



T.C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



***HELICHRYSUM ARMENIUM SUBSP. ARAXINUM ÜZERİNE
FARMAKOĞNOZİK ARAŞTIRMALAR***

Eczacı Dilara URGAN
ECZACILIK MESLEK BİLİMLERİ ANABİLİM DALI
(ECZACILIK PROGRAMI)
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Dr. Öğr. Üyesi Gülsüm YILDIZ

İKİNCİ DANIŞMAN
Doç. Dr. Burak KUZU

VAN-2025

T.C.

VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**HELICHRYSUM ARMENIUM SUBSP. ARAXINUM ÜZERİNE
FARMAKOĞNOZİK ARAŞTIRMALAR**

Eczacı Dilara URGAN

ECZACILIK MESLEK BİLİMLERİ ANABİLİM DALI

(ECZACILIK PROGRAMI)

YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN

Dr. Öğr. Üyesi Gülsüm YILDIZ

İKİNCİ DANIŞMAN

Doç. Dr. Burak KUZU

VAN-2025

Bu araştırma Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü tarafından TYL-2024-11224 numaralı proje olarak desteklenmiştir.

KABUL VE ONAY



ETİK BEYAN

T.C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜ'NE

Yüksek Lisans tezi olarak hazırlayıp sunduğum “*Helichrysum armenium subsp. araxinum* Üzerine Farmakognozik Araştırmalar” başlıklı tezimin; bilimsel ahlak ve değerlere uygun olarak tarafımdan yazılmıştır. Tezimin fikir/hipotezi tümüyle tez danışmanım ve bana aittir. Tezde yer alan deneysel çalışma/araştırma tarafımdan yapılmış olup, tüm cümleler, yorumlar bana aittir. Bu tezdeki bütün bilgiler akademik kurallara ve etik ilkelere uygun olarak hazırlanıp, bu kural ve ilkeler gereği, çalışmada bana ait olmayan tüm veri, düşünce ve sonuçlara atıf yapılmış ve kaynak gösterilmiştir.

Yukarıda belirtilen hususların doğruluğunu beyan ederim.

Dilara URGAN

03/11/2025

TEŞEKKÜR

Tez çalışmamın planlanması ve yürütülmesi süresince değerli akademik bilgi ve tecrübelerini her daim benimle paylaşan, hoşgörü ve sabırla her daim yardımını ve desteğini esirgemeyen kıymetli tez danışmanım Sayın Dr. Öğr. Üyesi Gülsüm YILDIZ'a saygılarımı ve teşekkürlerimi sunuyorum. Tez projemin yürütülmesinde yardımlarını esirgemeyen, değerli bilgilerini benimle paylaşan ikinci danışmanım Sayın Doç. Dr. Burak KUZU'ya teşekkür ederim. Laboratuvar olanaklarını kullanmama imkan sağlayan Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dekanı Sayın Prof. Dr. Yavuz YARDIM'a, çalışmalarımda desteklerini esirgemeyen Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Farmakoloji Anabilim Dalı Başkanı Sayın Dr. Öğr. Üyesi Kemal Alp NALCI'ya, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü öğretim üyesi Sayın Doç. Dr. Hüseyin EROĞLU'na ve Dicle Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Analitik Kimya Anabilim Dalı öğretim üyesi Sayın Doç. Dr. Mustafa Abdullah YILMAZ'a teşekkür ederim. Tez projemin desteklenmesini sağlayan Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi'ne ve yüksek lisans sürecimde yanımda olan arkadaşlarıma teşekkür ederim. Ayrıca tez çalışmam boyunca desteklerini hiçbir zaman esirgemeyen kıymetli anneme, babama, kardeşime ve sevgili eşime en içten teşekkürlerimi sunarım.

Dilara URGAN

ÖZET

URGAN D, *Helichrysum armenium* subsp. *araxinum* Üzerine Farmakognozik Araştırmalar, Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eczacılık Meslek Bilimleri Anabilim Dalı, Farmakognozi Bilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi, Van, 2025. Bu çalışmada, *Helichrysum armenium* subspecies *araxinum*'un toprak üstü kısmından hazırlanan *n*-hekzan, etil asetat ve etanol ekstraktlarının 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) ve 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit) (ABTS) radikal süpürücü aktiviteleri, tirozinaz ve elastaz enzim inhibisyonları ile insan glioblastoma multiforme (U87-MG) ve insan nöroblastoma (SH-SY5Y) hücre hatlarına toksik etkileri incelenmiş ve bu aktiviteler ile ekstraktların kimyasal profilleri arasındaki korelasyon araştırılmıştır. Ekstreler bitkisel materyalin iki kez 24 saat maserasyona bırakılmasıyla hazırlanmıştır. % 50'nin üzerinde enzim inhibisyonu gösteren ekstraktların yarı-maksimal inhibitör konsantrasyonu (IC_{50}) değerleri hesaplanmıştır. Ekstrelerin sitotoksik etkileri 100, 50, 25 ve 12.5 µg/mL konsantrasyonlarda, 24, 48 ve 72 saatlik inkübasyon sonrası 3-(4,5-dimetiltiyazol-2-il)-2,5 difenil tetrazolyum bromür (MTT) testi ile belirlenmiştir. Ekstrelerin kimyasal içeriği Ultra yüksek performanslı sıvı kromatografisi-tandem kütle spektrometrisi (UHPLC-MS/MS) yöntemiyle 56 standart bileşik üzerinden analiz edilmiştir. Bileşiklerin enzim afiniteleri *in silico* olarak AutoDock 4.2 yazılımı ile değerlendirilmiştir. Etanol ekstresi (329.60 ± 0.45 mg TE/g DW) ABTS radikaline karşı, etil asetat ekstresi ise (694.11 ± 1.98 mg TEAC/g) DPPH radikaline karşı en yüksek süpürücü etki göstermiştir. Tirozinaz enzimi üzerine en yüksek inhibisyon $IC_{50} = 156 \pm 3.97$ µg/mL değeri ile etil asetat ekstresinde, en düşük inhibisyon ise $IC_{50} = 280 \pm 2.94$ µg/mL değeri ile etanol ekstresinde tespit edilmiştir. Ekstreler, elastaz enzimi üzerine anlamlı bir inhibisyon oluşturmamıştır. Tüm ekstraktlar 100 ve 50 µg/mL konsantrasyonlarda U87-MG hücre canlılığını tüm inkübasyon sürelerinde % 50'nin üzerinde inhibe ederken, 25 µg/mL konsantrasyonda *n*-hekzan ekstresi 24 saatlik inkübasyonda (% 92.1), etil asetat ekstresi ise 48 ve 72 saatlik inkübasyonlarda (sırasıyla % 71.3 ve % 85.5) daha yüksek inhibisyon göstermiştir. Etanol ekstresi, tüm inkübasyon sürelerinde SH-SY5Y hücrelerine belirgin inhibisyon göstermiştir. Ekstrelerde belirlenen ana bileşikler, akasetin, kinik asit, astragalin, klorojenik asit, apigenin, naringenin ve luteolindir. Akasetin tüm ekstraktlarda yüksek miktarda bulunmuş olup en fazla etil asetat ekstresinde (25.774 ± 0.41 mg/g) tespit edilmiştir. Docking çalışmaları, akasetinin tirozinaz enzimini $IC_{50} = 27.81$ µM değerinde inhibe ettiğini göstermiştir. Bu çalışma ile söz konusu taksonun tirozinaz ve elastaz enzimleri ve U87-MG ile SH-SY5Y hücre hatları üzerine inhibisyon etkileri ilk kez belirlenmiştir. Bitkinin zengin kimyasal profili ve terapötik potansiyeli, kozmetik ve tıbbi doğal hammadde kaynağı olarak kullanılabileceğini göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Enzim İnhibisyonu, *Helichrysum armenium* subsp. *araxinum*, *In Silico*, Sitotoksosite, Ultra yüksek performanslı sıvı kromatografisi-tandem kütle spektrometrisi

ABSTRACT

URGAN D, Pharmacognostic Researches on *Helichrysum armenium* subsp. *araxinum*, Van Yuzuncu Yil University, Institute of Health Sciences, Department of Pharmacy Vocational Sciences, Division of Pharmacognosy, Master's Thesis, Van, 2025. In the present study, *n*-hexane, ethyl acetate, and ethanol extracts prepared from the above-ground parts of *Helichrysum armenium* subspecies *araxinum*, were investigated for their 2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl (DPPH) and 2,2'-azino-bis (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid) (ABTS) radical scavenging activities, tyrosinase and elastase enzyme inhibitions, and toxic effects on human glioblastoma multiforme (U87-MG) and human neuroblastoma (SH-SY5Y) cell lines. The correlation between these activities and the chemical profiles of the extracts was also investigated. The extracts were prepared by subjecting the plant material to two 24-hour macerations. The IC₅₀ values of extracts showing over 50 % enzyme inhibition were calculated. Cytotoxic effects of the extracts were determined by the 3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5 diphenyl tetrazolium bromide (MTT) assay at concentrations of 100, 50, 25, and 12.5 µg/mL after 24, 48, and 72 hours of incubation. The chemical contents of the extracts were analysed by Ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry (UHPLC-MS/MS) using 56 standard compounds. The enzyme affinities of the compounds were evaluated *in silico* using AutoDock 4.2 software. The ethanol extract (329.60 ± 0.45 mg TE/g DW) exhibited the highest scavenging effect against the ABTS radical, while the ethyl acetate extract (694.11 ± 1.98 mg TEAC/g) exhibited the highest scavenging effect against the DPPH radical. The highest inhibition on the tyrosinase enzyme was detected in the ethyl acetate extract with IC₅₀ = 156 ± 3.97 µg/mL, while the lowest inhibition was detected in the ethanol extract with IC₅₀ = 280 ± 2.94 µg/mL. The extracts did not exhibit significant inhibition on the elastase enzyme. At a concentration of 25 µg/mL in the U87-MG cell line, the *n*-hexane extract showed higher inhibition after 24 hours of incubation (92.1 %), while the ethyl acetate extract showed higher inhibition after 48 and 72 hours of incubation (71.3 % and 85.5 %, respectively). The ethanol extract showed significant inhibition of SH-SY5Y cells at all incubation times. The main compounds identified in the extracts were acacetin, quinic acid, astragalin, chlorogenic acid, apigenin, naringin, and luteolin. Acacetin, found in high amounts in all extracts, was detected most in the ethyl acetate extract (25.774 ± 0.41 mg/g). Docking studies exhibited that acacetin inhibits tyrosinase enzyme at an IC₅₀ value of 27.81 µM. This study is the first to determine the inhibition effects of this taxon on tyrosinase and elastase enzymes and on the U87-MG and SH-SY5Y cell lines. The plant's rich chemical profile and therapeutic potential indicate that it can be used as a source of natural raw materials for cosmetic and medical purposes.

Keywords: Enzyme Inhibition, *Helichrysum armenium* subsp. *araxinum*, *In Silico*, Cytotoxicity, Ultra-high performance liquid chromatography-tandem mass spectrometry

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	ii
ETİK BEYAN	iii
TEŞEKKÜR	iv
ÖZET.....	v
ABSTRACT	vi
İÇİNDEKİLER	vii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	x
ŞEKİLLER LİSTESİ	xii
TABLolar LİSTESİ.....	xiii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Asteraceae Familyasına Ait Botanik Özellikler	4
2.2. <i>Helichrysum</i> Miller (Mill.) Cinsi Genel Özellikleri.....	4
2.2.1. <i>Helichrysum</i> Mill. cinsinin taksonomik genel bilgileri	5
2.2.2. <i>Helichrysum</i> Mill. cinsinin botanik özellikleri.....	6
2.2.3. <i>Helichrysum</i> Mill. cinsinin etnofarmakolojik kullanımı	10
2.2.4. <i>Helichrysum</i> türleri ile ilgili fitokimyasal çalışmalar	12
2.2.5. <i>Helichrysum</i> türleri ile ilgili biyolojik aktivite çalışmaları.....	15
2.3. Tez Kapsamında Çalışılan Farmakolojik Aktiviteler Hakkında Genel Bilgiler.....	18
2.3.1. Antioksidan aktivite hakkında genel bilgiler	18
2.3.2. Tirozinaz ve elastaz enzimleri hakkında genel bilgiler	19

2.3.3. Glioblastoma ve nöroblastoma hakkında genel bilgiler	20
2.4. Moleküler Yolakların Belirlenmesinde Kullanılan <i>In Silico</i> Metotlar Hakkında Genel Bilgiler	22
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	24
3.1. Bitkisel Materyal.....	24
3.2. Enzimler, Hücreler, Cihazlar, Kimyasallar ve Çözücüler	24
3.3. Ekstrelerin Hazırlanışı.....	25
3.4. Biyolojik Aktivite Araştırmaları.....	26
3.4.1. Antioksidan aktivite deneyleri	26
3.4.2. Tirozinaz enzim inhibisyonu deneyi.....	27
3.4.3. Elastaz enzim inhibisyonu deneyi	27
3.4.4. U87-MG ve SH-SY5Y hücre hatlarında toksisite deneyleri.....	28
3.5. UHPLC-MS/MS ile Kimyasal İçerik Analizleri	29
3.6. Moleküler Docking Analizleri.....	31
3.7. İstatiksel Analiz	31
4. BULGULAR.....	33
4.1. Antioksidan Aktivite Test Bulguları.....	33
4.2. Enzim İnhibisyon Test Bulguları	33
4.2.1. Tirozinaz enzim inhibisyonu bulguları.....	33
4.2.2. Elastaz enzim inhibisyonu bulguları.....	34
4.3. Sitotoksisite Deney Bulguları	34
4.3.1. U87-MG hücre hattında toksisite bulguları	34
4.3.2. SH-SY5Y hücre hattında toksisite bulguları.....	39
4.4. Ekstrelerin UHPLC-MS/MS ile Kimyasal İçerik Analiz Bulguları.....	44
4.5. Moleküler Docking Analiz Bulguları.....	48

5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	53
KAYNAKLAR	62
ÖZGEÇMİŞ.....	73
EKLER.....	74
EK 1. Çalışma Onay Belgesi.....	74
EK 2. Tez Orijinallik Raporu	76



SİMGELER VE KISALTMALAR

a/a	:Kütle/kütle oranı
ABTS	:2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit)
A172	:İnsan beyin tümörü
Å	:Ångström/10 ⁻¹⁰ metre
ANOVA	:Varyans analizi
ATCC	:Amerikan tıp kültür koleksiyonu
B16	:Melanom tümörü
CHOP	:Pro-apoptotik transkripsiyon faktörü
DL	:İyon kaynağında çözücünün uzaklaştırıldığı hat
DMSO	:Dimetil sülfoksit
DNA	:Deoksiribonükleik asit
DPPH	:2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
EDTA	:Etilendiamintetraasetik asit
ER	:Endoplazmik retikulum
ESCOF	:Avrupa fitoterapi bilimsel kooperatifi
FBS	:Fetal sığır serumu
FRAP	:Demir iyon indirgeyici antioksidan aktivite
G2M	:Gap 2/Mitotik faz
GBM	:Glioblastom multiforme
GRP94/78	:Glikoz regüle proteini 94/78
HaCaT	:İmmortalize insan keratinositi
HPLC-MS/MS	:Yüksek performanslı sıvı kromatografi-kütle spektrometrisi/kütle spektrometrisi
IC₅₀	:Yarı-maksimal inhibitör konsantrasyonu
JNK	:C-Jun N-terminal kinaz
MMP-1	:Matriks metalloproteinaz-1

MAPK	:Mitojenle aktive edilen protein kinaz
MÖ	:Milattan önce
MSS	:Merkezi sinir sistemi
nm	:Nanometre
NF-KB	:Nükleer faktör kappa B
N₂	:Azot gazı
ORAC	:Oksijen radikal absorpsiyon kapasitesi
pH	:Hidrojen iyon (H ⁺) konsantrasyonunun negatif logaritması
PSA	:Penisilin, streptomisin, amfoterisin B
ROS	:Reaktif oksijen türleri
RNA	:Ribonükleik asit
Rpm	:Dakikadaki devir sayısı
SF-268	:İnsan beyin tümörü
SPSS	:İstatistik analiz programı
Subsp.	:Alttür
TE	:Troloks eşdeğeri
TEAC	:Troloks eşdeğeri antiradikal kapasite
T986	: İnsan beyin tümörü
U	:Ünite
U251	:İnsan beyin tümörü
U87-MG	:İnsan beyin tümörü
UHPLC-MS/MS	:Ultra yüksek performanslı sıvı kromatografisi – tandem kütle spektrometrisi
UV	:Ultraviyole

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 1. <i>Helichrysum</i> Mill. cinsinin dünyadaki yayılışı.....	5
Şekil 2. <i>H. armenium</i> subsp. <i>araxinum</i> 'dan genel bir görünüm	8
Şekil 3. <i>H. armenium</i> subsp. <i>araxinum</i> 'un dünyadaki dağılımı.....	9
Şekil 4. <i>H. armenium</i> subsp. <i>araxinum</i> 'un Türkiye'deki dağılımı.....	9
Şekil 5. Ekstraksiyon işlemi ve deneysel çalışmalara ilişkin görseller	26
Şekil 6. Ekstrelerin U87-MG hücre hattında 24 saatlik toksisite profili-MTT test grafiği.....	36
Şekil 7. Ekstrelerin U87-MG hücre hattında 48 saatlik toksisite profili-MTT test grafiği.....	37
Şekil 8. Ekstrelerin U87-MG hücre hattında 72 saatlik toksisite profili-MTT test grafiği.....	39
Şekil 9. Ekstrelerin SH-SY5Y hücre hattında 24 saatlik toksisite profili-MTT test grafiği.....	41
Şekil 10. Ekstrelerin SH-SY5Y hücre hattında 48 saatlik toksisite profili-MTT test grafiği	42
Şekil 11. Ekstrelerin SH-SY5Y hücre hattında 72 saatlik toksisite profili-MTT test grafiği.....	44
Şekil 12. UHPLC-MS/MS analizinde kullanılan standartların toplam iyon kromatogramı	48
Şekil 13. Akasetinin hedef bölgedeki 3D ve 2D etkileşimi	51
Şekil 14. Tez çalışma metodolojisi ve akış şeması	52

TABLÖLER LİSTESİ

Tablo 1. <i>Helichrysum</i> Mill. cinsinin taksonomik durumu.....	5
Tablo 2. <i>H. armenium</i> subsp. <i>araxinum</i> 'a ait botanik bilgiler.....	10
Tablo 3. UHPLC analiz koşulları ve kromatografik parametreler.....	30
Tablo 4. Kütle spektrometrisi analiz koşulları.....	30
Tablo 5. Ekstrelerin DPPH ve ABTS radikal süpürücü aktivite test sonuçları	33
Tablo 6. Ekstrelerin tirozinaz inhibisyon testi sonuçları (IC ₅₀ µg/mL)	33
Tablo 7. Ekstrelerin elastaz inhibisyon testi sonuçları (%)	34
Tablo 8. Ekstrelerin UHPLC-MS/MS analizi ile fitokimyasal profil sonuçları (mg/g ekstre).....	45
Tablo 9. Ekstrelerdeki ana bileşiklerin <i>in silico</i> tirozinaz inhibisyon verileri.....	49

1. GİRİŞ

Antioksidanlar, hücrelerde oluşan serbest radikalleri ve reaktif oksijen türlerini etkili biçimde nötrleştiren biyolojik açıdan önemli bileşik gruplarıdır (Abuajah ve ark., 2015). Bu bileşiklerin serbest radikal kaynaklı oksidatif hasarı azaltma kapasiteleri, kardiyovasküler hastalıklar, ultraviyole (UV) kaynaklı cilt yaşlanması, inflamasyonla ilişkili kronik hastalıklar ve kanser gelişimi gibi pek çok patolojik sürece karşı kritik bir koruyucu rol üstlendiklerini göstermektedir (Gülçin, 2025).

Doğal antioksidanlar büyük ölçüde bitkisel kaynaklardan elde edilmektedir. Bunların etkinlikleri bitkinin türüne, kimyasal bileşen çeşitliliğine, yetiştirilme koşullarına ve kullanılan ekstraksiyon yöntemlerine bağlı olarak önemli ölçüde değişkenlik göstermektedir. Başlıca doğal antioksidan sınıfları arasında tokoferoller ve tokotrienoller, askorbik asit, flavonoidler, karotenoidler ve fenolik asitler yer almaktadır (Zehiroğlu ve Öztürk Sarıkaya, 2019).

Fenolik bileşikler, bitkilerde sekonder metabolit olarak bulunur ve bitkinin biyolojik aktivitelerinde önemli rol oynar. Bu grup çok sayıda farklı bileşiği kapsamakla birlikte bitkilerde en yaygın ve biyolojik açıdan en önemli olanları fenolik asitler, flavonoidler ve stilbenlerdir (Jakobek, 2015).

Fenolik asitler, bitkilerde hem serbest hem de bağlı formlarda bulunabilen ve güçlü antioksidan özellikleriyle bilinen diyet fenollerinin yaklaşık üçte birini oluşturur (Ignat ve ark., 2011; Sevgi ve ark., 2015). Bu bileşikler, aromatik halka yapıları ve hidroksil (-OH) grupları ile serbest radikaller de dahil olmak üzere çeşitli oksidanları etkin bir şekilde nötr hale getirirler. Ayrıca hem elektron hem de proton transferi mekanizmalarıyla oksidatif strese karşı koruyucu rol oynarlar (Chen ve ark., 2020).

Flavonoidler, düşük molekül ağırlıklı polifenolik bileşiklerin geniş bir grubunu oluşturur ve benzo- γ -piron (benzo-c-pirol) türevlerinden meydana gelir (Leopoldini ve ark., 2011). Yüksek redoks potansiyellerine bağlı olarak flavonoidler güçlü antioksidan özellik sergiler. Serbest radikalleri süpürmenin yanı sıra hidrojen donörü ve tekli oksijen söndürücü olarak görev yapar ve metal iyonlarıyla kompleks oluşturarak serbest radikal oluşumunu engeller (Ignat ve ark., 2011).

Deri, epidermis, dermis ve hipodermis olmak üzere üç katmandan oluşur. Derinin en dış tabakası olan epidermiste, melanin üretiminden sorumlu tirozinaz enzimi bulunur. Tirozinaz, bakır atomu içeren aktif bölgesi aracılığıyla tirozin amino asidini O-difenollere hidroksile eder ve O-difenolleri O-kinonlara okside ederek melanin pigmentinin oluşumunda önemli bir rol oynar. Melanin üretiminin aşırı olması cilt renginde koyulaşma, kırışıklık ve yaşlanma belirtilerine yol açar. Bu nedenle tirozinaz inhibitörleri melanin üretimini azaltıcı kozmetik ürünlerde yaygın olarak kullanılmaktadır (Si ve ark., 2012). Derinin daha derin tabakalarında yer alan dermis, elastin ve kolajen yapısal proteinlerini içerir. Elastin cilde elastikiyet sağlarken, kolajen cildin mekanik dayanıklılığını ve yapısal bütünlüğünü korur (Deniz ve ark., 2021). Dermiste etkili olan elastaz enzimi elastin peptid bağlarını hidroliz ederek elastin yıkımını gerçekleştirir ve böylece ciltte sarkma ile kırışıklıklara yol açar (Baumann ve ark., 2021). Bu nedenle, elastaz inhibitörleri cilt elastikiyetini korumak ve yaşlanma belirtilerini azaltmak amacıyla kozmetik ürünlerde önemli bir hedef olarak kullanılmaktadır (Deniz ve ark., 2021).

Kanser, deoksiribonükleik asit (DNA) hasarının bir sonucu olarak hücrelerin kontrolsüz bir şekilde büyümesine ve bölünmesine ve bunun sonucu olarak çevredeki damarlara ve dokulara yayılmasına sebep olur (Wear, 2022). Merkezi sinir sisteminden (MSS) kaynaklanan malign tümörler en korkulan kanser türleridir ve dünya genelinde kansere bağlı ölümlerin % 2.5'ini oluşturan en ölümcül ikinci hastalıktır (Dolecek ve ark., 2012; Glod ve ark., 2016). Glioblastoma ve nöroblastoma, sinir sisteminde en sık görülen solid tümörlerdir. Glioblastom hastalarının yaklaşık % 80'i 60 yaşın üzerindeyken, nöroblastom hastalarının çoğu 18 ayın altındadır. Pediatrik malignitelerin görülme sıklığı arasında nöroblastoma, beyin tümörleri ve lösemiden sonra gelmektedir (Clark, 2015). Glioblastom ve nöroblastom hastaları cerrahi, radyoterapi ve kemoterapiden sonra bile çok kötü bir prognoza sahiptir (Stupp ve ark., 2005).

Bitkiler, çeşitli terapötik özellikler taşıyan ve sürekli olarak yeni ilaç geliştirme çalışmalarında araştırılan zengin doğal ürün kaynaklarıdır. Bugüne kadar bitkilerde farklı yapısal özelliklere ve farmakolojik etkilere sahip birçok sekonder metabolit tanımlanmıştır (Singh ve ark., 2012).

Çalışmamızın konusu olan *Helichrysum armenium* De Candolle subspecies *araxinum* Kirpichnikov Takhtajan (*H. armenium* DC. subsp. *araxinum* (Kırp.) Takht.), ülkemizde doğal yayılış göstermektedir. Literatür taramalarında, bu türe ilişkin fitokimyasal ve biyoaktivite çalışmalarının sınırlı olduğu gözlemlenmiştir. *Helichrysum* cinsine ait türler, özellikle cilt sağlığı ve bazı kanser hücreleri üzerinde olumlu etkileri olan bileşikler içerir. Ayrıca *Helichrysum armenium* subsp. *araxinum* da halk arasında diğer *Helichrysum* türleri gibi hem dahilen hem de haricen benzer amaçlarla kullanılmaktadır; bu nedenle çalışmamızda bu tür bütüncül şekilde ele alınmıştır.

Yapılan çalışmada *H. armenium* subsp. *araxinum*'un toprak üstü kısımlarından hazırlanan çeşitli polaritedeki ekstrelerin 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) ve 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiyazolin-6-sülfonik asit (ABTS) radikallerini süpürücü etkisi, tirozinaz ve elastaz enzimleri üzerinde inhibisyonları ile insan glioblastoma multiforme (U87-MG) ve insan nöroblastoma (SH-SY5Y) hücre hatlarına toksik etkileri değerlendirilmiştir. Ekstrelerin fitokimyasal içerikleri Ultra Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi-Tandem Kütle Spektrometrisi (UHPLC-MS/MS) yöntemi ile analiz edilmiştir. Tespit edilen bileşiklerin enzim afinitesi docking çalışması ile belirlenmiştir.

Yaptığımız bu tezle *H. armenium* subsp. *araxinum*'un hem biyoaktif bileşik profili hem de çeşitli biyoaktivite özellikleri kapsamlı bir şekilde incelenmiş ve bunun sonucunda türün doğal hammadde potansiyeline ilişkin literatürde bulunan eksikliğe katkıda bulunulmaya çalışılmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Asteraceae Familyasına Ait Botanik Özellikler

Asteraceae, Compositae olarak da bilinen ve genellikle aster, papatya, kompozit veya ayçiçeği ailesi olarak adlandırılan, 1911 cins, yaklaşık 32913 tür ile Asterales takımında yer alan dikotiledon çiçekli bitkilerin son derece geniş ve yaygın bir familyasıdır (Xu ve ark., 2017). Asteraceae familyası, Türkiye florasında 143 cins ve yaklaşık 1484 tür ile temsil edilmektedir (Davis, 1975; Davis ve ark., 1988; Özhatay ve ark., 1994; Güner ve ark., 2000; Erik ve Tarıkahya, 2004; Özhatay ve Kültür, 2006; Özhatay ve ark., 2009). Familya Antarktika bölgesi dışında, tüm tropikal ve subtropikal bölgelerde yayılım göstermekte olup, özellikle Orta Amerika, Doğu Brezilya, Akdeniz, Levant, Güney Afrika, Orta Asya ve Güneybatı Çin'de kozmopolit bir dağılım sergilemektedir (Panero ve Funk, 2002).

Familyaya ait botanik özellikler incelendiğinde; bitkilerin çoğunlukla otsu, çalı, sarmaşık nadiren ağaç şeklinde geliştiği görülmektedir. Familya, kutup bölgelerinden tropikal alanlara kadar geniş bir coğrafi dağılıma sahip olup, en yaygın olarak subtropikal ve düşük ılıman enlemlerdeki kurak ve yarı kurak bölgelerde farklı habitatları kolonize etmektedir. Yapraklar bazen tabanda rozet şeklinde düzenlenmiş olup, gövdeye yakın yapraklar genellikle almalı dizilişlidir ve saplı veya sapsız olabilir. Stipüller bulunmamaktadır. Çiçekler biseksüel, dişi veya erkek formda olabileceği gibi tek veya çok sayıda fillarilerle çevrili bir kapitulumdan meydana gelmektedir. Korolla 3 veya 5 çifttir. Stamenler dört veya beş adettir. Ovaryum inferior, tek gözlüdür ve ovüller tektir. Meyve akendir; tohumlarda endosperm yetersizdir ve embriyo düzdür (Davis, 1975; Xu ve ark., 2017).

2.2. *Helichrysum* Miller (Mill.) Cinsi Genel Özellikleri

Asteraceae familyasına ait *Helichrysum* cinsi dünya çapında 100'den fazlası endemik olmak üzere yaklaşık 600 türden oluşmaktadır (Güner ve ark., 2000; Sümbül 2003; Perrini ve ark., 2009; Akaberi ve ark., 2019). Türkiye florasında 27 taksonla temsil edilmektedir ve bu taksonların 21'i endemiktir. (Davis ve ark., 1975; Davis ve ark., 1988;

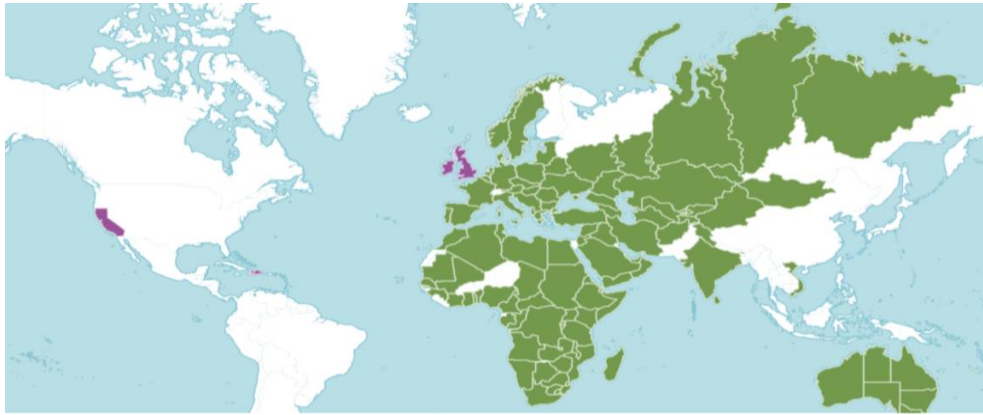
Güner ve ark., 2000). *Helichrysum* cinsi, Afrika, Madagaskar, Avustralasya ve Avrasya olmak üzere dünya çapında geniş bir dağılıma sahiptir (Kutluk ve ark., 2018). Cinsin adı Yunanca “güneş” ve “altın” anlamına gelen sırasıyla “helios” ve “chryos” kelimelerinden türetilmiştir. Bu isimlendirme, *Helichrysum* türlerinin kurutulduktan sonra tipik olarak sarı renkli parlak çiçeklerinin renk ve form açısından korunmasından kaynaklanmaktadır (Perrini ve ark., 2009). Anadolu’nun farklı bölgelerinde halk arasında *Helichrysum* türlerine genel olarak “ölmez çiçek” adı verilse de farklı yörelere göre “altın otu”, “yayla otu”, “herdemtaze”, “alay çiçeği” ve “leblebi çiçeği” gibi çeşitli isimlerle de bilinmektedir (Albayrak, 2008; Eroğlu, 2018; Umaz ve Umaz, 2020).

2.2.1. *Helichrysum* Mill. cinsinin taksonomik genel bilgileri

Helichrysum Mill. cinsine ait taksonomik bilgiler Tablo 1’de, cinsin dünyadaki yayılışı ise Şekil 1’de verilmiştir.

Tablo 1. *Helichrysum* Mill. cinsinin taksonomik durumu (Davis, 1975).

Bölüm	Spermatophyta
Altbölüm	Angiospermae
Sınıf	Dicotyledoneae (Magnoliopsida)
Altsınıf	Asteridae
Takım	Asterales
Familiya	Asteraceae
Cins	<i>Helichrysum</i> Mill.



Şekil 1. *Helichrysum* Mill. cinsinin dünyadaki yayılışı (KEW, 2025)

2.2.2. *Helichrysum* Mill. cinsinin botanik özellikleri

Yarı çalı veya otsu formda olabilen, çok yıllık bitkilerdir. Gövdesi kaba tüylü, keçemsi ve glandular bir yüzeye sahiptir. Rizom kısa, odunsu olup ince ve uzun kökler taşır. Yapraklar basit, bütün ve alternat dizilişlidir; linear, oblanseolat veya spatulat formlarda bulunabilir. Korimbuslardaki kapitulumlar küremsi, tabanı yukarıda olan ters üçgen veya dairesel, disk şeklinde ya da disiform görünüme sahip olup, boyları 3-12 mm arasında değişkenlik gösterir. İnvolutrum brakteleri incedir, kalıcıdır ve çoklu sıralar halinde, düzenli veya düzensiz imbrikat diziliş gösterir; saman sarı, sarı, beyaz, turuncu veya kırmızı renkte olup renklerini kaybetmezler. Reseptakulum düz ve tüysüzdür. Çiçekler sarı renkli, genellikle hermafrodittir, nadiren kenardaki bir sıra dişi olabilir. Korolla tubulat, üst kısımları glandular ve 5 parçalıdır. Kaliks ise az tüylü veya ince sakalsı tüylerle kaplı olup sarımsı renktedir. Akenler silindirik yapıda ve çok az glandulardır (Davis ve Kupicha, 1975, Tanker ve Sezik, 1978; Galbany-Casals ve ark., 2006a).

Helichrysum armenium DC. türüne ait botanik özellikler

Bitki yarı çalimsı yapıda olup, 18-50 cm boyundadır ve subglabrozdan seyrekle lanata kadar değişen glandular tüylere sahiptir. Gövdeler çok sayıda, dik ve ince dallı olup, dallanmış odunsu bir tabandan yükselmektedir. Yapraklar yeşilden griye kadar değişen renkte, sıklıkla kenar ve alt yüzün ortasında yoğun tüylüdür; senelik sürgünlerde oblanseolat, üst kısımlarda ise daralmıştan lineara kadar farklı formlarda bulunur. Kapitulumlar subglobozdan turbinat-silindrikale kadar değişen yapıda olup, 5-6 mm uzunluğundadır ve her korimbusda üçten fazla çiçek yer alır. Fillariler subakut, $\pm$ çok düzenli imbrikat dizilimli olup, yüzeye dikten basığa kadar farklılık gösterebilir ve sarı veya soluk saman rengindedir. Tüm çiçekler hermafrodit yapıdadır. Bitki, kayalık kireçtaşı yamaçlarda, orman açıklıklarında ve step alanlarında yetişir. Çiçeklenme dönemi Mayıs-Ağustos arasındadır ve tür 900-2500 m rakımda bulunur (Eroğlu, 2008).

1. Subsp. *armenium*: Gövdenin orta yaprakları 1.5-4 mm genişliğinde olup, korimbus oldukça seyrektir ve çok sayıda subglobozdan turbinat forma kadar değişen kapitulumlar içerir. Fillariler sıkı ve yatık olmayan, $\pm$ düzenli imbrikat dizilim göstermektedir (Eroğlu, 2008).

2. Subsp. *araxinum* Gövdenin orta yaprakları 0.75-1 (-1.5) mm genişliğinde olup, korimbus oldukça sık ve düzenli dizilmiş 3-10 adet turbinat-silindirik kapitulum içerir. Fillariler sıkı ve yatık olup, çok düzenli imbrikat dizilim göstermektedir (Eroğlu, 2008).

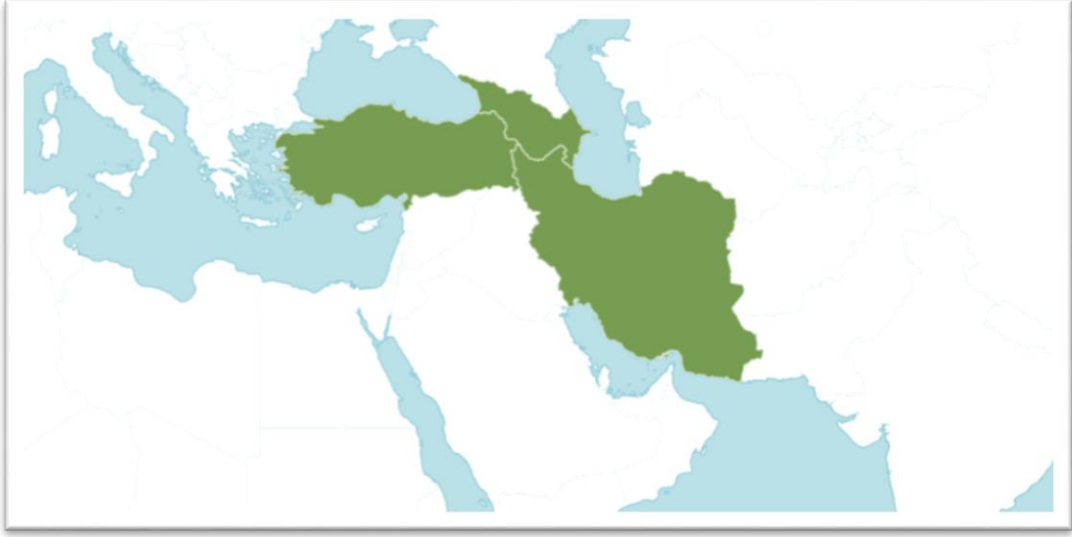
***Helichrysum armenium* DC. subsp. *araxinum* (Kirp.) Takht.'a ait botanik bilgiler**

Çok yıllık, yarı odunsu yapıda gelişen ve genellikle kurak iklim koşullarına adapte olmuş bir bitkidir (Şekil 2). Gövde yapısı ince ve diktir; çoğunlukla 10-30 cm arasında boyunda olup bazen yatık gelişim de gösterebilmektedir. Gövde, ince ve yumuşak tüylerle sık şekilde örtülü olup gri-yeşil bir renk tonuna sahiptir (Beşen ve ark., 2024). Bu tüylenme, bitkinin fotosentez kapasitesini artırmakta, aynı zamanda su kaybını azaltarak çevresel stres koşullarına karşı koruma sağlamaktadır. Yapraklar, alternat dizilişte ve sapsız ya da çok kısa saplı şekilde gövdeye bağlıdır. Yaprak şekli genellikle şeritsi ya da mızraksı olup, yüzeyler yine yoğun tüylerle kaplanmaktadır. Yaprak kenarları düz, uç kısımları sivri ve alt yüzeyleri daha açık renktedir. Yaprak dokusu sert, kalın ve su tutma kapasitesi yüksek bir yapıdadır. Bu yapısal özellikler, türün özellikle taşlık ve güneşli habitatlara uyumunu desteklemektedir (Elkiran, 2012). Çiçek başları, küçük çiçekçiklerden oluşmakta ve bu yapı, sert ve zar benzeri braktelerle çevrilmiştir. Brakteler altın sarısı renginde olup, kuruduktan sonra da hoş görünümünü korumaktadır. Çiçekler hem hermafrodit hem de dişi yapıda olmakta, bu da türün üreme başarısını artırmaktadır. Polen yayılımı çoğunlukla rüzgar ve böceklerle gerçekleşmektedir. Meyve yapısı, Asteraceae familyasının genel özelliği olan aken formundadır (Elkiran, 2012; Beşen ve ark., 2024). Aken meyveler hafif, ince kabuklu ve üzeri kısa tüylerle kaplıdır. Meyve ucunda pappus yer almakta, bu yapı rüzgarla tohum taşınmasını kolaylaştırmakta ve yayılım alanını genişletmektedir. Bu özellik, bitkinin doğal habitatında türün çevresel üstünlüğüne katkıda bulunmaktadır. Kök sistemi yüzeysel ve lateral köklerden oluşmakta, toprak yüzeyine yakın bölgelerde yayılmakta ve suya ulaşımı kolaylaştırmaktadır. Bu kök yapısı, bitkinin kurak ve taşlık bölgelerde yaşamını sürdürebilmesine olanak tanımaktadır (Ergün ve Yeğin, 2024).



Şekil 2. *H. armenium* subsp. *araxinum*'dan genel bir görünüm (Fotoğraf: H. Eroğlu, 14.07.2022, Malatya)

Taksonun dünya genelindeki dağılımı Şekil 3'te Türkiye'deki dağılımı ise Şekil 4'te verilmiştir. Taksona ilişkin botanik bilgiler Tablo 2'de özetlenmiştir.



Şekil 3. *H. armenium* subsp. *araxinum*'un dünyadaki dağılımı (İran, Transkafkasya, Türkiye), (KEW, 2025)



Şekil 4. *H. armenium* subsp. *araxinum* 'un Türkiye'deki dağılımı (TÜBİVES, 2025)

Tablo 2. *H. armenium* subsp. *araxinum*'a ait botanik bilgiler (TÜBİVES, 2025).

Sinonim	<i>H. araxinum</i> Takht.
Çiçeklenme	Haziran-Ağustos
Habitat	1000-2500 m, kayalık kireçtaşı yamaçlar, orman açıklıkları ve steplerde bulunur.
Türkiye’de dağılımı	Sivas, Maraş, Erzurum, Malatya, Erzincan, Elazığ, Tunceli, Adıyaman, Muş, Bingöl.
Yayılış	İran-Turan Elementi, Türkiye
Ömür	Çok yıllık
Yapı	Yarıçalı
Yükseklik	900-2500
Endemik	Endemik değil
Genel Dağılımı:	Ermenistan, Talış

2.2.3. *Helichrysum* Mill. cinsinin etnofarmakolojik kullanımı

Helichrysum Mill. cinsine ait türlerin tıbbi kullanımlarına ilişkin en eski kayıtlar, Yunan filozof Theophrastos’un M.Ö. 3.-2. yüzyıllarda yazdığı *Historia Plantarum* adlı eserine dayanmaktadır. Bu eserde “Heleiochrysos”un balla karıştırılarak yanıkların tedavisinde kullanıldığı ve zehirli hayvan sokmalarına karşı uygulandığı bildirilmektedir. *Helichrysum* türlerinin tıbbi özelliklerine dair diğer erken dönem kaynaklardan biri de Pedanius Dioskorides’in M.S. 1. yüzyılda kaleme aldığı *De Materia Medica* adlı eseridir. Dioskorides *Helichrysum* çiçeklerinin filamentlerinin şarapta yumuşatılarak kaynatılmasının idrar söktürücü etki sağladığını ve idrar yolu rahatsızlıkları, yılan sokmaları, siyatik ve fitik gibi durumlarda tedavi amacıyla kullanıldığını aktarmaktadır (Viegas ve ark., 2014).

Rönesans dönemine gelindiğinde, *Helichrysum* türlerine ilişkin tıbbi kullanımların Güney Afrika’daki ilk yazılı kaydının 1727 yılında, bitkinin sinirlilik ve histeri tedavisinde kullanıldığını bildiren Hollandalı botanikçi Herman Boerhaave tarafından yapıldığı görülmektedir (Lourens ve ark., 2008). Aynı dönemde Robert Morison, günümüzde *Helichrysum stoechas* (L.) Moench olarak bilinen türü

“*Helichrysum chrysocome angustifolia vulgaris*” adıyla tanımlamıştır (Viegas ve ark., 2014).

Bu cinse ait bitkilere yönelik erken dönem tanımlamalarda türler çoğunlukla bir bütün olarak ele alınmış, hangi türlere ait bilginin aktarıldığı açıkça belirtilmemiştir. Bununla birlikte, *Helichrysum* cinsine ait türlerin dünya genelinde en az 2000 yıldır geleneksel tıpta kullanıldığı bilinmektedir. Tarihsel süreç boyunca bu türler süs bitkisi, kozmetik, tıbbi ve gıda amaçlı olarak geniş bir kullanım alanına sahip olmuşlardır (Viegas ve ark., 2014).

Güney Avrupa’da yaygın bir tür olan *Helichrysum italicum* subsp. *picardii* (Boiss. & Reut.) Franco aromatik yapısı nedeniyle hem baharat hem de geleneksel ilaç olarak kullanılmıştır (Benítez ve ark., 2010). *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don, özellikle solunum yolu enfeksiyonları, inflamasyon ve alerjik durumlar ile cilt hastalıklarının tedavisinde ve yara iyileşme süreçlerinde değerlendirilmektedir. Uçucu yağının aromaterapide hematoma, yara izi ve cilt yaşlanması karşıtı uygulamalarda kullanıldığı ve baş ağrısı, migren ile romatizmal ağrıların hafifletilmesinde masaj yağı olarak tercih edildiği bildirilmiştir (Viegas ve ark., 2014; Furlan ve Bren, 2023).

Orta Avrupa’da *Helichrysum arenarium* (L.)’un Moench çiçek salkımları antiseptik, koleretik ve spazmolitik etkileri nedeniyle geleneksel kullanıcıların dikkatini çekmiştir (Viegas ve ark., 2014). Bitkinin çiçekli kısımlarının, sindirim sistemi rahatsızlıklarına yönelik infüzyon veya kaynatma şeklindeki uygulamaları Avrupa İlaç Ajansı (EMA) tarafından da onaylanmıştır (EMA, 2025). Avrupa Bilimsel Fitoterapi Birliği (ESCOP) monografında da Flos *Helichrysi Arenarii*’nin kullanımı kayıtlıdır (ESCOP, 2025).

İspanyol halk tıbbında *H. stoechas* antiinflamatuvar ve yara iyileştirici özelliklerinin yanı sıra diş ağrısı, ürolojik rahatsızlıklar ve sindirim bozukluklarında kullanılmaktadır. Ayrıca infüzyonlarının grip, soğuk algınlığı, ateş, sinirlilik, safra kesesi ve pankreas sorunlarına yönelik tüketildiği rapor edilmiştir (Benítez ve ark., 2010; Viegas ve ark., 2014).

Helichrysum türleri Türkiye’de geniş bir geleneksel kullanım alanına sahiptir. Özellikle *H. stoechas*, *H. graveolens* (Bieb.) Sweet ve *H. plicatum* DC. halk arasında yaygın olarak kullanılan türler arasındadır (Baytop, 1997). *H. stoechas*’ın toprak üstü kısımları ve çiçekli dalları, böbrek taşı, böbrek kumu ve nefrit kaynaklı ağrıların giderilmesinde kullanılmaktadır (Kültür ve ark., 2021). *H. graveolens* diyabet semptomlarının hafifletilmesi, diüretik etki göstermesi ve yara iyileşmesini desteklemesi nedeniyle kullanılmaktadır (Aslan ve ark., 2007). *H. plicatum* özellikle İç Anadolu ve Doğu Anadolu’da yoğun olarak toplanmakta, çay şeklinde tüketilmekte ve egzama, mantar enfeksiyonları ve cilt yaralarının tedavisinde haricen uygulanmaktadır. Bitkinin suyu veya tentürü yara üzerine sürülmekte ve kurutulmuş çiçekleri dekoratif amaçla da değerlendirilmektedir (Eroğlu, 2023).

Helichrysum türlerinin kullanımı Afrika kültürlerinde tıbbi uygulamaların yanı sıra ritüel özellikler de taşımaktadır. Güney Afrika’da bu türlerin kötü ruhları uzaklaştırdığına inanıldığından evlerde nazarlık olarak bulundurulduğu, ayrıca cenaze törenlerinde ritüel amaçlı kullanıldığı çeşitli etnobotanik kaynaklarda bildirilmiştir (Lourens ve ark., 2008).

Farklı coğrafyalarda yapılan etnobotanik kayıtlar *Helichrysum* cinsinin geleneksel tıpta geniş ve çok yönlü bir kullanım geçmişine sahip olduğunu açıkça göstermektedir.

2.2.4. *Helichrysum* türleri ile ilgili fitokimyasal çalışmalar

Helichrysum cinsi içerdiği zengin sekonder metabolit bileşikleri ile uzun süredir farmakognozi, etnobotanik ve fitoterapi alanlarında yapılan bilimsel araştırmalara konu olmaktadır. Bu cinse ait türler üzerinde gerçekleştirilen fitokimyasal çalışmalar bitkinin sahip olduğu biyolojik aktivitenin temelinde yer alan kimyasal yapıların detaylı bir şekilde ortaya konmasına olanak tanımaktadır (Furlan ve Bren, 2023).

Helichrysum türlerinin fitokimyasal içeriklerine ilişkin en kapsamlı çalışmalar Albayrak ve arkadaşları tarafından yürütülmüştür (Albayrak, 2008; Albayrak ve ark., 2010a; Albayrak ve ark., 2010b). Araştırmada incelenen 16 *Helichrysum* türü, *H. arenarium* (L.) Moench subsp. *aucheri* (Boiss.) P. H. Davis & Kupicha, *H. subsp. armenium*, *H. artvinense* Davis & Kupicha, *H. chionophilum* Boiss. & Bal., *H.*

compactum Boiss., *H. goulandrionum* E. Georgiadou, *H. graveolens* (Bieb.) Sweet, *H. heywoodianum* P. H. Davis, *H. kitianum* Yıldız, *H. noeanum* Boiss., *H. orientale* L., *H. pallasii* (Spreng.) Ledeb., *H. peshmenianum* S. Erik, *H. plicatum* DC. subsp. *plicatum*, *H. plicatum* DC. subsp. *polyphyllum* (Ledeb.) Davis & Kupicha ve *H. stoechas* subsp. *barrelieri* (Ten.) Nyman'ı kapsamakta ve önemli bir taksonomik çeşitlilik sunmaktadır. Bu analizlerde tüm türlerde ortak ana bileşik olarak klorojenik asit, apigenin ve kozmosiin tespit edilmiştir. Ayrıca ferulik asit, p-kumarik asit, p-hidroksibenzoik asit, şirincik asit, epikateşin, eriodiktol, hesperidin, luteolin, naringenin, kersetin ve resveratrol bileşiklerinin türler arasında hem kalitatif hem de kantitatif açıdan farklılık gösterdiği bildirilmiştir (Albayrak ve ark., 2010a). Albayrak'ın daha sonraki 4 *Helichrysum* türleri ile ilgili çalışmalarında, *H. arenarium* (L) Moench subsp. *erzincanicum* P.H. Davis & Kupicha, *H. arenarium* subsp. *rubicundum* (K.Koch) P.H. Davis & Kupicha, *H. armenium* subsp. *araxinum* ve *H. plicatum* subsp. *pseudoplicatum* (Nábělek) P.H. Davis & Kupicha ekstrelerinde de klorojenik asit, apigenin ve kozmosiin majör bileşikler olarak bulunmuştur (Albayrak ve ark., 2010b; Albayrak, 2008).

Yıldız ve arkadaşları (2024), *H. armenium*'un bir diğer alttürü olan *H. armenium* subsp. *armenium* DC.'un toprak üstü kısımlarından elde edilen metanol ve etil asetat ekstrelerinde başlıca bileşikleri rapor etmişlerdir. Tespit edilen ana bileşikler (mg/g); metanol ekstresinde astragalin (33.65 ± 0.38), kinik asit (27.99 ± 1.04), kozmosiin (20.61 ± 0.17), izokersitrin (15.15 ± 0.33), klorojenik asit (15.09 ± 0.32), naringenin (12.20 ± 0.48), apigenin (4.45 ± 0.08) ve sinarosit (4.53 ± 0.17) iken, etil asetat ekstresinde ise kozmosiin (13.79 ± 0.11), astragalin (12.95 ± 0.15), naringenin (7.13 ± 0.28), apigenin (5.23 ± 0.09) ve akasetin (4.80 ± 0.17)'dir (Yıldız ve ark., 2024). Kekeç ve ark. (2024), *H. armenium* subsp. *armenium*'un metanol ekstresinde tespit ettiği ana bileşiklerin (mg/L) klorojenik asit (45.557), fumarik asit (117.739), vanilik asit (124.691), kersetin (22.76) kemferol (24,326) ve apigenin (6.239) olduğunu bildirmiştir.

Helichrysum türlerinin kimyasal profiline ilişkin en kapsamlı derleme ise Akaberi ve arkadaşları (2019) tarafından yapılmıştır. Bu derleme, cinse ait türlerin özellikle uçucu yağlar, flavonoidler, fenolik asitler, seskiterpenlaktonlar ve fitosteroller bakımından oldukça zengin olduğunu ortaya koymaktadır (Akaberi ve ark., 2019). Uçucu yağ bileşiminde sıklıkla α -pinen, β -karyofilen, nerilasetat, geraniol, italidion ve limonen gibi

terpenoidler baskın olup, özellikle *H. italicum* Mill. üzerinde yapılan çalışmalar bu uçucu yağların dermokozmetik uygulamalarda cilt yenilenmesini destekleyici etkileri nedeniyle yaygın olarak kullanıldığını göstermektedir (Furlan ve Bren, 2023).

Flavonoidler *Helichrysum* türlerinde en yaygın olarak bulunan fenolik bileşik grubudur. Kersetin, apigenin, luteolin ve kemferol türevleri, bitkinin antioksidan kapasitesinin temelini oluşturmaktadır. Bu flavonoidlerin serbest radikal süpürücü etkilerinin yanı sıra oksidatif stres, inflamasyon ve bazı kanserojen süreçler üzerinde koruyucu etkilere sahip olduğu hem *in vitro* hem de *in vivo* çalışmalarla desteklenmiştir (Galbany-Casals ve ark., 2006b; Furlan ve Bren, 2023).

Fenolik asitler arasında klorojenik asit, kafeik asit, ferulik asit ve rozmarinik asit, *Helichrysum* türlerinde de en sık rastlanan başlıca bileşiklerdir. Bu bileşiklerin antioksidan, antikanserojen, hepatoprotektif ve nöroprotektif özellikler sergilediği bildirilmektedir (Galbany-Casals ve ark., 2006b).

Helichrysum türlerinin karakteristik bileşik gruplarından biri olan seskiterpenlaktonlar, özellikle antiinflamatuvar etkileriyle dikkat çekmektedir. Bu bileşiklerin prostaglandin sentezini baskılayarak inflamatuvar süreçleri azalttığı, bazı kanser hücre hatlarında antiproliferatif etki gösterdiği ve bakteriyel/fungal hücre zarlarını bozarak antimikrobiyal aktivite sergilediği çeşitli çalışmalarda ortaya konulmuştur (Galbany-Casals ve ark., 2006b).

***H. armenium* subsp. *araxinum* ile ilgili fitokimyasal çalışmalar**

H. armenium subsp. *araxinum* üzerine yapılan sınırlı sayıdaki çalışmalarda, özellikle çiçek ve yaprak kısımlarından elde edilen ekstraktların fenolik bileşikler açısından zengin olduğu gösterilmiştir. Ergün ve Yeğin (2024) tamamlayıcı tedavide kullanılan *H. armenium* türünün fenolik bileşenlerini ve antioksidan etkilerini analiz etmişlerdir. Yapılan çalışmada bitkinin yapraklarının etanol ekstresinde klorojenik asit, kafeik asit, ferulik asit ve sinnamik asit türevlerinin yüksek oranlarda bulunduğu rapor edilmiştir.

Bahşi ve arkadaşları (2020), Harput/Elazığ'dan toplanan *H. armenium* subsp. *araxinum* tohumlarının % 80 metanol ekstresinin flavonoid içeriklerinin yüksek olduğunu

göstermiştir. Ekstrede başta naringenin ($1156.8 \pm 3.57 \mu\text{g/g}$), rutin ($396.24 \pm 2.57 \mu\text{g/g}$) ve kateşin ($181.8 \pm 2.47 \mu\text{g/g}$) olmak üzere önemli miktarda flavonoid bulunmuş ve fenolik asitler açısından ise vanilik asit ($213.2 \pm 2.32 \mu\text{g/g}$), kafeik asit ($151.6 \pm 1.27 \mu\text{g/g}$) ve ferulik asit ($117.94 \pm 1.26 \mu\text{g/g}$) yüksek oranda tespit edilmiştir.

Albayrak ve arkadaşları (2010b), *H. armenium* subsp. *araxinum*'da klorojenik asit, kafeik asit, ferulik asit, p-kumarik asit, p-hidroksibenzoik asit, şirincik asit, apigenin, kozmosiin, epikateşin, hesperidin, luteolin, naringenin ve resveratrolü başlıca bileşikler olarak belirlemişlerdir.

Çubukçu ve Yüksel (1982) Kars ve Bingöl-Tunceli illerinden toplanan *H. armenium* subsp. *armenium* ve *H. armenium* subsp. *araxinum* alttürlerinin çiçekli başları ve yapraklı saplarını kalitatif ve kantitatif olarak incelemişlerdir. Çalışmada, *H. armenium* subsp. *araxinum*'un çiçek ve yapraklı saplarında galangin 3-metil eterin yalnızca bu alttürde bulunduğu tespit edilmiştir. Ayrıca çiçeklerde apigenin, luteolin, naringenin, apigenin 4'-glikozit, kozmosiin, astragalin, kersetin 3-glikozit, helikrisin A ve B ile izosalipurposit; yaprak ve saplarda ise kemferol, kersetin ve astragalin belirlenmiştir. Buna karşın *H. armenium* subsp. *armenium*'da çiçek başlarında ağırlıklı olarak naringenin türevleri ve helikrisin A ve B bulunurken, toprak üstü kısımlarda apigenin, luteolin, naringenin, astragalin, kemferol, kozmosiin ve kersetin tespit edilmiştir.

2.2.5. *Helichrysum* türleri ile ilgili biyolojik aktivite çalışmaları

Helichrysum cinsine ait türler, içerdiği zengin fitokimyasal bileşiklerden dolayı son yıllarda çeşitli biyolojik aktivite çalışmalarında yoğun olarak araştırılmaktadır. Özellikle halk hekimliğinde yüzyıllardır farklı hastalıkların tedavisinde kullanılmaları, bu bitkilerin modern farmakoloji ve biyoteknoloji alanında da yoğun şekilde incelenmesini sağlamaktadır. Cinsin farklı coğrafyalarda yetişen türlerine yönelik yapılan biyolojik aktivite araştırmaları, sahip oldukları terapötik potansiyelin bilimsel temellere dayandırılmasına imkan tanımaktadır (Kekeç ve ark., 2024).

Antioksidan aktiviteler *Helichrysum* türlerinde en çok incelenen biyolojik testler arasında yer almaktadır. DPPH, ABTS, demir iyon indirgeyici antioksidan aktivite

(FRAP) ve oksijen radikal absorpsiyon kapasitesi (ORAC) gibi radikal süpürme testleri türlerin yüksek antioksidan kapasiteye sahip olduğunu ortaya koymaktadır. Bu etkinin özellikle fenolik bileşikler ve flavonoidlerden kaynaklandığı anlaşılmaktadır. Antioksidan aktiviteler, oksidatif stresin neden olduğu hücresel hasarları önlemeye yardımcı olarak yaşlanma karşıtı ve hastalık önleyici potansiyelleri desteklemektedir (Kekeç ve ark., 2024).

Antimikrobiyal ve antifungal aktiviteler açısından değerlendirildiğinde, *Helichrysum* türlerinden elde edilen ekstraler ve uçucu yağlar, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Candida albicans* ve *Aspergillus* türleri gibi patojenik mikroorganizmalara karşı etkili bulunmuştur (Küçüköğlu ve ark., 2006).

Antiinflamatuvar aktiviteler, özellikle flavonoid ve seskiterpenlaktone içerikli ekstrelerin prostaglandin sentezini baskılaması ve inflamatuvar sitokinlerin salınımını azaltması ile ilişkilendirilmektedir. *H. italicum* ve *H. arenarium* (L.) Moench türleri üzerinde yapılan *in vitro* ve *in vivo* deneylerde, bu türlerin antiinflamatuvar etkileri inflamatuvar belirteçlerin düzeylerinde anlamlı düşüşlerle doğrulanmıştır (Furlan ve Bren, 2023).

Cilt üzerine etkileri açısından *Helichrysum* türlerinin antitirozinaz, antielastaz, antikollajenaz ve antiyaluronidaz aktiviteleri, *H. italicum*, *H. graveolens*, *H. teretifolium* (L.) D. Don ex Sweet ve *H. armenium* subsp. *armenium* türleri üzerinde test edilmiştir. Özellikle *H. italicum* ve *H. armenium* subsp. *armenium* türlerinde anti-tirozinaz ve antielastaz aktiviteler daha belirgin bulunurken, *H. graveolens* ve *H. teretifolium* türlerinin antikollajenaz ve antiyaluronidaz aktiviteler ile öne çıktığı belirlenmiştir (Süntar ve ark., 2013; Popoola ve ark., 2015a; Marijan ve ark., 2023; Yıldız ve ark., 2024).

Sitotoksik ve antiproliferatif etkiler açısından yapılan çalışmalar *Helichrysum* türlerinin bazı kanser hücre hatlarında büyümeyi baskılayıcı potansiyel taşıdığını göstermektedir. İnsan kolon, meme ve karaciğer kanseri hücre hatları üzerine yapılan testlerde, bu türe ait ekstrelerin hücre canlılığını azalttığı rapor edilmiştir (Küçüköğlu ve ark., 2006; Kekeç ve ark., 2024). Sinir sistemi üzerine sitotoksik etki testinde *H.*

arenarium'ın etanol ve metanol ekstralarının T98G glioblastoma hücre hattına inhibisyon etkiler gösterdiği ve bu etkiden naringenin, luteolin ve kersitrin bileşiklerinin sorumlu olduğu bildirilmiştir (Nalkıran ve Nalkıran, 2025). Güney Afrika'da gerçekleştirilen çalışmalarda 35 *Helichrysum* türünün SF-268 glioblastoma hücre hattında toksisite potansiyeli ortaya konulmuştur (Lourens ve ark., 2011).

Helichrysum türleri arasında uçucu yağ ve sekonder metabolitlerin yüksek ekonomik değeri nedeniyle *H. italicum* subsp. *italicum* (Roth) G. Don en çok çalışılan türdür. Bu tür, antimikrobiyal, antioksidan, antiinflamatuvar ve antiproliferatif özellikler göstermektedir (Viegas ve ark., 2014; Maksimović ve ark., 2017). En bilinen ve üzerinde yoğun çalışma yapılan diğer türler ise *H. italicum*, *H. stoechas* ve *H. arenarium*'dur (Viegas ve ark., 2014; Les ve ark., 2017; Pljevljakušić ve ark., 2018).

***H. armenium* subsp. *araxinum* ile ilgili biyolojik aktivite çalışmaları**

Yapılan çalışmalar *H. armenium* subsp. *araxinum*'un özellikle antioksidan, antimikrobiyal ve sitotoksik özellikler yönünden önemli biyolojik aktivite potansiyeli taşıdığını ortaya koymaktadır (Kutluk ve ark., 2018).

Antioksidan aktivite bakımından yapılan çalışmalar *H. armenium* subsp. *araxinum*'un çiçek ve yapraklarından elde edilen metanol ve etanol ekstralarının DPPH, ABTS ve FRAP radikal süpürme testlerinde yüksek düzeyde aktivite gösterdiği belirlenmiştir. Bu yüksek antioksidan etki, türün fenolik içerik bakımından zengin olmasıyla ilişkilendirilmekte ve özellikle klorojenik asit, kafeik asit, luteolin ve apigenin bileşiklerinin bu etkide rol oynadığı bildirilmektedir (Kutluk ve ark., 2018).

Antimikrobiyal aktiviteye yönelik olarak yapılan araştırmalarda bitki uçucu yağlarının ve ekstralarının hem gram pozitif hem de gram negatif bakteri türleri ile bazı patojenik mantarlara karşı etkili olduğu tespit edilmiştir. Özellikle *S. aureus*, *E. coli*, *P. aeruginosa* ve *C. albicans* gibi mikroorganizmalara karşı inhibitör etki gösterdiği bildirilmiştir (Küçüköğlu ve ark., 2006; Kutluk ve ark., 2018).

H. armenium subsp. *araxinum* çiçeklerinin, DNA topoizomera I enzimini önemli düzeyde inhibe ettiği ve bu yolla sitotoksik aktivite gösterdiği bildirilmiştir (Küçüköğlu ve ark., 2006).

2.3. Tez Kapsamında Çalışılan Farmakolojik Aktiviteler Hakkında Genel Bilgiler

2.3.1. Antioksidan aktivite hakkında genel bilgiler

Tedavi edici maddelerin metabolize edilmesi, gıdaların sindirilmesi ve yağların enerjiye dönüştürülmesi ve solunum dahil insan vücudunda gerçekleşen biyolojik süreçler, yan ürün olarak reaktif oksijen ve nitrojen türleri (ROS ve RNS) adı verilen potansiyel olarak zararlı bileşiklerin oluşmasına neden olmaktadır. Bu reaktif türler, çoğunlukla serbest radikaller veya serbest radikal üretimine yatkın moleküller olup düşük ve orta konsantrasyonlarda çeşitli fizyolojik işlevler için gerekli sinyal yollarında önemli roller üstlenirler. Ancak reaktif oksijen ve nitrojen seviyelerinin aşırı artması lipid, protein ve DNA başta olmak üzere temel biyomoleküllerde hasara yol açarak normal hücrel sinyal mekanizmalarını bozabilmektedir (Pizzino ve ark., 2017).

Stres koşullarında reaktif türlerin üretimi, antioksidan savunma kapasitesini aşarak oksidatif stres olarak tanımlanan redoks dengesinin bozulmasına neden olur. Bu durum, hücrel membranlar, nükleik asitler, proteinler ve lipitler gibi kritik yapılar üzerinde geri dönüşü olmayan hasarların oluşmasına ve ikincil reaktif türlerin üretimiyle birlikte hücrel fonksiyonların bozulmasına yol açmaktadır (Forman ve Zhang, 2021). Oksidatif stresin kronikleşmesi; kanser, kardiyovasküler hastalıklar, karaciğer bozuklukları ve nörodejeneratif hastalıklar dahil olmak üzere birçok kronik hastalığın patogeneğinde temel bir mekanizma olarak kabul edilmektedir (Rudrapal ve ark., 2022).

Antioksidanlar, serbest radikallere elektron vererek onları kararlı hale getirerek hücrel bileşenlere verebilecekleri potansiyel zararları engellerler (Gülçin, 2025). Antioksidan savunma sistemi; (1) serbest radikal üretimini geciktirme veya engelleme, (2) radikalleri doğrudan temizleme, (3) onları daha az toksik ürünlere dönüştürme, (4) ikincil toksik türlerin oluşumunu önleme, (5) zincirleme oksidatif reaksiyonları durdurma (zincir kırıcı antioksidan aktivite), (6) diğer antioksidanlarla etkileşim yoluyla endojen savunmayı güçlendirme ve (7) metal iyonlarını şelatlama gibi çeşitli mekanizmalar üzerinden işlev görmektedir. Bu birbirini tamamlayan süreçler, organizmayı oksidatif stresin zararlı etkilerine karşı çok katmanlı bir biçimde korumaktadır (Adwas ve ark., 2019).

İnsan vücudundaki antioksidan sistemler genel olarak enzimatik ve enzimatik olmayan antioksidanlardan oluşur (Adwas ve ark., 2019). Antioksidanlar kaynaklarına göre endojen ve ekzojen olarak iki ana gruba ayrılır. Endojen antioksidanlar hücreler tarafından doğal olarak sentezlenirken, ekzojen antioksidanlar diyet yoluyla alınır. Bunun yanı sıra antioksidanlar, biyokimyasal aktivitelerine (enzimatik/enzimatik olmayan), çözünürlük özelliklerine (hidrofilik/lipofilik) ve kimyasal yapılarına (flavonoidler, polifenoller) göre de sınıflandırılmaktadır (Rehman ve ark., 2019).

Doğal antioksidanların reaktif tür üretimini azaltma ve serbest radikalleri etkisizleştirme gibi çeşitli biyokimyasal etkilere sahip olduklarından, diyabet, hipertansiyon, Alzheimer ve Parkinson gibi kronik hastalıkların önlenmesi ve tedavisinde önemli bir potansiyel sunmaktadır (Gülçin, 2025).

2.3.2. Tirozinaz ve elastaz enzimleri hakkında genel bilgiler

Cilt yaşlanması biyolojik süreçlerin doğal bir sonucu olup genel olarak içsel (intrinsik) ve dışsal (ekstrinsik) yaşlanma olmak üzere iki ana kategori altında incelenmektedir. İçsel ya da kronolojik yaşlanma, büyük ölçüde genetik faktörler tarafından belirlenmekte ve zaman içerisinde fizyolojik değişimlerin birikmesine bağlı olarak ilerlemektedir. Buna karşılık dışsal yaşlanma, güneşten gelen ultraviyole radyasyona uzun süreli maruziyet, hava kirliliği, kimyasallar ve olumsuz çevresel koşullar gibi faktörler tarafından tetiklenmektedir. Ayrıca sigara kullanımı ve düzensiz beslenme gibi yaşam tarzı alışkanlıkları da bu süreci hızlandıran önemli unsurlar arasında yer almaktadır (Farage ve ark., 2008).

Cilt yaşlanmasının önemli biyokimyasal belirleyicilerinden biri olan elastaz, kimotripsin proteaz ailesine ait bir enzimdir ve dermal ekstrasellüler matriksin yapısal bütünlüğü için kritik öneme sahip elastin, kollajen ve fibronektin gibi proteinlerin parçalanmasında görev alır (Imokawa ve Ishida, 2015). Elastazın aşırı veya kontrolsüz aktivitesi elastin lif ağının yoğun hidrolizine yol açarak cilt elastikiyetinin azalmasına, dermal bütünlüğün bozulmasına ve sonuç olarak cilt sarkmasına neden olur. Bu nedenle elastaz inhibitörleri, elastik liflerin korunmasına katkı sağlayarak kırışıklık karşıtı kozmetik ajanlar olarak dikkat çekmektedir (Thring ve ark., 2009).

Cilt biyokimyasında önemli bir diğer hedef enzim olan tirozinaz, bakır içeren ve polifenol oksidaz sınıfına dahil bir oksidoredüktazdır. Bu enzim, melanin biyosentezinin erken basamaklarını oluşturan monofenollerin hidroksillenmesi ve O-difenollerin O-kinonlara oksitlenmesi olmak üzere iki temel reaksiyonu katalize eder. Tirozinaz aktivitesi, cilt, saç ve göz renginin belirlenmesinde temel rol oynamaktadır (Pillaiyar ve ark., 2017). Ancak enzimin aşırı aktivitesi ürtiker pigmentoza ve yaşa bağlı hiperpigmentasyon gibi çeşitli pigmentasyon bozukluklarının ortaya çıkmasına neden olabilmektedir. Bu nedenle tirozinaz inhibitörleri cilt tonunu dengelemeye ve hiperpigmentasyonu azaltmaya yönelik potansiyel beyazlatıcı ajanlar arasında değerlendirilmektedir (Slominski ve ark., 2004).

2.3.3. Glioblastoma ve nöroblastoma hakkında genel bilgiler

Kanser, genomik ve moleküler düzeyde meydana gelen çeşitli değişikliklerin sonucu olarak hücrelerin kontrolsüz büyüme ve çoğalma yeteneği kazanmasıyla karakterize edilen, heterojen ve çok faktörlü bir hastalık grubudur. Bu süreç, etkilenen dokularda hızlı kitle artışı ve doku yapısında belirgin değişikliklerle kendini gösterir. Kanser hücreleri yüksek metabolik aktiviteye sahip olup oksijen ve besin kaynaklarını yoğun şekilde tüketir. Bu durum sağlıklı hücrelerin metabolik olarak dezavantajlı duruma düşmesine yol açar. Ayrıca tümörler, mikroçevreyi kendi büyüme ve yayılımını destekleyecek şekilde yeniden programlayabilir. Bu yeniden yapılanma, bağışıklık yanıtının baskılanmasını, stromal hücrelerin yeniden düzenlenmesi ve çevre dokuların fizyolojik işlevlerinin tümör lehine değiştirilmesini kapsamaktadır (Janssen ve ark., 2017; Pfirschke ve ark., 2017).

Hücre ölümü, çok hücreli organizmalarda homeostatik dengenin sürdürülmesinde merkezi bir rol oynar. Klasik olarak, bu süreç apoptoz ve nekroz olmak üzere iki ana mekanizma ile tanımlanmaktadır. Apoptoz programlanmış hücre ölümü olarak bilinir ve hücrede karakteristik morfolojik değişiklikler ile enzim bağımlı biyokimyasal yollarla karakterizedir. Bu süreç hücrelerin çevre dokulara minimum zarar vererek programlı olarak vücuttan temizlenmesini sağlar. Nekroz ise genellikle şiddetli bir hücresel hasarın ardından ortaya çıkan, kontrolsüz bir süreç olup, hücre içeriğinin çevre dokulara yayılması ve doku hasarına yol açması ile tanımlanır. Ancak son yıllarda hücrelerin farklı

yollarla ölebileceğini gösteren otofaji, piroptoz ve onkozis gibi hücre ölümü mekanizmaları da keşfedilmiştir (D'Arcy, 2019). Bu farklı hücre ölümü biçimlerinin anlaşılması hem normal fizyolojik koşulların korunmasında hem de hastalık süreci mekanizmalarının açığa çıkarılmasında kritik öneme sahiptir.

Sinir sistemi tümörleri beyin ve omurilikte ortaya çıkan malignitelerin geniş bir spektrumunu kapsar ve genellikle kısa ve uzun vadeli fonksiyonel kayıplarla ilişkilendirilir (Ayed ve ark., 2021). Bu tümörlerin klinik yönetimlerini zorlaştıran temel etkenlerden biri, terapötik ajanların beyin dokusuna geçişini sınırlayan kan-beyin bariyeridir (Mohammadi ve ark., 2021). Sinir sisteminin primer malign tümörleri arasında özellikle nöroblastom ve glioblastom öne çıkmaktadır. Her iki tümör türü de agresif seyirleri ve yüksek morbidite oranları nedeniyle yoğun araştırma ve klinik çaba gerektirmektedir (Siegel ve ark., 2021).

Nöroblastom, nöral krestten köken alan hücrelerde ortaya çıkmakta ve sempatik sinir sistemi boyunca herhangi bir yerde tipik olarak adrenal medulla veya paraspinal ganglionlarda görülebilmektedir (Maris, 2010). Nöroblastom, tüm pediatrik kanserlerin % 8-10'unu oluştururken, çocuklarda kansere bağlı ölümlerin % 12-15'ini oluşturmaktadır. Düşük riskli hastalar için nispeten olumlu sonuçlara rağmen yüksek riskli hastalarda bildirilen 5 yıllık genel sağkalım oranı % 20'dir (London ve ark., 2010; Maris, 2010). Nöroblastom tedavisinde siklofosfamid, vinkristin, doksorubisin, sisplatin, karboplatin ve etoposid gibi kemoterapi ajanları kullanılmaktadır. Ancak bu ilaçların sistemik dağılımı nedeniyle kemik iliği baskılanması, enfeksiyon riski ve diğer toksik yan etkileri sık görülmektedir (Du ve Yuan, 2024).

Gliomlar, nöral kök hücrelerden köken alan ve en yaygın görülen primer beyin tümörleri arasında yer almaktadır (Louis ve ark., 2016). Bu tümörler içinde glioblastoma multiforme (GBM), en sık görülen, en agresif ve en kötü prognoza sahip derece IV tümör olarak öne çıkmaktadır (Wen ve Kesari, 2008). Tüm beyin tümörlerinin (birincil ve ikincil) yaklaşık % 17'sini GBM oluşturmaktadır (Dymova ve ark., 2021). GBM tanısı alan hastalarda ortalama sağkalım süresi yaklaşık 15 ay olup, 5 yıllık sağkalım oranı % 7.2'dir (Wen ve Kesari, 2008; Czarnywojtek ve ark., 2023). GBM tedavisinde standart yaklaşım tümörün maksimal cerrahi rezeksiyonunu takiben radyoterapi ve Temozolomid uygulamasını içermektedir. Ancak tümör bu tedavilere sıklıkla direnç geliştirmekte ve

tedavi etkinliğini önemli ölçüde azaltmaktadır (Stupp ve ark., 2005). Bunun yanı sıra terapötik ajanların kan-beyin bariyerini yeterli düzeyde geçememesi de tedaviyi önemli ölçüde kısıtlayan bir diğer temel sorundur (Dymova ve ark., 2021).

2.4. Moleküler Yolakların Belirlenmesinde Kullanılan *In Silico* Metotlar Hakkında Genel Bilgiler

Deneyler genel olarak üç ana kategoriye ayrılmaktadır: *in vitro*, *in vivo* ve *in silico* çalışmalar. *In silico* çalışmalar, bilgisayar ortamında veya simülasyon yoluyla yürütülen çalışmaları ifade eder ve moleküler docking bunların önemli bir alt dalını oluşturur (Ekins ve ark., 2007).

Moleküler docking yapısal moleküler biyoloji ve bilgisayar destekli ilaç tasarımında temel bir araç olarak kullanılmaktadır (Morris ve Lim-Wilb, 2008). Bu yöntem, protein, DNA, RNA ve doğal veya sentetik moleküller arasındaki etkileşimleri incelemeye olanak sağlar ve farmasötik bileşiklerin sanal taranmasında önemli bir rol oynar (Dias ve ark., 2008; Mohanty ve Mohanty, 2023). Bu tür çalışmalar, bilgisayar kullanarak belirli bir biyolojik aktiviteyi tahmin etmek için daha önce denenmiş biyolojik aktivite sonuçlarını dikkate alarak gerçekleştirilir (Ekins ve ark., 2007). Günümüzde Surflex (Jain, 2003), Glide (Friesner ve ark., 2004), AutoDock Vina (Trott ve ark., 2010) ve MOE (Corbeil ve ark., 2012) gibi çeşitli docking metotları vardır. Verilen bir yapıdan, birçok alternatif yazılım ve çevrimiçi sunucu kullanılarak çok sayıda özellik hesaplanabilmekte ve tahmin edilebilmektedir. Girdi yapısı, Chemdraw, Avogadro ve Chems sketch gibi özel yazılımlar ve PubChem ve Chempider gibi çevrimiçi sunucular kullanılarak oluşturulabilmektedir. Makromoleküllerin yapıları Protein Veri Bankası (PDB) RSC web sitesinden de elde edilebilmektedir (Costa ve ark., 2021).

Doğal bileşiklerin enzim inhibitörleri olarak değerlendirilmesinde *in vitro* ve *in silico* yöntemlerin kombinasyonu sıklıkla kullanılmaktadır (Kamel ve ark., 2024a; Kamel ve ark., 2024b). *In vitro* testler % 50 inhibitör konsantrasyonu (IC₅₀) belirleyerek bileşiklerin enzim aktivitesi üzerindeki doğrudan etkilerini ortaya koyarken (Kamel ve ark., 2024c), moleküler docking ve moleküler dinamik (MD) simülasyonları inhibitör-enzim komplekslerinin bağlanma bölgelerini, etkileşimlerini ve kompleksin zaman

içindeki stabilitesini ayrıntılı biçimde analiz etme olanağı sağlamaktadır (Kamel ve ark., 2024a; Kamel ve ark., 2024d; Kamel ve ark., 2023; Kamel ve ark., 2020).



3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Bitkisel Materyal

H. arneium subsp. *araxinum*'a ait örnekler, 19 Temmuz 2022 tarihinde Malatya ili Yazıhan ilçesinde, Fethiye ile Alican köyleri arasındaki yol kenarı-step karakterindeki habitatta, 1399 m yükseltide yer alan ve küresel konumlandırma sistemi (GPS) ile 38°38'42" kuzey enlemi ile 38°04'30" doğu boylamı olarak belirlenen alandan türün aktif çiçeklenme döneminde toplanmıştır. Bitkinin arazi çalışması ve teşhisi Doç. Dr. Hüseyin Eroğlu tarafından yapılmıştır. Preslenerek hazırlanan örnekler daha sonra Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Herbaryumu'nda HE2034 herbaryum kodu ile muhafaza altına alınmıştır. Laboratuvara getirilen materyal, yabancı bitki parçaları ve diğer kirleticilerden arındırıldıktan sonra uygun koşullarda kurutulmuş ve deneysel çalışmalara başlanıncaya kadar oda sıcaklığında, ılık almayacak biçimde depolanmıştır.

3.2. Enzimler, Hücreler, Cihazlar, Kimyasallar ve Çözücüler

Biyolojik aktivite deneylerinde tirozinaz (mantar kaynaklı, Sigma-Aldrich) ve elastaz (insan nötrofilinden elde edilen, Merck) enzimleri kullanılmıştır.

Biyolojik aktivite deneylerinde U87-MG (insan glioblastoma astrositomu, Sigma-Aldrich 89081-402) ve SH-SY5Y (insan nöroblastomu, ATCC CRL-2266™) hücre hatları kullanılmıştır.

Deneysel çalışmalarda analitik hassas terazi (Radwag AS 220.R2 PLUS), çalkalayıcı (WiseShake®), çeker ocak (Thermomac), liyofilizatör (Alpha 1-2 LD plus; Christ, Osterode am Harz), mikropilaka okuyucu (FLUOstar Omega), pH metre (Hanna), rotary evaporatör (Buchi Rotavapor® R-300; V-700 vakum pompalı), UHPLC sistemi (Shimadzu Nexera), ultrasonik banyo (Isolab), ultra saf su sistemi (Millipore Simplicity), UV spektrofotometre (Camag) ve vorteks (Isolab) cihazları kullanılmıştır.

Deneylerde kullanılan tüm kimyasallar ve çözücüler analitik saflıkta olup BLD, Fluka, Isolab, Merck, Sigma-Aldrich ve TCI Chemicals markalı ürünlerden temin edilmiştir.

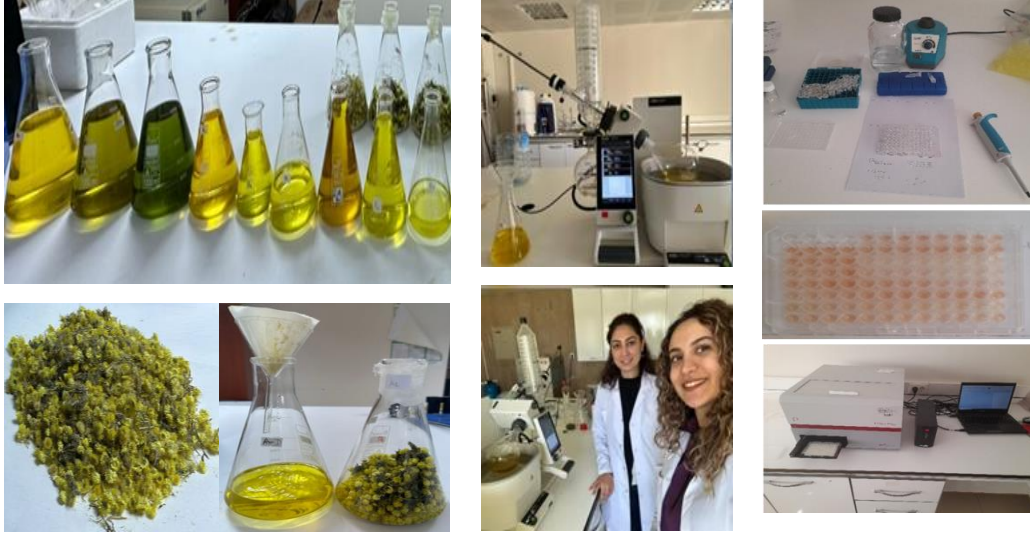
UHPLC-MS/MS analizlerinde HPLC-MS/MS kalitesinde çözücüler, biyolojik aktivite deneylerinde ise ultra saf su kullanılmıştır.

3.3. Ekstrelerin Hazırlanışı

Bitki kurutulduktan sonra çiçekli toprak üstü kısımları bitki makası ile küçük parçalara ayrılmıştır. Parçalanmış bitki materyalinden üç adet olacak şekilde 36'şar gram örnek tartılmıştır. Her bir örnek, ayrı ayrı olmak üzere 600 mL *n*-hekzan, etil asetat ve etanol çözücülerini ile iki kez 24 saatlik maserasyon işlemine tabi tutulmuştur. Maserasyon işlemi, oda sıcaklığında (20 ± 4 °C) alüminyum folyo ile kaplanmış cam şilifli erlenler içinde sürekli çalkalayıcı kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

İlk 24 saatlik maserasyon sonrasında örnekler, üzerlerine ekstrenin hangi çözücü ile hazırlandığını belirten kodların yazıldığı balonlara huni ve süzgeç kağıdı yardımıyla süzülmüştür. Süzme işlemi tamamlandıktan sonra erlenlerde kalan bitki örneklerinin her birine aynı çözücünden 600 mL daha ilave edilerek çalkalama işlemine devam edilmiştir. İkinci 24 saatlik maserasyon sonunda aynı süzme işlemi tekrar uygulanmış ve aynı çözücüyle hazırlanmış önceki süzüntüler ile birleştirilmiştir.

Her bir birleştirilmiş süzöntü rotary evaporatör yardımıyla 37 °C'de düşük basınç altında çözücülerinden ayrı ayrı uzaklaştırılmıştır. Yoğunlaştırılmış kıvamlı ekstratlar dondurulmuş ve liyofilizatör kullanılarak -51 °C'de vakum altında liyofilize edilerek toz haline getirilmiştir. Elde edilen ekstratlar, kapaklı amber renkli şişelerde nem geçirmeyecek şekilde flasterle sarılarak deneylerin yapılacağı zamana kadar 2-8 °C arasında saklanmıştır. Ekstraksiyon işlemi ve deneysel çalışmalara ilişkin görseller Şekil 5'te verilmiştir.



Şekil 5. Ekstraksiyon işlemi ve deneysel çalışmalara ilişkin görseller

3.4. Biyolojik Aktivite Araştırmaları

3.4.1. Antioksidan aktivite deneyleri

DPPH radikal süpürücü aktivite deneyi

Ekstrelerin antioksidan kapasitesi, Gyamfi ve arkadaşları (1999) tarafından geliştirilen yöntem kullanılarak DPPH radikal süpürücü aktivite testi ile belirlenmiştir. Çalışmada ekstreler öncelikle pH 7.4, 50 mM Tris-HCl tamponu ile çözülmüş ve ardından metanol ile hazırlanmış 0.1 mM DPPH çözeltisi ile karıştırılmıştır. Çözeltiler ışığa duyarlılık nedeniyle karanlıkta 30 dakika inkübe edilmiştir. Bu süre zarfında DPPH radikalinin ekstredeki antioksidan bileşikler tarafından indirgenmesi sağlanmıştır. İnkübasyon sonrasında, çözeltilerin absorbans değerleri 517 nm’de spektrofotometre ile ölçülmüştür. Elde edilen sonuçlar Troloks eşdeğeri antiradikal kapasite (mg TEAC/g.) olarak ifade edilmiştir.

ABTS radikal süpürücü aktivite deneyi

Ekstrelerin antioksidan kapasitesi için bir diğer çalışma Papandreou ve arkadaşlarının (2006) metoduna göre belirlenmiştir. Bu yöntemde 7 mM ABTS çözeltisi ve 2.45 mM $K_2S_2O_8$ çözeltisi ile karıştırılarak ABTS radikal katyon oluşturulmuştur. Ardından karışım karanlıkta 12 saat inkübe edilerek kararlı ABTS çözeltisi

hazırlanmıştır. Ekstreler kararlı ABTS çözeltisi ile karıştırılmıştır. Kinetik spektrofotometrik ölçümler, 734 nm dalga boyunda 30 dakika boyunca mikropilaka okuyucu ile gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar Troloks eşdeğeri (mg TE/g DW) olarak verilmiştir.

3.4.2. Tirozinaz enzim inhibisyonu deneyi

Tirozinaz inhibisyon aktivitesi, Chang ve arkadaşlarının (2007) yönteminden yararlanılarak ve bazı aşamalar çalışma koşullarına uyarlanarak gerçekleştirilmiştir. Pozitif kontrol olarak kojik asit kullanılmıştır. Deneyde 96 kuyucuklu mikropilaka kullanılmıştır. Ekstreler % 0.1 dimetil sülfoksit (DMSO) içerisinde çözülerek hazırlanmıştır. Deneylerde pH 6.8, 50 mM fosfat tamponu kullanılmıştır. Deneyde substrat olarak hazırlanan 2 mM L-Dopa çözeltisinden 150 µL ve ekstreten 25 µL alınarak karışım hazırlanmıştır. Bu karışım karanlıkta 25 °C’de 2 dakika inkübe edilmiştir. Reaksiyon fosfat tamponu içinde hazırlanmış 50 U/mL tirozinaz enziminin eklenmesiyle başlatılmış ve karışım 25 °C’de 10 dakika inkübe edilmiştir. Dopakrom oluşumuna bağlı absorpsiyon değişimleri 475 nm’de ölçülmüştür. Kinetik okumalar mikropilaka okuyucu kullanılarak 30 saniyelik aralıklarla kaydedilmiştir.

3.4.3. Elastaz enzim inhibisyonu deneyi

Elastaz inhibisyon aktivitesi Melzig ve arkadaşlarının (2001) metodu temel alınarak ve çalışma koşullarına göre bazı uyarlamalar yapılarak uygulanmıştır. Referans madde olarak epigallokateşin gallat kullanılmıştır. Deneyler 96 kuyucuklu mikropilaka ile yürütülmüştür. Ekstreler % 0.1 DMSO’da çözülmüş ve 17 mU/mL elastaz enzimi ve pH 7.5, 0.1 M Tris-HCl tamponu ile karıştırılmıştır. Karışım 25 °C’de 5 dakika inkübe edilmiştir. Ardından substrat olarak N-Metoksisüksinil-Ala-Ala-Pro-Val-p-nitroanilid (MAAPVN) ilave edilmiş ve karışım 1 saat boyunca 37 °C’de inkübasyona bırakılmıştır. Reaksiyon 1 mg/mL soya fasulyesi tripsin inhibitörü eklenerek durdurulmuş ve p-nitroanilin oluşumuna bağlı optik yoğunluk 405 nm’de mikropilaka okuyucu ile ölçülmüştür.

Ekstrelerin tirozinaz ve elastaz enzim inhibisyonları aşağıdaki denklem kullanılarak hesaplanmıştır:

$$\% \text{ İnhibisyon} = [(\text{Absorbans kontrol} - \text{Absorbans numune}) / \text{Absorbans kontrol}] \times 100$$

Absorbans kontrol: Enzim ve substratın bulunduğu, inhibitör içermeyen kontrol çözeltisinin absorbans değeri. Absorbans numune: Örnek eklenmiş karışımın absorbans değeri.

3.4.4. U87-MG ve SH-SY5Y hücre hatlarında toksisite deneyleri

Hücrelerin hazırlanması ve kültür koşulları

Bu çalışmada U87-MG ve SH-SY5Y hücre hatları kullanılmıştır. Hücre kültürü çalışmaları Can (2024)'ın protokolü esas alınarak, gerekli uyarlamalar yapılarak ve aşağıdaki adımlar uygulanarak gerçekleştirilmiştir:

1. Donmuş hücreler oda sıcaklığında çözülmesi sağlanarak sıvı hale getirilmiştir.
2. Hücre süspansiyonu 2 mL taze besiyeri ile karıştırılmış ve 1050 rpm'de 5 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj sonrası süpernatant atılmıştır.
3. Elde edilen hücre pelleti, % 89 yüksek glikozlu Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM), % 10 Fetal Bovine Serum (FBS) ve % 1 penisilin-streptomisin, amfoterisin B (PSA) içeren besiyerinde süspanse edilerek 25 cm²'lik flaslara aktarılmıştır.
4. Hücreler 37 °C, % 5 CO₂ ve tam nem ortamında kültüre alınmış ve besiyeri her 3 günde bir yenilenmiştir.
5. Hücreler yaklaşık % 90 konfluens seviyesine ulaştığında pasajlanmıştır. Bu işlem sırasında flaslara HBSS (Hanks' Balanced Salt Solution) ile yıkanmış, ardından Tripsin-EDTA ile hücreler yüzeyden ayrılmış ve fetal sığır serumu (FBS) içeren besiyeri ile enzimin etkisi durdurulmuştur.
6. Pasajlanan hücreler santrifüj edilerek pellet elde edilmiş ve taze besiyerinde çözülerek 96 kuyucuklu plakalara kuyu başına 10⁴ hücre olacak şekilde ekilmiştir.
7. Hücreler ekstre uygulamasından önce 24 saat boyunca ön inkübasyona alınarak plaka yüzeyine homojen bir şekilde tutunmaları sağlanmıştır.

Hücre canlılığı değerlendirme testi

Ekstrelerin sitotoksik etkileri, MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür) reaktifi kullanılarak değerlendirilmiştir. Deney basamakları Can (2024)'ın protokolü esas alınarak aşağıdaki şekilde yürütülmüştür:

1. Ekstreler uygun konsantrasyonlarda DMSO içerisinde çözülmüş ve hücre kültürlerine 100, 50, 25 ve 12.5 µg/mL konsantrasyonlarında uygulanmıştır.
2. Kontrol grubunu oluşturan ekstre uygulanmamış hücreler, hesaplamalarda %100 canlılık değeri olarak esas alınmıştır.
3. Ekstrelerin uygulandığı hücreler 24, 48 ve 72 saat boyunca inkübasyona bırakılmıştır.
4. Belirlenen sürelerin sonunda mevcut kültür ortamı, % 10 (a/a) MTT çözeltisi ile değiştirilmiş ve metabolik olarak aktif hücrelerin tetrazolyumu formazan kristallerine dönüştürmesi için 4 saat inkübasyona bırakılmıştır.
5. Oluşan formazan kristalleri her kuyuya 100 µL DMSO eklenerek çözülmüştür.
6. Absorbans ölçümleri 570 nm dalga boyunda yapılmış ve hücre canlılığı aşağıdaki formül ile hesaplanmıştır:

$$\% \text{ Canlılık} = [(\text{Absorbans numunesi} \times 100) / \text{Absorbans kontrol}]$$

Absorbans numune: Ekstre uygulanmış kuyucuklardan elde edilen absorbans değeri. Absorbans kontrol: Ekstre uygulanmamış hücrelerden elde edilen absorbans değeri.

3.5. UHPLC-MS/MS ile Kimyasal İçerik Analizleri

Ekstrelerin içerikleri 15 flavonoid aglikon (biflavonoid), 17 flavonoid glikozit, 20 fenolik asit, 3 fenolik aldehit ve 1 benzopiron olmak üzere toplam 56 referans bileşik üzerinden incelenmiştir. Analizlerde rutin D3, kersetin D3 ve ferulik asit D3 döteryumlanmış iç standart olarak tercih edilmiştir. Bu bileşikler kullanılarak ekstredeki

fitokimyasalların kalitatif ve kantitatif tayini Yılmaz (2020) tarafından geliştirilen UHPLC-MS/MS metoduna uygun şekilde gerçekleştirilmiştir. UHPLC-MS/MS analiz koşulları ve parametreleri sırasıyla Tablo 3 ve Tablo 4'te özetlenmiştir.

Tablo 3. UHPLC analiz koşulları ve kromatografik parametreler (Yılmaz, 2020)

Parametre	Değer / Açıklama
Cihaz	Shimadzu-Nexera UHPLC
UHPLC Sistemi	Oto-örnekleyici (SIL-30AC), Kolon fırını (CTO-10ASvp), Gradient pompa (LC-30AD), Degazer (DGU-20A3R)
Kolon	Agilent Poroshell 120 EC-C18, 150 mm × 2.1 mm, 2.7 µm
Kolon Sıcaklığı	40 °C
Mobil Faz A	Ultra saf su + 5 mM amonyum format + % 0.1 formik asit
Mobil Faz B	Metanol + 5 mM amonyum format + % 0.1 formik asit
Akış Hızı	0.5 mL/dk
Enjeksiyon Hacmi	5 µL
Elüsyon Gradyenti	0-25 dk: % 80 A / % 20- 100 B 25-35 dk: % 0 A / % 100 B 35-45 dk: % 80 A / % 20 B

Tablo 4. Kütle spektrometrisi analiz koşulları (Yılmaz, 2020)

Parametre	Değer / Açıklama
Cihaz	Shimadzu LC-MS-8040 tandem kütle spektrometresi
İyonizasyon Kaynağı	Elektrosprey iyonizasyon (ESI), pozitif ve negatif mod
Kurutucu Gaz (N₂)	15 L/dk
Akışı	
Nebülizer Gaz (N₂)	3 L/dk
Akışı	
DL (Desolvation Line) Sıcaklığı	250 °C
Blok Isıtıcı Sıcaklığı	400 °C
Arayüz Sıcaklığı	350 °C
MRM Modu	Çoklu reaksiyon izleme (Multiple Reaction Monitoring)
İç Standartlar	Rutin D3, Kersetin D3, Ferulik Asit D3
Optimizasyon	Çarpışma enerjisi (CE) ile iyon-fragment geçişleri optimize edilmiştir.

3.6. Moleküler Docking Analizleri

UHPLC-MS/MS analizlerinde ekstrelerde ≥ 0.1 mg/g konsantrasyona sahip olan hedef bileşiklerin tirozinaz enzimi ile olası etkileşimleri moleküler docking yöntemi kullanılarak incelenmiştir. Bu amaçla AutoDock 4.2 yazılımı tercih edilmiştir. Bitkisel aktif bileşiklerin yapıları PubChem veritabanından (PubChem, 2024) elde edilmiş, Gaussview 5.0 ile çizilmiş ve Gaussian 03 paketinde B3LYP yöntemi ile ve 6-31G temel kümesi kullanılarak DFT hesapları üzerinden enerji optimizasyonu yapılmıştır (Xiong ve ark., 2021). Tirozinaz protein yapısına ilişkin veriler PDB ID: 2Y9X numarası ile RCSB Protein Data Bank'tan temin edilmiştir (RCSB, 2024). Protein-ligand kompleksleri hazırlanırken kristal ligandlar ve su molekülleri çıkarılmış, gerekli hidrojen atomları ve yükler eklenmiştir. Docking yönteminin doğruluğunu sağlamak amacıyla doğal ligand yeniden docking işlemine tabi tutulmuş ve deneysel kristal yapıyla karşılaştırılmıştır. Aktif bölgeler doğal ligandlar referans alınarak belirlenmiş ve RMSD (Root Mean Square Deviation) değerleri kullanılarak doğrulama yapılmıştır. Docking çalışmaları RMSD değeri aralığı 0-2 Å olan doğrulama koşulları altında gerçekleştirilmiştir. Docking çalışmaları için tirozinaz enziminin koordinat merkezleri x: -32.901; y: -3.919; z: -93.573 olarak belirlenmiştir. Grid kutusu, $40 \times 40 \times 40$ noktalar ve 0.375 Å'lık grid noktası aralığı ile tahmin edilen konumlar üzerine yerleştirilmiş ve en düşük yerleştirilmiş konformasyonlar seçilerek ileri çalışmalar için kullanılmıştır. Simülasyonlar Lamarckian genetik algoritması kullanılarak 10 çalışmada gerçekleştirilmiş ve her simülasyon için 300'lük bir popülasyon büyüklüğü seçilmiştir. Protein yapısının ilgili bileşikleriyle etkileşimleri Discovery Studio Client 4.1 kullanılarak analiz edilmiştir.

3.7. İstatiksel Analiz

Antioksidan ve enzim inhibisyon deneylerinden elde edilen veriler SPSS 20 yazılımı kullanılarak değerlendirilmiştir. Sonuçlar ortalama $\pm$ standart sapma (ort. $\pm$ ss) olarak ifade edilmiş ve One-Way ANOVA ile analiz edilmiştir. İstatiksel anlamlı farklılıkların belirlenmesinde Duncan Post Hoc testi uygulanmıştır. İstatistiksel anlamlılık $p < 0.05$ olarak kabul edilmiştir. Enzim inhibisyon çalışmalarında IC_{50} değerleri doz-yanıt eğrilerinden elde edilen ortalama $\pm$ standart sapma ($n = 3$) ile Microsoft Excel programında hesaplanmıştır. Hücre toksisite verilerinin istatistiksel

analizi ve grafiksel sunumu için GraphPad Prism 8.0.1 ve IBM SPSS 25.0 yazılımları kullanılmış ve istatistiksel anlamlılık $p < 0.001$ olarak değerlendirilmiştir.



4. BULGULAR

4.1. Antioksidan Aktivite Test Bulguları

Ekstrelerin antioksidan etkinliği DPPH ve ABTS radikal süpürücü aktivite testleri ile değerlendirilmiş ve sonuçlar Tablo 5’de verilmiştir. Buna göre, etil asetat ekstresi 694.11 ± 1.98 mg TEAC/g ile en yüksek DPPH radikal süpürücü aktivite gösterirken, etanol ekstresi 329.60 ± 0.45 mg TE/g DW ile en yüksek ABTS radikal süpürücü aktivite göstermiştir. Etanol ekstresinin DPPH süpürücü etkisi zayıf bulunurken (387.22 ± 0.97 mg TEAC/g), etil asetat ekstresinin ABTS süpürücü etkisi zayıf (49.35 ± 0.48 mg TE/g DW) bulunmuştur.

Tablo 5. Ekstrelerin DPPH ve ABTS radikal süpürücü aktivite test sonuçları

Radikal	<i>n</i> -Hekzan ekstresi	Etil asetat ekstresi	Etanol ekstresi
DPPH (mg TEAC/g)	515.42 ± 0.23	694.11 ± 1.98	387.22 ± 0.97
ABTS (mg TE/g DW)	79.37 ± 0.79	49.35 ± 0.48	329.60 ± 0.45

Sonuçlar üç tekrarlı verilerin ortalaması $\pm$ standart sapması olarak sunulmuştur ($p < 0.05$). TEAC: Troloks eşdeğeri antiradikal kapasite. TE: Troloks eşdeğeri.

4.2. Enzim İnhibisyon Test Bulguları

4.2.1. Tirozinaz enzim inhibisyonu bulguları

Tirozinaz enzimi üzerine en güçlü inhibisyon etki $IC_{50} = 156$ μ g/mL değeri ile etil asetat ekstresinde gözlemlenmiştir. Buna karşılık, en zayıf inhibisyon etkiyi $IC_{50} = 280$ μ g/mL değeri ile etanol ekstresi göstermiştir. Referans madde olan kojik asitin tirozinaz inhibisyon aktivitesi $IC_{50} = 30.00 \pm 1.63$ μ g/mL olarak hesaplanmıştır (Tablo 6).

Tablo 6. Ekstrelerin tirozinaz inhibisyon testi sonuçları (IC_{50} μ g/mL)

<i>n</i> -Hekzan ekstresi	Etil asetat ekstresi	Etanol ekstresi	Kojik asit
190.56 ± 3.74	156.02 ± 3.97	280.85 ± 2.94	30.00 ± 1.63

Sonuçlar üç tekrarlı verilerin ortalaması $\pm$ standart sapması olarak sunulmuştur ($p < 0.05$).

4.2.2. Elastaz enzim inhibisyonu bulguları

Elastaz enzimi üzerine 100 µg/mL ve 500 µg/mL konsantrasyonda *n*-hekzan ekstresi (sırasıyla % 7.08 ± 1.05 ve % 11.15 ± 1.84) zayıf inhibisyon etki gösterirken diğer ekstreler aynı konsantrasyonlarda herhangi bir aktivite göstermemiştir. Bununla birlikte standart madde olarak kullanılan epigallokateşin gallatın 100 µg/mL konsantrasyondaki inhibisyon değeri % 42.56 ± 0.55 olarak bulunmuştur (Tablo 7).

Tablo 7. Ekstrelerin elastaz inhibisyon testi sonuçları (%)

Konsantrasyon	<i>n</i> -Hekzan ekstresi	Etil asetat ekstresi	Etanol ekstresi	Epigallokateşin gallat
100 µg/mL	7.08 ± 1.05	-	-	42.56 ± 0.55
500 µg/mL	11.15 ± 1.84	-	-	*

Sonuçlar üç tekrarlı verilerin ortalaması ± standart sapması olarak sunulmuştur (p < 0.05). -: Aktivite bulunmadı. *: Test edilmedi.

4.3. Sitotoksikite Deney Bulguları

4.3.1. U87-MG hücre hattında toksisite bulguları

n-Hekzan, etil asetat ve etanol ekstrelerinin 100, 50, 25 ve 12.5 µg/mL konsantrasyonlarda U87-MG hücre hattı üzerine toksik etkileri, 24, 48 ve 72 saatlik inkübasyon sürelerinde MTT yöntemi kullanılarak değerlendirilmiştir. Hücre canlılık yüzdeleri inkübasyon sürelerine göre sırasıyla Şekil 6, Şekil 7 ve Şekil 8’de sunulmuştur.

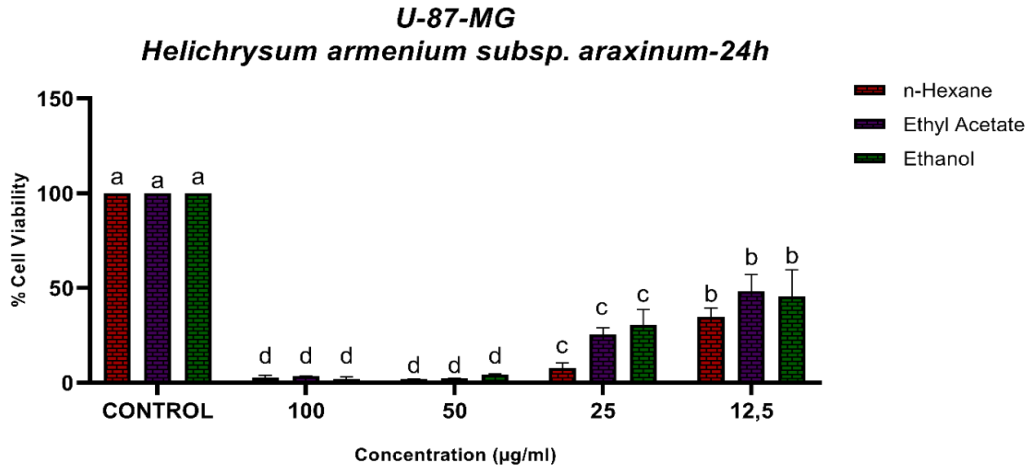
U87-MG hücre hattında yapılan toksisite testinde 24 saatlik inkübasyon sonunda bütün ekstreler 12.5-100 µg/mL konsantrasyon aralığında hücre canlılığını % 50’den fazla inhibe etmiştir.

n-Hekzan ekstresi 100 µg/mL konsantrasyonda hücre canlılığını % 97.2 azaltmıştır. Kontrol, 25 µg/mL ve 12.5 µg/mL konsantrasyonlarıyla karşılaştırıldığında anlamlı bulunmuş fakat 50 µg/mL konsantrasyonuyla karşılaştırıldığında anlamlı bulunmamıştır. 50 µg/mL konsantrasyonu hücre canlılığını % 98.3 azaltmıştır. Kontrol, 25 µg/mL ve 12.5 µg/mL konsantrasyonlarıyla karşılaştırıldığında anlamlı bulunmuş fakat 100 µg/mL konsantrasyonuyla karşılaştırıldığında anlamlı bulunmamıştır. 25

$\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonu hücre canlılığını % 92.1 azaltmıştır. Hem kontrol grubuyla hem de diğer konsantrasyonlarla karşılaştırıldığında anlamlı bulunmuştur. 12.5 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonu hücre canlılığını % 65.2 azaltmıştır. Hem kontrol grubuyla hem de diğer konsantrasyonlarla karşılaştırıldığında anlamlı bulunmuştur.

Etil asetat ekstresi 100 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonda hücre canlılığını % 96.5 azaltmıştır. Kontrol, 25 $\mu\text{g/mL}$ ve 12.5 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonlarıyla karşılaştırıldığında anlamlı bulunmuş fakat 50 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonuyla karşılaştırıldığında anlamlı bulunmamıştır. 50 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonu hücre canlılığını % 97.7 azaltmıştır. Kontrol, 25 $\mu\text{g/mL}$ ve 12.5 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonlarıyla karşılaştırıldığında anlamlı bulunmuş fakat 100 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonuyla karşılaştırıldığında anlamlı bulunmamıştır. 25 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonu hücre canlılığını % 74.5 azaltmıştır. Hem kontrol grubuyla hem de diğer konsantrasyonlarla karşılaştırıldığında anlamlı bulunmuştur. 12.5 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonu hücre canlılığını % 51.5 azaltmıştır. Hem kontrol grubuyla hem de diğer konsantrasyonlarla karşılaştırıldığında anlamlı bulunmuştur.

Etanol ekstresi 100 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonda hücre canlılığını % 98.2 azaltmıştır. Kontrol, 25 $\mu\text{g/mL}$ ve 12.5 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonlarıyla karşılaştırıldığında anlamlı bulunmuş fakat 50 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonuyla karşılaştırıldığında anlamlı bulunmamıştır. 50 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonu hücre canlılığını % 95.8 azaltmıştır. Kontrol, 25 $\mu\text{g/mL}$ ve 12.5 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonlarıyla karşılaştırıldığında anlamlı bulunmuş fakat 100 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonuyla karşılaştırıldığında anlamlı bulunmamıştır. 25 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonu hücre canlılığını % 69.4 azaltmıştır. Hem kontrol grubuyla hem de diğer konsantrasyonlarla karşılaştırıldığında anlamlı bulunmuştur. 12.5 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonu hücre canlılığını % 54.3 azaltmıştır. Hem kontrol grubuyla hem de diğer konsantrasyonlarla karşılaştırıldığında anlamlı bulunmuştur.



Şekil 6. Ekstrelerin U87-MG hücre hattında 24 saatlik toksisite profili-MTT test grafiği.

Farklı harfler atanan gruplar istatistiksel olarak anlamlı farklılıkları göstermektedir ($p < 0.001$).

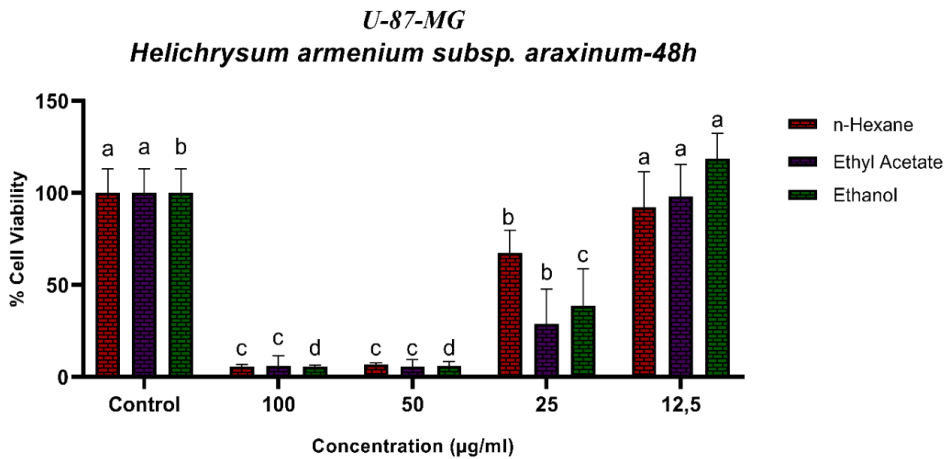
48 saatlik inkübasyon sonunda U87-MG hücre hattında yapılan toksisite testinde bütün ekstreler 50 µg/mL ve 100 µg/mL konsantrasyonlarda hücre canlılığını % 90'den fazla inhibe etmiştir. 25 µg/ mL konsantrasyonda ise etil asetat ve etanol ekstreleri hücre canlılığını % 60'dan fazla inhibe etmiştir.

n-Hekzan ekstresi 100 µg/mL konsantrasyonda hücre canlılığını % 9.5 azaltmıştır. Kontrol grubu, 25 µg/mL ve 12.5 µg/mL konsantrasyonlarıyla karşılaştırıldığında anlamlı bulunmuş fakat 50 µg/mL konsantrasyonuyla karşılaştırıldığında anlamlı bulunmamıştır. 50 µg/mL konsantrasyonu hücre canlılığını % 94.1 azaltmıştır. Kontrol grubu, 25 µg/mL ve 12.5 µg/mL konsantrasyonlarıyla karşılaştırıldığında anlamlı bulunmuş fakat 100 µg/mL konsantrasyonuyla karşılaştırıldığında anlamlı bulunmamıştır. 25 µg/mL konsantrasyonu hücre canlılığını % 32.6 azaltmıştır. Hem kontrol grubuyla hem de diğer konsantrasyonlarla karşılaştırıldığında anlamlı bulunmuştur. 12.5 µg/mL konsantrasyonu hücre canlılığını % 7.7 azaltmıştır. 100 µg/mL, 50 µg/mL ve 25 µg/mL konsantrasyonlarıyla karşılaştırıldığında anlamlı bulunmuş fakat kontrol grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı bulunmamıştır.

Etil asetat ekstresi 100 µg/mL konsantrasyonda hücre canlılığını % 94.1 azaltmıştır. Kontrol grubu, 25 µg/mL ve 12.5 µg/mL konsantrasyonlarıyla karşılaştırıldığında anlamlı bulunmuş fakat 50 µg/mL konsantrasyonuyla karşılaştırıldığında anlamlı bulunmamıştır. 50 µg/mL konsantrasyonu hücre canlılığını %

94.5 azaltmıştır. Kontrol grubu, 25 µg/mL ve 12.5 µg/mL konsantrasyonlarıyla karşılaştırıldığında anlamlı bulunmuş fakat 100 µg/mL konsantrasyonuyla karşılaştırıldığında anlamlı bulunmamıştır. 25 µg/mL konsantrasyonu hücre canlılığını % 71.3 azaltmıştır. Hem kontrol grubuyla hem de diğer konsantrasyonlarla karşılaştırıldığında anlamlı bulunmuştur. 12.5 µg/mL konsantrasyonu hücre canlılığını % 2.1 azaltmıştır. 100 µg/mL, 50 µg/mL ve 25 µg/mL konsantrasyonlarıyla karşılaştırıldığında anlamlı bulunmuş fakat kontrol grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı bulunmamıştır.

Etanol ekstresi 100 µg/mL konsantrasyonda hücre canlılığını % 94.3 azaltmıştır. Kontrol grubu, 25 µg/mL ve 12.5 µg/mL konsantrasyonlarıyla karşılaştırıldığında anlamlı bulunmuş fakat 50 µg/mL konsantrasyonuyla karşılaştırıldığında anlamlı bulunmamıştır. 50 µg/mL konsantrasyonu hücre canlılığını % 94 azaltmıştır. Kontrol grubu, 25 µg/mL ve 12.5 µg/mL konsantrasyonlarıyla karşılaştırıldığında anlamlı bulunmuş fakat 100 µg/mL konsantrasyonuyla karşılaştırıldığında anlamlı bulunmamıştır. 25 µg/mL konsantrasyonu hücre canlılığını % 61.5 azaltmıştır. Hem kontrol grubuyla hem de diğer konsantrasyonlarla karşılaştırıldığında anlamlı bulunmuştur. 12.5 µg/mL konsantrasyonu hücre canlılığını % 18.7 arttırmıştır. Hem kontrol grubuyla hem de diğer konsantrasyonlarla karşılaştırıldığında anlamlı bulunmuştur.



Şekil 7. Ekstrelerin U87-MG hücre hattında 48 saatlik toksisite profili-MTT test grafiği.

Farklı harfler atanan gruplar istatistiksel olarak anlamlı farklılıkları göstermektedir ($p < 0.001$).

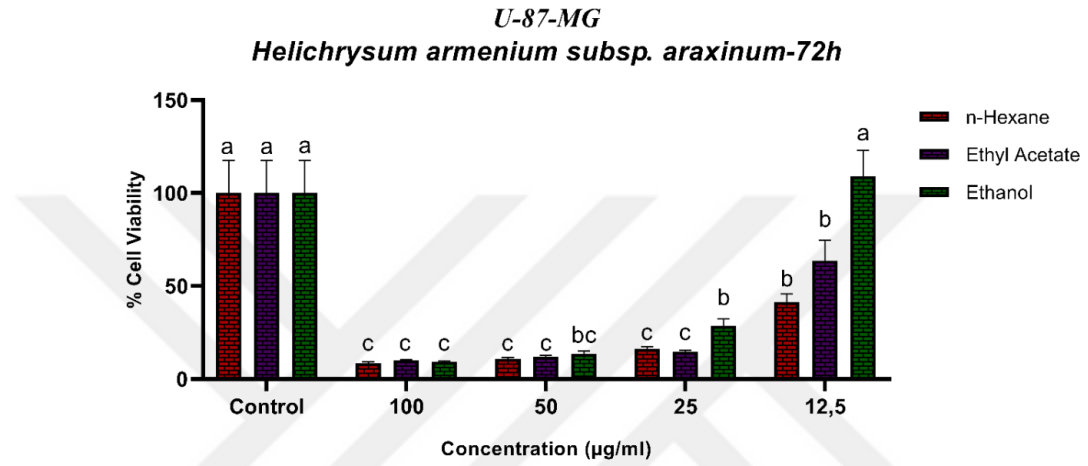
72 saatlik inkübasyon sonunda U87-MG hücre hattında yapılan toksisite testinde bütün ekstreler 25-100 µg/ mL konsantrasyon aralığında hücre canlılığını % 50'den fazla inhibe etmiştir.

n-Hekzan ekstresi 100 µg/mL konsantrasyonda hücre canlılığını % 91.5 azaltmıştır. Kontrol ve 12.5 µg/mL konsantrasyonlarıyla karşılaştırıldığında anlamlı bulunmuş fakat 50 µg/mL ve 25 µg/mL konsantrasyonlarıyla karşılaştırıldığında anlamlı bulunmamıştır. 50 µg/mL konsantrasyonu hücre canlılığını % 89.1 azaltmıştır. Kontrol ve 12.5 µg/mL konsantrasyonlarıyla karşılaştırıldığında anlamlı bulunmuş fakat 100 µg/mL ve 25 µg/mL konsantrasyonlarıyla karşılaştırıldığında anlamlı bulunmamıştır. 25 µg/mL konsantrasyonu hücre canlılığını % 83.8 azaltmıştır. Kontrol ve 12.5 µg/mL konsantrasyonlarıyla karşılaştırıldığında anlamlı bulunmuş fakat 100 µg/mL ve 50 µg/mL konsantrasyonlarıyla karşılaştırıldığında anlamlı bulunmamıştır. 12.5 µg/mL konsantrasyonu hücre canlılığını % 58.5 azaltmıştır. Hem kontrol grubuyla hem de diğer konsantrasyonlarla karşılaştırıldığında anlamlı bulunmuştur.

Etil asetat ekstresi 100 µg/mL konsantrasyonda hücre canlılığını % 89.9 azaltmıştır. Kontrol ve 12.5 µg/mL konsantrasyonlarıyla karşılaştırıldığında anlamlı bulunmuş fakat 50 µg/mL ve 25 µg/mL konsantrasyonlarıyla karşılaştırıldığında anlamlı bulunmamıştır. 50 µg/mL konsantrasyonu hücre canlılığını % 88.2 azaltmıştır. Kontrol ve 12.5 µg/mL konsantrasyonlarıyla karşılaştırıldığında anlamlı bulunmuş fakat 100 µg/mL ve 25 µg/mL konsantrasyonlarıyla karşılaştırıldığında anlamlı bulunmamıştır. 25 µg/mL konsantrasyonu hücre canlılığını % 85.5 azaltmıştır. Kontrol ve 12.5 µg/mL konsantrasyonlarıyla karşılaştırıldığında anlamlı bulunmuş fakat 100 µg/mL ve 50 µg/mL konsantrasyonlarıyla karşılaştırıldığında anlamlı bulunmamıştır. 12.5 µg/mL konsantrasyonu hücre canlılığını % 36.5 azaltmıştır. Hem kontrol grubuyla hem de diğer konsantrasyonlarla karşılaştırıldığında anlamlı bulunmuştur.

Etanol ekstresi 100 µg/mL konsantrasyonda hücre canlılığını % 90.8 azaltmıştır. Kontrol, 25 µg/mL ve 12.5 µg/mL konsantrasyonlarıyla karşılaştırıldığında anlamlı bulunmuş fakat 50 µg/mL konsantrasyonu ile karşılaştırıldığında anlamlı bulunmamıştır. 50 µg/mL konsantrasyonu hücre canlılığını % 86.4 azaltmıştır. Kontrol ve 12.5 µg/mL konsantrasyonlarıyla karşılaştırıldığında anlamlı bulunmuş fakat 100 µg/mL ve 25 µg/mL konsantrasyonlarıyla karşılaştırıldığında anlamlı bulunmamıştır. 25 µg/mL

konsantrasyonu hücre canlılığını % 71.7 azaltmıştır. Kontrol, 100 µg/mL ve 12.5 µg/mL konsantrasyonlarıyla karşılaştırıldığında anlamlı bulunmuş 50 µg/mL konsantrasyonu ile karşılaştırıldığında anlamlı bulunmamıştır. 12.5 µg/mL konsantrasyonu hücre canlılığını % 9 arttırmıştır. 100 µg/mL, 50 µg/mL ve 12 µg/mL konsantrasyonlarıyla karşılaştırıldığında anlamlı bulunmuş fakat kontrol grubuyla karşılaştırıldığında anlamlı bulunmamıştır.



Şekil 8. Ekstrelerin U87-MG hücre hattında 72 saatlik toksisite profili-MTT test grafiği.

Farklı harfler atanan gruplar istatistiksel olarak anlamlı farklılıkları göstermektedir ($p < 0.001$).

4.3.2. SH-SY5Y hücre hattında toksisite bulguları

n-Hekzan, etil asetat ve etanol ekstralarının 100, 50, 25 ve 12.5 µg/mL olmak üzere dört farklı konsantrasyonda 24, 48 ve 72 saatlik sürelerle toksisite testleri SH-SY5Y hücre hattı kullanılarak MTT yöntemi ile belirlenmiştir. Ekstrelerin 24, 48 ve 72 saatlik inkübasyon sonrası % hücre canlılık sonuçları Şekil 9, Şekil 10 ve Şekil 11’de sırasıyla verilmiştir.

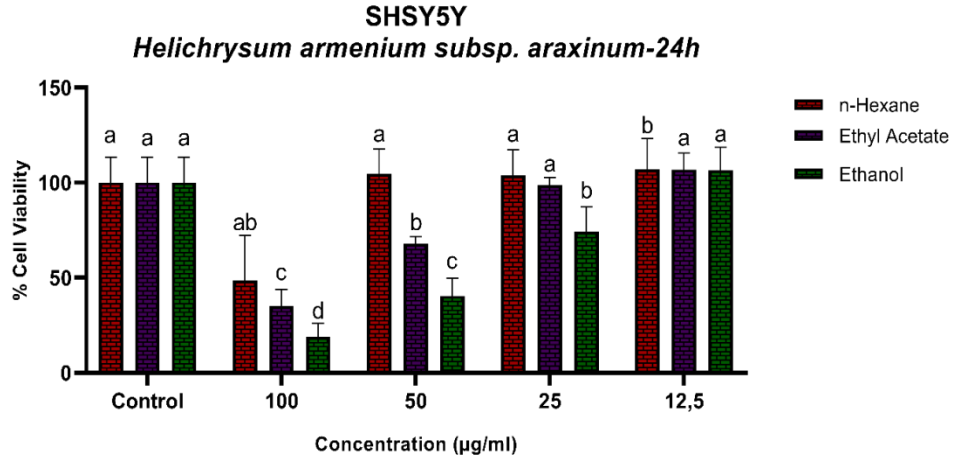
24 saatlik inkübasyon sonunda SH-SY5Y hücre hattında yapılan toksisite testinde bütün ekstralar 100 µg/ mL konsantrasyonda ve ayrıca etanol ekstresi 50 µg/mL konsantrasyonda hücre canlılığını % 50’den fazla inhibe etmiştir.

n-Hekzan ekstresi 100 µg/mL konsantrasyonda hücre canlılığını % 51.5 azaltmıştır. Hem kontrol grubuyla hem de diğer konsantrasyonlarla karşılaştırıldığında

anlamli bulunmamıştır. 50 µg/mL konsantrasyonu hücre canlılığını % 4.6 arttırmıştır. 12.5 µg/mL konsantrasyonuyla karşılaştırıldığında anlamlı bulunmuş fakat kontrol, 50 µg/mL ve 25 µg/mL konsantrasyonlarıyla karşılaştırıldığında anlamlı bulunmamıştır. 25 µg/mL konsantrasyonu hücre canlılığını % 3.7 arttırmıştır. 12.5 µg/mL konsantrasyonuyla karşılaştırıldığında anlamlı bulunmuş fakat kontrol, 100 µg/mL ve 50 µg/mL konsantrasyonlarıyla karşılaştırıldığında anlamlı bulunmamıştır. 12.5 µg/mL konsantrasyonu hücre canlılığını % 7 arttırmıştır. Kontrol, 50 µg/mL ve 25 µg/mL konsantrasyonlarıyla karşılaştırıldığında anlamlı bulunmuş fakat 100 µg/mL konsantrasyonuyla karşılaştırıldığında anlamlı bulunmamıştır.

Etil asetat ekstresi 100 µg/mL konsantrasyonda hücre canlılığını % 64.8 azaltmıştır. Hem kontrol grubuyla hem de diğer konsantrasyonlarla karşılaştırıldığında anlamlı bulunmuştur. 50 µg/mL konsantrasyonu hücre canlılığını % 32.2 azaltmıştır. Hem kontrol grubuyla hem de diğer konsantrasyonlarla karşılaştırıldığında anlamlı bulunmuştur. 25 µg/mL konsantrasyonu hücre canlılığını % 1.2 azaltmıştır. 100 µg/mL ve 50 µg/mL konsantrasyonlarıyla karşılaştırıldığında anlamlı bulunmuş fakat kontrol ve 12.5 µg/mL konsantrasyonlarıyla karşılaştırıldığında anlamlı bulunmamıştır. 12.5 µg/mL konsantrasyonu hücre canlılığını % 6.8 arttırmıştır. 100 µg/mL ve 50 µg/mL konsantrasyonlarıyla karşılaştırıldığında anlamlı bulunmuş fakat kontrol grubu ve 25 µg/mL konsantrasyonlarıyla karşılaştırıldığında anlamlı bulunmamıştır.

Etanol ekstresi 100 µg/mL konsantrasyonda hücre canlılığını % 81.1 azaltmıştır. Hem kontrol grubuyla hem de diğer konsantrasyonlarla karşılaştırıldığında anlamlı bulunmuştur. 50 µg/mL konsantrasyonu hücre canlılığını % 59.6 azaltmıştır. Hem kontrol grubuyla hem de diğer konsantrasyonlarla karşılaştırıldığında anlamlı bulunmuştur. 25 µg/mL konsantrasyonu hücre canlılığını % 25.9 azaltmıştır. Hem kontrol grubuyla hem de diğer konsantrasyonlarla karşılaştırıldığında anlamlı bulunmuştur. 12.5 µg/mL konsantrasyonu hücre canlılığını % 6.4 arttırmıştır. 100 µg/mL, 50 µg/mL ve 25 µg/mL konsantrasyonlarıyla karşılaştırıldığında anlamlı bulunmuş fakat kontrol grubu konsantrasyonuyla karşılaştırıldığında anlamlı bulunmamıştır.



Şekil 9. Ekstrelerin SH-SY5Y hücre hattında 24 saatlik toksisite profili-MTT test grafiği.

Farklı harfler atanan gruplar istatistiksel olarak anlamlı farklılıkları göstermektedir ($p < 0.001$).

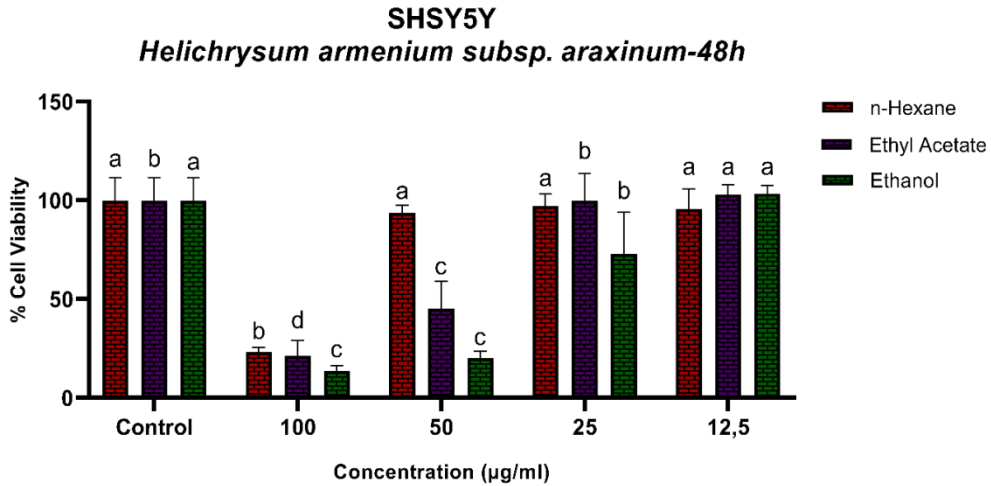
48 saatlik inkübasyon sonunda SH-SY5Y hücre hattında yapılan toksisite testinde bütün ekstralar 100 µg/ mL konsantrasyonda hücre canlılığını % 70'den fazla inhibe ederken, etil asetat ve etanol ekstraları 50 µg/ mL konsantrasyonda hücre canlılığını % 50'den fazla inhibe etmiştir.

n-Hekzan ekstresi 100 µg/mL konsantrasyonda hücre canlılığını % 76.8 azaltmıştır. Hem kontrol grubuyla hem de diğer konsantrasyonlarla karşılaştırıldığında anlamlı bulunmuştur. 50 µg/mL konsantrasyonu hücre canlılığını % 6.4 azaltmıştır. 100 µg/mL konsantrasyonuyla karşılaştırıldığında anlamlı bulunmuş fakat kontrol, 25 µg/mL ve 12.5 µg/mL konsantrasyonlarıyla karşılaştırıldığında anlamlı bulunmamıştır. 25 µg/mL konsantrasyonu hücre canlılığını % 2.9 azaltmıştır. 100 µg/mL konsantrasyonuyla karşılaştırıldığında anlamlı bulunmuş fakat kontrol, 50 µg/mL ve 12.5 µg/mL konsantrasyonlarıyla karşılaştırıldığında anlamlı bulunmamıştır. 12.5 µg/mL konsantrasyonu hücre canlılığını % 4.6 azaltmıştır. 100 µg/mL konsantrasyonuyla karşılaştırıldığında anlamlı bulunmuş fakat kontrol, 50 µg/mL ve 25 µg/mL konsantrasyonlarıyla karşılaştırıldığında anlamlı bulunmamıştır.

Etil asetat ekstresi 100 µg/mL konsantrasyonda hücre canlılığını % 78.7 azaltmıştır. Hem kontrol grubuyla hem de diğer konsantrasyonlarla karşılaştırıldığında anlamlı bulunmuştur. 50 µg/mL konsantrasyonu hücre canlılığını % 55 azaltmıştır. Hem

kontrol grubuyla hem de diğer konsantrasyonlarla karşılaştırıldığında anlamlı bulunmuştur. 25 µg/mL konsantrasyonu hücre canlılığını % 0.2 azaltmıştır. 100 µg/mL, 50 µg/mL ve 12.5 µg/mL konsantrasyonlarıyla karşılaştırıldığında anlamlı bulunmuş fakat kontrol grubu konsantrasyonuyla karşılaştırıldığında anlamlı bulunmamıştır. 12.5 µg/mL konsantrasyonu hücre canlılığını % 3 arttırmıştır. Hem kontrol grubuyla hem de diğer konsantrasyonlarla karşılaştırıldığında anlamlı bulunmuştur.

Etanol ekstresi 100 µg/mL konsantrasyonda hücre canlılığını % 86.4 azaltmıştır. Kontrol, 25 µg/mL ve 12.5 µg/mL konsantrasyonlarıyla karşılaştırıldığında anlamlı bulunmuş fakat 50 µg/mL konsantrasyonuyla karşılaştırıldığında anlamlı bulunmamıştır. 50 µg/mL konsantrasyonu hücre canlılığını %7 9.8 azaltmıştır. Kontrol, 25 µg/mL ve 12.5 µg/mL konsantrasyonlarıyla karşılaştırıldığında anlamlı bulunmuş fakat 100 µg/mL konsantrasyonuyla karşılaştırıldığında anlamlı bulunmamıştır. 25 µg/mL konsantrasyonu hücre canlılığını % 27.2 azaltmıştır. Hem kontrol grubuyla hem de diğer konsantrasyonlarla karşılaştırıldığında anlamlı bulunmuştur. 12.5 µg/mL konsantrasyonu hücre canlılığını % 3.4 arttırmıştır. 100 µg/mL, 50 µg/mL ve 25 µg/mL konsantrasyonlarıyla karşılaştırıldığında anlamlı bulunmuş fakat kontrol grubu konsantrasyonuyla karşılaştırıldığında anlamlı bulunmamıştır.



Şekil 10. Ekstrelerin SH-SY5Y hücre hattında 48 saatlik toksisite profili-MTT test grafiği.

Farklı harfler atanan gruplar istatistiksel olarak anlamlı farklılıkları göstermektedir ($p < 0.001$).

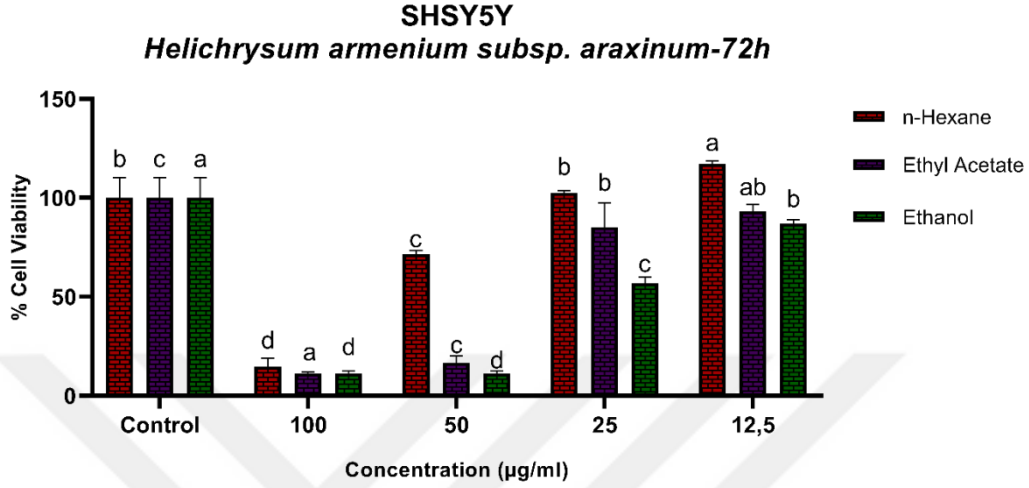
72 saatlik inkübasyon sonunda SH-SY5Y hücre hattında yapılan toksisite testinde bütün ekstreler 100 µg/mL konsantrasyonda ve ayrıca etil asetat ve etanol ekstreleri 50 µg/ mL konsantrasyonda hücre canlılığını % 80'den fazla inhibe etmiştir.

n-Hekzan ekstresi 100 µg/mL konsantrasyonda hücre canlılığını % 85.5 azaltmıştır. Hem kontrol grubuyla hem de diğer konsantrasyonlarla karşılaştırıldığında anlamlı bulunmuştur. 50 µg/mL konsantrasyonu hücre canlılığını % 28.4 azaltmıştır. Hem kontrol grubuyla hem de diğer konsantrasyonlarla karşılaştırıldığında anlamlı bulunmuştur. 25 µg/mL konsantrasyonu hücre canlılığını % 2.5 arttırmıştır. 100 µg/mL, 50 µg/mL ve 12.5 µg/mL konsantrasyonlarıyla karşılaştırıldığında anlamlı bulunmuş fakat kontrol grubu konsantrasyonlarıyla karşılaştırıldığında anlamlı bulunmamıştır. 12.5 µg/mL konsantrasyonu hücre canlılığını % 17 arttırmıştır. Hem kontrol grubuyla hem de diğer konsantrasyonlarla karşılaştırıldığında anlamlı bulunmuştur.

Etil asetat ekstresinin 100 µg/mL konsantrasyonu hücre canlılığını % 88.7 azaltmıştır. Kontrol, 50 µg/mL ve 25 µg/mL konsantrasyonlarıyla karşılaştırıldığında anlamlı bulunmuş fakat 12.5 µg/mL konsantrasyonuyla karşılaştırıldığında anlamlı bulunmamıştır. 50 µg/mL konsantrasyonu hücre canlılığını % 83.5 azaltmıştır. 100 µg/mL, 25 µg/mL ve 12.5 µg/mL konsantrasyonlarıyla karşılaştırıldığında anlamlı bulunmuş fakat kontrol grubu konsantrasyonuyla karşılaştırıldığında anlamlı bulunmamıştır. 25 µg/mL konsantrasyonu hücre canlılığını % 14.8 azaltmıştır. Kontrol, 100 µg/mL ve 50 µg/mL konsantrasyonlarıyla karşılaştırıldığında anlamlı bulunmuş fakat 12.5 µg/mL konsantrasyonuyla karşılaştırıldığında anlamlı bulunmamıştır. 12.5 µg/mL konsantrasyonu hücre canlılığını % 6.8 azaltmıştır. Kontrol ve 50 µg/mL konsantrasyonlarıyla karşılaştırıldığında anlamlı bulunmuş fakat 100 µg/mL ve 25 µg/mL konsantrasyonuyla karşılaştırıldığında anlamlı bulunmamıştır.

Etanol ekstresi 100 µg/mL konsantrasyonda hücre canlılığını % 89 azaltmıştır. Kontrol, 25 µg/mL ve 12.5 µg/mL konsantrasyonlarıyla karşılaştırıldığında anlamlı bulunmuş fakat 50 µg/mL konsantrasyonuyla karşılaştırıldığında anlamlı bulunmamıştır. 50 µg/mL konsantrasyonu hücre canlılığını % 88.6 azaltmıştır. Kontrol, 25 µg/mL ve 12.5 µg/mL konsantrasyonlarıyla karşılaştırıldığında anlamlı bulunmuş fakat 100 µg/mL konsantrasyonuyla karşılaştırıldığında anlamlı bulunmamıştır. 25 µg/mL konsantrasyonu hücre canlılığını % 43.4 azaltmıştır. Hem kontrol grubuyla hem de diğer

konsantrasyonlarla karşılaştırıldığında anlamlı bulunmamıştır. 12.5 µg/mL konsantrasyonu hücre canlılığını % 13.2 azaltmıştır. Hem kontrol grubuyla hem de diğer konsantrasyonlarla karşılaştırıldığında anlamlı bulunmuştur.



Şekil 11. Ekstrelerin SH-SY5Y hücre hattında 72 saatlik toksisite profili-MTT test grafiği.

Farklı harfler atanan gruplar istatistiksel olarak anlamlı farklılıkları göstermektedir ($p < 0.001$).

4.4. Ekstrelerin UHPLC-MS/MS ile Kimyasal İçerik Analiz Bulguları

Ekstrelerin fitokimyasal profili, UHPLC-MS/MS analizi ile belirlenmiştir. Analizlerde kullanılan 56 standart bileşiğin toplam iyon kromatogramı Şekil 12’de verilmiştir. Tüm ekstrelerde akasetin (apigenin 4’-metil eter) yüksek miktarda bulunmuş ve bu bileşiğe en fazla 25.774 ± 0.41 mg/g ile etil asetat ekstresinde olduğu tespit edilmiştir. Akasetini takiben, ekstrelerde miktarı en yüksek olan diğer bileşikler (mg/g) şunlardır: kinik asit (3.00 ± 0.023), astragalin (2.532 ± 0.04), klorojenik asit (2.066 ± 0.04), apigenin (1.27 ± 0.02), naringenin (1.112 ± 0.02) ve luteolin (1.006 ± 0.02). Bununla birlikte ekstrelerde amentoflavon, akonitik asit, daidzein, daidzin, elajik asit, epigallokateşin, epigallokateşin gallat, epikateşin, epikateşin gallat, ferulik asit, fisetin, gallik asit, genistein, genistin, hesperidin, kateşin, kersitrin, mikuelianin, nikotiflorin, o-kumarik asit, p-hidroksibenzoik asit, piseit, rozmarinik asit, rutin, sinapik asit, sinarin, şirincik aldehit, şirincik asit ve vanilik asit bileşiklerine rastlanmamıştır. Ekstrelerin polariteleri ve fitokimyasal analizde kullanılan standart bileşikler göz önünde

bulundurulduğunda, ekstrelerdeki bileşik yoğunluğu sıralaması şu şekildedir: etanol > etil asetat > *n*-hekzan (Tablo 8).

Tablo 8. Ekstrelerin UHPLC-MS/MS analizi ile fitokimyasal profil sonuçları (mg/g ekstre)

No	Bileşik	<i>n</i> -Hekzan ekstresi (mg/g $\pm$ ss)	Etilasetat ekstresi (mg/g $\pm$ ss)	Etanol ekstresi (mg/g $\pm$ ss)
1	Kinik asit	-	3.00 $\pm$ 0.02	2.994 $\pm$ 0.02
2	Fumarik asit	-	-	-
3	Akonitik asit	-	-	-
4	Gallik asit	-	-	-
5	Epigallokateşin	-	-	-
6	Protokateşik asit	-	0.068 $\pm$ 0.00	0.231 $\pm$ 0.00
7	Kateşin	-	-	-
8	Gentisik asit	-	-	0.032 $\pm$ 0.00
9	Klorojenik asit	-	0.292 $\pm$ 0.01	2.066 $\pm$ 0.04
10	Protokateşik aldehit	-	0.035 $\pm$ 0.00	0.022 $\pm$ 0.00
11	Tannik asit	-	-	-
12	Epigallokateşin gallat	-	-	-
13	Sinarin	-	-	-
14	p-Hidroksibenzoik asit	-	-	-
15	Epikateşin	-	-	-
16	Vanilik asit	-	-	-
17	Kafeik asit	-	0.095 $\pm$ 0.00	0.351 $\pm$ 0.00
18	Şirincik asit	-	-	-
19	Vanilin	-	-	0.034 $\pm$ 0.00
20	Şirincik aldehit	-	-	-

IS: Dahili standart. -: Tespit edilmedi.

Tablo 8'in devamı bir sonraki sayfadadır.

Tablo 8 (devamı). Ekstrelerin UHPLC-MS/MS analizi ile fitokimyasal profil sonuçları (mg/g ekstre)

No	Bileşik	<i>n</i> -Hekzan ekstresi (mg/g $\pm$ ss)	Etilasetat ekstresi (mg/g $\pm$ ss)	Etanol ekstresi (mg/g $\pm$ ss)
21	Daidzin	-	-	-
22	Epikateşingallat	-	-	-
23	Piseit	-	-	-
24	p-Kumarik asit	-	0.055 $\pm$ 0.00	0.155 $\pm$ 0.00
25	Ferulik asit-D3-IS	-	-	-
26	Ferulik asit	-	-	-
27	Sinapik asit	-	-	-
28	Kumarin	-	0.024 $\pm$ 0.00	-
29	Salisilik asit	-	0.079 $\pm$ 0.00	0.21 $\pm$ 0.00
30	Siranosit	-	0.022 $\pm$ 0.00	0.134 $\pm$ 0.00
31	Mikuelianin	-	-	-
32	Rutin-D3-IS	-	-	-
33	Rutin	-	-	-
34	İzokersitrin	-	0.101 $\pm$ 0.00	0.975 $\pm$ 0.02
35	Hesperidin	-	-	-
36	o-Kumarik asit	-	-	-
37	Genistin	-	-	-
38	Rozmarinik asit	-	-	-
39	Elajik asit	-	-	-
40	Kozmosiin	-	0.144 $\pm$ 0.00	0.706 $\pm$ 0.01
41	Kersitrin	-	-	-

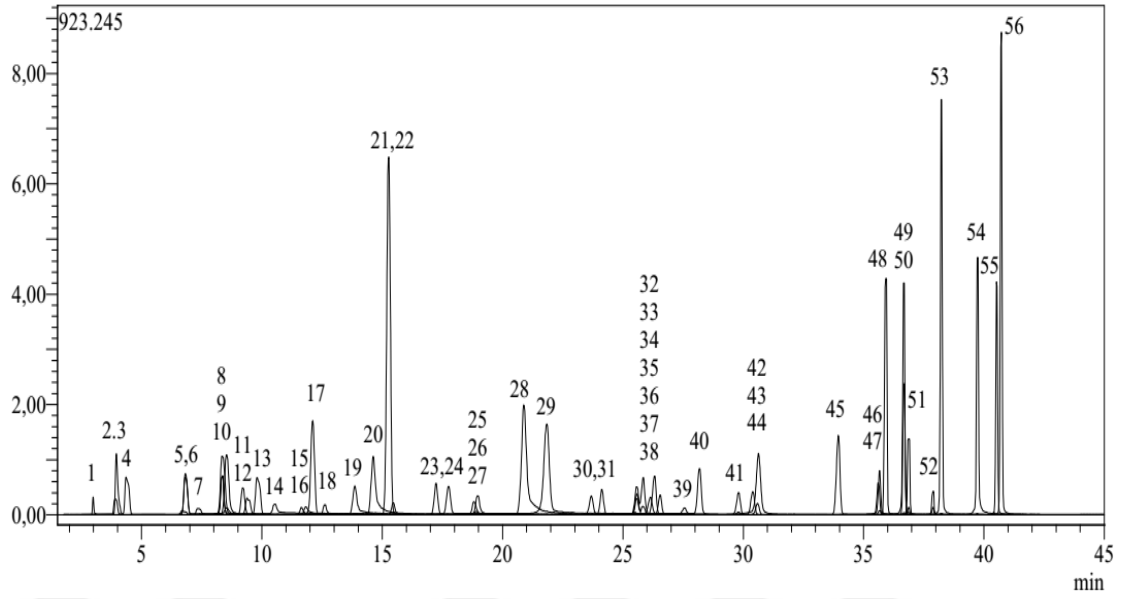
IS: Dahili standart. -: Tespit edilmedi.

Tablo 8'in devamı bir sonraki sayfadır.

Tablo 8 (devamı). Ekstrelerin UHPLC-MS/MS analizi ile fitokimyasal profil sonuçları (mg/g ekstre)

No	Bileşik	<i>n</i> -Hekzan ekstresi (mg/g $\pm$ ss)	Etilasetat ekstresi (mg/g $\pm$ ss)	Etanol ekstresi (mg/g $\pm$ ss)
42	Astragalin	-	0.46 $\pm$ 0.01	2.532 $\pm$ 0.04
43	Nikotiflorin	-	-	-
44	Fisetin	-	-	-
45	Daidzein	-	-	-
46	Kersetin-D3-IS	-	-	-
47	Kersetin	-	-	0.031 $\pm$ 0.00
48	Naringenin	0.174 $\pm$ 0.00	1.075 $\pm$ 0.02	1.112 $\pm$ 0.02
49	Hesperetin	0.003 $\pm$ 0.00	0.022 $\pm$ 0.00	0.056 $\pm$ 0.00
50	Luteolin	-	0.171 $\pm$ 0.00	1.006 $\pm$ 0.02
51	Genistein	-	-	-
52	Kemferol	-	0.041 $\pm$ 0.00	0.058 $\pm$ 0.00
53	Apigenin	-	0.399 $\pm$ 0.01	1.27 $\pm$ 0.02
54	Amentoflavon	-	-	-
55	Krisin	0.061 $\pm$ 0.00	0.406 $\pm$ 0.01	0.396 $\pm$ 0.01
56	Akasetin	3.871 $\pm$ 0.07	25.774 $\pm$ 0.41	15.902 $\pm$ 0.25

IS: Dahili standart. -: Tespit edilmedi.



Şekil 12. UHPLC-MS/MS analizinde kullanılan standartların toplam iyon kromatogramı.

Kromatogramda gösterilen 1-56 arasındaki sayılar Tablo 8'de verilen standart bileşikler temsil etmektedir.

4.5. Moleküler Docking Analiz Bulguları

Ekstrelerin içeriğinde UHPLC-MS/MS analizi ile kantitatif olarak ≥ 0.1 mg/g ekstre olarak tespit edilen bileşiklerin docking çalışmalarıyla tirozinaz enzimine potansiyel inhibitör etkileri incelenmiştir. Bağlanma enerjisi, RMSD değeri ve tahmini inhibisyon konsantrasyonu parametreleri kullanılarak her bir bileşiğin tirozinaz enzimi üzerine etkisi değerlendirilmiştir (Tablo 9).

Tablo 9. Ekstrelerdeki ana bileşiklerin *in silico* tirozinaz inhibisyon verileri

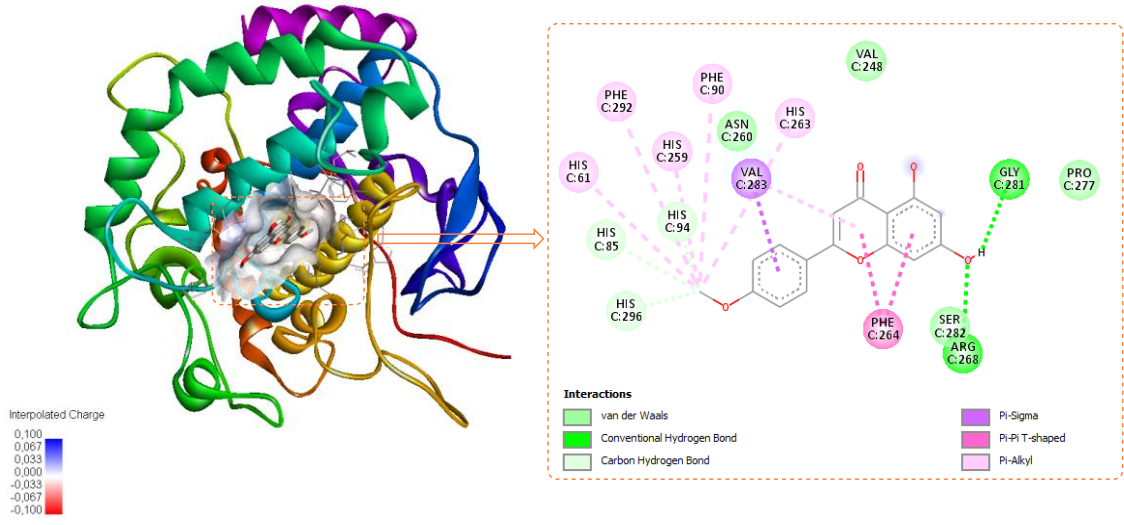
Hedef	Bağlanma enerjisi	RMSD	Tahmini inhibisyon
2Y9X	kcal/mol	(Å)	konsantrasyonu (µM)
Akasetin	-6.22	0.14	27.81
Apigenin	-5.70	0.27	66.78
Astragalin	-3.60	0.80	2290
Kafeik asit	-4.42	0.28	578.6
Klorojenik asit	-3.90	0.88	1390
Krisin	-6.38	0.14	21.03
Kozmosiin	-3.72	0.59	1870
Siranosit	-5.25	0.22	142.9
İzokersitrin	-3.45	0.28	2970
Kemferol	-5.73	0.35	63.53
Luteolin	-5.73	0.35	63.56
Naringenin	-6.04	0.18	37.33
<i>p</i> -Kumarik asit	-5.01	0.33	212.47
Protokateşik asit	-3.50	0.45	2710
Kinik asit	-2.22	0.28	2354
Salisilik asit	-3.58	0.39	2370

Bağlanma enerjisi, bileşiğin tirozinaz enzimiyle ne kadar güçlü bağlandığını gösterir. Bağlanma enerjisi değeri ne kadar negatifse, bileşiğin enzime olan bağlanması o kadar güçlüdür. Bu bağlamda, krisin (-6.38 kcal/mol) ve akasetin (-6.22 kcal/mol) en güçlü bağlanmaya sahip bileşiklerdir. Bu iki bileşiğin bağlanma enerjileri açısından en düşük değerlere sahip olması tirozinaz enzimiyle güçlü bir bağlanma sağladıklarını göstermektedir. Naringenin (-6.04 kcal/mol) ve kemferol (-5.73 kcal/mol) da güçlü bağlanma gösteren bileşiklerdir, ancak bağlanma enerjileri biraz daha yüksektir. Diğer yandan, astragalin (-3.60 kcal/mol) ve izokersitrin (-3.45 kcal/mol) gibi bileşiklerin bağlanma enerjilerinin daha yüksek olması bu bileşiklerin enzime daha zayıf bağlandığını göstermektedir.

RMSD değeri, bileşiğin hedef proteinle uyumunu ölçer. Daha düşük RMSD değerleri, bileşiğin bağlanma yapısının daha uyumlu ve kararlı olduğunu gösterir. Akasetin ve krisin (her ikisi de 0.14 Å) en düşük RMSD değerlerine sahip olması bu bileşiklerin enzime bağlanırken daha kararlı bir yapı oluşturduğunu göstermektedir. Naringenin (0.18 Å) ve sinarosit (0.22 Å) gibi bileşikler de uyumlu bağlanma sergileyen bileşiklerdir, ancak RMSD değerleri biraz daha yüksektir. Astragalin (0.80 Å) gibi bileşiklerin RMSD değeri ise daha yüksektir, bu da bağlanma yapılarının daha az uyumlu olduğunu gösterir.

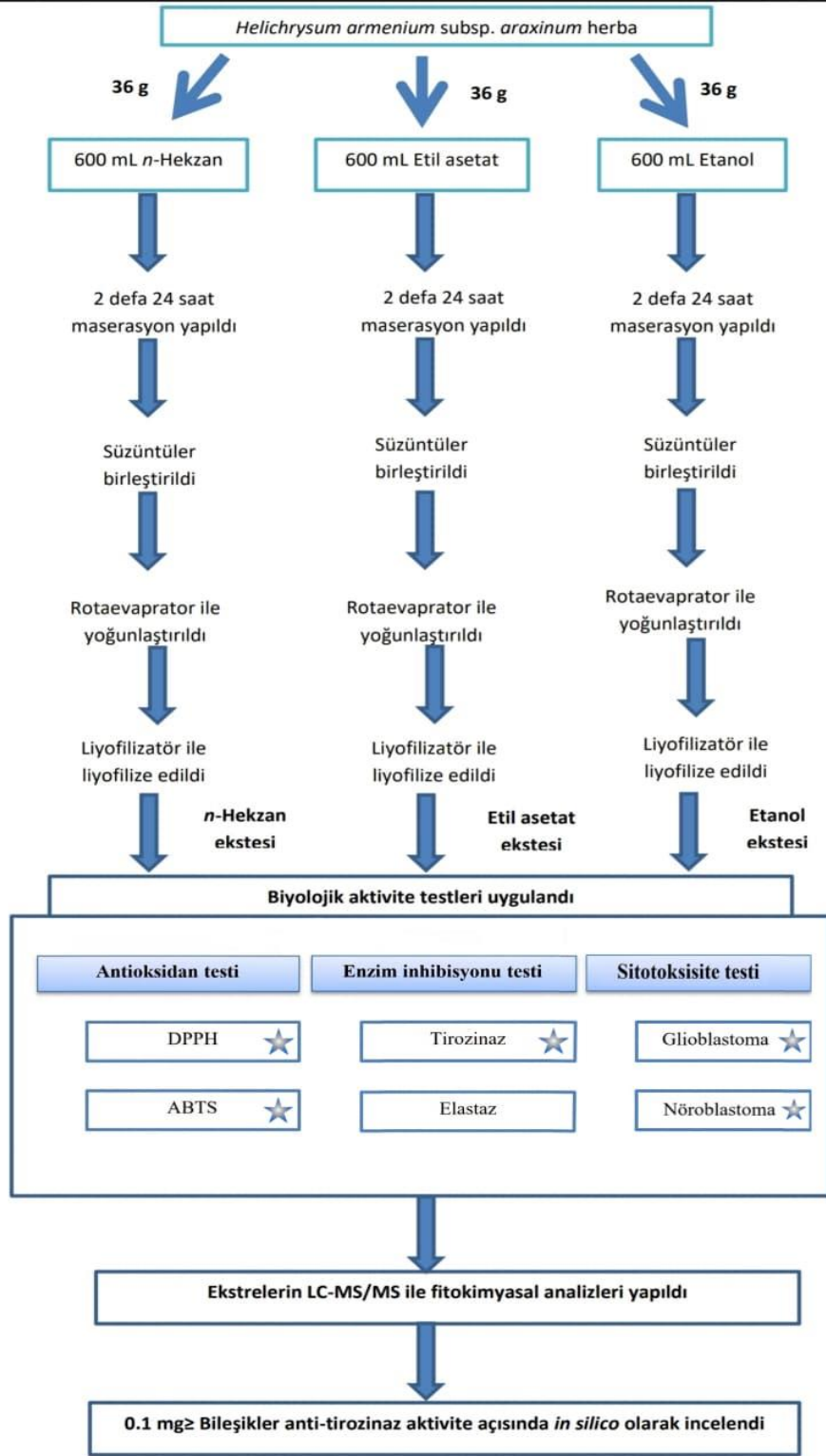
Tahmini inhibisyon konsantrasyonu, bileşiğin inhibisyon etkinliğini temsil eder ve düşük inhibisyon konsantrasyonları daha etkili inhibisyonu işaret eder. Bu açıdan en etkili bileşikler krisin (21.03 µM) ve akasetin (27.81 µM) olup, bunlar en düşük inhibisyon konsantrasyonlarına sahip bileşiklerdir ve tirozinaz enzimi üzerine inhibisyon etkileri oldukça yüksektir. Naringenin (37.33 µM) ve kemferol (63.53 µM) da etkili inhibitörlerdir, ancak inhibisyon konsantrasyonları biraz daha yüksektir. Astragalin (2290 µM) ve izokersitrin (2970 µM) bileşiklerinin inhibisyon konsantrasyonları ise oldukça yüksektir. Bu durum bu bileşiklerin inhibisyon etkilerinin daha zayıf olduğunu göstermektedir.

Ekstrelerdeki miktarı en fazla olan bileşik akasetin olması sebebiyle docking çalışmasında özellikle bu bileşiğe odaklanılmıştır. Akasetin inhibitörü tropolon içeren kristal yapı ile (PDN IF: 2Y9X) moleküler docking çalışmalarında hedefe karşı bağlanma potansiyelinin iyi olduğu görülmüştür. Bileşiğin -6.22 kcal/mol bağlanma enerjisi ile hedef ile kompleks oluşturabildiği (RMSD: 0.14) ve hedef aktif bölgesindeki inhibitor bileşiğinin bağlanma bölgesine bağlanarak bir inhibitor potansiyeli taşıdığı bulunmuştur (Şekil 13). Akasetinin tahmini inhibisyon konsantrasyonu 27.81 µM olarak bulunmuştur.



Şekil 13. Akasetinin hedef bölgedeki 3D ve 2D etkileşimi

Bu tez kapsamında çalışılan metotlar ve çalışma basamakları şematik olarak Şekil 14'te özetlenmiştir.



Şekil 14. Tez çalışma metodolojisi ve akış şeması. *: Aktivite tespit edildi.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu tez kapsamında ülkemizde doğal yayılış gösteren ve Malatya bölgesinden toplanan *H. armenium* subsp. *araxinum* üzerine çok yönlü ve disiplinler arası bir araştırma yürütülmüştür. Bu amaç doğrultusunda, türün çiçekli toprak üstü kısımlarından *n*-hekzan, etil asetat ve etanol çözücülerini ile hazırlanan maseratların farmakolojik potansiyellerinin belirlenmesine yönelik kapsamlı testler uygulanmıştır.

Elde edilen ekstraktların antioksidan aktiviteleri, DPPH ve ABTS radikal süpürme testleri ile değerlendirilmiş; cilt üzerine etki potansiyelleri ise tirozinaz ve elastaz enzim inhibisyonu deneyleri ile araştırılmıştır. Ayrıca ekstraktların merkezi sinir sistemi üzerine olası sitotoksik etkileri, U87-MG ve SH-SY5Y hücre hatlarında gerçekleştirilen MTT hücre canlılık testi ile incelenmiştir. Ekstraktların fitokimyasal profilleri 56 standart bileşiğin referans alındığı UHPLC-MS/MS analizi ile belirlenmiştir.

Ekstraktların tirozinaz enzimi üzerindeki inhibitör etkilerinin, bileşik profilleriyle olası bağlantılarını belirlemek amacıyla *in silico* yöntemlerle değerlendirme yapılmıştır. Bu doğrultuda ekstraktlarda ≥ 0.1 mg/g miktarda tespit edilen majör bileşiklerin tirozinaz enziminin aktif bölgesiyle olası bağlanma afiniteleri, etkileşim enerjileri ve bağlanma modları, moleküler docking analizleri kullanılarak ayrıntılı biçimde karakterize edilmiştir.

Fitokimyasal çeşitlilik açısından en zengin olan etanol ekstresi diğer ekstraktlara kıyasla en yüksek ABTS radikal süpürme kapasitesine (329.60 ± 0.45 mg TE/g DW) sahip olmasıyla dikkat çekmektedir (Tablo 5). Bu sonuç etanol ekstresinin güçlü bir elektron donör kapasitesine sahip olduğunu ve serbest radikalleri etkili biçimde nötrleştirdiğini göstermektedir. Ayrıca etanol ekstresinin U87-MG ve SH-SY5Y hücre hatlarında belirgin toksik aktivite gösterdiği tespit edilmiştir (Şekil 6, Şekil 7, Şekil 8, Şekil 9, Şekil 10 ve Şekil 11). Özellikle etanol ekstresinin 100 µg/mL ve 50 µg/mL konsantrasyonlarında, tüm inkübasyon süreleri (24, 48 ve 72 saat) boyunca U87-MG hücre canlılığını % 50'nin üzerinde inhibe etmesi, etanol ekstresinin merkezi sinir sistemi kaynaklı tümör hücrelerine karşı yüksek bir antiproliferatif potansiyele sahip olabileceğini göstermektedir (Şekil 6, Şekil 7 ve Şekil 8). Bununla birlikte etanol ekstresinin, uygulanan tüm konsantrasyonlarında ve inkübasyon sürelerinde SH-SY5Y

hücre canlılığını anlamlı düzeyde azalttığı belirlenmiştir (Şekil 9, Şekil 10 ve Şekil 11). Tablo 8’de gösterildiği üzere etanol ekstresinde yüksek miktarda tespit edilen akasetin (15.902 ± 0.25 mg/g), apigenin (1.27 ± 0.02 mg/g), naringenin (1.112 ± 0.02 mg/g) ve luteolin (1.006 ± 0.02 mg/g) bileşikleri mevcuttur. Bu bileşikler, antioksidan etkileriyle bağışıklık sistemine katkı sağladığı ve kanser hücrelerinde prooksidan etki ile apoptozu uyardığı bilinmektedir (Justyńska ve ark., 2025).

Fitokimyasal çeşitlilik açısından ikinci sırada yer alan ve akasetin (25.774 ± 0.41 mg/g) açısından oldukça zengin olan etil asetat ekstresinin en yüksek DPPH radikal süpürme kapasitesine (694.11 ± 1.98 mg TEAC/g) sahip olduğu belirlenmiştir. Buna karşın etil asetat ekstresinin ABTS radikal süpürme kapasitesi (329.60 ± 0.45 mg TE/g DW) etanol ekstresine göre daha düşük bulunmuştur (Tablo 5). Bu farklılığın radikal türleri arasındaki kimyasal farklılıkların yanı sıra ekstredeki bileşiklerin yapısal özellikleri, sterik etkileri ve radikal ile etkileşim kinetiklerinden kaynaklanabileceği yönünde değerlendirilmiştir (Abramovič ve ark., 2017; Rumpf ve ark., 2023). Ayrıca etil asetat ekstresi ($IC_{50} = 156$ µg/mL) tirozinaz enzimi üzerine en güçlü inhibisyonu göstererek öne çıkmıştır (Tablo 6). Bununla birlikte yapılan docking analizleri etil asetat ekstresinde tanımlanan krisin ($IC_{50} = 21.03$ µM) ve akasetin ($IC_{50} = 27.81$ µM) bileşiklerinin tirozinaz enzimine en güçlü şekilde bağlanan ve en düşük inhibitör konsantrasyonlarına sahip bileşikler olduğunu göstermiştir. Buna karşın naringenin (37.33 µM) ve kemferol (63.53 µM) orta düzeyde, astragalin (2.290 µM) ve izokersitrin (2.970 µM) ise düşük düzeyde tirozinaz inhibisyonu sergilemiştir (Tablo 9). Bu bileşiklerin hem antioksidan hem de tirozinaz inhibitörü olarak etkileri daha önce yapılan çalışmalarda çeşitli *in silico* ve *in vitro* yöntemlerle gösterilmiştir (Ha ve ark., 2012; Kim ve ark., 2017; Wang ve ark., 2024). Etil asetat ekstresinin 100 µg/mL ve 50 µg/mL konsantrasyonlarında ve tüm inkübasyon sürelerinde U87-MG hücre canlılığını % 50’nin üzerinde inhibe ettiği tespit edilmiştir (Şekil 6, Şekil 7 ve Şekil 8). 24 saatlik inkübasyonda 25 µg/mL konsantrasyonda *n*-hekzan ekstresi (% 92.1) U87-MG hücre hattına daha yüksek inhibisyon gösterirken 48 ve 72 saatlik inkübasyonlarda etil asetat ekstresinin (sırasıyla, % 71.3 ve % 85.5) daha etkili inhibisyon göstermesi etil asetat ekstresinin zamana bağlı ve kararlı bir toksik etki oluşturduğunu göstermektedir (Şekil 6, Şekil 7 ve Şekil 8). Sonuç olarak, etil asetat ekstresi hem yüksek radikal süpürücü etkisi, hem yüksek tirozinaz inhibisyon aktivitesi hem de glioblastoma hücrelerine karşı güçlü

toksik etkisi ile dikkat çekmektedir. Bu durum etil asetatın orta polariteye sahip bir çözücü olması nedeniyle hem polar hem de yarı-polar fenolik bileşikler için etkin biçimde ekstre edebilme kapasitesine sahip olmasından kaynaklanmaktadır. Bu özellikleriyle etil asetat ekstresi, hem cilt aydınlatıcı/yaşlanma karşıtı potansiyeli hem de nöro-onkolojik araştırmalarda doğal hammadde incelemelerinde değerlendirilmesi gereken çok fonksiyonlu biyoaktif içerikli bir ekstre profili sunmaktadır.

Fitokimyasal çeşitliliği ve miktarı bakımından daha düşük içeriğe sahip olan *n*-hekzan ekstresi diğer ekstraktlarla karşılaştırıldığında orta düzeyde antioksidan kapasite sergilemiştir (Tablo 5). Bu durum, *n*-hekzanın lipofilik bir çözücü olması nedeniyle bitkide bulunan fenolik ve flavonoid bileşiklerin ekstraksiyonunda sınırlı etkinlik göstermesiyle açıklanabilir. UHPLC-MS/MS analizleri *n*-hekzan ekstresinde majör bileşikler olarak akasetin, naringenin, krisin ve hesperetinin bulunduğunu göstermiştir (Tablo 8). Hücre canlılık testlerinde *n*-hekzan ekstresi 100 µg/mL ve 50 µg/mL konsantrasyonlarında U87-MG ve SH-SY5Y hücrelerine daha düşük inhibisyon göstermiştir (Şekil 6, Şekil 7, Şekil 8, Şekil 9, Şekil 10 ve Şekil 11).

n-Hekzan, etil asetat ve etanol ekstraktlarının karşılaştırmalı analizleri sonucunda etanol ve etil asetat ekstraktlarının yüksek oranda flavonoid (akasetin, apigenin, luteolin, naringenin) ve fenolik asit (klorojenik asit, kinik asit, p-kumarik asit, salisilik asit) bileşikler içerdiği tespit edilmiştir (Tablo 8). Bu bağlamda ekstraksiyonda çözücü polaritesinin ekstraktların hem bileşik profili hem de biyolojik aktiviteleri üzerinde belirleyici rol oynadığı ortaya konmuştur. Maserasyon yöntemiyle oda sıcaklığında gerçekleştirilen ekstraksiyon işlemi bitkideki ısıya duyarlı fenolik ve flavonoid bileşiklerin korunmasını sağlamıştır.

Türkiye'nin farklı bölgelerinden toplanan 20 *Helichrysum* türü üzerinde yapılan fitokimyasal çalışmalarda, klorojenik asit, apigenin ve kozmosiin türleri arasında en yaygın ve temel bileşikler olarak bildirilmiştir. İncelenen türlerin büyük bir kısmında resveratrol çok düşük miktarlarda bulunurken, kateşin, gallik asit, rozmarinik asit, rutin ve akasetin bileşiklerine rastlanmamıştır (Albayrak ve ark., 2010a; 2010b). Ayrıca *H. arenarium* subsp. *erzincanicum*, *H. arenarium* subsp. *rubicundum* ve *H. armenium* subsp. *araxinum* türlerinde ferulik asit, p-hidroksibenzoik asit, şirincik asit, epikateşin ve hesperidin bileşiklerine de rastlanmamıştır (Albayrak, 2010b). Tablo 8'deki verilere göre

H. armenium subsp. *araxinum*'un fitokimyasal bileşimi bakımından *Helichrysum* cinsinin genel fenolik/flavonoid kimyasal karakteriyle uyumlu olduğu görülmektedir. Ancak *H. armenium* subsp. *araxinum* ekstrelerinde yüksek konsantrasyonlarda tespit edilen akasetin bileşiğine diğer türlerde rastlanmaması tür için ayırt edici özellik olarak görülmektedir (Albayrak ve ark., 2010a; 2010b). Öte yandan daha önce *H. armenium* subsp. *araxinum*'da rapor edilen p-hidroksibenzoik asit, ferulik asit, vanilik asit, kateşin rutin, şirincik asit, epikateşin ve hesperidin bileşiklerine bu çalışmada rastlanmamıştır (Çubukçu ve Yüksel, 1982; Albayrak ve ark., 2010b; Bahşi ve ark., 2020). Buna karşın, çalışmamızda akasetin, vanilin, gentisik asit ve protokateşik asit *H. armenium* subsp. *araxinum*'da ilk kez tespit edilmiştir.

H. armenium subsp. *araxinum* ve *H. armenium* subsp. *armenium*'un kimyasal profilleri, Tablo 8 ve literatür verileri ile birlikte değerlendirildiğinde birçok ortak bileşik içerdiği görülmektedir. Her iki alttürde de apigenin, luteolin, naringenin, kozmosiin ve astragalin başlıca flavonoidler olarak tespit edilmiştir (Çubukçu ve Yüksel, 1982; Bahşi ve ark., 2020; Yıldız ve ark., 2024; Kekeç ve ark., 2024). Buna karşın, çalışmamızda akasetinin yüksek konsantrasyonda *H. armenium* subsp. *araxinum*'da bulunması ve önceki çalışmalarda galangin 3-metil eterin yalnızca bu alttürde tespit edilmiş olması bu alttürü hem *H. armenium* subsp. *armenium*'dan hem de diğer *Helichrysum* türlerinden ayıran belirgin fitokimyasal bir özellik olarak görülmektedir (Çubukçu ve Yüksel, 1982; Yıldız ve ark., 2024; Kekeç ve ark., 2024).

Helichrysum türlerinde fitokimyasal analiz sonuçlarının türler ve alttürler arasında farklılık göstermesi; ekstraksiyon yöntemi ve kullanılan çözücü tipi, bitkinin toplanma zamanı ve habitat koşulları gibi etmenlerin kimyasal kompozisyon üzerinde etkili olduğunu düşündürmektedir. Bilindiği üzere bitkilerde sekonder metabolit miktarı; bitkinin toplandığı dönem, vejetasyon evresi, yetiştiği irtifa ve toprak özellikleri ile ekstraksiyon sıcaklığı ve çözücü polaritesi gibi birçok faktörden önemli ölçüde etkilenmektedir (Kumar ve ark., 2013).

Bu çalışmada ekstrelerde en yüksek oranda tespit edilen bileşiklerden biri akasetin (Şekil 13)'dir. Akasetin molekülü, bitkiler aleminde yaygın olarak bulunan bir flavonoid olup özellikle Asteraceae, Lamiaceae, Euphorbiaceae, Passifloraceae ve Malvaceae familyalarında bol miktarda rapor edilmiştir (Semwal ve ark., 2019). Molekülün

yapısında yer alan 5 ve 7-hidroksil grupları ile 4'-metoksi substitüenti, hem radikal süpürme kapasitesini hem de hücre membran geçirgenliğini artırarak farmakolojik etkinliğini güçlendirmektedir. Akasetin; antioksidan, antiinflamatuvar, antikanser, antiviral, antimikrobiyal ve nöroprotektif aktiviteleri bilimsel olarak kanıtlanmış geniş bir farmakolojik etki yelpazesine sahip bir flavonoiddir (Singh ve ark., 2005).

Yapılan çalışmalarda akasetinin tirozinaz enzimi üzerinde güçlü bir inhibisyon etkisine sahip olduğu, *Streptomyces bikiniensis* ve B16 melanom hücrelerinde melanin sentezini baskıladığı gösterilmiştir (Roh ve ark., 2004). Bu özellik, çalışmamızda etil asetat ekstresinin tirozinaz inhibitör aktivitesinin yüksek bulunmasıyla ilişkilendirilmiştir. Ayrıca immortalize insan keratinositi (HaCaT) ve insan dermal fibroblast (HDF) hücrelerinde UVB kaynaklı oksidatif hasarı baskılayarak matriks metalloproteinaz-1 (MMP-1) ekspresyonunu azaltması, bileşiğin kırışıklık karşıtı ve dermal koruyucu ajan olarak potansiyelini göstermektedir (Jeong ve ark., 2020).

Akasetin, çeşitli nörodejeneratif modellerde ROS'u baskılayarak süperoksit dismutaz ve katalaz aktivitelerini artırdığı ve böylece yaşlanma ile stres kaynaklı nöronal hasarı azalttığı bildirilmektedir (Asthana ve ark., 2016). Tez kapsamında U87-MG ve SH-SY5Y hücre hatlarında gözlenen belirgin toksik etkinin ekstrelerde yüksek oranda bulunan akasetin ile birlikte apigenin, luteolin ve naringenin gibi diğer flavonoidlerin sinerjistik etkileşiminden kaynaklanabileceği yönünde değerlendirilmiştir. Kanser modellerinde akasetin; NF- κ B, mitojenle aktive edilen protein kinaz (MAPK), PI3K/Akt/mTOR ve C-Jun N-terminal kinaz (JNK) sinyal yollarını düzenleyerek hücre döngüsünü durdurduğu ve apoptozu indüklediği yönünde bulgular mevcuttur (Jang ve ark., 2025). Bu bağlamda, *H. armenium* subsp. *araxinum*'da akasetinin yüksek düzeyde bulunması, hem cilt üzerine tirozinaz ve elastaz inhibitör etkilerde hem de glioblastoma ve nöroblastoma hücre hatlarına yönelik toksik aktivitelerde belirleyici bir rol oynadığını göstermektedir.

Kinik asit türevleri, son yıllarda antimelanogenez ve antikanser potansiyelleri bakımından dikkat çekici biyolojik aktivitelere sahip bileşikler olarak rapor edilmiştir. Choi ve ark. (2021), kinik asit türevlerinin melanogenez sürecini inhibe ederek ciltte melanin üretimini baskıladığını bildirmiştir. Bu durum özellikle UV'ye bağlı cilt yaşlanması ve hiperpigmentasyon gibi durumlarda terapötik bir potansiyel sunmaktadır.

Ayrıca Liu ve ark. (2015), kinik asit türevlerinin antioksidan özellikleri sayesinde hücre içi ROS seviyelerini düşürdüğünü ve apoptozu indükleyerek kanser hücrelerinin büyümesini engellediğini raporlamıştır. Bu bilgiler, kinik asit türevlerinin hem cilt sağlığı hem de kanser tedavisi açısından çok yönlü bir molekül grubu olarak değerlendirilebileceğini ortaya koymaktadır.

Astragalin (kemferol-3-O- β -D-glikozit), literatürde çeşitli biyolojik modellerde geniş bir farmakolojik etki profiline sahip bir bileşik olarak tanımlanmaktadır. Astragalinin antioksidan, antiinflamatuvar, antikanser, nöroprotektif ve kardiyoprotektif etkileri çok sayıda bilimsel çalışma ile doğrulanmıştır. Kozmetik ve dermatoloji alanında da dikkat çeken astragalin ile ilgili raporlar, bu bileşiğin kolajenaz enzimini inhibe ederek dermal matriks yıkımını azalttığını ve böylece cilt elastikiyetinin korunmasına katkı sağladığını ortaya koymaktadır. Ayrıca melanin sentezini baskılaması ve bu etkinin tirozinaz inhibisyonu ile ilişkili olması, bileşiğin hiperpigmentasyon karşıtı (depigmentasyon) potansiyelini desteklemektedir. Ayrıca astragalin ve kersetin bileşiklerinin UV ışınlarına karşı koruyucu etkiye sahip olduğu bilinmektedir (Riaz ve ark., 2018). Bu bilgiler, çalışmamızda gözlenen cilt aydınlatıcı ve ton düzenleyici etkinin astragalin tarafından önemli ölçüde desteklendiğini göstermektedir.

Apigenin (5,7,4'-trihidroksiflavon), çok sayıda farmakolojik ve kozmetik etkisi ile tanınan önemli bir flavonoiddir (Ha ve ark., 2002). Glioblastoma multiforme hücre hatlarında (U87-MG ve T98G) apigeninin hücre proliferasyonunu azaltarak G2/M fazında hücre döngüsünü durdurduğu ve apoptozu indüklediği rapor edilmiştir (Alcázar-Arzuza ve ark., 2025). Ayrıca, Temozolomid ile birlikte uygulandığında sinerjik etki gösterdiği ve glioma büyümesini anlamlı düzeyde baskıladığı bildirilmiştir. Bu etkinin, apigeninin ROS üretimini artırarak mitokondriyal membran potansiyelini bozması ve kaspaz-3 aracılı apoptotik yolları aktive etmesinden kaynaklandığı düşünülmektedir (Wang ve ark., 2024). SH-SY5Y hücreleri üzerine yapılan çalışmalarda apigenin, doza bağlı toksik etki göstererek hücre proliferasyonunu azaltmış ve mitokondriye bağlı apoptotik mekanizmaları aktive etmiştir (Kim ve ark., 2021). Apigeninin üç hidroksil grubu, bileşiğe güçlü radikal süpürücü ve metal iyonu şelatlayıcı özellikler kazandırmakta olup ancak bazı kanser modellerinde yüksek ROS üretimini tetikleyerek pro-apoptotik etki gösterdiği rapor edilmiştir (Zhou ve ark., 2017). Bu çift yönlü etki, apigeninin pro-

oksidan/antioksidan dengesini hedef hücre tipine göre modüle edebildiğini göstermektedir. Ekstrelerde gözlenen antioksidan kapasite ile hücre canlılığına etki eden mekanizmaların bir kısmının apigenin aracılığıyla gerçekleşmiş olabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca apigeninin antitirozinaz aktivitesi ile melanogenez inhibisyonu sağladığı, antielastaz etkinliği ile de cilt elastikiyetinin korunmasına katkıda bulunduğu rapor edilmiştir (Ha ve ark., 2002; Süntar ve ark., 2013). Çalışmamızda elde edilen tirozinaz ve elastaz inhibitör sonuçları, literatürdeki bu bulgularla paralellik göstermektedir. Tüm bu veriler, apigeninin çok yönlü bir biyoaktif flavonoid olduğunu göstermektedir.

Luteolin, flavon sınıfı bir bileşik olarak hem antikanser hem de kozmetik uygulamalar açısından önemli biyolojik etkilere sahiptir. Literatürde, luteolinin Neuro2a fare nöroblastoma hücrelerinde apoptoz yollarını (kaspaz-12, 9, 3) ve ER stres proteinlerini (CHOP, GRP94/78) aktive ederek hücre ölümünü tetiklediği bildirilmiştir (Choi ve ark., 2011). Bu bilgiler luteolinin nöroblastoma hücreleri üzerinde doğrudan toksik etkisi olduğunu göstermektedir. Ayrıca, luteolin ve diğer flavon bileşiklerinin tirozinaz üzerinde orta düzeyde inhibitör etki gösterdiği bildirilmiştir (Ha ve ark., 2002). Luteolinin antioksidan, antitirozinaz ve antielastaz aktiviteleri ile melanogenezi baskılayıcı etkisi, bu bileşiğin cilt sağlığını koruma ve dermakozmetik uygulamalarda değerli bir ajan olma potansiyeline sahip olduğunu ortaya koymaktadır (Vrianty ve ark., 2019; Jakimiuk ve ark., 2021). Bu bilgiler ışığında luteolinin çalışmamızda gözlenen biyolojik aktivitelerle uyumlu olduğu ve bitkinin yaşlanma karşıtı potansiyeline katkı sağladığı görülmektedir.

İzokersitrin, özellikle *Morus nigra* yaprağı ekstrelerinde yüksek oranda tespit edilmiştir. Literatürde, standartize *M. nigra* ekstresinin güçlü tirozinaz inhibitör aktiviteye sahip olduğu ve fare melanomu, insan keratinositleri ve fare fibroblastları üzerine toksik etki göstermediği bildirilmiştir (de Freitas ve ark., 2016). Bu veriler, izokersitrin içeren ekstrelerin cilt üzerinde güvenli ve etkili olduğunu ortaya koymakta olup, çalışmamızda gözlenen biyolojik aktiviteleri desteklemektedir.

Naringenin, flavanon sınıfına ait bir bileşik olup, literatürde hem antioksidan hem de apoptoz indükleyici etkileriyle öne çıkmaktadır. Glioblastoma ve nöroblastoma hücre modellerinde naringenin, ROS üretimini artırarak mitokondriyal apoptotik yolları

aktive etmiştir (Justyńska ve ark., 2025). Çalışmamızda tespit edilen naringenin, diğer flavonoidlerle birlikte ekstrenin antikanser ve antioksidan aktivitelerine katkıda bulunmuş olabileceği düşünülmektedir. Naringenin ve kozmosiin, diğer flavonoid bileşiklerin aksine bazı çalışmalarda tirozinaz aktivitesini artırarak melanogenez üzerinde uyarıcı etki gösterdiği ve kozmetik ürünlerde bronzlaşma potansiyeli sunabileceği bildirilmiştir (Bouzaiene ve ark., 2016). Bu bulgular naringenin ve kozmosiinin, ekstrelerdeki diğer flavonoidlerin tirozinaz ve elastaz inhibitör aktivitelerini kısmen engelleyebileceğini düşündürmektedir.

Klorojenik asit, hidroksisinamik ailesine ait bir fenolik bileşik olarak serbest radikallere karşı güçlü antioksidan özellikler göstermektedir (Santana-Gálvez ve ark., 2017). Ayrıca, klorojenik asidin glioblastoma ve nöroblastoma hücre hatlarında toksik etkiler gösterdiği ve hücre döngüsünü durdurarak antikanser potansiyel sergilediği bildirilmiştir (Singh ve ark., 2023). Li ve arkadaşları (2014), klorojenik asidin B16 melanom hücrelerinde tirozinaz aktivitesini inhibe ederek melanogenezi baskıladığını bildirmiştir. Sun ve ark. (2025), klorojenik asidin elastaz enzimini etkili biçimde inhibe ettiğini, ancak bu etkinin izokersitrin ile kombine edildiğinde azaldığını (antagonistik), kersetin ile kombine edildiğinde ise güçlendiğini (sinerjik) rapor etmişlerdir (Singh ve ark., 2023). Tez çalışmamızdaki *in silico* bulgular, klorojenik asidin hedef proteinlerle seçici etkileşimler kurarak antitirozinaz aktivitesini artırabileceğini ve ekstre içeriğinde gözlenen sinerjik etkiyi desteklediğini göstermektedir.

Önceki çalışmalar, *Helichrysum* türlerinden izole edilen biyoaktif bileşiklerin, özellikle cilt ile ilişkili enzimler üzerindeki inhibitör etkileri ve sitotoksik aktiviteleriyle öne çıktığını göstermektedir. Arzanol, *H. italicum*'dan izole edilen floroglusinol- α -piron yapısında bir bileşik olup antielastaz aktivitesi ile kozmetik uygulamalar açısından önem taşımakta ve SH-SY5Y nöroblastoma hücrelerinde glutamat kaynaklı eksitotoksisiteye karşı koruyucu etki göstermektedir (Piras ve ark., 2024). *H. aureonitens*'den izole edilen flavonol yapısındaki galangin, tirozinaz üzerinde seçici inhibitör etki göstermekte olup, U251, U87-MG ve A172 glioblastoma hücrelerinde doza bağlı olarak canlılık ve proliferasyon inhibisyonu oluşturmaktadır (Xiong ve ark., 2020; Majchrzak-Celińska ve ark., 2024). *H. niveum* Graham'dan izole edilen floroglusinol türevleri heliniven A ve B'nin hem antioksidan hem de antitirozinaz aktiviteye sahip olduğu bildirilmiştir

(Popoola ve ark., 2015b). *H. teretifolium*'dan izole edilen 4'-metoksi kersetin ve kersetin flavonoidleri yaşlanma karşıtı ve antioksidan etkilerinin yanı sıra orta düzeyde tirozinaz ve elastaz inhibisyonu sergilediği rapor edilmiştir (Popoola ve ark., 2015a). Bu bulgular, *Helichrysum* türlerinin flavonoid ve fenolik bileşikler ile geniş bir biyolojik aktivite yelpazesi sunduğunu göstermekte; bu kapsamda *H. armenium* subsp. *araxinum* ekstrelerinin yüksek flavonoid ve fenolik içeriği ile benzer biyolojik etkileri desteklediğini ortaya koymaktadır. Böylece türün, *Helichrysum* cinsi içerisinde biyolojik açıdan değerli bir takson olduğu ve potansiyel kozmetik ile farmakolojik uygulamalarda öne çıkabilecek nitelikler taşıdığı anlaşılmaktadır. Ayrıca, türün bu özelliklerinin daha ayrıntılı şekilde aydınlatılabilmesi için ileri düzey çalışmaların yapılması gerektiği de görülmektedir.

Helichrysum türleri, henüz incelenmemiş türler içermesi ve potansiyel biyoaktif bileşik zenginliği ile literatürde belirgin bir bilgi boşluğu oluşturmaktadır. Bu bağlamda, *H. armenium* subsp. *araxinum* ülkemizde halk arasında yaygın olarak kullanılmasına rağmen literatürde sınırlı sayıda çalışmaya sahiptir. Bu çalışma *H. armenium* subsp. *araxinum*'un toprak üstü kısmının cilt üzerine etkilerini tirozinaz ve elastaz inhibitör testleri ile sitotoksik potansiyelini ise U87-MG ve SH-SY5Y hücre hatlarında ilk kez ortaya koymuştur. Bitkinin fitokimyasal içeriği 56 referans bileşik ile taranmış ve akasetin, vanilin, gentisik asit ile protokateşik asit türde ilk kez tespit edilmiştir. Ayrıca türün antitirozinaz aktivitesi *in silico* yöntemlerle değerlendirilmiş ve bileşiklerinin etki potansiyeli incelenmiştir. Elde edilen bulgular *H. armenium* subsp. *araxinum*'un diğer *Helichrysum* türleriyle benzer antitirozinaz aktivite sergileyerek potansiyel bir doğal ilaç hammaddesi kaynağı olabileceğini göstermektedir.

Tür ile ilgili yapılan bu kapsamlı çalışma, kimyasal profil-biyolojik aktivite korelasyonuna dayalı çok yönlü bir analiz sunarak literatürdeki boşluğun giderilmesine katkı sağlamaktadır. Elde edilen sonuçlar *H. armenium* subsp. *araxinum*'un yüksek terapötik potansiyeli ile kozmetik ve tıbbi uygulamalar için değerli bir fitofarmasötik aday olduğunu ortaya koymaktadır. Ayrıca türün şu ana kadar ülkemizde ilaç, gıda ve kozmetik alanlarında kullanılmamış olması, bilimsel ve ekonomik açıdan önemli fırsatlar sunduğunu göstermektedir.

KAYNAKLAR

- Abramovič H, Grobin B, Ulrih NP, Cigić B. The methodology applied in DPPH, ABTS and Folin-Ciocalteu assays has a large influence on the determined antioxidant potential. *Acta Chim Slov.* 2017;64(2).
- Abuajah CI, Ogbonna AC, Osuji CM. Functional components and medicinal properties of food: A review. *J Food Sci Technol.* 2015;52(5):2522-39.
- Adwas AA, Elsayed A, Azab AE, Quwaydir FA. Oxidative stress and antioxidant mechanisms in human body. *J Appl Biotechnol Bioeng.* 2019;6(1):43-7.
- Akaberi M, Sahebkar A, Azizi N, Emami SA. Everlasting flowers: phytochemistry and pharmacology of the genus *Helichrysum*. *Ind Crops Prod.* 2019;138:111471.
- Albayrak S, Aksoy A, Sagdic O, Budak U. Phenolic compounds and antioxidant and antimicrobial properties of *Helichrysum* species collected from eastern Anatolia, Turkey. *Turk J Biol.* 2010a;34(4):463-71.
- Albayrak S, Aksoy A, Sagdic O, Hamzaoglu E. Compositions, antioxidant and antimicrobial activities of *Helichrysum* (Asteraceae) species collected from Turkey. *Food Chem.* 2010b;119(1):114-22.
- Albayrak S. Türkiye *Helichrysum* Mill. (Asteraceae) taksonlarının biyoaktiviteleri [Doktora tezi]. Erzurum: Atatürk Üniversitesi; 2008.
- Alcázar-Arzuza JP, Rojas-Gil AP, Francis-Turner L. Flavonoids use in glioblastoma multiforme experimental models. *Actual Biol.* 2025;47(123):1-12.
- Aslan M, Orhan DD, Orhan N, Sezik E, Yeşilada E. A study of antidiabetic and antioxidant effects of *Helichrysum graveolens* capitulums in streptozotocin-induced diabetic rats. *J Med Food.* 2007;10(2):396-400.
- Asthana J, Mishra BN, Pandey R. Acacetin promotes healthy aging by altering stress response in *Caenorhabditis elegans*. *Free Radic Res.* 2016;50(8): 861-74.
- Ayed AS, Omran MAAA, Nabil Z, Strong P, Newton K, Abdel Rahman M, et al. Burden of neurological disorders across the US from 1990-2017: a global burden of disease study. *JAMA Neurol.* 2021;78:165-76.
- Bahşi M, Emre MY, Emre İ, Kuşat M, Yılmaz Ö. The determination of some biochemical contents of *Helichrysum armenium* DC. subsp. *araxinum* (Kirp.) Takht. *Biol Divers Conserv.* 2020;13(1):96-101.
- Baumann L, Bernstein EF, Weiss AS, Bates D, Humphrey S, Silberberg M, et al. Clinical relevance of elastin in the structure and function of skin. *Aesthet Surg J Open Forum.* 2021;3(3):ojab019.
- Baytop T. Türkçe Bitki Adları Sözlüğü. 2. baskı. Ankara: Türk Dil Kurumu Yayınları; 1997. s.220.

- Benítez G, González-Tejero MR, Molero-Mesa J. Pharmaceutical ethnobotany in the western part of Granada province (southern Spain): ethnopharmacological synthesis. *J Ethnopharmacol.* 2010;129(1):87-105.
- Beşen BS, Parlakyiğit P, Yılmaz E. Simultaneous coloring and antibacterial finishing to cotton through an environmentally-friendly way. *Tekstil ve Konfeksiyon.* 2024;34(1).
- Bouzaïene NN, Chaabane F, Sassi A, Chekir-Ghedira L, Ghedira K. Effect of apigenin-7-glucoside, genkwanin and naringenin on tyrosinase activity and melanin synthesis in B16F10 melanoma cells. *Life Sci.* 2016;144:80-5.
- Can İ. İnsan glioblastoma multiforme hücre hattında TFBTBOA ile modifiye yeşil hidrotermal sentez Ce_2O_3 nanopartiküllerin antiproliferatif ve moleküler yollarının araştırılması [Yüksek lisans tezi]. Van: Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi; 2024.
- Chang TS, Ding HY, Tai SSK, Wu CY. Mushroom tyrosinase inhibitory effects of isoflavones isolated from soygerm koji fermented with *Aspergillus oryzae* BCRC 32288. *Food Chem.* 2007;105(4):1430-38.
- Chen J, Yang J, Ma L, Li J, Shahzad N, Kim CK. Structure-antioxidant activity relationship of methoxy, phenolic hydroxyl, and carboxylic acid groups of phenolic acids. *Sci Rep.* 2020;10:2611.
- Choi AY, Choi JH, Yoon H, Hwang KY, Noh MH, Choe W, et al. Luteolin induces apoptosis through endoplasmic reticulum stress and mitochondrial dysfunction in Neuro-2a mouse neuroblastoma cells. *Eur J Pharmacol.* 2011;668(1-2):115-26.
- Choi JY, Lee JW, Jang H, Kim JG, Lee MK, Hong JT, et al. Quinic acid esters from *Erycibe obtusifolia* with antioxidant and tyrosinase inhibitory activities. *Nat Prod Res.* 2021;35(18):3026-32.
- Clark AJ, Davis ME. Increased brain uptake of targeted nanoparticles by adding an acid-cleavable linkage between transferrin and the nanoparticle core. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2015;112(40):12486-91.
- Corbeil CR, Williams CI, Labute P. Variability in docking success rates due to dataset preparation. *J Comput Aided Mol Des.* 2012;26:775-86.
- Costa RP, Lucena LF, Silva LMA, Zocolo GJ, Herrera-Acevedo C, Scotti L, et al. The SistemX web portal of natural products: An update. *J Chem Inf Model.* 2021;61(6):2516-22.
- Czarnywojtek A, Borowska M, Dyrka K, Van Gool S, Sawicka-Gutaj N, Moskal J, et al. Glioblastoma multiforme: the latest diagnostics and treatment techniques. *Pharmacology.* 2023;108(5):423-31.
- Çubukçu B, Yüksel V. Constituents of Anatolian medicinal plants; flavonoids of *Helichrysum armenium*. *J Nat Prod.* 1982;45(2):137-9.
- D'Arcy MS. Cell death: a review of the major forms of apoptosis, necrosis and autophagy. *Cell Biol Int.* 2019;43(6):582-592.

Davis PH, editor. Flora of Turkey and the East Aegean Islands. Vol. 5. Edinburgh: University Press; 1975. p. 80-97.

Davis PH, Kupicha FK. *Helichrysum* Gaertn. In: Davis PH, editor. Flora of Turkey and the East Aegean Islands, vol. 5. Edinburgh: Edinburgh University Press; 1975. p. 80-97.

Davis PH, Mill RR, Tan K. Flora of Turkey and the East Aegean Islands. Vol. 10. Edinburgh: Edinburgh University Press; 1988. p. 159-60.

de Freitas MM, Fontes PR, Souza PM, William Fagg C, Neves Silva Guerra E, de Medeiros Nóbrega YK, et al. Extracts of *Morus nigra* L. leaves standardized in chlorogenic acid, rutin and isoquercitrin: tyrosinase inhibition and cytotoxicity. PLoS One. 2016;11(9):0163130.

Deniz FSS, Orhan IE, Duman H. Profiling cosmeceutical effects of various herbal extracts through elastase, collagenase, tyrosinase inhibitory and antioxidant assays. Phytochem Lett. 2021;45:171-83.

Dias R, Timmers LF, Caceres RA, de Azevedo WF Jr. Evaluation of molecular docking using polynomial empirical scoring functions. Curr Drug Targets. 2008;9:1062-70.

Dolecek TA, Propp JM, Stroup NE, Kruchko C. CBTRUS statistical report: primary brain and central nervous system tumors diagnosed in the United States in 2005-2009. Neuro Oncol. 2012;14(Suppl 5):v1-49.

Du J, Yuan X. Analysis of the incidence, characteristics, and risk factors of complications during induction chemotherapy in children with high-risk neuroblastoma. Eur J Pediatr. 2024;183(1):185-202.

Dymova MA, Kuligina EV, Richter VA. Molecular mechanisms of drug resistance in glioblastoma. Int J Mol Sci. 2021;22(12):6385.

Ekins S, Mestres J, Testa B. *In silico* pharmacology for drug discovery: Methods for virtual ligand screening and profiling. Br J Pharmacol. 2007;152(1):21-37.

Elkıran Ö. *Helichrysum* Mill. cinsine ait bazı taksonların biyosistematiği [Doktora tezi]. Ankara: Ankara Üniversitesi; 2012.

Ergün F, Yeğın M. Alternatif tıpta kullanılan *Helichrysum armenium* türünün (altınotu) fenolik içerik ve antioksidan özellikleri. Türk Tarım ve Doğa Bilimleri Derg. 2024;11(2):490-6.

Erik S, Tarıkahya B. Türkiye florası üzerine. Kebikeç. 2004;17(1):139-63.

Eroğlu HE. An important medicinal plant: *Helichrysum plicatum* DC. In: Doğan H, Baş H, editors. Medicinal and Economic Importance of Plants. Ankara: Iksad Publication House; 2023. p.3-20.

Eroğlu HE. Türkiye *Helichrysum* Mill. (Asteraceae) taksonlarının genotoksik etkilerinin belirlenmesi [Doktora tezi]. Kayseri: Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü; 2008. s.156.

Eroğlu HE. Türkiye *Helichrysum* taksonlarının Türkçe ve diğer dillerdeki isimleri. Avrasya Terim Derg. 2018;6(1):26-34.

European Medicines Agency (EMA). Helichrysi flos [Internet]. 2025 [Erişim tarihi 14 Haziran 2025]. Erişim adresi: <https://www.ema.europa.eu/en/medicines/herbal/helichrysi-flos>.

European Scientific Cooperative on Phytotherapy (ESCOP). Helichrysi flos: Sandy everlasting flower [Internet]. 2025 [Erişim tarihi 14 Haziran 2025]. Erişim adresi: <https://www.escop.com/downloads/helichrysi-flos-sandy-everlasting-flower>.

Farage MA, Miller KW, Elsner P, Maibach HI. Intrinsic and extrinsic factors in skin ageing: a review. Int J Cosmet Sci. 2008;30(2):87-95.

Forman HJ, Zhang H. Targeting oxidative stress in disease: promise and limitations of antioxidant therapy. Nat Rev Drug Discov. 2021;20(9):689-709.

Friesner RA, Banks JL, Murphy RB, Halgren TA, Klicic JJ, Mainz DT, et al. Glide: A new approach for rapid, accurate docking and scoring. 1. Method and assessment of docking accuracy. J Med Chem. 2004;47:1739-49.

Furlan V, Bren U. *Helichrysum italicum*: From extraction, distillation, and encapsulation techniques to beneficial health effects. Foods. 2023;12(4):802.

Galbany-Casals M, Sáez L, Benedí C. A taxonomic revision of *Helichrysum* sect. Stoechadina (Asteraceae, Gnaphalieae). Can J Bot. 2006a;84(8):1203-33.

Galbany-Casals M, Sáez L, Benedí C. Conspectus of *Helichrysum* Mill. sect. Stoechadina (DC.) Gren. & Godr. (Asteraceae, Gnaphalieae). Orsis. 2006b;21:59-81.

Glod J, Rahme GJ, Kaur H, Raabe E, Hwang EI, Israel MA. Pediatric brain tumors: current knowledge and therapeutic opportunities. J Pediatr Hematol Oncol. 2016;38(4):249-60.

Gülçin I. Antioxidants: a comprehensive review. Arch Toxicol. 2025;99(1):1-105.

Güner A, Özhatay N, Ekim T, Başer KHC, Hedge IC. (Eds.). Flora of Turkey and the East Aegean Islands. Vol. 11. Edinburgh: University Press; 2000. s.153-4.

Gyamfi MA, Yonamine M, Aniya Y. Free-radical scavenging action of medicinal herbs from Ghana: *Thonningia sanguinea* on experimentally-induced liver injuries. Gen Pharmacol. 1999;32(6):661-7.

Ha SK, Moon E, Lee P, Ryu JH, Oh MS, Kim SY. Acacetin attenuates neuroinflammation via regulation of the response to LPS stimuli *in vitro* and *in vivo*. Neurochem Res. 2012;37(7):1560-7.

Ha TJ, Hwang SW, Jung HJ, Park KH, Yang MS. Biochemistry, molecular biology: apigenin, tyrosinase inhibitor isolated from the flowers of *Hemisteptia lyrata* Bunge. J Appl Biol Chem. 2002;45(4):170-2.

Ignat I, Volf I, Popa VA. A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. *Food Chem.* 2011;126(4):1821-35.

Imokawa G, Ishida K. Biological mechanisms underlying the ultraviolet radiation-induced formation of skin wrinkling and sagging I: reduced skin elasticity, highly associated with enhanced dermal elastase activity, triggers wrinkling and sagging. *Int J Mol Sci.* 2015;16(4):7753-75.

Jain AN. Surflex: Fully automatic flexible molecular docking using a molecular similarity-based search engine. *J Med Chem.* 2003;46:499-511.

Jakimiuk K, Gesek J, Atanasov AG, Tomczyk M. Flavonoids as inhibitors of human neutrophil elastase. *J Enzyme Inhib Med Chem.* 2021;36(1):1016-28.

Jakobek L. Interactions of polyphenols with carbohydrates, lipids and proteins. *Food Chem.* 2015;175:556-67.

Jang JY, Kim D, Im E, Lee NK, Kim ND. Molecular mechanism discovery of acacetin against cancers: insights from network pharmacology and molecular docking. *Int J Mol Sci.* 2025;26(19):9433.

Janssen LM, Ramsay EE, Logsdon CD, Overwijk WW. The immune system in cancer metastasis: friend or foe? *J Immunother Cancer.* 2017;5(1):79.

Jeong EH, Yang H, Kim JE, Lee KW. Safflower seed oil and its active compound acacetin inhibit UVB-induced skin photoaging. *J Microbiol Biotechnol.* 2020;30(10):1567.

Justyńska W, Grabarczyk M, Smolińska E, Szychowska A, Glabinski A, Szpakowski P. Dietary polyphenols: luteolin, quercetin, and apigenin as potential therapeutic agents in the treatment of gliomas. *Nutrients.* 2025;17(13):2202.

Kamel EM, Aba Alkhayl FF, Alqhtani HA, Bin-Jumah M, Rudayni HA, Lamsabhi AM, et al. Bridging *in silico* and *in vitro* perspectives to unravel molecular mechanisms underlying the inhibition of β -glucuronidase by coumarins from *Hibiscus trionum*. *Biophys Chem.* 2024a;313.

Kamel EM, Aba Alkhayl FF, Alqhtani HA, Bin-Jumah M, Rudayni HA, Lamsabhi AM, et al. Dissecting molecular mechanisms underlying the inhibition of β -glucuronidase by alkaloids from *Hibiscus trionum*: integrating *in vitro* and *in silico* perspectives. *Comput Biol Med.* 2024b;180:108969.

Kamel EM, Alwaili MA, Rudayni HA, Allam AA, Lamsabhi AM. Deciphering the molecular mechanisms of reactive metabolite formation in the mechanism-based inactivation of cytochrome P450 1B1 by 8-methoxypsoralen and assessing the driving effect of Phe268. *Molecules.* 2024c;29(7):1433.

Kamel EM, Lamsabhi AM. The quasi-irreversible inactivation of cytochrome P450 enzymes by paroxetine: a computational approach. *Org Biomol Chem.* 2020;18(17):3334-45.

Kamel EM, Maodaa S, Al-Shaebi EM, Lamsabhi AM. Mechanistic insights into the metabolic pathways of vanillin: unraveling cytochrome P450 interaction mechanisms and implications for food safety. *Org Biomol Chem*. 2024d;22:6561-74.

Kamel EM, Tawfeek AM, El-Bassuony AA, Lamsabhi AM. Mechanistic insights into chloramphenicol-mediated inactivation of cytochrome P450 enzymes and their active site mutants. *New J Chem*. 2023;47(35):16429-43.

Kekeç N, Taşkın T, Ağar DN, Özbek-Çelik B, Kültür Ş, Süzgeç-Şelçuk S. Phytochemical studies of *Helichrysum armenium* subsp. *armenium* and its antioxidant, acetylcholinesterase, and antimicrobial activities. *J Res Pharm*. 2024;28(3):630-40.

KEW. Kew Science – Plants of the World Online [Internet]. 2025 [Erişim Tarihi 22 Haziran 2025]. Erişim adresi: <https://powo.science.kew.org/taxon/urn:lsid:ipni.org:names:331648-2>

Kim NY, Kwon HS, Lee HY. Effect of inhibition on tyrosinase and melanogenesis of *Agastache rugosa* Kuntze by lactic acid bacteria fermentation. *J Cosmet Dermatol*. 2017;16(3):407-15.

Kim YJ, Cho EJ, Lee AY, Seo WT. Apigenin ameliorates oxidative stress-induced neuronal apoptosis in SH-SY5Y cells. *Microbiol Biotechnol Lett*. 2021;49(2):138-47.

Kumar S, Gupta A, Pandey AK. *Calotropis procera* root extract has the capability to combat free radical mediated damage. *Int Scholarly Res Notices*. 2013;2013:691372.

Kutluk İ, Aslan M, Orhan İE, Özçelik B. Antibacterial, antifungal, and antiviral bioactivities of selected *Helichrysum* species. *S Afr J Bot*. 2018;119:252-7.

Küçükoglu O, Öztürk B, Kamataki T, Topçu Z. Inhibitory activities of *Helichrysum* taxa on mammalian type I DNA topoisomerase. *Pharm Biol*. 2006;44(3):189-93.

Kültür Ş, Gürdal B, Sari A, Melikoğlu G. Traditional herbal remedies used in kidney diseases in Turkey: an overview. *T J Bot*. 2021;45(4):269-87.

Leopoldini M, Russo N, Toscano M. The molecular basis of working mechanism of natural polyphenolic antioxidants. *Food Chem*. 2011;125(2):288-306.

Les F, Venditti A, Cásedas G, Frezza C, Guiso M, Sciubba F, et al. Everlasting flower (*Helichrysum stoechas* Moench) as a potential source of bioactive molecules with antiproliferative, antioxidant, antidiabetic and neuroprotective properties. *Ind Crops Prod*. 2017;108:295-302.

Li HR, Habasi M, Xie LZ, Aisa HA. Effect of chlorogenic acid on melanogenesis of B16 melanoma cells. *molecules*. 2014;19:12940-48.

Liu ZH, Zhang SY, Yu YY, Su GQ. (-)-4-O-(4-O-β-D-glucopyranosylcaffeoyl) quinic acid presents antitumor activity in HT-29 human colon cancer *in vitro* and *in vivo*. *Mol Cell Toxicol*. 2015;11(4):457-63.

London WB, Matthay KK, Ambros PF, Pearson AD, Cohn SL, Castel V, et al. Clinical and biological features predictive of survival after relapse of neuroblastoma: a study from the International Neuroblastoma (NB) Risk Group (INRG) Database. *J Clin Oncol*. 2010;28(15_suppl):9518.

Louis DN, Perry A, Reifenberger G, von Deimling A, Figarella-Branger D, Cavenee WK, et al. The 2016 World Health Organization classification of tumors of the central nervous system: a summary. *Acta Neuropathol*. 2016;131(6):803-20.

Lourens ACU, Van Vuuren SF, Viljoen AM, Davids H, Van Heerden FR. Antimicrobial activity and *in vitro* cytotoxicity of selected South African *Helichrysum* species. *S Afr J Bot*. 2011;77(1):229-35.

Lourens ACU, Viljoen AM, Van Heerden FR. South African *Helichrysum* species: a review of their traditional uses, biological activity and phytochemistry. *J Ethnopharmacol*. 2008;119(3):630-52.

Majchrzak-Celińska A, Studzińska-Sroka E. New avenues and major achievements in phytocompounds research for glioblastoma therapy. *Molecules*. 2024;29(7):1682.

Maksimović S, Tadić V, Skala D, Žižović I. Separation of phytochemicals from *Helichrysum italicum*: an analysis of different isolation techniques and biological activity of prepared extracts. *Phytochemistry*. 2017;138:9-28.

Marijan M, Tomić D, Strawa JW, Jakupović L, Inić S, Jug M, et al. Optimization of cyclodextrin-assisted extraction of phenolics from *Helichrysum italicum* for preparation of extracts with anti-elastase and anti-collagenase properties. *Metabolites*. 2023;13(2):257.

Maris JM. Recent advances in neuroblastoma. *N Engl J Med*. 2010;362(23):2202-11.

Melzig MF, Löser B, Ciesielski S. Inhibition of neutrophil elastase activity by phenolic compounds from plants. *Die Pharm*. 2001;56(12):967-70.

Mohammadi E, Ghasemi E, Azadnajafabad S, Rezaei N, Moghaddam SS, Meimand SE, et al. A global, regional, and national survey on burden and Quality of Care Index (QCI) of brain and other central nervous system cancers; global burden of disease systematic analysis 1990-2017. *PLoS One*. 2021;16:e0247120.

Mohanty M, Mohanty PS. Molecular docking in organic, inorganic, and hybrid systems: A tutorial review. *Monatsh Chem*. 2023;154:683-707.

Morris GM, Lim-Wilby M. Molecular docking. *Methods Mol Biol*. 2008;443:365-82.

Nalkiran I, Sevim Nalkiran H. Phytochemical profile and anticancer potential of *Helichrysum arenarium* extracts on glioblastoma, bladder cancer, and breast cancer cells. *Pharmaceuticals*. 2025;18(2):144.

Özhatay N, Kültür Ş, Aksoy N. Check-list of additional taxa to the supplement flora of Turkey. *Turk J Bot*. 1994;18:497-514.

Özhatay N, Kültür Ş, Aslan S. Check-list of additional taxa to the supplement flora of Turkey IV. Turk J Bot. 2009;33:191-226.

Özhatay N, Kültür Ş. Check-list of additional taxa to the supplement flora of Turkey III. Turk J Bot. 2006;30:281-316.

Panero JL, Funk VA. Toward a phylogenetic subfamilial classification for the Compositae (Asteraceae). Proc Biol Soc Wash. 2002;115:909-22.

Papandreou MA, Kanakis CD, Polissiou MG, Efthimiopoulos S, Cordopatis P, Margarity M, et al. Inhibitory activity on amyloid- β aggregation and antioxidant properties of *Crocus sativus* stigmas extract and its crocin constituents. J Agric Food Chem. 2006;54(23):8762-8.

Perrini R, Morone-Fortunato I, Lorusso E, Avato P. Glands, essential oils and *in vitro* establishment of *Helichrysum italicum* (Roth) G Don ssp. *microphyllum* (Willd) Nyman. Ind Crops Prod. 2009;29(2-3):395-403.

Pfirschke C, Siwicki M, Liao HW, Pittet MJ. Tumor microenvironment: no effector T cells without dendritic cells. Cancer Cell. 2017;31(5):614-5.

Pillaiyar T, Manickam M, Namasivayam V. Skin whitening agents: medicinal chemistry perspective of tyrosinase inhibitors. J Enzyme Inhib Med Chem. 2017;32(1):403-25.

Piras F, Sogos V, Pollastro F, Appendino G, Rosa A. Arzanol, a natural phloroglucinol α -pyrone, protects HaCaT keratinocytes against H₂O₂-induced oxidative stress, counteracting cytotoxicity, reactive oxygen species generation, apoptosis, and mitochondrial depolarization. J Appl Toxicol. 2024;44(5):720-32.

Pizzino G, Irrera N, Cucinotta M, Pallio G, Mannino F, Arcoraci V, et al. Oxidative stress: harms and benefits for human health. Oxid Med Cell Longev. 2017;2017:8416763.

Pljevljakušić D, Bigović D, Janković T, Jelačić S, Šavikin K. Sandy everlasting (*Helichrysum arenarium* (L.) Moench): botanical, chemical and biological properties. Front Plant Sci. 2018;9:1123.

Popoola OK, Marnewick JL, Rautenbach F, Ameer F, Iwuoha EI, Hussein AA. Inhibition of oxidative stress and skin aging-related enzymes by prenylated chalcones and other flavonoids from *Helichrysum teretifolium*. Molecules. 2015a;20(4):7143-55.

Popoola OK, Marnewick JL, Rautenbach F, Iwuoha EI, Hussein AA. Acylphloroglucinol derivatives from the South African *Helichrysum niveum* and their biological activities. Molecules. 2015b;20:17309-24.

PubChem [Internet]. [Erişim: 24 Kasım 2024]. Erişim adresi: <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>

RCSB Protein Data Bank [Internet]. [Erişim: 24 Kasım 2024]. Erişim adresi: <https://www.rcsb.org>

- Rehman MU, Wali AF, Ahmad A, Shakeel S, Rasool S, Ali R, et al. Neuroprotective strategies for neurological disorders by natural products: An update. *Curr Neuroparmacol*. 2019;17(3):247–267. .
- Riaz A, Rasul A, Hussain G, Zahoor MK, Jabeen F, Subhani Z, et al. Astragalin: a bioactive phytochemical with potential therapeutic activities. *Adv Pharmacol Sci*. 2018;2018:9794625.
- Roh JS, Han JY, Kim JH, Hwang JK. Inhibitory effects of active compounds isolated from safflower (*Carthamus tinctorius* L.) seeds for melanogenesis. *Biol Pharm Bull*. 2004;27(12):1976-8.
- Rudrapal M, Khairnar SJ, Khan J, Bin Dukhyil A, Ansari MA, Alomary MN, et al. Dietary polyphenols and their role in oxidative stress-induced human diseases: insights into protective effects, antioxidant potentials and mechanisms of action. *Front Pharmacol*. 2022;13:806470.
- Rumpf J, Burger R, Schulze M. Statistical evaluation of DPPH, ABTS, FRAP, and Folin-Ciocalteu assays to assess the antioxidant capacity of lignins. *Int J Biol Macromol*. 2023;233:123470.
- Santana-Gálvez J, Cisneros-Zevallos L, Jacobo-Velázquez DA. Chlorogenic acid: Recent advances on its dual role as a food additive and a nutraceutical against metabolic syndrome. *Molecules*. 2017;22:358.
- Semwal RB, Semwal DK, Combrinck S, Trill J, Gibbons S, Viljoen A, et al. Acacetin-A simple flavone exhibiting diverse pharmacological activities. *Phytochemistry Lett*. 2019;32:56-65.
- Sevgi K, Tepe B, Sarikürkcü C. Antioxidant and DNA damage protection potentials of selected phenolic acids. *Food Chem Toxicol*. 2015;77:12-21.
- Si YX, Wang ZJ, Park D, Chung HY, Wang SF, Yan L, et al. Effect of hesperetin on tyrosinase: inhibition kinetics integrated computational simulation study. *Int J Biol Macromol*. 2012;50:257-62.
- Siegel RL, Miller KD, Fuchs HE, Jemal A. Cancer statistics, 2021. *CA Cancer J Clin*. 2021;71(1):7-33.
- Singh AK, Singla RK, Pandey AK. Chlorogenic acid: A dietary phenolic acid with promising pharmacotherapeutic potential. *Curr Med Chem*. 2023;30(34):3905-26.
- Singh RJ, Lebeda A, Tucker O. Medicinal plants–nature’s pharmacy. Singh RJ, editor. Genetic resources, chromosome engineering, and crop improvement: Medicinal plants. Vol. 6. Boca Raton: CRC Press; 2012. s. 13-51.
- Singh RP, Agrawal P, Yim D, Agarwal C, Agarwal R. Acacetin inhibits cell growth and cell cycle progression, and induces apoptosis in human prostate cancer cells: Structure-activity relationship with linarin and linarin acetate. *Carcinogenesis*. 2005;26(4):845-54.
- Slominski A, Tobin DJ, Shibahara S, Wortsman J. Melanin pigmentation in mammalian skin and its hormonal regulation. *Physiol Rev*. 2004;84(4):1155-28.

- Stupp R, Mason WP, Van Den Bent MJ, Weller M, Fisher B, Taphoorn MJ, et al. Radiotherapy plus concomitant and adjuvant temozolomide for glioblastoma. *N Engl J Med*. 2005;352(10):987–96.
- Sun Y, Zhang M, Zhang Y, Zheng Y, Li J, Cai Q, et al. Synergistic and antagonistic mechanisms of *Arctium lappa* L. polyphenols on human neutrophil elastase inhibition: Insights from molecular docking and enzymatic kinetics. *Molecules*. 2025;30(13):2764.
- Sümbül H, Göktürk RS, Düşen OD. A new endemic species of *Helichrysum* Gaertn. (Asteraceae-Inuleae) from South Anatolia. *Bot J Linn Soc*. 2003;141(3):251-4.
- Süntar I, Küpeli Akkol E, Keleş H, Yesilada E, Sarker SD. Exploration of the wound healing potential of *Helichrysum graveolens* (Bieb.) Sweet: isolation of apigenin as an active component. *J Ethnopharmacol*. 2013;149(1):103-10.
- Tanker N, Sezik G. Researches on species of *Helichrysum* growing in Turkey from the point of view of pharmaceutical botany. *J Fac Pharm Ankara Univ*. 1978;8:1-14.
- Thring TS, Hili P, Naughton DP. Anti-collagenase, anti-elastase and anti-oxidant activities of extracts from 21 plants. *BMC Complement Altern Med*. 2009;9:27.
- Trott O, Olson AJ. AutoDock Vina: Improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading. *J Comput Chem*. 2010;31:455-61.
- TÜBİVES. [Internet]. 2025 [Erişim tarihi 18 Haziran 2025]. Erişim adresi: http://194.27.225.161/yasin/tubives/index.php?sayfa=1&tax_id=4751
- Umaz A, Umaz K. İki farklı lokasyona ait altın otunun (*Helichrysum arenarium*) uçucu bileşenlerinin belirlenmesi ve karşılaştırılması. *Gümüşhane Univ J Sci*. 2020;10(3):592-600.
- Viegas DA, Palmeira-de-Oliveira A, Salgueiro L, Martinez-de-Oliveira J, Palmeira-de-Oliveira R. *Helichrysum italicum*: from traditional use to scientific data. *J Ethnopharmacol*. 2014;151(1):54-65.
- Vrianty D, Qodariah RL, Widowati W, Sinaga APF, Fibrina D, Fachrial E et al. Comparison of antioxidant and anti-tyrosinase activities of pineapple (*Ananas comosus*) core extract and luteolin compound. *Jurnal Kedokteran Brawijaya*. (2019;30(4), 240-46.
- Wang D, Wang Z, Dai X, Zhang L, Li M. Apigenin and temozolomide synergistically inhibit glioma growth through the PI3K/AKT pathway. *Cancer Biother Radiopharm*. 2024;39(2):125-32.
- Wang R, Ding A, Wang J, Wang J, Zhou Y, Chen M, et al. Astragalin from *Thesium chinense*: A novel anti-aging and antioxidant agent targeting IGFR/CD38/Sirtuins. *Antioxidants*. 2024;13(7):859.
- Wear D. Enhancing chemotherapy-induced cell death in neuroblastoma and glioblastoma [PhD thesis]. Windsor, Canada: University of Windsor; 2022.
- Wen PY, Kesari S. Malignant gliomas in adults. *N Engl J Med*. 2008;359(5):492-507.

- Xiong G, Wu Z, Yi J, Fu L, Yang Z, Hsieh C, et al. Nucleic Acids Res. 2021;49(1):5.
- Xiong Y, Lai X, Xiang W, Zhou J, Han J, Li H, et al. Galangin (GLN) suppresses proliferation, migration, and invasion of human glioblastoma cells by targeting Skp2-induced epithelial–mesenchymal transition (EMT). Onco Targets Ther. 2020;9235-44.
- Xu Z, Chang L. Asteraceae. In: Flora of Singapore. Singapore: Springer; 2017. s. 441-721.
- Yıldız G, Şeker Karatoprak G, İlgün S, Yılmaz MA, Köse YB, Zengin G. The relationship between the chemical components and skin-related enzyme inhibition, antioxidant activities and toxicity profile of *Helichrysum armenium* subsp. *armenium*. Plant Biosyst. 2024;158(1):119-29.
- Yılmaz MA. Simultaneous quantitative screening of 53 phytochemicals in 33 species of medicinal and aromatic plants: A detailed, robust and comprehensive LC-MS/MS method validation. Ind Crops Prod. 2020;149:112347.
- Zehiroğlu C, Öztürk Sarıkaya SB. The importance of antioxidants and place in today's scientific and technological studies. J Food Sci Technol. 2019;56:4757-74.
- Zhou X, Wang F, Zhou R, Song X, Xie M. Apigenin: A current review on its beneficial biological activities. J Food Biochem. 2017;41(4):e12376.

ÖZGEÇMİŞ



EKLER

EK 1. Çalışma Onay Sayfası

Evrak Tarih ve Sayısı: 15.09.2025-33009



T.C. VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ GİRİŞİMSSEL OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KARAR FORMU

BAŞVURU BİLGİLERİ	ARAŞTIRMANIN AÇIK ADI	<i>Helichrysum armenium</i> Subsp. <i>Araximum</i> Üzerine Farmakognozik Araştırmalar				
	ARAŞTIRMA PROTOKOL KODU	Yok				
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACI UNVANI/ADI/SOYADI	Dr. Öğr. Üyesi Burak KUZU				
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ UZMANLIK ALANI	Farmasötik Kimya				
	KOORDİNATÖR/SORUMLU ARAŞTIRMACININ BULUNDUĞU MERKEZ	Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Kimya AD				
	DESTEKLEYİCİ	Var				
	DESTEKLEYİCİNİN YASAL TEMSİLCİSİ	Van YYÜ BAP Koor. Birimi				
	ARAŞTIRMANIN TÜRÜ	Tüm gözlemsel çalışmalar				☐
		Anket çalışmaları				☐
		Dosya ve görüntü kayıtları kullanılarak yapılan retrospektif arşiv taramaları ve benzeri gözlemsel çalışmalar				☐
		Kan, idrar, doku, görüntü gibi biyokimya, mikrobiyoloji, patoloji ve radyoloji koleksiyon materyalleriyle veya rutin muayene, tetkik, tahlil ve tedavi işlemleri sırasında elde edilmiş materyallerle yapılacak çalışmalar				☐
		Rutin tetkik ve tedavi işlemleri sırasında elde edilmiş materyallerle yapılacak çalışma				☐
		Hücre veya doku kültürü çalışmaları				☒
		Gen tedavisi klinik araştırmaları dışında kalan ve tanımlamaya yönelik olarak genetik materyalle yapılacak araştırmalar				☐
		Hemşirelik faaliyetlerinin sınırları içerisinde yapılacak araştırmalar				☐
Gıda katkı maddeleriyle yapılacak diyet çalışmaları					☐	
Egzersiz gibi vücut fizyolojisi ile ilgili araştırmalar					☐	
Antropometrik ölçümlere dayalı yapılan çalışmalar				☐		
Yaşam alışkanlıklarının değerlendirilmesi araştırmaları gibi insana bir hekimin doğrudan müdahalesini gerektirmeden yapılacak olan tüm araştırmalar				☐		
Diğer :				☐		
ARAŞTIRMAYA KATILAN MERKEZLER	TEK MERKEZ ☒	ÇOK MERKEZLİ ☐	ULUSAL ☒	ULUSLARARASI ☐		
DEĞERLENDİRİLEN DİĞER BELGİLER	Belge Adı		Açıklama			
	ARAŞTIRMA BÜTÇESİ		☒			
	BİYOLOJİK MATERİYEL TRANSFER FORMU		☐			
	YILLIK BİLDİRİM		☐			
	SONUÇ RAPORU		☐			
	DİĞER:		☒ İyi Klinik Uygulamaları Taahhütnamesi, Tüm Araştırmacılara Ait Özgeçmiş, Anabilim Dalı Yazısı, Literatür			

Sayfa 1/2

Adres : Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Kütüphane Daire Başkanlığı

Tel : 432- 2251701-05

Faks : 432-2251091

E-posta : etikkur@vnyu.edu.tr

Bu belge elektronik ortamda onaylanmıştır.

Evrak sorgulaması <https://turkiye.gov.tr/ebd?ek=4575&eD=BS97RBSLS2&eS=33009> adresinden yapılabilir.



T.C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
GİRİŞİMSSEL OLMAYAN
KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU
KARAR FORMU

KARAR BİLGİLERİ	Karar No: 2025/08-23	Tarih: 26/08/2025
	Dr. Öğr. Üyesi Burak KUZU sorumluluğunda yapılması tasarlanan ve yukarıda başvuru bilgileri verilen " <i>Helichrysum armenicum</i> Subsp. <i>Araxinum</i> Üzerine Farmakognozik Araştırmalar" dikkate alınarak incelenmiştir. Araştırmacıların Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulunun Çalışma Esasları Hakkında Yönergesinde belirtilen hususları yerine getirdikleri belirlenmiş olup, çalışmalarını ile ilgili tüm sorumluluk araştırmacılara ait olmak üzere, söz konusu çalışmanın gerçekleştirilmesinde sakınca bulunmadığına, toplantıyla katılan Etik Kurul üye tam sayısının salt çoğunluğu/oy birliği ile karar verilmiştir.	
	GİRİŞİMSSEL OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU	
	ETİK KURULUN ÇALIŞMA ESASI	Klinik Araştırmalar Hakkında Yönetmelik, İyi Klinik Uygulamaları Kılavuzu
BAŞKAN UNVANI / ADI / SOYADI:		Prof. Dr. Hamit Hakan ALP

Unvanı/Adı/Soyadı	Uzmanlık Alanı	Kurumu	Cinsiyet		Araştırma ile ilgili		Katılım *		İmza
Prof. Dr. Hamit Hakan ALP	Tıbbi Biyokimya	Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Prof. Dr. Hülya GÜNBATAR	Göğüs Hastalıkları	Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☐	H ☒	
Prof. Dr. Sıddık KESKİN	Biyoistatistik	Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Doç. Dr. Zehra KAYA	Tıbbi Biyoloji	Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Doç. Dr. Sermin ALGÜL	Fizyoloji	Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Doç. Dr. Fatma DURMAZ	Radyoloji	Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Dr. Öğr. Üyesi Rıdvan KILIÇ	Kulak Burun Boğaz	Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Doç. Dr. Dicle ALTINDAL	Periodontoloji	Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Dr. Öğr. Üyesi Cemile Hürrem AYHAN	Psikiyatri Hemşireliği	Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Dr. Öğr. Üyesi Kemal Alp NALCI	Tıbbi Farmakoloji	Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☒	H ☐	
Dr. Öğr. Üyesi Selver BEZGİN	Hemşirelik	Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Fakültesi	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☐	H ☒	
Derya Dicle ÖZÇİÇEK	Eczacı	Van Eczacılar Odası	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☐	H ☒	
Özge Burak DEĞER	Sağlık Mesleği Mensubu Olmayan Üye	Van Sanayiciler ve İş Kadınları Derneği	E ☐	K ☒	E ☐	H ☒	E ☐	H ☒	
Adnan SELÇUK	Sağlık Mesleği Mensubu Olmayan Üye	Van İş Geliştirme Merkezi	E ☒	K ☐	E ☐	H ☒	E ☐	H ☒	

Sayfa 2/2

Adres : Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Kütüphane Daire Başkanlığı

Tel : 432- 2251701-05

Faks : 432-2251091

e-posta: etikkur@vnyu.edu.tr

Bu belge elektronik ortamda onaylanmıştır.

Evrak sorgulaması <https://turkiye.gov.tr/ebd?ek=4575&ed=BS97RBLS2&es=33009> adresinden yapılabilir.

Ek 2. Tez Orijinallik Raporu



T.C.
VAN YÜZÜNCÜ YIL ÜNİVERSİTESİ
Sağlık Bilimleri Enstitüsü



G19 –TEZ ORJİNALLİK RAPORU

Tez Başlığı / Konusu	HELICHRYSUM ARMENIUM SUBSP. ARAXINUM ÜZERİNE FARMAKOGNOZİK ARAŞTIRMALAR			
İntihal taraması yapılan bölümler ve sayfa sayıları				
Kapak sayfası	Giriş	Ana bölümler	Sonuç bölümleri	Toplam sayfa sayısı
1	3	40	10	54
İntihal taraması yapılan program		Taramanın yapıldığı tarih		Benzerlik oranı %
iThenticate		09/12/ 2025		%12
*Uygulanan filtreler aşağıda verilmiştir:				
- Kabul ve onay sayfası hariç, - Teşekkür hariç, - İçindekiler hariç, - Simge ve kısaltmalar hariç, - 7 kelimeden daha az örtüşme içeren metin kısımları hariç (Limit match size to 7 words) - Gereç ve yöntemler hariç, - Kaynakça hariç, - Alıntılar hariç, - Tezden çıkan yayınlar hariç,				
Van Yüzüncü Yıl Üniversitesi Lisansüstü Tez Orijinallik Raporu Alınması ve Kullanılmasına İlişkin Yönergeyi inceledim ve bu yönergede belirtilen azami benzerlik oranlarına göre tez çalışmamın herhangi bir intihal içermediğini; aksinin tespit edileceği muhtemel durumda doğabilecek her türlü hukuki sorumluluğu kabul ettiğimi ve yukarıda vermiş olduğum bilgilerin doğru olduğunu beyan ederim. Gereğini bilgilerinize arz ederim. Dilara URGAN (Öğrencinin Adı Soyadı) İmza)				
Öğrencinin Adı Soyadı	Dilara URGAN			
Anabilim Dalı	Eczacılık Meslek Bilimleri Anabilim Dalı			
Öğrenci No	22930006007			
Programı	☒ Yüksek Lisans ☐ Doktora			
DANIŞMAN ONAYI UYGUNDUR Dr. Öğr. Üyesi Gülsüm YILDIZ		ENSTİTÜ ONAYI UYGUNDUR		