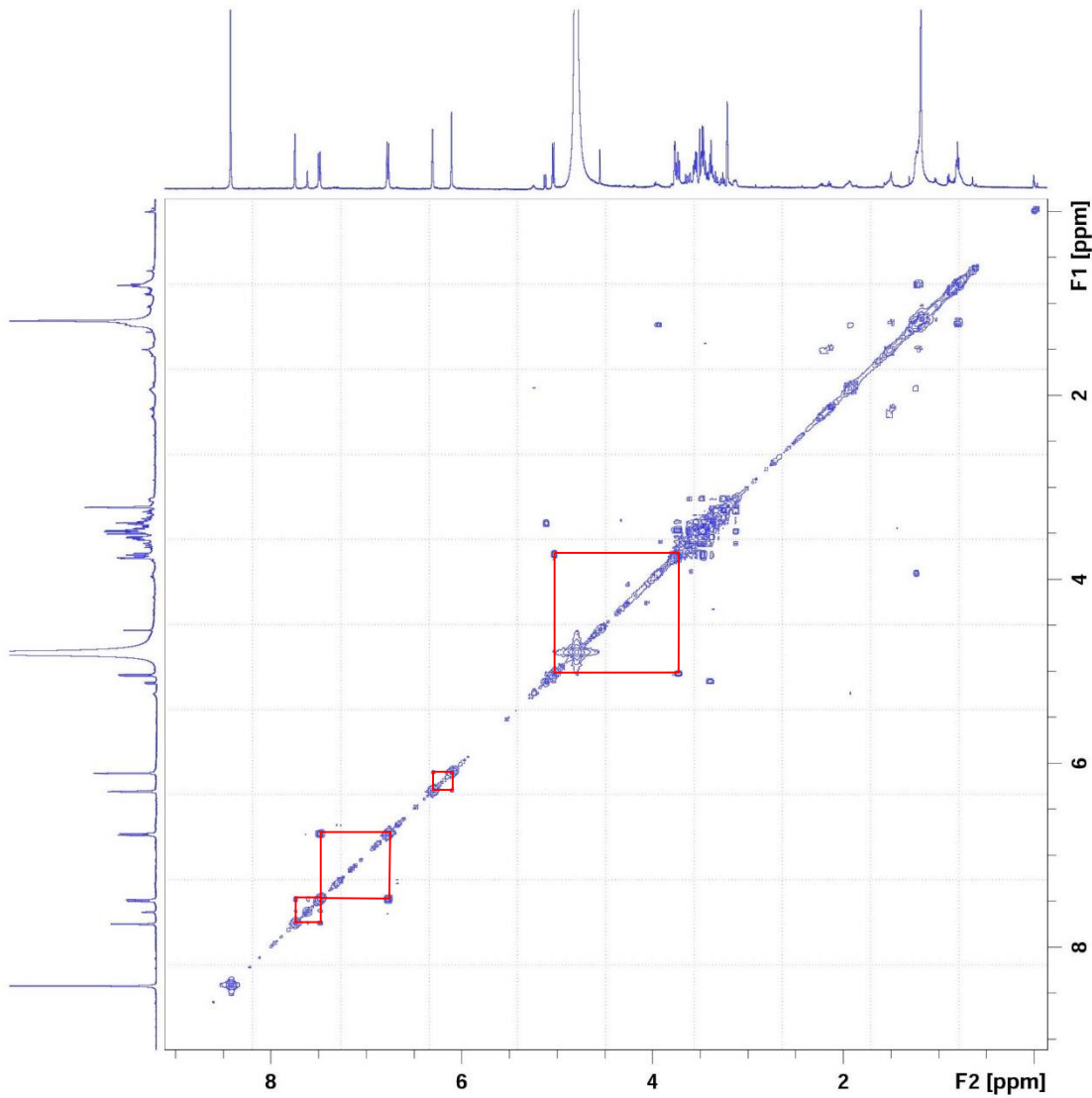
C-atomu	RP 38 Prep 1 δ (ppm)
Aglikon	
2	159 s
3	136 s
4	170,00 s
5	163 s
6	99,97 d
7	164 s
8	94,78 d
9	159 s
10	105 s
1'	122,98 s
2'	116,10 d
3'	145,83 s
4'	149,98 s
5'	117,79 d
6'	123 d
Galaktoz	
1''	105,44 d
2''	73,15 d
3''	75,07 d
4''	70,03 d
5''	77,16 d
6''	61,93 t



Şekil 4.12. RP 38 Prep 1 kodlu bileşiğe ait ^1H -NMR spektrumu



Şekil 4.13. RP 38 Prep 1 kodlu bileşiğe ait ^{13}C -NMR (üstte) ve DEPT (altta) spektrumları

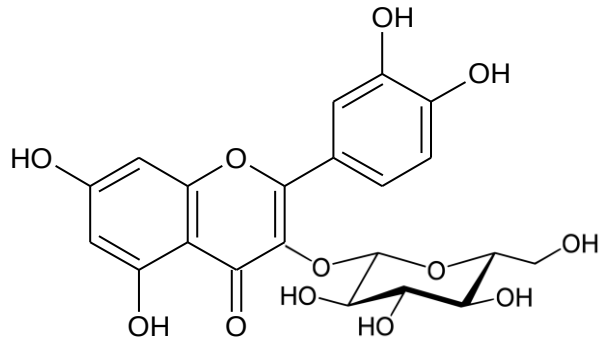


Şekil 4.14. RP 38 Prep 1 kodlu bileşiğe ait ^1H - ^1H - COSY spektrumu

Kersetin-3-O-glukozit (RP 39-40 Prep 2)

RP 39-40 Prep 2 kodlu bileşiğin ^1H -NMR spektrum değerleri Çizelge 4.13.'de verilmiştir. Bileşiğin ^1H -NMR spektrumunda, aromatik bölgede sinyaller gözlenmiştir (6,04 ppm ve 6,21 ppm, d, $J=1,7$ Hz, sırasıyla H-6 ve H-8; 6,76 ppm, d, $J=8,25$ Hz, H-5'). 7,50 ppm ve 7,52 ppm'de gözlenen sinyallere ait eşleşme sabiti değerleri tam çözilememiştir, fakat bu sinyallerin H-6' ve H-2' protonlarına ait oldukları düşünülmektedir. 5,03 ppm'de (d, $J=7,25$ Hz) gözlenen sinyalin de anomerik oz protonuna ait olduğu yorumu yapılmıştır. RP 39-40 Prep 2 kodlu bileşiğe ait ^1H -NMR spektrumu Şekil 4.16'da verilmiştir. Bulgularımız ile literatürde verilen değerlerin karşılaştırılması sonucunda RP 39-40 Prep 2 kodlu bileşiğin

kersetin-3-*O*-glukozit olduğu kanaatine varılmıştır (Akdemir ve diğerleri, 2001; Güvenalp ve Demirezer, 2005).

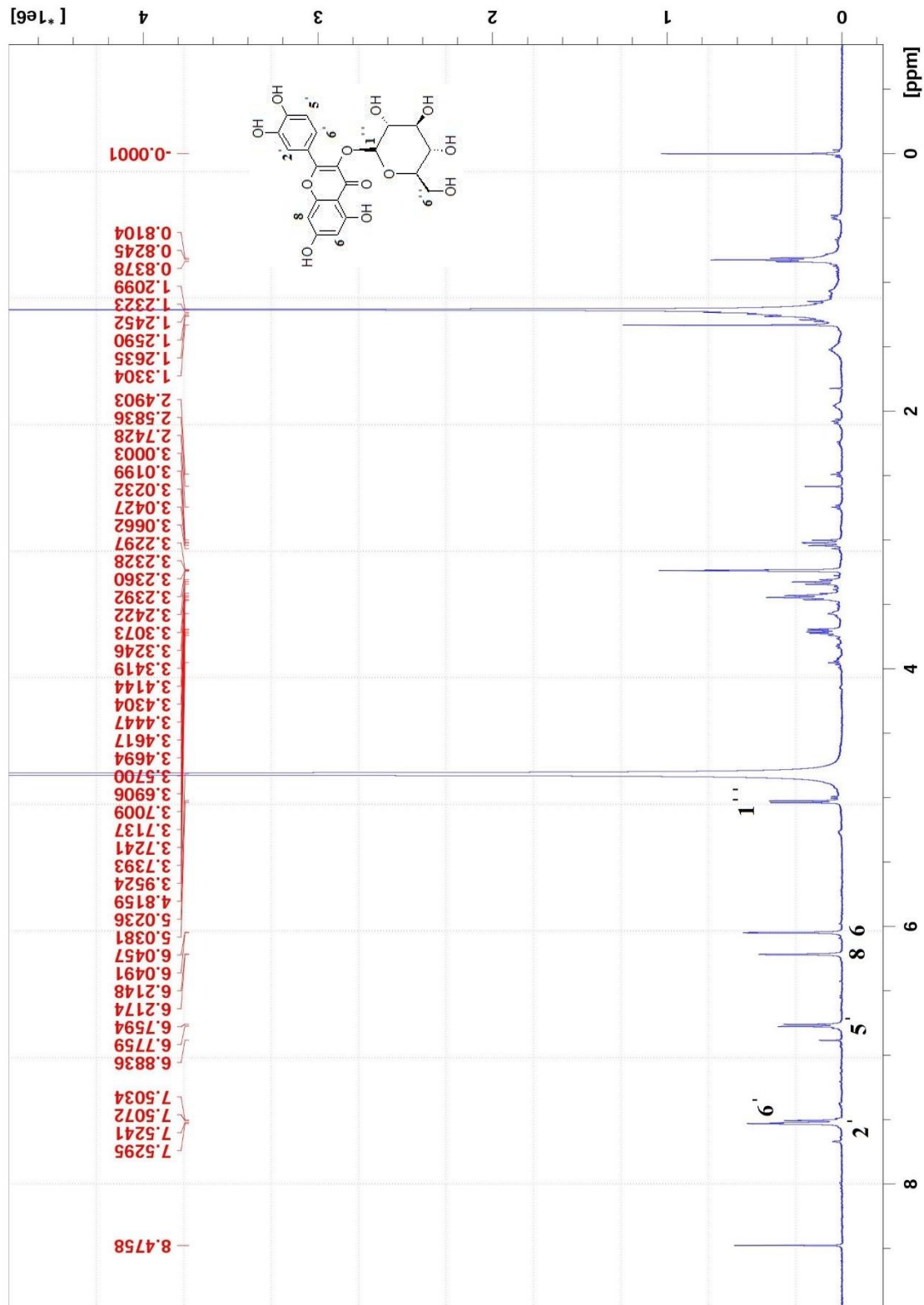


Şekil 4.15. Kersetin-3-*O*-glukozit

Çizelge 4.13. Kersetin-3-*O*-glukozit'in (RP 39-40 Prep 2) ^1H -NMR spektrum değerleri (500 MHz, CD_3OD)

H-atomu	RP 39-40 Prep 2 δ (ppm)	<i>J</i> (Hz)
Aglikon		
6	6,04 d	1,7
8	6,21 Φ	Φ
2'	7,52 Φ	Φ
5'	6,76 d	8,25
6'	7,50 Φ	Φ
Glukoz		
1''	5,03 d	7,25
2''	3,45 dd	Φ
3''	3,41 Φ	Φ
4''	3,32 t	8,65
5''	3,23 m	
6''a	3,57 Φ	Φ
6''b	3,70 dd	Φ

Φ Çözülemedi



Şekil 4.16. RP 39-40 Prep 2 kodlu bileşiğe ait ^1H -NMR spektrumu

Kersetin-3-O-glukozit (RP 39-40 Prep 1A) ve Kersetin-3-O-galaktozit karışımı (RP 39-40 Prep 1B)

RP 39-40 Prep 1 kodlu fraksiyonun ^1H -NMR spektrum değerleri Çizelge 4.14'de, ^{13}C -NMR spektrum değerleri ise Çizelge 4.15'de verilmiştir. Fraksiyonun ^1H -NMR spektrumunda aromatik bölgede gözlenen proton sinyallerinden 6,08 ppm (H-6), 6,27 ppm (H-8), 6,76 ppm (d, 1A ve 1B H-5'), 7,61 ppm (1A H-2') ve 7,74 ppm'de (1B H-2') gözlenen sinyallerde eşleşme sabiti değeri hesaplanamamıştır. Aynı bölgede 7,50 ppm'de (dd) gözlenen sinyalin de 1A ve 1B H-6' protonlarına ait olduğu şeklinde yorumlanmıştır. 5,04 ppm (d, $J=7,7$ Hz) ve 5,13 ppm'de (d, $J=7,3$ Hz) gözlenen sinyallerin anomerik oz protonlarına ait olduğu ve iki farklı oz ünitesi bulunduğu düşünülmektedir. RP 39-40 Prep 1 kodlu fraksiyona ait ^1H -NMR spektrumu Şekil 4.17'de verilmiştir. Fraksiyona ait ^{13}C -NMR ve DEPT (135°) spektrumları ise Şekil 4.18'de verilmiş olup, C atomlarına ait kimyasal kayma değerlerinin bazıları, gürültü nedeniyle tespit edilememiştir. Fraksiyona ait ^1H - ^1H - COSY spektrumu ise Şekil 4.19'da verilmiştir. ^{13}C -NMR ve DEPT spektrumlarında oz karbonlarına ait rezonanslar incelendiğinde C-4'' 71,18 ppm'de görülen sinyalin glukoz, C-4'' 70,02 ppm'de görülen sinyalin ise galaktoz için literatürde verilen değerler ile uyum içinde olduğu gözlenmiştir (Akdemir ve diğerleri, 2001; Güvenalp ve Demirezer, 2005).

Çizelge 4.14. Kersetin-3-O-glukozit (RP 39-40 Prep 1A) ve Kersetin-3-O-galaktozit'in (RP 39-40 Prep 1B) ^1H -NMR spektrum değerleri (500 MHz, CD_3OD)

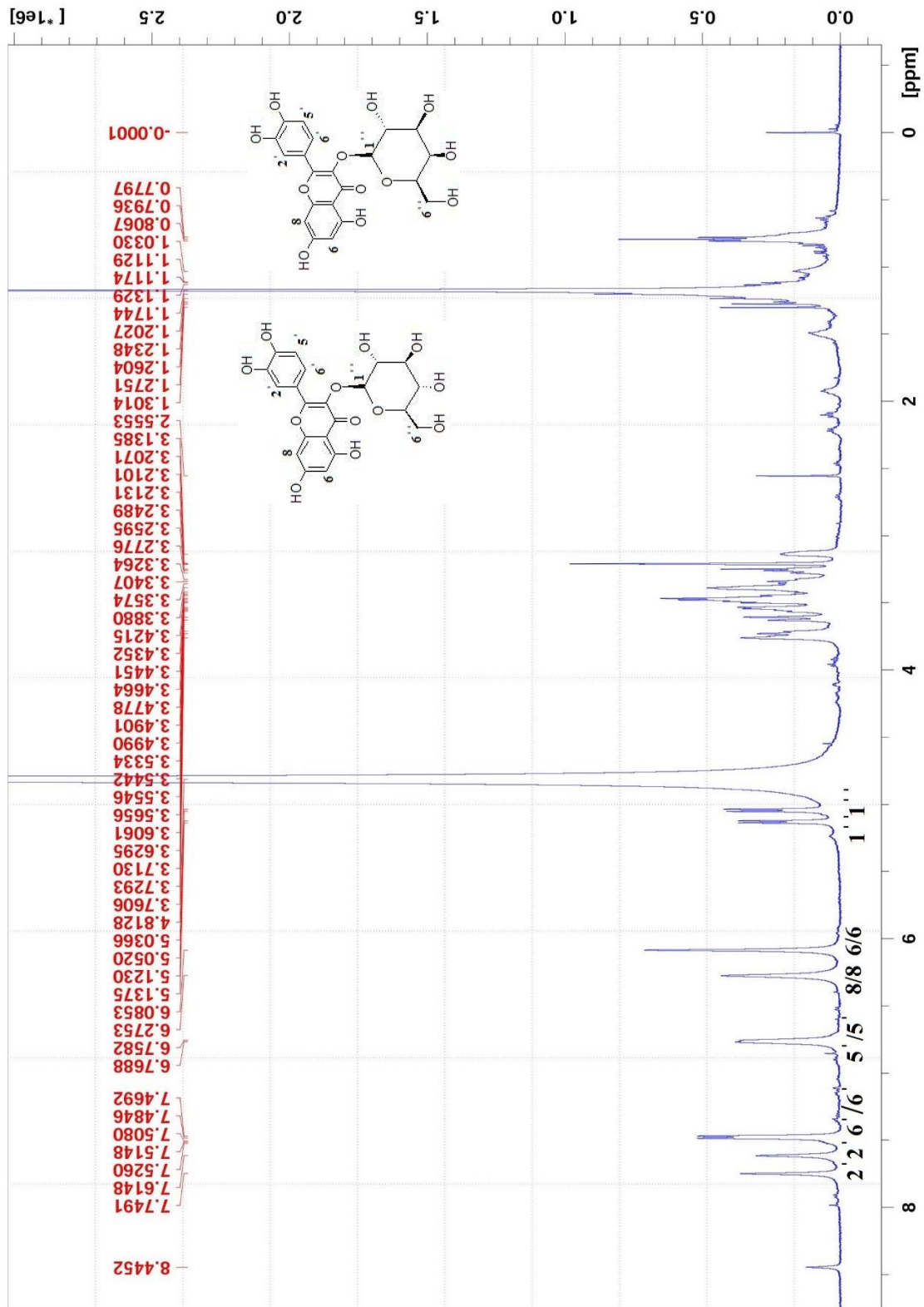
H-atomu	RP 39-40 Prep 1A δ (ppm)	J (Hz)	RP 39-40 Prep 1B δ (ppm)	J (Hz)
Aglikon				
6	6,08 Φ	Φ	6,04 d	Φ
8	6,27 Φ	Φ	6,21 Φ	Φ
2'	7,61 Φ	Φ	7,74 Φ	Φ
5'	6,76 d	Φ	6,76 d	Φ
6'	7,50 dd	Φ	7,50 dd	Φ
Glukoz 1''	5,13 d	7,3		
Galaktoz 1''			5,04 d	7,7

Φ Çözülemedi

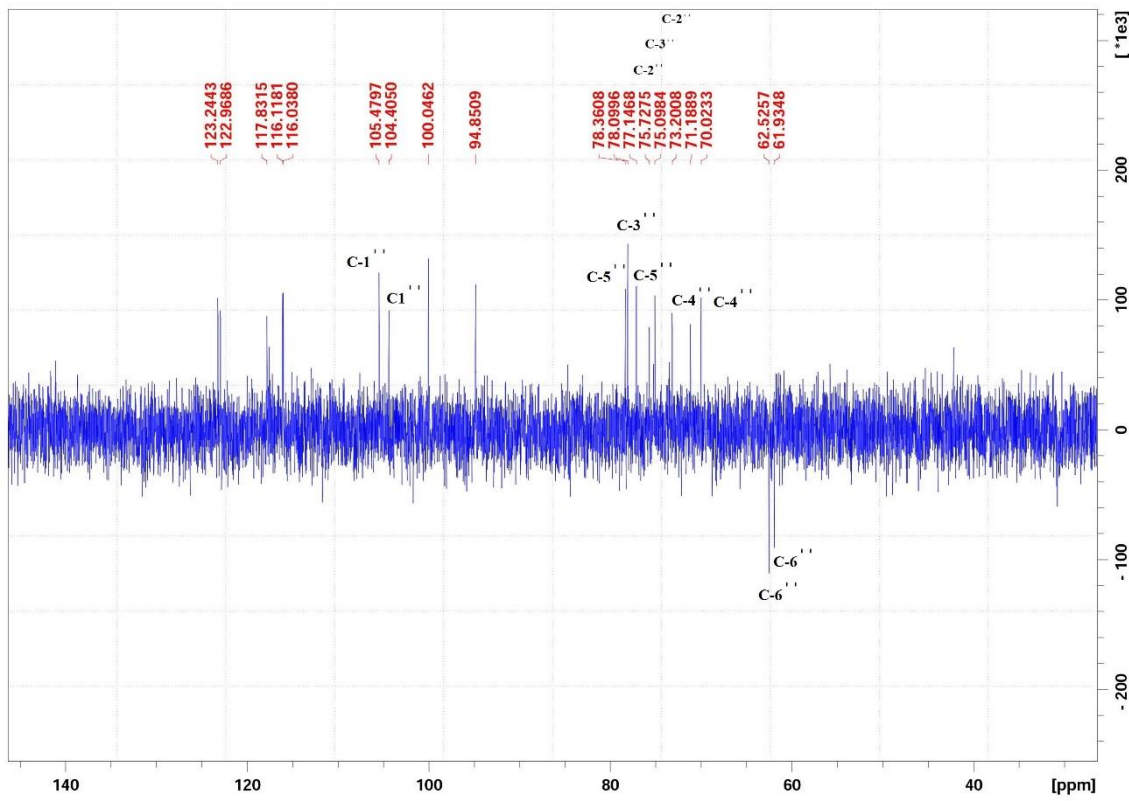
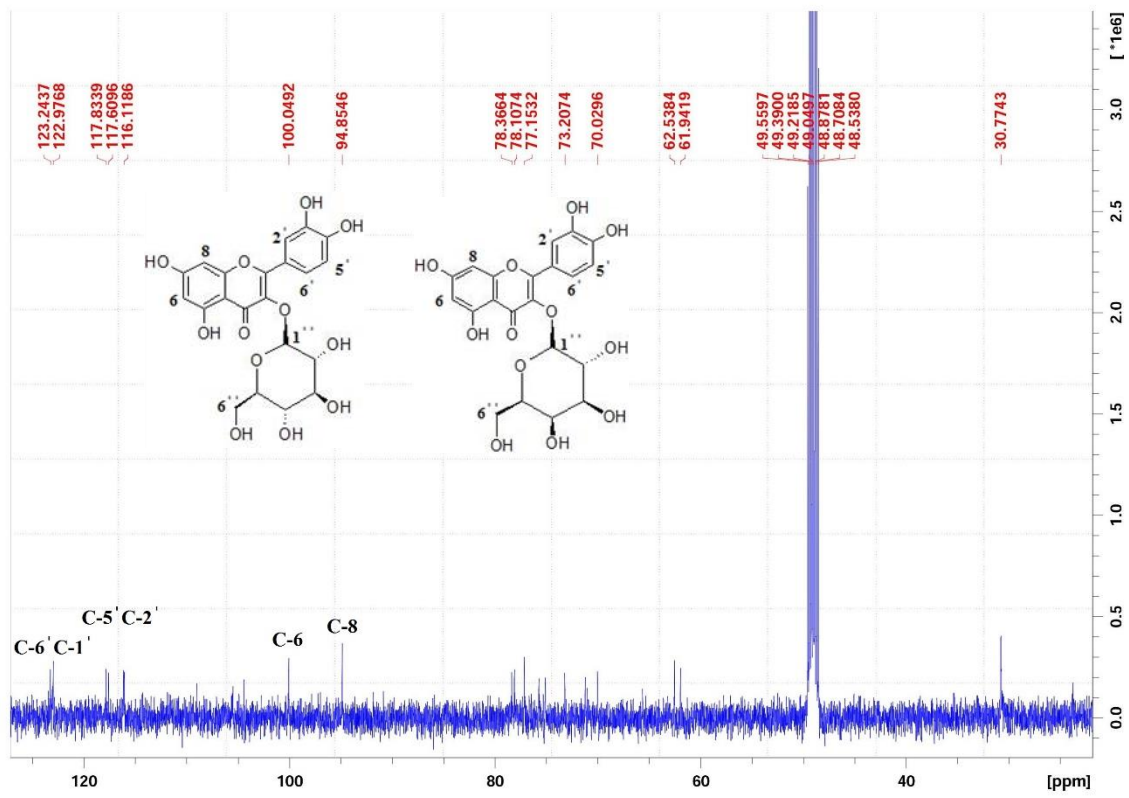
Çizelge 4.15. Kersetin-3-O-glukozit (RP 39-40 Prep 1A) ve Kersetin-3-O-galaktozit'in (RP 39-40 Prep 1B) ^{13}C -NMR spektrum değerleri (125 MHz, CD_3OD)

C atomu	RP 39-40 Prep 1A δ (ppm)	RP 39-40 Prep 1B δ (ppm)
Aglikon		
2	159 s	159 s
3	136 s	136 s
4	170 s	170 s
5	163 s	163 s
6	100,04 d	100,04 d
7	164 s	164 s
8	94,85 d	94,85 d
9	159 s	159 s
10	105 s	105 s
1 '	122,97 s	122,97 s
2 '	116,03 d	116,11 d
3 '	145 s	146 s
4 '	149 s	148 s
5 '	117,60 d	117,83 d
6 '	123,24 d	122,97 d
Glukoz		
1 ' '	104,40 d	
2 ' '	75,72 d	
3 ' '	78,09 d	
4 ' '	71,18 d	
5 ' '	78,36 d	
6 ' '	62,52 t	
Galaktoz		
1 ' '		105,47 d
2 ' '		73,20 d
3 ' '		75,09 d
4 ' '		70,02 d
5 ' '		77,14 d
6 ' '		61,93 t

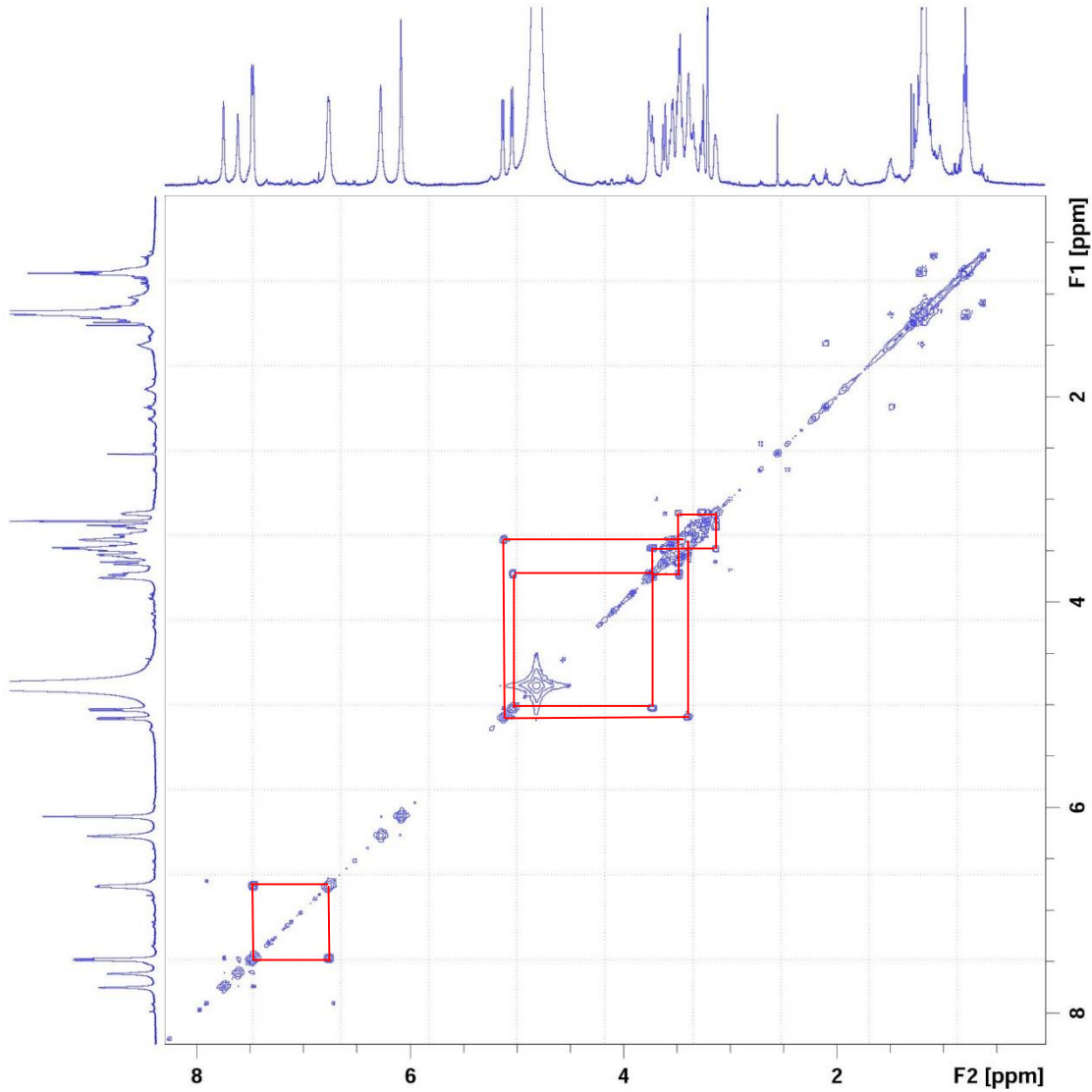
* Çözülemedi



Şekil 4.17. RP 39-40 Prep 1 kodlu fraksiyona ait ¹H-NMR spektrumu



Şekil 4.18. RP 39-40 Prep 1 kodlu fraksiyona ait ¹³C-NMR (üstte) ve DEPT (altta) spektrumları



Şekil 4.19. RP 39-40 Prep 1 kodlu fraksiyona ait ^1H - ^1H - COSY spektrumu

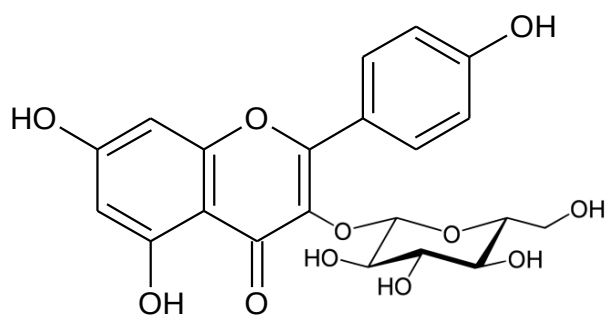
Kemferol-3-O-glukozit (RP 41-44 Prep 2)

RP 41-44 Prep 2 kodlu bileşiğin ^1H -NMR spektrum değerleri Çizelge 4.16'da verilmiştir. Spektrumda, aromatik bölgede bileşiğe ait toplam 6 protona karşılık gelen 4 sinyal görülmektedir [6,10 ppm ve 6,30 ppm, d, $J=1,7$ Hz (*m*-etkileşim), sırasıyla H-6 ve H-8; 6,79 ppm ve 7,98 ppm, d, $J=8,8$ Hz (*o*-etkileşim), sırasıyla H-3'/5' ve H-2'/6']. B halkasına ait rezonanslar *p*-süstitüe fenil grubu için karakteristiktir. Spektrumda 4,99 ppm'de (d, $J= 7,8$ Hz) gözlenen sinyalin anomerik oz protonuna ait olduğu düşünülmektedir. RP 41-44 Prep 2 kodlu bileşiğe ait ^1H -NMR spektrumu Şekil 4.21'de verilmiş ve bileşiğin kemferol-3-O-glukozit olduğu kanaatine varılmıştır (Akdemir ve diğerleri, 2001).

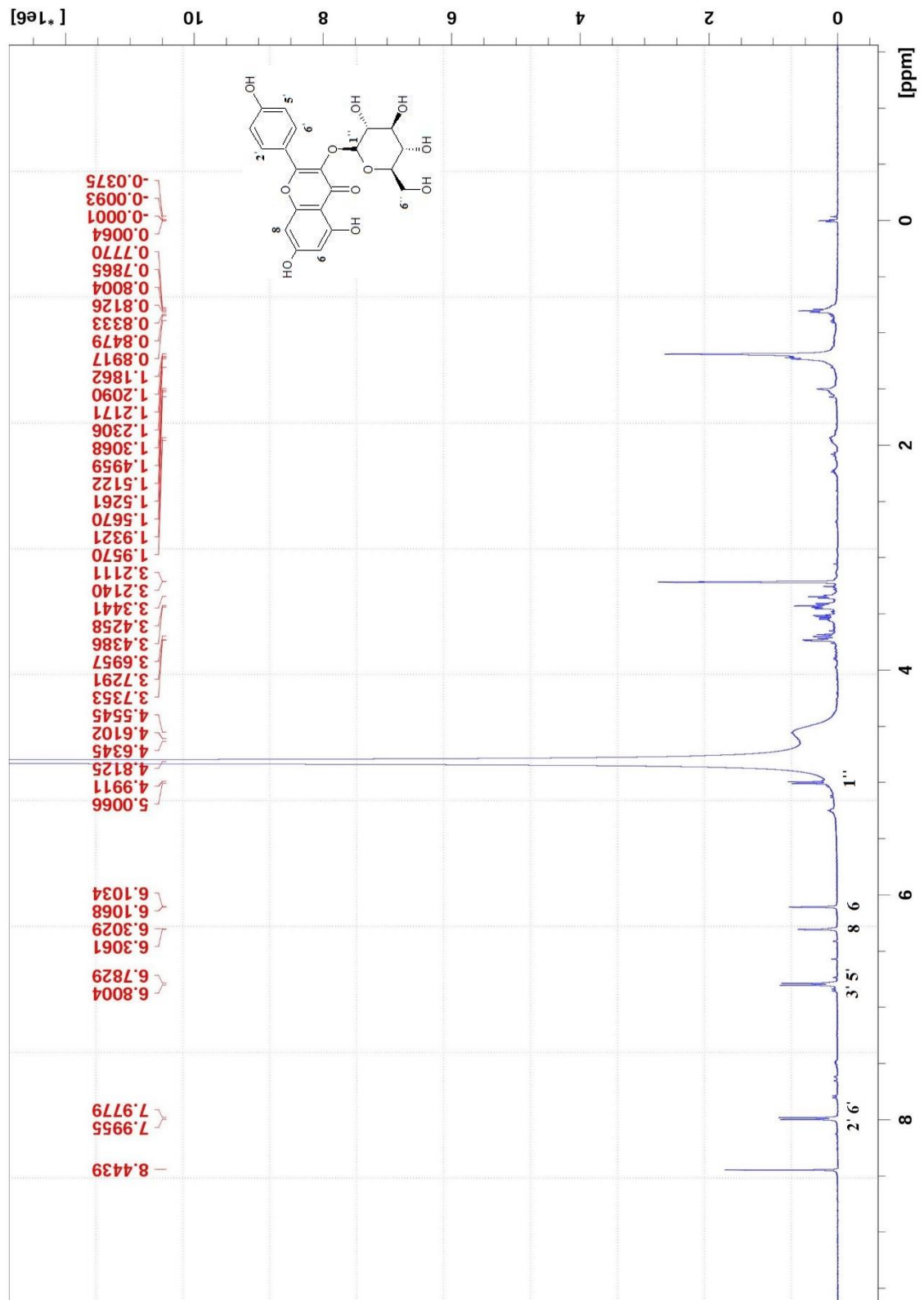
Çizelge 4.16. Kemferol-3-O-glukozit'in (RP 41-44 Prep 2) ^1H -NMR spektrum değerleri (500 MHz, CD_3OD)

H-atomu	δ (ppm)	J (Hz)
Aglikon		
6	6,10 d	1,7
8	6,30 d	1,7
2'	7,98 d	8,8
3'	6,79 d	8,8
5'	6,79 d	8,8
6'	7,98 d	8,8
Glukoz		
1 ''	4,99 d	7,8
2 ''	$\sim 3,45$ *	*
3 ''	3,43 *	*
4 ''	3,34 t	*
5 ''	3,21 *	
6 ''a	$\sim 3,53$ *	*
6 ''b	3,72 *	*

* Çözülemedi



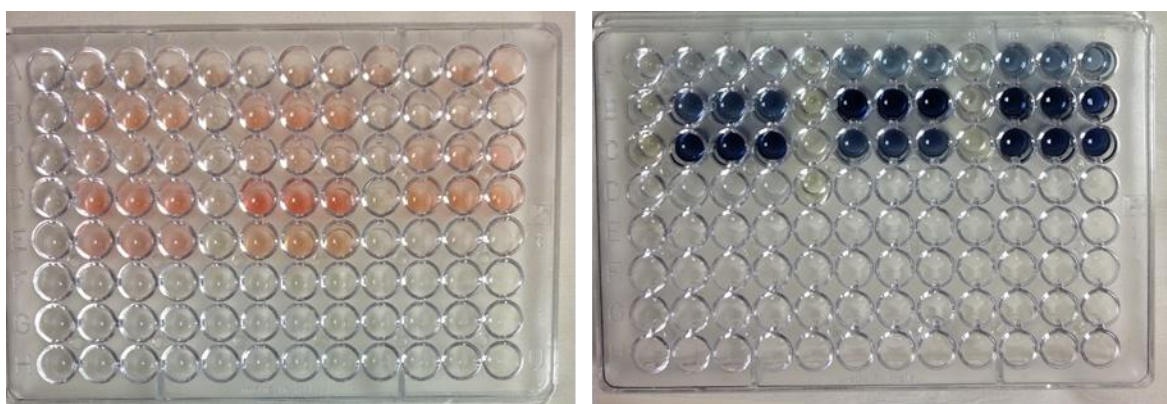
Şekil 4.20. Kemferol-3-O-glukozit



Şekil 4.21. RP 41-44 Prep 2 kodlu bileşiğe ait ^1H -NMR spektrumu

4.5. Mikroemülsiyon Formülasyonlarına Ait Bulgular

Tez çalışmamızda, üzüm çekirdeği ve yeşil çay etanol ekstreleri ve bu ekstreler ile hazırlanan mikroemülsiyon formülasyonlarına toplam fenol ve proantosiyanidin miktar tayini yöntemleri uygulanmıştır. Gallik asit üzerinden hesaplanan toplam fenol miktarına göre formüle edilebilen üzüm çekirdeği ekstresi miktarı % 59,48, yeşil çay ekstresi miktarı % 100, (+)-kateşin üzerinden hesaplanan toplam proantosiyanidin miktarına göre ise formüle edilebilen üzüm çekirdeği ekstresi miktarı % 63,45, yeşil çay ekstresi miktarı ise % 94,95 oranında bulunmuştur.

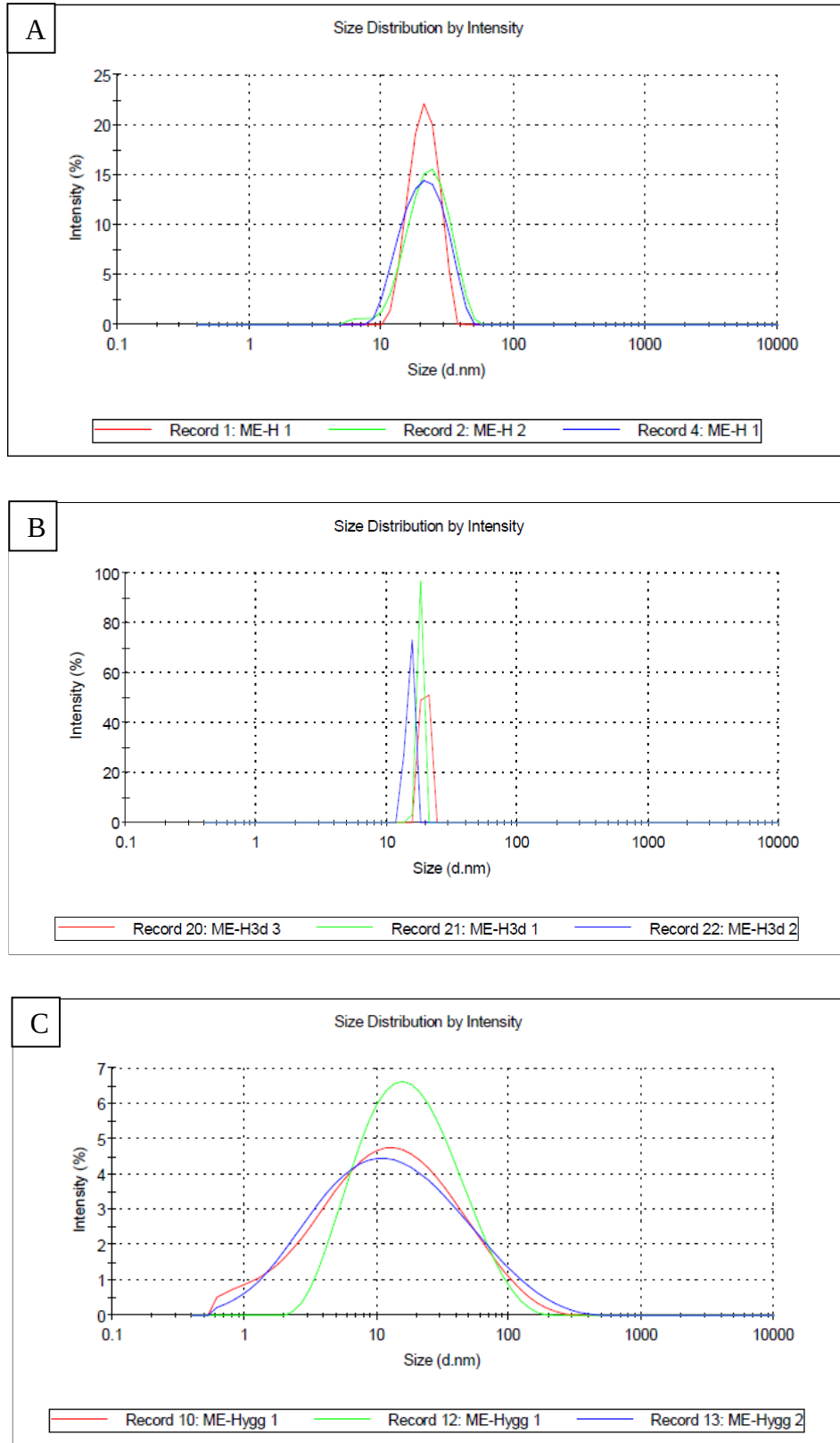


Resim 4.3. Mikroemülsiyon formülasyonlarına uygulanan toplam proantosiyanidin ve toplam fenol miktar tayini yöntemlerine ait mikrolaklar

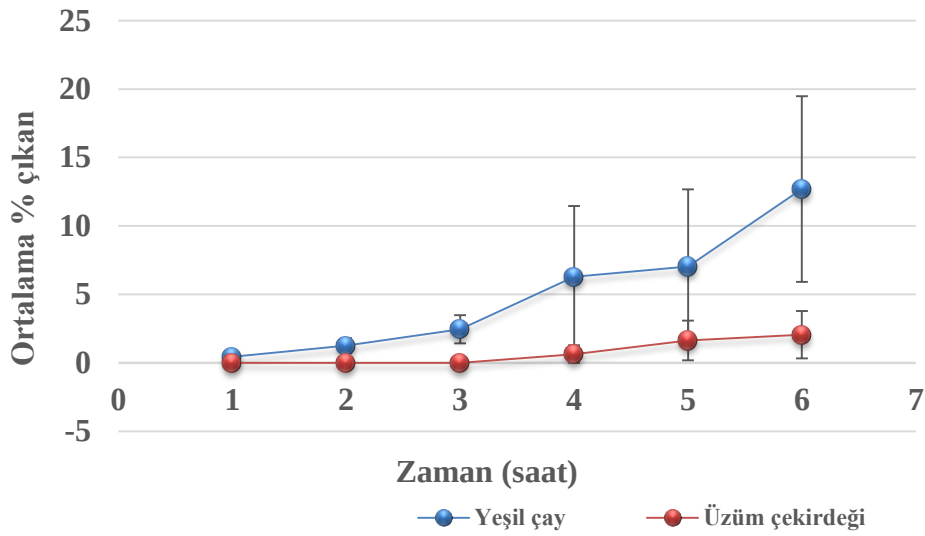
Hazırlanan mikroemülsiyonların ortalama damlacık büyüklüğü değerleri, dağılımları ve PDI değerleri Çizelge 4.17.'de, boş (kör), üzüm çekirdeği veya yeşil çay ekstresi içeren mikroemülsiyonların damlacık büyüklükleri (n=3) Şekil 4.22.'de, yeşil çay ve üzüm çekirdeği ekstresi içeren mikroemülsiyonlara ait salım verileri ise Şekil 4.23.'de verilmiştir. Yapılan analiz ile üzüm çekirdeği ekstresi ile hazırlanan mikroemülsiyon formülasyonundan 6 saat sonunda ortalama % $2,05 \pm 1,74$, yeşil çay ekstresi ile hazırlanan mikroemülsiyon formülasyonundan % $12,70 \pm 6,78$ salım gerçekleştiği tespit edilmiştir.

Çizelge 4.17. Mikroemülsiyonların ortalama damlacık büyüklüğü değerleri (nm), dağılımları ve PDI değerleri

Mikroemülsiyon	Damlacık Büyüklüğü ($\pm$ S.S., n=3)	PDI ($\pm$ S.S., n=3)
ME-H-Üzüm çekirdeği	$17,61 \pm 2,30$	$1,00 \pm 0,00$
ME-H-Yeşil çay	$23,98 \pm 1,86$	$0,316 \pm 0,173$



Şekil 4.22. Boş (A), üzüm çekirdeği (B) veya yeşil çay (C) ekstresi içeren mikroemülsiyonların damlacık büyüklükleri (n=3)



Şekil 4.23. Yeşil çay ve üzüm çekirdeği ekstresi içeren mikroemülsiyonlara ait salım verileri

4.6. Krem Formülasyonlarına Ait Bulgular

Cotinus coggyria ve *Maclura pomifera* ekstreleri kullanılarak geliştirilen krem formülasyonlarına (Resim 4.4.) ait stabilite raporları Şekil 4.24. ve Şekil 4.25.'de verilmiştir. Elde edilen sonuçlara göre, çalışılan şartlarda krem formülasyonlarının özelliklerinde önemli bir değişiklik saptanmamıştır ve krem formülasyonlarının stabil olduğu gözlenmiştir.



Resim 4.4. *Cotinus coggyria* ve *Maclura pomifera* ekstreleri kullanılarak hazırlanan krem formülasyonlarına ait prototip ürün örneği görselleri

 VIVATINELL UNITED KINGDOM UNITED TRADING HALL TRADING ESTATE BRADLEY LANE, SANDHURST, WINDING, WINDING	STABILITY TESTING Ambient Conditions	Page No: 1/ 1 Revision No:00
---	---	---------------------------------

Product Name : Vitabell SPF 30 Anti-Aging Cream
 Active Ingredients : SPF 30 (UVB)
 Lot Number : 001
 Manufacture Date/Place : 08/2015
 Stability Testing Start Date : 08/2015
 Package : 50 mL HDPE Airless Tubes

Stability Testing Conditions;
 Temperature : 25 °C ± 2 °C
 Relative Humidity : 60 % RH ± 5 %
 Stability Testing Termination Date: 08/2018

Tests	Specifications	Results								
		Initial	M 1	M3	M6	M12	M18	M24	M30	M36
Appearance	Light green homogenous cream	Comply	Comply	Comply						
Filling Weight	48,5 - 51,5 g	50,3	50,1	50,3						
pH	5,0 – 7,0	5,61	5,63	5,63						
Density	1,0 g/mL ± 0,1	1,01	1,01	1,00						
Viscosity	Max 10000 cP (Sp7, 100 rpm, 25°C)	8147	8164	8203						
SPF 30 (UVB)	Not Less Than 30	30,7	30,2	31,3						
Day light Exposure	ASTM D4303-10. <2.3 ΔE Not Noticeable	Not Noticeable	Not Noticeable	Not Noticeable						
Freeze Thaw Cycle	3 cycles Stability	Comply	Comply	Comply						
Microbiologic Limits	EU Pharm.	Comply	Comply	Comply						

Prepared by Quality Control Lab. Manager	Controlled by Quality Assurance Staff	Approved / Imprint Quality Assurance Manager	Revision Date of this form: 11/2008
			Revision No: 01

 VIVATINELL UNITED KINGDOM UNITED TRADING HALL TRADING ESTATE BRADLEY LANE, SANDHURST, WINDING, WINDING	STABILITY TESTING Accelerated Conditions	Page No: 1/ 1 Revision No:00
---	---	---------------------------------

Product Name : Vitabell SPF 30 Anti-Aging Cream
 Active Ingredients : SPF 30 (UVB)
 Lot Number : 001
 Manufacture Date/Place : 08/2015
 Stability Testing Start Date : 08/2015
 Package : 50 mL HDPE Airless Tubes

Stability Testing Conditions;
 Temperature : 45 °C ± 2 °C
 Relative Humidity : 75 % RH ± 5 %
 Stability Testing Termination Date: 08/2018

Tests	Specifications	Results								
		Initial	M 1	M3	M6	M12	M18	M24	M30	M36
Appearance	Light green homogenous cream	Comply	Comply	Comply						
Filling Weight	48,5 - 51,5 g	50,3	50,0	50,1						
pH	5,0 – 7,0	5,61	5,67	5,69						
Density	1,0 g/mL ± 0,1	1,01	1,00	1,00						
Viscosity	Max 10000 cP (Sp7, 100 rpm, 25°C)	8147	8303	8257						
SPF 30 (UVB)	Not Less Than 30	30,7	31,2	31,4						
Day light Exposure	ASTM D4303-10. <2.3 ΔE Not Noticeable	Not Noticeable	Not Noticeable	Not Noticeable						
Freeze Thaw Cycle	3 cycles Stability	Comply	Comply	Comply						
Microbiologic Limits	EU Pharm.	Comply	Comply	Comply						

Prepared by Quality Control Lab. Manager	Controlled by Quality Assurance Staff	Approved / Imprint Quality Assurance Manager	Revision Date of this form: 11/2008
			Revision No: 01

ELECTRONIC COPY

Şekil 4.24. *C. coggyria* ekstresi içeren kırışıklık karşıtı krem formülasyonuna ait stabilite raporları

 VIVATIPELL UNITED KINGDOM UNIT 18, REARLEY HALL TRADING ESTATE, REARLEY LANE, STANBISH, WIGAN, WINDYBAGL	STABILITY TESTING Ambient Conditions	Page No: 1/ 1 Revision No:00

Product Name : Vitabell SPF 30 Skin-Whitening Cream
 Active Ingredients : SPF 30 (UVB)
 Lot Number : 002
 Manufacture Date/Place : 08/2015
 Stability Testing Start Date : 08/2015
 Package : 50 mL HDPE Airless Tubes

Stability Testing Conditions;
 Temperature : 25 °C ± 2 °C
 Relative Humidity : 60 % RH ± 5 %

Stability Testing Termination Date: 08/2018

Tests	Specifications	Results								
		Initial	M 1	M3	M6	M12	M18	M24	M30	M36
Appearance	Light green homogenous cream	Comply	Comply	Comply						
Filling Weight	48,5 - 51,5 g	50,3	50,1	50,3						
pH	5,0 – 7,0	5,65	5,67	5,68						
Density	1,0 g/mL ± 0,1	1,01	1,01	1,01						
Viscosity	Max 10000 cP (Sp#7, 100 rpm, 25°C)	7103	7187	7240						
SPF 30 (UVB)	Not Less Than 30	31,8	31,6	31,9						
Day light Exposure	ASTM D4303-10. <2.3 ΔE Not Noticeable	Not Noticeable	Not Noticeable	Not Noticeable						
Freeze Thaw Cycle	3 cycles Stability	Comply	Comply	Comply						
Microbiologic Limits	EU Pharm.	Comply	Comply	Comply						

Prepared by Quality Control Lab. Manager	Controlled by Quality Assurance Staff	Approved / Imprint Quality Assurance Manager	Revision Date of this form: 11/2008
			Revision No: 01

 VIVATIPELL UNITED KINGDOM UNIT 18, REARLEY HALL TRADING ESTATE, REARLEY LANE, STANBISH, WIGAN, WINDYBAGL	STABILITY TESTING Accelerated Conditions	Page No: 1/ 1 Revision No:00

Product Name : Vitabell SPF 30 Skin-Whitening Cream
 Active Ingredients : SPF 30 (UVB)
 Lot Number : 002
 Manufacture Date/Place : 08/2015
 Stability Testing Start Date : 08/2015
 Package : 50 mL HDPE Airless Tubes

Stability Testing Conditions;
 Temperature : 45 °C ± 2 °C
 Relative Humidity : 75 % RH ± 5 %

Stability Testing Termination Date: 08/2018

Tests	Specifications	Results								
		Initial	M 1	M3	M6	M12	M18	M24	M30	M36
Appearance	Light green, homogenous cream	Comply	Comply	Comply						
Filling Weight	48,5 - 51,5 g	50,3	50,0	50,1						
pH	5,0 – 7,0	5,65	5,71	5,70						
Density	1,0 g/mL ± 0,1	1,01	1,01	1,01						
Viscosity	Max 10000 cP (Sp#7, 100 rpm, 25°C)	7103	7245	7387						
SPF 30 (UVB)	Not Less Than 30	31,8	31,5	31,4						
Day light Exposure	ASTM D4303-10. <2.3 ΔE Not Noticeable	Not Noticeable	Not Noticeable	Not Noticeable						
Freeze Thaw Cycle	3 cycles Stability	Comply	Comply	Comply						
Microbiologic Limits	EU Pharm.	Comply	Comply	Comply						

Prepared by Quality Control Lab. Manager	Controlled by Quality Assurance Staff	Approved / Imprint Quality Assurance Manager	Revision Date of this form: 11/2008
			Revision No: 01

ELECTRONIC COPY

Şekil 4.25. *M. pomifera* ekstresi içeren leke giderici krem formülasyonuna ait stabilite raporları

5. TARTIŞMA

Bitkiler, geleneksel olarak tedavide kullanımları nedeniyle potansiyel yeni ilaç adaylarının geliştirilmesi için henüz çoğu keşfedilmemiş çok zengin bir kaynak oluşturmaktadır. Aynı şekilde cilt bakımı için kozmetik ürün geliştirilmesinde de, yine bitkilerin geleneksel kullanımlarından yararlanılabilmektedir (K. H. Wang ve diğerleri, 2006). Kozmetik ürünlerde bitkisel kaynaklı ekstrelerin veya bitkilerden elde edilen saf maddelerin kullanımı son yıllarda oldukça önem kazanmıştır. Kozmetik ürünler kullanım amaçlarına göre temizleyiciler, nemlendirici ve yumuşatıcılar, besleyiciler, kırışıklık gidericiler, leke gidericiler, bronzluk vericiler, güneşten koruyucular ve bebek kozmetikleri olarak sınıflandırılabilir. Bu tip ürünler incelendiğinde, birçoğunun içeriğinde bitkisel ekstrelerin bulunduğu gözlenmektedir. Bu nedenle doktora tez çalışmalarımız kapsamında bilimsel anlamda etkinlikleri kanıtlanmış kırışıklık giderici ve leke giderici kozmetik ürün geliştirilmesi üzerine odaklanılmıştır. Cilt, tekrarlanan güneş maruziyeti ile serbest radikaller veya reaktif oksijen türlerini üretir ve bu yapılar bağ dokunun dermal ve epidermal tabakalarında oksidatif stres ile enflamatuvar cevaplar oluşmasına neden olur. Bunun sonucunda da yaşlanma ve hücre membranında, DNA, lipit ve proteinlerde hasar meydana gelir (Nema ve diğerleri, 2011). Yapılan son çalışmalar da fotoyaşlanmış ciltler gibi enflamasyonlu ciltlerde ve ilerleyen yaş ile birlikte MMP'ların tetiklendiğini ve kolajen, elastin gibi dermal proteinlerin yıkılarak cilt hasarı ve kırışıklık meydana geldiğini göstermiştir (Sin ve Kim, 2005; Xu, Ryoo, Kim, Choo ve Yoo, 2009). Bitkisel kaynaklı leke açıcı ürünlerin geliştirilmesinde de, ilk hedef melanin üretimini sağlayan TYR enzim inhibitörlerini araştırmaktır (Issa ve diğerleri, 2008). Bu bilgiler ile paralel olarak, tez çalışmamızın temel hedefi de bilimsel zeminde etkisi kanıtlanmış, yeni bir anti-aging kozmetik ürün geliştirilmesi olduğundan, ön taramamızda bitkisel ekstrelerin anti-elastaz, anti-kolajenaz ve anti-TYR etkileri ve yanı sıra antioksidan etkileri araştırılmıştır. Çünkü günümüzde pek çok laboratuvar da cilt bakım ürünlerinin Ar-Ge çalışmalarında bu yöntemler kullanılmaktadır.

Elde ettiğimiz sonuçlar incelendiğinde enzim inhibisyonu yaptığı saptanan bitki türlerinin geleneksel kullanımları ile genellikle örtüştüğünü ve cilt ile ilgili kullanımlarına yönelik kayıtları olduğu görülmektedir. BAYF işlemi için tercih edilen ve uçucu yağı INCI'de (International Nomenclature of Cosmetic Ingredients) kayıtlı olan *Cotinus coggyria* Scop. bitkisinin Rusya'da cilt hastalıklarının tedavisinde kullanıldığı ve bunun yanı sıra yara iyi

edici özellikte olduğu ve cilt elastikiyetini arttırmak amacıyla kullanıldığına dair kayıtlar mevcuttur (Savikin ve diğerleri, 2009; Stanić ve diğerleri, 2011). Yapılan literatür araştırmalarında görüldüğü üzere bitki flavonoidler bakımından zengin olup, bizim de BAYF işlemi ile bu türden izole ettiğimiz bileşiklerden kersetin-3-O-glukozit (izokersitrin) ve kersetin-3-O-galaktozit'in (hiperozit) flavonoid yapısında olması bu bilgiyi doğrulamaktadır. Flavonoidlerin cilt enflamasyonuna karşı etkili olduğu, etki mekanizmalarından birisinin de lipooksijenaz gibi arakidonik asit metabolizmasında rol oynayan enzimleri inhibe ederek enflamasyonlu bölgede eikozanoit miktarını azaltmaları olduğu bildirilmiştir. İzole edilen bileşiklerin miktarının çok az olması, sadece yapı tayinine imkan sağlamış ve enzim inhibisyon testleri uygulanamamıştır. Fakat yapılan çalışmalar farklı kimyasal gruplardan flavonoidlerin değişik tipte MMP'ları ve TYR enzimini inhibe ettiğini göstermiştir (İ. E. Orhan ve Khan, 2014). Bazı flavon, flavanon, flavonol ve izoflavon yapısındaki bileşiklerin kolajenaz enzim inhibisyonu potansiyellerinin araştırıldığı bir çalışmada (Sin ve Kim, 2005), flavonol yapısındaki bileşiklerin, flavon ve izoflavon yapısındaki bileşiklere göre daha güçlü inhibisyon gösterdikleri saptanmış, C-3 konumundaki -OH grubunun etki için önemli olabileceği kanısına varılmıştır. Test edilen flavonoidler arasında, en yüksek inhibisyonu kersetin göstermiştir. Aynı araştırma grubunun sentetik flavon türevlerinin kolajenaz inhibitör etkilerini araştırdıkları bir başka çalışmada ise, çoğu A ve B halkasında hidroksil, metoksil, metilsülfürid ve/veya kloro süstitüe olan bileşiklerin kolajenaz inhibisyonu saptanmamış, sadece 2 sentetik flavon türevi (3',4'-dihidroksiflavon ve 5-hidroksi-4'-metoksiflavon) zayıf kolajenaz inhibitör etki göstermiştir (H. Park, Sin ve Kim, 2006).

Tilia taquetii C. K. Schneid. yaprak ekstresinde bulunan bazı bileşiklerin kırışıklık karşıtı etkilerini araştırmak amacıyla MMP-1 ve insan nötrofil elastazına karşı muhtemel inhibitör etkileri test edilmiştir (S. Y. Kim, Kim, Bu, Hyun ve Lee, 2014). Taranan bileşiklerden arjunolik asit MMP-1 inhibisyonu gösterirken, maslinik asit'in hem elastaz, hem de MMP-1 enzimlerini inhibe ettiği tespit edilmiştir. *Thuja orientalis* L. meyvesinden izole edilen flavonoidlerin serbest radikal süpürücü ve elastaz inhibisyonu etkilerinin araştırıldığı bir başka çalışmada ise kupressuflavon, amentoflavon ve robustaflavon gibi biflavonoid yapısındaki bileşiklerde önemli ölçüde elastaz inhibisyonu tespit edilmiştir (Xu ve diğerleri, 2009). Bir başka çalışmada da, *Drosera madagascariensis* DC.'den hareketle hazırlanan etanol ekstresinin insan nötrofil elastaz inhibitör etkisi saptanmış, ancak ekstrenin bileşiminde bulunan naftakinonların enzimi inhibe etmediği tespit edilmiştir. Bitkiden izole edilen kersetin ve tez çalışmamızda da izole ettiğimiz hiperozit ve izokersitrin'in enzim

inhibisyonuna neden olduğu gözlenmiştir (Melzig, Pertz ve Krenn, 2001). *Achillea millefolium* L.'un % 20'lik metanol ekstresinin, % 48,8 dikafeoilkinik asit içeren fraksiyonu ile apigenin-7-O-glukozit, rutin ve luteolin-7-O-glukoziti ana bileşenler olarak içeren % 11,1 flavonoit içeren fraksiyonunun doz-bağımlı olarak insan nötrofil elastaz inhibisyonuna yol açtığı tespit edilmiştir. Ana ekstre ve flavonoit fraksiyonu eşit derecede, dikafeoilkinik asit fraksiyonu ise daha düşük etki göstermiştir. Ana ekstrede bulunan flavonoitlerin de % 20'den düşük elastaz inhibisyonu gösterdikleri saptanmıştır. Flavonoitlerin elastaz inhibisyonuna katkısının düşük olduğu anlaşıncaya, seskiterpen lakton olan ve yine ana ekstre ve fraksiyonda bulunan deasetilmatrikarin'in elastaz inhibitör potansiyeli araştırılmış, sonuç olarak inhibisyona etkisinin olduğu, fakat etkiden sorumlu ana bileşik olmadığı anlaşılmıştır. Sonuçlar ile beklenildiği gibi, ana ekstrenin fraksiyonlanmasının proteaz inhibitör etkiyi arttırmadığı, ana ekstrenin yol açtığı inhibisyonun da bitkide bulunan bileşenlerin sinerjik etkisi ile oluşabileceği yorumu yapılmıştır. Yine aynı çalışmada, ekstrenin ve fraksiyonların MMP-2 ve MMP-9 inhibitör etkileri araştırılmış ve dikafeoilkinik asit fraksiyonunun iki enzime karşı da daha yüksek inhibisyon gösterdiği tespit edilmiştir (Benedek ve diğerleri, 2007). Bir başka çalışmada da, *Cornus kousa* Bürger ex Miq. köklerinden hazırlanan metanol ekstresinden izole edilen triterpen yapısındaki betulinik ve maslinik asit ile 2-hidroksinaringenin-7-O- β -D-glukopiranozit adlı flavonoit, elastazı referans olarak kullanılan oleanolik asit'e yakın oranda inhibe etmişlerdir (Sultana ve Lee, 2007). Bitkilerden elde edilen 40 fenolik bileşiğin muhtemel nötrofil elastaz inhibisyonunun araştırdığı çalışmada (Melzig, Loser ve Ciesielski, 2001), en güçlü inhibisyonu özellikle kateşol yapısı taşıyan flavonoitlerin gösterdikleri saptanmıştır. Taranan bileşikler arasında en yüksek inhibisyona hiperozit yol açmıştır. Ayrıca lipofilik karakterdeki kafeik asit esterleri ve kateşol yapısı taşıyan bileşiklerin enzimi inhibe etme yeteneği yüksek görünmektedir. Leu ve diğerleri tarafından *Malus doumeri* A. Chev. var. *formosana* (Kawak. & Koidz.) S.S. Ying. yapraklarının sulu-aseton ekstresinden fenolik yapıda bileşikler izole edilmiş ve bunların arasında dihidrokalkon yapısındaki filoretin ve 3-hidroksifiloretin oldukça yüksek elastaz inhibisyonu göstermesine rağmen, B halkasında 3-hidroksil taşıyan diğer iki dihidrokalkon ile anti-elastaz aktivite saptanamamıştır. Bu nedenle kateşol yapısının elastaz inhibisyonuna olumlu bir etki göstermediği sonucuna varılmıştır. (Leu ve diğerleri, 2006). *Rubus sanctus* Schreb. bitkisinin yara iyi edici etkisini araştırmak amacıyla yapılan bir çalışmada, değişik polaritedeki ekstrelerin hyaluronidaz, kolajenaz ve elastaz enzim inhibisyonları araştırılmıştır. Bitkiden hazırlanan metanol ekstresi aktivite-yönlendirmeli fraksiyonlama işlemine tabi tutulmuş ve izole edilen hiperozit'in elastaz ve

kolajenazı inhibe ederek, yara iyi edici etkiden sorumlu olduğu ifade edilmiştir (Akkol, Süntar, İlhan ve Aras, 2015).

Flavonoitler dışında farklı sekonder metabolit gruplarının da bahsi geçen enzimlere karşı inhibe edici etkileri araştırılmıştır. Bir çalışmada, *Viola yedoensis* Makino bitkisinden kolajenaz enzimini inhibe eden eskuletin ve skopoletin izole edilmiş, küçük O-alkil gruplarının aktivite için gerekli olduğu ve büyük O-alkil grupların etkiyi düşürdükleri gözlenmiştir (Oshima ve diğerleri, 2013). Bir başka çalışmada, yeşil çay kateşinlerinin etkili proteaz inhibitörleri olduğu bilgisine dayanarak, beyaz çaydan hareketle hazırlanan infüzyonun yüksek elastaz ve kolajenaz inhibisyonu yaptığı gösterilmiştir (Demeule, Brossard, Page, Gingras ve Beliveau, 2000; Thring ve diğerleri, 2009). Beyaz çaydan elde edilen ekstre EGCG'dan yüksek kolajenaz inhibisyonu göstermiş, kolajenaz inhibisyonunda beyaz çayda bulunan kateşinlerin sinerjik etki gösterdiği sonucuna varılmıştır. Ayrıca kolajenaz bakır içeren bir metalloproteinaz olduğu için çay ekstresinde bulunan metal şelasyon özellikteki kateşinlerin enzimdeki bakır iyonuna bağlanarak substrata bağlanmasını engelleyebileceği kanısına varılmıştır. *Callistemon lanceolatus* (Sm.) Sweet köklerinin elastaz enzimini yüksek oranda inhibe ettiği tespit edilmiş ve ana ekstreten elde edilen etil asetat fraksiyonu BAYF işlemine tabi tutulmuştur (J. H. Kim ve diğerleri, 2009). Sonuç olarak, triterpen yapısındaki üç madde ile flavonoit türevi olan kateşin ve piseatannol izole edilmiş, triterpen yapısındaki pirakrenik asit oleanolik asit'ten 2 kat daha yüksek elastaz inhibisyonu göstermiştir. *Areca catechu* L. ekstresinden izole edilen CC-517 kodlu fenolik yapıda bir bileşik, oleanolik ve ursolik asit'ten daha yüksek elastaz inhibisyonu göstermiş ve hidroksil veya karboksil gibi bir hidrofilik grubun inhibisyonu olumlu yönde etkileyebileceği sonucuna varılmıştır (K.K. Lee ve diğerleri, 2001). *Glycyrrhiza glabra* L. köklerinden elde edilen ester yapısındaki iki adet kafeik asit türevi olan eikosanil kafeat ve dokosil kafeat, yüksek oranda elastaz inhibisyonuna neden olduğu bildirilmiştir (Dey ve diğerleri, 2009). Bir başka çalışmada, *Hedyotis diffusa* Willd. metanol ekstresinden iridoit glikozit yapısında 5 adet bileşik izole edilmiş, bunlar arasından E-6-O-p-metoksisinnamoil skandozit metil ester önemli ölçüde insan nötrofil elastaz enzim inhibisyonu göstermiştir. Bu bileşik ile yapılan moleküler modelleme çalışmasında, bileşiğin aromatik halkasında bulunan p-metoksi grubunun Arg177'nin yan zincir nitrojen atomu ile hidrojen bağı yaptığı gözlenmiştir. Sonuç olarak p-metoksi grubu ile oluşan hidrojen bağının, enzime bağlanmak için önemli olabileceği düşünülmüştür (Xu ve diğerleri, 2010).

Bizim de BAYF işlemi ile izole ederek yapısını teşhis ettiğimiz metil gallat'ın ve farklı alkil zincirleri taşıyan gallik asit türevlerinin daha önceki çalışmalarda TYR, hyaluronidaz ve kolajenaz enzim inhibisyonları araştırılmıştır. Barla ve diğerleri tarafından yapılan bir çalışmada, gallik asit, kolajenaz enzimini inhibe ederken, gallik asit'in kısa zincirli alkil esterlerinde (C₁-C₄) inhibisyon saptanmamıştır. Daha uzun alkil zinciri taşıyan esterler (C₆-C₉) ise kolajenaz ve hyaluronidaz'a karşı yüksek inhibisyon göstermiştir (Barla ve diğerleri, 2009). Bir başka çalışmada ise metil gallat ve kersitrin, referans olarak kullanılan arbutin'den daha yüksek TYR enzimi inhibe edici etki göstermelerine rağmen, elastaz enzimini inhibe etmemiştir (Ko ve diğerleri, 2011).

Antioksidan etkili maddeler kozmetik formülasyonlarda, ciltteki endojen oksidanların zararlarını bertaraf etmek ve formülasyonda oluşabilecek oksidasyonu önlemek için mutlaka kullanılmaktadır. Ancak çoğu, yapısal olarak stabil olmayıp, formülasyonlarda sıkıntı yaratabilmektedir. Bitkisel ekstraktlar ise karışım halinde içerdikleri doğal bileşenlerin sıklıkla sinerjik etki göstermesi ve toksisitelerinin nispeten daha az olması nedeniyle, sentetik antioksidanlardan daha çok tercih edilmektedir. Antioksidan etkili molekülün, etkili formuyla emilip hedef tabakalara ulaşabilmesi için geliştirilen formülasyonların da bazı özelliklere sahip olması gerekmektedir. Bu nedenle klasik formülasyonlardan farklı formülasyonların hazırlanması gereği duyulmuştur. Derideki antioksidan savunma ağının, enzimatik ve enzimatik olmayan mekanizmalardan oluşması nedeniyle, tek bir antioksidan içeren kozmesötik ürünün, derinin antioksidan savunma sistemini taklit edemeyeceği, dolayısıyla birkaç antioksidanın birlikte kullanılmasının daha etkili olacağı düşünülmektedir (Kusumawati ve Indrayanto, 2013; Tırnaksız, 2005).

Antioksidan etkilerini farklı yöntemler ile araştırdığımız ekstraktlardan *Arbutus unedo* L. yaprak ve meyvelerinden, *Olea europaea* L. yapraklarından, *Punica granatum* L. çiçeklerinden, *Rosa canina* L. çiçekli dallarından, *Rosmarinus officinalis* L. ve *Salvia fruticosa* Mill. toprak üstü kısımlarından ve *Vitis vinifera* L. tohumlarından hareketle hazırlanan ekstraktların, kullanılan referanslar ile kıyaslandığında önemli ölçüde DPPH, DMPD ve NO süpürücü etkileri olduğu tespit edilmiştir. Aynı ekstraktların ve *Camellia sinensis* (L.) Kuntze yapraklarından hazırlanan ekstraktların FRAP, PRAP ve CUPRAC yöntemlerinde de etkili olduğu saptanmıştır. *Citrus* L. türlerinden elde edilen ekstraktların ise NO süpürücü etkileri orta veya yüksek derecede bulunmuştur. Metal şelasyon etki tayini sonuçları incelendiğinde *Aloe vera* L. yapraklarından ve *Passiflora incarnata* L. toprak üstü

kısımlarından elde edilen ekstrelerin dikkate değer etkiye sahip oldukları saptanmıştır (sırasıyla % $81,93 \pm 0,27$ ve % $91,27 \pm 0,89$). *Cotinus coggia* Scop. pedisel ve yapraklarından, *Pistacia vera* L. kabuklarından ve *Persea americana* Mill. tohumlarından hazırlanan ekstreler ve propolis FRAP yönteminde, referans olarak kullanılan kersetine göre daha yüksek etki göstermiştir. Spektrofotometrik olarak belirlenen toplam fenol ve flavonoid miktarları ve antioksidan aktivite sonuçları arasında da genel olarak doğrusal bir ilişki gözlenmiştir. Bu sonuçlar göz önüne alındığında, enzim inhibisyonu saptanan bitki ekstreleri ile hazırlanan kozmetik formülasyonlara, antioksidan etkili sentetik bileşikler yerine çeşitli mekanizmalar ile antioksidan etkisi saptanan bitkisel ekstrelerin kullanımının uygun olacağı söylenebilir.

Mikroemülsiyonlar, konvansiyonel ilaç formülasyonlarına göre hem hidrofilik, hem lipofilik bileşenlerin perkütan absorpsiyonu arttırmaktadır (Kreilgaard, 2002). Kersetin ve hesperidin gibi bazı flavonoidler de kozmesötik preparatlarda kullanılmak üzere mikroemülsiyon formülasyonları ile enkapsüle edilmiş, polifenolik bileşiklerin biyoyararlanımını arttırmak amacıyla nanopartiküller ve lipozomlar hazırlanmıştır (M. H. Lee, Kao ve Lin, 2011). Yapılan çalışmalar ile *Mangifera indica* L., *Boswellia serrata* Roxb. ve *Polygonum cuspidatum* Willd. ex Spreng bitkilerinden hareketle hazırlanan ekstrelerin mikroemülsiyon formülasyonları geliştirilmiş ve *in vitro* deriden geçirgenlik testlerinde olumlu sonuçlar alınmıştır (Gohel, Soni, Hingorani, Patel ve Patel, 2014; Leanpolchareanchai, Padois, Falson, Bavovada ve Pithayanukul, 2014; M. H. Lee ve diğerleri, 2011).

Tez çalışmalarımız kapsamında, üzüm çekirdeği ve yeşil çay ekstreleri kullanarak geliştirdiğimiz mikroemülsiyon formülasyonlarında yapılan salım çalışmaları sonucunda yeşil çay için 6 saat sonunda formülasyonda bulunan polifenolik bileşiklerin, derinin pH'sı olan 5,2 pH'daki tampon çözeltisine % $12,7 \pm 6,78$ (ort $\pm$ S.S.) oranında salındığı gözlenmiştir. Üzüm çekirdeği ile hazırlanan ekstrede ise salım oranı % $2,05 \pm 1,73$ olarak bulunmuştur. Üzüm çekirdeği ile yapılan çalışmada, salım oranının beklenenden az olmasının ve varyasyonun fazla olmasının olası nedenlerinden birisi üzüm çekirdeği ekstresi ile hazırlanan formülasyonun PDI değerinin $1,0 \pm 0,0$ olmasıdır. Bu değer, üzüm çekirdeği ile hazırlanan formülasyonun damlacık büyüklüğü dağılımının çok geniş olduğuna işaret etmektedir. Formülasyonumuzun damlacık büyüklüğünün $17,6 \pm 2,3$ nm olarak belirlenmesine rağmen, PDI değerinin maksimum değerde ölçülmesi, damlacık büyüklüğü dağılımının çok geniş olduğunun ve formülasyonda nm boyutlu damlacıklar olduğu kadar

10 µm'den büyük damlacıkların var olduğunu da göstermektedir. Yüzey alanında yeterli artış sağlanamamış olması salım oranını etkilemiş olabilir. Ayrıca üzüm çekirdeği ekstresinin formüle edilmesi aşamasında, üzüm çekirdeği ekstresinin alkoldeki çözeltisi, lesitin'in alkoldeki çözeltisi ile karşılaştığı anda, lesitin'in ve ekstrenin alkol ile çözelti oluşturabilmek için yarıştığı ve bir süre sonra üzüm çekirdeği ekstresinin ayrılmaya başladığı gözlenmiştir. Salım çalışmaları boyunca da, üzüm çekirdeği ekstresi topaklanmaya eğilim göstermiştir. Bu nedenle salım çalışmaları sonucunda salınan miktarın, beklenenden daha düşük ve varyasyonların beklenenden fazla olduğu sonucuna varılmıştır.

“Bitkisel Kaynaklı Kozmetik Ürün Geliştirilmesi Üzerine Farmakognozik Araştırmalar” adlı doktora tez çalışmamız sonucunda, öncelikle anti-aging etki olarak değerlendirilen, kırışıklık karşıtı ve leke giderici (cilt beyazlatıcı) etkiye sahip olduğu laboratuvar çalışmaları ile kanıtlanmış, *Cotinus coggyria* ekstresinin aktif fraksiyonundan etkili bileşikler tespit etmek üzere BAYF çalışması yapılmış ve etkiden sorumlu bileşiklerin muhtemelen flavonoid türevleri olabileceği kanısına varılmış, daha sonra formülasyon geliştirilme üzerine Ar-Ge çalışmaları yapılarak, 2 adet mikroemülsiyon ve 2 adet krem formunda kozmetik ürün tasarlanmış ve prototip ürünler hazırlanarak, stabilite testleri tamamlanmış ve planlanan hedefe ulaşılmıştır. Çalışmalarımızın bundan sonraki hedefi, geliştirilen formülasyonların markalaşma ve ticarileşme sürecine sokulması olduğundan, “Vitabell” adıyla bir marka ismi yaratılmıştır. Tez sonrasında amacımız yine Ar-Ge çalışmaları ile ürün profilinin genişletilerek anti-aging etkili bir seri elde edilmesi ve bilimsel, kaliteli ve etkin bir marka altında ticarileşerek yerli kozmetik sektörüne katkıda bulunulmasıdır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Özellikle son yıllarda popüler bir araştırma konusu haline gelmiş olan kozmetik ürünlerin %100 doğal olması mümkün olmadığı için, bu durum günümüzde tamamen bir pazarlama stratejisi olarak kullanılmaktadır. Ancak “doğal kozmetik” olarak tanımlanan ürünün içeriğindeki aktif bileşenin muhakkak doğal olması gerekmektedir. Etkin bir anti-aging kozmetik ürünün içinde nemlendirici etkiyi sağlaması için su ve cildin üzerine yayılan yağ veya benzeri maddelerle, bazen cildin içine su transferini sağlayabilecek bileşenlerin bulunması gerekir. Bu nedenle, tez çalışmamızda kırışıklık karşıtı veya leke açıcı ürünlerde tercih edilebilecek, etkinliği *in vitro* enzim inhibisyon yöntemleri ve antioksidan aktivite deneyleri ile gösterilmiş bitki ekstrallerinden pek çok avantajı bulunan mikroemülsiyon formülasyonu ile çalışma yapılmıştır. Formülasyon geliştirildikten sonra, etkin bileşenler formülasyon içine dahil edilen ve “aktif bileşen” rolü oynayan ekstrallerin ve daha sonra denenmesi planlanan saf maddelerin cilde mevcut benzer kozmetik ürünlerden çok daha iyi nüfuz etmesi, istenen yaşlanma ve kırışık karşıtı veya leke açıcı etkiyi elde etmek için deriye iyi penetre olması sağlanabilecektir. Böylece mikroemülsiyon ve krem formülasyonu ile geliştirdiğimiz prototip kozmetik ürünlerin, cilt bakım ürünleri ve derm kozmetikler alanındaki Ar-Ge çalışmasına çok düşük bütçe ayıran veya hiç ayırmayan yerli firmalarımıza ait çok az sayıdaki benzer ürünlerden daha avantajlı, etkinliği kanıtlanmış ve yenilikçi formda olup, ithal kozmetiklerle rekabette zayıf olan Türk kozmetik sektörüne bilimsel temelli üretilen ve yenilikçi anti-aging kozmetik ürünler olarak sunulabilecektir.

KAYNAKLAR

- Abbasi, A. M., Khan, M. A., Ahmad, M., Zafar, M., Jahan, S., and Sultana, S. (2010). Ethnopharmacological application of medicinal plants to cure skin diseases and in folk cosmetics among the tribal communities of North-West Frontier Province, Pakistan. *Journal of Ethnopharmacology*, 128(2), 322-335.
- Aburjai, T., and Natsheh, F. M. (2003). Plants used in cosmetics. *Phytotherapy Research*, 17(9), 987-1000.
- Adhikari, A., Devkota, H. P., Takano, A., Masuda, K., Nakane, T., Basnet, P., and Skalko-Basnet, N. (2008). Screening of Nepalese crude drugs traditionally used to treat hyperpigmentation: *In vitro* tyrosinase inhibition. *International Journal of Cosmetic Science*, 30, 353-360.
- Ahn, J. H., Grun, I. U., and Mustapha, A. (2004). Antimicrobial and antioxidant activities of natural extracts *in vitro* and in ground beef. *Journal of Food Protection*, 67(1), 148-155.
- Ahshawat, M. S., Saraf, S., and Saraf, S. (2008). Preparation and characterization of herbal creams for improvement of skin viscoelastic properties. *International Journal of Cosmetic Science*, 30(3), 183-193.
- Akdemir, Z. Ş., Tatlı, İ. İ., Saraçoğlu, İ., İsmailoğlu, U. B., Şahin-Erdemli, I., and Çalış, İ. (2001). Polyphenolic compounds from *Geranium pratense* and their free radical scavenging activities. *Phytochemistry*, 56(2), 189-193.
- Akkol, E. K., Süntar, İ., İlhan, M., and Aras, E. (2015). *In vitro* enzyme inhibitory effects of *Rubus sanctus* Schreber and its active metabolite as a function of wound healing activity. *Journal of Herbal Medicine*, 5(4), 207-210.
- Akkol, E. K., Yalçın, F. N., Kaya, D., Çalış, İ., Yeşilada, E., and Ersöz, T. (2008). *In vivo* anti-inflammatory and antinociceptive actions of some *Lamium* species. *Journal of Ethnopharmacology*, 118(1), 166-172.
- Akkuş, Ş. (2007). *Kozmetik amaçla kullanılacak kinetin nanoemülsiyon formülasyonunun geliştirilmesi*. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Aksoy, H., Sancar, M., Sen, A., Okuyan, B., Bitiş, L., Uras, F., Akakın, D., Çevik, O., Kültür, Ş., and İzzettin, F. V. (2016). The effect of topical ethanol extract of *Cotinus coggygria* Scop. on cutaneous wound healing in rats. *Natural Product Research*, 30(4), 452-455.
- Aksu, E. H., Akman, O., Özkaraca, M., Ömür, A. D., and Uçar, Ö. (2015). Effect of *Maclura pomifera* extract on cisplatin-induced damages in reproductive system of male rats. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 21(3), 397-403.
- Alipieva, K., Kokubun, T., Taskova, R., Evstatieva, L., and Handjieva, N. (2007). LC-ESI-MS analysis of iridoid glucosides in *Lamium* species. *Biochemical Systematics and Ecology*, 35(1), 17-22.

- Alipieva, K. I., Taskova, R. M., Evstatieva, L. N., Handjieva, N. V., and Popov, S. S. (2003). Benzoxazinoids and iridoid glucosides from four *Lamium* species. *Phytochemistry*, 64(8), 1413-1417.
- İnternet: Altun, S., Kâr marjları düşen eczacılar dermokozmetiğe sarıldı. <http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Fwww.dunya.com%2Fguncel%2Fkar-marjlari-dusen-eczacilar-dermokozmetige-sarildi-259765h.htm&date=2016-01-23>, Son Erişim Tarihi: 23.01.2016.
- An, B. J., Kwak, J. H., Park, J. M., Lee, J. Y., Park, T. S., Lee, J. T., Son, J. H., Jo, C., and Byun, M. W. (2005). Inhibition of enzyme activities and the antiwrinkle effect of polyphenol isolated from the persimmon leaf (*Diospyros kaki* folium) on human skin. *Dermatologic Surgery*, 31(s1), 848-854.
- Antal, D. S., Schwaiger, S., Ellmerer-Muller, E. P., and Stuppner, H. (2010). *Cotinus coggygria* wood: Novel flavanone dimer and development of an HPLC/UV/MS method for the simultaneous determination of fourteen phenolic constituents. *Planta Medica*, 76(15), 1765-1772.
- Antal, D. S., Schwaiger, S., Hornick, A., Rollinger, J. M., Prast, H., and Stuppner, H. (2008, Jul). *Cotinus coggygria* heartwood: A new source of acetylcholinesterase inhibiting compounds. Paper presented at the Planta Medica.
- Antolovich, M., Prenzler, P. D., Patsalides, E., McDonald, S., and Robards, K. (2002). Methods for testing antioxidant activity. *Analyst*, 127(1), 183-198.
- Apak, R., Gorinstein, S., Bohm, V., Schaich, K. M., Özyürek, M., and Güçlü, K. (2013). Methods of measurement and evaluation of natural antioxidant capacity/activity (IUPAC Technical Report). *Pure and Applied Chemistry*, 85(5), 957-998.
- Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., and Karademir, S. E. (2004). Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(26), 7970-7981.
- Apakcan Aksun, S., Özmen, D., and Bayındır, O. (2001). Metalloproteinazlar, inhibitörleri ve ilişkili fizyolojik ve patolojik durumlar. *Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi*, 21(4), 332-342.
- Arias, B. A., and Ramon-Laca, L. (2005). Pharmacological properties of *Citrus* and their ancient and medieval uses in the Mediterranean region. *Journal of Ethnopharmacology*, 97(1), 89-95.
- Asai, A., and Miyazawa, T. (2001). Dietary curcuminoids prevent high-fat diet-induced lipid accumulation in rat liver and epididymal adipose tissue. *Journal of Nutrition*, 131(11), 2932-2935.
- Aslan, M., and Orhan, İ. (2006). Fatty acid patterns of waste parts of Turkish *Pistacia vera* L. tree. *Acta Biologica Cracoviensia Series Botanica*, 48(2), 117-120.
- Atasoy, P. (2010). KOAH'da patoloji. *TTD Toraks Cerrahisi Bülteni*, 1(2), 119-123.

- Azeem, A., Rizwan, M., Ahmad, F. J., Khan, Z. I., Khar, R. K., Aqil, M., and Talegaonkar, S. (2008). Emerging role of microemulsions in cosmetics. *Recent Patents on Drug Delivery and Formulation*, 2(3), 275-289.
- Babaç, M. T. (2004). Possibility of an information system on plants of South-West Asia with particular reference to the Turkish Plants Data Service (TÜBİVES). *Turkish Journal of Botany*, 28, 119-127.
- Badarinath, A. V., Rao, K. M., Chetty, C. M. S., Ramkanth, S., Rajan, T. V. S., and Gnanaprakash, K. (2010). A review on *in-vitro* antioxidant methods: Comparisons, correlations and considerations. *International Journal of PharmTech Research*, 2(2), 1276-1285.
- Bagri, P., Ali, M., Aeri, V., Bhowmik, M., and Sultana, S. (2009). Antidiabetic effect of *Punica granatum* flowers: Effect on hyperlipidemia, pancreatic cells lipid peroxidation and antioxidant enzymes in experimental diabetes. *Food and Chemical Toxicology*, 47(1), 50-54.
- Bakis, Y., Babaç, M. T., and Uslu, E. (2011). *Updates and improvements of Turkish Plants Data Service (TÜBİVES)*. Paper presented at the 6th International Symposium on Health Informatics and Bioinformatics
- Balentine, D. A., Wiseman, S. A., and Bouwens, L. C. M. (1997). The chemistry of tea flavonoids. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 37(8), 693-704.
- Ballero, M., Poli, F., Sacchetti, G., and Loi, M. C. (2001). Ethnobotanical research in the territory of Fluminimaggiore (south-western Sardinia). *Fitoterapia*, 72(7), 788-801.
- Bankova, V. S., Popov, S. S., and Marekov, N. L. (1982). High-performance liquid-chromatographic analysis of flavonoids from propolis. *Journal of Chromatography*, 242(1), 135-143.
- Bankova, V. S., Popov, S. S., and Marekov, N. L. (1983). A study on flavonoids of propolis. *Journal of Natural Products*, 46(4), 471-474.
- Banos, L., Duenas, M., Carvalho, A. M., Ferreira, I. C. F. R., and Santos-Buelga, C. (2012). Characterization of phenolic compounds in flowers of wild medicinal plants from northeastern Portugal. *Food and Chemical Toxicology*, 50(5), 1576-1582.
- Barla, F., Higashijima, H., Funai, S., Sugimoto, K., Harada, N., Yamaji, R., Fujita, T., Nakano, Y., and Inui, H. (2009). Inhibitive effects of alkyl gallates on hyaluronidase and collagenase. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 73(10), 2335-2337.
- Barrantes, E., and Guinea, M. (2003). Inhibition of collagenase and metalloproteinases by aloins and *Aloe* gel. *Life Sciences*, 72(7), 843-850.
- Barreira, J. C. M., Rodrigues, S., Carvalho, A. M., and Ferreira, I. C. F. R. (2013). Development of hydrosoluble gels with *Crataegus monogyna* extracts for topical application: Evaluation of antioxidant activity of the final formulations. *Industrial Crops and Products*, 42, 175-180.

- Barros, L., Baptista, P., and Ferreira, I. C. F. R. (2007). Effect of *Lactarius piperatus* fruiting body maturity stage on antioxidant activity measured by several biochemical assays. *Food and Chemical Toxicology*, 45(9), 1731-1737.
- Battinelli, L., Daniele, C., Cristiani, M., Bisignano, G., Saija, A., and Mazzanti, G. (2006). *In vitro* antifungal, and anti-elastase activity of some aliphatic aldehydes from *Olea europaea* L. fruit. *Phytomedicine*, 13(8), 558-563.
- Baytop, T. (1999). *Türkiye'de bitkiler ile tedavi (geçmişte ve bugün)*. İstanbul: Nobel Tıp Kitabevleri.
- Baytop, T. (2007). *Türkçe bitki adları sözlüğü*. Ankara: Türk Dil Kurumu Yayınları.
- Benedek, B., Kopp, B., and Melzig, M. F. (2007). *Achillea millefolium* L. S.1. - is the anti-inflammatory activity mediated by protease inhibition? *Journal of Ethnopharmacology*, 113(2), 312-317.
- Bensouliah, J., and Buck, P. (2006). *Skin structure and function*. United Kingdom: Radcliffe publishing.
- Benzie, I. F., and Strain, J. J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of "antioxidant power": The FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239(1), 70-76.
- Bilen, S., Bulut, M., and Bilen, A. M. (2011). Immunostimulant effects of *Cotinus coggyria* on rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Fish and Shellfish Immunology*, 30(2), 451-455.
- Bilen, S., Yılmaz, S., and Bilen, A. M. (2013). Influence of tetra (*Cotinus coggyria*) extract against *Vibrio anguillarum* infection in koi carp, *Cyprinus carpio* with reference to haematological and immunological changes. *Turkish Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*, 13(3), 517-522.
- Binic, I., Lazarevic, V., Ljubenovic, M., Mojsa, J., and Sokolovic, D. (2013). Skin ageing: Natural weapons and strategies. *Evidence Based Complementary Alternative Medicine*, 2013, 827248.
- Boğa, M., Güven, I., Atalay, A. I., and Kaya, E. (2013). Effect of varieties on potential nutritive value of pistachio hulls. *Kafkas Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 19(4), 699-703.
- Bomser, J. A., Singletary, K. W., Wallig, M. A., and Smith, M. A. L. (1999). Inhibition of TPA-induced tumor promotion in CD-1 mouse epidermis by a polyphenolic fraction from grape seeds. *Cancer Letters*, 135(2), 151-157.
- Boonme, P. (2007). Applications of microemulsions in cosmetics. *Journal of Cosmetic Dermatology*, 6(4), 223-228.
- Bos, M. A., Vennat, B., Meunier, M. T., Pouget, M. P., Pourrat, A., and Fialip, J. (1996). Procyanidins from tormentil: Antioxidant properties towards lipoperoxidation and anti-elastase activity. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 19(1), 146-148.

- Boyanova, L., Derejian, S., Koumanova, R., Katsarov, N., Gergova, G., Mitov, I., Nikolov, R., and Krastev, Z. (2003). Inhibition of *Helicobacter pylori* growth *in vitro* by Bulgarian propolis: Preliminary report. *Journal of Medical Microbiology*, 52(5), 417-419.
- Cabanes, J., Garcia-Canovas, F., Tudela, J., Lozano, J. A., and Garcia-Carmona, F. (1987). L-mimosine a slow-binding inhibitor of mushroom tyrosinase. *Phytochemistry*, 26(4), 917-919.
- Caillet, S., Salmieri, S., and Lacroix, M. (2006). Evaluation of free radical-scavenging properties of commercial grape phenol extracts by a fast colorimetric method. *Food Chemistry*, 95(1), 1-8.
- Caligiani, A., Malavasi, G., Palla, G., Marseglia, A., Tognolini, M., and Bruni, R. (2013). A simple GC-MS method for the screening of betulinic, corosolic, maslinic, oleanolic and ursolic acid contents in commercial botanicals used as food supplement ingredients. *Food Chemistry*, 136(2), 735-741.
- Calleja-Agius, J., Brincat, M., and Borg, M. (2013). Skin connective tissue and ageing. *Best Practice and Research Clinical Obstetrics and Gynaecology*, 27(5), 727-740.
- Carlfors, J., Blute, I., and Schmidt, V. (1991). Lidocaine in microemulsion - a dermal delivery system. *Journal of Dispersion Science and Technology*, 12(5-6), 467-482.
- Carter, P. (1971). Spectrophotometric determination of serum iron at the submicrogram level with a new reagent (ferrozine). *Analytical Biochemistry*, 40, 450-458.
- Cawston, T. E., and Wilson, A. J. (2006). Understanding the role of tissue degrading enzymes and their inhibitors in development and disease. *Best Practice & Research Clinical Rheumatology*, 20(5), 983-1002.
- Cha, M. R., Park, J. H., Choi, Y. H., Choi, C. W., Hong, K. S., Choi, S. U., Kim, Y. S., Kim, Y. K., Kim, Y. H., and Ryu, S. Y. (2009). Alpha-glucosidase inhibitors from the branches extract of *Cotinus coggygria*. *Korean Journal of Pharmacognosy*, 40(3), 229-232.
- Chan, E. W. C., Lim, Y. Y., Wong, L. F., Lianto, F. S., Wong, S. K., Lim, K. K., Joe, C. E., and Lim, T. Y. (2008). Antioxidant and tyrosinase inhibition properties of leaves and rhizomes of ginger species. *Food Chemistry*, 109, 477-483.
- Chanchal, D., and Swarnlata, S. (2008). Novel approaches in herbal cosmetics. *Journal of Cosmetic Dermatology*, 7(2), 89-95.
- Chang, T. S. (2009). An updated review of tyrosinase inhibitors. *International Journal of Molecular Sciences*, 10(6), 2440-2475.
- Changez, M., Chander, J., and Dinda, A. K. (2006). Transdermal permeation of tetracaine hydrochloride by lecithin microemulsion: *In vivo*. *Colloids and Surfaces B-Biointerfaces*, 48(1), 58-66.

- Cheng, M., Gao, H. Q., Xu, L., Li, B. Y., Zhang, H., and Li, X. H. (2007). Cardioprotective effects of grape seed proanthocyanidins extracts in streptozocin induced diabetic rats. *Journal of Cardiovascular Pharmacology*, 50(5), 503-509.
- Cheng, S. Q., Fu, X. G., Liu, J. H., Zhang, J. L., Zhang, Z. F., Wei, Y. L., and Han, B. X. (2007). Study of ethylene glycol/TX-100/ionic liquid microemulsions. *Colloids and Surfaces A-Physicochemical and Engineering Aspects*, 302(1-3), 211-215.
- Chiari, M. E., Joray, M. B., Ruiz, G., Palacios, S. M., and Carpinella, M. C. (2010). Tyrosinase inhibitory activity of native plants from central Argentina: Isolation of an active principle from *Lithrea molleoides*. *Food Chemistry*, 120, 10-14.
- Choi, J. S., Ha, Y. M., Joo, C. U., Cho, K. K., Kim, S. J., and Choi, I. S. (2012). Inhibition of oral pathogens and collagenase activity by seaweed extracts. *Journal of Environmental Biology*, 33(1), 115-121.
- Chou, T. H., Ding, H. Y., Lin, R. J., Liang, J. Y., and Liang, C. H. (2010). Inhibition of melanogenesis and oxidation by protocatechuic acid from *Origanum vulgare* (oregano). *Journal of Natural Products*, 73(11), 1767-1774.
- Constantinides, P. P., and Scalart, J. P. (1997). Formulation and physical characterization of water-in-oil microemulsions containing long- versus medium-chain glycerides. *International Journal of Pharmaceutics*, 158(1), 57-68.
- Cronin, H., and Draelos, Z. D. (2010). Top 10 botanical ingredients in 2010 anti-aging creams. *Journal of Cosmetic Dermatology*, 9(3), 218-225.
- Cui, J. H., Cordis, G. A., Tosaki, A., Maulik, N., and Das, D. K. (2002). Reduction of myocardial ischemia reperfusion injury with regular consumption of grapes. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 957, 302-307.
- Çakılcıoğlu, U., and Türkoğlu, I. (2010). An ethnobotanical survey of medicinal plants in Sivrice (Elazığ-Turkey). *Journal of Ethnopharmacology*, 132(1), 165-175.
- İnternet: Çaykur- Processing Technology.
[http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Fwww.caykur.gov.tr%2FNewsPage%2F100%2F4%2FProcessing Technology.aspx&date=2016-01-23](http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Fwww.caykur.gov.tr%2FNewsPage%2F100%2F4%2FProcessing+Technology.aspx&date=2016-01-23), Son
 Erişim Tarihi: 23.01.2016.
- Çomoğlu, T. (2012). Kozmetikler. *Marmara Pharmaceutical Journal*, 16(1), 1-8.
- Davies, R. F., and Johnston, G. A. (2011). New and emerging cosmetic allergens. *Clinics in Dermatology*, 29(3), 311-315.
- Davis, P. H. (1967). *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*. Edinburgh: Edinburgh University Press. 542-543.
- Davis, P. H. (1982). *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*. Edinburgh: Edinburgh University Press. 640-645.

- Debib, A., Tir-Touil, A., Mothana, R. A., Meddah, B., and Sonnet, P. (2014). Phenolic content, antioxidant and antimicrobial activities of two fruit varieties of Algerian *Ficus carica* L. *Journal of Food Biochemistry*, 38(2), 207-215.
- Del Rio, D., Stewart, A. J., Mullen, W., Burns, J., Lean, M. E. J., Brighenti, F., and Crozier, A. (2004). HPLC-MSⁿ analysis of phenolic compounds and purine alkaloids in green and black tea. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(10), 2807-2815.
- Deliorman Orhan, D., Orhan, N., Özçelik, B., and Ergun, F. (2009). Biological activities of *Vitis vinifera* L. leaves. *Turkish Journal of Biology*, 33(4), 341-348.
- Demeule, M., Brossard, M., Page, M., Gingras, D., and Beliveau, R. (2000). Matrix metalloproteinase inhibition by green tea catechins. *Biochimica et Biophysica Acta-Protein Structure and Molecular Enzymology*, 1478(1), 51-60.
- Demirci, B., Demirci, F., and Başer, K. H. C. (2003). Composition of the essential oil of *Cotinus coggygia* Scop. from Turkey. *Flavour and Fragrance Journal*, 18(1), 43-44.
- Dey, S., Deepak, M., Setty, M., D'Souza, P., Agarwal, A., and Sangli, G. K. (2009). Bioactive caffeic acid esters from *Glycyrrhiza glabra*. *Natural Product Research*, 23(18), 1657-1663.
- Diec, K. H., Eitrich, A., Schmidt, T., Sokolowski, T., and Schreiber, J. (2001). PIT microemulsions with low surfactant content. *Cosmetics and Toiletries*, 116, 61-66.
- Dreher, M. L. (2012). Pistachio nuts: Composition and potential health benefits. *Nutrition Reviews*, 70(4), 234-240.
- Dufresne, C. J., and Farnworth, E. R. (2001). A review of latest research findings on the health promotion properties of tea. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 12(7), 404-421.
- Dülger, B., Hacıoğlu, N., and Bilen, S. (2009). Antimicrobial activity of *Cotinus coggyria* from Turkey. *Asian Journal of Chemistry*, 21(5), 4139-4140.
- Ekim, T. (2014). Damarlı bitkiler. In Güner, A. ve Ekim, T. (Eds.), *Resimli Türkiye florası* (Vol. 1). İstanbul: Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi, Flora Araştırmaları Derneği ve Türkiye İş Bankası Kültür Yayınları.
- El-Khatib, A. S., Agha, A. M., Mahran, L. G., and Khayyal, M. T. (2002). Prophylactic effect of aqueous propolis extract against acute experimental hepatotoxicity *in vivo*. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 57(3-4), 379-385.
- Ercişli, S., Orhan, E., Özdemir, O., Şengül, M., and Güngör, N. (2008). Seasonal variation of total phenolic, antioxidant activity, plant nutritional elements, and fatty acids in tea leaves (*Camellia sinensis* var. *sinensis* clone Derepazari 7) grown in Turkey. *Pharmaceutical Biology*, 46(10-11), 683-687.
- Escribano-Bailon, T., Gutierrez-Fernandez, Y., Rivas-Gonzalo, J. C., and Santos-Buelga, C. (1992). Characterization of procyanidins of *Vitis vinifera* variety tinta-del-pais grape seeds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 40(10), 1794-1799.

- Escribano, E., Calpena, A. C., Queralto, J., Obach, R., and Domenech, J. (2003). Assessment of diclofenac permeation with different formulations: Anti-inflammatory study of a selected formula. *European Journal of Pharmaceutical Sciences*, 19(4), 203-210.
- Espin, J. C., and Wichers, H. J. (1999). Slow-binding inhibition of mushroom (*Agaricus bisporus*) tyrosinase isoforms by tropolone. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(7), 2638-2644.
- Facino, R. M., Carini, M., Stefani, R., Aldini, G., and Saibene, L. (1995). Anti-elastase and anti-hyaluronidase activities of saponins and sapogenins from *Hedera helix*, *Aesculus hippocastanum*, and *Ruscus aculeatus*: Factors contributing to their efficacy in the treatment of venous insufficiency. *Archiv Der Pharmazie*, 328(10), 720-724.
- Falcioni, G., Fedeli, D., Tiano, L., Calzuola, I., Mancinelli, L., Marsili, V., and Gianfranceschi, G. (2002). Antioxidant activity of wheat sprouts extract *in vitro*: Inhibition of DNA oxidative damage. *Journal of Food Science*, 67(8), 2918-2922.
- Farage, M. A., Miller, K. W., Elsner, P., and Maibach, H. I. (2007). Structural characteristics of the aging skin: A review. *Cutaneous and Ocular Toxicology*, 26(4), 343-357.
- Feng, Y. Z., Liu, Y. M., Fratkins, J. D., and LeBlanc, M. H. (2005). Grape seed extract suppresses lipid peroxidation and reduces hypoxic ischemic brain injury in neonatal rats. *Brain Research Bulletin*, 66(2), 120-127.
- Ferrazzano, G. F., Roberto, L., Catania, M. R., Chiaviello, A., De Natale, A., Roscetto, E., Pinto, G., Pollio, A., Ingenito, A., and Palumbo, G. (2013). Screening and scoring of antimicrobial and biological activities of Italian vulnerary plants against major oral pathogenic bacteria. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2013, 316280.
- Ferreira, I. C. F. R., Baptista, P., Vilas-Boas, M., and Barros, L. (2007). Free-radical scavenging capacity and reducing power of wild edible mushrooms from northeast Portugal: Individual cap and stipe activity. *Food Chemistry*, 100(4), 1511-1516.
- Fisher, G. J., Datta, S. C., Talwar, H. S., Wang, Z. Q., Varani, J., Kang, S., and Voorhees, J. J. (1996). Molecular basis of sun-induced premature skin ageing and retinoid antagonism. *Nature*, 379(6563), 335-339.
- Fisher, G. J., Wang, Z. Q., Datta, S. C., Varani, J., Kang, S., and Voorhees, J. J. (1997). Pathophysiology of premature skin aging induced by ultraviolet light. *New England Journal of Medicine*, 337(20), 1419-1428.
- Flamini, G., Cioni, P. L., and Morelli, I. (2005). Composition of the essential oils and *in vivo* emission of volatiles of four *Lamium* species from Italy: *L. purpureum*, *L. hybridum*, *L. bifidum* and *L. amplexicaule*. *Food Chemistry*, 91(1), 63-68.
- Internet: Food and Agriculture Organization of the United Nations Statistics Division. <http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Ffaostat3.fao.org%2Fbrowse%2Ffrankings%2Fcountries%2Fby%2Fcommodity%2FE&date=2016-01-23>, Son Erişim Tarihi: 23.01.2016.

- Frankel, E. N., and Meyer, A. S. (2000). The problems of using one-dimensional methods to evaluate multifunctional food and biological antioxidants. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80(13), 1925-1941.
- Fraternal, D., and Ricci, D. (2014). Chemical composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Cotinus coggygia* Scoop. from Italy. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 17(3), 366-370.
- Friedman, M., Kim, S. Y., Lee, S. J., Han, G. P., Han, J. S., Lee, K. R., and Kozukue, N. (2005). Distribution of catechins, theaflavins, caffeine, and theobromine in 77 teas consumed in the United States. *Journal of Food Science*, 70(9), C550-C559.
- Friedman, M., Levin, C. E., Choi, S. H., Lee, S. U., and Kozukue, N. (2009). Changes in the composition of raw tea leaves from the Korean yabukida plant during high-temperature processing to pan-fried kamairi-cha green tea. *Journal of Food Science*, 74(5), C406-C412.
- Fujii, T., and Saito, M. (2009). Inhibitory effect of quercetin isolated from rose hip (*Rosa canina* L.) against melanogenesis by mouse melanoma cells. *Bioscience Biotechnology and Biochemistry*, 73(9), 1989-1993.
- Fuliang, H. U., Hepburn, H. R., Xuan, H. X., Chen, M. L., Daya, S., and Radloff, S. E. (2005). Effects of propolis on blood glucose, blood lipid and free radicals in rats with *diabetes mellitus*. *Pharmacological Research*, 51(2), 147-152.
- Internet: Gilman, E. F., and Watson, D. G., *Maclura pomifera* osage-orange. <http://www.webcitation.org/query?url=https%3A%2F%2Fedis.ifas.ufl.edu%2Fpdffiles%2FST%2FST36800.pdf&date=2016-01-23>, Son Erişim Tarihi: 23.01.2016.
- Goddeeris, C., Cuppo, F., Reynaers, H., Bouwman, W. G., and Van den Mooter, G. (2006). Light scattering measurements on microemulsions: Estimation of droplet sizes. *International Journal of Pharmaceutics*, 312(1-2), 187-195.
- Gohel, M., Soni, T., Hingorani, L., Patel, A., and Patel, N. (2014). Development and optimization of plant extract loaded nanoemulsion mixtures for the treatment of inflammatory disorder. *Current Research in Drug Discovery*, 1(2), 29-38.
- Greenaway, W., Scaysbrook, T., and Whatley, F. R. (1990). The composition and plant origins of propolis - a report of work at Oxford. *Bee World*, 71(3), 107-118.
- Gruber, J. V., Holtz, R., Sikkink, S. K., and Tobin, D. J. (2014). *In vitro* and *ex vivo* examination of topical pomiferin treatments. *Fitoterapia*, 94, 164-171.
- Gupta, S. C., Sung, B., Kim, J. H., Prasad, S., Li, S. Y., and Aggarwal, B. B. (2013). Multitargeting by turmeric, the golden spice: from kitchen to clinic. *Molecular Nutrition & Food Research*, 57(9), 1510-1528.
- Gupta, S. P., and Kumaran, S. (2003). A quantitative structure-activity relationship study on *Clostridium histolyticum* collagenase inhibitors: Roles of electrotopological state indices. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 11(14), 3065-3071.

- Güner, A., Aslan, S., Ekim, T., Vural, M., and Babaç, M. T. (Editörler). (2012). *Türkiye bitkileri listesi (damarlı bitkiler)*. İstanbul: Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi ve Flora Araştırmaları Derneği
- Güvenalp, Z., and Demirezer, L. Ö. (2005). Flavonol glycosides from *Asperula arvensis* L. *Turkish Journal of Chemistry*, 29(2), 163-169.
- Harbourne, N., Marete, E., Jacquier, J. C., and O'Riordan, D. (2009). Effect of drying methods on the phenolic constituents of meadowsweet (*Filipendula ulmaria*) and willow (*Salix alba*). *LWT-Food Science and Technology*, 42(9), 1468-1473.
- Harrington, D. J. (1996). Bacterial collagenases and collagen-degrading enzymes and their potential role in human disease. *Infection and Immunity*, 64(6), 1885-1891.
- Hasegawa, T. (2010). Tyrosinase-expressing neuronal cell line as *in vitro* model of Parkinson's disease. *International Journal of Molecular Sciences*, 11(3), 1082-1089.
- Hatano, T., Kagawa, H., Yasuhara, T., and Okuda, T. (1988). Two new flavonoids and other constituents in licorice root: Their relative astringency and radical scavenging effects. *Chemical and Pharmaceutical Bulletin*, 36(6), 2090-2097.
- Hegde, K., Haniadka, R., Alva, A., Periera Colaco, M. M., and Baliga, M. S. (2013). Turmeric (*Curcuma longa* L.) the golden curry spice as a nontoxic gastroprotective agent: A review. In Watson, R. ve Preedy, V. (Eds.), *Bioactive Food as Dietary Interventions for Liver and Gastrointestinal Disease* San Diego: Academic Press.
- Herald, T. J., Gadgil, P., Perumal, R., Bean, S. R., and Wilson, J. D. (2014). High-throughput micro-plate HCl–vanillin assay for screening tannin content in *Sorghum* grain. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 94, 2133-2136.
- Hisham, D. M. N., Lip, J. M., Noh, J. M., Normah, A., and Nabilah, M. F. N. (2011). Identification and isolation of methyl gallate as a polar chemical marker for *Labisia pumila* Benth. *Journal of Tropical Agriculture and Food Science*, 39(2), 279-284.
- Honda, G., Yeşilada, E., Tabata, M., Sezik, E., Fujita, T., Takeda, Y., Takaishi, Y., and Tanaka, T. (1996). Traditional medicine in Turkey. VI. Folk medicine in west Anatolia: Afyon, Kütahya, Denizli, Muğla, Aydın provinces. *Journal of Ethnopharmacology*, 53(2), 75-87.
- Hsu, C. K., Chang, C. T., Lu, H. Y., and Chung, Y. C. (2007). Inhibitory effects of the water extracts of *Lavendula* sp. on mushroom tyrosinase activity. *Food Chemistry*, 105, 1099-1105.
- Huang, M. T., Lou, Y. R., Ma, W., Newmark, H. L., Reuhl, K. R., and Conney, A. H. (1994). Inhibitory effects of dietary curcumin on forestomach, duodenal, and colon carcinogenesis in mice. *Cancer Research*, 54(22), 5841-5847.
- Huang, T. H. W., Peng, G., Kota, B. P., Li, G. Q., Yamahara, J., Roufogalis, B. D., and Li, Y. H. (2005a). Anti-diabetic action of *Punica granatum* flower extract: Activation of PPAR-gamma and identification of an active component. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 207(2), 160-169.

- Huang, T. H. W., Peng, G., Kota, B. P., Li, G. Q., Yamahara, J., Roufogalis, B. D., and Li, Y. H. (2005b). Pomegranate flower improves cardiac lipid metabolism in a diabetic rat model: Role of lowering circulating lipids. *British Journal of Pharmacology*, 145(6), 767-774.
- Huang, X. X., Liu, Q. B., Wu, J., Yu, L. H., Cong, Q., Zhang, Y., Lou, L. L., Li, L. Z., and Song, S. J. (2014). Antioxidant and tyrosinase inhibitory effects of neolignan glycosides from *Crataegus pinnatifida* seeds. *Planta Medica*, 80(18), 1732-1738.
- İlhan, A., Akyol, O., Gürel, A., Armutçu, F., Iraz, M., and Öztaş, E. (2004). Protective effects of caffeic acid phenethyl ester against experimental allergic encephalomyelitis-induced oxidative stress in rats. *Free Radical Biology and Medicine*, 37(3), 386-394.
- Iriti, M., and Faoro, F. (2006). Grape phytochemicals: A bouquet of old and new nutraceuticals for human health. *Medical Hypotheses*, 67(4), 833-838.
- Issa, R. A., Afifi, F. U., and Amro, B. I. (2008). Studying the anti-tyrosinase effect of *Arbutus andrachne* L. extracts. *International Journal of Cosmetic Science*, 30(4), 271-276.
- Itoh, K., Hirata, N., Masuda, M., Naruto, S., Murata, K., Wakabayashi, K., and Matsuda, H. (2009). Inhibitory effects of *Citrus hassaku* extract and its flavanone glycosides on melanogenesis. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 32(3), 410-415.
- Ivanova, D., Gerova, D., Chervenkov, T., and Yankova, T. (2005). Polyphenols and antioxidant capacity of Bulgarian medicinal plants. *Journal of Ethnopharmacology*, 96(1-2), 145-150.
- Jafri, M. A., Aslam, M., Javed, K., and Singh, S. (2000). Effect of *Punica granatum* Linn. (flowers) on blood glucose level in normal and alloxan-induced diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 70(3), 309-314.
- Jayaprakasha, G. K., Selvi, T., and Sakariah, K. K. (2003). Antibacterial and antioxidant activities of grape (*Vitis vinifera*) seed extracts. *Food Research International*, 36(2), 117-122.
- Jerkovic, I., Mastelic, J., and Marijanovic, Z. (2007). Bound volatile compounds and essential oil from the fruit of *Maclura pomifera* (Raf.) Schneid. (osage orange). *Flavour and Fragrance Journal*, 22, 84-88.
- Jurkovic, P., Sentjurc, M., Gasperlin, M., Kristl, J., and Pecar, S. (2003). Skin protection against ultraviolet induced free radicals with ascorbyl palmitate in microemulsions. *European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics*, 56(1), 59-66.
- Kaczmarek, F., and Debowski, W. J. (1983). Occurrence of *alpha*-amylase and *beta*-amylase in propolis. *Acta Poloniae Pharmaceutica*, 40(1), 121-121.
- Kahraman, F. (2011). *Fitokozmetiklere güncel bakış*. Paper presented at the 1. Kozmetik Kongresi, Antalya-Türkiye.
- Kamagaju, L., Bizuru, E., Minani, V., Morandini, R., Stevigny, C., Ghanem, G., and Duez, P. (2013). An ethnobotanical survey of medicinal plants used in Rwanda for voluntary depigmentation. *Journal of Ethnopharmacology*, 150(2), 708-717.

- Kapoor, V. K., Dureja, J., and Chadha, R. (2009). Herbals in the control of ageing. *Drug Discovery Today*, 14(19-20), 992-998.
- Khan, M. S. A., and Ahmad, I. (2011). *In vitro* antifungal, anti-elastase and anti-keratinase activity of essential oils of *Cinnamomum*-, *Syzygium*- and *Cymbopogon*-species against *Aspergillus fumigatus* and *Trichophyton rubrum*. *Phytomedicine*, 19(1), 48-55.
- Khan, M. T. H. (2007). Molecular design of tyrosinase inhibitors: A critical review of promising novel inhibitors from synthetic origins. *Pure and Applied Chemistry*, 79(12), 2277-2295.
- Khan, M. T. H., Orhan, İ., Şenol, F. S., Kartal, M., Şener, B., Dvorska, M., Smejkal, K., and Slapetova, T. (2009). Cholinesterase inhibitory activities of some flavonoid derivatives and chosen xanthone and their molecular docking studies. *Chemico-Biological Interactions*, 181(3), 383-389.
- Khan, N., and Mukhtar, H. (2007). Tea polyphenols for health promotion. *Life Sciences*, 81(7), 519-533.
- Khanna, S., Venojarvi, M., Roy, S., Sharma, N., Trikha, P., Bagchi, D., Bagchi, M., and Sen, C. K. (2002). Dermal wound healing properties of redox-active grape seed proanthocyanidins. *Free Radical Biology and Medicine*, 33(8), 1089-1096.
- Khazaeli, P., Goldoozian, R., and Sharififar, F. (2009). An evaluation of extracts of five traditional medicinal plants from Iran on the inhibition of mushroom tyrosinase activity and scavenging of free radicals. *International Journal of Cosmetic Science*, 31, 375-381.
- Kılınç, F., and Metin, A. (2011). Yüzün hiperpigmentasyon hastalıkları. *Dermatoz*, 2(1), 245-253.
- Kim, I. Y., Lee, M. H., Shim, S. B., and Chun, Y. J. (2013). Skin lightening and wrinkle improving efficacy of organic *Portulaca oleracea* extract in skin care cosmetic. *International Journal of Bio-Science and Bio-Technology*, 5(5), 75-84.
- Kim, J. H., Byun, J. C., Bandi, A. K. R., Hyun, C. G., and Lee, N. H. (2009). Compounds with elastase inhibition and free radical scavenging activities from *Callistemon lanceolatus*. *Journal of Medicinal Plants Research*, 3(11), 914-920.
- Kim, J. M., Ko, R. K., Jung, D. S., Kim, S. S., and Lee, N. H. (2010). Tyrosinase inhibitory constituents from the stems of *Maackia fauriei*. *Phytotherapy Research*, 24, 70-75.
- Kim, J. Y., Kim, S. S., Oh, T. H., Baik, J. S., Song, G., Lee, N. H., and Hyun, C. G. (2009). Chemical composition, antioxidant, anti-elastase, and anti-inflammatory activities of *Illicium anisatum* essential oil. *Acta Pharmaceutica*, 59(3), 289-300.
- Kim, S. S., Hyun, C. G., Lee, J., Lim, J., Kim, J. Y., and Park, D. (2007). *In vitro* screening of Jeju medicinal plants for cosmeceutical materials. *Journal of Applied Biological Chemistry*, 50(4), 215-220.

- Kim, S. Y., Kim, J. E., Bu, H. J., Hyun, C. G., and Lee, N. H. (2014). Chemical constituents of *Tilia taquetii* leaves and their inhibition of MMP-1 expression and elastase activities. *Natural Product Communications*, 9(12), 1683-1685.
- Kim, Y., You, Y., Yoon, H. G., Lee, Y. H., Kim, K., Lee, J., Kim, M. S., Kim, J. C., and Jun, W. (2014). Hepatoprotective effects of fermented *Curcuma longa* L. on carbon tetrachloride-induced oxidative stress in rats. *Food Chemistry*, 151, 148-153.
- Kim, Y. D., Kim, J. S., Cho, I., and Kim, K. W. (2004). A novel nanoemulsification method of stirring at the o-point with the tocopherol-based block co-polymer nonionic emulsifier PPG-20 tocophereth-50. *IFSCC Magazine*, 7(4), 319-325.
- Kim, Y. J., and Uyama, H. (2005). Tyrosinase inhibitors from natural and synthetic sources: Structure, inhibition mechanism and perspective for the future. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 62(15), 1707-1723.
- Kimoto, T., Koya-Miyata, S., Hino, K., Micallef, M. J., Hanaya, T., Arai, S., Ikeda, M., and Kurimoto, M. (2001). Pulmonary carcinogenesis induced by ferric nitrilotriacetate in mice and protection from it by Brazilian propolis and artemisinin. *Virchows Archiv-an International Journal of Pathology*, 438(3), 259-270.
- Kızıllarslan, Ç., and Özhatay, N. (2012). An ethnobotanical study of the useful and edible plants of İzmit. *Marmara Pharmaceutical Journal*, 16, 194-200.
- Knott, A., Reuschlein, K., Mielke, H., Wensorra, U., Mummert, C., Koop, U., Kausch, M., Kolbe, L., Peters, N., Stab, F., Wenck, H., and Gallinat, S. (2008). Natural *Arctium lappa* fruit extract improves the clinical signs of aging skin. *Journal of Cosmetic Dermatology*, 7, 281-289.
- Ko, R. K., Kim, G. O., Hyun, C. G., Jung, D. S., and Lee, N. H. (2011). Compounds with tyrosinase inhibition, elastase inhibition and DPPH radical scavenging activities from the branches of *Distylium racemosum* Sieb. et Zucc. *Phytotherapy Research*, 25(10), 1451-1456.
- Kobayashi, T., Viera, W. D., Potterf, B., Sakai, C., and Imokawa, G. (1995). Modulation of melanogenic protein expression during the switch from eu- to pheomelanogenesis. *Journal of Cell Science*, 108, 2301-2309.
- Kogan, A., and Garti, N. (2006). Microemulsions as transdermal drug delivery vehicles. *Advances in Colloid and Interface Science*, 123, 369-385.
- Kosinska, A., Karamac, M., Estrella, I., Hernandez, T., Bartolome, B., and Dykes, G. A. (2012). Phenolic compound profiles and antioxidant capacity of *Persea americana* Mill. peels and seeds of two varieties. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(18), 4613-4619.
- İnternet: Kozmetik Yönetmeliği, Birinci Bölüm, Amaç, Kapsam, Dayanak ve Tanımlar. <http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Fwww.titck.gov.tr%2FPortalAdmin%2FUploads%2FUnitPageAttachment%2Fe21db31f65598.pdf&date=2016-01-23>, Son Erişim Tarihi: 23.01.2016.

- Kraunsoe, J. A. E., Claridge, T. D. W., and Lowe, G. (1996). Inhibition of human leukocyte and porcine pancreatic elastase by homologues of bovine pancreatic trypsin inhibitor. *Biochemistry*, 35(28), 9090-9096.
- Kreilgaard, M. (2002). Influence of microemulsions on cutaneous drug delivery. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 54, S77-S98.
- Kubo, I., and Kinst-Hori, I. (1999). Tyrosinase inhibitory activity of the olive oil flavor compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(11), 4574-4578.
- Kusumawati, I., and Indrayanto, G. (2013). Natural antioxidants in cosmetics. In Rahman, A. (Ed.), *Studies in Natural Products Chemistry* (Vol. 40, pp. 485-505): Elsevier.
- Kültür, Ş. (2007). Medicinal plants used in Kırklareli province (Turkey). *Journal of Ethnopharmacology*, 111(2), 341-364.
- Kültür, Ş., and Bitiş, L. (2007). Anatomical and preliminary chemical studies on the leaves of *Cotinus coggyria* Scop. (Anacardiaceae). *Journal of Faculty Pharmacy of Istanbul University*, 39, 65-72.
- Küpel, E., Orhan, İ., Toker, G., and Yeşilada, E. (2006). Anti-inflammatory and antinociceptive potential of *Maclura pomifera* (Rafin.) Schneider fruit extracts and its major isoflavonoids, scandenone and auricularin. *Journal of Ethnopharmacology*, 107(2), 169-174.
- Lai, H. Y., Lim, Y. Y., and Tan, S. P. (2009). Antioxidative, tyrosinase inhibiting and antibacterial activities of leaf extracts from medicinal ferns. *Bioscience, Biotechnology and Biochemistry*, 73(6), 1362-1366.
- Lantto, T. A., Dorman, H. J. D., Shikov, A. N., Pozharitskaya, O. N., Makarov, V. G., Tikhonov, V. P., Hiltunen, R., and Raasmaja, A. (2009). Chemical composition, antioxidative activity and cell viability effects of a siberian pine (*Pinus sibirica* du tour) extract. *Food Chemistry*, 112(4), 936-943.
- Lawrence, M. J., and Rees, G. D. (2000). Microemulsion-based media as novel drug delivery systems. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 45(1), 89-121.
- Leanpolchareanchai, J., Padois, K., Falson, F., Bavovada, R., and Pithayanukul, P. (2014). Microemulsion system for topical delivery of Thai mango seed kernel extract: Development, physicochemical characterisation and *ex vivo* skin permeation studies. *Molecules*, 19(11), 17107-17129.
- Lee, K. K., Cho, J. J., Park, E. J., and Choi, J. D. (2001). Anti-elastase and anti-hyaluronidase of phenolic substance from *Areca catechu* as a new anti-ageing agent. *International Journal of Cosmetic Science*, 23, 341-346.
- Lee, K. K., Kim, J. H., Cho, J. J., and Choi, J. D. (1999). Inhibitory effects of 150 plant extracts on elastase activity, and their anti-inflammatory effects. *International Journal of Cosmetic Science*, 21(2), 71-82.
- Lee, M. H., Kao, L., and Lin, C. C. (2011). Comparison of the antioxidant and transmembrane permeative activities of the different *Polygonum cuspidatum* extracts

- in phospholipid-based microemulsions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 59(17), 9135-9141.
- Lee, S. H., Sancheti, S., Sancheti, S., and Seo, S. Y. (2009). Potent antielastase and antityrosinase activities of *Astilbe chinensis*. *American Journal of Pharmacology and Toxicology*, 4(4), 127-129.
- Lee, S. J., Ahmed, A. A., Wood, A., and Mabry, T. J. (1997). New lupane triterpene fatty acid ester from leaves of *Maclura pomifera*. *Natural Product Letters*, 10(4), 313-317.
- Lee, S. J., Wood, A. R., Maier, C. G. A., Dixon, R. A., and Mabry, T. J. (1998). Prenylated flavonoids from *Maclura pomifera*. *Phytochemistry*, 49(8), 2573-2577.
- Lee, V. S. Y., Dou, J. P., Chen, R. J. Y., Lin, R. S., Lee, M. R., and Tzen, J. T. C. (2008). Massive accumulation of gallic acid and unique occurrence of myricetin, quercetin, and kaempferol in preparing old oolong tea. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(17), 7950-7956.
- Leu, S. J., Lin, Y. P., Lin, R. D., Wen, C. L., Cheng, K. T., Hsu, F. L., and Lee, M. H. (2006). Phenolic constituents of *Malus doumeri* var. *formosana* in the field of skin care. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 29(4), 740-745.
- Li, B., Jin, Y. X., Xu, Y., Wu, Y. Y., Xu, J. Y., and Tu, Y. Y. (2011). Safety evaluation of tea (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze) flower extract: Assessment of mutagenicity, and acute and subchronic toxicity in rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 133(2), 583-590.
- Li, Y., Qi, Y., Huang, T. H. W., Yamahara, J., and Roufogalis, B. D. (2008). Pomegranate flower: A unique traditional antidiabetic medicine with dual PPAR- α - γ activator properties. *Diabetes Obesity & Metabolism*, 10(1), 10-17.
- Lim, T. Y., Lim, Y. Y., and Yule, C. M. (2009). Evaluation of antioxidant, antibacterial and anti-tyrosinase activities of four *Macaranga* species. *Food Chemistry*, 114, 594-599.
- Lin, L. Z., Chen, P., and Harnly, J. M. (2008). New phenolic components and chromatographic profiles of green and fermented teas. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(17), 8130-8140.
- Liu, W. G., Okajima, K., Murakami, K., Harada, N., Isobe, H., and Irie, T. (1998). Role of neutrophil elastase in stress-induced gastric mucosal injury in rats. *Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 132(5), 432-439.
- Lotfy, M. (2006). Biological activity of bee propolis in health and disease. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 7(1), 22-31.
- Internet: *Maclura pomifera* (Raf.) C.K. Schneid., Osage-orange. <http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Fplants.usda.gov%2Fcore%2Fprofile%3Fsymbol%3DMAPO&date=2016-01-23>, Son Erişim Tarihi: 23.01.2016.
- Magdassi, S. (1997). Delivery systems in cosmetics. *Colloids and Surfaces a-Physicochemical and Engineering Aspects*, 123, 671-679.

- Mahabusarakam, W., Wiriyaichitra, P., and Taylor, W. C. (1987). Chemical constituents of *Garcinia mangostana*. *Journal of Natural Products*, 50(3), 474-478.
- Maisuthisakul, P., and Gordon, M. H. (2009). Antioxidant and tyrosinase inhibitory activity of mango seed kernel by product. *Food Chemistry*, 117, 332-341.
- Maity, N., Nema, N. K., Abedy, M. K., Sarkar, B. K., and Mukherjee, P. K. (2011). Exploring *Tagetes erecta* Linn flower for the elastase, hyaluronidase and MMP-1 inhibitory activity. *Journal of Ethnopharmacology*, 137(3), 1300-1305.
- Makimura, M., Hirasawa, M., Kobayashi, K., Indo, J., Sakanaka, S., Taguchi, T., and Otake, S. (1993). Inhibitory effect of tea catechins on collagenase activity. *Journal of Periodontology*, 64(7), 630-636.
- Mamedov, N., Gardner, Z., and Craker, L. E. (2005). Medicinal plants used in Russia and central Asia for the treatment of selected skin conditions. *Journal of Herbs, Spices & Medicinal Plants*, 11(1-2), 191-222.
- Marcetic, M., Bozic, D., Milenkovic, M., Malesevic, N., Radulovic, S., and Kovacevic, N. (2013). Antimicrobial, antioxidant and anti-inflammatory activity of young shoots of the smoke tree, *Cotinus coggygria* Scop. *Phytotherapy Research*, 27(11), 1658-1663.
- Martorana, M., Arcoraci, T., Rizza, L., Cristani, M., Bonina, F. P., Saija, A., Trombetta, D., and Tomaino, A. (2013). *In vitro* antioxidant and *in vivo* photoprotective effect of pistachio (*Pistacia vera* L., variety bronte) seed and skin extracts. *Fitoterapia*, 85, 41-48.
- Masamoto, Y., Iida, S., and Kubo, M. (1980). Inhibitory effect of Chinese crude drugs on tyrosinase. *Planta Medica*, 40(4), 361-365.
- Masuda, M., Murata, K., Fukuhama, A., Naruto, S., Fujita, T., Uwaya, A., Isami, F., and Matsuda, H. (2009). Inhibitory effects of constituents of *Morinda citrifolia* seeds on elastase and tyrosinase. *Journal of Natural Medicines*, 63, 267-273.
- Matic, S., Stanic, S., Bogojevic, D., Solujic, S., Grdovic, N., Vidakovic, M., and Mihailovic, M. (2011). Genotoxic potential of *Cotinus coggygria* Scop. (Anacardiaceae) stem extract *in vivo*. *Genetics and Molecular Biology*, 34(2), 298-303.
- Matic, S., Stanic, S., Bogojevic, D., Vidakovic, M., Grdovic, N., Dinic, S., Solujic, S., Mladenovic, M., Stankovic, N., and Mihailovic, M. (2013). Methanol extract from the stem of *Cotinus coggygria* Scop., and its major bioactive phytochemical constituent myricetin modulate pyrogallol-induced DNA damage and liver injury. *Mutation Research*, 755(2), 81-89.
- Matić, S., Stanić, S., Mihailović, M., and Bogojević, D. (in press). *Cotinus coggygria* Scop.: An overview of its chemical constituents, pharmacological and toxicological potential. *Saudi Journal of Biological Sciences*.
- Matic, S., Stanic, S., Solujic, S., Milosevic, T., and Niciforovic, N. (2011). Biological properties of the *Cotinus coggygria* methanol extract. *Periodicum Biologorum*, 113(1), 87-92.

- Matkowski, A., and Piotrowska, M. (2006). Antioxidant and free radical scavenging activities of some medicinal plants from the Lamiaceae. *Fitoterapia*, 77(5), 346-353.
- Matsui, Y., Sugiyama, K., Kamei, M., Takahashi, T., Suzuki, T., Katagata, Y., and Ito, T. (2010). Extract of passion fruit (*Passiflora edulis*) seed containing high amounts of piceatannol inhibits melanogenesis and promotes collagen synthesis. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 58(20), 11112-11118.
- McCune, L. M. (2013). A review of the antioxidant actions of three herbal medicines (*Crataegus monogyna*, *Ginkgo biloba*, and *Aesculus hippocastanum*) on the treatment of cardiovascular diseases. In Watson, R. ve Preedy, V. (Eds.), *Bioactive Food as Dietary Interventions for Cardiovascular Disease* San Diego: Academic Press.
- Mehta, S. K., and Bala, K. (2000). Tween-based microemulsions: A percolation view. *Fluid Phase Equilibria*, 172(2), 197-209.
- Melzig, M. F., Loser, B., and Ciesielski, S. (2001). Inhibition of neutrophil elastase activity by phenolic compounds from plants. *Pharmazie*, 56(12), 967-970.
- Melzig, M. F., Pertz, H. H., and Krenn, L. (2001). Anti-inflammatory and spasmolytic activity of extracts from *Drosera* herba. *Phytomedicine*, 8(3), 225-229.
- Meunier, M. T., Villie, F., and Bastide, P. (1994). The interaction of *Cupressus sempervirens* L. proanthocyanidolic oligomers with elastase and elastins. *Journal de Pharmacie de Belgique*, 49(6), 453-461.
- Miguel, M. G., and Antunes, M. D. (2011). Is propolis safe as an alternative medicine? *Journal of Pharmacy and Bioallied Sciences*, 3(4), 479-495.
- Min, T., and Barfod, A. (2008). Anacardiaceae. In Zheng-Yi, W., Raven, P. H., ve Hong, D. Y. (Eds.), *Flora of China* (Vol. 11, pp. 336-357). Beijing and St. Louis: Science Press and Missouri Botanical Garden Press.
- Mohammad, S. M., and Kashani, H. H. (2012). Chemical composition of the plant *Punica granatum* L. (pomegranate) and its effect on heart and cancer. *Journal of Medicinal Plants Research*, 6(40), 5306-5310.
- Moon, H. I., Kim, T., Cho, H. S., and Kim, E. K. (2010). Identification of potential and selective collagenase, gelatinase inhibitors from *Crataegus pinnatifida*. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 20, 991-993.
- Mukherjee, P. K., Maity, N., Nema, N. K., and Sarkar, B. K. (2011). Bioactive compounds from natural resources against skin aging. *Phytomedicine*, 19(1), 64-73.
- Naksuriya, O., Okonogi, S., Schiffelers, R. M., and Hennink, W. E. (2014). Curcumin nanoformulations: A review of pharmaceutical properties and preclinical studies and clinical data related to cancer treatment. *Biomaterials*, 35(10), 3365-3383.
- Nassiri-Asl, M., and Hosseinzadeh, H. (2009). Review of the pharmacological effects of *Vitis vinifera* (grape) and its bioactive compounds. *Phytotherapy Research*, 23(9), 1197-1204.

- Naylor, E. C., Watson, R. E. B., and Sherratt, M. J. (2011). Molecular aspects of skin ageing. *Maturitas*, 69(3), 249-256.
- Necas, J., Bartosikova, L., Florian, T., Klusakova, J., Suchy, V., Janostikova, E., Bartosik, T., and El Naggar, E. B. (2007). Protective effects of flavonoid pomiferin on heart ischemia-reperfusion. *Acta Veterinaria Brno*, 76, 363-370.
- Nema, N. K., Maity, N., Sarkar, B., and Mukherjee, P. K. (2011). *Cucumis sativus* fruit-potential antioxidant, anti-hyaluronidase, and anti-elastase agent. *Archives of Dermatological Research*, 303(4), 247-252.
- Neves, J. M., Matos, C., Moutinho, C., Queiroz, G., and Gomes, L. R. (2009). Ethnopharmacological notes about ancient uses of medicinal plants in Tras-os-Montes (northern of Portugal). *Journal of Ethnopharmacology*, 124(2), 270-283.
- Ngoc, T. M., Lee, I., Ha, D. T., Kim, H., Min, B., and Bae, K. (2009). Tyrosinase-inhibitory constituents from the twigs of *Cinnamomum cassia*. *Journal of Natural Products*, 72, 1205-1208.
- Nguyen, T. T. T., Ghosh, C., Hwang, S. G., Tran, L. D., and Park, J. S. (2013). Characteristics of curcumin-loaded poly (lactic acid) nanofibers for wound healing. *Journal of Materials Science*, 48(20), 7125-7133.
- Niciforovic, N., Mihailovic, V., Maskovic, P., Solujic, S., Stojkovic, A., and Pavlovic Muratspahic, D. (2010). Antioxidant activity of selected plant species; potential new sources of natural antioxidants. *Food and Chemical Toxicology*, 48(11), 3125-3130.
- Nishiyama, T., Mae, T., Kishida, H., Tsukagawa, M., Mimaki, Y., Kuroda, M., Sashida, Y., Takahashi, K., Kawada, T., Nakagawa, K., and Kitahara, M. (2005). Curcuminoids and sesquiterpenoids in turmeric (*Curcuma longa* L.) suppress an increase in blood glucose level in type 2 diabetic KK-Ay mice. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(4), 959-963.
- No, J. K., Soung, D. Y., Kim, Y. J., Shim, K. H., Jun, Y. S., Rhee, S. H., Yokozawa, T., and Chung, H. Y. (1999). Inhibition of tyrosinase by green tea components. *Life Sciences*, 65(21), 241-246.
- Novakovic, M., Vuckovic, I., Janackovic, P., Sokovic, M., Filipovic, A., Tesevic, V., and Milosavljevic, S. (2007). Chemical composition, antibacterial and antifungal activity of the essential oils of *Cotinus coggygria* from Serbia. *Journal of the Serbian Chemical Society*, 72(11), 1045-1051.
- Nugroho, A., Choi, J. K., Park, J. H., Lee, K. T., Cha, B. C., and Park, H. J. (2009). Two new flavonol glycosides from *Lamium amplexicaule* L. and their *in vitro* free radical scavenging and tyrosinase inhibitory activities. *Planta Medica*, 75(4), 364-366.
- Obolskiy, D., Pischel, I., Siriwatanametanon, N., and Heinrich, M. (2009). *Garcinia mangostana* L.: A phytochemical and pharmacological review. *Phytotherapy Research*, 23(8), 1047-1065.

- Orhan, İ., Aslan, M., Şener, B., Kaiser, M., and Taşdemir, D. (2006). *In vitro* antiprotozoal activity of the lipophilic extracts of different parts of Turkish *Pistacia vera* L. *Phytomedicine*, 13(9-10), 735-739.
- Orhan, İ., Şenol, F. S., Gülpınar, A. R., Kartal, M., Şekeroğlu, N., Deveci, M., Kan, Y., and Şener, B. (2009). Acetylcholinesterase inhibitory and antioxidant properties of *Cyclotrichium niveum*, *Thymus praecox* subsp *caucasicus* var. *caucasicus*, *Echinacea purpurea* and *E. pallida*. *Food and Chemical Toxicology*, 47(6), 1304-1310.
- Orhan, İ., Şenol, F. S., Kartal, M., Dvorska, M., Zemlicka, M., Smejkal, K., and Mokry, P. (2009). Cholinesterase inhibitory effects of the extracts and compounds of *Maclura pomifera* (Rafin.) Schneider. *Food and Chemical Toxicology*, 47(8), 1747-1751.
- Orhan, İ. E., and Khan, M. T. H. (2014). Flavonoid derivatives as potent tyrosinase inhibitors - A survey of recent findings between 2008-2013. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 14(12), 1486-1493.
- Orhan, İ. E., Şenol, F. S., Demirci, B., Dvorska, M., Smejkal, K., and Zemlicka, M. (in press). Antioxidant activity of some flavonoid derivatives and the extracts from *Maclura pomifera* (Rafin.) Schneider (osage orange) and its essential oil composition. *Turkish Journal of Biochemistry*.
- Osborne, D. W., Ward, A. J. I., and O'Neill, K. J. (1988). Microemulsions as topical drug delivery vehicles. 1. Characterization of a model system. *Drug Development and Industrial Pharmacy*, 14(9), 1203-1219.
- Oshima, N., Narukawa, Y., Takeda, T., and Kiuchi, F. (2013). Collagenase inhibitors from *Viola yedoensis*. *Journal of Natural Medicines*, 67(1), 240-245.
- Oyaizu, M. (1986). Studies on products of browning reaction: Antioxidative activities of products of browning reaction prepared from glucosamine. *Japanese Journal of Nutrition*, 44, 307-315.
- Özçelik, B., Aslan, M., Orhan, İ., and Karaoğlu, T. (2005). Antibacterial, antifungal, and antiviral activities of the lipophylic extracts of *Pistacia vera*. *Microbiological Research*, 160(2), 159-164.
- Özgen, U., Mavi, A., Terzi, Z., Coşkun, M., and Yıldırım, A. (2004). Antioxidant activities and total phenolic compounds amount of some Asteraceae species. *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences*, 1(3), 203-216.
- Pacheco-Palencia, L. A., Noratto, G., Hingorani, L., Talcott, S. T., and Mertens-Talcott, S. U. (2008). Protective effects of standardized pomegranate (*Punica granatum* L.) polyphenolic extract in ultraviolet-irradiated human skin fibroblasts. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(18), 8434-8441.
- Paduch, R., Wojciak-Kosior, M., and Matysik, G. (2007). Investigation of biological activity of *Lamii albi flos* extracts. *Journal of Ethnopharmacology*, 110(1), 69-75.
- Park, E. H., and Kahng, J. H. (1999). Suppressive effects of propolis in rat adjuvant arthritis. *Archives of Pharmacal Research*, 22(6), 554-558.

- Park, H., Sin, B. Y., and Kim, H. P. (2006). Inhibition of collagenase by anti-inflammatory synthetic flavones. *The Journal of Applied Pharmacology*, 14, 36-39.
- Park, S. H., Oh, T. H., Kim, S. S., Kim, J. E., Lee, S. J., and Lee, N. H. (2012). Constituents with tyrosinase inhibitory activities from branches of *Ficus erecta* var. *sieboldii* King. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 27(3), 390-394.
- Parvez, S., Kang, M., Chung, H. S., and Bae, H. (2007). Naturally occurring tyrosinase inhibitors: Mechanism and applications in skin health, cosmetics and agriculture industries. *Phytotherapy Research*, 21(9), 805-816.
- Parvez, S., Kang, M., Chung, H. S., Cho, C., Hong, M. C., Shin, M. K., and Bae, H. (2006). Survey and mechanism of skin depigmenting and lightening agents. *Phytotherapy Research*, 20(11), 921-934.
- Patravale, V. B., and Mandawgade, S. D. (2008). Novel cosmetic delivery systems: An application update. *International Journal of Cosmetic Science*, 30(1), 19-33.
- Pavlov, D., Ivanova, D., Eftimov, M., Tzaneva, M., Nashar, M., Kobakova, I., and Valcheva-Kuzmanova, S. (2013). Effect of aqueous infusion from *Cotinus coggygria* leaves on indomethacin-induced gastric mucosal damage and oxidative stress in rats. *Scripta Scientifica Medica*, 45(3), 32-38.
- Pedraza-Chaverri, J., Cardenas-Rodriguez, N., Orozco-Ibarra, M., and Perez-Rojas, J. M. (2008). Medicinal properties of mangosteen (*Garcinia mangostana*). *Food and Chemical Toxicology*, 46(10), 3227-3239.
- Pereira, O. R., Domingues, M. R. M., Silva, A. M. S., and Cardoso, S. M. (2012). Phenolic constituents of *Lamium album*: Focus on isoscutellarein derivatives. *Food Research International*, 48(1), 330-335.
- İnternet: Personal Care Products Council - International Buyers' Guide. <http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Fbuyers.personalcarecouncil.org%2Fjsp%2FBGSearchPage.jsp&date=2016-01-23>, Son Erişim Tarihi: 23.01.2016.
- Perumalla, A. V. S., and Hettiarachchy, N. S. (2011). Green tea and grape seed extracts - potential applications in food safety and quality. *Food Research International*, 44, 827-839.
- Peterson, C., Zhu, J., and Coats, J. R. (2002). Identification of components of osage orange fruit (*Maclura pomifera*) and their repellency to German cockroaches. *Journal of Essential Oil Research*, 14, 233-236.
- Pieroni, A., Quave, C. L., Villanelli, M. L., Mangino, P., Sabbatini, G., Santini, L., Boccetti, T., Profili, M., Ciccioli, T., Rampa, L. G., Antonini, G., Girolamini, C., Cecchi, M., and Tomasi, M. (2004). Ethnopharmacognostic survey on the natural ingredients used in folk cosmetics, cosmeceuticals and remedies for healing skin diseases in the inland Marches, Central-Eastern Italy. *Journal of Ethnopharmacology*, 91(2-3), 331-344.
- Pisoschi, A. M., and Negulescu, G. P. (2011). Methods for total antioxidant activity determination: A review. *Biochemistry and Analytical Biochemistry*, 1(1), 106-115.

- Piwowarski, J. P., Kiss, A. K., and Kozłowska-Wojciechowska, M. (2011). Anti-hyaluronidase and anti-elastase activity screening of tannin-rich plant materials used in traditional Polish medicine for external treatment of diseases with inflammatory background. *Journal of Ethnopharmacology*, 137(1), 937-941.
- Polizelli, M. A., Telis, V. R. N., Amaral, L. Q., and Feitosa, E. (2006). Formation and characterization of soy bean oil/surfactant/water microemulsions. *Colloids and Surfaces a-Physicochemical and Engineering Aspects*, 281(1-3), 230-236.
- İnternet: Poonawalla, T., and Diven, D., Anatomy of the skin. http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Fwww.utmb.edu%2Fpedi_e_d%2FCORE%2FDermatology%2Fpage_03.htm&date=2016-01-25, Son Erişim Tarihi: 25.01.2016.
- Price, M. L., Van Scoyoc, S., and Butler, L. G. (1978). A critical evaluation of the vanillin reaction as an assay for tannin in sorghum grain *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 26(5), 1214-1218.
- Prieto, P., Pineda, M., and Aquilar, M. (1999). Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: Specific application to the determination of vitamin E. *Analytical Biochemistry*, 269(2), 337-341.
- Raman, I. A. B., Suhaimi, H., and Tiddy, G. J. T. (2003). Formation of microemulsions with palm-based oils stabilized by a non-ionic surfactant. *Journal of Oil Palm Research*, 15(2), 50-61.
- Ray, S. D., Kumar, M. A., and Bagchi, D. (1999). A novel proanthocyanidin IH636 grape seed extract increases *in vivo* Bcl-XL expression and prevents acetaminophen-induced programmed and unprogrammed cell death in mouse liver. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 369(1), 42-58.
- Ribeiro, J. P. N., Magalhaes, L. M., Reis, S., Lima, J. L. F. C., and Segundo, M. A. (2011). High-throughput total cupric ion reducing antioxidant capacity of biological samples determined using flow injection analysis and microplate-based methods. *Analytical Sciences*, 27(5), 483-488.
- Rodrigues, S., Calhella, R. C., Barreira, J. C. M., Duenas, M., Carvalho, A. M., Abreu, R. M. V., Santos-Buelga, C., and Ferreira, I. C. F. R. (2012). *Crataegus monogyna* buds and fruits phenolic extracts: Growth inhibitory activity on human tumor cell lines and chemical characterization by HPLC-DAD-ESI/MS. *Food Research International*, 49(1), 516-523.
- Roman, I., Stanila, A., and Stanila, S. (2013). Bioactive compounds and antioxidant activity of *Rosa canina* L. biotypes from spontaneous flora of Transylvania. *Chemistry Central Journal*, 7(73), 1-10.
- Roy, A., Sahu, R., Matlam, M., Deshmukh, V., Dwivedi, J., and Jha, A. (2013). *In vitro* techniques to assess the proficiency of skin care cosmetic formulations. *Pharmacognosy Reviews*, 7(14), 97-106.

- Saeidnia, S., and Abdollahi, M. (2013). Antioxidants: Friends or foe in prevention or treatment of cancer: The debate of the century. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 271(1), 49-63.
- Sahasrabudhe, A., and Deodhar, M. (2010). Anti-hyaluronidase, anti-elastase activity of *Garcinia indica*. *International Journal of Botany*, 6(3), 299-303.
- Saloua, F., Eddine, N. I., and Hedi, Z. (2009). Chemical composition and profile characteristics of osage orange *Maclura pomifera* (Rafin.) Schneider seed and seed oil. *Industrial Crops and Products*, 29, 1-8.
- Saraçoğlu, İ., Varel, M., Harput, Ü. Ş., and Nagatsu, A. (2004). Acylated flavonoids and phenol glycosides from *Veronica thymoides* subsp *pseudocinerea*. *Phytochemistry*, 65(16), 2379-2385.
- Savchenko, T., Blackford, M., Sarker, S. D., and Dinan, L. (2001). Phytoecdysteroids from *Lamium* spp: Identification and distribution within plants. *Biochemical Systematics and Ecology*, 29(9), 891-900.
- Savikin, K., Zdunic, G., Jankovic, T., Stanojkovic, T., Juranic, Z., and Menkovic, N. (2009). *In vitro* cytotoxic and antioxidative activity of *Cornus mas* and *Cotinus coggygia*. *Natural Product Research*, 23(18), 1731-1739.
- Schlesier, K., Harwat, M., Bohm, V., and Bitsch, R. (2002). Assessment of antioxidant activity by using different *in vitro* methods. *Free Radical Research*, 36(2), 177-187.
- Serpen, A., Pelvan, E., Alasalvar, C., Moğol, B. A., Yavuz, H. T., Gökmen, V., Özcan, N., and Özçelik, B. (2012). Nutritional and functional characteristics of seven grades of black tea produced in Turkey. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 60(31), 7682-7689.
- Sezik, E., Yeşilada, E., Honda, G., Takaishi, Y., Takeda, Y., and Tanaka, T. (2001). Traditional medicine in Turkey X. Folk medicine in Central Anatolia. *Journal of Ethnopharmacology*, 75(2-3), 95-115.
- Shuya, C., Xingguo, C., and Zhide, H. (2003). Identification and determination of ecdysone and phenylpropanoid glucoside and flavonoids in *Lamium maculatum* by capillary zone electrophoresis. *Biomedical Chromatography*, 17(7), 477-482.
- Si, Y. X., Wang, Z. J., Park, D., Chung, H. Y., Wang, S. F., Yan, L., Yang, J. M., Qian, G. Y., Yin, S. J., and Park, Y. D. (2012). Effect of hesperetin on tyrosinase: Inhibition kinetics integrated computational simulation study. *International Journal of Biological Macromolecules*, 50(1), 257-262.
- Siedle, B., Hrenn, A., and Merfort, I. (2007). Natural compounds as inhibitors of human neutrophil elastase. *Planta Medica*, 73, 401-420.
- Sim, G. S., Lee, B. C., Cho, H. S., Lee, J. W., Kim, J. H., Lee, D. H., Kim, J. H., Pyo, H. B., Moon, D. C., Oh, K. W., Yun, Y. P., and Hong, J. T. (2007). Structure activity relationship of antioxidative property of flavonoids and inhibitory effect on matrix metalloproteinase activity in UVA-irradiated human dermal fibroblast. *Archives of Pharmacal Research*, 30(3), 290-298.

- Simic, M., Vucicevic, D., Milenkovic, M., and Kovacevic, N. (2008). Antioxidant and anti-inflammatory activity of *Cotinus coggygria* extracts. *Planta Medica*, 74(9), 954-954.
- Sin, B. Y., and Kim, H. P. (2005). Inhibition of collagenase by naturally-occurring flavonoids. *Archives of Pharmacal Research*, 28(10), 1152-1155.
- Singleton, V. L., and Rossi, J. A. J. (1965). Colorimetry of total phenolics with phosphomolibdic-phosphotungstic acid reagents. *American Journal of Enology and Viticulture*, 16, 144-158.
- Sintov, A. C., and Shapiro, L. (2004). New microemulsion vehicle facilitates percutaneous penetration *in vitro* and cutaneous drug bioavailability *in vivo*. *Journal of Controlled Release*, 95(2), 173-183.
- Son, I. H., Chung, I. M., Lee, S. I., Yang, H. D., and Moon, H. I. (2007). Pomiferin, histone deacetylase inhibitor isolated from the fruits of *Maclura pomifera*. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 17(17), 4753-4755.
- Spernath, A., and Aserin, A. (2006). Microemulsions as carriers for drugs and nutraceuticals. *Advances in Colloid and Interface Science*, 128, 47-64.
- Spiclin, P., Gasperlin, M., and Kmetec, V. (2001). Stability of ascorbyl palmitate in topical microemulsions. *International Journal of Pharmaceutics*, 222(2), 271-279.
- Spiclin, P., Homar, M., Zupancic-Valant, A., and Gasperlin, M. (2003). Sodium ascorbyl phosphate in topical microemulsions. *International Journal of Pharmaceutics*, 256(1-2), 65-73.
- Sreejayan, and Rao, M. N. A. (1997). Nitric oxide scavenging by curcuminoids. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 49(1), 105-107.
- Srivastava, M., Srivastava, S., Khatoon, S., Rawat, A. K. S., Mehrotra, S., and Pushpangadan, P. (2006). Pharmacognostical evaluation of *Cassia angustifolia* seeds. *Pharmaceutical Biology*, 44(3), 202-207.
- Stanić, S., Matić, S., Đelić, G., Mihailović, M., Bogojević, D., and Solujić, S. (2011). Study of genotoxicity and antigenotoxicity of the *Cotinus coggygria* Scop. methanol extract by *Drosophila melanogaster* sex-linked recessive lethal test. *Russian Journal of Genetics*, 47(7), 770-774.
- Sultana, N., and Lee, N. H. (2007). Antielastase and free radical scavenging activities of compounds from the stems of *Cornus kousa*. *Phytotherapy Research*, 21(12), 1171-1176.
- Sumiyoshi, M., and Kimura, Y. (2009). Effects of a turmeric extract (*Curcuma longa*) on chronic ultraviolet B irradiation-induced skin damage in melanin-possessing hairless mice. *Phytomedicine*, 16(12), 1137-1143.
- Süntar, İ., Akkol, E. K., Şenol, F. S., Keleş, H., and Orhan, İ. E. (2011). Investigating wound healing, tyrosinase inhibitory and antioxidant activities of the ethanol extracts of *Salvia cryptantha* and *Salvia cyanescens* using *in vivo* and *in vitro* experimental models. *Journal of Ethnopharmacology*, 135(1), 71-77.

Süzgeç Selçuk, S., and Eyisan, S. (2012). Türkiye'deki eczanelerde bulunan bitkisel ilaçlar. *Marmara Pharmaceutical Journal*, 16, 164-180.

İnternet: Şahin İpekoğlu, N., Turkchem Dergisi - Türkiye'de kozmetik sanayi ithalat ve ihracat rakamları ve kozmetik sektöründe Ar-Ge ve inovasyon. <http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Fwww.turkchemonline.com%2FHaber%2FTurkiyede-Kozmetik-Sanayi-Ithalat-ve-Ihracat-Rakam.html&date=2016-01-23>, Son Erişim Tarihi: 23.01.2016.

Şenol, F. S., Orhan, İ., Celep, F., Kahraman, A., Doğan, M., Yılmaz, G., and Şener, B. (2010). Survey of 55 Turkish *Salvia* taxa for their acetylcholinesterase inhibitory and antioxidant activities. *Food Chemistry*, 120(1), 34-43.

Tadic, V. M., Dobric, S., Markovic, G. M., Dordevic, S. M., Arsic, I. A., Menkovic, N. R., and Stevic, T. (2008). Anti-inflammatory, gastroprotective, free-radical-scavenging, and antimicrobial activities of hawthorn berries ethanol extract. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 56(17), 7700-7709.

Tal-Figiel, B., and Figiel, W. (2008). Micro- and nanoemulsions in cosmetic and pharmaceutical products. *Journal of Dispersion Science and Technology*, 29(4), 611-616.

Tanchev, S. S., and Timberlake, C. F. (1969). Anthocyanins in leaves of *Cotinus coggygia*. *Phytochemistry*, 8(12), 2367-2369.

İnternet: Taşçı, F., Üzüm / Tarımsal Araştırmalar ve Politikalar Genel Müdürlüğü Bahçe Bitkileri Araştırmaları Daire Başkanlığı. http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Fwww.tarim.gov.tr%2FTAGEM%2FBelgeler%2FSUNULAR%2FBa%25C4%259Fc%25C4%25B11%25C4%25B1k_Ferya%2520TA%25C5%259E%25C3%2587I.pdf&date=2016-01-23, Son Erişim Tarihi: 23.01.2016.

Tatlı, İ. İ., Akdemir, Z. S., Yeşilada, E., and Küpeli, E. (2008). Anti-inflammatory and antinociceptive potential of major phenolics from *Verbascum salviifolium* Boiss. *Zeitschrift für Naturforschung C*, 63(3-4), 196-202.

Teixeira, D. M., and da Costa, C. T. (2005). Novel methods to extract flavanones and xanthenes from the root bark of *Maclura pomifera*. *Journal of Chromatography A*, 1062(2), 175-181.

Tengamnuay, P., Pengrungruangwong, K., Pheansri, I., and Likhitwitayawuid, K. (2006). *Artocarpus lakoocha* heartwood extract as a novel cosmetic ingredient: Evaluation of the *in vitro* anti-tyrosinase and *in vivo* skin whitening activities. *International Journal of Cosmetic Science*, 28(4), 269-276.

Tenjarla, S. (1999). Microemulsions: An overview and pharmaceutical applications. *Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems*, 16(5), 461-521.

Thring, T. S., Hili, P., and Naughton, D. P. (2009). Anti-collagenase, anti-elastase and antioxidant activities of extracts from 21 plants. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 9, Article no: 27.

- Tian, L., Blount, J. W., and Dixon, R. A. (2006). Phenylpropanoid glycosyltransferases from osage orange (*Maclura pomifera*) fruit. *FEBS Letters*, 580(30), 6915-6920.
- Tırnaksız, F. (2005). Antioksidanların cilt bakım ürünlerinde kullanımı. *MİSED*, 13-14, 26-37.
- Tomaino, A., Martorana, M., Arcoraci, T., Monteleone, D., Giovinazzo, C., and Saija, A. (2010). Antioxidant activity and phenolic profile of pistachio (*Pistacia vera* L., variety Bronte) seeds and skins. *Biochimie*, 92(9), 1115-1122.
- Trouillas, P., Calliste, C. A., Allais, D. P., Simon, A., Marfak, A., Delage, C., and Duroux, J. L. (2003). Antioxidant, anti-inflammatory and antiproliferative properties of sixteen water plant extracts used in the limousin countryside as herbal teas. *Food Chemistry*, 80(3), 399-407.
- Tsai, P. J., Tsai, T. H., Yu, C. H., and Ho, S. C. (2007). Comparison of NO-scavenging and NO-suppressing activities of different herbal teas with those of green tea. *Food Chemistry*, 103(1), 181-187.
- Tsao, R., Yang, R., and Young, J. C. (2003). Antioxidant isoflavones in osage orange, *Maclura pomifera* (Raf.) Schneid. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(22), 6445-6451.
- Tsukahara, K., Moriwaki, S., Fujimura, T., and Takema, Y. (2001). Inhibitory effect of an extract of *Sanguisorba officinalis* L. on ultraviolet-B-induced photodamage of rat skin. *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 24(9), 998-1003.
- Tunç, K., Hoş, A., and Güneş, B. (2013). Investigation of antibacterial properties of *Cotinus coggygria* from Turkey. *Polish Journal of Environmental Studies*, 22(5), 1559-1561.
- Tuzlacı, E., and Alparslan, D. F. (2007). Turkish folk medicinal plants, part V: Babaeski (Kırklareli). *Journal of Faculty Pharmacy of Istanbul University*, 39, 11-23.
- İnternet: Türkiye bitkileri veri servisi (TÜBİVES). http://www.webcitation.org/query?url=http%3A%2F%2Fwww.tubives.com%2Findex.php%3Fsayfa%3D1%26tax_id%3D2374&date=2016-01-23, Son Erişim Tarihi: 23.01.2016.
- Tzakou, O., Bazos, I., and Yannitsaros, A. (2005). Essential oils of leaves, inflorescences and infructescences of spontaneous *Cotinus coggygria* Scop. from Greece. *Flavour and Fragrance Journal*, 20(5), 531-533.
- Ufkes, L. L., and Grams, G. W. (2007). The isolation and identification of volatile insect repellents from the fruit of the osage orange (*Maclura pomifera*). *Journal of Essential Oil Research*, 19, 167-170.
- Uğur, A., and Arslan, T. (2004). An *in vitro* study on antimicrobial activity of propolis from Mugla province of Turkey. *Journal of Medicinal Food*, 7(1), 90-94.
- Valianou, L., Stathopoulou, K., Karapanagiotis, I., Magiatis, P., Pavlidou, E., Skaltsounis, A. L., and Chrysosoulakis, Y. (2009). Phytochemical analysis of young fustic (*Cotinus*

- coggygia* Heartwood) and identification of isolated colourants in historical textiles. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 394(3), 871-882.
- Van Wart, H. E., and Steinbrink, D. R. A. (1981). A continuous spectrophotometric assay for *Clostridium hystolyticum* collagenase. *Analytical Biochemistry*, 113(2), 356-365.
- Vesela, D., Kubinova, R., Muselik, J., Zemlicka, M., and Suchy, V. (2004). Antioxidative and EROD activities of osajin and pomiferin. *Fitoterapia*, 75(2), 209-211.
- Volpi, N. (2004). Separation of flavonoids and phenolic acids from propolis by capillary zone electrophoresis. *Electrophoresis*, 25(12), 1872-1878.
- Wang, H. B., Race, E. J., and Shrikhande, A. J. (2003). Characterization of anthocyanins in grape juices by ion trap liquid chromatography-mass spectrometry. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(7), 1839-1844.
- Wang, K. H., Lin, R. D., Hsu, F. L., Huang, Y. H., Chang, H. C., Huang, C. Y., and Lee, M. H. (2006). Cosmetic applications of selected traditional Chinese herbal medicines. *Journal of Ethnopharmacology*, 106(3), 353-359.
- Wang, L., Xu, R. J., Hu, B., Li, W., Sun, Y., Tu, Y. Y., and Zeng, X. X. (2010). Analysis of free amino acids in Chinese teas and flower of tea plant by high performance liquid chromatography combined with solid-phase extraction. *Food Chemistry*, 123(4), 1259-1266.
- Wang, R. F., Wang, W., Wang, L., Liu, R. N., Ding, Y., and Du, L. J. (2006). Constituents of the flowers of *Punica granatum*. *Fitoterapia*, 77(7-8), 534-537.
- Westenburg, H. E., Lee, K. J., Lee, S. K., Fong, H. H. S., van Breemen, R. B., Pezzuto, J. M., and Kinghorn, A. D. (2000). Activity-guided isolation of antioxidative constituents of *Cotinus coggygia*. *Journal of Natural Products*, 63(12), 1696-1698.
- Woisky, R. G., and Salatino, A. (1998). Analysis of propolis: Some parameters and procedures for chemical quality control. *Journal of Apicultural Research*, 37(2), 99-105.
- Wright, T. I., Spencer, J. M., and Flowers, F. P. (2006). Chemoprevention of nonmelanoma skin cancer. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 54(6), 933-946.
- Wu, C. Y., Xu, H. R., Heritier, J., and Andlauer, W. (2012). Determination of catechins and flavonol glycosides in Chinese tea varieties. *Food Chemistry*, 132(1), 144-149.
- Wu, S. J., Ng, C. C., Tzeng, W. S., Ho, K. C., and Shyu, Y. T. (2011). Functional antioxidant and tyrosinase inhibitory properties of extracts of Taiwanese pummelo (*Citrus grandis* Osbeck). *African Journal of Biotechnology*, 10(39), 7668-7674.
- Xie, M., von Bohlen, A., Klockenkamper, R., X, J., and Gunther, K. (1998). Multielement analysis of Chinese tea (*Camellia sinensis*) by total-reflection X-ray fluorescence. *Zeitschrift für Lebensmitteluntersuchung und-Forschung A- Food Research and Technology*, 207(1), 31-38.

- Xie, Y. W., Ye, R. Q., and Liu, H. L. (2007). Microstructure studies on biosurfactant-rhamnolipid/*n*-butanol/water/*n*-heptane microemulsion system. *Colloids and Surfaces a-Physicochemical and Engineering Aspects*, 292(2-3), 189-195.
- Xu, G. H., Kim, Y. H., Chi, S. W., Choo, S. J., Ryoo, I. J., Ahn, J. S., and Yoo, I. D. (2010). Evaluation of human neutrophil elastase inhibitory effect of iridoid glycosides from *Hedyotis diffusa*. *Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters*, 20(2), 513-515.
- Xu, G. H., Ryoo, I. J., Kim, Y. H., Choo, S. J., and Yoo, I. D. (2009). Free radical scavenging and antielastase activities of flavonoids from the fruits of *Thuja orientalis*. *Archives of Pharmacal Research*, 32(2), 275-282.
- Yalçın, F. N., Kaya, D., Çalış, İ., Ersöz, T., and Palaska, E. (2008). Determination of iridoid glycosides from four Turkish *Lamium* species by HPLC-ESI/MS. *Turkish Journal of Chemistry*, 32(4), 457-467.
- Yarat, A., Saçan, O., Akyüz, S., Alev, B., Pişiriciler, R., Ak, E., and Yanardağ, R. (2013). *In vitro* effect of aqueous plant extracts on antioxidant parameters in saliva samples. *Journal of Medicinal Plants Research*, 7(3), 118-125.
- Yoshimori, A., Oyama, T., Takahashi, S., Abe, H., Kamiya, T., Abe, T., and Tanuma, S. (2014). Structure-activity relationships of the thujaplicins for inhibition of human tyrosinase. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*, 22(21), 6193-6200.
- Zadernowski, R., Czaplicki, S., and Naczek, M. (2009). Phenolic acid profiles of mangosteen fruits (*Garcinia mangostana*). *Food Chemistry*, 112(3), 685-689.
- Zaman, S., and Akhtar, N. (2013). Effect of turmeric (*Curcuma longa* Zingiberaceae) extract cream on human skin sebum secretion. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, 12(5), 665-669.
- Zhang, L. H., Fu, Q. J., and Zhang, Y. H. (2011). Composition of anthocyanins in pomegranate flowers and their antioxidant activity. *Food Chemistry*, 127(4), 1444-1449.
- Zhao, D., Yao, C. Y., Chen, X. B., Xia, H. P., Zhang, L., Liu, H. X., Jiang, X. C., Dai, Y., and Liu, J. (2013). The fruits of *Maclura pomifera* extracts inhibits glioma stem-like cell growth and invasion. *Neurochemical Research*, 38(10), 2105-2113.
- Zhao, J., Wang, J. N., Chen, Y. J., and Agarwal, R. (1999). Anti-tumor-promoting activity of a polyphenolic fraction isolated from grape seeds in the mouse skin two-stage initiation-promotion protocol and identification of procyanidin B5-3'-gallate as the most effective antioxidant constituent. *Carcinogenesis*, 20(9), 1737-1745.
- Zhao, R. B., Bruning, E., Rossetti, D., Starcher, B., Seiberg, M., and Iotsova-Stone, V. (2009). Extracts from *Glycine max* (soybean) induce elastin synthesis and inhibit elastase activity. *Experimental Dermatology*, 18(10), 883-886.
- Zhao, X., Liu, J. P., Zhang, X., and Li, Y. (2006). Enhancement of transdermal delivery of theophylline using microemulsion vehicle. *International Journal of Pharmaceutics*, 327(1-2), 58-64.

- Zhekun, Z., and Gilbert, M. G. (2003). Moraceae. In Zheng-Yi, W., Raven, P. H., ve Hong, D. Y. (Eds.), *Flora of China* (Vol. 5, pp. 21-73). Beijing and St. Louis: Science Press and Missouri Botanical Garden Press.
- Zheng, Z. P., Zhu, Q., Fan, C. L., Tan, H. Y., and Wang, M. (2011). Phenolic tyrosinase inhibitors from the stems of *Cudrania cochinchinensis*. *Food and Function*, 2(5), 259-264.
- Zillich, O. V., Schweiggert-Weisz, U., Hasenkopf, K., Eisner, P., and Kerscher, M. (2013). Release and *in vitro* skin permeation of polyphenols from cosmetic emulsions. *International Journal of Cosmetic Science*, 35(5), 491-501.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : ŞENOL, Fatma Sezer
 Uyuğu : T.C.
 Doğum tarihi ve yeri : 02.10.1985, Bursa
 Medeni hali : Bekâr
 Telefon : 0 (312) 202 31 81
 Faks : 0 (312) 202 37 10
 e-mail : fssenol@gazi.edu.tr



Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet tarihi
Doktora	Gazi Üniversitesi / Farmakognozi ABD	2016
Yüksek Lisans	Gazi Üniversitesi / Farmakognozi ABD	2009
Lisans	Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi	2007
Lise	Erzincan Milli Piyango Anadolu Lisesi	2003

İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
2009-Halen	Gazi Üniversitesi	Araştırma Görevlisi

Yabancı Dil

İngilizce

Yayınlar

1. İ. ORHAN, M. KARTAL, M. ABU-ASAKER, **F.S. ŞENOL**, G. YILMAZ, B. ŞENER: Free radical scavenging properties and phenolic characterization of some edible plants. *Food Chemistry*, 114, 276-281, 2009. (IF: 3.146)
2. D. DELİORMAN ORHAN, **F.S. ŞENOL**, M. KARTAL, İ. ORHAN: Assessment of antiradical potential of *Calluna vulgaris* (L.) Hull. and its major flavonoid. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 89, 809-814, 2009. (IF: 1.386)

3. İ. ORHAN, **F.S. ŞENOL**, A.R. GÜLPINAR, M. KARTAL, N. ŞEKEROĞLU, M. DEVECİ, Y. KAN, B. ŞENER: Acetylcholinesterase inhibitory and antioxidant properties of *Cyclotrichium niveum*, *Thymus praecox* subsp. *caucasicus* var. *caucasicus*, *Echinacea purpurea* and *E. pallida*. *Food and Chemical Toxicology*, 47, 1304-1310, 2009. (IF: 2.114)
4. İ. ORHAN, **F.S. ŞENOL**, M. KARTAL, M. DVORSKA, M. ZEMLIČKA, K. SMEJKAL, P. MOKRY: Cholinesterase inhibitory effects of the extracts and compounds of *Maclura pomifera* (Rafin.) Schneider. *Food and Chemical Toxicology*, 47, 1747-1751, 2009. (IF: 2.114)
5. M.T.H. KHAN, İ. ORHAN, **F.S. ŞENOL**, M. KARTAL, B. ŞENER, M. DVORSKA, K. SMEJKAL, T. SLAPETOVA: Cholinesterase inhibitory activities of some flavonoid derivatives chosen xanthone and their molecular docking studies. *Chemico-Biological Interactions*, 181, 383-389, 2009. (IF: 2.457)
6. M. KARTAL, İ. ORHAN, M. ABU-ASAKER, **F.S. ŞENOL**, T. ATICI, B. ŞENER: Antioxidant and anticholinesterase assets and liquid chromatography-mass spectrometry preface of various fresh-water and marine macroalgae. *Pharmacognosy Magazine*, 5(20), 291-297, 2009. (IF: 0.432)
7. **F.S. ŞENOL**, İ. ORHAN, F. CELEP, A. KAHRAMAN, M. DOĞAN, G. YILMAZ, B. ŞENER: Survey of 55 Turkish *Salvia* taxa for their acetylcholinesterase inhibitory and antioxidant activities. *Food Chemistry*, 120, 34-43, 2010. (IF: 3.458)
8. **F.S. ŞENOL**, G. YILMAZ, B. ŞENER, M. KOYUNCU, İ. ORHAN: Preliminary screening of acetylcholinesterase inhibitory and antioxidant activities of Anatolian *Heptaptera* species. *Pharmaceutical Biology*, 48(3), 337-341, 2010. (IF: 0.638)
9. **F.S. ŞENOL**, İ. ORHAN, G. YILMAZ, M. ÇİÇEK, B. ŞENER: Acetylcholinesterase, butyrylcholinesterase, and tyrosinase inhibition studies and antioxidant activities of 33 *Scutellaria* L. taxa from Turkey. *Food and Chemical Toxicology*, 48, 781-788, 2010. (IF: 2.602)
10. İ. ORHAN, R. BELHATTAB, **F.S. ŞENOL**, A.R. GÜLPINAR, S. HOŞBAŞ, M. KARTAL: Profiling of cholinesterase inhibitory and antioxidant activities of *Artemisia absinthium*, *A. herba-alba*, *A. fragrans*, *Marrubium vulgare*, *M. astranicum*, *Origanum vulgare* subsp. *glandulosum* and essential oil analysis of two *Artemisia* species. *Industrial Crops and Products*, 32, 566-571, 2010. (IF: 2.507)
11. İ. ORHAN, E. BAKİ, **F.S. ŞENOL**, G. YILMAZ: Sage-called plant species sold in Turkey and their antioxidant activities. *Journal of the Serbian Chemical Society*, 75(11), 1491-1501, 2010. (IF: 0.725)
12. İ. ORHAN, **F.S. ŞENOL**, U. KOCA, T. ERÇETİN, G. TOKER: Evaluation of antioxidant and acetylcholinesterase inhibitory activities of *Arnebia densiflora* (Nordm.) Ledeb. *Turkish Journal of Biology*, 35(1), 111-115, 2011. (IF: 0.876)
13. İ. SÜNTAR, E. KÜPELİ AKKOL, **F.S. ŞENOL**, H. KELEŞ, İ. ERDOĞAN ORHAN: Investigating wound healing, tyrosinase inhibitory and antioxidant activities of the

ethanol extracts of *Salvia cryptantha* and *Salvia cyanescens* using *in vivo* and *in vitro* experimental models. *Journal of Ethnopharmacology*, 135, 71-77, 2011. (IF: 3.014)

14. **F.S. ŞENOL**, İ. ERDOĞAN ORHAN, S. ASLAN ERDEM, M. KARTAL, B. ŞENER, Y. KAN, F. CELEP, A. KAHRAMAN, M. DOĞAN: Evaluation of cholinesterase inhibitory and antioxidant activities of wild and cultivated samples of Sage (*Salvia fruticosa*) by activity-guided fractionation. *Journal of Medicinal Food*, 14(11), 1476-1483, 2011. (IF: 1.408)
15. **F.S. ŞENOL**, K. SKALICKA WOZNIAK, M.T.H. KHAN, İ. ERDOĞAN ORHAN, B. ŞENER, K. GLOWŃIAK: An *in vitro* and *in silico* approach to cholinesterase inhibitory and antioxidant effects of the methanol extract, furanocoumarin fraction, and major coumarins of *Angelica officinalis* L. fruits. *Phytochemistry Letters*, 4(4), 462-467, 2011. (IF: 1.222)
16. İ. ERDOĞAN ORHAN, **F.S. ŞENOL**, A.R. GÜLPINAR, N. ŞEKEROĞLU, M. KARTAL, B. ŞENER: Neuroprotective potential of some terebinth coffee brands and the unprocessed fruits of *Pistacia terebinthus* L. and their fatty and essential oil analyses. *Food Chemistry*, 130, 882-888, 2012. (IF: 3.334)
17. A.R. GÜLPINAR, İ. ERDOĞAN ORHAN, A. KAN, **F.S. ŞENOL**, S.A. ÇELİK, M. KARTAL: Estimation of *in vitro* neuroprotective properties and quantification of rutin and fatty acids in buckwheat (*Fagopyrum esculentum* Möench) cultivated in Turkey. *Food Research International*, 46, 536-543, 2012. (IF: 3.005)
18. T. ERÇETİN, **F.S. ŞENOL**, İ. ERDOĞAN-ORHAN, G. TOKER: Comparative assessment of antioxidant and cholinesterase inhibitory properties of the marigold extracts from *Calendula arvensis* L. and *Calendula officinalis* L. *Industrial Crops and Products*, 36, 203-208, 2012. (IF: 2.468)
19. İ. TÜMEN, **F.S. ŞENOL**, İ. ERDOĞAN ORHAN: Inhibitory potential of the leaves and berries of *Myrtus communis* L. (myrtle) against enzymes linked to neurodegenerative diseases and their antioxidant actions. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 63(4), 387-392, 2012. (IF: 1.257)
20. N. ŞEKEROĞLU, **F.S. ŞENOL**, İ. ERDOĞAN ORHAN, A.R. GÜLPINAR, M. KARTAL, B. ŞENER: *In vitro* prospective effects of various traditional herbal coffees consumed in Anatolia linked to neurodegeneration. *Food Research International*, 45, 197-203, 2012. (IF: 3.005)
21. **F.S. ŞENOL**, A. KAN, G. ÇOKSARI, İ. ERDOĞAN ORHAN: Antioxidant and anticholinesterase effects of frequently consumed cereal grains by *in vitro* test models. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 63(5), 553-559, 2012. (IF: 1.257)
22. İ. ERDOĞAN ORHAN, E. GÜNER, B. ÖZÇELİK, **F.S. ŞENOL**, S.S. ÇAĞLAR, G. EMECEN, Ö. KOÇAK, B. ŞENER: Assessment of antimicrobial, insecticidal and genotoxic effects of *Melia azedarach* L. (chinaberry) naturalized in Anatolia. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 63(5), 560-565, 2012. (IF: 1.257)
23. İ. ERDOĞAN ORHAN, **F.S. ŞENOL**, N. ÖZTÜRK, G. AKAYDIN, B. ŞENER:

- Profiling of *in vitro* neurobiological effects and phenolic acids of selected endemic *Salvia* species. *Food Chemistry*, 132, 1360-1367, 2012. (IF: 3.334)
24. İ. ERDOĞAN ORHAN, E. GÜNER, N. ÖZTÜRK, **F.S. ŞENOL**, S. ASLAN-ERDEM, M. KARTAL, B. ŞENER: Enzyme inhibitory and antioxidant activity of *Melia azedarach* L. naturalized in Anatolia and its phenolic acid and fatty acid composition. *Industrial Crops and Products*, 37, 213-218, 2012. (IF: 2.468)
 25. İ. TÜMEN, **F.S. ŞENOL**, İ. ERDOĞAN ORHAN: Evaluation of possible *in vitro* neurobiological effects of two varieties of *Cupressus sempervirens* (Mediterranean cypress) through their antioxidant and enzyme inhibition actions. *Turkish Journal of Biochemistry*, 37(1), 5-13, 2012. (IF: 0.211)
 26. O. ÜSTÜN, **F.S. ŞENOL**, M. KÜRKÇÜOĞLU, İ. ERDOĞAN ORHAN, M. KARTAL, K.H.C. BAŞER: Investigation on chemical composition, anticholinesterase and antioxidant activities of extracts and essential oil of Turkish *Pinus* species and pycnogenol. *Industrial Crops and Products*, 38, 115-123, 2012. (IF: 2.468)
 27. İ. ERDOĞAN ORHAN, S. ASLAN ERDEM, **F.S. ŞENOL** M. KARTAL, B. ŞENER: Exploration of cholinesterase and tyrosinase inhibitory, antiprotozoal and antioxidant effects of *Buxus sempervirens* L. (boxwood). *Industrial Crops and Products*, 40, 116-121, 2012. (IF: 2.468)
 28. **F.S. ŞENOL**, C. YAĞCI TÜZÜN, G. TOKER, İ. ERDOĞAN ORHAN: An *in vitro* perspective to cholinesterase inhibitory and antioxidant activity of five *Gentiana* species and *Gentianella caucasea*. *International Journal of Food Sciences and Nutrition*, 63(7), 802-812, 2012. (IF: 1.257)
 29. İ. ERDOĞAN ORHAN, **F.S. ŞENOL**, T. ERÇETİN, A. KAHRAMAN, F. CELEP, G. AKAYDIN, B. ŞENER, M. DOĞAN: Assessment of anticholinesterase and antioxidant properties of selected sage (*Salvia*) species with their total phenol and flavonoid contents. *Industrial Crops and Products*, 41, 21-30, 2013. (IF: 3.208)
 30. İ. ERDOĞAN ORHAN, **F.S. ŞENOL**, B. DEMİRCİ, N. ÖZTÜRK, K.H.C. BAŞER, B. ŞENER: Phytochemical characterization of *Phagnalon graecum* Boiss. by HPLC and GC-MS with its enzyme inhibitory and antioxidant activity profiling by spectrophotometric methods. *Food Analytical Methods*, 6, 1-9, 2013. (IF: 1.802)
 31. Ö. TEMİZ ARPACI, B.E. ÇİFÇİOĞLU GÖZTEPE, F. KAYNAK ONURDAĞ, S. ÖZGEN, **F.S. ŞENOL**, İ. ERDOĞAN-ORHAN: Synthesis and different biological activities of novel benzoxazoles. *Acta Biologica Hungarica*, 64(2), 249–261, 2013. (IF: 0.563)
 32. İ. ERDOĞAN ORHAN, E. ATASU, **F.S. ŞENOL**, N. ÖZTÜRK, B. DEMİRCİ, K. DAS, N. ŞEKEROĞLU: Comparative studies on Turkish and Indian *Centella asiatica* (L.) Urban (gotu kola) samples for their enzyme inhibitory and antioxidant effects and phytochemical characterization, *Industrial Crops and Products*, 47, 316-322, 2013. (IF: 3.208)
 33. D. SEVİM, **F.S. ŞENOL**, A.R. GÜLPINAR, İ. ERDOĞAN ORHAN, E. KAYA, M.

- KARTAL, B. ŞENER: Discovery of potent *in vitro* neuroprotective effect of the seed extracts from seven *Paeonia* L. (peony) taxa and their fatty acid composition, *Industrial Crops and Products*, 49, 242-246, 2013. (IF: 3.208)
34. İ. ERDOĞAN ORHAN, F.S. ŞENOL, N. ÖZTÜRK, S.A. ÇELİK, A. PULUR, Y. KAN: Phytochemical contents and enzyme inhibitory and antioxidant properties of *Anethum graveolens* L. (dill) samples cultivated under organic and conventional agricultural conditions, *Food and Chemical Toxicology*, 59, 96-103, 2013. (IF: 2.61)
35. F.S. ŞENOL, İ. ERDOĞAN ORHAN, M. KÜRKÇÜOĞLU, M.T.H. KHAN, A. ALTINTAŞ, B. ŞENER, K.H.C. BAŞER: A mechanistic investigation on anticholinesterase and antioxidant effects of rose (*Rosa damascena* Mill.), *Food Research International*, 53, 502-509, 2013. (IF: 3.05)
36. M. ZAROUG, İ. ERDOĞAN ORHAN, F.S. ŞENOL, S. YAGI: Comparative antioxidant activity appraisal of traditional Sudanese kisra prepared from two sorghum cultivars, *Food Chemistry*, 156, 110–116, 2014. (IF: 3.259)
37. F.S. ŞENOL, M.T.H. KHAN, G. ORHAN, E. GÜRKAŞ, İ. ERDOĞAN ORHAN, N. SUBUTAY ÖZTEKİN, F. AK: *In silico* approach to inhibition of tyrosinase by ascorbic acid using molecular docking simulations, *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 14, 1469-1472, 2014. (IF: 3.453)
38. F.S. ŞENOL, Ö. BAHADIR ACIKARA, G. SALTAN CİTOĞLU, İ. ERDOĞAN ORHAN, S. DALL' ACQUA, F. ÖZGÖKÇE: Prospective neurobiological effects of the aerial and root extracts and some pure compounds of randomly selected *Scorzonera* species, *Pharmaceutical Biology*, 52 (7), 873-882, 2014. (IF: 1.337)
39. D. DELİORMAN ORHAN, F.S. ŞENOL, S. HOŞBAŞ, İ. ERDOĞAN ORHAN: Assessment of cholinesterase and tyrosinase inhibitory and antioxidant properties of *Viscum album* L. samples collected from different host plants and its two principal substances, *Industrial Crops and Products*, 62, 341-349, 2014. (IF: 3.208)
40. F.S. ŞENOL, İ. ERDOĞAN ORHAN, O. ÜSTÜN: *In vitro* cholinesterase inhibitory and antioxidant effect of selected coniferous tree species, *Asian Pacific Journal of Tropical Medicine*, 412-420, 2015. (IF: 0.926)
41. İ. ERDOĞAN ORHAN, F.S. ŞENOL, S. ASLAN ERDEM, İ.İ. TATLI, M. KARTAL, Ş. ALP: Tyrosinase and cholinesterase inhibitory potential and flavonoid characterization of *Viola odorata* L. (sweet violet), *Phytotherapy Research*, 29, 1304-1310, 2015. (IF: 2.66)
42. S. ASLAN ERDEM, E. BUDAKOĞLU, F.S. ŞENOL, İ. ERDOĞAN ORHAN, M. KARTAL, B. ŞENER: Exploring *in vitro* neurobiological effects and HPLC-assisted quantification of chlorogenic acid in eighteen Turkish coffee brands, *Journal of Food and Drug Analysis*, 24, 112-120, 2016. (IF: 0.615)
43. F.S. ŞENOL, İ. ERDOĞAN ORHAN, U. ÖZGEN, G. RENDA, G. BULUT, L. GÜVEN, E. SEZEN KARAOĞLAN, H. G. SEVİNDİK, K. SKALICKA WOZNIK, U. KOCA ÇALIŞKAN, N. ŞEKEROĞLU: Memory-vitalizing effect of twenty-five

medicinal and edible plants and their isolated compounds, *South African Journal of Botany*, 102, 102-109, 2016. (IF: 0.978)

- Doktora tez çalışmalarımızın ön tarama kısmı, 18-19 Eylül 2012 tarihleri arasında İstanbul Kimyevi Maddeler ve Mamülleri İhracatçıları Birliği (İKMİB) tarafından düzenlenen Kimyevi Maddeler ve Mamülleri Sektöründe 2. Ar-Ge Proje Pazarı'nda, "Kozmetik, Sabun ve Temizlik Ürünleri Kategorisi"nde 3.lük ödülü kazanmıştır.
- Doktora tezimiz kapsamında Mikro-Gen İlaç & Vivatinell Cosmeceuticals firması ile geliştirilen 2 adet krem formülasyonu, TÜBİTAK-Marmara Teknokent (MARTEK) ile "Kadın ve Demokrasi Derneği" (KADEM) tarafından düzenlenen "İnovasyonda Kadın" temalı proje fikri yarışmasında, Türkiye çapında 400 proje arasından, en başarılı 10 proje arasında bulunarak ödüle layık bulunmuştur.

Hobiler

Halk dansları, yoga