



T.C.
SAĞLIK BİLİMLERİ ÜNİVERSİTESİ
HAMİDİYE SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

***HELICHRYSUM ARENARIUM, MENTHA
ROTUNDIFOLIA ve ORIGANUM
MAJORANA BİTKİLERİNDEN
ANTIAGING ÜRÜN GELİŞTİRİLMESİ,
OPTİMİZASYONU VE AKTİVİTE
ANALİZLERİ***

DİREN ERGİN

**TEZ DANIŞMANI
PROF. DR. MAHFUZ ELMASTAŞ**

**FİTOTERAPİ ANA BİLİM DALI
FİTOTERAPİ DOKTORA PROGRAMI**

**DOKTORA TEZİ
OCAK/2024**

TEZ KABUL ONAYI

Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Hamidiye Sağlık Bilimleri Enstitüsü
.....Ana Bilim Dalı..... Programında
.....tarafından hazırlananbaşlıklı tez
çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ/OY ÇOKLUĞU ile YÜKSEK
LİSANS/DOKTORA TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman/Başkan: Unvanı Adı SOYADI
Üniversite Adı, Ana Bilim Dalı Adı
Bu tezin Yüksek Lisans/Doktora Tezi olduğunu
onaylıyorum/onaylamıyorum

İMZA

.....

Üye: Unvanı Adı SOYADI
Üniversite Adı, Ana Bilim Dalı Adı
Bu tezin Yüksek Lisans/Doktora Tezi olduğunu
onaylıyorum/onaylamıyorum

İMZA

.....

Üye: Unvanı Adı SOYADI
Üniversite Adı, Ana Bilim Dalı Adı
Bu tezin Yüksek Lisans/Doktora Tezi olduğunu
onaylıyorum/onaylamıyorum

İMZA

.....

Üye: Unvanı Adı SOYADI
Üniversite Adı, Ana Bilim Dalı Adı
Bu tezin Yüksek Lisans/Doktora Tezi olduğunu
onaylıyorum/onaylamıyorum

İMZA

.....

Üye: Unvanı Adı SOYADI
Üniversite Adı, Ana Bilim Dalı Adı
Bu tezin Yüksek Lisans/Doktora Tezi olduğunu
onaylıyorum/onaylamıyorum

İMZA

.....

Tez Savunma Sınavı Tarihi:/...../.....

Jüri üyeleri tarafından YÜKSEK LİSANS/DOKTORA tezi olarak uygun görülmüş
olan bu tez Sağlık Bilimleri Üniversitesi, Hamidiye Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim
Kurulu kararı ile onaylanmıştır.

Hamidiye Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü

BEYAN

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

- Mevcut tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu,
- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Mevcut tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı, bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

(İmza)

Diren ERGİN

22 Ocak 2024

İTHAF

Bu çalışmayı canım aileme ithaf ediyorum.

TEŞEKKÜR

Doktora eğitim sürecim boyunca tecrübe ve bilgileriyle her zaman yol gösteren, akademik ve psikolojik desteğini her zaman hissettiğim çok değerli tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Mahfuz ELMASTAŞ'a

Çalışmamızda anti-aging aktivite deneylerinde yardımlarını esirgemeyen, her zaman bilgi ve tecrübesiyle destek olan değerli hocam Dr. Öğr. Üyesi Timur Hakan BARAK'a

Bitkilerimin teşhisinde ve botanik açıdan incelenmesinde her zaman yardımcı olan, bilgi ve tecrübesiyle tezimin her aşamasında desteğini esirgemeyen, akıl veren, yol gösteren Farmasötik Botanik ve Farmakognozi Anabilim Dalı Başkanı değerli hocam Dr. Öğr. Üyesi Ebru ÖZDEMİR NATH'a

Çalışmamızda kullanılacak emülgellerin hazırlanmasında ve analizlerinde bilgi ve yardımlarını esirgemeyen değerli hocam Dr. Öğr. Üyesi Emre Şefik ÇAĞLAR'a

Çalışmamızda, kimyasal içerik analizlerinde her zaman yardımcı olan değerli hocam Dr. Öğr. Üyesi Duygu MISIRLI'ya

Bilgi ve deneyimlerini paylaşarak her zaman destek olan, yol gösteren Altınbaş Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dekanı Yardımcısı değerli hocam Sayın Dr. Öğr. Üyesi Yasemin Yücel YÜCEL'e

Lisans döneminden bugüne, doktora sürecine kadar manevi ve akademik desteklerini esirgemeyen çok değerli sınıf arkadaşım Ecz. Zeynep ÇELİK'e

Doktora sürecinde her zaman destek olan çok değerli arkadaşım Ecz. Tuğba Buse ŞENTÜRK'e

Desteklerini her zaman yanımda hissettiğim çok değerli arkadaşlarım Ecz. Serel ULUSOY, Ecz. Mehmet KALAYI, Ecz. Sefa SÖNMEZ, Dr. Ecz. Erkan YAŞAR, Dr. Öğr. Üyesi Aykut KURT, Ecz. Irmak ALEV, Ecz. Nur Öztürk ve doktora sürecini birlikte yürüttüğümüz çok değerli arkadaşım Fatıma UZAR'a

Desteklerini ve sevgilerini her zaman hissettiğim, maddi manevi hep yanımda olan biricik anne, baba ve kardeşlerime sonsuz teşekkür ederim.

Ayrıca 2021/055 Proje No ile bu araştırmanın gerçekleşmesine maddi katkı sağlayan Sağlık Bilimleri Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) birimine teşekkürlerimi sunarım.



İÇİNDEKİLER

İTHAF.....	iv
TEŞEKKÜR.....	v
İÇİNDEKİLER	vii
TABLolar LİSTESİ.....	xi
ŞEKİLLER LİSTESİ	xiii
SİMGELER VE KISALTMALAR	xvi
ÖZET	xix
ABSTRACT.....	xxi
1.GİRİŞ VE AMAÇ.....	1
2.GENEL BİLGİLER	4
2.1.BOTANİK KISIM	4
2.1.1.Lamiaceae Familyası	4
2.1.1.1. <i>Origanum</i> cinsi	5
2.1.1.2. <i>Mentha</i> cinsi.....	6
2.1.2. Asteraceae Familyası	8
2.1.2.1. <i>Helichrysum</i> cinsi	8
2.2. <i>ORİGANUM</i> L., <i>MENTHA</i> L. VE <i>HELİCHRYSUM</i> MİLL. TÜRLERİNE AİT ETNOBOTANİK KAYITLAR	11
2.2.1. <i>Origanum</i> L. Cinsine Ait Etnobotanik Kayıtlar.....	11
2.2.2. <i>Mentha</i> L. Cinsine Ait Etnobotanik Kayıtlar.....	12
2.2.3. <i>Helichrysum</i> Mill. Cinsine ait etnobotanik kayıtlar.....	13
2.3.FİTOKİMYASAL BİLGİLER	14
2.3.1. <i>Origanum majorana</i> ’ ya Ait Fitokimyasal Çalışmalar	14
2.3.2. <i>Mentha rotundifolia</i> ’ ya Ait Fitokimyasal Çalışmalar.....	17
2.3.3. <i>Helichrysum arenarium</i> ’ a Ait Fitokimyasal Çalışmalar.....	19
2.4. BİYOAKTİVİTE ÇALIŞMALARI.....	21
2.4.1. <i>Origanum majorana</i> ’ ya Ait Biyoaktivite Çalışmaları	21
2.4.1.1 Antioksidan aktivite:.....	21
2.4.1.2 Antimikrobiyal aktivite:.....	22
2.4.1.3 Gastrointestinal sistem üzerine etkiler:	24
2.4.1.4 Antidiyabetik aktivite:	24
2.4.1.5 Antiproliferatif aktivite:.....	25
2.4.1.6 Diğer aktiviteler:	26
2.4.2. <i>Mentha rotundifolia</i> ’ ya Ait Biyoaktivite Çalışmaları.....	26

2.4.2.1. Antioksidan aktivite	26
2.4.2.2. Antimikrobiyal aktivite	28
2.4.2.3. Antienflamatuvar aktivite	29
2.4.2.4. Antiproliferatif aktivite	30
2.4.2.5. İnsektisidal aktivite	30
2.4.2.6. Antitirozinaz aktivite	31
2.4.2.7. Nöroprotektif etki	31
2.4.2.8. Diğer aktiviteler	31
2.4.3. <i>Helichrysum arenarium</i> ’ a Ait Biyoaktivite Çalışmaları.....	32
2.4.3.1. Antioksidan aktivite	32
2.4.3.2. Antimikrobiyal aktivite	33
2.4.3.3 Anti-enflamatuvar aktivite	33
2.4.3.4 Spazmolitik aktivite	34
2.4.3.5 Diüretik aktivite	34
2.4.3.6 Sitotoksik ve genotoksik etki	34
2.4.3.7 Diğer aktiviteler	35
2.5 DERİNİN YAŞLANMASI VE ANTİ-AGING.....	36
2.5.1 Deri	36
2.5.1.1 Epidermis	36
2.5.1.2 Dermis.....	37
2.5.1.3 Hipodermis.....	37
2.5.2 Derinin Yaşlanması.....	37
2.5.2.1 Doğal yaşlanma.....	38
2.5.2.2 Çevresel faktörlere bağlı yaşlanma	38
2.5.3 Deri Yaşlanmasının Moleküler Mekanizmaları.....	40
2.5.3.1 Kolajen yıkımı	40
2.5.3.2 Matriks metalloproteinaz (MMP) seviyelerinde artış	40
2.5.3.3 Elastin liflerin yenilenememesi	41
2.5.3.4 Glikozaminoglikanlardaki (GAG) değişimler	41
2.5.4 Anti-aging Tedavi Yöntemleri.....	42
2.5.4.1. İnvazif olmayan yöntemler	43
2.5.4.2. İnvaziv yöntemler	48
2.6. YAŞLANMA KARŞITI ÜRÜNLERDE KULLANILAN TOPİKAL DOZAJ FORMLARI.....	50
2.6.1. Solüsyon.....	50
2.6.2. Emülsiyon	51
2.6.3. Losyon	51

2.6.4. Krem	51
2.6.5. Merhem	52
2.6.6. Jel	52
2.6.7. Emüljel	52
2.6.7.1. Emüljellerin hazırlanması için gerekli olan bileşenler	53
3.GEREÇ VE YÖNTEM	55
3.1.BİTKİSEL MATERYAL	55
3.2.KULLANILAN KİMYASAL MALZEMELER	56
3.3.KULLANILAN CİHAZLAR	59
3.4. EKSTRELERİN HAZIRLANMASI	59
3.5.FORMÜLASYONLARIN HAZIRLANMASI	60
3.5.1. Boş ve Yüklü Emüljel Formülasyonlarının Karakterizasyonu	61
3.5.1.1. Formülasyonların pH ölçümü	61
3.5.1.2. Formülasyonların viskozite ölçümü	61
3.5.1.3. Formülasyonların tekstür profil analizleri	61
3.5.1.4. Formülasyonların yayılabilirlik analizleri	61
3.6. ANTİOKSİDAN AKTİVİTE TAYİN YÖNTEMLERİ	61
3.6.1. 2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil (DPPH*) Serbest Radikal Giderme Aktivitesi	62
3.6.2. Bakır (II) İyonu İndirgeme (CUPRAC) Antioksidan Aktivitesi	62
3.6.3. Demir (III) İyonu İndirgeyici (FRAP) Antioksidan Aktivitesi	63
3.6.4. Toplam Antioksidan Kapasite Tayin Yöntemi	63
3.7.CİLT ENZİMLERİ İNHİBİSYON AKTİVİTELERİ	63
3.7.1. Tirozinaz İnhibisyon Aktivitesi	63
3.7.2. Elastaz İnhibisyon Aktivitesi	64
3.7.3. Kolajenaz İnhibisyon Aktivitesi	64
3.7.4. Hyaluronidaz İnhibisyon Aktivitesi	65
3.8. GÜNEŞ KORUMA FAKTÖRÜNÜN BELİRLENMESİ	65
3.9.FİTOKİMYASAL İÇERİĞİN TANIMLANMASI VE KANTİTATİF ANALİZİ ..	66
3.9.1 HPLC Cihazı ve Kromatografik Şartlar	66
3.10. İSTATİSTİKSEL ANALİZ	70
4.BULGULAR	71
4.1. 2,2-DİFENİL-1-PİKRİLHİDRAZİL (DPPH*) SERBEST RADİKAL GİDERME AKTİVİTESİ BULGULARI	71
4.2. BAKIR (II) İYONU İNDİRGEME ANTİOKSİDAN (CUPRAC) AKTİVİTE BULGULARI	74
4.3. DEMİR (III) İYONU İNDİRGEYİCİ ANTİOKSİDAN (FRAP) BULGULARI	78
4.4 TOPLAM ANTİOKSİDAN KAPASİTE TAYİN (TOAC) BULGULARI	82
4.5.KANTİTATİF FENOLİK BİLEŞİK ANALİZ BULGULARI	86

4.5.1. <i>O. majorana</i> Ekstrelerinin Bulguları	86
4.5.2 <i>M. rotundifolia</i> Ekstrelerinin Bulguları	90
4.5.3. <i>H. arenarium</i> subsp. <i>aucheri</i> Ekstrelerinin Bulguları.....	94
4.5.4. <i>O. majorana</i> , <i>M. rotundifolia</i> ve <i>H. arenarium</i> subsp. <i>aucheri</i> Bitkilerinin Karışımına Ait Etanol Ekstresinin Bulguları	98
4.5.5. Ekstre Yüklü Emülel Formülasyonlarının Bulguları	100
4.6. TİROZİNAZ İNHİBİSYON ETKİNLİK SONUÇLARI	109
4.7. ELASTAZ İNHİBİSYON ETKİNLİK SONUÇLARI.....	114
4.8. KOLAJENAZ İNHİBİSYON ETKİNLİK SONUÇLARI	119
4.9. HYALURONİDAZ İNHİBİSYON ETKİNLİK SONUÇLARI.....	125
4.10. JEL FORMÜLASYONLARININ ANALİZ SONUÇLARI	131
4.10.1. Formülasyonların pH ve Viskozite Ölçümü	131
4.10.2. Formülasyonların Tekstür Profil Analizleri.....	132
4.10.3. Formülasyonların Yayılabilirlik Analizleri	132
4.11. GÜNEŞTEN KORUYUCU FAKTÖR (SPF) HESAPLAMA ÇALIŞMALARINA AİT BULGULAR	137
5. TARTIŞMA	139
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER.....	158
KAYNAKLAR	159

TABLÖLAR LİSTESİ

Tablo 2.1: <i>Origanum</i> türlerinin cilt üzerindeki kullanımına ait etnobotanik kayıtlar.....	11
Tablo 2.2: <i>Mentha</i> türlerinin cilt üzerindeki kullanımına ait etnobotanik kayıtlar.....	12
Tablo 2.3: <i>Helichrysum</i> türlerinin cilt üzerindeki kullanımına ait etnobotanik kayıtlar.....	14
Tablo 2.4: <i>O. majorana</i> 'nın kimyasal içeriği.....	16
Tablo 2.5: <i>Mentha rotundifolia</i> 'nın kimyasal içeriği.....	18
Tablo 2.6: <i>Helichrysum arenarium</i> 'un kimyasal içeriği.....	21
Tablo 2.7: Anti-aging tedavi stratejileri.....	42
Tablo 2.8: Topikal olarak kozmetik amaçlı kullanılan peptitler.....	45
Tablo 3.1: Kullanılan kimyasal malzemeler	56
Tablo 3.2: Emülsiyon formülasyonunun içeriği	60
Tablo 3.3: HPLC pompa programı.....	66
Tablo 3.4: Standart olarak kullanılan fenolik bileşiklerin HPLC analiz bilgileri	68
Tablo 4.1: Bitkilerin farklı polaritedeki çözücülerle hazırlanan ekstraktlarına ait DPPH• radikal süpürücü aktiviteleri	71
Tablo 4.2: Cu (II) İyonu İndirgeyici Antioksidan Kapasitesi Bulguları	75
Tablo 4.3: Demir (III) İyonu İndirgeyici Antioksidan Kapasitesi Bulguları	79
Tablo 4.4: TOAC bulguları.....	83
Tablo 4.5: <i>O. majorana</i> ekstraktlarının HPLC-DAD analiz sonuçları	90
Tablo 4.6: <i>M. rotundifolia</i> ekstraktlarının HPLC-DAD analiz sonuçları	94
Tablo 4.7: <i>H. arenarium</i> subsp. <i>aucheri</i> ekstraktlarının HPLC-DAD analiz sonuçları.....	98
Tablo 4.8: <i>O. majorana</i> , <i>M. rotundifolia</i> ve <i>H. arenarium</i> subsp. <i>aucheri</i> bitkilerinin karışımına (KR) ait etanol ekstraktının HPLC-DAD analizi	100
Tablo 4.9: Ekstre yüklü jellere ait HPLC-DAD analizi	108
Tablo 4.10: Ekstrelerin ve ekstre yüklü jellerin tirozinaz inhibisyonları.....	110
Tablo 4.11: Ekstrelerin ve ekstre yüklü jellerin elastaz inhibisyonları.....	115

Tablo 4.12: Ekstrelerin ve ekstre yüklü jellerin anti-kolajenez aktivitesi	121
Tablo 4.13: Ekstrelerin ve ekstre yüklü jellerin anti-hyaluronidaz aktivitesi	127
Tablo 4.14: Boş ve yüklü formülasyonların pH ve viskozite sonuçları.....	131
Tablo 4.15: Boş ve yüklü formülasyonların tekstür profil analizi sonuçları	133
Tablo 4.16: Boş ve yüklü formülasyonların yayılabilirlik çalışması sonuçları	135
Tablo 4.17: <i>O. majorana</i> , <i>M. rotundifolia</i> ve <i>H. arenarium</i> subsp. <i>aucheri</i> bitkileri etanol ekstrelerine ait SPF sonuçları	137
Tablo 4.18: <i>O. majorana</i> , <i>M. rotundifolia</i> ve <i>H. arenarium</i> subsp. <i>aucheri</i> bitkileri etanol ekstresi yüklü emüljel formülasyonlarına ait SPF sonuçları	138
Tablo 5.1: Yaşlanma karşıtı etki gösteren bitkiler ve olası etki mekanizmaları.....	146

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1: Gallik asit	15
Şekil 2.2: Kafeik asit	15
Şekil 2.3: Klorojenik asit.....	15
Şekil 2.4: Eriositrin.....	18
Şekil 2.5: Rosmarinik asit	18
Şekil 2.6: Helichrysin B	20
Şekil 2.7: Helichrysin A	20
Şekil 3.1: <i>Helichrysum arenarium</i> subsp. <i>aucheri</i> (HERA 1035) herbaryum örneği.....	55
Şekil 3.2: <i>Origanum majorana</i> (HERA 729) herbaryum örneği.....	56
Şekil 3.3: 15 Fenolik bileşiğin 254 nm'deki HPLC kromatogramı	69
Şekil 4.1: DPPH' Radikal giderme aktivitesinde kullanılan BHT' nin kalibrasyon grafiği	72
Şekil 4.2: <i>Origanum majorana</i> ' ya ait DPPH' radikal süpürücü aktivite	72
Şekil 4.3: <i>Mentha rotundifolia</i> ' ya ait DPPH' radikal süpürücü aktivite	73
Şekil 4.4: <i>Helichrysum arenarium</i> subsp. <i>aucheri</i> ' ye ait DPPH' radikal süpürücü aktivite	74
Şekil 4.5: Askorbik asidin bakır (II) iyonu indirgeme aktivitesinde kullanılan kalibrasyon grafiği.....	75
Şekil 4.6: <i>Origanum majorana</i> ' ya ait Bakır (II) iyonu indirgeme aktivitesi.....	76
Şekil 4.7: <i>Mentha rotundifolia</i> 'ya ait Bakır (II) iyonu indirgeme aktivitesi	77
Şekil 4.8: <i>Helichrysum arenarium</i> subsp. <i>aucheri</i> ' ye ait Bakır (II) iyonu indirgeme aktivitesi.....	78
Şekil 4.9: Fe ²⁺ FRAP aktivitesinde kullanılan kalibrasyon grafiği	79
Şekil 4.10: <i>Origanum majorana</i> ' ya ait Demir (III) iyonu indirgeme aktivitesi	80
Şekil 4.11: <i>Mentha rotundifolia</i> 'ya ait Demir (III) iyonu indirgeme aktivitesi	81

Şekil 4.12: <i>Helichrysum arenarium</i> subsp. <i>aucheri</i> ’ ye ait Demir (III) iyonu indirgeme aktivitesi.....	82
Şekil 4.13: Askorbik asidin TOAC aktivitesinde kullanılan kalibrasyon grafiği.....	83
Şekil 4.14: <i>Origanum majorana</i> ’ ya ait TOAC aktivitesi.....	84
Şekil 4.15: <i>Mentha rotundifolia</i> ’ya ait TOAC aktivitesi.....	85
Şekil 4.16: <i>Helichrysum arenarium</i> subsp. <i>aucheri</i> ’ ye ait TOAC aktivitesi	86
Şekil 4.17: <i>O. majorana</i> etanol ekstresine ait HPLC kromatogramı.....	87
Şekil 4.18: <i>O. majorana</i> etil asetat ekstresine ait HPLC kromatogramı	88
Şekil 4.19: <i>O. majorana</i> su ekstresine ait HPLC kromatogramı.....	89
Şekil 4.20: <i>M. rotundifolia</i> etanol ekstresine ait HPLC kromatogramı.....	91
Şekil 4.21: <i>M. rotundifolia</i> etil asetat ekstresine ait HPLC kromatogramı	92
Şekil 4.22: <i>M. rotundifolia</i> su ekstresine ait HPLC kromatogramı.....	93
Şekil 4.23: <i>H. arenarium</i> subsp. <i>aucheri</i> etanol ekstresine ait HPLC kromatogramı	95
Şekil 4.24: <i>H. arenarium</i> subsp. <i>aucheri</i> etil asetat ekstresine ait HPLC kromatogramı ...	96
Şekil 4.25: <i>H. arenarium</i> subsp. <i>aucheri</i> su ekstresine ait HPLC kromatogramı	97
Şekil 4.26: KR etanol ekstresine ait HPLC kromatogramı	99
Şekil 4.27: Boş jel formülasyonuna ait HPLC kromatogramı.....	101
Şekil 4.28: <i>O. majorana</i> etanol ekstresi yüklü emüljel formülasyonuna ait HPLC kromatogramı.....	102
Şekil 4.29: <i>M. rotundifolia</i> etanol ekstresi yüklü emüljel formülasyonuna ait HPLC kromatogramı.....	103
Şekil 4.30: <i>H. arenarium</i> subsp. <i>aucheri</i> etanol ekstresi yüklü emüljel formülasyonuna ait HPLC kromatogramı.....	104
Şekil 4.31: KR etanol ekstresi yüklenen emüljele ait HPLC kromatogramı.....	105
Şekil 4.32: Üç bitki ekstresini eşit oranda içeren emüljele (HJ) ait HPLC kromatogramı	106
Şekil 4.33: <i>O. majorana</i> ’ nın farklı polaritede çözücülerle hazırlanan ekstrelerinin tirozinaz inhibisyonu.....	111

Şekil 4.34: <i>M. rotundifolia</i> ’nın farklı polaritede çözücülerle hazırlanan ekstrelerinin tirozinaz inhibisyonu.....	112
Şekil 4.35: <i>H. arenarium</i> subsp. <i>aucheri</i> ’nin farklı polaritede çözücülerle hazırlanan ekstrelerinin tirozinaz inhibisyonu.....	113
Şekil 4.36: Emüljellere ait tirozinaz inhibisyonu	114
Şekil 4.37: <i>O. majorana</i> ’nın farklı polaritede çözücülerle hazırlanan ekstrelerinin elastaz inhibisyonu.....	116
Şekil 4.38: <i>M. rotundifolia</i> ’nın farklı polaritede çözücülerle hazırlanan ekstrelerinin elastaz inhibisyonu.....	117
Şekil 4.39: <i>H. arenarium</i> subsp. <i>aucheri</i> ’nin farklı polaritede çözücülerle hazırlanan ekstrelerinin elastaz inhibisyonu.....	118
Şekil 4.40: Emüljellere ait elastaz inhibisyonu	119
Şekil 4.41: <i>O. majorana</i> ’nın farklı polaritede çözücülerle hazırlanan ekstrelerinin kolajenaz inhibisyonu.....	122
Şekil 4.42: <i>M. rotundifolia</i> ’nın farklı polaritede çözücülerle hazırlanan ekstrelerinin kolajenaz inhibisyonu	123
Şekil 4.43: <i>H. arenarium</i> subsp. <i>aucheri</i> ’nin farklı polaritede çözücülerle hazırlanan kolajenaz inhibisyonu	124
Şekil 4.44: Emüljellere ait kolajenaz inhibisyonu.....	125
Şekil 4.45: <i>O. majorana</i> ’nın farklı polaritede çözücülerle hazırlanan ekstrelerinin hyaluronidaz inhibisyonu.....	128
Şekil 4.46: <i>M. rotundifolia</i> ’nın farklı polaritede çözücülerle hazırlanan ekstrelerinin hyaluronidaz inhibisyonu.....	129
Şekil 4.47: <i>H. arenarium</i> subsp. <i>aucheri</i> ’nin farklı polaritede çözücülerle hazırlanan ekstrelerinin hyaluronidaz inhibisyonu.....	130
Şekil 4.48: Emüljellere ait hyaluronidaz inhibisyonu	131
Şekil 4.49: Formülasyonların tekstür profil analizlerinin grafik olarak görünüm.....	134
Şekil 4.50: Formülasyonların yayılabilirlik çalışmalarının grafik olarak görünümü	136

SİMGELER VE KISALTMALAR

A	: Absorbans
AA	: Askorbik Asit
ABTS	: 2,2'-azino-di-[3-ethylbenzthiazoline sulphonate]
ACH	: Asetilkolin
BHA	: Bütillenmiş hidroksi anisol
BHT	: Bütillenmiş hidroksi toluen
CUPRAC	: Bakır (II) iyonu indirgeme antioksidan kapasitesi
dk	: Dakika
DMSO	: Dimetilsülfoksit
DPPH•	: 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil
EC	: Etkili Konsantrasyon
ECM	: Ekstraselüler matriks
EGCG	: Epigallokateşin gallat
EtAc	: Etil asetat
EtOH	: Etanol
FALGPA	: N-(3-[2-furil]akriloil)-Leu-Gly-Pro-Ala
FRAP	: Demir (III) İndirgeme Gücü Aktivitesi
g	: Gram
GAE	: Gallik Asit Eşdeğeri
GAG	: Glukozaminoglikan
HA	: <i>H. arenarium</i> subsp. <i>aucheri</i> ,
HCl	: Hidroklorik asit
HERA	: Altınbaş Üniversitesi Herbarium

HPLC	: Yüksek Basınç Sıvı Kromatografisi
L	: Litre
LC-MS	: Sıvı kromatografisi- kütle spektrometresi
LC-MS/MS	: Sıvı kromatografisi kütle kütle spektrometresi
L-DOPA	: 3,4-Dihidroksi-L- fenilalanin
M	: Molar
mg	: Miligram
MBC	: Minimum bakterisidal konsantrasyon
MIK	: Minimum İnhibisyon Konsantrasyonu
mL	: Mililitre
mM	: Milimolar
MMP	: Matriks metalloproteinaz
MR	: <i>Mentha rotundifolia</i>
MRSA	: Metisiline Dirençli <i>Staphylococcus aureus</i>
MS	: Kütle spektrometresi
OM	: <i>Origanum majorana</i>
R•	: Radikal
ROS	: Reaktif Oksijen Türleri
SANA	: N-Succinyl-Ala-Ala-Ala-p-nitroanilide
SPF	: Sun Protection Factor
SOD	: Süperoksit dismutaz
TOAC	: Toplam Antioksidan Kapasite
U	: Unite
UV	: Görünür Bölge
vb	: ve benzeri
µg	: Mikrogram

μL : Mikrolitre

μM : Mikromolar



***HELİCHRYSUM ARENARIUM, MENTHA ROTUNDİFOLIA* VE *ORİGANUM MAJORANA* BİTKİLERİNDEN ANTIAGING ÜRÜN GELİŞTİRİLMESİ, OPTİMİZASYONU VE AKTİVİTE ANALİZLERİ**

ÖZET

Amaç: Bu çalışma *O. majorana* (OM), *M. rotundifolia* (MR) ve *H. arenarium* subsp. *aucheri*'nin (HR) cilt üzerindeki yaşlanma karşıtı etkinliğini belirlemek ve bu bitkilerden antiaging ürün geliştirmek için planlandı. Bu amaçla bitkilerin antitirozinaz, anti elastaz, kolajenaz, hyaluronidaz, fotokoruyucu ve antioksidan aktivite potansiyelleri araştırıldı.

Gereç ve Yöntem: Farklı polariteki çözücülerle hazırlanan ekstrelerin antioksidan etkinlikleri DPPH*, CUPRAC, FRAP ve TOAC yöntemleri ile belirlendi. Etanol ekstreleri kullanılarak emülgel formülasyonu tasarlandı. Ekstrelerin ve emülgelerin yaşlanma karşıtı etkinliklerini belirlemek için bitkilerin antitirozinaz, anti elastaz, kolajenaz, hyaluronidaz, fotokoruyucu etkinlikleri değerlendirildi. Ekstrelerin ve emülgelerin fenolik içeriği HPLC-DAD ile aydınlatıldı.

Bulgular: OM ve MR ekstrelerinin ana bileşeni rosmarinik asit olarak saptanırken, HA ekstresinin ana bileşeni apigenin-7-glukozit olarak saptandı. Emülgelerin kantatif fenolik bileşik analizinde ekstrelerle uyumlu bulundu. Kolajenaz ve hyaluronidaz inhibisyon etkinlik sonucuna göre en yüksek etkinlik MR'de saptandı. Bitkilerin karışımı ile hazırlanan etanol ekstresinin etkinliği MR'ye oldukça yakın olup, OM ve HA'nın etkinliğinden anlamlı üstün saptandı ($p<0,05$). Bitkilere ait etanol ekstrelerinin SPF değeri 24,226 ile 26,487 aralığında bulundu. Emülgelerin, anti-aging enzim inhibisyon etkinlikleri ve SPF değerleri ekstreler ile paralel bulundu.

Sonuç: Sonuç olarak bu çalışma, *M. rotundifolia* topraküstü etanol ekstresi ve MR etanol yüklenen emülgelin önemli yaşlanma karşıtı potansiyele sahip olduğunu ve bitkilerin karışımları ile hazırlanan etanol ekstresi ve emülgelinin OM ve HA'dan üstün yaşlanma karşıtı etkinlik gösterdiği ve bu amaçla kozmetik ürünlerin bileşimde yer alabileceklerini ortaya koymaktadır.

Anahtar Kelimeler: anti-aging, *H. arenarium* subsp. *aucheri*, *M. rotundifolia*, *O. majorana*



ANTIAGING PRODUCT DEVELOPMENT, OPTIMIZATION AND ACTIVITY ANALYSIS FROM *HELICHRYSUM ARENARIUM*, *MENTHA ROTUNDIFOLIA*, AND *ORIGANUM MAJORANA*

ABSTRACT

Aim: This study was designed to determine the anti-aging effectiveness of *O. majorana* (OM), *M. rotundifolia* (OR), and *H. arenarium* subsp. *aucheri* (HA) on skin and to develop anti-aging products from these plants. For this purpose antityrosinase, anti elastase, anticollagenase, antihyaluronidase, photoprotective as well as antioxidant activity potential were studied.

Materials and Methods: Antioxidant activities of extracts that prepared using solvents of different polarities were determined by DPPH^{*}, CUPRAC, FRAP and TOAC methods. Emulgel formulation was designed using ethanol extracts. To determine the anti-aging activities of extracts and emulgels, the antityrosinase, anti-elastase, anti-collagenase, anti-hyaluronidase and photoprotective activities were evaluated. The phenolic content of extracts and emulgels was identified by HPLC-DAD.

Results: While the main component of OM and MR extracts was detected as rosmarinic acid, the main component of HA extract was determined as apigenin-7-glucoside. Quantitative phenolic compound analysis of the emulgels was also found to be compatible with the extracts. According to the collagenase and hyaluronidase inhibition efficiency results, the highest efficiency was detected in MR. The effectiveness of the ethanol extract prepared with the mixture of plants was very close to MR and was significantly superior to the effectiveness of OM and HA ($p < 0.05$). The SPF value of ethanol extracts of plants was found to be between 24.226 and 26.487. The anti-aging enzyme inhibition activities and SPF values of the emulgels were found to be parallel to the extracts.

Conclusion: In conclusion, this study revealed that ethanol extract of *M. rotundifolia* and mixing of the plants and their emulgels have significant anti-aging potential than OM and MR. The study reveals that they can be included in the composition of cosmetic products for this purpose.

Key Words: anti-aging, *H. arenarium* subsp. *aucheri*, *M. rotundifolia*, *O. majorana*



1. GİRİŞ VE AMAÇ

Kozmetik uygulamaları dünya çapında 6000 yıllık insanlık tarihine dayanmaktadır (1). En eski kozmetik madde kayıtları M.Ö. 2500 ve 1550 dolaylarında, İndus vadisi medeniyetine kadar uzanmaktadır(2). Antik kültürlerde belgelenmiş kullanımlar arasında Hint yağı (eski Mısır'da koruyucu bir merhem olarak), balmumu (çeşitli eski kültürlerde cilt kremi olarak), zeytinyağı ve gül suyu (eski Roma'da) bulunmaktadır (3). Gelişen dünya düzeninde, bireylerin artan, sağlıklı, güzel ve bakımlı olma isteğiyle birlikte kişisel bakım ürünlerine olan ilgi ve talep artmaktadır.

Kişisel bakım ürünleri, geleneksel kozmetiklerle ilgili sağlık endişeleri konusunda tüketici farkındalığının artması ve cilt fizyolojisinin bilimsel olarak daha iyi anlaşılmasının sonucunda, yenilikçi doğal içeriklere sahip formülasyonlar olarak gelişmekte ve şekillenmektedir. Kozmetik uygulama dışında, ek olarak sağlık amaçlı kullanımı da olan bu ürünler, kozmetik ve ilaç ilkelerini birleştiren hibrit bir işlevselliğin ifadesi olarak "kozmesötikler" adıyla anılmaktadır (3). Son yıllarda insanların neredeyse her konuda sentetik kimyasallar yerine, doğal ürünlere ve özellikle de bitkisel olanlara karşı artan ilgisi de fitokozmetik ürünlere olan ihtiyacı arttırmıştır. Kozmesötik ürünlerin formülasyonuna giren monoetanolamin, dietanolamin, sodyum lauril sülfat, trietanolamin gibi aktif bileşenleri içeren birçok ürün olmasına rağmen bu aktif bileşenlerin fototoksisite, iritan kontakt dermatit, alerjik kontakt dermatit ve fotoalerjik reaksiyonlar gibi yan etkilere sebep olabilme potansiyelleri bitkisel ekstraktlara olan ilgiyi oldukça arttırmıştır. Doğal cilt bakım ürünleri, cildin yüzeysel katmanlardan rahatça absorbe olmakta ve genellikle hipoalerjenik özellikleriyle öne çıkmaktadırlar (4).

Deri, yetişkin bir insan vücudunun, toplam ağırlığının yaklaşık %15'ini oluşturan ve 1.5-2 m²'lik bir yüzey alanına sahip, vücuttaki en büyük organdır. Deri yaşlanması, endojen (doğal, zamana bağlı, biyolojik olarak gelişen) ve ekzojen (uv ışınlarına maruz kalma, kirlilik, iyonlaştırıcı radyasyon, kimyasallar veya toksinler) faktörlerin etkisinde ve bunların bir kombinasyonu olarak gerçekleşen kaçınılmaz, karmaşık ve fizyolojik bir süreçtir (5). Çevresel faktörlere bağlı olarak gelişen ekzojen yaşlanmanın en büyük

sebebi UV ışınlarıdır. Bu nedenle, fotoyaşlanma olarak adlandırılmaktadır (6,7). Zamana bağlı olarak yaşlanmış deride, nem kaybından kaynaklı kuru görünüm, incelme ve kırışıklıklar gözlenmekteyken, fotoyaşlanmış ciltte ise hiperpigmentasyon başta olmak üzere, ciltte elastikiyet kaybı, kaba kırışıklıklar ve sarkma görülmektedir. Deri yaşlanması, tüm bunların ortak sonucu olarak ortaya çıkmaktadır (8).

Cildin sağlıklı görünmesi, genel iyi olma ve sağlık algısını beraberinde getirmekte olan önemli faktörlerden biridir. Son yıllarda buradan hareketle, yaşlanma belirtileri ile savaşmak için yaşlanma karşıtı (antiaging) stratejiler geliştirilmektedir. Deri yaşlanması ile mücadelede yaygın olarak başvuru alan yöntemlerden biri topikal anti-aging kozmetik/kozmesötik ürünlerin kullanımıdır. Bu anti-aging ürünlerde kullanılan topikal aktif bileşenlerin başlıca gruplarından biri ise antioksidanlardır. Antioksidanlar, ekzojen ve endojen antioksidanlar olmak üzere iki ana grup altında toplanmaktadır. Endojen antioksidanları vücut kendi sentezleyebilmekteyken, ekzojen antioksidanlar ise vücuda dışarıdan alınarak dahil olabilmektedirler (9). Bitkisel ekstraktlar ekzojen antioksidanlar grubu altında değerlendirilmekte ve fotoyaşlanmaya ait belirtileri azaltmakta ve yavaşlatabilmektedir (10).

Bitkiler, orijinal sağlıklı cildi ve dış görünümü değiştirebilen veya geri getirebilen fitokimyasalların ana kaynağıdır (11). Bitkiler, UV radyasyonu açısından zengin bir ortamda hayatta kalmaları gerektiğinden, endojen antioksidanlar açısından zengindir. Potansiyel kozmesötik uygulamaları olan bitki metabolitleri arasında fenolikler, polifenoller, flavonoidler, terpenoidler, steroidler, steroidal saponinler, steroller, şekerler, polisakkaritler, lignanlar, karotenoidler, organik asitler, antosiyaninler ve kumarinler bulunmaktadır. Bu metabolitlere ait, UV koruyucu, serbest radikal süpürücü, yaşlanma ve leke karşıtı, nemlendirici, anti-enflamatuvar, anti-allerjik etkinlikler saptanmıştır (3). Ayrıca, saç bakımında da renklendirici, kepek problemi ve saç uzamasını tetikleyici olarak kullanım alanları mevcuttur. Uçucu yağlar ise, parfümeride güzel koku sağlamak, saç bakım ürünlerinde ise parlaklık vermek ve kepek kontrolüne yardımcı olmak amacıyla kullanılmaktadır (12).

Bugün bilinen bitki türlerinin sayısı yaklaşık 250,000-300,000 civarındadır. Günümüzde insanoğlu yaklaşık 70,000 bitki türünden faydalanırken, insan tarafından yetiştirilen bitki türü sayısı ise yaklaşık olarak 7000 civarındadır. Türkiye, %31'i endemik olmakla birlikte 10000'den fazla türüne ev sahipliği yapmakta olup, bitki

çeşitliliği açısından dünyanın en zengin ülkeleri arasında yer almaktadır. Anadolu'da tıbbi amaçlı kullanılan bitkilerin sayısı kesin olarak bilinmemekle birlikte 500 ile 1000 arasında bazı tahminler yapılmakta ve ihracat potansiyeli olan 200 civarında tıbbi ve aromatik bitki tespit edilmiştir (13).

Bu doğal kaynaklar değerlendirilerek yeni bir fitokozmetik ürün geliştirebilmek için *Helichrysum arenarium* subsp. *aucheri* (Boiss.) P.H.Davis & Kupicha, *Mentha rotundifolia* (L.) Huds. ve *Origanum majorana* L. bitkilerinin farklı çözücü ekstraktlarına biyolojik aktivite testleri uygulanacak, literatüre bu bitkilerin mevcut biyolojik ve farmakolojik özelliklerinin yanı sıra yeni bir aktivite değerlendirmesi katkısı yapılacak ve bu ürünlerin karışımından doğal bir yaşlılık karşıtı ürün geliştirilecektir.

Bu tez çalışmasında kullanılacak olan bitki cinslerine ait çeşitli çalışmalar mevcuttur. Ayrıca bu cinslere ait yapılan etnobotanik araştırmalar, bitkilerin cilt üzerine kullanımını doğrulamaktadır. Fakat tür özelinde ve çoklu bitkisel formülasyon olarak mevcut literatürde çalışma bulunmamaktadır. Kozmetik formülasyonlarda doğal bileşenlerin kullanımı yan etki profilinin daha az olmasıyla birlikte aslında bilimsel topluluk, kozmetik endüstrisi ve tüketiciler arasında artan bir ilgi durumundadır. Bu bileşenler doğal yumuşatıcılar, UV filtreleri, antioksidanlar veya ürüne değer katabilecek diğer doğal maddeler olabilir. Çalışmanın amacı doğal, güvenli, etkili bir yaşlanma karşıtı bir cilt bakım ürünü geliştirmektedir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. BOTANİK KISIM

2.1.1. Lamiaceae Familyası

Lamiaceae familyası, Lamiales takımından, dünyada 236 cins ve 7000'den fazla türden oluşan Angiospermilerin altıncı en büyük familyasıdır (14). Familyanın yayılımı Akdeniz'den Orta Asya'ya kadar uzanmaktadır. Lamiaceae familyası, ülkemizde ise 46 cins, 586 tür ve toplam 755 takson ile temsil edilmektedir.

Familya, gövdeleri genelde 4 köşeli olan, küçük çalı ve otlardan oluşmaktadır. Karakteristik kısa saplı epidermal bezleri olan zigomorfik çiçeklere sahiptir. Tüyler; genellikle salgılı ya da salgısız, çoğunlukla basit, çok hücreli-tek sıralı, dallanmış, üçlü şekilde veya yıldızsı, bazen 13 saplı uçlu, uzun baş hücreli olmakla beraber kısa saplılar hemen hemen yok gibidir. Yapraklar, basit karşılıklı nadiren pinnattır. Çiçeklenme, genellikle çiçek yapraklıdır. Çiçek yaprakları çoğunlukla belirgin, kalıcı veya dökülücü, nadiren de (*Lavandula* L. ve *Scutellaria* L.) yuvarlaktır. Çiçek, yaprakçıklı ya da yaprakçıklı değildir ve çoğunlukla uçta, gevşek ya da sık şekilde dizilmiş şekilde, birleşik salkımlı, saplı ya da sapsız bir çiçekli ya da daha fazla çiçekli ya da başçık şekilde olup, belirgin bir çiçek yapraklığı toplu ya da değildir. Kökleri nadiren kazık kök veya yumru şekildedir. Lamiaceae familyasının sistematikteki yeri aşağıda verilmiştir:

Alem:	Plantae
Şube:	Tracheobionta
Altşube:	Magnoliophyta
Sınıf:	Magnoliopsida
Altsınıf:	Asteridae
Takım:	Lamiales
Familya:	Labiatae (Lamiaceae)
Cins:	<i>Origanum</i> L.
Tür:	<i>Origanum majorana</i> L.

2.1.1.1. *Origanum* cinsi: *Origanum* L. (Lamiaceae), Türkiye florasında 15 tanesi endemik olmak üzere 19 tür ile temsil edilmektedir (15). Çok yıllık otsu veya yarı çalimsı, tüylü ya da çıplak bitkilerdir. Gövde birkaç tane, yükselici veya dik, genel olarak dallanmış şekildedir. Cinse ait yapraklar ise hemen hemen sapsız veya az çok saplı, lamina küremsi, eliptik, kordat ya da ovat, kenarı tam ya da az çok dişli, tepesi ise obtus veya akuminat şeklindedir (16).

2.1.1.1.a. *Origanum majorana* L.: *Origanum majorana* L., yaygın olarak Kıbrıs ve Antalya başta olmak üzere Türkiye'ye özgü olarak bilinmekle birlikte Sırbistan, İtalya, Korsika, güney İspanya ve Portekiz, Fas ve Cezayir gibi ülkeler dahil olmak üzere Akdeniz ülkelerinde de yayılım göstermektedir. Ayrıca, ABD, Asya ve Avrupa'nın birçok ülkesinde de yetiştirilmektedir (17).

Origanum majorana L., 30-60 cm yüksekliğe ulaşabilen, alçalan çok dallı kırmızımsı kare gövdelere sahip gür çok yıllık bir bitkidir. Yaprakları otsu, küresel, basit, hemen hemen sapsız veya saplı ve ovalden dikdörtgen-ovale, küçük (0,5-1,5 cm uzunluğunda ve 0,2-0,8 cm genişliğinde), genellikle dörtgen-silindriktir ve doku son derece pürüzsüz ve tüylüdür. Spiküller panikulat çiçek durumunda, yaklaşık 3-20 x 3 mm. Kaliksler 2-3.5 mm. Korolla beyaz, 3-7 mm. Türün tayini "Flora of Turkey and the East Aegean Islands" a göre yapılmış ve tür tespit anahtarı aşağıda gösterilmiştir (18).

1. Beş alt eşit dişli kaliks
2. Korolla 8-16 mm, 2 dudaklı yaklaşık 1/6 sı kadar; korolladaki stamenler içte, filamentler c. 1/4 x taç

21. *Laevigatum*

2. Korolla 3-10 mm, 2 dudaklı yaklaşık 1/3 ü kadar; stamens stamenler korolladan kısaca ayrılmış, filamentler c. 1/2 x corolla

20. *vulgare*

1. Kaliks 1 ya da 2 dudaklı
3. Kaliks 1.5-3.5 mm; brakteler 1-5 mm, otsu, yeşil, tüylü
4. Kaliksin alt dudağı yok, kaliks 1 dudaklı yaklaşık 9/10'u kadar, brakte benzeri, üst dudak subentire
5. Spikalar korimboz halinde düzenlenmiş; yapraklar genellikle serrulat

5. Spikalar panikül halinde düzenlenmiş; yapraklar genellikle tam
6. Gövdeler ve yapraklar tomentelloz (tüyler yaklaşık 0.3 mm); yapraklar obtus, damarlar alt yüzde belirgin

Origanum majorana L. nin taksonomik olarak sınıflandırılması şu şekildedir:

Alem:	Plantae
Şube:	Spermatophyta
Altşube:	Angiospermae
Sınıf:	Dicotyledoneae (Mognoliopsida)
Altsınıf:	Asteridae
Takım:	Lamiales
Familiya:	Labiatae (Lamiaceae)
Cins:	<i>Mentha</i> L.
Tür:	<i>Origanum majorana</i> L.

2.1.1.2. *Mentha* cinsi: *Mentha* L., Türkiye florasında 15 tür ile temsil edilen Lamiaceae familyasına ait bir cinstir. Bu cins, tüm dünyada yirmiden fazla türü içermektedir. *Mentha* L., nadiren tek yıllık olmakla birlikte, çok yıllık, otsu ve aromatik bitkilerden oluşmaktadır. Genellikle ılıman ve subtropikal bölgelerde yayılım göstermektedir. Avrupa, Asya, Afrika, Avustralya ve Kuzey Amerika'da yayılımı bulunmaktadır. *Mentha* cinsi, toprak üstü organlarındaki, salgı tüylerinden salgılanan uçucu yağlarının kendine özgü olan kokusuyla bilinmektedir. *Mentha* cinsinin taksonomisi, fenotipik plastisitesi, genetik çeşitliliği ve türlerin çapraz hibritler oluşturabilmesi sebebinden dolayı kolay değildir. Cinsin çoğu türünde, genellikle stolon (sürünücü gövde) olarak adlandırılan uzun, ince rizomlar ürettiği bilinmekte ve bu rizomlarla bitkinin çoğalması gerçekleşmektedir (19).

2.1.1.2.a. *Mentha rotundifolia* L.: Nahoş tatlı bir kokuya sahip, yumuşak tüylü çok yıllık bir bitkidir. Rizomları çoğunlukla topraküstü olan, çok küçük kırışık yapraklara sahiptir. Çiçekli gövdeleri, 40-100 cm, dik, seyrek villozdan yoğun beyaz yünlüye doğrudur. Yapraklar (15-)30-45(-55) x (10-)20-40 mm, sapsız veya hemen hemen sapsız, diktörtgensel ovattan dairemsiye, tabana yakın en geniş, tepe noktası küt veya sivri uçlu,

taban kordat ya da yarı gövdeyi sarıcı, kenar serrat, dişlerin yaprağın alt tarafına doğru bükülmesi nedeniyle genellikle oymalı görünmektedir. Kaliks 1-2 mm, korolla beyazımsı veya pembedir.

Türün tayini “Flora of Turkey and the East Aegean Islands’ a göre yapılmış ve tür tespit anahtarı aşağıda gösterilmiştir (18).

1. Kaliks boğazı tüylü ve eşit olmayan dişlere sahip

1. *pulegium*

1. Kaliks boğazı tüysüz - + eşit dişlere sahip

2. Brakteleri yapraklarına benzerdir, çiçek durumu yapraklarla sonlanır, kaliks dişleri üçgen (deltoid) veya genişçedir

2. *arvensis*

2. Brakteler yapraksı değil, çoğunlukla küçük ve göze çarpmıyor; başlarında ya da spikalarının sonunda yalancı çevrel çiçek durumu bulunmaktadır, kaliks dişleri biz şeklindedir

3. Yapraklar belirgin şekilde kısa saplı, çiçekleri 12-20 mm çapında başta veya dikdörtgensi spikadadır.

4. Çiçekler, 15 mm genişliğe kadar dikdörtgensi spikadır; yapraklar genellikle lanseolat; bitki kısır, tüylü

4. x *piperita*

4. Çiçekler, 15-20 mm veya daha geniş ve başta, yapraklar genellikle ovat, bitki verimli, veya kısır tüysüzdür

5. Yapraklar ve kaliks tüpü tüylü; bitki verimlidir

3. *aquatica*

5. Yapraklar ve kaliks tüpü tüysüz; bitki kısırdır

4. x *piperita* nm. *citrata*

3. Ana gövde yaprakları sapsız (nadiren saplı); çiçekler 5-15 mm çapında ince spikalar halindedir

6. Yapraklar oldukça kırışık, ovat dikdörtgenimsiden dairemsiye obtusdan sivri uçluya apekslidir, ve oymalı kenarlıdır

5. *suaveolens*

Mentha rotundifolia L. nin taksonomik olarak sınıflandırılması şu şekildedir:

Alem:	Plantae
Şube:	Spermatophyta
Altşube:	Angiospermae
Sınıf:	Dicotyledoneae (Mognoliopsida)
Altsınıf:	Metachlamydeae
Takım:	Tubiflorae
Familiya:	Labiatae (Lamiaceae)
Altfamiliya:	Nepetoideae
Cins:	<i>Mentha</i> L.

2.1.2. Asteraceae Familyası

Asteraceae (eski adıyla Compositae) familyası, 12 alt familya ve on bin türe sahip 43 kabileden oluşan, hemen hemen tüm dünyada yaygın olarak yayılış göstermektedir. Asteraceae bitkisinin dağılımı büyük ölçüde mevsimsel ve coğrafi koşullara bağlıdır (20). Asteraceae cinsinin en belirgin ve dikkat çekici özelliği, çiçeklerinin karakteristik olarak, tek tek çiçeklere yüzeysel olarak benzeyen kompakt çiçek salkımları (başlar) halinde gruplandırılmasıdır. Her bir baş, normalde küçük modifiye edilmiş yaprakların (bracts) tutulumları tarafından desteklenir. Ayrıca, familya üyelerinin yarısından fazlasında, başın en dış sıra veya sıralarındaki çiçekler, tipik olarak yassı ve uzun olan ve diğer çoğu çiçeğin bireysel taçyapraklarını andıran modifiye bir taçya sahiptir. Yapraklar ve gövdeler sıklıkla reçineli veya lateksli salgı kanalları içerir (özellikle Cichorioideae alt familyası arasında yaygındır). Yapraklar alternatif, karşılıklı veya kıvrımlı olabilir. Basit olabilirler, ancak genellikle derinden veya başka şekilde oyulmuş şekildedirler. Kenar boşlukları tam, loblu veya dişli olabilir (18,20).

2.1.2.1. *Helichrysum* cinsi: Dünyada yaklaşık 600 tür ile temsil edilen *Helichrysum* Mill., Asteraceae familyasına üyedir (21). Özellikle Güney Afrika, Avustralasya ve Avrasya'da yayılım göstermektedir. Türkiye florasında, 14 tanesi endemik olan 24 tür ile temsil edilmektedir (15). Cinsin adı, sırasıyla "güneş" ve "altın" anlamına gelen Yunanca "helios" ve "chryos" kelimelerinden türetilmiştir. Bu isimlendirme, cinse ait bitki türlerinin tipik olarak parlak sarı renkli çiçek salkımına sahip olmasından kaynaklanmaktadır (22). Cinse ait türler, kurutulduklarında formlarını ve

renklerini korudukları için genel olarak ‘ölmez çiçek, solmaz çiçek’ adıyla bilinmekte, kuru buketlerde ve çiçek aranjmanlarında kullanılmaktadır.

Helichrysum cinsine ait türler çok yıllık, yarı çalı ve otsu bitkilerden oluşmaktadır. Gövdelerinde bulunan tüyler, yün, keçe ya da beze gibilerdir. Yaprakları düz (linear), tam ve basit olmakla birlikte; ters mızrak, uca doğru şekilde genişleyen spatula formunda ya da almalı olarak dizilmiş şekilde de olabilmektedir. Kapitulumlar gövdenin üst kısımlarında, tek bir korimbus halinde olup, küre gibi, tabanı yukarıda olan ters üçgen veya dairesel, disk şeklinde veya disiform şekillerinde olup; boyu 3-12 mm arasında değişkenlik göstermektedir. Çevresel olarak dizilen brakteler, çok sıralı düzenli ya da çok az düzensiz, üst üste binmiş bir diziliştedirler. Brakteler, halkası beyaz, saman renginde, kırmızı veya sarı-turuncu renge sahip olup; kurutulduklarında renklerini kaybetmez, korurlar. Reseptakulumları ise çıplak ve düzdür. Çiçeklerin tümü hermafrodit ya da kıyılarında bir dizi dişi çiçek olup, renkleri sarıdır. Korolla, 5 parçalı silindimsi ve tepe kısımlarında beze şeklindedir. Akenler çok az yayvan ve daireseldir. Papus, büyük hücreli kısa pürtüklü ve barbellat arası tüyler formunda olup, sarımsıdır (23).

2.1.2.1.a. *Helichrysum arenarium* L.: Türkiye’de en yaygın ve polimorfik türler arasındadır ve genellikle karakteristik anaç tipleri ile birlikte şişmiş steril sürgünlerin varlığı veya yokluğu ile tanımlanabilir. Türün tayini “Flora of Turkey and the East Aegean Islands’a göre yapılmış ve tür tespit anahtarı aşağıda gösterilmiştir (16)

1. Çiçek durumu genellikle dallıdır, her dalda yoğun bir kapitula korembi bulunur; fillariler koyu kırmızı, kenardaki çiçekler dişi

1. sanguineum

1. Yukarıdaki gibi olmayan bitkiler
2. Fillariler kar beyazı, opak

2. pamphylicum

2. Fillariler fildişi, sarı veya kayısı
3. Yaprakların her iki yüzeyinde çok yoğun, beyaz veya grimsi beyaz, keçeli indumentum bulunur.
4. Kalın yan dallar ile, bitkiler çoğunlukla yarı çalımsıdır
5. Kapitula yaklaşık 3 mm uzunluğunda, limon sarısı; tüm çiçekler hermafrodit

6. chasmolycicum
5. Kapitula 5-8 mm uzunluğunda, parlak sarı veya kayısı; kenardaki çiçekler dışı
5. orientale
4. Bitki tabanı sık gövdeli alçak bir örtü veya küme halinde
6. Kapitula ters koni şeklinde, fillariler yatık, yoğun subglobose korembde
7. Gövde yaprakları yakından gövde üzerinde yatık; fillariler soluk limon sarısı
7. compactum
7. Gövde yaprakları kökten yayılır; phyllaries fillariler koyu sarımsı esmer
16. artvinense
6. Kapitula subglobose, fillariler yatık değil, korembler gevşek
8. Bitki tabanı sık dokulu bir örtüden oluşur; verimsiz sürgünler tabanda şişkin değil; kapitula 1-6 koremb sonuna kadar, 8-12 mm uzunluğunda
11. chionophilum
8. Bitki tabanı küme halinde veya daha az kompakt; verimsiz sürgünler bariz şişkin; kapitula 3 ila çok sayıda, 5-9 mm uzunluğunda
9. Gövde eğri büğrü; fillariler yaygın, son derece kukuleteli
9. noeanum
9. Gövdeler düz; fillariler nadiren yaygın, düz veya zayıf kukuleteli
15. arenarium

Helichrysum arenarium L. nin taksonomik olarak sınıflandırılması şu şekildedir:

Alem:	Plantae
Bölüm:	Spermatophyta
Altbölüm:	Angiospermae
Sınıf:	Dicotyledoneae (Mognoliopsida)
Altsınıf:	Asteridae
Takım:	Asterales
Familya:	Asteraceae

Cins: *Helichrysum*

Tür: *Helichrysum arenarium* (L) MOENCH

2.2. *ORIGANUM* L., *MENTHA* L. VE *HELİCHRYSUM* MİLL. TÜRLERİNE AİT ETNOBOTANİK KAYITLAR

2.2.1. *Origanum* L. Cinsine Ait Etnobotanik Kayıtlar

Origanum türlerinin kullanımı Paleolitik çağa (MÖ 50 000 – 70 000) kadar uzanır. İlk yazılı kaynaklar Hitit tabletlerinde bulunmuştur (MÖ 1600 – 1200). Eski Mısır'da halk, yiyecekleri dezenfekte etmek ve korumak için kullanmıştır (17).

Origanum türleri Türkiye’de, geleneksel olarak halk arasında çeşitli hastalıkların tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Kayıtlarda, astım, bronşit, nezle-grip, öksürük, idrar yolu iltihapları, karın ağrıları, baş ağrısı, mide rahatsızlıkları ve yara iyileşmesi gibi çeşitli hastalıkların tedavisinde *Origanum* türlerinin kullanıldığı saptanmıştır (13,24). *Origanum* türlerinin, Türkiye’de cilt üzerindeki geleneksel kullanımına dair kanıtlar aşağıdaki tabloda verilmiştir (Tablo 2.1).

Tablo 2.1: *Origanum* türlerinin cilt üzerindeki kullanımına ait etnobotanik kayıtlar.

Botanik İsim	Çalışılan Bölge	Kullanılan Kısım	Preperat	Geleneksel Kullanım	Referans
<i>Origanum onites</i>	Muğla	Uçucu yağ		Yara	(25)
		Topraküstü	İnfüzyon	Egzama	
		Yaprak ve çiçekler	Toz halinde, kullanılabacağı zaman hafif ıslatılır	Temre	
	Balıkesir	Topraküstü	Dekoksiyon	Kaşıntı	

Tablo 2.1 (devam)

<i>Origanum vulgare</i> subsp. <i>gracile</i>	Ağrı, Bingöl, Tunceli	Topraküstü	İnfüzyon	Yara	(25,26)
<i>Origanum vulgare</i> subsp. <i>vulgare</i>	Van	Topraküstü	Toz bitki + bal karışımı	Yara	(26)

2.2.2. *Mentha* L. Cinsine Ait Etnobotanik Kayıtlar

Mentha türleri tarihten günümüze baharat olarak kullanılmakla birlikte halk arasında geleneksel tıpta birçok hastalığın tedavisinde kullanılmıştır. Yapılan çalışmalarda, sindirim sistemi sorunları, böbrek taşı, hemoroid, soğuk algınlığı, öksürük, baş ağrısı, karın ağrısı, kurt düşürme, yara iyileşmesi ve cilt problemleri üzerinde Türkiye’de halk arasında geleneksel olarak kullanıldığı belirlenmiştir.

Mentha türlerinin, Türkiye’de cilt üzerindeki geleneksel kullanımına dair kanıtlar Tablo 2.2’ de verilmiştir. Türkiye’ de 4 farklı *Mentha* türünün halk arasında cilt üzerinde kullanımı raporlanmıştır. Bunlar; *Mentha longifolia*, *Mentha piperita*, *Mentha pulegium* ve *Mentha spicata* türleridir. Bu türlerin toprak üstü ve yaprak kısımları kullanılmıştır.

Tablo 2.2: *Mentha* türlerinin cilt üzerindeki kullanımına ait etnobotanik kayıtlar

Botanik İsim	Çalışılan Bölge	Kullanılan Kısım	Preperat	Geleneksel Kullanım	Kaynak
<i>Mentha longifolia</i>	Burdur	Yapraklı sürgün	İnfüzyon	Saç dökülmesi	(25)
<i>Mentha longifolia</i> subsp. <i>longifolia</i>	Zonguldak	Yaprak		Yara ve kesik tedavisi	(25)
	Şırnak	Yaprak	Dekoksiyon	Cildi güzelleştirmek	(25)
	Kars	Toprak üstü	İnfüzyon	Egzama	(25)

Tablo 2.2 (devam)

<i>Mentha longifolia</i> subsp. <i>typhoides</i> var. <i>calliantha</i>	Muğla	Taze yaprak	Ezilmiş taze yaprak	Bir bezle sarılarak yanık tedavisinde kullanılır	(25)
<i>Mentha longifolia</i> subsp. <i>typhoides</i> var. <i>typhoides</i>	Kayseri	Toprak üstü	Banyo durulama suyuna katılır	İsilik	(25)
<i>Mentha x piperita</i>	Muğla		Uçucu yağ	Tüy dökücü	(25)
<i>Mentha pulegium</i>	Balıkesir	Taze yaprak	Ezilir, balla karıştırılır	Güneş yanığı	(25)
<i>Mentha spicata</i>	Burdur	Yapraklı sürgün	İnfüzyon	Saç dökülmesi	(25)

2.2.3. *Helichrysum* Mill. Cinsine Ait Etnobotanik Kayıtlar

Helichrysum türleri, baharat olarak çeşitli gıdalarda kullanılmakla birlikte, çeşitli enfeksiyonların, yanıkların, yaraların, sindirim sorunlarının, böbrek taşlarının, yüksek kolestrolün, diyabet ve soğuk algınlığının tedavisi için de geleneksel olarak da geçmişten günümüze Türkiye’de halk arasında kullanılmıştır.

Helichrysum türlerinin, Türkiye’de cilt üzerindeki geleneksel kullanımına dair kanıtlar Tablo 2.3’ de verilmiştir. Türkiye’ de 3 farklı *Helichrysum* türünün halk arasında cilt üzerinde kullanımı raporlanmıştır. Bunlar; *Helichrysum arenarium*, *Helichrysum plicatum* ve *Helichrysum stoechas* türleridir. Bu türlerin yaprak ve kapıtları halk arasında kullanılmaktadır. Ayrıca türlere ait alt türlerin de cilt üzerinde kullanıma dair bilgiler raporlanmıştır. Halk arasında genel olarak yara iyileştirici ve kaşıntı giderici olarak kullanılan *Helichrysum* cinsinin süs bitkisi ve baharat olarak kullanımı da oldukça yaygındır.

Tablo 2.3: *Helichrysum* türlerinin cilt üzerindeki kullanımına ait etnobotanik kayıtlar

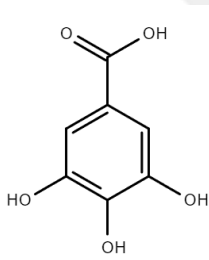
Botanik İsim	Çalışılan Bölge	Kullanılan Kısım	Preperat	Geleneksel Kullanım	Kaynak
<i>Helichrysum arenarium</i>	Erzurum	Kapitulum	Kapitulum yakılır, geriye kalan siyah kütle süt kaymağı veya terayağı ile karıştırılır.	Yara (yüzdeki)	(25)
	Erzurum	Kapitulum	Kapitulum yakılır, geriye kalan siyah kütle süt kaymağı veya terayağı ile karıştırılır.	Kaşıntı	(25)
<i>Helichrysum plicatum</i>	Amasya		Bitki yakılır, külü kullanılır.	Yara	(25)
	Malatya	Kapitulum		Yara	(25)
<i>Helichrysum plicatum</i> subsp. <i>plicatum</i>	Niğde	Kapitulum	Dekoksiyon, içine arpa unu katılarak lapa halinde	Yara	(25)
<i>Helichrysum stoechas</i> subsp. <i>barrelieri</i>	Muğla	Taze yapraklar	Taze yapraklar dövülür	Yara	(25)

2.3. FİTOKİMYASAL BİLGİLER

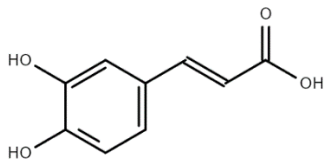
2.3.1. *Origanum majorana*' ya Ait Fitokimyasal Çalışmalar

Yapılan çalışmalarda, *O. majorana*' ya ait ekstrelerde tanımlanan ana grup fenolik asitlerdir. Gallik asit (Şekil 2.1), kafeik asit (Şekil 2.2), klorojenik asit (Şekil 2.3), sirinjik asit, vanilik asit, p-kumarik asit, ferulik asit, rosmarinik asit, trans-2 dihidroksisinnamik

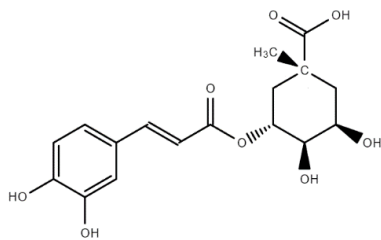
asit, sinamik asit, litospermik asit ve pirogallol bileşikleri tanımlanmıştır (27). Ayrıca, epikateşin, rutin, kuersetin-3-rhamnosid, luteolin, kumarin, kuersetin, apigenin, amentoflavon, hesperidin, taksifolin ve isorhamnetin gibi birkaç flavonoid tanımlanmıştır. Öte yandan, *O. majorana*'nın metanolik ekstraktının kimyasal bileşimi, ters fazlı yüksek performanslı sıvı kromatografisi ile analiz edilmiş ve baskın flavonoid olarak amentoflavon, fenolik asit olarak da trans 2-hidroksinamik asit saptanmıştır (28). Ayrıca, farklı çözücülerle hazırlanmış *O. majorana* ekstraktlarının kimyasal bileşiminin baskın olarak fenolik asitlerin oluşturduğu saptanmış, sekiz bileşen (katekol, sinamik asit, gallik asit, askorbik asit, sirinjik asit, kafeik asit, p-kumarik asit ve trans-ferulik asit) tanımlanmıştır (29,30). Adam ve Ahmed tarafından yapılan bir çalışmada ise *O. majorana* ekstraktları üzerinde yapılan bir çalışma steroller, triterpenler, alkaloidler, kumarinler, tanenler ve saponinler gibi diğer ikincil metabolitlerin varlığı da kanıtlanmıştır (31).



Şekil 2.1: Gallik asit



Şekil 2.2: Kafeik asit



Şekil 2.3: Klorojenik asit

O. majorana'nın uçucu yağının bileşiminde ise karvakrol, linalol, timol, borneol, kafur, terpinen-4-ol, α -pinen, α -tuyon, p-simen, terpinen, α -terpineol, sabinen, mirsen, limonen, kamfen, terpinolen, verbenen, β -karyofilen, 1,8-sineol, ökaliptol ve felandren bileşenleri aydınlatılmıştır (32).

O. majorana'nın kimyasal içeriğine ait yapılan farklı çalışmalar ve sonuçları Tablo 2.4 de gösterilmiştir.

Tablo 2.4: *O. majorana*'nın kimyasal içeriği

Kullanılan kısım	Ekstre/Uçucu yağ	Bileşik grubu	Bileşik	Kaynak
Toprak üstü	Su ekstresi	Fenolik asitler	Sirinjik asit, kafeik asit, p-kumarik asit, trans-ferulik asit, o-kumarik asit	(33)
Toprak üstü	Su	Fenolik asitler	Klorojenik asit, sirinjik asit, kafeik asit, vanilin, p-kumarik asit, ferulik asit, o-kumarik asit, sinnamik asit	(34)
		Flavonoidler	Rutin, Luteolin	
Toprak üstü	Petrol eteri	Fenolik asitler	Sirinjik asit, kafeik asit, vanilin, trans-ferulik asit, o-kumarik asit, sinnamik asit	(33)
		Flavonoidler	Rutin, luteolin, kuersetin, trans-kalkon	
Toprak üstü	Etil asetat	Fenolik asitler	4-Hidroksibenzoik asit, sirinjik asit, kafeik asit, vanilin, trans-ferulik asit, sinnamik asit	(33)
		Flavonoidler	Luteolin	
Toprak üstü	Diklorometan	Fenolik asitler	Trans-ferulik asit, o-kumarik asit, sinnamik asit	(33)
		Flavonoidler	Apigenin, kuersetin, rutin, luteolin	
Toprak üstü	Metanol	Fenolik asitler	Vanilik asit, trans-ferulik asit, o-kumarik asit	(33)
Toprak üstü	Metanol	Fenolik asitler	Dihidroksibenzoik asit hegzoz, sirinjik asit, vanilik asit, p-kumarik asit, rosmarinik asit	(35)
		Flavonoidler	Kafeol-arbutin, Gallokateşin izomer 2, Luteolin-6,8-C-dihegzoz, Orientin, Apigenin-o-glukoronit, Luteolin, Taxifolin,	
Tohumlar	Etanol, metanol, aseton, kloroform	Fenolik asitler	Katekol, sinnamik asit, gallik asit, askorbik asit	(36)

Tablo 2.4 (devam)

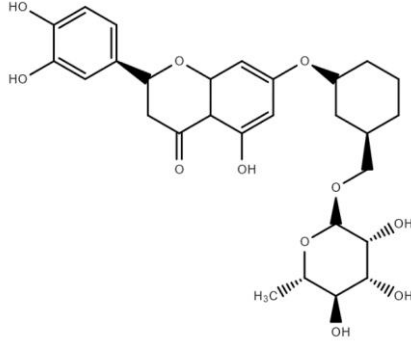
Yapraklar	Metanol	Fenolik asitler	Gallik asit, klorojenik asit, kafeik asit, p-kumarik asit, ferulik asit, rosmarinik asit, Metil rozmarenat	(37)
		Flavonoidler	Apigenin, Luteolin-7-o-rutinoz	
Toprak üstü	Uçucu yağ	Terpenoidler	Terpinen-4-ol, γ -Terpinen, trans-Sabinen hidrat, α -Terpinen, Sabinen, α -Terpineol, α -Terpinolen, Tuyon, α -Pinen, β -Pinen, β -Mirsen, cis-Sabinen hidrat, (E)-p-Menth-2-en-1-ol, trans-Piperitol, Linalil asetat, trans-Karyofilen, α -Humulen, Karofilen oksit	(38)
Toprak üstü	Uçucu yağ	Terpenoidler	Terpinen-4-ol, α -Terpinen, Terpineol, α -Pinen, p-simen, iso-Silvestren, Limonen, 1,8-sineol, β -Osimen, cis-sabinen hidrat, β -Pinen, Pulegon, trans-Pinokarveol, cis-Limonen oksit, dihidro-Linalool, cis-Verbenol, Viriden, (E)-Izositral, Timol, Karvakrol, γ -Elemen, α -Terpinilasetat, Eugenol, nerilasetat, geranilasetat, izo-Longifolen, (E)-karyofilen, β -Duprezianen, β -sedren, Valencen, Karyofilen oksit.	(39)
Yapraklar	Uçucu yağ	Terpenoid	α -tuyon, α -pinen, sabinen, β -pinen, α -terpinen, p-simen, γ -terpinen, Terpinolen, cis-sabinen hidrat, trans-sabinen hidrat, α -terpineol, linalil asetat, Trans dihidrokarvon, 4-terpinen, p-menth-2-en-1-ol, β -karyofilen Valencen, α -humulen	(40)

2.3.2. *Mentha rotundifolia*’ya Ait Fitokimyasal Çalışmalar

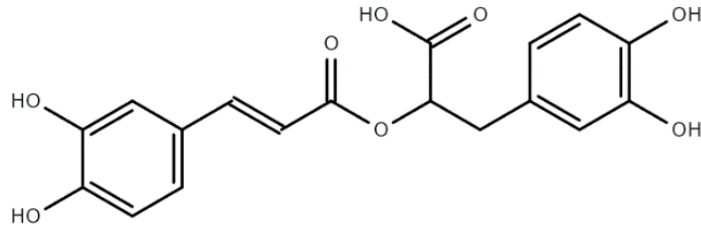
Yapılan çalışmalarda, *M. rotundifolia*’ya ait ekstrelerde fenolik asitlerden, rosmarinik asit (Şekil 2.5), kafeik asit, klorojenik asit, sirinjik asit, kuinik asit, salvianolik asit, protokatekuik, trans-ferulik asit ve p-kumarik asit bileşikleri saptanmıştır. Ayrıca, eriositrin (Şekil 2.4), hesperidin, narirutin, luteolin, apigenin 7- o -rutinozit (isorhoifolin), diosmin, naringenin, apigenin, kemferol, luteolin-7-o-glukosit, apigenin-7-o- glukosit, cirsiliol, acacetin, naringenin, naringin, rutin, apigenin-7-o-glukosit, cirsiliol ve isonaringin flavonoid bileşikleri tanımlanmıştır (41–43).

M. rotundifolia uçucu yağının bileşiminde ise trans-piperiton epoksit, piperiton oksit, timol, germakren D, and terpinen-4-ol, β -Karyofilen, Germacrene D and Carveol

bileşikleri tanımlanmıştır. *M. rotundifolia*'nın kimyasal içeriğine ait yapılan farklı çalışmalar ve sonuçları Tablo 2.5 de gösterilmiştir.



Şekil 2.4: Eriositrin



Şekil 2.5: Rosmarinik asit

Tablo 2.5: *Mentha rotundifolia*'nın kimyasal içeriği

Kullanılan kısım	Ekstre/Uçucu yağ	Bileşik grubu	Bileşik	Referans
Yaprak	Metanol	Fenolik asitler	Kafeik asit, Rosmarinik asit	(43)
		Flavonoitler	Eriocitrin, Hesperidin, Narirutin Luteolin	

Tablo 2.5 (devam)

Yaprak	Etanol	Fenolik asitler	Rosmarinik asit, Klorojenik asit, Kafeik asit (42)
		Flavonoitler	Luteolin, Diosmin, Naringenin, Apigenin, Kemferol
Toprak üstü	Etanol	Fenolik asitler	Kuinik asit, rosmarinik asit, (41) salvianolik asit, sirinjik asit, kafeik asit
		Flavonoitler	Luteolin-7-o-glukozit, apigenin, apigenin-7-o-glukozit, kirsiliol, naringenin, naringin, rutin
Kök	Etanol	Fenolik asitler	Kafeik asit, sirinjik asit, p-kumarik asit, ve trans-ferulik asit. (41)
		Flavonoitler	Luteolin-7-o-glukozit, apigenin, apigenin-7-o-glukozit, naringenin
Yaprak	Uçucu yağ	Terpenoidler	Trans-piperiton epoksit, piperiton oksit, timol, gernasiren D, ve (44) terpinen-4-ol
Yaprak	Uçucu yağ	Terpenoidler	Rosmarinik asit, kafeik asit, salvianolik asit L, izosalvianolik asit A
Toprak üstü	Metanol:Su	Fenolik asitler	Luteolin, apigenin-7-glukozit, (45) hesperidin ve izonaringin
		Flavonoitler	Kafeik asit, Rosmarinik asit

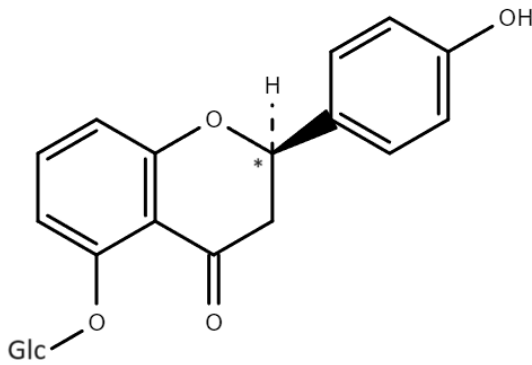
2.3.3. *Helichrysum arenarium*' a Ait Fitokimyasal Çalışmalar

Yapılan çalışmalarda, *H. arenarium*'a ait ekstrelerde tanımlanan ana bileşik grubunun flavonoitler olduğu saptanmıştır. En çok tespit edilen flavonoitler ise izosalipurpozit, naringenin ve naringenin-5-O-glukozit olarak bulunmuştur (46,47). Hänsel ve Heise tarafından yapılan çalışmada, naringenin-5-O-glukozitin, (+)-naringenin-5-b-D-glukozit (helichrysin A) ve (-)-naringenin-5-b-D-glukozit (helichrysin B) olmak üzere iki diastereomerini bildirmiştir (48). Bu iki izomere ait kimyasal yapılar şekil 2.6 ve 2.7 de gösterilmiştir. Flavon ve flavonol bileşikleri olarak kaempferol, kuersetin, luteolin ve apigenin glikozitleri tespit edilmiştir. Ana bileşen kaempferol-3-O-glukozit olmakla beraber bunu kuersetin-3-O-glukozit, 6 hidroksiluteolin 7-O-glukozit ve

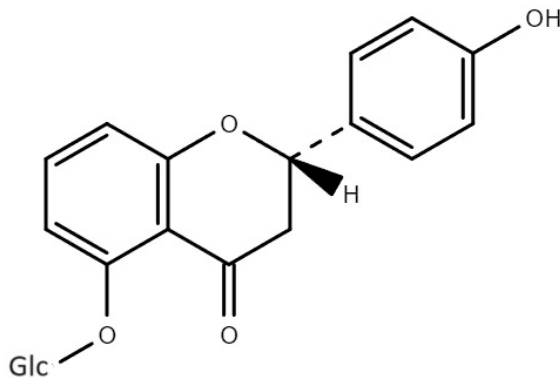
apigenin-7-O-glukozitin izlediği saptanmıştır (46,49). Fenolik asitlerden; kafeik, p-kumarik, klorojenik ve ferulik asitler ana bileşikler olup; bitki sinapik asit ve 3,4-metilendioksisinamik asidi de az miktarda içermektedir (50,51).

Albayrak ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, *H. arenarium* subsp. *aucheri*' de saptanan ana bileşikler, sırasıyla apigenin-7-glukozit ve klorojenik asit olurken, ayrıca apigenin, kafeik asit, p-kumarik asit, luteolin, naringenin ve resveratrol de saptanmıştır (52).

H. arenarium' dan polifenol bileşiklerinin yanı sıra steroller, liganlar ve glikozitler gibi aromatik bileşikler de izole edilmektedir (51,53). *H. arenarium*'un kimyasal içeriğine ait yapılan farklı çalışmalar ve sonuçları Tablo 2.6 da gösterilmiştir.



Şekil 2.6: Helichrysin B



Şekil 2.7: Helichrysin A

Tablo 2.6: *Helichrysum arenarium*'un kimyasal içeriği

Kullanılan kısım	Ekstre/Uçucu yağ	Bileşik grubu	Bileşik	Kaynak
Topraküstü	Etanol	Flavonoidler	Naringenin-7-O- β -d-glikozit, izokuersetin, astragalin.	(54)
Topraküstü	Metanol	Flavonoidler	Apigenin-7-glukozit, apigenin, luteolin, naringenin.	(52)
		Fenolik asitler	Klorojenik asit, kafeik asit, p-kumarik asit.	
		Stilben	Resveratrol.	
Çiçek	Metanol	Flavonoidler	Kemferol, kemferol-3-o-glukozit, kuersetin, kuersetin-3-o-glukozit.	(55)
		Fenolik asitler	Klorojenik asit, kafeik asit.	
Çiçek	Etanol	Flavonoidler	Apigenin, luteolin, kuersitrin, izokuersitrin, kemferol.	(56)
		Fenolik asitler	Klorojenik asit, p-kumarik asit.	
Topraküstü	Etanol:Su	Flavonoidler	Hesperidin, naringenin, naringenin-5-O-b-D- glukopironozit, naringenin-7-O-b-D- glukopironozit, kuersetin-7-O- glukopironozit, kuersitrin, kemferol, kemferol, -3-O- glukopironozit/ kemferol, -7-O- glukopironozit, apigenin, apigenin-7-O-b-D- glukopironozit.	(57)
		Fenolik asitler	Klorojenik asit, kafeik asit, kinik asit, izoklorojenik asit A, izoklorojenik asit B, izoklorojenik asit C.	
Yaprak ve çiçek	Uçucu yağ	Terpenodiler	α - Pinen, trans-karyofillen, β -pinen, α - humulen.	(58)
Yaprak ve çiçek	Uçucu yağ	Terpenodiler	β -karyofillen, δ -kadinen, oktadekan, heneikozan.	(59)
Topraküstü	Uçucu yağ	Terpenodiler	Linalool, karyofillen, ökaliptol (1,8-sineol), limonen, α -humulen, β -famesen, γ -muurolen, γ - kadinen, δ - kadinen, α -ylangen, α -terpineol, β -spathulenol, α -bisabolol.	(60)

2.4. BİYOAKTİVİTE ÇALIŞMALARI

2.4.1. *Origanum majorana*' ya Ait Biyoaktivite Çalışmaları

2.4.1.1 Antioksidan aktivite: Yapılan bir çalışmada, *Origanum majorana* 'nın metanol, etanol, dietil eter ve hekzan ekstraktlarını üzerine antioksidan aktivite saptamak için DPPH· radikal giderme yöntemi ve toplam fenolik içerik Folin-Ciocalteu yöntemi kullanılmıştır. Ekstraktlar arasında en iyi antioksidan aktivitenin metanol ekstraktına sahip olduğu belirlenmiş, EC₅₀ değeri 0,0013 olarak hesaplanmıştır. Fenolik bileşiklerin ekstraksiyonu için en iyi çözücünün metanol, ardından etanol, ardından dietil eter ve hekzan olduğu belirlenmiş ve toplam fenolik sırasıyla; 1 g kuru ekstre başına, 5,20 mg, 4,65 mg, 4,55 mg ve 3,90 mg gallik asit eşdeğeri olarak hesaplanmıştır(37).

Bir diğerk çalışmada, *O. majorana*'nın metanol ekstraktının antioksidan aktivitesini incelemek için DPPH•, ABTS, indirgeme gücü ve hidroksil radikalleri yakalama yöntemlerini kullanmıştır. Sonuçta IC₅₀ değerleri, hidroksil radikalleri yakalama, ABTS testi, DPPH• testi ve indirgeme gücü için sırasıyla 9 µg/mL, 9,35 µg/mL, 12,9 µg/mL ve 21,16 µg/mL olarak hesaplanmış ve ekstraktın güçlü antioksidan özellik gösterdiği belirlenmiştir (61).

Erenler ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada ise, *O. majorana*'nın toprak üstü kısımlarının hazırlanan, suda çözünür etil asetat ekstraktından 5,6,3'-Trihidroksi-7,8,4'-trimetoksiflavon, hesperetin, hidrokinon, arbutin ve rosmarinik asit bileşikleri izole edilmiş ve izole edilmiş bileşiklerin ve suda çözünür etil asetat ekstraktının antioksidan aktiviteleri, DPPH•, ABTS•+, FRAP testleri yapılarak araştırılmıştır. ABTS radikal katyon temizleme aktivitesi sonuçlarına göre, en yüksek aktiviteden en düşüğüne doğru sırasıyla (IC₅₀, µg/mL); hidrokinon, hesperetin, etil asetat ekstratı, 5,6,3'-trihidroksi-7,8,4'-trimetoksiflavon, BHA, BHT, rosmarinik asit, troloks, arbutin ve heksan ekstraktı olarak saptanmıştır. Çalışmanın sonucunda hem bireysel bileşiklerin hem de ekstratın yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir (62).

Başka bir çalışmada, *O. majorana*'nın toprak üstü kısmından elde edilen uçucu yağının antioksidan aktivitesi araştırılmış, DPPH• radikal süpürücü etki, demir şelatlama gücü ve indirgeme gücü testi olmak üzere üç test yapılmıştır. Deneylerin sonucuna göre sırasıyla IC₅₀ değerleri; 0,3 mg/mL, 23 mg/mL ve 0,4 mg/mL olarak hesaplanmış ve DPPH• radikal süpürücü etkisi güçlü bulunmuştur. Ayrıca etanol ekstraktı, demir şelatlama için IC₅₀ değeri 67,2 mg/mL ve indirgeme gücü için IC₅₀ değeri 5,6 mg/mL olmak üzere DPPH• radikal süpürücü etki için IC₅₀ değeri 11,5 mg/mL olarak hesaplanmış, antioksidan etki gösterilmiştir (63).

Bir diğerk çalışmada ise, *O. majorana*'nın toprak üstü kısmından su ve methanol ekstresi hazırlanmış, antioksidan aktivite tayin etmek için ABST, DPPH• radikal süpürücü etki ve demir iyonu indirgeme gücü testleri yapılmıştır. Deneylerin sonucunda, ABTS ve DPPH• serbest radikal süpürücü etkinin metanol ekstraktında daha yüksek olduğu bulunmuş ve EC₅₀ değerleri sırasıyla 16,15 µg/mL ve 19,66 µg/mL olarak hesaplanmıştır (64).

2.4.1.2 Antimikrobiyal aktivite: Partovi ve arkadaşları, *O. majorana* 'nın yapraklarından elde edilen uçucu yağın (%10 v/v) gıda kaynaklı bakterilere karşı 10

μ L'lik bir dozda antibakteriyel etkisini disk difüzyon, mikrodilüsyon ve Time-Kill yöntemleri kullanarak değerlendirmiştir. Pozitif kontrol olarak kloramfenikol ve streptomisin, negatif kontrol olarak dimetil sülfoksit (%2 DMSO) kullanılmıştır. Disk difüzyon testi sonucunda; uçucu yağın antibakteriyel etkinliği değerlendirilmiş, inhibisyon alanları hesaplanmıştır. Uçucu yağın inhibisyon alanları; *E. coli* ($23,58 \pm 0,38$ mm), *Listeria monocytogenes* ($23,16 \pm 0,38$ mm), *Bacillus subtilis* ($33,16 \pm 0,76$ mm), *Staphylococcus aureus* ($30,58 \pm 0,72$ mm) ve *Salmonella typhimurium* ($22,96 \pm 0,25$ mm) olarak hesaplanmış ve pozitif kontrollerden daha fazla bulunmuştur. Deneylerin sonucunda, uçucu yağın, gram-pozitif bakterilerde, gram-negatiflere göre daha yüksek olduğu belirlenmiştir (65).

Yapılan başka bir çalışmada, *O. majorana* su ve etanol ekstraktları hazırlanmış ve antibakteriyel etkinlikleri, mikrodilüsyon yöntemi kullanılarak minimum inhibitör konsantrasyon (MIC) ve minimum bakterisidal konsantrasyon (MBC) belirlenerek, saptanmıştır. Gram-pozitif bakteri suşlarının, gram-negatif olana kıyasla test edilen ekstraktlara karşı daha yüksek hassasiyet gösterdiği bulunmuştur (66).

Vagi ve arkadaşları, *Aspergillus niger*, *Trichoderma viride* ve *Penicillium cyclopium*'a karşı patates dekstrozu agar plakalarında radyal büyümenin günlük ölçümüyle *O. majorana* etanol ekstraktının ve süperkritik sıvı ekstraktının antifungal aktivitesini inceledikleri çalışmada, süperkritik sıvı ekstraktının, etanol ekstraktından daha duyarlı olduğunu belirlemişlerdir. %0,4'lük (a/h), süperkritik sıvı ekstraktı, *Aspergillus niger* ve *Penicillium cyclopium*'un büyümesine karşı %100'lük bir inhibe edici etkiye neden olurken, %0,5'lik (a/h) ekstrakt *Trichoderma viride*'ye karşı %100'lük inhibisyona neden olmuştur. %2,5'lük etanolik ekstrakt varlığında ise *Trichoderma viride*'ye karşı hafif bir inhibitör etki (%19,3 inhibisyon) bulunmuştur (67).

Piasecki ve arkadaşları, *Origanum majorana*'nın da aralarında bulunduğu *Origanum* türleri uçucu yağlarının, solunum sistemi patojenleri olan *Staphylococcus aureus* (MRSA), *Haemophilus influenzae*, *Haemophilus parainfluenzae* ve *Pseudomonas aeruginosa* üzerindeki antimikrobiyal etkinliklerini araştırmıştır. *O. majorana* uçucu yağı, minimum inhibisyon konsantrasyon (MİK) testinde en aktif olan olup ve tüm suşlara karşı anti-biyofilm testinde en yüksek inhibisyon etkisi göstermiştir. En az duyarlılığa sahip suşun MRSA olduğu saptanmış, *O. majorana* hariç tüm uçucu yağlar için MİK değeri 0,6 mg/mL olarak bulunurken, *O. majorana* uçucu yağı etkisinde ise değer 0,3

mg/mL'ye ulaşmıştır. Ayrıca, *Haemophilus influenzae* ve *Haemophilus parainfluenzae* biyofilmleri üzerinde gerçekleştirilen elektron mikroskobu taramasında, *O. majorana* uçucu yağının etkisi altında bakteri kümelerinin görünümünde gözle görülür bir azalma gösterdiği saptanmıştır (68).

2.4.1.3 Gastrointestinal sistem üzerine etkiler: Yapılan bir çalışmada, *O. majorana* toprak üstü kısımları kullanılarak elde edilen, etanol ekstraktının antiülserojenik aktivitesi, sıçanlarda, hipotermik kısıtlama stresi-, indometasin-, nekrotizan ajanlar- (%80 etanol, %25 NaCl ve 0,2M NaOH) ile indüklenmiş ülserler ve bazal gastrik asit sekresyonu oluşturarak değerlendirilmiştir. 250 ve 500 mg/kg vücut ağırlığı dozlarında ekstraktın, ülser insidansını, bazal gastrik sekresyonu ve asit çıkışını önemli ölçüde azaltmıştır. Ekstraktın, ülseri önleme potansiyeli histopatolojik değerlendirme ile de doğrulanmıştır (69).

Pimple ve arkadaşları *O. majorana* yapraklarının ülser iyileştirici etkisini araştırmak üzere uçucu yağ, metanol ve su ekstraktlarını kullanmış, aktivite in vivo olarak araştırılmıştır. Sıçanlarda, streptozotosin (65 mg/kg, i.p.) ile birlikte nikotinamid (120 mg/kg, i.p.) insüline bağımlı olmayan diabetes mellitusu indüklemek için kullanılmış, aspirin ise (200 mg/kg, i.p.) diyabetik sıçanlarda mide ülserasyonlarını indüklemek için ilk 7 gün boyunca uygulanmıştır. Uçucu yağ ve metanol ekstraktının, su ekstraktına göre anlamlı ülser iyileştirme özelliği sergilediği bulunmuştur (70).

2.4.1.4 Antidiyabetik aktivite: *O. majorana* yaprağının (uçucu yağ, metanol ve sulu ekstraktlar) hipoglisemik etkileri, nikotinamid ve streptozotosin ile indüklenmiş diyabetik sıçan modeli kullanılarak in vivo olarak test edilmiştir. Çalışma, ekstraktların 100, 200 ve 400 mg/kg dozlarında oral yoldan verilmesinin, uçucu yağ ve metanol ekstraktları durumunda diyabetik sıçanlarda kan şekerini önemli ölçüde düşürdüğünü göstermiştir (70).

Bir başka çalışmada antidiyabetik aktivite araştırmak üzere in vitro ve in vivo testler yapılmıştır. In vitro çalışmalar, gelişmiş glikasyon son ürünlerinin oluşumu üzerinde önemli bir inhibitör etki göstermiştir. Sonuçlar, *O. majorana* 'nın in vitro gelişmiş glikasyon son ürünleri oluşumu üzerinde önemli etkilere sahip olduğunu ve glikasyon inhibe edici aktivitenin, standart antiglikasyon ajanı olarak aminoguanidin kullanılarak elde edilenlerden daha etkili olduğunu göstermektedir. Nikotinamid ve streptozotosin ile indüklenmiş diyabetik sıçan modeli kullanan çalışmada, 28 gün

boyunca 200 mg/kg'da uygulanan *O. majorana* yaprağı metanolik ekstraktının, glibenklamid ile tedaviye göre glikoz seviyesi ve yüksek ileri glikasyon son ürünlerini oluşumu dahil olmak üzere renal metabolik anormallikler üzerinde yararlı etkileri olduğu belirlenmiştir. Diyabetik fareler, kuyruk tendon kolajeninde artış, glikasyonlu kolajen bağlantılı floresan ve pepsin sindiriminde azalma göstermiştir. *O. majorana* ile tedavi, diyabetik kontrol ve glibenklamid ile karşılaştırıldığında bu parametreleri iyileştirmiştir(71).

2.4.1.5 Antiproliferatif aktivite: Hajlaoui ve arkadaşları, *O. majorana* uçucu yağının iki insan tümör hücre hattı (Hep2 ve HT29) ve vero hücre hattı üzerindeki antiproliferatif etkisini değerlendirmiştir. 13,73 ila 85,63 mg/mL arasında değişen CC₅₀ değerleri (hücre büyümesini %50 oranında engelleyen uçucu yağ konsantrasyonu) ile kansere (Hep-2 ve HT29) ve vero hücre soyuna karşı düşük sitotoksik etki saptanmıştır (72).

Erenler ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada ise, *O. majorana*'nın toprak üstü kısımlarının hazırlanan, suda çözünür etil asetat ekstraktından 5,6,3'-Trihidroksi-7,8,4'-trimetoksiflavon, hesperetin, hidrokinon, arbutin ve rosmarinik asit bileşikler izole edilmiş ve izole edilmiş bileşiklerin ve suda çözünür etil asetat ekstraktının antioksidan ve antiproliferatif aktiviteleri araştırılmıştır. İzole edilen bileşiklerin ve bitki ekstraktlarının antiproliferatif aktiviteleri, sırasıyla BrdU hücre çoğalması enzim bağlantılı immünosorbent tahlili ve xCELLigence tahlili kullanılarak C6 ve HeLa hücre hatlarına karşı araştırılmıştır. C6 hücrelerine karşı inhibisyonun gücü (100 µg/mL⁻¹'de) fazladan aza doğru; hesperetin, hidrokinon, 5-FU, etil asetat ekstraktı, rosmarinik asit~5,6,3'-trihidroksi-7,8,4'-trimetoksiflavon, arbutin olarak saptanmıştır. Sonuçlara göre, hem hesperetin hem de hidrokinonun C6 ve HeLa hücrelerine karşı diğer izole bileşiklere ve 5-florourasil'e göre daha güçlü antiproliferatif aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir (62).

Makrane ve arkadaşları, *O. majorana*'nın toprak üstünden hazırlanan farklı ekstraktların (sulu, petrol eteri, diklorometan, etilasetat ve metanollü ekstraktlar) insan meme hücre hattı (MDA-MB-231) ve insan kolon hücre hattı (HT-29) üzerindeki antikanser etkilerini araştırmıştır. Çalışmanın sonucunda, etil asetat ekstraktının hem MDA-MB-231 hücre hattı (IC₅₀ = 30,90 µg/mL) hem de HT-29 hücre hattı (IC₅₀ = 50,11 µg/mL) üzerinde en iyi antiproliferatif etkiyi sergilediğini göstermiştir (73).

2.4.1.6. Diğer aktiviteler: *O. majorana*'nın antienflamatuvar etkisini araştıran bir çalışmada, sıçanlarda karragen ile indüklenen pençe ödemi yöntemi kullanılmıştır. *O. majorana*'nın etanol ekstraktı ile iki dozda (0,25 ve 0,5 g/kg vücut ağırlığı) uygulandığı grupta, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında, pençe ödemi oranının önemli ölçüde azaldığı belirlenmiştir (17).

Yapılan bir diğer çalışmada, *O. majorana* yaprak kısmından elde edilen sulu ekstraktının deksametazon tarafından indüklenen hepatotoksisite ve oksidatif stres üzerindeki etkisi in vivo olarak araştırılmıştır. Araştırmanın sonucunda, ekstraktın hepatik hasarın etkisini azaltma yeteneğine sahip olduğu saptanmıştır (74).

2.4.2. *Mentha rotundifolia*’ ya Ait Biyoaktivite Çalışmaları

2.4.2.1. Antioksidan aktivite: Riahi ve arkadaşları, Tunus’da 2 farklı lokasyondan toplanan *Mentha rotundifolia* yaprak kısmının antioksidan aktivitesini araştırmak üzere metanol-su ekstresi (80:20 h/h) hazırlamış ve DPPH serbest radikal giderme aktivitesi ve demir iyonu indirgeme gücü (FRAP) testlerini uygulamışlardır. Farklı lokasyonlardan toplanan aktivitelerinde farklılık olduğu belirlenmiştir. DPPH testine göre yüksek serbest radikal yakalama kapasitesi Bizerte bölgesinden toplanan *Mentha rotundifolia* ekstraktında (IC_{50} : 19,25 μ g/mL), düşük radikal giderme potansiyeli ise Beja bölgesinden toplanan bitki ekstraktında (IC_{50} : 23,41 μ g/mL) kaydedilmiştir. Benzer şekilde, FRAP testine göre, Bizerte bölgesi için daha yüksek bir FRAP ($527,34 \pm 2,21 \mu$ mol Fe^{2+} E/g DW) ve Beja bölgesi için daha düşük bir antioksidan aktivite ($452,88 \pm 1,51 \mu$ mol Fe^{2+} E/g DW) belirlenmiştir (75).

Siham ve arkadaşları, *Mentha rotundifolia* aseton ve sulu ekstraktının antioksidan aktivitesini değerlendirmek üzere DPPH• serbest radikal giderme aktivitesi, ABTS+ radikal katyon radikali renk giderme testi, OH radikal temizleme testi, demirli iyon şelatlama, indirgeme gücü ve β -karoten/linoleik asit ağartma testleri yapmıştır. Ekstraktların fitokimyasal bileşimini ortaya çıkarmak için LC-MS/MS yöntemi uygulanmış ve sonuçlar, sulu ekstraktın, asetonik ekstraktla karşılaştırıldığında polifenoller ve flavonoidler açısından daha zengin olduğu gösterilmiştir. Ana bileşen rosmarinik asit olarak saptanmakla birlikte birçok fenolik bileşen aydınlatılmıştır. Sonuçlar, DPPH radikal yakalama aktivitesinin, aseton ve su ekstreleri için sırasıyla $15,066 \pm 0,449 \mu$ g/mL ve $97,862 \pm 0,218 \mu$ g/mL IC_{50} değeri ile aseton ekstresinin su ekstresinden daha belirgin antioksidan aktivite gösterdiğini ortaya koymaktadır. Ancak,

ekstrelerin etkisinin BHA'ninkinden (IC_{50} : $5,742 \pm 0,206 \mu\text{g/mL}$) daha düşük olduğu saptanmıştır ($p < 0,001$). ABST testinin sonucuna göre, su ve aseton ekstresi için IC_{50} değeri sırasıyla $5,868 \pm 0,487 \mu\text{g/mL}$ ve $22,026 \pm 0,759 \mu\text{g/mL}$ olup, iyi bir antioksidan etkiye sahip oldukları bulunmuştur. Ekstrelerin etkinliğini değerlendirmek üzere, sonuçlar güçlü sentetik antioksidan BHT (IC_{50} : $2,745 \pm 0,180 \mu\text{g/mL}$) ile karşılaştırılmıştır. Sonuçlar, en güçlü OH radikal temizleyici olarak C vitamini (IC_{50} : $194,868 \pm 1,836 \mu\text{g/mL}$), ardından aseton ekstresi (IC_{50} : $204,355 \pm 3,925 \mu\text{g/mL}$) ve su ekstresi (IC_{50} : $377,232 \pm 4,995 \mu\text{g/mL}$) olduğunu göstermiştir (76).

Yapılan bir başka çalışmada, Cezayir'den toplanan *Mentha rotundifolia* L.'nin gövde ve yapraklarının metanol ve sulu ekstreleri hazırlanmış, antioksidan aktiviteleri ve fenolik içerikleri değerlendirilmiştir. Analizlerde, yapraktan hazırlanan su ekstresinin en yüksek toplam fenolik içeriğe ($20,75 \pm 0,643 \text{ mg GAE/g}$) sahip olduğu, en yüksek toplam flavonoid içeriğin ise metanolik yaprak ekstresinde ($1,97 \pm 0,035 \text{ mg CAE/g}$) olduğu    l m şt r. Metanolik yaprak ekstresi en düşük IC_{50} değeri ($0,7 \pm 0,028 \text{ mg/mL}$) ile en yüksek DPPH süpürme kabiliyetine sahipken, aynı sonuç demir indirgeme gücünde de gözlenmiştir.  -karoten ağartma deneyleri ile ilgili sonucunda, gövdelerin sulu ekstraktının, standartlara yakın bir IC_{50} ile ($0,52 \pm 0,024 \text{ mg/mL}$) en yüksek antioksidan yeteneği sergilediği gösterilmiştir (77).

Yapılan başka bir çalışmada, iki *Mentha* türünün (*Mentha rotundifolia* (MR) ve *Mentha pulegium* (MP) fenolik içerikleri, kimyasal bileşimleri ve biyolojik aktiviteleri arasındaki ilişki analiz edilmiştir. Bu bitkilerin yapraklarından metanol ekstreleri hazırlanmış ve HPLC analizi sonucunda, her iki ekstrakttaki ana bileşenlerin eriocitrin ve rosmarinik asit olduğu gösterilmiştir (MR ve MP'nin metanolik ekstraktlarında sırasıyla 25 ve 20 mg/mL ve 12 ve 8 mg/mL). Ayrıca, MR ekstraktı polifenoller açısından daha zengin olup, MP ye göre daha yüksek antioksidan aktiviteyi sergilemiştir. *M. rotundifolia* metanol ekstresi, *M. pulegium* ile karşılaştırıldığında daha yüksek antioksidan aktivite sergilemiş; ABTS ve DPPH testlerinin sonucunda IC_{50} değerleri sırasıyla 44 $\mu\text{g/mL}$ ve 21 $\mu\text{g/mL}$ olarak bulunmuştur (43).

Yapılan başka bir çalışmada, *Mentha rotundifolia* (L.) Huds yapraklarının antioksidan ve etkisi araştırılmıştır. Sulu ekstratı hazırlanan bitkin, kimyasal içeriği k t le spektrometrisine (LC-MS) bağlı sıvı kromatografisi ile analiz edilmiş ve ana bileşik kaempferol glukuronit (85%) olarak saptanmıştır. *In vitro* antioksidan aktivitesini

değerlendirmek için, 2,2-difenil 1-pikrilhidrazil (DPPH) ve 2,20-azino-bis 3- etilbenzotiazolin6-sülfonik asit (ABTS+) testleri yapılmış ve IC₅₀ sonuçları sırasıyla; 26,47 and 41,21 µg/mL olarak bulunmuş, güçlü antioksidan etkinlik gösterdiği saptanmıştır (78).

2.4.2.2. Antimikrobiyal aktivite: Tunus'dan 2 farklı bölgeden temin edilen, *M. rotundifolia* uçucu yağlarının yaygın Gram-pozitif ve Gram-negatif bakterilere ve iki mantar türüne karşı antimikrobiyal aktiviteleri, inhibisyon çapı, minimum inhibe edici konsantrasyon (MIC) ve minimum bakterisidal konsantrasyon (MBC) değerleri ölçülerek saptanmıştır. Sonuçlar, test edilen yağların incelenen iki bölge için test edilen tüm mikroorganizmalara karşı güçlü aktiviteleri olduğunu göstermiş, ancak antimikrobiyal özelliklerinde mikroorganizma türlerine göre farklılıklar gözlenmiştir. En yüksek inhibisyon zon çapları gr (+) bakterilerde, ardından gr (-) bakterilerde ve ardından mantar türlerinde saptanmıştır. En yüksek inhibisyon çapı *E. coli* türünde (34 mm) gözlenirken, en düşük değer *C. albicans*'ta (20 mm) olarak bulunmuştur. Bu sonuçlar MIC ve MBC değerleri ile de doğrulanmıştır. MIC ve MBC değerleri *E. coli*'ye karşı sırasıyla; 0,025 ve 0,05 (% v/v) olarak ölçülmüştür. *C. albicans* mantar türü için ise MIC ve MBC değerleri sırasıyla; 0,8 ve 1,6 (% v/v) olarak bulunmuştur (79).

Yapılan başka bir çalışmada ise, Cezayir' den toplanan, *Mentha rotundifolia* L.'nin gövde ve yapraklarının metanolik ve sulu ekstraktlarının antimikrobiyal aktiviteleri araştırılmıştır. Fenolik içerik olarak, yapılan analizlerde yaprak sulu ekstraktın en yüksek toplam fenolik içeriğe (20,75 ± 0,643 mg GAE/g) sahip olduğu, en yüksek toplam flavonoid içeriğin ise metanolik yaprak ekstresinde (1,97 ± 0,035 mg CAE/g) olduğu ölçülmüştür. Antimikrobiyal potansiyel, çeşitli mikroorganizmalara karşı inhibisyon zonları ölçümüne göre değerlendirilmiş ve sonuçlar kontrolün aktivitesiyle karşılaştırılmıştır. Çalışma sonucunda, *M. rotundifolia* yapraklarının metanol ve sulu ekstraktlarının *E. coli* ve *C. albicans*'a karşı etkinlik gösterdiği bulunmuş, en dirençli mikrobiyal suşların ise filamentöz mantarlar olduğu saptanmıştır (77).

Başka bir çalışmada, Cezayir'de yetişen *Mentha pulegium* L. (MPE) ve *Mentha rotundifolia* (L.) Huds (MRE) uçucu yağları hidrodistilasyon yöntemiyle elde edilmiş ve kimyasal bileşenleri GC/MS ile incelenmiştir. Ayrıca, uçucu yağlar antimikrobiyal aktivitelerini saptamak için disk difüzyon ve nokta deneyleri yapılmıştır. MRE' de, ana bileşenler olarak trans-piperiton epoksit (%30,2), piperiton oksit (%8,7), timol (%4,5),

germacren D (%3,5) ve terpinen-4-ol (%2,7) saptanmıştır. MRE, test edilen bazı mikroorganizmalara karşı iyi ile çok iyi arasında antimikrobiyal aktivite göstermiştir, En hassas mikroorganizmanın 0,125 mg/mL MCF değeri ile *A. flavus* olduğu bulunmuş ve onu *C. albicans* takip etmiştir (44).

Yapılan başka bir çalışmada ise iki farklı *Mentha* türünün (*Mentha rotundifolia* (MR) ve *Mentha pulegium* (MP)) un yapraklarından metanol ekstresi hazırlanmış, fenolik içeriği ve antimikrobiyal aktiviteleri analiz edilmiştir. HPLC analizi sonucuna göre, her iki ekstrakttaki ana bileşenlerin eriositrin ve rosmarinik asit olduğu bulunmuştur (MR ve MP'nin metanolik ekstraktlarında sırasıyla 25 ve 20 mg/mL ve 12 ve 8 mg/mL). Antifungal aktivite sonuçları, *C. albicans*, *Aspergillus flavus* ve *Aspergillus niger*'e karşı maksimum inhibisyon bölgeleri ve MIC değerleri ile sırasıyla 10 ila 13 mm ve 12,5 ila 25 µg/mL arasında değişen orta düzeyde bir aktivite sergilediğini göstermiştir (43).

Yapılan başka bir çalışmada ise Cezayir' den hasat edilen *Mentha rotundifolia* bitkisinin uçucu yağının antifungal aktivitesi, fitopatojenik bir mantar olan *Fusarium oxysporum*'a karşı *in vitro* olarak değerlendirilmiştir. Ayrıca kimyasal bileşenleri GC/MS ile aydınlatılan uçucu yağın ana bileşeni 3-siklopenten-1-on,2-hidroksi-3-(3-metil-2-butenil) (yaklaşık %89) olarak tespit edilmiştir. Bu aktivite için agar üzerinde doğrudan temas tekniği uygulanmıştır. Uçucu yağ olmayan ve %0,01 olan ortamda *F. oxysporum* üremeye ve gelişmeye devam ederken, uçucu yağ konsantrasyonu %2, %4 ve %10 olan agarlarda *F. oxysporum* üremesi saptanmamıştır. Bu çalışma ile *M. rotundifolia* uçucu yağının, *F. oxysporum*'a karşı antifungal etki gösterdiği ortaya çıkarılmış ve bu türün iyi bir antifungal bileşik kaynağı olarak kullanılmasına bilimsel bir temel sağlamıştır (80).

2.4.2.3. Antiinflamatuar aktivite: Yapılan bir çalışmada, *M. rotundifolia* yapraklarından hazırlanan, metanol-su (80:20 h/h) ekstresinin, antiinflamatuar ve analjezik etkileri, karragenan ile oluşturulan pençe ödemi testi ve asetik asit ile indüklenen kıvranma testi kullanılarak değerlendirilmiştir. Ekstrakt, inflamasyon inhibisyonu üzerinde doza bağımlı bir etki göstermiştir. 600 mg/kg dozda, uygulamadan 4 saat sonra, en yüksek ödem inhibisyonu %84,49 olarak ölçülmüştür. Ekstrakt, 200, 400 ve 600 mg/kg dozlarında kıvranma testinde, farelerde reaksiyon süresinde doza bağımlı olarak önemli bir artış göstermiştir. Ayrıca, enflamatuar gruba kıyasla, karragenan enjeksiyonundan sonra karaciğer homojenatında katalaz, süperoksit dismutaz, glutatyon aktivitelerinde önemli artışlar ve malondialdehit seviyesindeki aktivitede önemli düşüşler

saptanmıştır. Sonuçlara göre *M. rotundifolia* 'nın metanol-su ekstraktının anti-inflamatuar ve analjezik aktivitelere sahip olduğunu göstermektedir (81).

2.4.2.4. Antiproliferatif aktivite: Yapılan bir çalışmada, Brezilya' nın güney bölgesinden toplanan, *M. rotundifolia* heksan ekstraktının insan meme adenokarsinomu (MCF-7), insan ağız epidermal karsinomu (KB) ve fare embriyonik fibroblast (NIH 3T3) hücre hatlarına karşı in vitro antiproliferatif etkisini değerlendirilmiştir. Sonuçlar, heksan ekstraktının hem KB hücre hattı, hem de MCF-7'ye karşı antiproliferatif aktivite gösterdiğini kanıtlamıştır (82).

2.4.2.5. İnsektisidal aktivite: Yapılan bir çalışmada, Cezayir'de yetişen *M. pulegium* (MP) ve *M. rotundifolia* (MR) uçucu yağları hidrodistilasyon yöntemiyle hazırlanmış ve kimyasal bileşimleri GC/MS ile incelenmiştir. Ayrıca, bu uçucu yağların yetişkin *Rhyzopertha dominica* 'ya karşı temas toksisitesi, fumigant toksisitesi ve iticilik testleri yapılmıştır. MP uçucu yağında bulunan başlıca bileşenler pulegon (%70,4), neo-mentol (%13,4), neo-mentol asetat (%3,5) ve mentondur (%2,7) olarak bulunmuşken, MR uçucu yağının ana bileşenleri trans-piperiton epoksit (%30,2), piperiton oksit (%8,7), timol (%4,5), germacren D (%3,5) ve terpinen-4-ol (%2,7) olarak bulunmuştur. MP uçucu yağı ve MR uçucu yağının fumigant toksisite testi, 2 L/mL'lik dozda sırasıyla %39,2 ve %44,3'lük ölüm oranı göstermiştir. Ayrıca, bu dozda ve 30 dakikalık maruz kalma süresinden sonra, itici etki, yetişkin *R. dominica* 'ya karşı MP uçucu yağı ve MR uçucu yağı için sırasıyla %46,03 ve %47,54'lük ölüm oranları göstermiştir. Çalışmanın sonucuna göre bu uçucu yağların, iticilik sınıfı III olduğu yani orta derece insektisidal aktivite gösterdiği bildirilmiştir (83).

Başka bir çalışmada, *Cupressus sempervirens* L., *Juniperus phoenicea* L., *Mentha rotundifolia* (L.) Huds ve *Asphodelus microcarpus* Salzm'in insektisidal aktivitesi farklı polaritelere (hidro-metanolik, hidro-etanolik, hidro-asetonik ve sulu) sahip solventlerin ve farklı ekstraksiyon yöntemlerinin (maserasyon ve ultrason destekli ekstraksiyon) etkilerinin değerlendirilmesine odaklanarak araştırılmıştır. Ekstraktların toksisitesi, yetişkin *Tribolium castaneum* 'a karşı temas yoluyla incelenmiştir. Temas testinin sonucuna göre, ultrason destekli ekstraksiyonla elde edilen hidro-asetonik ekstraktların (*C. sempervirens*, *J. phoenicea*, *M. rotundifolia*) en güçlü insektisidal gücü sergilediğini göstermiştir. Maserasyon ile elde edilen hidro-asetonik ekstraktlar arasında ise en yüksek ölüm oran *A. microcarpus* 'a ait olduğu saptanmıştır (84).

2.4.2.6. Antitirozinaz aktivite: Cezayir'de hasat edilen üç farklı *Mentha* türünün; *Mentha spicata* L. (MS), *Mentha pulegium* L. (MP) ve *Mentha rotundifolia* (L.) Huds'un (MR) yaprakları n-heksan karıştırılarak yağdan arındırılmış ve kurutulmuş ve ardından etanol ekstresi hazırlanmıştır. Hazırlanan ekstrenin polifenolik içeriği ve antitirozinaz aktivitesi *in vitro* olarak değerlendirilmiştir. Toplam fenolik (TPC) ve flavonoid (TFC) içerikler, sırasıyla Folin-Ciocalteu ve alüminyum klorür yöntemleriyle kullanılarak ölçülmüş, MS en yüksek TPC'yi ($12,0 \pm 0,3$ mg gallik asit eşdeğeri/g kuru ağırlık) gösterirken, MR' nin ise en yüksek TFC içeriğine sahip ($3,3 \pm 0,1$ mg kuersetin eşdeğeri kuru ağırlık) olduğu belirlenmiştir. Mantar tirozinaz aktivitesi, tirozin varlığında oluşan melaninlerin kolorimetrisi ile ölçülmüş ve sonuçlara göre MR, en yüksek tirozinaz inhibe edici aktiviteyi göstermiştir (IC_{50} : 108 ± 20 g/mL). Tüm ekstraktlarda kafeik ve rosmarinik asitlerin ve diosminin varlığını ince tabaka kromatografisi ile belirlenmiş ve bu sonuçlar, yüksek performanslı sıvı kromatografisi ile de doğrulanmıştır. Çalışma sonucunda antitirozinaz aktivite gösteren MR'nin kozmetik endüstrisinde kullanılabileceği bildirilmiştir (42).

2.4.2.7. Nöroprotektif etki: Yapılan başka bir çalışmada, *Mentha rotundifolia* (L.) Huds yapraklarının nöroprotektif etkisi *in vivo* olarak araştırılmıştır. Sulu ekstratı hazırlanan bitkin, kimyasal içeriği kütle spektrometrisine (LC-MS) bağlı sıvı kromatografisi ile analiz edilmiş ve ana bileşik kaempferol glucuronide (85%) olarak saptanmıştır. *In vivo* olarak oksidatif stresi ve nörotoksisiteyi indüklemek için H_2O_2 kullanılmıştır. Davranış değişiklikleri Açık Alan, Y-labirent ve Rotarod (motor aktivite) testleri kullanılarak değerlendirilmiş ve *Mentha rotundifolia*' nın davranış değişikliğini hafiflettiği görülmüştür. Ek olarak, ekstrakt H_2O_2 'nin zararlı etkilerini hafifletmiş ve tüm karaciğer biyobelirteçlerini iyileşmeye sebep olmuştur. Elde edilen sonuçlar, *M. rotundifolia*'nın güçlü antioksidan ve nöroprotektif etkilere sahip olduğunu ve oksidatif strese bağlı bozuklukları önleyebileceğini düşünmüştür (78).

2.4.2.8. Diğer aktiviteler: Yapılan bir çalışmada, Cezayir'in Mila ve Jijel bölgelerinde toplananan *M. rotundifolia*'nın topraküstü kısımları ve kökleri birbirinden ayrılmış ve etanol ile ekstrakte edilen örneklerin α -glukosidaz ve asetilkolinesteraz inhibisyon etkisi ile fotoprotektif etkisi *in vitro* olarak ölçülmüştür. Asetilkolinesteraz inhibisyonu testinin sonucuna göre, Mila'dan bölgeden temin edilen bitkinin kök ekstresinin, diğer bölgeden temin edilene göre daha yüksek aktivite gösterdiği, toprak

üstü kısımlar kullanılarak ekstrelerin ise hafif etkinlik gösterdiği saptanmıştır. α -glukozidaz inhibisyon testi sonucuna göre ise, Jijel bölgesinden temin edilen bitkinin köklerinden hazırlanan ekstrenin aktivitesi en yüksek olarak bulunmuştur. UV ışınlarına karşı koruma, güneş koruma faktörü (SPF) belirlenerek değerlendirilmiş, tüm ekstraktlar $35,7 \pm 0,07$ ile $39,49 \pm 1,42$ arasında değişen belirgin güneş koruma faktörü değerleri göstermiştir (83).

2.4.3. *Helichrysum arenarium*' a Ait Biyoaktivite Çalışmaları

2.4.3.1. Antioksidan aktivite: Türkiye'den toplanan 16 *Helichrysum* türü üzerinde in vitro antioksidan aktivite çalışması yapılmıştır. *Helichrysum* türlerinin topraküstü kısımlarından hazırlanan metanol ekstreleri üzerinde yapılan çalışmada, Folin–Ciocalteu ayırıcı temelli yöntemin sonuca göre *Helichrysum arenarium* un toplam fenolik içeriği 115,76 mg gallik asit eşdeğeri olarak, DPPH• serbest radikal süpürücü aktiveye ait IC₅₀ sonucu 37,52 µg/mL olarak, total antioksidan kapasite ise 147,68 mg askorbik asit eşdeğeri olarak hesaplanmıştır (52)

Tepe ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, *Helichrysum arenarium* subsp. *aucheri* nin de arasında bulunduğu 4 farklı *Helichrysum* türünün ekstreleri üzerinde antioksidan aktivite çalışmalarını gerçekleştirmiştir. Ekstreler, olası antioksidan aktiviteleri için iki tamamlayıcı test sistemi, yani DPPH• serbest radikal yakalama ve b-karoten/linoleik asit sistemleri ile taranmıştır. DPPH• serbest radikal yakalama testi sonucuna göre *Helichrysum arenarium* subsp. *aucheri* bitkisine ait IC₅₀ değeri 47,6 µg/mL olarak saptanmıştır. Sonuçlar sentetik antioksidan olan BHT ile karşılaştırılmış ve özellikle DPPH test sonucuna göre 4 türünde BHT ye göre daha güçlü serbest radikal giderme aktiviteleri gösterdiği bulunmuştur (85).

Yapılan bir başka çalışmada, *Helichrysum arenarium* çiçeklerinin, H-donör aktivitesi kullanılarak ölçülen antioksidan etkinliğinin, silibinininden daha etkili olduğunu göstermiştir (86). Bir diğer in vitro antioksidan aktivite araştıran çalışmada, *Helichrysum arenarium* çiçek ve yaprak ekstrelerinin aktivitesi karşılaştırılmış, DPPH• testi sonucuna göre, yapraklardan hazırlanan metanol ekstresinin aktivitesi ($19,13 \pm 0,04$ mmol/L, trolox eşdeğeri), çiçeklerden hazırlanan metanol ekstresine ($6,13 \pm 0,04$ mmol/L) kıyasla üç kat daha yüksek bulunmuş ve ABST testinin sonucunun da benzer olduğu saptanmıştır (87).

2.4.3.2. Antimikrobiyal aktivite: Aralarında *Helichrysum arenarium* subsp. *aucheri* nin de bulunduğu farklı *Helichrysum* türlerinin toprak üstü kısımlarının metanol ekstresleri üzerinde yapılan *in vitro* antimikrobiyal aktivite çalışmasında, *Aeromonas hydrophila* ATCC 7965, *Bacillus brevis* FMC 3, *Bacillus cereus* RSKK 863, *Bacillus subtilis* ATCC 6633, *Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* FMC 5, *Morganella morganii*, *Mycobacterium smegmatis* RUT, *Proteus mirabilis* BC 3624, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *S. aureus* ATCC 25923, *Yersinia enterocolitica* ATCC 1501, *Candida albicans* ATCC 1223 ve *Saccharomyces cerevisiae* BC 5461 mikroorganizma suşları kullanılmıştır. Ekstraktların antimikrobiyal aktivitelerinin belirlenmesi için agar-well difüzyon yöntemi kullanılmıştır. *In vitro* antimikrobiyal aktivite testinin sonuçları, ekstraktların test edilen mikroorganizmalara karşı geniş antimikrobiyal aktiviteye sahip olduğunu göstermiştir(52).

Aralarında *Helichrysum arenarium*’ unda bulunduğu 7 farklı *Helichrysum* türünden elde edilen 14 ekstrakt ile yapılan *in vitro* çalışmada antibakteriyel, antifungal ve antiviral aktiviteler değerlendirilmiştir. Tüm ekstraktlar, gram pozitif bakterilere karşı gram negatif bakterilere göre daha güçlü antibakteriyel aktivite gösterdiği bulunmuştur. Ekstraktların antifungal aktivitelerinin rutin klinik kullanımda bulunan antifungal ajanlara yakın olduğu saptanmıştır. Özellikle, tüm etanolik ekstraktların, *S. aureus*'a karşı daha güçlü inhibisyon gösterdiği bulunmuştur. Ayrıca, *H. arenarium* ve *H. armenium* 'un etanolik ekstraktları, hem HSV-1 hem de PI-3'e karşı kayda değer antiviral aktivite saptanmış ve *H. arenarium* ve *H. armenium* ekstraktlarının, biyoaktivite açısından test edilen ekstraktlar arasında en kayda değer sonuçları gösterdiği bulunmuştur (88).

Yapılan bir diğer çalışmada, *Helichrysum arenarium* subsp. *arenarium* metanol ekstraktının, şiddetli alt solunum yolu enfeksiyonlarından sorumlu antibiyotik dirençli bakterilerin klinik izolatlarına karşı antimikrobiyal aktivitesi araştırılmıştır. Hazırlanan ekstrakt, ampisilin dirençli *M. catarrhalis*, metisilin dirençli *S. aureus* ve penisilin dirençli *S. pneumoniae* ve klinik izolatlarına karşı antibakteriyel aktivite göstermiştir. Ayrıca ekstraktın, penisiline dirençli *S. pneumoniae*'ye karşı siprofloksasinin antibakteriyel aktivitesini arttırdığı gösterilmiştir (87).

2.4.3.3 Anti-enflamatuvar aktivite: *H. arenarium* çiçeklerinden izole edilen flavonoidlerin (yani, narirutin, naringin, eriodictyol, luteolin, galuteolin, astragalin ve

kaempferol) üzerinde yapılan bir çalışmada anti-aterosklerotik aktivite saptanmıştır. Aktivitenin ana mekanizmasının özellikle C-Reaktif Protein ekspresyonunun azaltılması, c-Jun NH2-terminal kinazların ve p38'in aktivitelerinin inhibisyonu ve mitojenle aktive olan protein kinaz yolunun baskılanması yoluyla anti-inflamasyon yolundan geçtiği saptanmış ve bu sayede skar dokusu ve damar darlığı oluşumları düzelmiş, sonuçta ateroskleroz oluşma riskinin azaldığı bulunmuştur (89).

2.4.3.4 Spazmolitik aktivite: *H. arenarium*'un spazmolitik etkisi üzerine yapılan bir çalışmada, bitkinin 3 farklı flavonoiti olan apigenin, kaempferol-3 glukozit ve naringenin-5-glukozitin sulu çözeltileri, sıçanlara 4 mg/100 g vücut ağırlığında dozda intravenöz olarak uygulanmıştır. Pozitif kontrol olarak dekolün, deoksikolik asit kullanılırken, negatif kontrol olarak izotonik NaCl kullanılmıştır. Uygulanan tüm preparatların spazmolitik aktivite gösterdiği bulunmuştur. Spazmolitik etki araştırmak için benzer deneyler, bitkiden izole edilen 5-metoksi-7-hidroksifitalat bileşeni için de değerlendirilmiş fakat aktivite gözlenememiştir. Testler ayrıca, tüm flavonoidleri içeren bir alkol ekstresi ve flavonoid içermeyen bir sulu ekstre (50 mg/100 g) ile yapılmış ve tüm flavonoidleri içeren ekstrakt ile bireysel flavonoidleri içeren ekstraktların etkisi benzer bulunmuştur. Yapılan araştırmaların sonucunda, *H. arenarium*'un Galenik preparatlarının aktivitesinin yalnızca flavonoid içeriğine bağlı olduğu sonucu saptanmıştır (90).

Ayrıca yapılan bir çalışmada, tavşan ve sıçan bağırsaklarından izole edilen düz kas üzerinde ve kobay ve tavşanlardan izole edilen safra keseleri üzerinde antispazmodik aktivite üzerine deneyler yapılmıştır. Apigenin ve apigenin içeren *H. arenarium*'un eter ekstraktının, *ex vivo* olarak düz kaslar ve izole edilmiş safra keseleri üzerinde en güçlü antispazmodik aktiviteye sahip olduğu saptanmıştır. Bu nedenle ilaç esas olarak kolesistit ve kramp benzeri safra kesesi bozukluklarının tedavisinde adjuvan olarak kullanılabileceği saptanmıştır (91).

2.4.3.5 Diüretik aktivite: *H. arenarium*'un dekoksiyon ve infüzyon ile ekstreleri hazırlanmış ve ekstraktlar (eter, etanol, sulu) köpeklere 10 mg/kg dozda intraduodenal ve sıçanlara 50 mg/kg dozunda intragastik olarak uygulandığında diüretik aktivite saptanmıştır (90).

2.4.3.6 Sitotoksik ve genotoksik etki: *Helichrysum arenarium* alt türleri üzerinde yapılan bir çalışmada farklı (0,01-1 mg/mL'lik) konsantrasyonlardaki metanol

ve su ekstraktları ile indüklenen insan lenfosit kültürlerindeki genotoksik etkiler değerlendirilmiştir. Üç farklı parametre (mikronükleus, mitotik indeks ve replikasyon indeksi) kullanılan çalışmada, *H. arenarium* subsp. *erzincanicum* mitotik ve replikasyon indekslerini azaltsa da mikronükleus formasyonunu indüklediği, genotoksik etki gösterdiği fakat *H. arenarium* subsp. *aucheri*' nin parametreler üzerinde etkisi olmadığı yani genotoksik etkiye sahip olmadığı belirlenmiştir (92).

Bir başka çalışmada, *H. arenarium* çiçeklerinin etanol ekstresi hazırlanmış ve sitotoksik etkileri 2 hücre hattı (palatal mezenkimal kök hücreler ve insan servikal adenokarsinomundan türetilen epitel hücreler) üzerinde değerlendirilmiştir. Ekstraktın palatal mezenkimal kök hücreler üzerinde sitotoksik etkileri olmadığı bulunmuş ve vücudun normal hücreleri üzerinde herhangi bir toksik etkinin olmadığı belirlenmiştir (93).

2.4.3.7 Diğer aktiviteler: Yapılan çalışmalarda, *H. arenarium*' un ana flavonoidlerinden biri olan naringenin'in önemli aktiviteleri bildirilmiştir. Pafumi ve ark. (2017), naringenin'i, metastatik potansiyelli melanom, Ebola virüsü enfeksiyonu ve Parkinson hastalığının ilerlemesi ve dahil olmak üzere bir dizi patolojik durumda önemli bir terapötik adım olan İki Gözenekli Kanal 2 (TPC2) inhibitörü olduğunu belirlemiştir (94).

Bir başka çalışmada, *H. arenarium* çiçeklerinin etanol ekstresi hazırlanmış ve UV ışınlarına karşı koruyucu etkisi in vitro olarak test edilmiştir. Çalışmanın sonucuna göre, ekstraktın, özellikle uvb ışınları olmak üzerine uv ışınlarına karşı önemli ölçüde koruma sağladığı saptanmış, bu sebeple kozmetik ürünlerin içeriğine katkı sağlayabileceği belirtilmiştir (93).

Randomize çift kör yapılan bir çalışmada, 27 metabolik sendrom hastası 2 gruba ayrılmış, bir gruba *Helichrysum italicum* subsp. *italicum* diğer gruba *H. arenarium* infüzyonu 28 gün sürecince 1g'lık bitki çayı poşeti şeklinde içirilmiştir. Çalışma sonucuna göre, *Helichrysum italicum* subsp. *italicum* infüzyon tüketiminin antropometrik özellikler üzerinde olumlu bir etkileri bulunmuş; vücut ağırlığında, vücut kitle indeksinde ve viseral ve toplam vücut yağında önemli azalmalar gözlemlenmiştir. *H. arenarium* grubunda ise, serum glikoz seviyelerinde daha fazla azalma ve lipid profilinde iyileşme saptanmıştır. Her iki grupta da HDL'de azalmaya meydana gelmiş ve aynı zamanda serum antioksidan özelliklerinin iyileştiği belirlenmiştir. Her iki infüzyonun da

tüketilmesi, metabolik sendroma sahip bireyler için basit, karlı bir alışkanlık olarak önerilebileceği belirtilmiştir (95).

Thymus vulgaris, *Helichrysum arenarium* ve *Rosa damascena* bitkilerinin etanol ekstraktlarının bir antimikrobiyal, antioksidan ve anti-tirozinaz etkileri araştırılan bir çalışmada, incelenen tüm ekstraktların tirozinaz enzimi üzerinde inhibisyon yeteneğine sahip olduğu hem TLC hem de spektrofotometrik yöntemle doğrulanmıştır (96).

2.5 DERİNİN YAŞLANMASI VE ANTİ-AGING

2.5.1 Deri

Deri, yetişkin bir insan vücudunun, toplam ağırlığının yaklaşık %15' ini oluşturan ve 1.5-2 m²'lik bir yüzey alanına sahip, vücudundaki en büyük organdır(97). Kalınlığı 0,5 mm ve 3 mm arasında değişmekle birlikte, yaşa ve anatomik bölgeye göre değişiklik gösterebilmektedir. En önemli görevi, vücudu tüm dış etkenlere karşı korumak olan deri, termoregülasyon, boşaltım, sıvı homeostazı ve duyuusal algılama dahil olmak üzere çeşitli işlevleri yerine getiren birbirine bağlı üç katmandan oluşmaktadır. Bu katmanlar epidermis, dermis ve hipodermisdir (98).

2.5.1.1 Epidermis: Epidermis, dış etkenlere karşı koruyucu bir tabaka görevi gören derinin dış tabakasıdır. Beş ana katmandan oluşur. Bu katmanlar en içten en dışa doğru sırasıyla;

- Stratum korneum, sürekli dökülen ve bitişik tabakadaki hücrelerle değiştirilen ölü hücrelerden oluşur. Bu katman diğerlerine göre oldukça kalındır; 15-30 kat ölü hücre içerir.
- Stratum lucidum, yarı saydam veya şeffaf katman, 3-5 sıra yoğun şekilde paketlenmiş düz ölü hücreler içerir.
- Stratum granulosum, Granüler tabaka (hücrelerde granüller gözlenebilir), ölmeye başlayan 3-5 düzleştirilmiş keratinosit tabakasından oluşur.
- Stratum spinosum, 8-10 sıra hücre içeren bu tabaka lipid ve protein sentezinden sorumludur.
- Stratum basale (Stratum germinativum), tek bir hücre tabakasından oluşan, hücrelerin yeni keratinositler oluşturmak için sürekli bölündüğü katmandır.

Melanositler, Langerhans hücreleri ve Merkel hücreleri de bu katmanda bulunmaktadır (99).

2.5.1.2 Dermis: Dermis, epidermisin altında bulunmakta ve epidermise kan kılcal damarları yoluyla besin ve oksijen sağlayan destekleyici bir çerçeve görevi görmektedir. Dermis genel olarak; fibroblastlar (hücreler arası maddeyi ve kolajen liflerini üreten), sinirler ve duyu organları, kan damarları, yağ bezleri, ter bezleri ve kıl kökleri ile kolajen ve elastin lifleri içeren bağ dokusundan oluşmaktadır. Kolajen lifler, elastin ve diğer bağ dokuları fibroblastlar tarafından sentezlenir. Kolajen lifleri cilde gücünü verirken, elastin cildin esnekliğinden, yani gerildikten sonra geri yaylanma yeteneğinden sorumludur (99).

2.5.1.3 Hipodermis: Subkutan doku olarakta isimlendirilen hipodermis, dermisin altında bulunan, derinin en içteki katmanıdır. Hipodermis, yağ hücrelerinde yağ depolayan gevşek bir bağ dokusudur. Hayati organları travmadan korumak için bir yastıklama tabakası görevi görür ve soğuğa karşı koruma sağlar. Ayrıca yağ, vücut için bir enerji deposu görevi görür ve vücudun hatlarını tanımlar. Ana bileşenleri; adipositler (yağ hücreleri), fibröz (lifli) doku, kan damarları ve sinir uçlarıdır.

2.5.2 Derinin Yaşlanması

Yaşlanma, organizmanın tamamını etkileyen çok etkenli, kaçınılmaz, fizyolojik bir süreçtir ve belirtilerinin görüldüğü ilk organ da deridir (100). Deri, zamanla meydana gelen hormonal değişimler ve beslenme değişiklikleri ile birlikte vücut sistemindeki diğer organlar gibi git gide değişime uğramaktadır. Aynı zamanda, deri çevresel (dış) etkenlerden de büyük ölçüde etkilenmektedir. Zamanla vücutta görülen tüm bu değişiklikler ve çevresel etkilere maruziyetler derinin epidermal ve dermal kısımlarında kalıcı değişiklikler meydana getirirler. Bunlara bağlı olarak derinin yaşlanması, hem içsel (doğal, gerçek, kronolojik) hem de dışsal (foto-yaşlanma) etkilere bağlı olarak iki grup altında incelenmektedir. Kronolojik yaşlanmanın gelişimi, çevresel faktörlerden bağımsız olup genetik faktörlere ve zamanla ilişkilidir. Önceden genetik faktörlerin deri yaşlanmasına katkısı %25 olarak düşünülürken günümüzde genetik etkinin deri yaşlanmasına katkısının sadece %3 olduğu belirlenmiştir (101). İçsel cilt yaşlanması hormonal denge, fiziksel özellikler ve kalıtsal faktörlerden kaynaklanırken; dışsal yaşlanma, UV ışınlarına ve hava kirliliğine maruz kalma, yetersiz beslenme gibi ana unsurlara bağlı olarak gelişmektedir(102).

2.5.2.1 Doğal yaşlanma: Doğal yaşlanma, hücre yenilenmesinin yavaşlaması ile başlayan, kronolojik ve genetik nedenlerle devam eden, doğal ve kaçınılmaz bir dönemdir. Bu sebeple kişiden kişiye değişiklik gösterebilmektedir. Zamana bağlı olarak ortaya çıkması nedeniyle kronolojik yaşlanma olarak da adlandırılmaktadır. Klinik olarak, içsel olarak yaşlanma belirtilerinin görüldüğü cilt pürüzsüz, ince, solgun ve kırışık olarak tanımlanmaktadır. Histolojik olarak, içsel olarak yaşlanmış cilt, öncelikle dermisin incilmesi, elastin liflerinin dejenerasyonu ve hidrasyon kaybı gibi fonksiyonel değişikliklerle karakterize edilebilir. Doğal yaşlanma ile;

Kolajen sentezi zamanla kademeli olarak azalmakta ve bu da ciltteki kolajen miktarının azalmasına neden olmaktadır. Buna bağlı olarak dermis incelmektedir. Kolajen derinin sağlamlığından sorumlu olduğundan ve yara iyileşmesinde önemli bir rol oynadığından, azalan kolajen miktarına bağlı olarak dermisin gücü azalmakta, atrofiye (yani zayıflaması ve incelmeye) ve yara iyileşme hızının düşmesine yol açmaktadır (103,104)

Kolajene ek olarak hücre büyümesi için bir substrat görevi görerek dermisin iyileştirilmiş yenilenmesini ve yeniden şekillenmesini destekleyici olan elastin sentezi de azalmakta, bu da cilt elastikiyetinin kaybolmasına neden olmaktadır (105,106). Yüzdeki yüzeysel kaslar küçülmeye başlamakta, bu da çizgilerin ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Tipik yüz kırışıklıkları, kasların mimik yapmak için kasıldığı bölgelerde ortaya çıkmaktadır. Bunlar alında uzanan “endişe çizgileri”, göz ve ağız çevresindeki “gülme çizgileri” ve gözlerin dış köşelerinden yayılan “kaz ayakları” olarak görülmektedir (99).

Ayrıca içsel yaşlanma subdermal yağ dokusunda azalmaya yol açmakta bu sebeple de deride sarkma (gevşeklik) ortaya çıkmaktadır. Dolgu kaybı nedeniyle cilt, morarma ve travmaya karşı da daha hassas hale gelmektedir (107).

2.5.2.2 Çevresel faktörlere bağlı yaşlanma: Dışsal yaşlanma, içsel yaşlanmanın tersine genetik faktörlere bağlı olmayan, dış etkenlere bağlı olarak gelişen bir süreçtir. Bireysel olarak önlenemekte veya etkisi azaltılabilmektedir. İnsan derisinin yaşlanmasına neden olan dışsal faktörlerin başında güneşten gelen UV ışınları ve sigara tüketimi gelmektedir. Ek olarak, çevresel stres faktörleri (iklim koşulları, hava kirliliği, güneş ışınları gibi) veya cilt ile temas eden ürünlerin bilinçsizce kullanılması ile de dışsal yaşlanma belirtileri ortaya çıkabilmektedir(100). Fakat tüm bu etkenler

içerisinde en büyük oran güneş ışığından kaynaklanan UV radyasyonuna maruz kalmaya aittir ve bu sebeple dışsal yaşlanma fotoyaşlanma olarak da adlandırılabilir (108). Dünya yüzeyine ulaşan UV radyasyon dalga boyu aralığı 290 ile 400 nm aralığındadır. Güneşten yayılan ultraviyole radyasyon, dalga boylarına göre UVA (320–400 nm), UVB (290–320 nm) ve UVC (200–290 nm) olmak üzere üç kategoriye ayrılmaktadır (108). UVA, dermise nüfuz etmekte ve kronik cilt hasarından sorumluyken, UVB ise sadece epidermise nüfuz eder ve kızarıklık, güneş yanığı, DNA hasarı, hiperpigmentasyon ve cilt kanserinden sorumludur. UVC ışınları ise ozon tabakası tarafından büyük ölçüde bloke edilen ve bu yüzden cilt üzerinde çok az etkisi olan ışınlardır. Bu sebeplere bağlı olarak etkin korunma hem UVA hem de UVB radyasyonunu kapsamalıdır.

Cildin UV radyasyonu ile dejenerasyonu kümülatif bir süreçtir ve dejenerasyonun hızı güneşe maruz kalmanın sıklığına, süresine ve yoğunluğuna ve cilt pigmentinin derecesine bağlı olarak değişmektedir (108). Fotoyaşlanma, yüzde meydana gelen yaşlanmanın %80'inden sorumludur (109). Foto yaşlanma görülen deri, derin kırışma, elastikiyet kaybı, kuruluk, gevşeklik, kaba dokulu görünüm, telenjektazi ve pigmentasyon bozuklukları ile karakterizedir ve görünümü, ağırlıklı olarak içsel olarak yaşlanmış deriden oldukça farklıdır (110). Fotohasarlı deride meydana gelen yaşlı görünüm, özellikle dermisin bağ dokusunun yapısal bileşenlerine verilen hasardan kaynaklanmaktadır. Bağ dokusu fibroblastlar tarafından üretilmekte ve üç ana biyomolekül sınıfından oluşmaktadır, bunlar: glukozaminoglikanlar (GAG'ler), proteoglikanlar, yapısal proteinler (kolajen ve elastin) ve özel makromoleküller (fibrillin, fibronektin, laminin ve hiyalüronan) dir. Derideki kurumunun, elastikliğin azalmasının, sarkma ve kırışıklardan, UV ışınlarının hasarına bağlı olarak kolajen üretiminin azalması, elastinin yapısının bozulması ve hyaluronik asidin azalması sorumludur (108). Özellikle UVB maruziyetinin sonucunda, aktivatör protein-1 (AP-1) dahil olmak üzere birkaç sinyal proteininin aktive olduğu gösterilmiştir. AP-1, c-Jun ve c-Fos alt birimlerinden oluşan kompleks bir proteindir ve etkinleştirildiğinde, metalloproteinazların (MMP'ler) transkripsiyonunu destekler ve bu da kolajen, elastin ve proteoglikanlar dahil hücre dışı matrisin (ECM) bozulmasına neden olur. ECM, en azından kısmen, cilt elastikiyetini ve su bağlama kapasitesini koruma işlevi görür ve bu nedenle UVB maruziyetine bağlı olarak bozulması ile fotoyaşlanma ile ilişkilidir (111). Özellikle UV-A maruziyeti sonucunda da vücuttaki reaktif oksijen türlerinin (ROS) miktarını artmaktadır ve ROS

miktarının artması da, MMP enziminin miktarını artırmakta ve bunun sonucunda ECM hasar görerek cilt yaşlanması hızlanmaktadır (112)

2.5.3 Deri Yaşlanması Moleküler Mekanizmaları

Yaşlanma ile dermal bileşenlerde meydana gelen değişiklikler aşağıda verilmiştir.

2.5.3.1 Kolajen yıkımı: Kolajen liflerindeki değişimler, yaşlanan deride meydana gelen başlıca değişikliklerdendir. Dermisin incilmesi kolajen içeriği ile ilgilidir. Kolajen sentezi zamanla kademeli olarak azalmakta ve bu da ciltteki kolajen miktarının azalmasına neden olmaktadır. Bu durum her iki yaşlanma çeşidinin de ortak sonucu olarak ortaya çıkar. Kolajen derinin sağlamlığından sorumlu olduğundan ve yara iyileşmesinde önemli bir rol oynadığından, azalan miktarı dermisin gücünün azalmasına, atrofiye (yani zayıflaması ve incelmeye) ve yara iyileşme hızının düşmesine yol açmakla birlikte, cildin kırışmasına sebep olmaktadır (99,113).

2.5.3.2 Matriks metalloproteinaz (MMP) seviyelerinde artış: Endopeptidaz ailesi olan MMP'ler, ekstraselüler matris (ECM) proteinlerini parçalayabilmektedirler. Kolajenazlar (MMP-1, MMP-8 ve MMP-13), jelatinazlar (MMP-2 ve MMP-9), stromelisinler (MMP-3, MMP-10 ve MMP-11), matrilisinler (MMP-7 ve MMP-26) ve (5) membran tipi (MT) MMP'ler (MMP-14, MMP-15 ve MMP-16) olmak üzere beş ana alt grup altında incelenmektedirler. Deride, MMP'lerin ana üretim kaynağı epidermal keratinositler ve dermal fibroblastlardır. MMP'lerin spesifik endojen doku inhibitörleri (TIMP), genç deride MMP aktivitesini kontrol altında tutarken, yaşlanan (hem içsel hem de dışsal olarak) deride ise MMP aktivitesi ile TIMP arasındaki denge bozulmuştur. MMP'ler ve TIMP'ler, aşırı MMP aktivitesini kontrol etmek için genellikle koordinasyon içinde düzenlenir. Bununla birlikte, yaşlı deride MMP düzeylerinin yükselmesine, endojen MMP inhibitörlerinin düzeylerinde karşılık gelen bir artış eşlik etmez (114). Fotoyaşlanmış ve doğal sürece bağlı olarak yaşlanmış derideki TIMP-1 miktarı azalabilmektedir (115). Bu dengesizlik dermiste progresif kolajen parçalanmasını hızlandırmakta ve cilt yaşlanması hızlanmaktadır (116).

MMP seviyesinin artmasının ana sebebi reaktif oksijen türleri (ROS)'dir. Deride ROS üretimi, metabolik olarak meydana gelen pro-oksidanlar veya UV ışınları gibi hem içsel hem de dışsal kaynaklar sebebiyle gerçekleşebilmektedir. ROS, yaşlanma sürecinde MMP üretiminin hızlanmasına sebep olmakta ve TGF- β sinyalini inhibe etmektedir. Bu

da kolajen yıkımı ve kolajen biyosentezinin azalmasıyla ve yaşlanma ile sonuçlanmaktadır. Genel olarak, oksidatif hasar, fotoyaşlanmış ciltte daha belirgin görülmekte ve bu, derin kırışıklıklar gibi yaşlanmayla ilişkili daha belirgin özellikleri açıklayabilmektedir. İçsel yaşlanmada birincil MMP kaynağı dermal fibroblastlar iken, fotoyaşlanmada MMP'ler de epidermal keratinositler tarafından üretilmektedir (116).

2.5.3.3 Elastin liflerin yenilenememesi: Dermiste esas olarak fibroblastlar tarafından üretilen elastin lifler, cildin elastikiyetinde önemli rol oynamaktadırlar. Genç deride, elastik lifler, papiller dermiste dik olarak yönlendirilmiş, fibrilinden zengin mikrofibriller ve retiküler dermiste başlıca elastinden oluşan geniş çaplı elastik lifler ile karakteristik, oldukça düzenli bir yapı bulunurken; yaşlanma sürecinde ise elastik lif sistemi yapısal değişikliklere uğrar. İçsel cilt yaşlanmasında, papiller dermisteki fibrilinden zengin mikrofibriller seçici olarak bozulmaktadır. Fibulin-5, elastinin bir öncüsü olan tropoelastinin elastik lifler oluşturmak üzere mikrofibrillerle birleşmesinde önemli bir rol oynamaktadır. Fibulin-5'in içsel cilt yaşlanmasında elastik liflerin yeniden şekillenmesi ve miktarının azalması ile ilişkili olduğuna dair kanıtlar vardır. Genç, UV ışınlarından korunan bir ciltte, fibulin-5, dermis boyunca elastik fiberde lokalizedir; ancak yaşlı ciltte bu fibulin-5 modeli tamamen ortadan kalkmaktadır. İçsel yaşlanmanın aksine, fotoyaşlanma, "solar elastoz" adı verilen bir süreçte dermis boyunca düzensiz elastik liflerin birikmesiyle karakterize edilir ve bu lifler işlevsizdir. Bu süreçte elastik liflerin bozulmasının esas sebebi MMPlar gibi proteazların aktif hale gelmesidir. Özellikle MMP-12 elastin yıkımında en etkili proteazdır ve keratinositler, fibroblastlar gibi birçok hücre tarafından salgılanmaktadır. Bütün bu durumların sonucunda ise deride kırışıklık ve elastikiyet kaybı meydana gelmektedir (116).

2.5.3.4 Glikozaminoglikanlardaki (GAG) değişimler: Glikozaminoglikanlar (GAG'ler), büyük lineer polisakkaritlerdir ve ekstraselüler matrisin ana bileşenidir. Kondroitin sülfat (CS), dermatan sülfat (DS), keratan sülfat (KS), heparan sülfat (HS), heparin (HP) ve hyaluronik asit (HA) dahil olmak üzere altı tip glikozaminoglikanlar bulunmaktadır (117). Glikozaminoglikan zincirleri çok sayıda negatif yüklü karboksil ve sülfat grubu içerdiğinden, dokudaki su içeriğinin korunmasında önemli rollere sahip olabilirler. Toplam sülfatlanmış glikozaminoglikan seviyelerinin, genç deriler ile karşılaştırıldığında içsel olarak yaşlı deride azaldığı saptanmıştır (117). HA'nın kolajen ağı gibi matriks proteinleri ile çapraz bağlanması,

süpermoleküler yapıların oluşmasına neden olmakta ve doku sertliğini arttırmaktadır. Dermal HA esas olarak fibroblastlar tarafından üretilmekte ve papiller dermiste bol miktarda bulunmaktadır. İçsel olarak yaşlanma belirtileri görülen deride, HA bağlayıcı proteinler (HABP'ler) genç deriyle karşılaştırıldığında azalmakta, HA'nın seviyesinin genç ve yaşlı deri arasında az da olsa farklı olduğu görülmektedir (113). Fotoyaşlanma görülen deride ise dermal HA içeriğinin, özellikle solar elastoz bölgelerinde önemli ölçüde arttığı saptanmıştır. HA sentaz (HAS), UV radyasyonları tarafından indüklenmesine rağmen, güneşe maruz kalmış yaşlı derideki HAS mRNA seviyeleri, güneşten korunan deriye kıyasla önemli ölçüde azalmıştır, bu da bilinmeyen regülatör mekanizmaların çalışma olasılığını göstermektedir. Solar elastoz gibi, fotoyaşlanma gözlenen deride artan HA' nın, fonksiyonel olmayan proteinlerin anormal birikiminin bir sonucu olduğu belirtilmektedir. Yapılan bir çalışmada, içsel yaşlanma sırasında toplam sülfatlanmış Glikozaminoglikanların azaldığı bulunmuştur. Fotoyaşlanma gözlenen deride, HA'ya benzer şekilde toplam sülfatlanmış glikozaminoglikanların da arttığı saptanmıştır (113).

2.5.4 Anti-aging Tedavi Yöntemleri

Yaşlanma kaynaklı ortaya çıkan dermal ve epidermal belirtileri tersine çevirmeye yönelik yaşlanma karşıtı stratejileri invaziv olmayan yöntemler (kozmetik bakım, topikal ajanlar, sistemik ajanların yanı sıra yaşlanmaya sebep olan çevresel faktörlerinden kaçınma, yaşam tarzının ve alışkanlıklarının düzeltilmesi) ve invaziv yöntemler (kimyasal peelingler, botulinum toksini, çeşitli dermal dolgu maddeleri ve çeşitli lazer cihazları) olarak iki ana alt grup altında toplanmaktadır. Tüm bu stratejiler Tablo 2.7 de gösterilmiştir (118).

Tablo 2.7: Anti-aging tedavi stratejileri

İnvaziv yöntemler	olmayan	Kozmetik Bakım	Günlük bakım
			Güneşten korunma
			Hücre regülatörleri
			Topikal ajanlar

Tablo 2.7 (devam)

	Antioksidanlar
Sistemik ajanlar	Hormon replasman tedavisi
	Antioksidanlar
Yaşlanmaya sebep olan çevresel faktörlerinden kaçınma, yaşam tarzı ve alışkanlıklarının düzeltilmesi	Sigara tüketimi
	Kirlilik
	Güneşten gelen UV ışınları
	Stres
	Beslenme, besin takviyesi
	Fiziksel aktivite
	Genel sağlık durumunun kontrolü
İnvaziv yöntemler	Kimyasal peelingler, Botulinum toksini, çeşitli dermal dolgu maddeleri ve çeşitli lazer cihazları

2.5.4.1. İnvazif olmayan yöntemler: İnvazif olmayan yöntemler, sağlıklı yaşam tarzı, sigaradan kaçınma ve güneş koruyucular, topikal kozmetikler ve doğrudan cilde uygulanan ilaç ürünleri gibi birincil korumanın yanı sıra hormon replasman tedavisi dahil sistemik tedavileri de içermektedir. Antiaging krem bileşenleri olarak kullanılabilecek antioksidanlar ve hücre düzenleyiciler olmak üzere iki ana gruba ayrılmaktadır. Vitaminler, polifenoller, flavonoidler, bitkisel ekstraktlar gibi antioksidanlar, dokulardaki serbest radikal konsantrasyonunu azaltarak kolajen yıkımını azaltmaktadır. Retinoller, peptitler ve büyüme faktörleri gibi hücre düzenleyiciler, kolajen metabolizması üzerinde doğrudan etkilere sahiptir ve kolajen üretimini etkiler (99,118).

2.5.4.1.a. Bitkisel ekstraktlar: Bitkisel ekstraktlar günümüzde oldukça popüler ve anti-aging ürünlerde, antioksidan, fotoprotektif, nemlendirici, anti-enflamatuvar, aydınlatıcı ve sıkılaştırıcı etkilere sahip olabilmeleri nedeniyle biyoaktif içerik olarak sıklıkla kullanılmaktadırlar (99,119). Bitkilerin bileşenleri arasında bulunan polifenoller, flavonoidler, peptitler ve vitaminler, serbest radikallerin (ROS) etkisiz hale gelmesini sağladıkları ve böylece kolajen yıkımını önlemeye yardımcı oldukları için yaşlanma

karşıtı etkilere sahiptirler (120). Antioksidan özellik gösterme potansiyellerinden dolayı, bitkisel ekstreler yaşlanma karşıtı ürün formülasyonlarının önemli bir bileşeni olmuştur. Ayrıca; bitkiler biyolojik etkileri için kimyasal olarak karakterize edilen terpenoidler, alkanoidler ve fenolikler içerirler. Bu ikincil metabolitler, UV ışığına karşı koruyucu etkiye sahip olmakta ve fotoyaşlanma karşıtı etki sağlamaktadır (121). Bitkilerin kozmetik ürünlerin bileşiminde yer almasıyla bu ürünler, antioksidanlar, anti-enflamatuvarlar ve antimikrobiyaller gibi yüksek aktiviteye sahip bileşenlerin bünyelerinde stabil olarak barındırmanın avantajına sahip olurlar. Bitkisel kaynaklarda bulunan önemli bir bileşik grubu olan polifenollerin, topikal uygulamada gösterdiği antioksidan ve anti-enflamatuvar aktivitenin yanında; hyaluronidaz, matriks metalloproteinaz (MMP) kolajenaz, serin proteaz, elastaz gibi cilt enzimlerinin gen ekspresyonunu ve aktivitesini inhibe etmekte olduğu bulunmuştur ve bu aktiviteleri nedeniyle yaşlanma karşıtı kozmetik ürünlerin içinde yer almaktadırlar (122).

2.5.4.1.b. Protein ve peptitler: Peptitler ve proteinler amino asit polimerleridir. Peptitler kısa amino asit zincirleridir. Yaşlanma karşıtı peptitler, doğal ve sentetik yaşlanma karşıtı peptitler olarak ikiye ayrılabilen yaşlanma karşıtı etkili aktif peptitlerdir. Modern analiz teknolojisinin gelişmesiyle, doğal peptidler ve sentetik peptidler geliştirilerek, yaşlanma önleyici ürün olarak kullanılmaya başlanmıştır (123). Küçük boyutları nedeniyle derinin üst tabakasına nüfuz edebilmektedirler. Fibroblastları düzenlemek ve ECM bileşenlerinin üretimini kontrol etmek gibi belirli işlevleri tetiklemekte, kolajen, elastin gibi bir peptit molekül dizisini taklit ederek, bu moleküllerin sentezlenmesini desteklemekte ve dermal metabolizmayı aktive etmektedirler (113,118). Bu sayede, derideki yaşlanma belirtilerini azaltmakta, cilt elastikiyeti ve sıkılığını arttırmaya destek olmaktadır. Bu nedenlerden dolayı peptitler son zamanlarda kozmetik endüstrisinde büyük ilgi görmektedirler (113).

Topikal olarak uygulanan kozmesötik peptitler; sinyal peptitleri, taşıyıcı peptitler, nörotransmitter inhibitör peptitler ve enzim inhibitör peptitler olarak sınıflandırılmaktadır (Tablo 2.8).

Tablo 2.8: Topikal olarak kozmetik amaçlı kullanılan peptitler

Peptit sınıfı	Anti-aging mekanizması	Peptit	Kaynak
Sinyal peptitler	Bu peptitler ile kolajen, elastin, proteoglikan, glikozaminoglikan ve fibronektinin çoğalması artmakta ve sonuç olarak, cilt matriks hücrelerinin yenilenmesiyle fotoyaşlanma belirtileri görmüş cildin pigmentasyonu, ince çizgiler ve kırışıklıklar azalmaktadır. Cilt elastikiyeti artmakta, cilt daha pürüzsüz ve sıkı bir görünüm kazanmaktadır.	Karnosin, Bakır tripeptit, Trifloroasetil-tripeptit-2, Tripeptit-10 sitrülün, Asetil tetrapeptit-5, Asetil tetrapeptit-9, Asetil tetrapeptit-11, Tetrapeptit Tetrapeptit-21, Hekzapeptit, Hekzapeptit-11, Palmitoil pentapeptit-4, Palmitoil tripeptit-3/5, Palmitoyl tetrapeptit-7, Palmitoyl hekzapeptit-12, Palmitoyl oligopeptit, Palmitoyl tripeptit-1, Pentamit-6.	(124)
Taşıyıcı peptitler	Taşıyıcı peptitler, yara iyileşmesi ve enzimatik ilerleme için gerekli olan bakır ve manganez gibi eser elementleri sağlar veya stabilize eder. Bu peptitler, cilt hücrelerine bakır veya manganez taşınmasında rol oynar. Ek olarak, bakırın bir tripeptit ile bağlanmasıyla elde edilirler.	Bakır tripeptit, Manganez tripeptit-1	(125,126)
Nörotransmitter inhibitör peptitler	Bu kozmesötik peptitler cilde nüfuz etmekte ve kasları gevşeterek kırışıklıkların ve ince çizgilerin azalmasına ve kırışıkların azalmasına sebep olmaktadır.	Asetil hekzapeptit-3, Pentapeptit-18, Pentapeptit-3, Tripeptit-3	(126)
Enzim inhibitör peptitler	Enzimleri doğrudan veya dolaylı olarak inhibe ederek etki göstermektedirler.	Soya fasulyesi peptidi, İpek fibroin peptidi, Siyah pirinç oligopeptitleri.	(124,126)

2.5.4.1.c. Retinoidler: Retinoidler, A vitamini (retinol) ve türevlerini içeren bir bileşik ailesidir. Retinoid ailesinin sınıflandırılması, kimyasal yapıları (aromatik grupların varlığı), üretimi, doğal veya sentetik ve reçeteli veya reçetesiz bulunabilirliği kullanılarak yapılabilmektedir (127). Retinoller, diyet yoluyla elde edilen doğal olarak alınabilmektedirler. Retinol (A vitamini) ince bağırsaktan emilir ve bir retinol ester (palmitat, propiyonat ve asetat) veya ara ürünün retinaldehit olduğu iki basamaklı reaksiyon sonucunda tretinoine oksitlenmektedirler. Tretinoin, metabolitleri (4 hidroksi-retinoik asit) ve stereoizomerleri 9-cis-retinoik asit (alitretinoin) ve 13-cis-retinoik asit

(izotretinoin) ile aktif hücre sel formun % 50' sini temsil etmektedir. Topikal uygulamada retinol, retinol esterler ve retinaldehit daha aktif bir forma (tretinoin) dönüştürülmelidir, izotretinoin, alitretinoin, adapalen, tazaroten ve seletinoid G ise kendi spesifik formlarında aktif bileşiklerdir (127). Topikal uygulamadan sonra, retinil esterler retinole hidrolize edilmekte; sonuç olarak retinol, iki aşamalı bir oksidasyon işleminde dehidrojenazlar tarafından retinaldehit yoluyla biyolojik olarak aktif retinoik aside (tretinoin) dönüştürülmektedir. Metabolik yollarına göre, birinci nesil temsilcilerin retinoid aktivitesi şu sırayla artar: retinil esterler, retinol, retinaldehit, retinoik asit, tolerans sıralaması ise tersinedir (128). Retinoidler, kolajen degradasyonunu inhibe ederek ve kolajen sentezini artırarak üst papiller dermisteki kolajen içeriğini arttırmaktadır. UV ışınlarına maruz kalmadan önce, topikal tretinoin uygulamasının matriks metaloproteinaz üretimini ve kolajen yıkımını önlediği gösterilmiştir. Ayrıca, retinoidler yeni tip I prokolajen biyosentezini arttırmaktadır (127). Tretinoin içeren kremin, plasebo ile karşılaştıran 12 çift kör randomize kontrollü çalışmayı (RCT) içeren çalışmada, % 0,02 veya daha yüksek konsantrasyonlarda tretinoin krem uygulamasının ince ve kaba kırışıklıkları, pürüzlülüğü, çilleri ve pigmentasyonu önemli ölçüde iyileştirdiğini göstermiştir (129). Retinol ise retinoidlerden en sık kullanılanıdır ve sadece dışsal yaşlanma üzerinde değil, aynı zamanda içsel cilt yaşlanması üzerinde de olumlu etkileri olduğu gösterilmiştir. Retinolün düşük konsantrasyonlarda güvenli, etkili olduğu ve retinoik asitten daha iyi tolere edildiği gösterilmiştir (99). Bu sebeple, yaşlanma karşıtı bakımda sıkça kullanılan bir etken olarak karşımıza çıkmaktadır.

2.5.4.1.d. Güneş koruyucular: UV ışınlarına kronik maruz kalma, fotoyaşlanma, immünsüpresyon ve karsinogenezi beraberinde getirmektedir. UVA ışınları daha uzun dalga boyuna sahip olup, cildin daha derin katmanlarına nüfuz ederek serbest radikaller üretmekte ve erken cilt yaşlanmasına katkıda bulunmaktadır. UVB ışınları ise daha kısa dalga boyuna sahiptir ve daha çok cildin üst katmanlarını etkilemektedir. Bu sebeple güneşten korunma oldukça önemli olmakta ve güneşten kaçınma dışında, güneş koruyucu topikal ürünler, UV ışınlarına karşı en iyi alternatif korumalar olarak karşımıza çıkmaktadır (121). Güneş kremleri, ultraviyole filtreler (UVF) içeren topikal preparatlardır ve UV filtreler olarak da adlandırabilmektedirler (130). UV filtreleri, etki mekanizmalarına göre inorganik ve organik filtreler olmak üzere iki gruba ayrılmaktadır. Çinko oksit (ZnO) ve titanyum dioksit (TiO₂) gibi inorganik filtreler ışığı yansıtmakta ve dağıtmaktadır. Ayrıca, UVA ve UVB ışınlarına karşı geniş spektrumlu koruma

sağlamaktadır. Organik UV filtreleri ise, UVA ve/veya UVB radyasyonunu absorbe ederek gelen radyasyondan daha üstün bir dalga boyuna sahip enerjik radyasyona dönüştürmektedirler. İnorganik filtreler hem UVA hem de UVB radyasyonlarını yansıtır saçtıkları için geniş spektrumlu bir koruma sağlamaktadırlar (131). Fakat en büyük dezavantajları, büyük partikül boyutunun sonucu olarak, uygulama alanında istenmeyen beyaz bir görüntü bırakabilmektedirler (132). Çeşitli antioksidanlar da UV ışınlarının neden olduğu DNA hasarına karşı koruyucu etkilere sahiptir ve DNA onarımında rol oynamaktadır (133). İnorganik ve organik UV filtreleri, optimum bir koruma sağlamak için genellikle bir arada kullanılmaktadır (99). Fakat, çoğu sentetik içerikli topikal güneş koruyucuların etkinliği ve güvenliği, fotostabiliteleri, toksisiteleri ve deniz ekosistemlerine verdikleri zarar nedeniyle tartışılmakta ve doğal bileşenlere olan ilgi artmaktadır. Doğal seçim ve evrim, bitki ve hayvanların oksidatif stres ve ultraviyole radyasyonun (UV) zararlı yan etkilerine karşı etkili koruyucu mekanizmalar geliştirmesini sağlamıştır. Bu nedenle, doğal bileşenlerin güneş korucuyu etkinlikleri araştırılmaktadır (121). Bu bileşenler, farklı bitkiler tarafından üretilen, büyümeleri ve süreklilikleri için gerekli olan sekonder metabolitlerdir. Yapılan çalışmalar, bu metabolitlerin antioksidan, antibakteriyel ve anti inflamatuvar özellikler gibi çok çeşitli biyolojik özelliklere ve ayrıca UV radyasyonunu emme kapasitesine sahip olduğunu göstermektedir. Bu özellikleri gösteren en yaygın bitkisel kaynaklı bileşenlerin, C vitamini, E vitamini ve fenolik bileşikler açısından zengin bitki ekstraktları olduğu kanıtlanmıştır (131,134,135). Bu sebeple özellikle son yıllarda, sentetik UV filtrelerine alternatif olarak, UV koruması sağladığı saptanan, doğal kaynaklı bileşenler daha popüler hale gelmiştir.

2.5.4.1.e. Antioksidanlar: Oksidatif stres hem kronolojik yaşlanmaya hem de fotoyaşlanmaya yol açan biyokimyasal yolların temeli olarak kabul edilmektedir. İnsan derisi, oksidatif stresin olumsuz etkilerine karşı koyabilen etkili bir antioksidan sisteme sahiptir. Ancak kronik veya şiddetli oksidatif strese maruz kalındığında, bu endojen ağ yeterince etkili olamadığından, doku hasarı oluşabilmektedir. Ayrıca, oksidatif stres yaşla birlikte artmakta ve aynı zamanda endojen antioksidan sistemin etkinliği de azalmaktadır. Gelişmekte olan serbest radikaller, kolajen, elastin ve hyaluronik asidin bozulmasını hızlandırarak, yaşlanma belirtilerinin ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Bu nedenle, antioksidan kullanımı yaşlanma belirtilerinin ortaya çıkmasını yavaşlatmaktadır. Antioksidanlar, serbest radikalleri nötralize ederek hücreleri hasardan korur. Günümüzde

antioksidanlar, artan sayıda kozmetik ve gıda takviyesi ürünlerinde ve ayrıca içecek ve gıdalarda da bulunabilmektedir. Yaygın olarak kullanılan antioksidan bileşenler arasında C vitamini, B3 vitamini ve E vitamini gibi vitaminler; yeşil çay ve üzüm çekirdeği ekstresi gibi bitkisel ekstratlar ve resveratrol, lipoik asit, ferulik asit ve koenzim Q10 bulunmaktadır. Yaşlanma belirtilerini önlemek amacıyla en iyi sonucu almak için topikal ürünlerin yanı sıra antioksidan içeren yiyecek ve içeceklerin de tüketilmesi de gerekmektedir. Antioksidanlar sadece oksidasyona karşı korumakla kalmayıp, aynı zamanda bazıları kolajen üretimini uyarabilmekte, ciltteki hyaluronik asit seviyelerini koruyabilmekte ve ayrıca anti-enflamatuvar etkiler göstererek, yaşlanma belirtilerinin ortaya çıkmasını engellemektedir (99).

2.5.4.2. İnvaziv yöntemler: İnvaziv yöntemler arasında kimyasal peeling, botulinum toksini ve çeşitli dermal dolgu maddeleri gibi topikal kimyasal enjeksiyonları, dermabrazyon, çeşitli lazer cihazları ve çeşitli cerrahi operasyonlar yer almaktadır.

2.5.4.2.a. Lazerler: Lazer yüzey yenileme, 1980'lerde devamlı-dalga karbondioksit lazerleriyle tanıtılmıştır (136). Lazer veya ışık tedavisi, cildin tonunu, rengini ve dokusunu iyileştirmek için kullanılabilir (137). Lazer yüzey yenilemenin, tüm epidermal ablasyon, kolajen büzülmesi, neokolajenezin uyarılması, kapsamlı dermal yeniden şekillenme, hücresel organellerin ve hücreler arası bağlanmaların yenilenmesi yoluyla fotoyaşlanmaya karşı koymada etkili olduğu gösterilmiştir (118). Bu amaçla ablatif (CO₂ ve Er:YAG), ablatif olmayan (pulse dye lazer, IPL, Q anahtarlı Nd:YAG, diode lazer) ve fraksiyonel lazerler kullanılmaktadır. Ancak, ablatif lazerler, uzun iyileşme süresine neden olan sonuçlar, kalıcı eritem, hipoveya hiperpigmentasyon, enfeksiyon veya yara izi gibi ciddi uzun süreli yan etki riskleri ile ilişkilidir (136). Yan etki insidanslarının yüksek olması nedeniyle ablatif lazerler günümüzde daha az kullanılır hale gelmiştir. Fraksiyonel ablatif lazerlerin ve ablatif olmayan lazerlerin yüz derisi üzerindeki etkisinin karşılaştırılması, her iki teknikte de klinik gelişmeler olduğunu ortaya koymuştur. Ablatif fraksiyonel erbium lazer ile tedavi edilen deride kolajen ve elastin oluşumu ve ödem, ablatif olmayanlara göre daha fazla saptanmıştır. Ablatif olmayan ve ablatif fraksiyonel lazerleri içeren fraksiyonel lazerler genellikle ciltte sırasıyla 1 ve 2,5 mm derinliğe ulaşmaktadır. Ablatif olmayan lazerler dermisi etkilerken, epidermis üzerinde herhangi bir etkileri olmamaktadır. Bu tür lazerler, kolajen gibi dermis proteinlerini denatüre etmekte ve kolajen sentezini uyarak, cildin

sıkılaştmasını sağlamaktadır (138). Sonuç olarak lazerler, cildi soyma etkisiyle, cildin ince kırışıklıklarını giderebilmekte, ancak potansiyel olarak kolajen yapıcı stimülasyon ile derin kırışıklıkları da tedavi edebilmektedirler (138).

2.5.4.2.b. Dolgu maddeleri: Dolgu maddeleri, yaşlanma belirtileri gösteren yüzde, kırışıklık, yara ve kusurları dolgunlaştırmak için kullanılabilmektedir (137). Yumuşak doku güçlendirme yoluyla fiziksel özelliklerini iyileştirmek için derinin içine veya altına enjekte edilen ürünler dolgu maddesi olarak bilinmektedir (118). Yüz dolgu maddeleri, yaşa bağlı yüz değişikliklerinin düzeltilmesinde önemli bir rol oynamaktadır. Biyolojik olarak parçalanabilen, geri dönüşümlü veya geri dönüşümsüz; kalıcı, yarı kalıcı ve geçici bir dizi dermal ve subdermal dolgu maddeleri mevcuttur (139). Otolog (yağ, kültürlenmiş insan fibroblastları), kolajen (sığır kaynaklı, doku kültüründen insan kaynaklı), hyaluronik asit (hayvansal olmayan stabilize veya bakteriyel fermantasyondan elde edilen viskoelastik hyaluronik asit), sentetik veya yarı-sentetik (silikon, polimetakrilat mikroküreler, poli-L-laktik asit, sulu polisakarit jel içinde süspanse edilmiş kalsiyum hidroksilapatit mikroküreler, alkil-imid jel polimer) dolgu malzemeleri bulunmaktadır. Hyaluronik asit (HA) bazlı dolgu maddeleri, dolgu ürünü kategorisinde en popüler olanıdır. Nazolabial kıvrım tedavisinde kolajen ile aynı kozmetik etkiyi sağlamakla birlikte daha az ekipman gerektirdiği ve daha uzun süre dayandığı saptanmıştır (139). HA enjeksiyonunun hem hidrasyonu hem de fibroblast aktivasyonunu artırarak cilt gençleşmesini desteklemektedir (118).

2.5.4.2.c Botoks: Botoks; botulinum toksininin popüler olarak bilinen ticari ismidir. Botulinum toksini, Clostridium botulinum bakterisi tarafından üretilen bir nörotoksindir. Toksinin birkaç türü üretilse de, insanlarda en güçlü etkiye sahip olan türün, tip A (BTX-A) olduğu görülmektedir (140). Botulinum toksini, parasempatik ve kolinerjik sistemde, sinir iletiminden, kas kasılması ve glanduler sekresyondan sorumlu olan asetil kolin (ACH) molekülünün salınımını inhibe ederek etki göstermektedir. Botulinum toksini, aktivitesi fazla olan kaslara uygulandığında, ACH vekizülünün presinaptik membrana yerleşmesi için gerekli SNARE protein ailesinden SNAP-25 parçalanmaktadır. Bu parçalanma sonucu ACH salınmadığı için sinir iletimi gerçekleşmemekte, kas aktivitesinde azalma ve paralizi meydana gelmektedir. Bu durum kalıcı değildir, nöromusküler iletim tekrar kurulana kadar etkinliği devam etmektedir (141). Temel kas fonksiyonu tipik olarak yaklaşık 4-6 ayda geri dönmektedir (140).

Botoks, kasları zayıflatma veya paralize etme yeteneğinden dolayı yüz kırışıklarının tedavisinde uygulama alanı bulmuştur. Cilt dokusu üzerinde etkisi yoktur ve cildin yaşlanmasını durduramamaktadır. Bununla birlikte, düzenli botoks enjeksiyonları, belirli dinamik yüz çizgileri ve kırışıklıklarının yönetimine yardımcı olarak görünür yaşlanma sürecini yavaşlatmaktadır. 2004 yılında FDA, kozmetik amaçlarla kırışıklıkları geçici olarak gidermek için botoks (botulinum toksin tip A) kullanımını onaylamıştır (99).

2.5.4.2.d Cilt soyma (Peeling): Kimyasal peeling, epidermis ve dermisin iltihaplanmasından sonra rejenerasyon ve onarım mekanizmalarının bir sonucu olarak, tanımlanmış cilt katmanlarının kimyasal olarak ablasyonuna neden olan, pürüzsüz ve sıkı bir cilde neden olan yöntemlerdir. Kimyasal peelingler, derinlik veya penetrasyon, kullanılan ajan ve cildin üzerinde ne kadar süre kaldığına göre yüzeysel, orta ve derin olarak sınıflandırılmaktadırlar(142). Yüzeysel peeling [α - β -, lipo-hidroksi asitler (HA), trikloroasetik asit (TCA) %10–30] bazal tabakanın ötesine geçmeden epidermal tabakaları pul pul döker; orta derinlikte soyma (%30 ila %50'nin üzerinde TCA) üst retiküler dermise ulaşır; derin peelingler (TCA > %50, fenol) alt retiküler dermise nüfuz eder. Uygulama sonucundaki saptanan cilt modifikasyonları; dermiste yeni bir alt epidermal kolajen bandı ortaya çıkmakta, ve elastik lifler genellikle kolajeninkine paralel yeni bir ağ oluşturmaktadır. Dermiste kolajen lif içeriği, su ve glikozaminoglikanlarda artış saptanmıştır (118).

2.6. YAŞLANMA KARŞITI ÜRÜNLERDE KULLANILAN TOPİKAL DOZAJ FORMLARI

2.6.1. Solüsyon

Basit bir formülasyon türüdür. Çözeltiler sıvıdır, dökülebilir; oda sıcaklığında akarlar ve kaplarına uyum sağlarlar. FDA'nın tanımına göre, "...bir çözelti, bir çözücü veya karşılıklı olarak karışabilen çözücülerin karışımı içinde çözülmüş bir veya daha fazla kimyasal madde içeren berrak, homojen bir sıvı dozaj şeklidir." Kozmetikte kullanılan, su bazlı solüsyonlara örnek olarak göz makyajı temizleyici, el sabunu ve birçok şampuan verilebilmektedir (99).

2.6.2. Emülsiyon

Kozmetik ham maddelerinin çoğu birbiriyle karışmaz veya kısmen karışabilir; bu durumlarda, birbirine karışmayan bileşenleri bir arada içerebilen bir dozaj formu seçmelidir. FDA'nın tanımına göre, "...bir emülsiyon, biri diğer sıvı içinde (dış veya sürekli faz olarak da bilinir) damlacıklar halinde dağılmış (bu genellikle dahili veya dağılmış faz olarak adlandırılır) en az iki karışmaz sıvıdan oluşan ve genellikle bir veya daha fazla emülsifiye edici madde ile stabilize edilmiş iki fazlı bir sistemden oluşmaktadır." Bu tanıma göre, bir emülsiyon yağ fazı, su fazı ve emülgatör olmak üzere üç temel bileşen içermektedir. İki ana emülsiyon türü vardır: yağ içinde su (Y/S) ve su içinde yağ (S/Y). Bir Y/S emülsiyonunda, yağ suda dağılır; yağ damlacıklar halinde bulunurken, su dış (sürekli) faz olarak bulunur. Emülgatör molekülleri, yağ damlacıklarının yüzeyini kaplayarak, onları suyla daha karışabilir hale getirmekte ve yüzeye akmalarını engellemektedir. Bir Y/S emülsiyonunda, yüzey aktif madde moleküllerinin hidrofilik baş grupları sürekli su fazına doğru yönlendirilir ve hidrofobik kuyrukları yağ damlacıklarına bakar. Uygulama sırasında bıraktıkları güzel his ve hem hidrofilik hem de hidrofobik bileşenleri iletmek için araçlar olarak kullanılabilmeleri nedeniyle kozmetik endüstrisinde en yaygın kullanılan dozaj formları olarak karşımıza çıkmaktadır (99).

2.6.3. Losyon

Losyonlar, sıvı gibi davranan düşük viskoziteli emülsiyonlardır. FDA'nın tanımına göre, "...bir losyon bir emülsiyon, sıvı dozaj şeklidir." Losyonlar sürekli fazda kremlere göre daha fazla su içermektedir. Su fazı miktarı fazla olduğu için daha az yağlıdır ve kolay yıkanabilir. Losyonlara genellikle "süt" ve "balsam" denmektedir. Losyon örnekleri arasında yüz temizleme sütleri, sıvı fondötenler, tıraş sonrası balsamlar ve aerosol olmayan güneş koruyucu spreyler bulunmaktadır (99).

2.6.4. Krem

Kremler, yüksek viskoziteli yarı katı emülsiyonlardır. FDA'nın tanımına göre, "...krem, araç olarak genellikle >%20 su ve uçucular ve/veya <%50 hidrokarbonlar, mumlar veya polioller içeren bir emülsiyondur." Kremler daha fazla yağ fazı içerdiğinden, Y/S tipleri bile genellikle daha yağlıdır. Kremler kolayca akmaz; bu nedenle, dağıtım için bir kavanoza veya bir tüpe paketlenebilirler. Krem örnekleri

arasında yüz nemlendirici kremler, durulanmayan saç kremleri, güneş kremleri, krem göz farı ve tüy dökücü kremler bulunur (99).

2.6.5. Merhem

Merhemler, losyonlara veya kremlere kıyasla çok daha kalın yarı katı ürünlerdir. FDA'nın tanımına göre, "...bir merhem, araç olarak genellikle %20 den az su ve %50 den fazla hidrokarbonlar, mumlar veya polioller içeren yarı katı bir dozaj şeklidir. Merhemler, yüksek miktarda ya   nedeniyle genellikle opak ve sarımsıdır. Ya  lı, mumsu, yapışkan ve ağır dokulu oldukları için cilt bakımı ve dermatoloji ürünleri için daha az estetik çekiciliğe sahiptir. İstenmeyen cilt hissi nedeniyle, merhem olarak formüle edilen çok az sayıda kozmetik ürün vardır. Örnekler arasında saç pomadı gibi bazı saç şekillendirme ürünleri; ve pişik merhemleri vardır (99).

2.6.6. Jel

Jel genellikle şeffaf, yarı katı bir dozaj şeklidir. FDA'nın tanımına göre, "...bir jel, bir çözeltiye veya bir koloidal dispersiyona sertlik sağlamak için bir jelleştirici madde içeren yarı katı bir dozaj şeklidir." Jeller, diğer yarı katı dozaj formlarına kıyasla daha yüksek miktarda su içerir. Uygulama sonrası su buharlaştığı için serinletici etki sağlar. Bu, soğutma hissinin analjezik (yani a  rı kesici) bir etki olarak da algılanabildiği güneş yanığı ürünlerinde ve ayrıca su ve/veya alkol buharlaşmasının ferahlatıcı bir etkiye sahip olduğu tıraş sonrası jellerde avantajlı olabilmektedir (99).

2.6.7. Emüljel

Amerikan Farmakopesine (USP) göre jeller, küçük inorganik parçacıklardan oluşan süspansiyonları içeren ya da bir sıvı tarafından i   i  e geçmiş büyük organik molekülleri içeren yarı katı sistemler olarak tanımlanmaktadır. Jeller, mukoadezif özelliğinden dolayı ilacın deri ile temas süresini uzatmaktadır. Jellerin birçok avantajı olmasına rağmen, hidrofobik ilaçları da  ıtmadaki yetersizlikleri önemli bir sınırlama olarak karşımıza çıkmaktadır. Dolayısıyla, bu sınırlamaların üstesinden gelmek için emülsiyon bazlı bir yaklaşım, yani emüljel kullanılmaktadır, böylece hidrofobik ilaçların jel formülündeki dağılımı sağlanmaktadır (143). Emülsiyon, iki fazlı sıvı dozları içinde hapsolmuş, i   fazdaki ilaç parçacıklarının dış fazdan cilde geçtiği ve yavaşca emildiği kontrollü bir salım sistemidir. İ   fazlar ilaç deposu görevi görmekte ve ilacı kontrollü bir

şekilde dış fazdan cilde yavaş yavaş salmaktadır, bu da etkinin süresini uzatabilmektedir. Formülasyonlarda taşıyıcı olarak emülsiyon tercihinin temel mantığı, suda eriyen bir maddeyi yağlı bir fazda, yağda eriyeni de sulu bir fazda verebilme olanağını sağlamaktır (144).

İki tip emüljel vardır; su içinde yağ veya yağ içinde su tipi ve bunlar bir jelleştirici maddenin eklenmesiyle jelleştirilmektedir. Genel kozmetik amaçlı kullanımda su içinde yağ tipi tercih edilirken; yağ içinde su tipi ise kuru ciltler için nemlendirici olarak tercih edilmektedir (145). Deriye kolayca nüfuz edebildiklerinden, ayırt edici bir niteliğe sahiptirler. Her iki tip emüljel de farmasötik endüstrisinde çeşitli ilaçları taşımak üzere araç olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır (146).

Jelleştirici maddenin su fazına eklenmesiyle klasik bir emülsiyon oluşmaktadır. Klasik bir jel ve emülsiyonun bir araya geldiği bu formülasyon ise emüljel olarak adlandırılmaktadır. İlaç dağıtımını iyileştirmek için iki farklı formülasyonun bir araya getirildiği emüljel, bu iki formülasyona ait özellikleri de taşıdığı için uygulamada önemli avantajlara sahiptir. Böylece hem emülsiyon hem de jellerin faydalarından yararlanılmaktadır (146).

Tiksotropik, nemlendirici, etkili bir şekilde sürülebilir, kolay ayrılabilir, su bazlı olup yağlı his bırakmayan, uzun raf ömrüne sahip olan emüljeller, kişi tarafından kabul edilebilir görünümündedirler. Bu özellikler emüljellerin olumlu özelliklerindendir (146,147).

2.6.7.1. Emüljellerin hazırlanması için gerekli olan bileşenler

2.6.7.1.a. Su fazı: Sulu fazda yaygın olarak kullanılan ajanlar su, alkollerdir (148).

2.6.7.1.b. Yağ fazı: Emüljel yapımında mineral yağlar, bitkisel yağlar gibi çeşitli yağlar yağ fazı olarak kullanılmaktadır. Haricen kullanılacak preparatlar için, mineral yağlar tek başına veya yumuşak veya sert parafinlerle kombine olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır. Oral preparatlarda yaygın olarak kullanılan yağlar ise, lokal olarak laksatif etki sağlayan biyolojik olarak parçalanamayan mineral ve hint yağları ve yer fıstığı, pamuk tohumu ve mısır yağları gibi bitkisel kökenli çeşitli sabit yağlardır (147).

2.6.7.1.c. Emülgatör: Emülsifikasyonu desteklemek ve raf ömrü boyunca stabiliteyi kontrol etmek amacıyla formülasyon bileşimine eklenen ajanlardır. Yaygın olarak kullanılanlar, polietilen glikol 4031 stearat, sorbitan monooleat 32 (Span 80), tween-20, 40, 60, 80, PEG-40, stearik asit ve sodyum stearattır (149).

2.6.7.1.ç. Jelleştirici ajan: Herhangi bir dozaj formunun kıvamını arttırmak için kullanılan maddelerdir (150). Yaygın olarak kullanılanlar, sodyum aljinat, sodyum CMC karbomer 934-940, ve gellan zatkıdır (151). Carbopol 940, HPMC 2910, Carbopol-934, HPMC, Sodyum CMC gibi çeşitli jelleştirici maddeler de aynı amaçla kullanılabilir (152).

2.6.7.1.d. Penetrasyon artırıcı: Penetrasyon artırıcı ajanlar geçici olarak derinin geçirgenliğini arttırmak için kullanılmaktadır. Penetrasyon artırıcı özellikte olan madde, membran yapısındaki lipitlerle etkileşime girerek ya da yapı içinde aralarında yer alması ile bazı boşluklar yaratarak penetrasyonu arttırmaktadır (153). Yaygın olarak kullanılan penetrasyon artırıcı ajanlar; zeytinyağı, karanfil yağı, oleik asit (%1), lesitin (%5), sodyum lauril sülfat ve palmitattır (154). Mentol, oleik asit, okaliptüs yağı, üre, izo-propil miristat gibi farklı penetrasyon artırıcılar da bulunmaktadır (155,156).

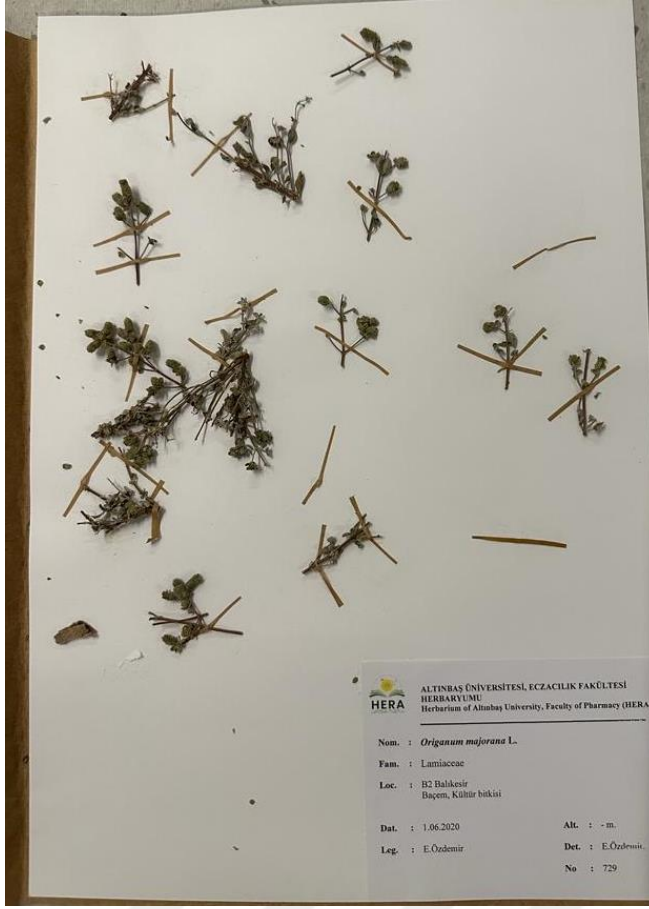
3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. BİTKİSEL MATERYAL

Helichrysum arenarium subsp. *aucheri* (HA) bitkisi Uludağ Agro Tıbbi ve Aromatik Bitkiler Merkezinden, *Mentha rotundifolia* (MR) bitkisi Isparta Uygulamalı Bilimler Üniversitesi Ziraat Fakültesi deneme alanlarında yetiştirilen örneklerden ve *Origanum majorana* (OM) bitkisi Baçem'den temin edildi. Bitkilerin tür teşhisleri Dr. Öğr. Üyesi Ebru Özdemir Nath tarafından gerçekleştirildi ve Altınbaş Üniversitesi herbaryumuna (HERA) kaydedildi. Herbaryum örnekleri (Şekil 3.1 ve Şekil 3.2) HERA'da saklanmaktadır.



Şekil 3.1: *Helichrysum arenarium* subsp. *aucheri* (HERA 1035) herbaryum örneği



Şekil 3.2: *Origanum majorana* (HERA 729) herbaryum örneği

3.2. KULLANILAN KİMYASAL MALZEMELER

Çalışmamızda kullanılan kimyasal maddeler Tablo 3.1’ de sunulmuştur.

Tablo 3.1: Kullanılan kimyasal malzemeler

Kimyasal Madde	Menşei
Etanol	Merck, 1.11727
Metanol	Merck, 1.06018
Etil asetat	Merck, 100864
DPPH	Sigma Aldrich, D9132

Tablo 3.1 (devam)

Butylated hydroxytoluene (BHT)	Sigma Aldrich, W218405
Bakır (II) sülfat	Sigma Aldrich, 12852
Amonyum asetat	Merck, 1.011.161.000
Neocupraïne	Sigma Aldrich, N1501
L-askorbik asit	Sigma Aldrich, 33034
Sodyum asetat trihidrat	Sigma Aldrich, 25022
Asetik asit	Sigma Aldrich, 33209
2,4,6-Tris(2-pyridyl)-s-triazine	Sigma Aldrich, 93285
Hidroklörük asit	Merck, 1003122500
Demir (III) klörür hekza hidrat	Isolab, 936.016
Demir (II) sülfat hepta hidrat	Isolab, 936.026
Gallik asit	Sigma Aldrich, G7384
Sodyum karbonat	Isolab, 969.026
Folin & Ciocalteu's fenol reaktifi (FCR)	Sigma Aldrich, F9252
Aleminyum klorür	Carlo Erba, 416996
Kuersetin	Sigma Aldrich, Q4951
Sodyum asetat trihidrat	Isolab, 969.016
Tricine	Sigma Aldrich, T0377
Tris Hidroklorür	Sigma Aldrich, 10812846001

Tablo 3.1 (devam)

Elastaz	Sigma Aldrich E7885, USA
(-)-Epigallokateşingallat	Sigma Aldrich, PHR1333
N-Succinyl-L-alanyl-L-alanyl-L-alanine p-nitroanilide	Sigma Aldrich, S4760
Kolejenaz	Sigma Aldrich C0130, USA
N-[3-(2-Furyl)acryloyl]-L-leucyl-glycyl-L-prolyl-L-alanine (FALPGA)	BACHEM, M-1385
Sodyum klorür	Isolab, 969.033
Kalsiyum klorür	Isolab, 909.026
Tirozinaz	Sigma Aldrich, T3824
L-Dopa	Sigma Aldrich, D9628
Kojik asit	Sigma Aldrich, 95197
Hyalurodinaz	Sigma Aldrich H3506, USA
Hyaluronik asit sodyum tuzu	Sigma Aldrich, H5388
Tannik asit	Sigma Aldrich, 16201
Setilpiridinyum klorür	Sigma Aldrich, C0732
Amonyum mobildat tetrahidrat	Honeywell, 9880
Sodyum fosfat monobazik	Sigma Aldrich, 71496
Sülfirik asit	Isolab, 970.023

3.3. KULLANILAN CİHAZLAR

Çalışmamızda kullanılan cihazlar:

- Işık mikroskobu (Zeiss Scope.A1, Axio, Germany)
- Heidolph Rotary Evaporator (Heidolph, Almanya)
- Orbital çalkalayıcı (Onilab, ABD)
- Ultrasound Sonikatör (Isolab, İstanbul, Türkiye)
- Vorteks (Velp Scientifica, İtalya)
- Liyofilizatör (Christ 2-4 LSCbasis, Almanya)
- Multiskan SkyHigh Microplate Spektrofotometre (ThermoFisher Scientific, ABD)
- UV-VIS Spektrofotometre 1900 (Shimadzu, Kyoto, Japonya)
- pH metre, (Mettler Toledo, İsviçre)
- Shimadzu Nexera-i LC-2040C 3D Plus HPLC ve PDA Dedektör (Shimadzu, Japonya)
- Phenylhexyl 4.6 x 150 mm, 3 µm (UP) Kolon (GL Sciences InterSustain, Japonya)
- TA-XT plus tekstür analizörü (Stable Micro Systems, Surrey, UK)
- Brookfield DVE Viscosimeter (Birleşik Krallık)

3.4. EKSTRELERİN HAZIRLANMASI

Her bir bitki türünün toprak üstü kısmından, etil asetat ve etanol ekstraktlarının hazırlanması için örneklerden 100'er g alınarak bitki öğütücü ile parçalandı. 100 g toz haldeki drog, 1000 mL etanol ve etil asetat ile ekstraksiyonun ilk aşamasında ultrasonik banyoda (30°C, 60 Hz) 30 dakika inkübe edildi. Ultrasonik banyodan çıkarılan örnekler oda şartlarında 24 saat süre ile orbital çalkalayıcıda maserasyona bırakıldı. Numuneler filtre kağıdından süzildükten sonra çözücü düşük basınç altında 40°C de rotary evaporatörde uzaklaştırılarak ekstraktlar elde edildi. Su ekstraksiyonu için her bir örnekten 100'er gram alınarak 1000 mL saf su ilave edilerek 1 saat kaynatıldı. Sonra filtre kağıdında geçirilerek -40°C de donduruldu. Dondurulmuş örnekler liyofilizatörde çözücü süblimleştirilerek sulu ekstre liyofilize halde elde edildi. Ayrıca, her bitkiden 15'er gram alınarak öğütüldü ve toz haline gelen bitki karışımının üzerinde 750 mL etanol eklendi. Ekstraksiyonun ilk aşamasında ultrasonik banyoda (30°C 60 Hz) 30 dakika inkübe edildi.

Ultrasonik banyodan çıkarılan örnek oda şartlarında 24 saat süre ile orbital çalkalayıcıda maserasyona bırakıldı. Daha sonra numune, filtre kağıdından süzüldü ve çözücü düşük basınç altında 40°C de rotary evaporatörde uzaklaştırılarak ekstreler elde edildi.

3.5. FORMÜLASYONLARIN HAZIRLANMASI

Bitki ekstrelerinin taşıyıcısı olarak emuljel formülasyonları tercih edildi. Emuljel hazırlanırken önce emülsiyon hazırlandı. Tablo 3.2’de emülsiyon formülasyonunun içeriği gösterildi. Emülsiyon formülasyonu hazırlanırken yağ fazı ve su fazı 50°C’ye kadar ısıtıldı. Daha sonra yağ fazı, su fazının üzerinde yüksek devirde karıştırılırken damla damla ilave edildi. Soğuyuncaya kadar formülasyon yüksek devirde karıştırılmaya devam edildi. Emülsiyon formülasyonunun stabilitesini arttırmak için HLB değeri 11-12 olarak ayarlandı. Emülsiyon soğuduktan sonra jel yapıcı ajan formülasyona ilave edildi. Jel formülasyonları ise, %2 Carbopol 934 emülsiyona ilave edilerek hazırlandı. Daha sonra birkaç damla trietanolamin formülasyona ilave edilerek emuljel formülasyonu elde edildi.

Ekstre yüklü emuljel formülasyonunun hazırlanması için ise ekstreler emülsiyon formülasyonu hazırlanırken yağ fazında dağıtıldı daha sonra emülsiyon formülasyonu hazırlandı ve en sonunda ise yukarıda bahsedildiği şekilde emuljel formülasyonu hazırlandı.

Tablo 3.2: Emülsiyon formülasyonunun içeriği

MADDE	MİKTAR (%)
YAĞ FAZI	
İzopropil miristat	5
Span 80	1.37
Metil paraben	0.1
SU FAZI	
Gliserin	1.8
Etanol	3
Tween 60	3.63
Propil paraben	0.1
Distile su	km 100
Karbopol 934	2
Bitki ekstresi	3

3.5.1. Boş ve Yüklü Emuljel Formülasyonlarının Karakterizasyonu:

3.5.1.1. Formülasyonların pH ölçümü: Formülasyonların pH ölçümleri için Mettler Toledo pH metre (İsviçre) cihazı kullanıldı. 1g formülasyon 25 mL distile su içersinde dağıtıldı. İçerisine pH metre probu daldırıldı ve okuma işlemi gerçekleştirildi. Ölçümler oda sıcaklığında 3 tekrarlı olarak gerçekleştirildi (157). Sonuçlar Tablo 3.3' de gösterildi.

3.5.1.2. Formülasyonların viskozite ölçümü: Formülasyonların viskozite ölçümleri için Brookfield DVE Viscosimeter (Birleşik Krallık) cihazı kullanıldı. Ölçümler için 07 numaralı spindle 100 rpm'de oda sıcaklığında ölçüm değeri sabitleşene kadar döndürüldü. Ölçüm 3 kez tekrarlandı.

3.5.1.3. Formülasyonların tekstür profil analizleri: Formülasyonların tekstür profili analizleri, TPA modunda bir TA-XT plus tekstür analizörü (Stable Micro Systems, Surrey, UK) kullanılarak gerçekleştirildi. 10 gramlık numuneler 50 mL Falcon tüplerine yerleştirilip 4000 rpm'de 10 dakika santrifüjlendi (Eppendorf 5810R, New York, ABD). Numuneler, 2 dakika süreyle tetikleme kuvveti tarafından 1 mm s^{-1} sabit hıza ulaşan analitik probun 10 mm üzerine yerleştirildi, ardından prob numuneye 10 milimetre indirildi. Daha sonra $0,5 \text{ mm s}^{-1}$ hızında yüzeye döndürülüp 5 saniye sonra ikinci bir sıkıştırma başlatıldı. Elde edilen kuvvet-zaman eğrisi, sertlik, yapışma ve kohezyon gibi çeşitli mekanik parametreleri hesaplamak için kullanıldı. Analizler $25 \text{ }^{\circ}\text{C}$ 'de üç kez yapıldı (158).

3.5.1.4. Formülasyonların yayılabilirlik analizleri: Formülasyonların yayılabilirliği TAXT Plus® Texture Analyzer (Stable Microsystem, UK) kullanılarak belirlendi. Test numunesi (2 g) dişi koninin içine yerleştirilip erkek koni, belirli bir 3 mm / s test hızında ve 10 mm / s test sonrası hızında 23 mm'ye kadar dişi koniye doğru hareket ettirildi. Jelin yayılabilirliği, sertlik (maksimum pozitif kuvvet) ve yapışkanlık (maksimum, negatif kuvvet) açısından değerlendirildi (159).

3.6. ANTİOKSİDAN AKTİVİTE TAYİN YÖNTEMLERİ

H. arenarium subsp. *aucheri*, *M. rotundifolia* ve *O. majorana* etanol, etil asetat ve su ekstraktlarının DPPH serbest radikal giderici, CUPRAC (Bakır II indirgeme

antioksidan), FRAP (Demir iyonu indirgeyici antioksidan) yöntemi ve total antioksidan kapasite (TOAC) yöntemleri ile antioksidan aktivite tayinleri yapılmıştır.

3.6.1. 2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazil (DPPH[•]) Serbest Radikal Giderme Aktivitesi

H. arenarium subsp. *aucheri*, *M. rotundifolia* ve *O. majorana* etanol, etil asetat ve su ekstraktlarının serbest radikal giderim aktiviteleri; 1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH[•]) serbest radikali kullanılarak belirlenmiştir (160).

Bitki türlerine ait ekstraktlarının 20 mg'ı 1 mL etanolde çözülerek stok çözeltileri hazırlanmış, daha sonra hazırlanan stok çözelti etanol ile 1 mg/mL konsantrasyona seyreltilmiştir. 1 mg/mL konsantrasyondaki çözeltinin üzerine hazırlanan 0,15 mM konsantrasyondaki DPPH[•] çözeltisinden 200 µL hacimde eklenmiştir. Hazırlanan çözeltiler oda sıcaklığında karanlık ortamda 50 dakika inkübasyona bırakıldıktan sonra absorbansları 540 nm dalga boyunda ölçülmüştür. Deneyler her bir örnek için üç tekrarlı olarak gerçekleştirilmiş, standard madde olarak BHT kullanılmıştır. Ölçüm sonucunda elde edilen absorbans değerleri üzerinden % inhibisyon değerleri aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplanmış ve örneklerin absorbans değerleri kontrole karşı değerlendirilmiştir.

$$\% \text{ inhibisyon} = (A_{\text{kontrol}} - A_{\text{örnek}}) / A_{\text{kontrol}} \times 100$$

A: Absorbans

3.6.2. Bakır (II) İyonu İndirgeme (CUPRAC) Antioksidan Aktivitesi

CUPRAC yönteminde, test edilen numunelerde antioksidan etkili bileşikler bulunması halinde, Cu (II)-Neokuproin (Nc) kompleksi, turuncu-sarı renkli Cu(I)-Nc kelatına indirgenmekte ve bu kelatın 450 nm'de absorbansı ölçülerek aktivite belirlenmektedir.

Her bitki türüne ait 1 mg/mL konsantrasyondaki çözeltiler için CUPRAC aktivitesi ölçülmüştür (161). Numunelere aynı hacimlerde neokuproin, amonyum asetat tamponu ve CuSO₄ eklenip, karışımlar 60 dakika inkübe edilmiştir. Absorbans değerleri 450 nm'de hesaplanmıştır. Sonuçlar mg kuru numune başına mg askorbik asit eşdeğeri olarak sunulmuştur.

3.6.3. Demir (III) İyonu İndirgeyici (FRAP) Antioksidan Aktivitesi

Bitki örneklerinin ve bitki örneklerinden hazırlanan emülgellerin FRAP aktivitesi Barak ve arkadaşlarının açıkladığı yöntem ile ölçüldü (162). Örnekler için alikotlar 0,25 mL FRAP reaktifi ile karıştırılıp ve distile su ile 0,3 mL'ye seyreltilmiştir. 30 dk inkübasyonunun ardından 593 nm'de absorbans değerleri ölçülmüştür. Kalibrasyon eğrisinin hazırlanması için demir klorür kullanılıp, sonuçlar g numune başına mM FeSO₄ olarak ifade edilmiştir. Referans bileşik olarak BHT kullanılmıştır.

3.6.4. Toplam Antioksidan Kapasite Tayin Yöntemi

Bitki örneklerinin ve bitki örneklerinden hazırlanan emülgellerin Barak ve arkadaşlarının açıkladığı yöntem ile ölçüldü (163). 280 mg sodyum fosfat monobazik, 165 µl sülfürik asit (%98) ve 247,2 mg amonyum molibdat 50 mL distile su ile tamamlandı ve hazırlanan bu reaktif karışımdan 300 µl, numune solüsyonu (30 µl) eklendi. Karışımlar etüvde 95 °C'de 90 dakika inkübe edildi. Absorbans, plaka okuyucu kullanılarak oda sıcaklığına döndükten sonra 695 nm'de ölçülmüştür. Toplam antioksidan kapasite sonuçları g numune başına mg askorbik asit eşdeğeri olarak ifade edildi.

3.7. CİLT ENZİMLERİ İNHİBİSYON AKTİVİTELERİ

3.7.1. Tirozinaz İnhibisyon Aktivitesi

Ekstrelerin antitirozinaz aktiviteleri E.C. 1.14.18.1 kodlu tirozinaz enzimi kullanılarak in vitro olarak ölçülmüştür. Başlangıçta 100 mM fosfat tamponu (pH: 6,8) hazırlandı. Substrat olarak L-dopa kullanıldı. 100 µL fosfat tamponu, 20 µL bitki ekstresi ve 20 µL tirozinaz enzimi (1 KU/mL) 10 dakika 37°C'de inkübe edildi. Daha sonra 20 µL substrat L-Dopa (3 mM) eklendi ve 30 dakika 37°C'de inkübe edildi. Ardından sonuçlar 492 nm'de okundu. Pozitif kontrol olarak kojik asit kullanıldı (164).

Antitirozinaz aktivite (% inhibisyon) aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplandı:

$$\% \text{ inhibisyon} = (A_{\text{kontrol}} - A_{\text{örnek}}) / A_{\text{kontrol}} \times 100$$

3.7.2. Elastaz İnhibisyon Aktivitesi

Antielastaz aktivite için porcine pankreatik elastaz (PE) enzimi stok çözeltisi (E.C. 3.4.21.36) 31,25 U/mL konsantrasyonda distile su ile hazırlandı. 0,2 mM tris-HCl tampon çözeltisi (pH: 8.0) hazırlandı. Substrat olarak kullanılacak 1,6 mM N-süksinilAla-Ala-p-nitroanilid (AAPVN), tampon çözeltisinde çözdürüldü. Ekstreler, substrat ilavesinden önce 1 µL/mL PE enzimi ile 37°C'de 15 dakika inkübe edildi. 15 dk ön inkübasyon sonunda 1 mg/mL bitki ekstresi içeren enzim karışımına AAPVN substratı eklendi. Substratın ilave edilmesinden sonra 40. dk da absorbans ölçümü yapıldı. Pozitif kontrol olarak epigallokateşin gallat kullanıldı. Negatif kontrol olarak su kullanıldı (165).

Antielastaz aktivite (% inhibisyon) aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplandı:

$$\% \text{ inhibisyon} = (A_{\text{kontrol}} - A_{\text{örnek}}) / A_{\text{kontrol}} \times 100$$

A: Absorbans

3.7.3. Kolajenaz İnhibisyon Aktivitesi

Ekstrelerin antikolajenaz aktiviteleri *Clostridium histolyticum* kolajenaz enzimi ile in vitro olarak ölçülmüştür. Başlangıçta 50 mM trisin tampon çözeltisi (pH: 7.5) hazırlandı (400 mM NaCl ve 10 mM CaCl₂). 1 unite/mL bir başlangıç konsantrasyonu elde etmek için *Clostridium histolyticum* (ChC) 50 mM trisin tampon çözeltisi içinde çözüldü. Substrat olarak trisin tamponu içinde çözülmüş 2 mM N-[3-(2-furil)akriloil]-Leu-Gly-Pro-Ala (FALGPA) kullanıldı. Ekstraktlar, reaksiyonu başlatmak için substrat eklenmeden önce 15 dakika boyunca tampon çözeltisi ile kolajenaz enzimi ile inkübe edildi. Nihai reaksiyon karışımı, 150 µL'lik bir toplam hacim içermektedir; trisin tamponu, 0,8 mM FALGPA, 0,1 birim ChC ve 25 µL ekstre. Kör sonuçlar için su kullanılmıştır. Substratın eklenmesinden hemen sonra absorbans ölçümü yapılmıştır. Pozitif kontrol olarak epigallokateşin gallat kullanılmıştır (166).

Antikolajenaz aktivite (% inhibisyon) aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplandı:

$$\% \text{ inhibisyon} = (A_{\text{kontrol}} - A_{\text{örnek}}) / A_{\text{kontrol}} \times 100$$

A: Absorbans

3.7.4. Hyaluronidaz İnhibisyon Aktivitesi

50 mM (pH: 7) Tris-HCl tampon çözeltisi hazırlanmıştır. Sonrasında %10 konsantrasyonda setilpiridinyum klorür çözeltisi hazırlandı. 0,4 mg/mL konsantrasyonda hyaluronik asit substratı ve 800 U/mL hyaluronidaz enzimi distile suda çözündürüldü. Toplam hacim 110 µL olup 10 µL substrat, 10 µL enzim, 10 µL bitki ekstresi ve 70 µL Tris-HCL tampon çözeltisi içermektedir. 10 µL bitki ekstresi önce 37°C'de, 10 µL enzim ve 70 µL tampon çözeltisi ile 1 saat inkübe edildi. Daha sonra 10 µL setilpiridinyum klorür ilave edilerek 37°C'de 1 saat daha inkübe edildi. Ardından 10 µL substrat eklenerek absorbans değerleri 415 nm'de okundu. Negatif kontroller distile su ile yapıldı. Referans olarak 1,1 mg/mL tannik asit kullanıldı (165).

Antihiyalurodinaz aktivite (% inhibisyon) aşağıdaki eşitlik kullanılarak hesaplandı:

$$\% \text{ inhibisyon} = (A_{\text{kontrol}} - A_{\text{örnek}}) / A_{\text{kontrol}} \times 100$$

A: Absorbans

3.8. GÜNEŞ KORUMA FAKTÖRÜNÜN BELİRLENMESİ

Güneş kremlerinin cildi güneşin tehlikelerinden korumadaki etkinliği, korunan ciltte minimum eritem dozu (MED) üretmek için gereken UV enerjisinin güneş koruma değeri (SPF) ile bölünmesiyle tanımlanan güneş koruma değeri (SPF) ile ifade edilmektedir. Korunmasız ciltte MED üretmek için UV enerjisi gerekir. MED, UV radyasyonuna bağlı eritem başlangıcı için en kısa süre olarak tanımlanmaktadır (167,168).

Tez çalışmamda *O. majorana*, *M. rotundifolia* ve *H. arenarium* subsp. *aucheri* bitkilerine ait ekstrelerin ve bu bitkilerin ekstreleriyle hazırlanan emüljel formülasyonlarının güneşten koruyucu faktörleri (SPF) kolorimetrik yöntem kullanılarak hesaplandı.

1 mg/mL konsantrasyondaki ekstrelerin ve ekstreler yüklenen emüljellerin absorpsiyon spektrumları 290-320 nm aralığında, 1cm kuvars hücrelerde, spektrofotometre kullanılarak ölçüldü. Ölçümlerde kör olarak etanol kullanıldı ve ölçümler 3'er kez tekrarlandı. SPF değerleri Mansur eşitliği kullanılarak hesaplandı (169).

$$SPF_{\text{spektrofotometrik}} = CF \times \Sigma EE(\lambda) \times I(\lambda) \times Abs(\lambda)$$

EE: Eritemal etki spektrumu

I: Güneş yoğunluğu spektrumu

CF: Doğrulama faktörü

Abs: Absorbans

3.9.FİTOKİMYASAL İÇERİĞİN TANIMLANMASI VE KANTİTATİF ANALİZİ

3.9.1 HPLC Cihazı ve Kromatografik Şartlar

Kantitatif analiz için Shimadzu Nexera-i LC-2040C 3D Plus marka HPLC cihazı kullanılmıştır. Dedektör olarak DAD detektör (254 nm’de tarama yapıldı), ayırım için C6 ters faz dolgu maddeli kolon (Phenylhexyl 4.6 x 150 mm, 3 µm) kullanılmıştır. Hareketli faz olarak %0,1 formik asit/deiyonize su (Çözücü A) ve asetronitril (Çözücü B) ile Tablo 3.3 de verilen gradient pompa programı kullanılmıştır. Analiz boyunca mobil faz akış hızı 1 mL/dakika olarak ayarlanmış, numune ve standartlar cihaza 10 µL olarak enjekte edilmiştir. Kolon sıcaklığı ise 30 °C’ye ayarlanmıştır.

Tablo 3.3: HPLC pompa programı

Adımlar	Akış hızı (mL/dk)	Zaman (dakika)	% Çözücü B (asetonitril)	%Çözücü A (%0,1 formik asit/deiyonize su)
Adım 1	1.00	0,01	5	95
Adım 2	1.00	7	9,5	90,5
Adım 3	1.00	20	17	83
Adım 4	1.00	35	40	60
Adım 5	1.00	40	0	100
Adım 6	1.00	40,01	Stop	

Verilen metot uygulanarak 15 tane fenolik bileşik tarandı ve her bir fenolik bileşiğin maksimum absorbans verdiği dalga boyu belirlenerek analizleri yapıldı. Standart grafikleri çizildi (Tablo 3.4). Standartlara ait 254 nm’deki HPLC kromatogramı Şekil

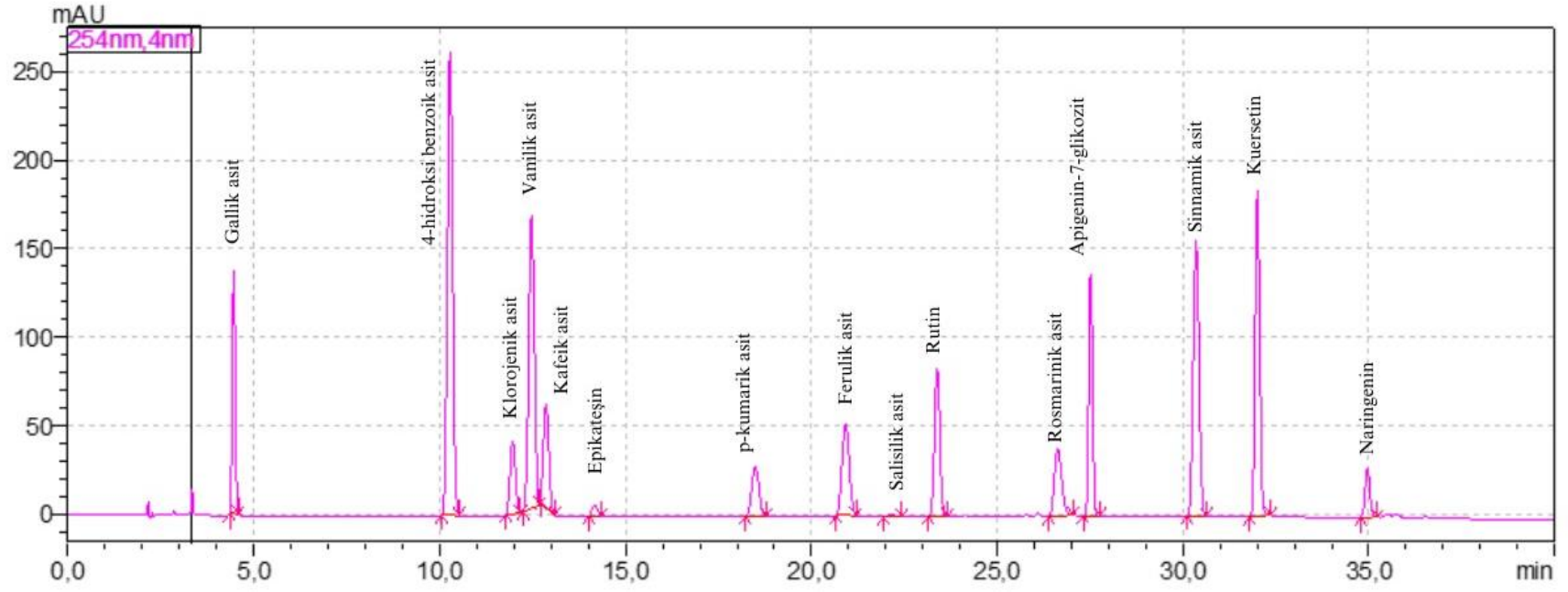
3.3'te verildi. Daha sonra bitkilerin etanol, etil asetat ve su ekstreleri 1 mg/mL konsantrasyonunda hazırlanarak, örnekler HPLC'ye verilmiştir.

HPLC-DAD metodunda kullanılan kimyasallar ve sınıfları şunlardır:

- Fenolik asitler (9 adet): p-kumarik asit, kafeik asit, rosmarinik asit, salisilik asit, 4-hidroksi benzoik asit, klorojenik asit, sinnamik asit, ferulik asit, gallik asit.
- Fenolik aldehit (1 adet): vanilin.
- Flavanol (1 adet): epikateşin.
- Flavonol: kuersetin, rutin.
- Flavon glikoziti: apigenin-7-glikozit.
- Flavanon (1 adet): naringenin.

Tablo 3.4: Standart olarak kullanılan fenolik bileşiklerin HPLC analiz bilgileri

Sıra	İsim	Ablonma zamanı	Birimi	Maksimum Dalga Boyu	Standart kalibrasyon denklemleri	R ²	Tayin Sınırı	Miktar Belirleme Sınırı
1	Gallik asit	4,352	mg/L	271nm	y=29799,9x+6494,60	0,9995	0,7440	2,2547
2	4-hidroksibenzoik asit	10,217	mg/L	254nm	y=40036,7x+1238,33	0,9995	0,6445	1,9531
3	Klorojenik asit	12,073	mg/L	325nm	y=28066,0x+25870,2	0,9990	1,3687	4,1476
4	Vanilik asit	12,437	mg/L	260nm	y=48654,4x-26981,1	0,9997	1,0565	3,2017
5	Kafeik asit	12,850	mg/L	248nm	y=16914,9x-1409,46	0,9972	3,1730	9,6153
6	Epikateşin	14,150	mg/L	277nm	y=4788,08x+789,457	0,9986	8,4615	25,641
7	p-kumarik asit	18,486	mg/L	308nm	y=64013,4x-19190,2	0,9933	1,3807	4,1841
8	Ferulik asit	20,971	mg/L	322nm	y=46665,0x-14606,2	0,9928	1,3865	4,2016
9	Salisilik asit	21,929	mg/L	235nm	y=23472,2x+25113,1	0,9994	4,6906	14,2140
10	Rutin	23,494	mg/L	254nm	y=17392,1x-5957,13	0,9959	2,1258	6,4420
11	asit	27,011	mg/L	327nm	y=7443,82x+72484,6	0,9887	3,9639	12,0120
12	Apigenin-7-glikozit	27,574	mg/L	336nm	y=39321,9x+1685,18	0,9993	0,7295	2,2107
13	Sinamik asit	30,234	mg/L	276nm	y=75026,0x-11276,0	0,9988	0,6776	2,0533
14	Kuersetin	32,008	mg/L	254nm	y=26403,4x+1558,71	0,9997869	1,2724	3,8560
15	Naringenin	34,939	mg/L	288nm	y=24207,0x+2212,93	0,9920277	1,3147	3,9840



Şekil 3.3: 15 Fenolik bileşiğin 254 nm'deki HPLC kromatogramı

3.10. İSTATİSTİKSEL ANALİZ

Veriler Graphpad prizma 5 yazılımı kullanılarak analiz edildi. Testlerin ve analizlerin her biri üç tekrarlı olarak gerçekleştirildi. Ortalama $\pm$ standart sapma hesaplandıktan sonra sonuçlar ANOVA testi ile istatistiksel olarak karşılaştırıldı. $p<0,05$ istatistiksel olarak anlamlı fark olarak tanımlandı.



4. BULGULAR

4.1. 2,2-DİFENİL-1-PİKRİLHİDRAZİL (DPPH) SERBEST RADİKAL GİDERME AKTİVİTESİ BULGULARI

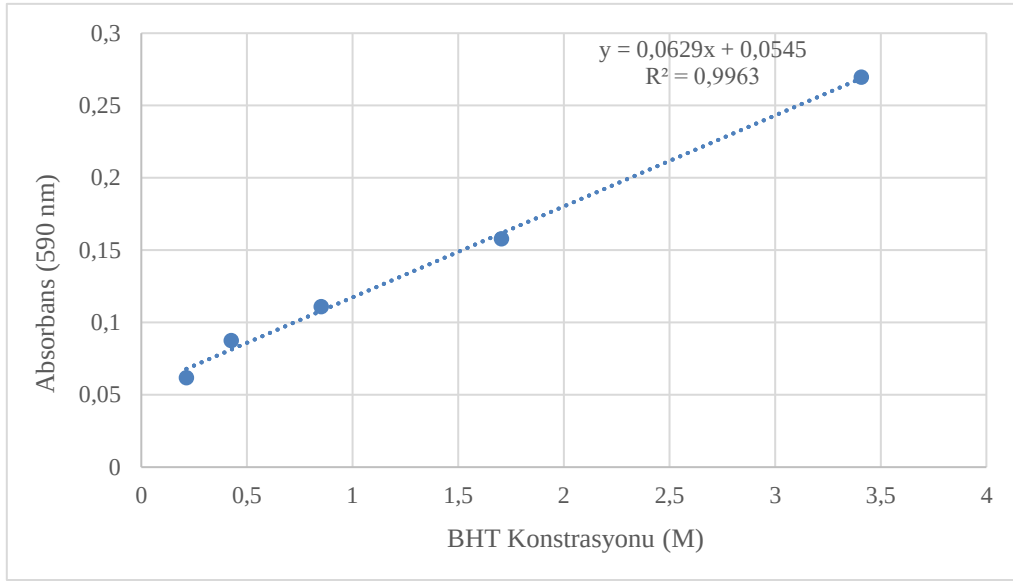
DPPH[•] radikal giderme aktivitesinde her bir bitkinin farklı polaritedeki çözücülerle elde edilen ekstraları analiz edilerek, karşılaştırılmıştır. Ayrıca, 3 bitkinin eşit oranda karışımından elde edilen etanol ekstresinin de DPPH[•] radikal giderme aktivitesi saptanmıştır. Sonuçlar, g ekstre başına mol BHT eşdeğeri olarak verilmiştir. DPPH[•] radikal giderme aktivitesinde standart olarak kullanılan BHT[•] nin kalibrasyon grafiği Şekil 4.1’de verilmiştir. Elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde en iyi DPPH[•] radikal giderme aktivitesi MR etanol ekstresinde ($93,53 \pm 2,14$ mol BHT eşdeğer/g ekstre), en düşük HA su ekstresinde ($0,77 \pm 0,72$ mol BHT eşdeğer/g ekstre) saptandı (Tablo 4.1). Çözücülerin aktivitedeki etkisi değerlendirilirken, aynı çözücüyle farklı bitkilerden elde edilen ekstraların aktivitesi de karşılaştırılmıştır. Etanol ile hazırlanan ekstralar arasında en iyi aktivite gösteren bitki *Mentha rotundifolia* ($93,53 \pm 2,14$ mol BHT eşdeğer/g ekstre) olurken, en düşük aktiviteyi HA ekstresi gösterdi. Etil asetat ile hazırlanan ekstralar arasında en iyi aktivite gösteren bitki MR ($85,31 \pm 1,42$ mol BHT eşdeğer/g ekstre) olurken OM ile aralarında anlamlı fark saptanmadı ($p > 0,05$). Su ile hazırlanan ekstralar aralarında en iyi aktivite gösteren bitki OM ($27,89 \pm 3,36$ mol BHT eşdeğer/g ekstre) olurken; MR ($22,65 \pm 1,46$ mol BHT eşdeğer/g ekstre) ile aralarında anlamlı fark saptanmadı ($p > 0,05$).

Tablo 4.1: Bitkilerin farklı polaritedeki çözücülerle hazırlanan ekstralarına ait DPPH[•] radikal süpürücü aktiviteleri

Bitki ismi	Çözücü: EtOH	Çözücü: EtAc	Çözücü: Su	KR
<i>Origanum majorana</i>	$79,52 \pm 1,53^a$	$80,26 \pm 3,24^a$	$27,89 \pm 3,36^b$	$59,67 \pm 4,66^c$
<i>Mentha rotundifolia</i>	$93,53 \pm 2,14^a$	$85,31 \pm 1,42^b$	$22,65 \pm 1,46^c$	$59,67 \pm 4,66^d$
<i>Helichrysum arenarium</i> subsp. <i>aucherii</i>	$51,11 \pm 2,09^a$	$38,62 \pm 0,26^b$	$0,77 \pm 0,72^c$	$59,67 \pm 4,66^d$

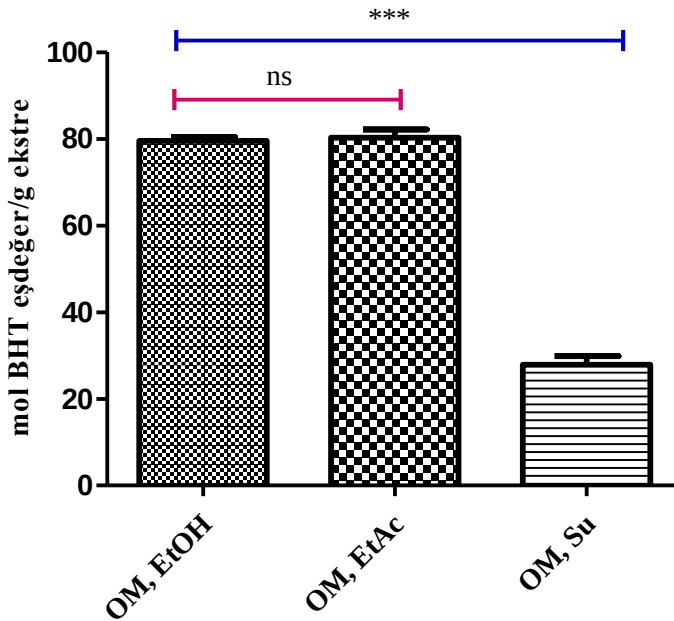
Sonuçlar g ekstre başına mol BHT eşdeğeri olarak ifade edilmiştir.

Aynı satırdaki farklı harfler anlamlı farklılığı temsil eder ($p < 0,05$)



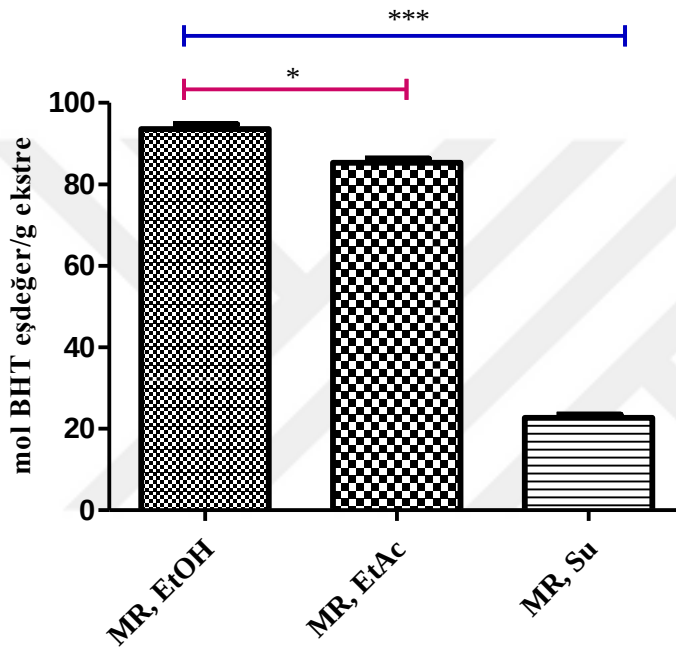
Şekil 4.1: DPPH' Radikal giderme aktivitesinde kullanılan BHT' nin kalibrasyon grafiği

O. majorana'nın farklı polaritelerdeki çözücüler ile hazırlanan ekstralarının DPPH' radikal giderme aktivitesi değerlendirildiğinde en yüksek aktivite $80,26 \pm 3,24$ mol BHT eşdeğer/g ekstre ile etil asetat ekstresinde saptanırken, etanol ekstresi ile aralarında anlamı fark saptanmadı ($p>0,05$). En düşük aktivite ise $27,89 \pm 3,36$ mol BHT eşdeğer/g ekstre ile su ekstresinde saptandı (Şekil 4.2).



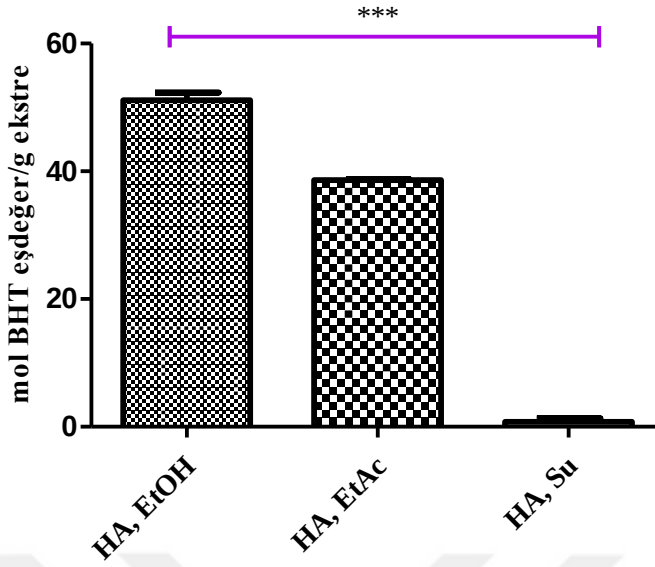
Şekil 4.2: *Origanum majorana*' ya ait DPPH' radikal süpürücü aktivite

Mentha rotundifolia'nın farklı polaritelerdeki çözücüler ile hazırlanan ekstralarının DPPH' radikal giderme aktivitesi değerlendirildiğinde en yüksek aktivite $93,53 \pm 2,14$ mol BHT eşdeğer/g ekstre ile etanol ekstresinde saptanırken, en düşük aktivite ise $22,65 \pm 1,46$ mol BHT eşdeğer/g ekstre ile su ekstresinde saptandı (Şekil 4.3). KR'nin DPPH' radikal giderme aktivitesi ise $59,67 \pm 4,66$ mol BHT eşdeğer/g ekstre ile MR su ekstresinden üstün bulundu ($p < 0,05$) (Tablo 4.1).



Şekil 4.3: *Mentha rotundifolia* 'ya ait DPPH' radikal süpürücü aktivite

Helichrysum arenarium subsp. *aucheri*' nin farklı polaritelerdeki çözücüler ile hazırlanan ekstralarının DPPH' radikal giderme aktivitesi değerlendirildiğinde en yüksek aktivite $51,11 \pm 2,09$ mol BHT eşdeğer/g ekstre ile etanol ekstresinde saptanırken, en düşük aktivite ise $0,77 \pm 0,72$ mol BHT eşdeğer/g ekstre ile su ekstresinde saptandı (Şekil 4.4). KR'nin DPPH' radikal giderme aktivitesi ise $59,67 \pm 4,66$ mol BHT eşdeğer/g ekstre ile HA ekstralarından üstün bulundu ($p < 0,05$) (Tablo 4.1).



Şekil 4.4: *Helichrysum arenarium* subsp. *aucheri* ' ye ait DPPH^{*} radikal süpürücü aktivite

4.2. BAKIR (II) İYONU İNDİRGEME ANTİOKSİDAN (CUPRAC) AKTİVİTE BULGULARI

Bakır (II) İyonu İndirgeme Esaslı Antioksidan Kapasite giderme aktivitesinde her bir bitkinin farklı polaritedeki çözücülerle elde edilen ekstraları analiz edilerek, karşılaştırıldı. Ayrıca, 3 bitkinin eşit oranda karışımından elde edilen etanol ekstresinin (KR) de CUPRAC aktivitesi saptanarak, her bir bitki ekstresi ile karşılaştırıldı. Sonuçlar, g ekstre başına μmol askorbik asit eşdeğeri (AAE) olarak ifade edildi. Askorbik asidin Bakır (II) iyonu indirgeme aktivitesinde kullanılan kalibrasyon grafiği Şekil 4.5 de verildi.

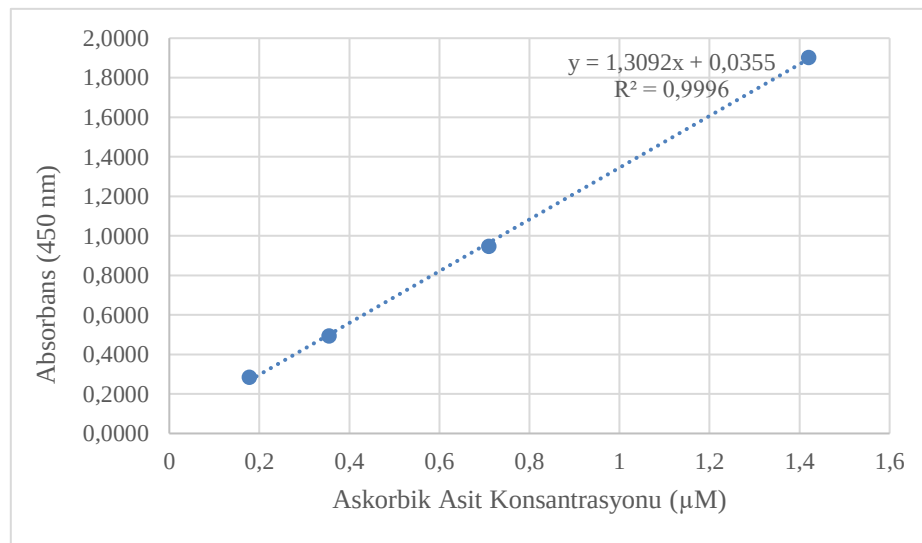
Elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde en yüksek CUPRAC aktivitesi *O. majorana* bitkisine ait etil asetat ekstresinde ($18,48 \pm 2,26 \mu\text{mol AAE/g ekstre}$) saptandı; en düşük aktivite ise *H. arenarium* subsp. *aucheri* su ekstresinde ($1,75 \pm 0,10 \mu\text{mol AAE/g ekstre}$) saptandı (Tablo 4.2). Çözücülerin aktivitedeki etkisi değerlendirilirken, aynı çözücüyle farklı bitkilerden elde edilen ekstraların aktivitesi de karşılaştırıldı. Etanol ile hazırlanan ekstralar arasında en iyi aktivite gösteren bitki *O. majorana* ($17,41 \pm 1,69 \mu\text{mol AAE/g ekstre}$) olurken, en düşük aktiviteyi ise *H. arenarium* subsp. *aucheri* bitkisine ait etanol ekstresi ($6,19 \pm 0,1 \mu\text{mol AAE/g ekstre}$) gösterdi. KR'nin CUPRAC

aktivitesi ise ($7,04 \pm 0,65$ $\mu\text{mol AAE/g}$ ekstre), *H. arenarium* subsp. *aucher*i ($6,19 \pm 0,1$ $\mu\text{mol AAE/g}$ ekstre) bitkisinden üstün bulunurken, *O. majorana* ($17,41 \pm 1,69$ $\mu\text{mol AAE/g}$ ekstre) ve *M. rotundifolia* ($11,58 \pm 0,45$ $\mu\text{mol AAE/g}$ ekstre) etanol ekstrelerinden düşük bulundu. Etil asetat ile hazırlanan ekstreler arasında en iyi aktivite gösteren bitki *O. majorana* ($18,48 \pm 2,26$ $\mu\text{mol AAE/g}$ ekstre) olarak saptanırken, en düşük etkinlik ise *H. arenarium* subsp. *aucher*i ($5,15 \pm 0,38$ $\mu\text{mol AAE/g}$ ekstre) bitkisinde saptandı. Su ile hazırlanan ekstreler arasında en yüksek aktivite gösteren bitki ise *O. majorana* ($4,33 \pm 0,22$ $\mu\text{mol AAE/g}$ ekstre) olurken, en düşük aktivite gösteren bitki *H. arenarium* subsp. *aucher*i ($1,75 \pm 0,10$ $\mu\text{mol AAE/g}$ ekstre) olarak saptandı.

Tablo 4.2: Cu (II) İyonu İndirgeyici Antioksidan Kapasitesi Bulguları

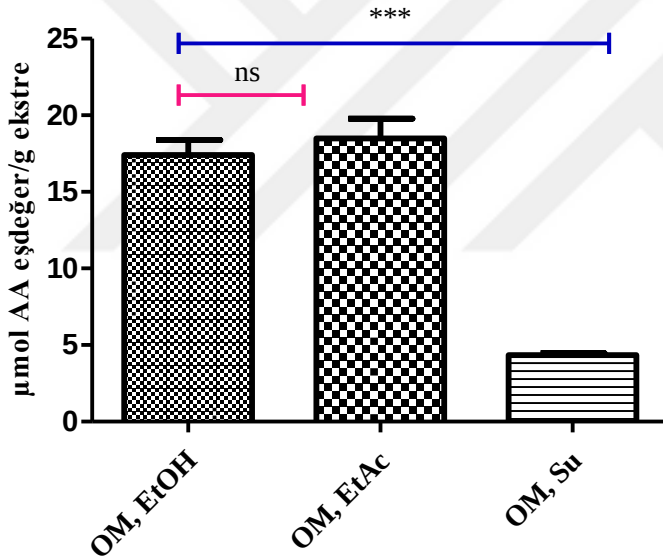
Bitki ismi	Çözücü: EtOH	Çözücü: EtAc	Çözücü: Su	KR
<i>Origanum majorana</i>	$17,41 \pm 1,69^a$	$18,48 \pm 2,26^a$	$4,33 \pm 0,22^b$	$7,04 \pm 0,65^c$
<i>Mentha rotundifolia</i>	$11,58 \pm 0,45^a$	$11,48 \pm 0,49^a$	$4,27 \pm 0,08^b$	$7,04 \pm 0,65^c$
<i>Helichrysum arenarium</i> subsp. <i>aucher</i> i	$6,19 \pm 0,11^a$	$5,15 \pm 0,38^b$	$1,75 \pm 0,10^c$	$7,04 \pm 0,65^d$

Sonuçlar g ekstre başına μmol askorbik asit eşdeğeri ($\mu\text{mol AAE/g}$ ekstre) olarak ifade edilmiştir. Aynı satırdaki farklı harfler anlamlı farklılığı temsil eder ($p < 0,05$).



Şekil 4.5: Askorbik asidin bakır (II) iyonu indirgeme aktivitesinde kullanılan kalibrasyon grafiği

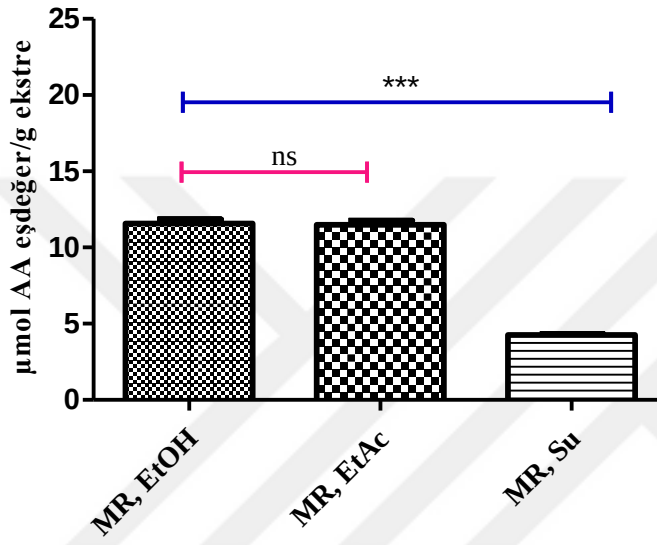
O. majorana'nın farklı polaritelerdeki çözücüler ile hazırlanan ekstrelerinin CUPRAC aktivitesi değerlendirildiğinde en yüksek aktivite $18,48 \pm 2,26$ $\mu\text{mol AAE/g}$ ekstre ile etil asetat ekstresinde saptanırken, etanol ekstresi ($17,41 \pm 1,69$ $\mu\text{mol AAE/g}$ ekstre) ile aralarında anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$). En düşük aktivite ise $1,75 \pm 0,10$ $\mu\text{mol AAE/g}$ ekstre ile su ekstresinde saptandı. Sonuçlar Şekil 4.6'da gösterildi. *O. majorana* bitkisine ait CUPRAC aktivitesi sonuçları KR ile karşılaştırıldığında, $7,04 \pm 0,65$ $\mu\text{mol AAE/g}$ ekstre aktivite ile KR'nin CUPRAC aktivitesi, *O. majorana* su ekstresinden ($4,33 \pm 0,22$ $\mu\text{mol AAE/g}$ ekstre) üstün bulunurken ($p<0,05$), *O. majorana* etanol ekstresi ($17,41 \pm 1,69$ $\mu\text{mol AAE/g}$ ekstre) ve *O. majorana* etil asetat ($18,48 \pm 2,26$ $\mu\text{mol AAE/g}$ ekstre) ekstresinden düşük bulundu (Tablo 4.2) ($p<0,05$).



Şekil 4.6: *Origanum majorana*'ya ait Bakır (II) iyonu indirgeme aktivitesi

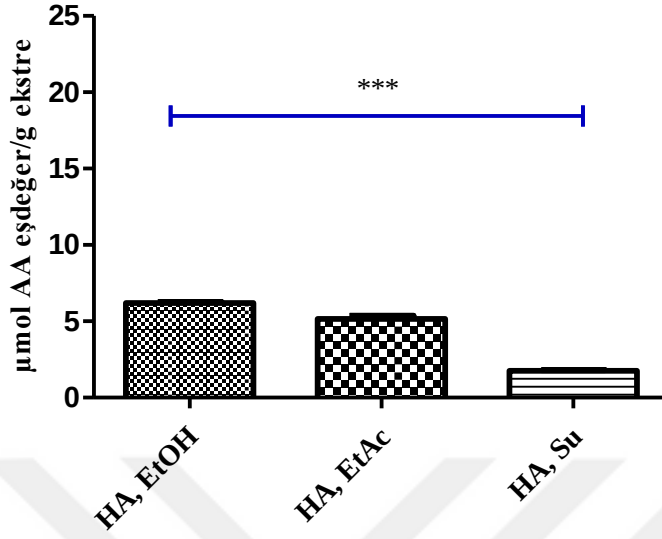
M. rotundifolia'nın farklı polaritelerdeki çözücüler ile hazırlanan ekstrelerinin CUPRAC aktivitesi değerlendirildiğinde en yüksek aktivite $11,58 \pm 0,45$ $\mu\text{mol AAE/g}$ ekstre ile etanol ekstresinde saptanırken, etanol ekstresini $11,48 \pm 0,49$ $\mu\text{mol AAE/g}$ ekstre aktivite ile etil asetat ile hazırlanan ekstre izledi. *M. rotundifolia* etanol ve etil asetat ekstreleri arasında anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$). En düşük aktivite ise $4,27 \pm 0,08$ $\mu\text{mol AAE/g}$ ekstre ile su ekstresinde saptandı. Sonuçlar Şekil 4.7'de gösterildi. *M. rotundifolia*'nın CUPRAC aktivitesi sonuçları KR ile karşılaştırıldığında, $7,04 \pm 0,65$

$\mu\text{mol AAE/g}$ ekstre aktivite ile KR'nin CUPRAC aktivitesi, *M. rotundifolia* su ekstresinden ($4,27 \pm 0,08 \mu\text{mol AAE/g}$ ekstre) üstün bulunurken, *M. rotundifolia* etanol ($11,58 \pm 0,45 \mu\text{mol AAE/g}$ ekstre) ve *M. rotundifolia* etil asetat ($11,48 \pm 0,49 \mu\text{mol AAE/g}$ ekstre) ekstresinden ise düşük bulundu (Tablo 4.2) ($p < 0,05$).



Şekil 4.7: *Mentha rotundifolia*'ya ait Bakır (II) iyonu indirgeme aktivitesi

H. arenarium subsp. *aucheri*'nin farklı polaritelerdeki çözücüler ile hazırlanan ekstralarının CUPRAC aktivitesi değerlendirildiğinde en yüksek aktivite $6,19 \pm 0,11 \mu\text{mol AAE/g}$ ekstre ile etanol ekstresinde saptanırken, en düşük aktivite ise $1,75 \pm 0,10 \mu\text{mol AAE/g}$ ekstre ile su ekstresinde saptandı. *H. arenarium* subsp. *aucheri* etanol ekstresinin CUPRAC aktivitesi, etil asetat ve su ekstralarının aktivitesi ile karşılaştırıldığında, anlamlı şekilde üstün bulundu ($p < 0,05$). Sonuçlar Şekil 4.8'de gösterildi. *H. arenarium* subsp. *aucheri*'nin CUPRAC aktivitesi sonuçları KR ile karşılaştırıldığında, $7,04 \pm 0,65 \mu\text{mol AAE/g}$ ekstre aktivite ile KR'nin CUPRAC aktivitesi farklı polaritede hazırlanan *H. arenarium* subsp. *aucheri* bitkisine ait ekstralardan üstün bulundu (Tablo 4.2) ($p < 0,05$).



Şekil 4.8: *Helichrysum arenarium* subsp. *aucheri*' ye ait Bakır (II) iyonu indirgeme aktivitesi

4.3. DEMİR (III) İYONU İNDİRGEYİCİ ANTİOKSİDAN (FRAP) BULGULARI

Demir (III) İyonu İndirgeyici Antioksidan Kapasite giderme aktivitesinde her bir bitkinin 3 farklı çözücüyle elde edilen ekstraları analiz edilerek, karşılaştırıldı. Ayrıca, 3 bitkinin eşit oranda karışımından elde edilen etanol ekstresinin (KR) de FRAP aktivitesi saptanarak, her bir bitki ekstresi ile karşılaştırıldı. Sonuçlar, g ekstre başına $\mu\text{mol Fe}^{2+}$ eşdeğeri olarak ifade edildi (Tablo 4.3). Fe^{2+} FRAP aktivitesinde kullanılan kalibrasyon grafiği Şekil 4.9'da verildi.

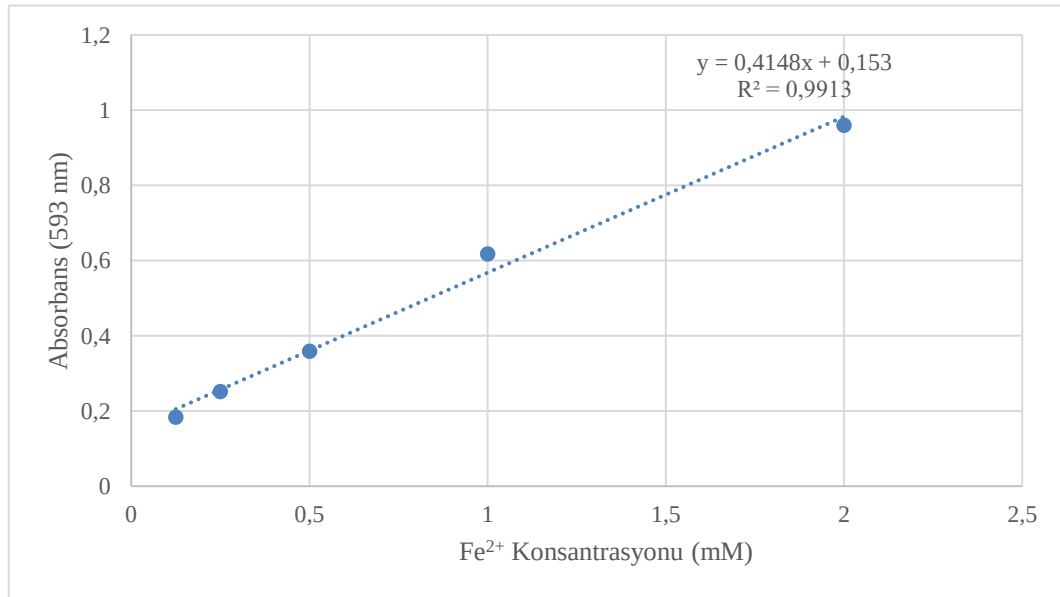
Elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde en iyi aktivite *M. rotundifolia* etanol ekstresinde ($62,56 \pm 3,53 \mu\text{mol Fe}^{2+}$ eşdeğer/g ekstre) saptandı ve aynı bitkiye ait etil asetat ekstresiyle ($62,18 \pm 5,72 \mu\text{mol Fe}^{2+}$ eşdeğer/g ekstre) aralarında anlamlı fark gözlenmedi, en düşük aktivite ise *H. arenarium* subsp. *aucheri* su ekstresinde ($1,61 \pm 1,81 \mu\text{mol Fe}^{2+}$ eşdeğer/g ekstre) saptandı. Çözücülerin aktivitedeki etkisi değerlendirilirken, aynı çözücüyle farklı bitkilerden elde edilen ekstraların aktivitesi de karşılaştırılmıştır. Etanol ile hazırlanan ekstralar aralarında en iyi aktivite gösteren bitki MR ($62,56 \pm 3,53 \mu\text{mol Fe}^{2+}$ eşdeğer/g ekstre) olurken, en düşük aktiviteyi *H. arenarium* subsp. *aucheri* ekstresi ($23,97 \pm 1,96 \mu\text{mol Fe}^{2+}$ eşdeğer/g ekstre) gösterdi. Etil asetat ile

hazırlanan ekstreler arasında en iyi aktivite gösteren bitki *M. rotundifolia* ($62,18 \pm 5,72$ $\mu\text{mol Fe}^{2+}$ eşdeğer/g ekstre) olarak bulunurken; en düşük aktivite ise $14,37 \pm 4,90$ $\mu\text{mol Fe}^{2+}$ eşdeğer/g ekstre ile su ekstresinde saptandı. Su ile hazırlanan ekstreler arasında en iyi aktivite gösteren bitki *O. majorana* ($15,69 \pm 2,61$ $\mu\text{mol Fe}^{2+}$ eşdeğer/g ekstre) olurken, en düşük aktivite *H. arenarium* subsp. *aucheri*'de ($1,61 \pm 1,81$ $\mu\text{mol Fe}^{2+}$ eşdeğer/g ekstre) saptandı.

Tablo 4.3: Demir (III) İyonu İndirgeyici Antioksidan Kapasitesi Bulguları

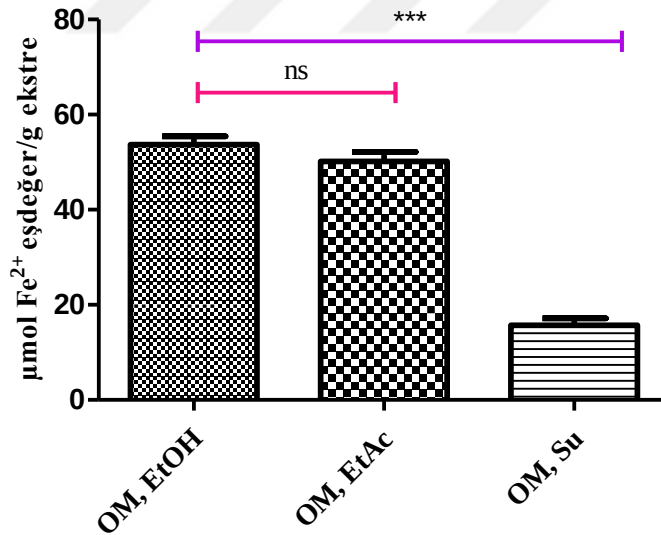
Bitki ismi	Çözücü: EtOH	Çözücü: EtAc	Çözücü: Su	KR
<i>Origanum majorana</i>	$53,70 \pm 2,97^a$	$50,14 \pm 3,54^{ac}$	$15,69 \pm 2,61^b$	$43,10 \pm 2,00^c$
<i>Mentha rotundifolia</i>	$62,56 \pm 3,53^a$	$62,18 \pm 5,72^a$	$12,59 \pm 0,95^b$	$43,10 \pm 2,00^c$
<i>Helichrysum arenarium</i> subsp. <i>aucheri</i>	$23,97 \pm 1,96^a$	$14,37 \pm 4,90^b$	$1,61 \pm 1,81^c$	$43,10 \pm 2,00^d$

Sonuçlar g ekstre başına $\mu\text{mol Fe}^{2+}$ eşdeğeri ($\mu\text{mol Fe}^{2+}$ eşdeğer/g ekstre) olarak ifade edilmiştir. Aynı satırdaki farklı harfler anlamlı farklılığı temsil eder ($p < 0,05$).



Şekil 4.9: Fe^{2+} FRAP aktivitesinde kullanılan kalibrasyon grafiği

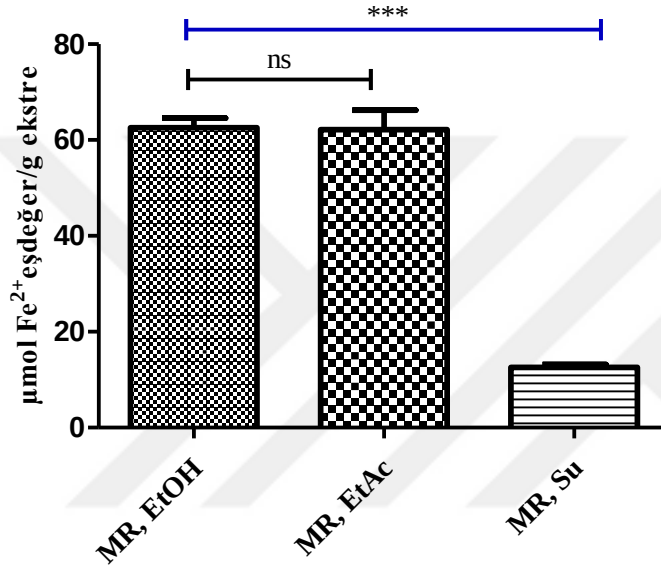
O. majorana'nın farklı polaritelerdeki çözücüler ile hazırlanan ekstralarının FRAP aktivitesi değerlendirildiğinde en yüksek aktivite $53,70 \pm 2,97 \mu\text{mol Fe}^{2+}$ eşdeğer/g ekstre ile etanol ekstresinde saptanırken, etil asetat ekstresi ($50,14 \pm 3,54 \mu\text{mol Fe}^{2+}$ eşdeğer/g ekstre) ile aralarında anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$). En düşük aktivite ise $15,69 \pm 2,61 \mu\text{mol Fe}^{2+}$ eşdeğer/g ekstre değeri ile su ekstresinde saptandı. Sonuçlar Şekil 4.10'da gösterildi. *O. majorana* bitkisine ait FRAP aktivitesi sonuçları KR ile karşılaştırıldığında, $43,10 \pm 2,00 \mu\text{mol Fe}^{2+}$ eşdeğer/g ekstre aktivite ile KR'nin FRAP aktivitesi, *O. majorana* su ekstresinden ($15,69 \pm 2,61 \mu\text{mol Fe}^{2+}$ eşdeğer/g ekstre) üstün bulunurken, *O. majorana* etanol ($53,70 \pm 2,97 \mu\text{mol Fe}^{2+}$ eşdeğer/g ekstre) ve *O. majorana* etil asetat ekstresi ($50,14 \pm 3,54 \mu\text{mol Fe}^{2+}$ eşdeğer/g ekstre) ile kıyaslandığında, KR'nin FRAP aktivitesi daha düşük bulundu (Tablo 4.3). *O. majorana* etanol, *O. majorana* etil asetat ve KR ekstralarının FRAP aktivite sonuçları birbirlerine anlamlı üstün bulunmadı ($p>0,05$).



Şekil 4.10: *Origanum majorana*'ya ait Demir (III) iyonu indirgeme aktivitesi

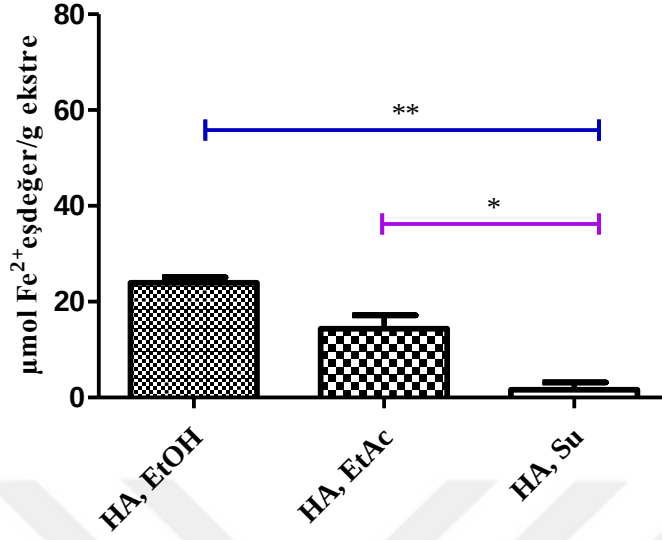
M. rotundifolia'nın farklı polaritelerdeki çözücüler ile hazırlanan ekstralarının FRAP aktivitesi değerlendirildiğinde en yüksek aktivite $62,56 \pm 3,53 \mu\text{mol Fe}^{2+}$ eşdeğer/g ekstre ile etanol ekstresinde saptanırken, etil asetat ekstresi ($62,18 \pm 5,72 \mu\text{mol Fe}^{2+}$ eşdeğer/g ekstre) ile aralarında anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$). En düşük aktivite ise

12,59 $\pm$ 0,95 $\mu\text{mol Fe}^{2+}$ eşdeğer/g ekstre değeri ile su ekstresinde saptandı. Sonuçlar Şekil 4.11’ de gösterildi. *M. rotundifolia* FRAP aktivitesi sonuçları KR ile karşılaştırıldığında, 43,10 $\pm$ 2,00 $\mu\text{mol Fe}^{2+}$ eşdeğer/g ekstre aktivite ile KR’nin FRAP aktivitesi *M. rotundifolia* su ekstresinden (12,59 $\pm$ 0,95 $\mu\text{mol Fe}^{2+}$ eşdeğer/g ekstre) üstün bulundu (Tablo 4.3) ($p < 0,05$).



Şekil 4.11: *Mentha rotundifolia*’ya ait Demir (III) iyonu indirgeme aktivitesi

H. arenarium subsp. *aucheri*’nin farklı polaritelerdeki çözücüler ile hazırlanan ekstrelerinin FRAP aktivitesi değerlendirildiğinde en yüksek aktivite 23,97 $\pm$ 1,96 $\mu\text{mol Fe}^{2+}$ eşdeğer/g ekstre ile etanol ekstresinde saptanırken, en düşük aktivite ise 1,61 $\pm$ 1,81 $\mu\text{mol Fe}^{2+}$ eşdeğer/g ekstre değeri ile su ekstresinde saptandı. Sonuçlar Şekil 4.12’ de gösterildi. *H. arenarium* subsp. *aucheri* FRAP aktivitesi sonuçları KR ile karşılaştırıldığında, 43,10 $\pm$ 2,00 $\mu\text{mol Fe}^{2+}$ eşdeğer/g ekstre aktivite ile KR’nin FRAP aktivitesi *H. arenarium* subsp. *aucheri*’nin tüm ekstrelerinden üstün bulundu (Tablo 4.3) ($p < 0,05$).



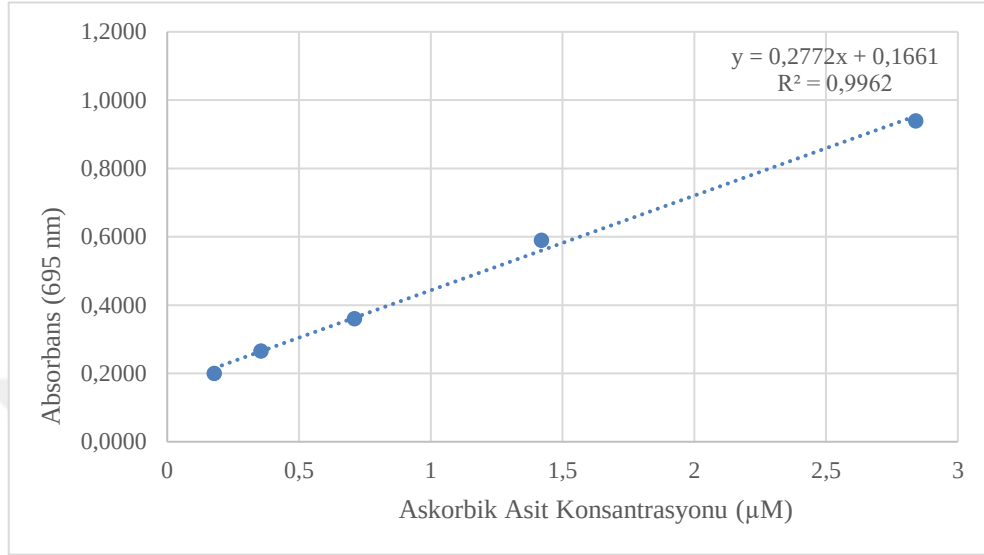
Şekil 4.12: *Helichrysum arenarium* subsp. *aucheri*’ ye ait Demir (III) iyonu indirgeme aktivitesi

4.4 TOPLAM ANTİOKSİDAN KAPASİTE TAYİN (TOAC) BULGULARI

Toplam Antioksidan Kapasite Tayin aktivitesinde her bir bitkinin farklı polaritedeki çözücülerle elde edilen ekstraları analiz edilerek, karşılaştırıldı. Ayrıca, 3 bitkinin eşit oranda karışımından elde edilen etanol ekstresinin (KR) de TOAC aktivitesi saptanarak, her bir bitki ekstresi ile karşılaştırıldı (Tablo 4.4). Sonuçlar, g ekstre başına μmol askorbik asit eşdeğeri (AAE) olarak ifade edildi. Askorbik asidin TOAC aktivitesinde kullanılan kalibrasyon grafiği Şekil 4.13 de verildi.

Elde edilen sonuçlar değerlendirildiğinde en iyi aktivite *Mentha rotundifolia* ile hazırlanan ekstralarda saptandı ve bitkiye ait ekstraların aktiviteleri arasında anlamlı fark görülmedi, en düşük aktivite ise *Helichrysum arenarium* subsp. *aucheri* su ekstresinde saptandı. Çözücülerin aktivitedeki etkisi değerlendirilirken, aynı çözücüyle farklı bitkilerden elde edilen ekstraların aktivitesi de karşılaştırılmıştır. Etanol ile hazırlanan ekstralar aralarında en iyi aktivite gösteren bitki *Mentha rotundifolia* ($18,93 \pm 4,01$ μmol AAE/g ekstre) olurken, en düşük aktiviteyi *Helichrysum arenarium* subsp. *aucheri* ekstresi ($7,15 \pm 1,30$ μmol AAE/g ekstre) gösterdi. Etil asetat ile hazırlanan ekstralar arasında en iyi aktivite gösteren bitki *Mentha rotundifolia* ($16,74 \pm 2,96$ μmol AAE/g ekstre) olarak bulundu. Su ile hazırlanan ekstralar aralarında en iyi aktivite gösteren bitki

Mentha rotundifolia ($19,41 \pm 2,26$ $\mu\text{mol AAE/g}$ ekstre) olurken; en düşük aktiviteyi *Helichrysum arenarium* subsp. *aucheri* gösterdi.



Şekil 4.13: Askorbik asidin TOAC aktivitesinde kullanılan kalibrasyon grafiği

Tablo 4.4: TOAC bulguları

Bitki ismi	Çözücü: EtOH	Çözücü: EtAc	Çözücü: Su	KR
<i>Origanum majorana</i>	$8,74 \pm 1,35^a$	$15,00 \pm 1,60^b$	$3,88 \pm 2,28^c$	$11,00 \pm 0,51^d$
<i>Mentha rotundifolia</i>	$18,93 \pm 4,01^a$	$16,74 \pm 2,96^a$	$19,41 \pm 2,26^a$	$11,00 \pm 0,51^b$
<i>Helichrysum arenarium</i> subsp. <i>aucheri</i>	$7,15 \pm 1,30^a$	$12,23 \pm 2,56^b$	Nd.	$11,00 \pm 0,51^c$

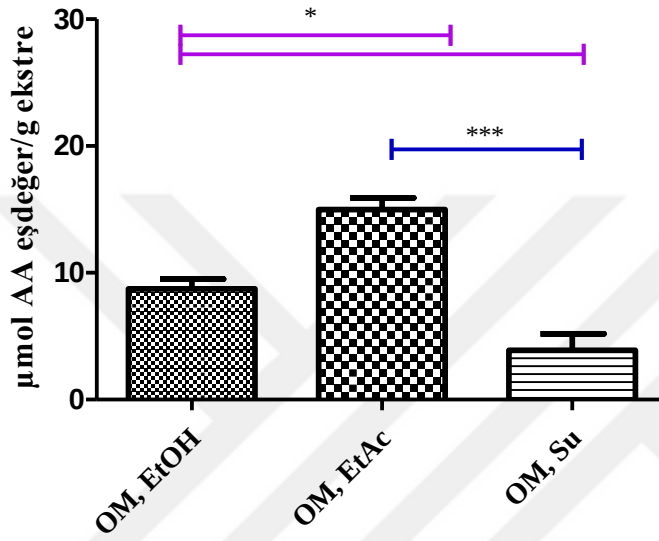
Nd. Saptanmadı.

Sonuçlar g ekstre başına μmol askorbik asit eşdeğeri ($\mu\text{mol AAE/g}$ ekstre) olarak ifade edildi.

Aynı satırdaki farklı harfler anlamlı farklılığı temsil eder ($p < 0,05$).

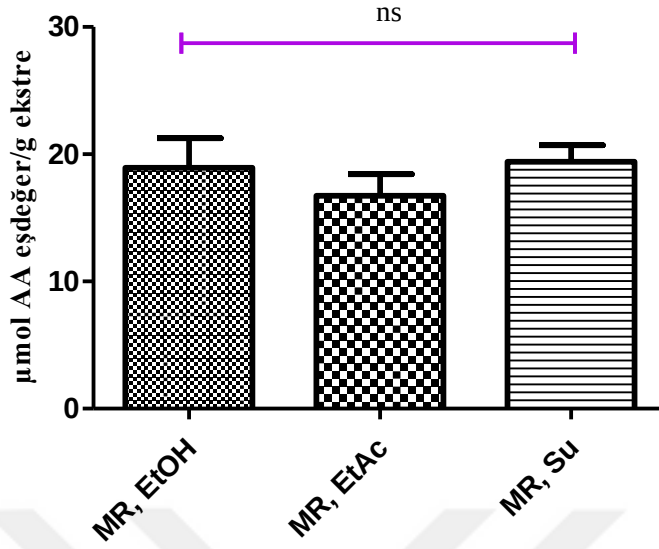
O. majorana'nın farklı polaritelerdeki çözücüler ile hazırlanan ekstrelerinin TOAC aktivitesi değerlendirildiğinde en yüksek aktivite $15,00 \pm 1,60$ $\mu\text{mol AAE/g}$ ekstre ile etil asetat ekstresinde saptandı. En düşük aktivite ise $3,88 \pm 2,28$ $\mu\text{mol AAE/g}$ ekstre ile değeri ile su ekstresinde saptandı. Sonuçlar Şekil 4.14' de gösterildi. *O. majorana*

bitkisine ait TOAC aktivite sonuçları KR ile karşılaştırıldığında, $11,00 \pm 0,51$ μmol AAE/g ekstre aktivite ile KR'nin TOAC aktivitesi, *O. majorana* su ($3,88 \pm 2,28$ μmol AAE/g ekstre) ve *O. majorana* etanol ($8,74 \pm 1,35$ μmol AAE/g ekstre) ekstrelerinden üstün bulundu (Tablo 4.4) ($p < 0,05$).



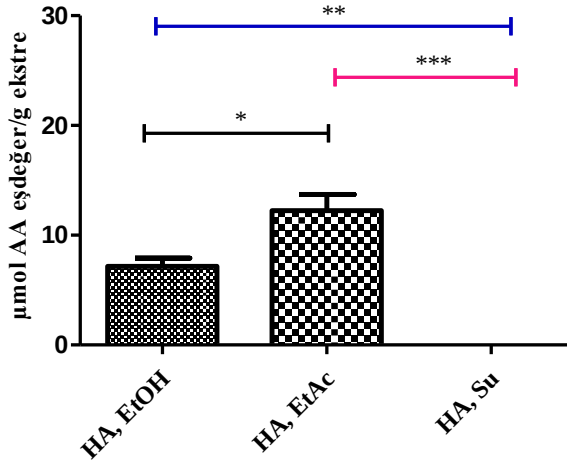
Şekil 4.14: *Origanum majorana*' ya ait TOAC aktivitesi

Mentha rotundifolia'nın farklı polaritelerdeki çözücüler ile hazırlanan ekstrelerinin TOAC aktivitesi değerlendirildiğinde en yüksek aktivite $19,41 \pm 2,26$ μmol AAE/g ekstre ile su ekstresinde saptanırken, etanol ekstresi ($18,93 \pm 4,01$ μmol AAE/g ekstre) ve etil asetat ($16,74 \pm 2,96$ μmol AAE/g) ekstreleriyle aralarında anlamlı fark bulunmadı (Şekil 4.15) ($p > 0,05$). *M. rotundifolia* bitkisine ait TOAC aktivite sonuçları KR ile karşılaştırıldığında, $11,00 \pm 0,51$ μmol AAE/g ekstre aktivite ile KR'nin TOAC aktivitesi, *M. rotundifolia* bitkisine ait tüm ekstrelerden düşük bulundu (Tablo 4.2) ($p < 0,05$).



Şekil 4.15: *Mentha rotundifolia*'ya ait TOAC aktivitesi

Helichrysum arenarium subsp. *aucheri*'nin farklı polaritelerdeki çözücüler ile hazırlanan ekstrelerinin TOAC aktivitesi değerlendirildiğinde en yüksek aktivite $12,23 \pm 2,56$ $\mu\text{mol AAE/g}$ ekstre ile etil asetat ekstresinde saptanırken, su ekstresinde ise aktivite saptanmadı. *H. arenarium* subsp. *aucheri* etanol ekstresine ait TOAC aktivitesi ise $7,15 \pm 1,30$ $\mu\text{mol AAE/g}$ ekstre olarak hesaplandı. Sonuçlar Şekil 4.16' da gösterildi. *H. arenarium* subsp. *aucheri* bitkisine ait TOAC aktivite sonuçları KR ile karşılaştırıldığında, $11,00 \pm 0,51$ $\mu\text{mol AAE/g}$ ekstre aktivite ile KR'nin TOAC aktivitesi, *H. arenarium* subsp. *aucheri* etanol ekstresinin aktivitesinden ($7,15 \pm 1,30$ $\mu\text{mol AAE/g}$ ekstre) üstün bulunurken, *H. arenarium* subsp. *aucheri* etil asetat ekstresinden ($12,23 \pm 2,56$ $\mu\text{mol AAE/g}$ ekstre) ise düşük bulundu (Tablo 4.2) ($p < 0,05$).



Şekil 4.16: *Helichrysum arenarium* subsp. *aucheri* ' ye ait TOAC aktivitesi

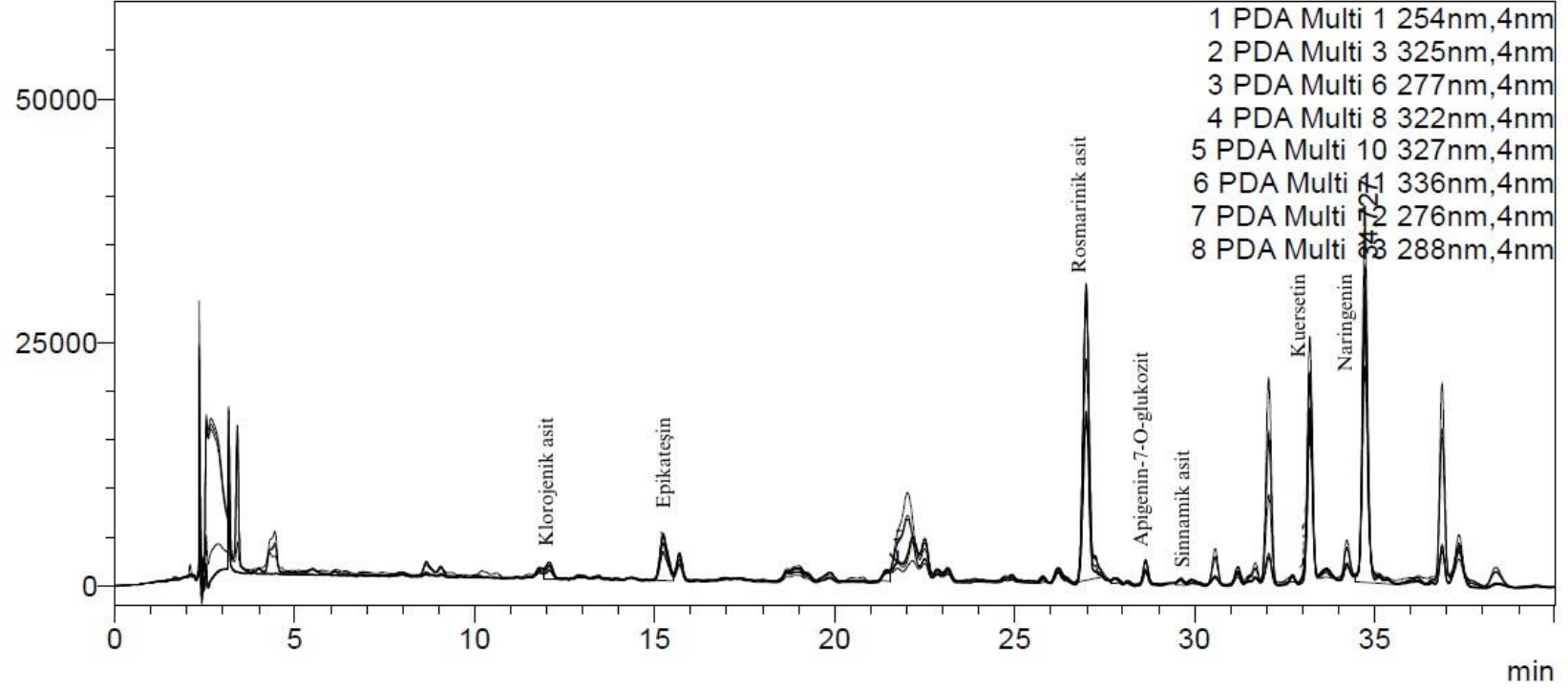
4.5.KANTİTATİF FENOLİK BİLEŞİK ANALİZ BULGULARI

O. majorana, *M. rotundifolia*, *H. arenarium* subsp. *aucheri* bitkilerinin toprak üstü kısımlarından hazırlanan etanol, etil asetat ve su ekstrelerinin ve bitki ekstrelerinden hazırlanan emüljellerin HPLC-DAD analizi sonuçları aşağıda verildi. Saptanan bileşiklere ait kromatogramlar, maddelerin pikleri alıkonma zamanlarına göre gösterildi. Her bir maddenin maksimum absorplandığı dalga boyu farklı olduğu için cihaz yazılımından elde edilen kromatogramlar her bir madde için ayrı şekil olarak verildi. Bu sebeple tek bir kromatogramda tüm bileşiklerin piklerini göstermek için farklı dalga boylarında elde edilen kromatogramlar üst üste çakıştırıldı. Bunun sonucunda da aşağıdaki şekillerde her bir madde için görülen birden fazla pik sayısı, diğer dalga boylarında aynı maddenin daha düşük pik vermesinden kaynaklanmaktadır.

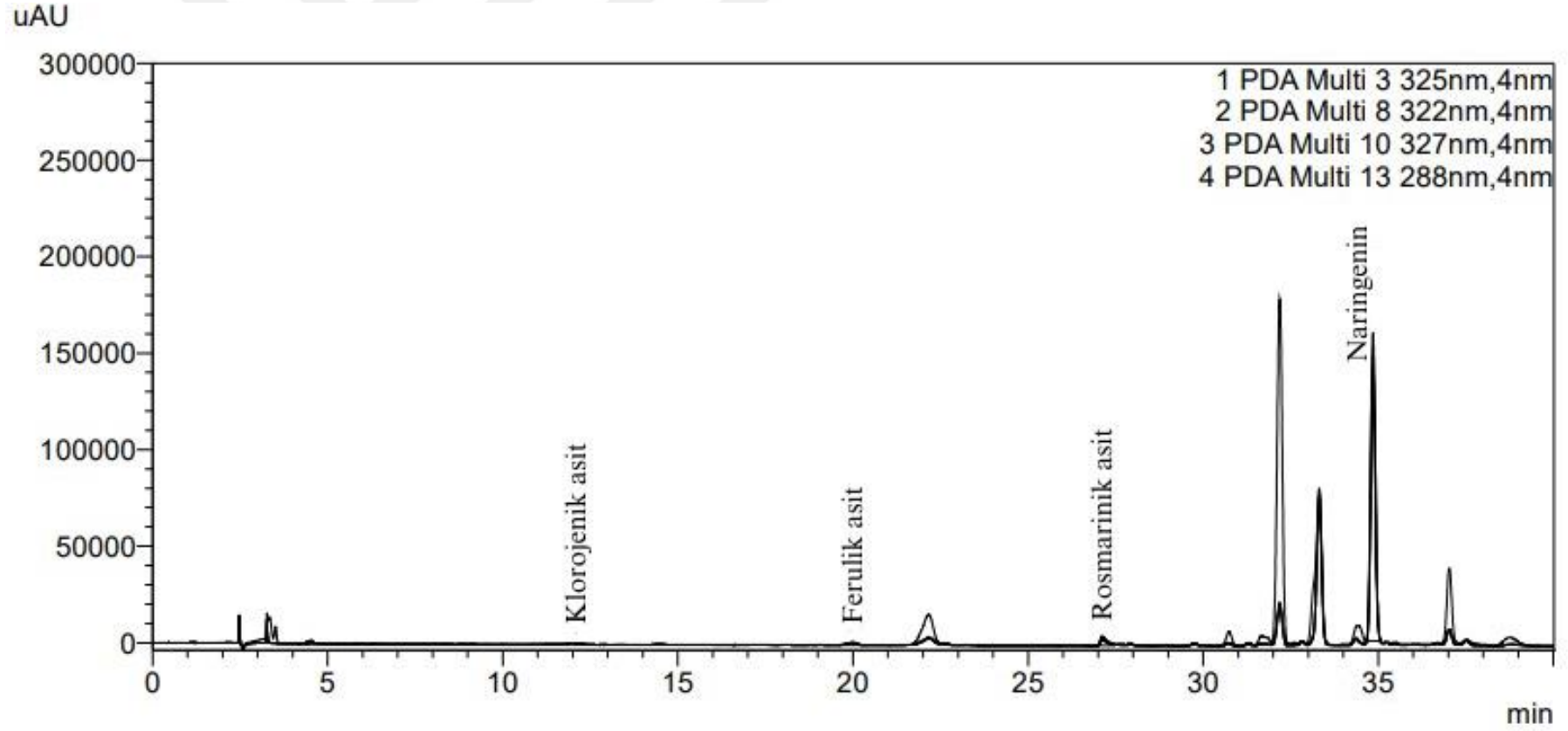
4.5.1. *O. majorana* Ekstrelerinin Bulguları

O. majorana bitkisinin toprak üstü kısımlarından hazırlanan etanol, etil asetat ve su ekstrelerinin HPLC-DAD analizi sonuçları Tablo 4.5' de gösterildi. Çözücü olarak etanol kullanılarak hazırlanan ekstrede, taranan 15 tane fenolik bileşikten 8 tanesi saptanırken, etil asetat kullanılarak hazırlanan ekstrede 4 adet, su kullanılarak hazırlanan ekstrede ise 6 adet fenolik bileşik saptandı (Tablo 4.5). Tespit edilen bileşiklere ait kromatogramlar aşağıda verilmiştir (Şekil 4.17, Şekil 4.18, Şekil 4.19).

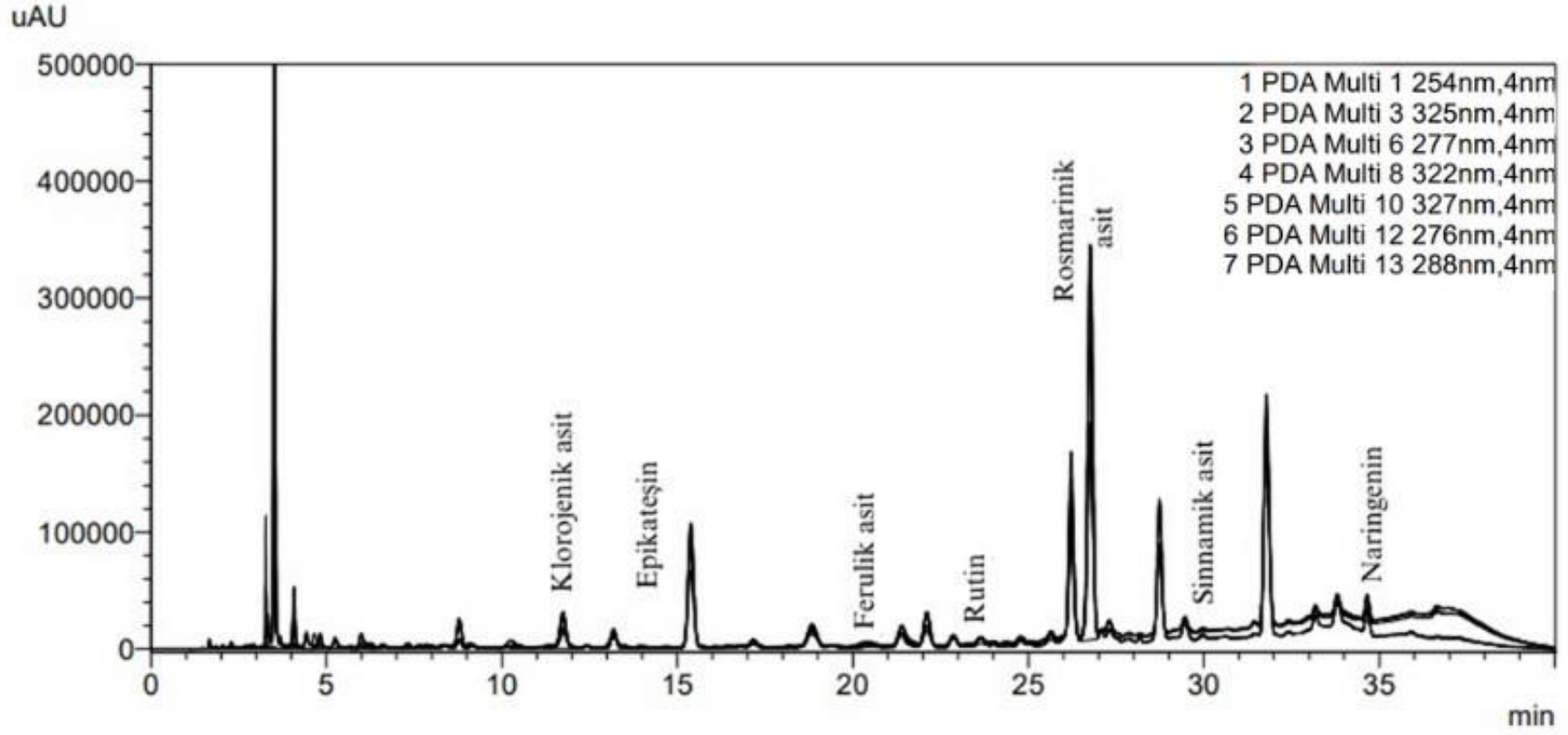
uAU



Şekil 4.17: *O. majorana* etanol ekstresine ait HPLC kromatogramı



Şekil 4.18: *O. majorana* etil asetat ekstresine ait HPLC kromatogramı



Şekil 4.19: *O. majorana* su ekstresine ait HPLC kromatogramı

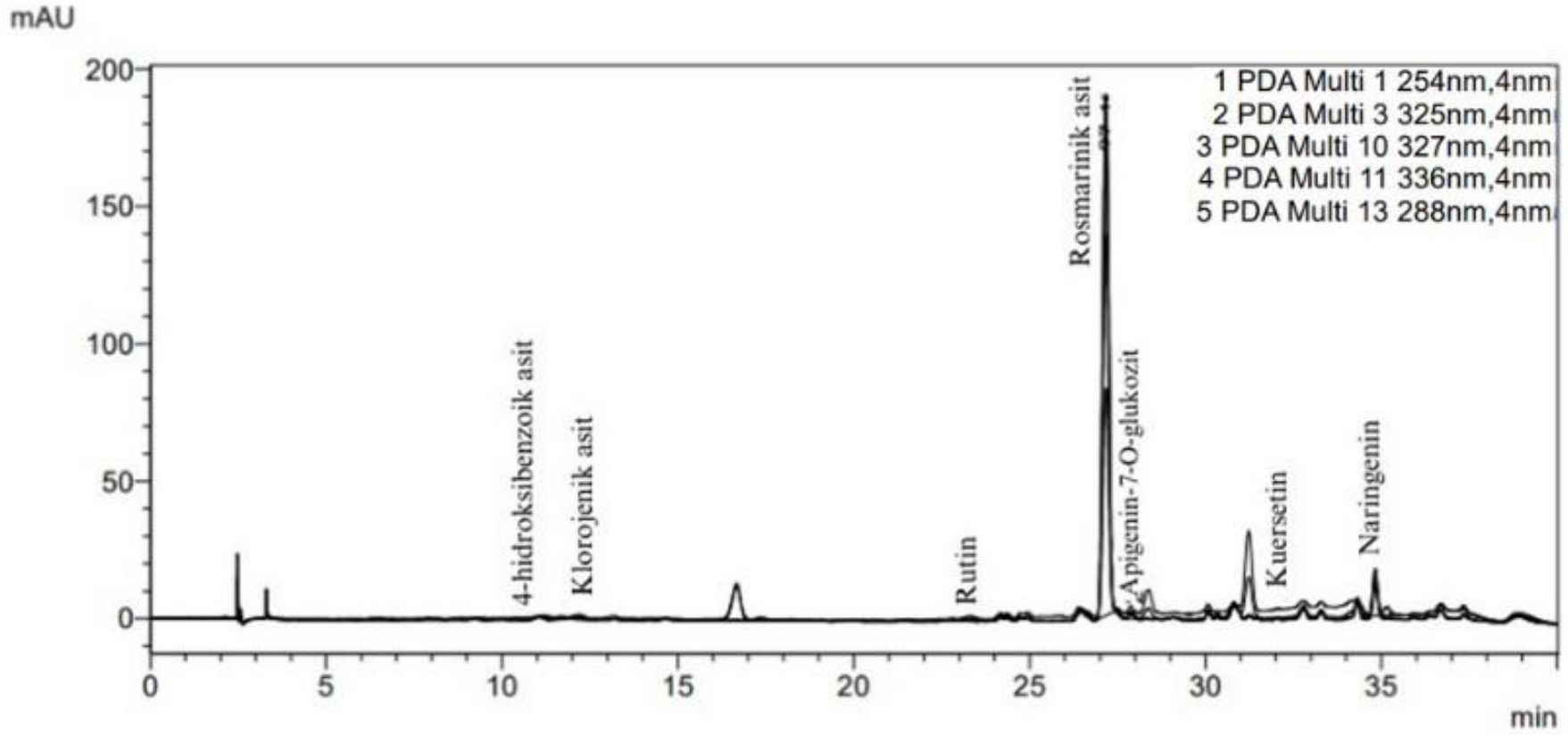
Etanol ve su ekstralarının içeriğinde en çok rosmarinik asit saptanırken (sırasıyla 33,593 mg/g ekstre ve 64,02 mg/g ekstre), etil asetat ile hazırlanan ekstrede en fazla miktarda bulunan fenolik bileşik 36,920 mg/g ekstre ile naringenin olarak bulundu. Çözücü olarak etanol ve su ile hazırlanan ekstrede en az miktarda bulunan fenolik bileşik sinnamik asit (sırasıyla 0,084 mg/g ekstre ve 0,067 mg/g ekstre) olarak saptanırken, etil asetat ile hazırlanan ekstrede sinnamik asit saptanmadı (Tablo 4.5).

Tablo 4.5: *O. majorana* ekstralarının HPLC-DAD analiz sonuçları

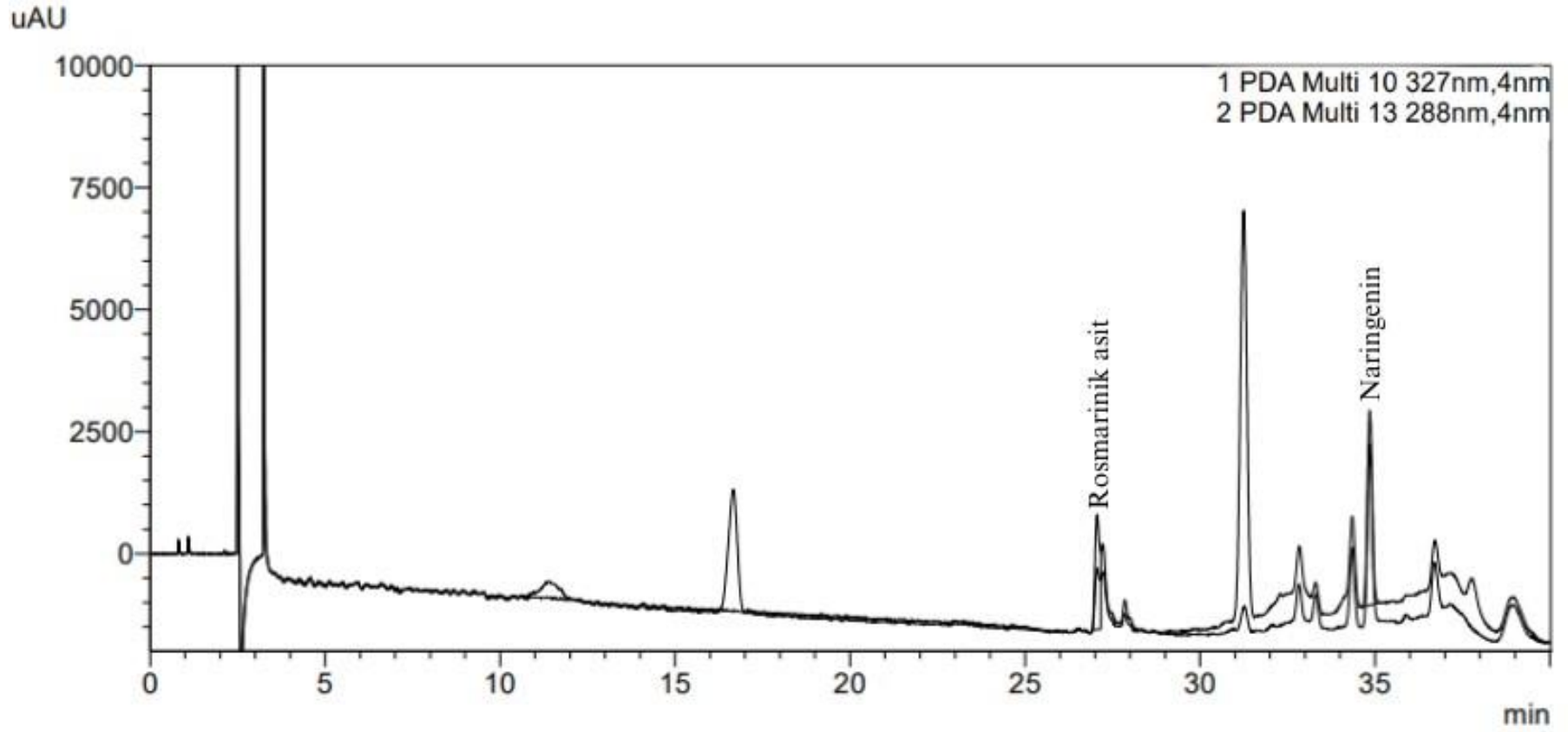
	Standart madde	OM-EtOH (Konsantrasyon)	OM-EtAc (Konsantrasyon)	OM-Su (Konsantrasyon)	Birim
1	Klorojenik asit	0,719	0,252	2,363	mg/g ekstre
2	Epikateşin	8,344	0,000	0,821	mg/g ekstre
3	Ferulik asit	0,228	0,445	0,148	mg/g ekstre
4	Rosmarinik asit	33,593	5,760	64,02	mg/g ekstre
5	Apigenin-7-glikozit	0,144	0,000	0,000	mg/g ekstre
6	Sinamik asit	0,084	0,000	0,067	mg/g ekstre
7	Kuersetin	0,237	0,000	0,000	mg/g ekstre
8	Naringenin	8,754	36,920	1,028	mg/g ekstre

4.5.2 *M. rotundifolia* Ekstrelerinin Bulguları

M. rotundifolia bitkisinin toprak üstü kısımlarından hazırlanan etanol, etil asetat ve su ekstralarının HPLC-DAD analizi sonuçları Tablo 4.6’da gösterildi. Çözücü olarak etanol kullanılarak hazırlanan ekstrede, taranan 15 tane fenolik bileşikten 7 tanesi saptanırken, etil asetat kullanılarak hazırlanan ekstrede 2 adet, su kullanılarak hazırlanan ekstrede ise 10 adet fenolik bileşik saptandı (Tablo 4.6). Tespit edilen bileşiklere ait kromatogramlar Şekil 4.20, Şekil 4.21 ve Şekil 4.22 de verilmiştir

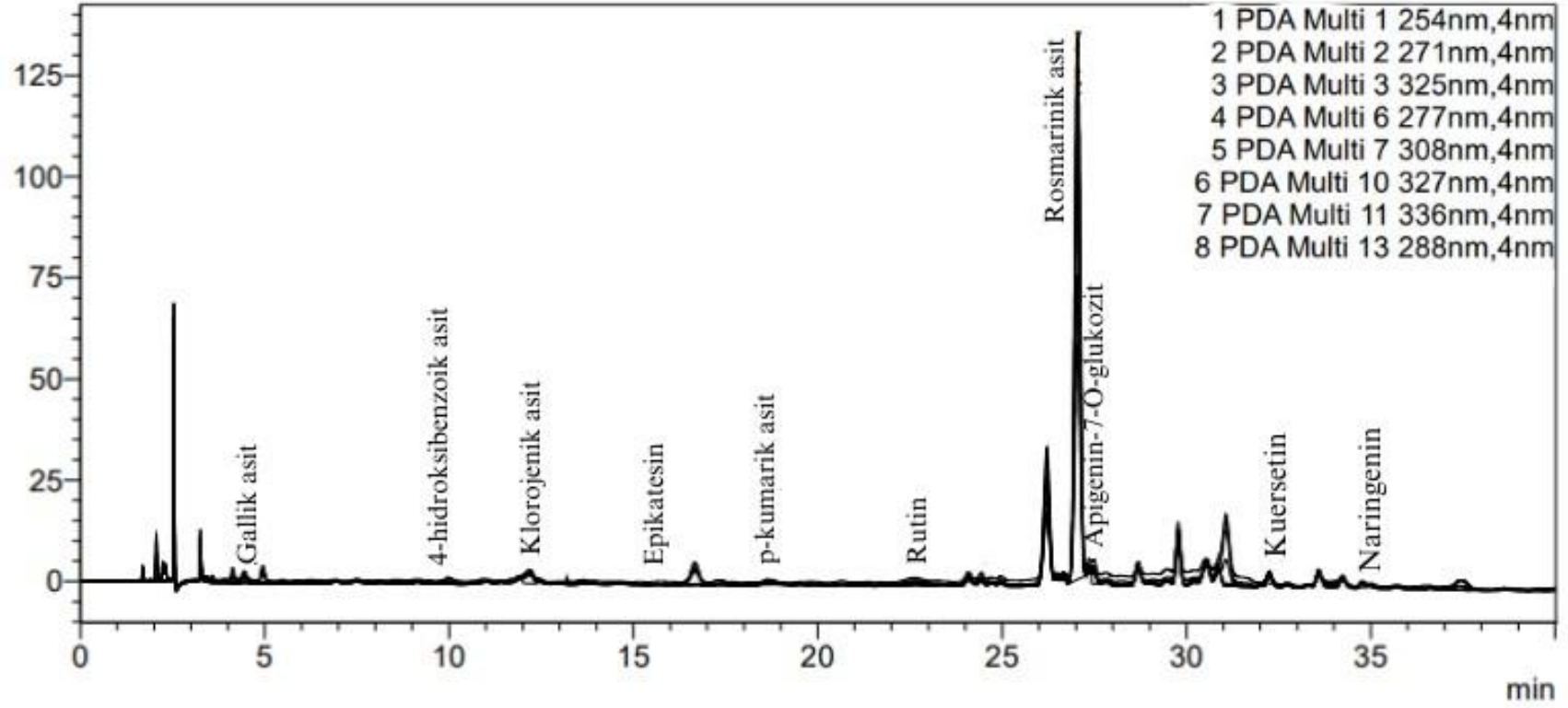


Şekil 4.20: *M. rotundifolia* etanol ekstresine ait HPLC kromatogramı



Şekil 4.21: *M. rotundifolia* etil asetat ekstresine ait HPLC kromatogramı

mAU



Şekil 4.22: *M. rotundifolia* su ekstresine ait HPLC kromatogramı

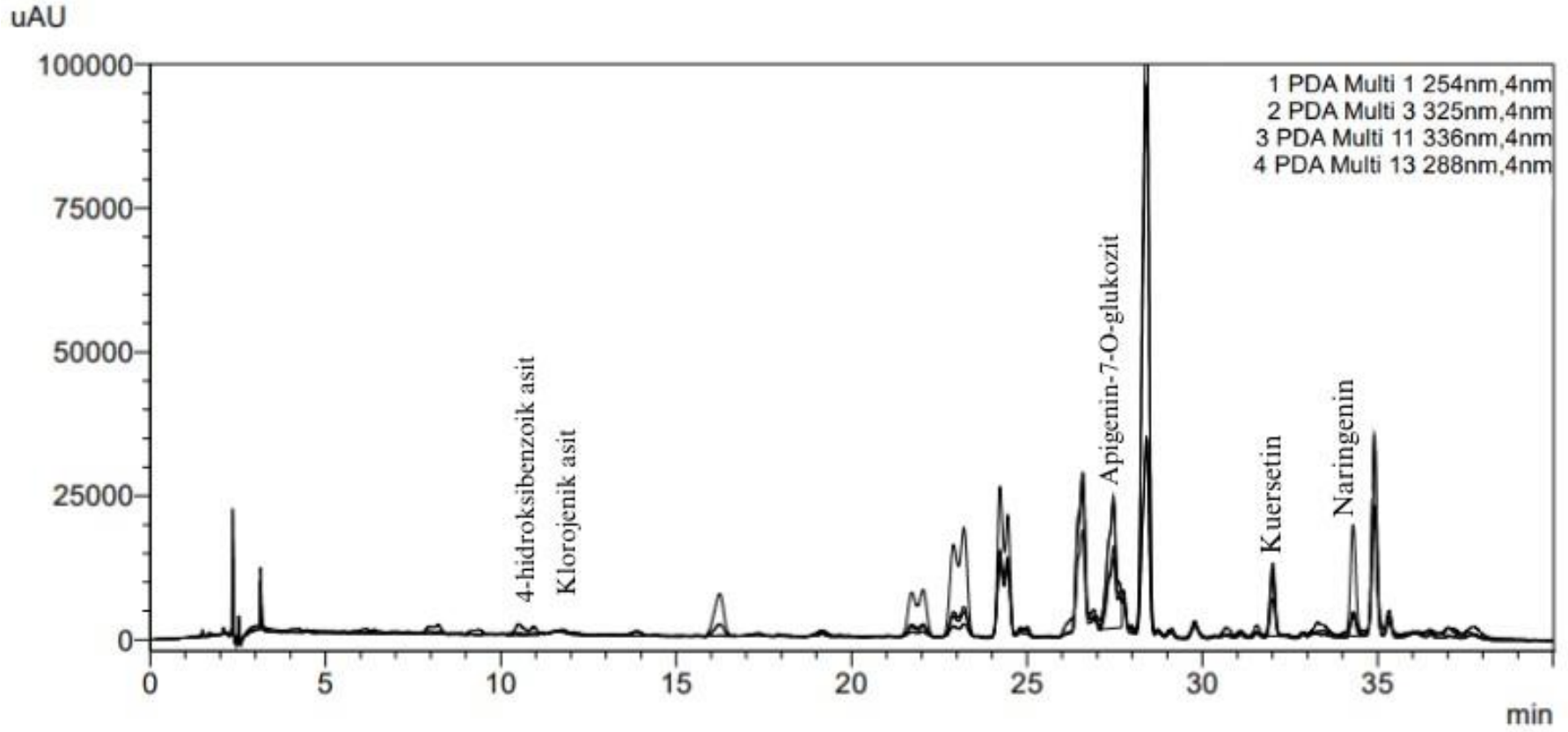
Etanol, etil asetat ve su ekstralarının içerdikleri ana fenolik bileşik sırasıyla 191,635 mg/g ekstre, 2,027 mg/g ekstre ve 124,637 mg/g ekstre miktarlarıyla rosmarinik asit olarak saptandı. Etanol ekstresinde en az miktarda bulunan fenolik bileşik 4-hidroksibenzoik asit (0,025 mg/g ekstre) olarak bulunurken, etil asetat ekstresinde en az miktarda bulunan fenolik bileşik naringenin (0,950 mg/g ekstre), su ekstresinde ise en az miktarda bulunan fenolik bileşik p-kumarik asit olarak saptandı (Tablo 4.6).

Tablo 4.6: *M. rotundifolia* ekstralarının HPLC-DAD analiz sonuçları

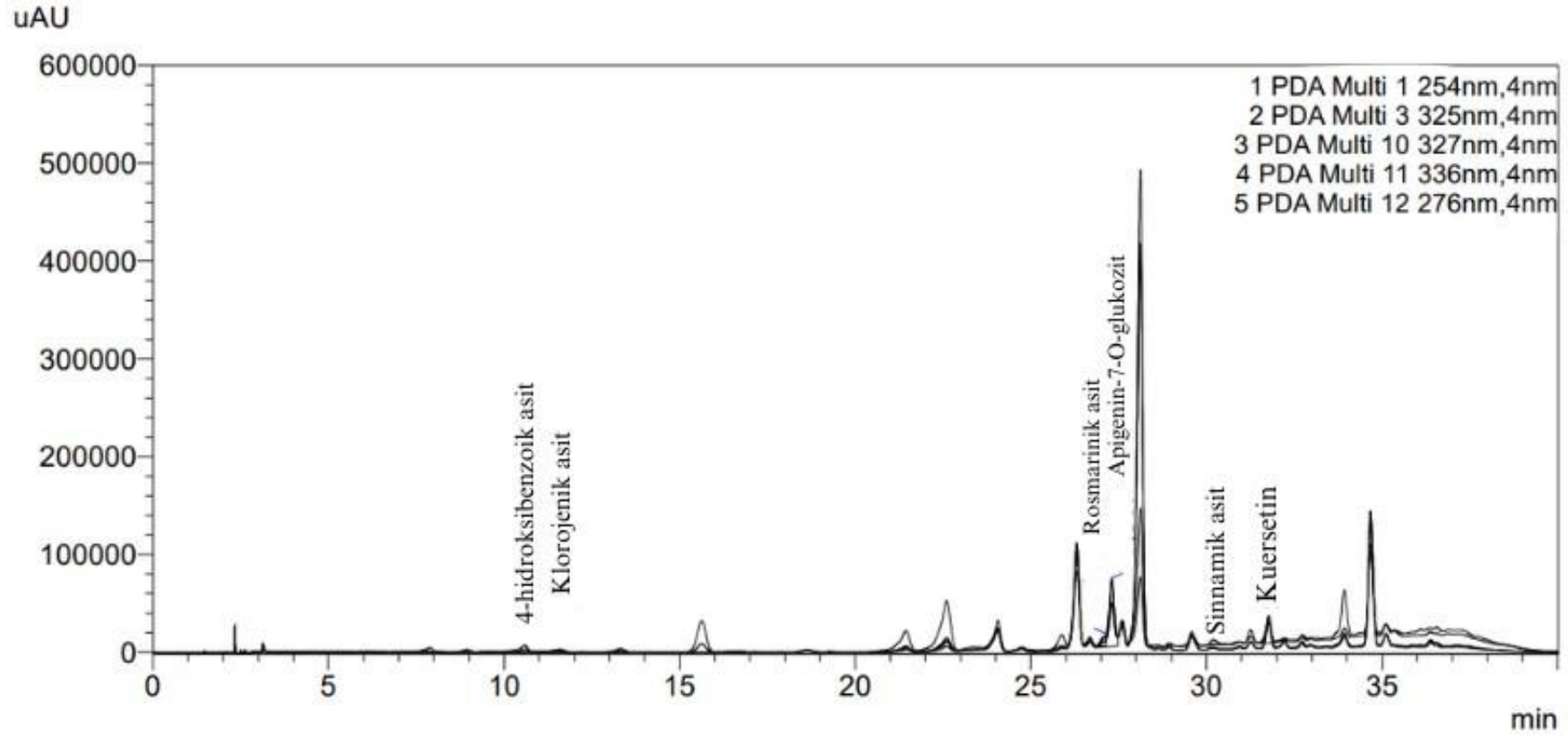
	Standart madde	MR-EtOH (Konsantrasyon)	MR-EtAc (Konsantrasyon)	MR-Su (Konsantrasyon)	Birim
1	Gallik asit	0,000	0,000	0,424	mg/g ekstre
2	4-hidroksibenzoik asit	0,025	0,000	0,184	mg/g ekstre
3	Klorojenik asit	0,460	0,000	1,428	mg/g ekstre
4	Epikateşin	0,000	0,000	1,252	mg/g ekstre
5	p-kumarik asit	0,000	0,000	0,456	mg/g ekstre
6	Rutin	0,831	0,000	1,039	mg/g ekstre
7	Rosmarinik asit	191,635	2,027	124,637	mg/g ekstre
8	Apigenin-7-glikozit	0,512	0,000	0,740	mg/g ekstre
9	Kuersetin	0,203	0,000	1,021	mg/g ekstre
10	Naringenin	3,891	0,950	0,373	mg/g ekstre

4.5.3. *H. arenarium* subsp. *aucheri* Ekstrelerinin Bulguları

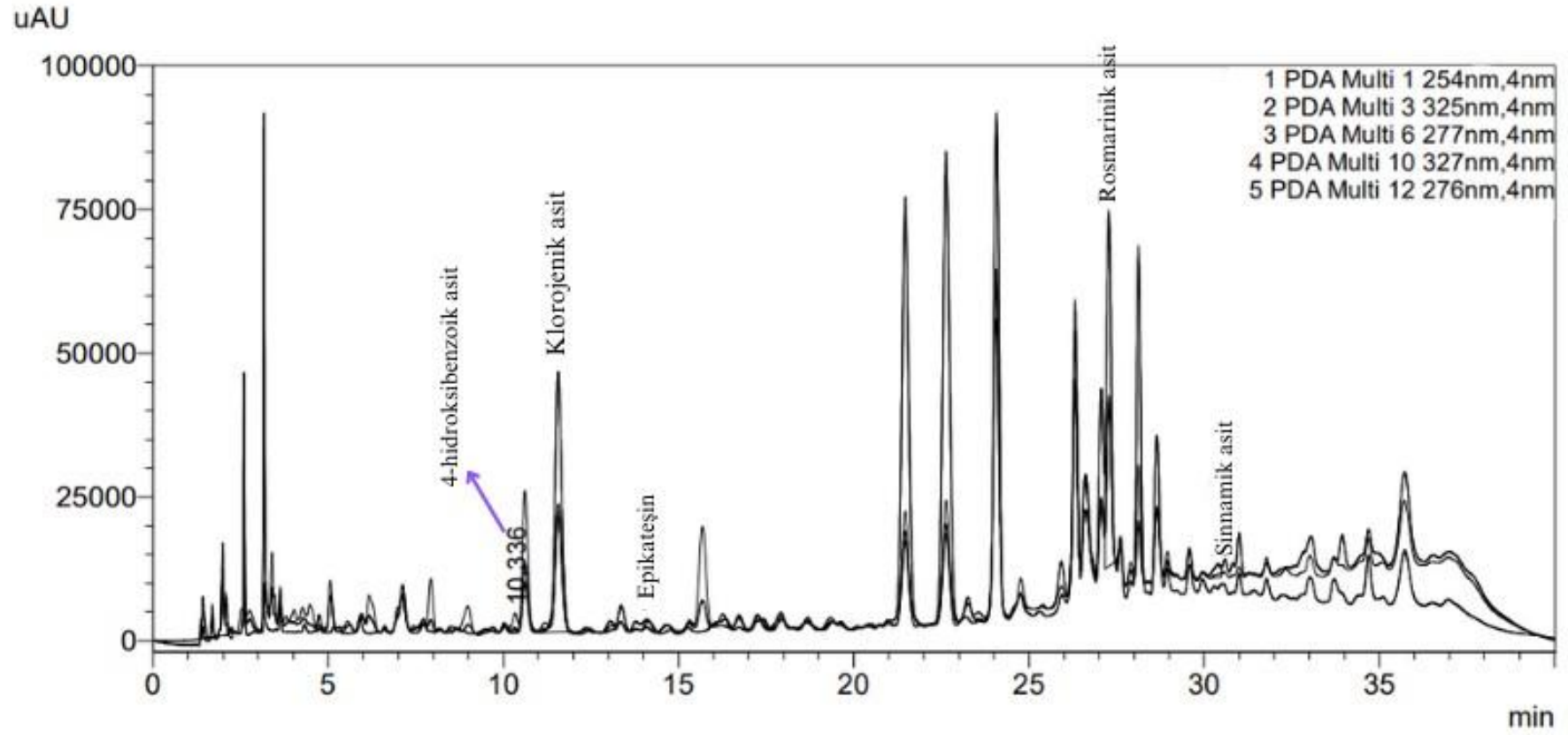
H. arenarium subsp. *aucheri* bitkisinin toprak üstü kısımlarından hazırlanan etanol, etil asetat ve su ekstralarının HPLC-DAD analizi sonuçları Tablo 4.7’de gösterildi. Çözücü olarak etanol kullanılarak hazırlanan ekstrede, taranan 15 tane fenolik bileşikten 5 tanesi saptanırken, etil asetat kullanılarak hazırlanan ekstrede 7 adet, su kullanılarak hazırlanan ekstrede ise 5 adet fenolik bileşik saptandı (Tablo 4.7). Tespit edilen bileşiklere ait kromatogramlar Şekil 4.23, Şekil 4.24 ve Şekil 4.25 de verilmiştir.



Şekil 4.23: *H. arenarium* subsp. *aucheri* etanol ekstresine ait HPLC kromatogramı



Şekil 4.24: *H. arenarium* subsp. *aucheri* etil asetat ekstresine ait HPLC kromatogramı



Şekil 4.25: *H. arenarium* subsp. *aucheri* su ekstresine ait HPLC kromatogramı

Etanol ve etil asetat ekstrlerinin içeriğinde en fazla apigenin-7-glikozit (sırasıyla 8,891 mg/g ekstre ve 3,622 mg/g ekstre) bulunduğu belirlenirken, su ekstresinde apigenin-7-glikozit saptanmadı. Su ekstresinde ise en fazla miktarda bulunan fenolik bileşik rosmarinik asit olarak (10,128 mg/g ekstre) belirlendi. Etanol ekstresinde en az miktarda bulunan fenolik bileşik klorojenik asit (0,200 mg/g ekstre) olarak belirlenirken, etil asetat ve su ekstrlerinde en az miktarda bulunan fenolik bileşiğin sinnamik asit (sırasıyla 0,179 mg/g ekstre ve 0,073 mg/g ekstre) olduğu belirlendi.

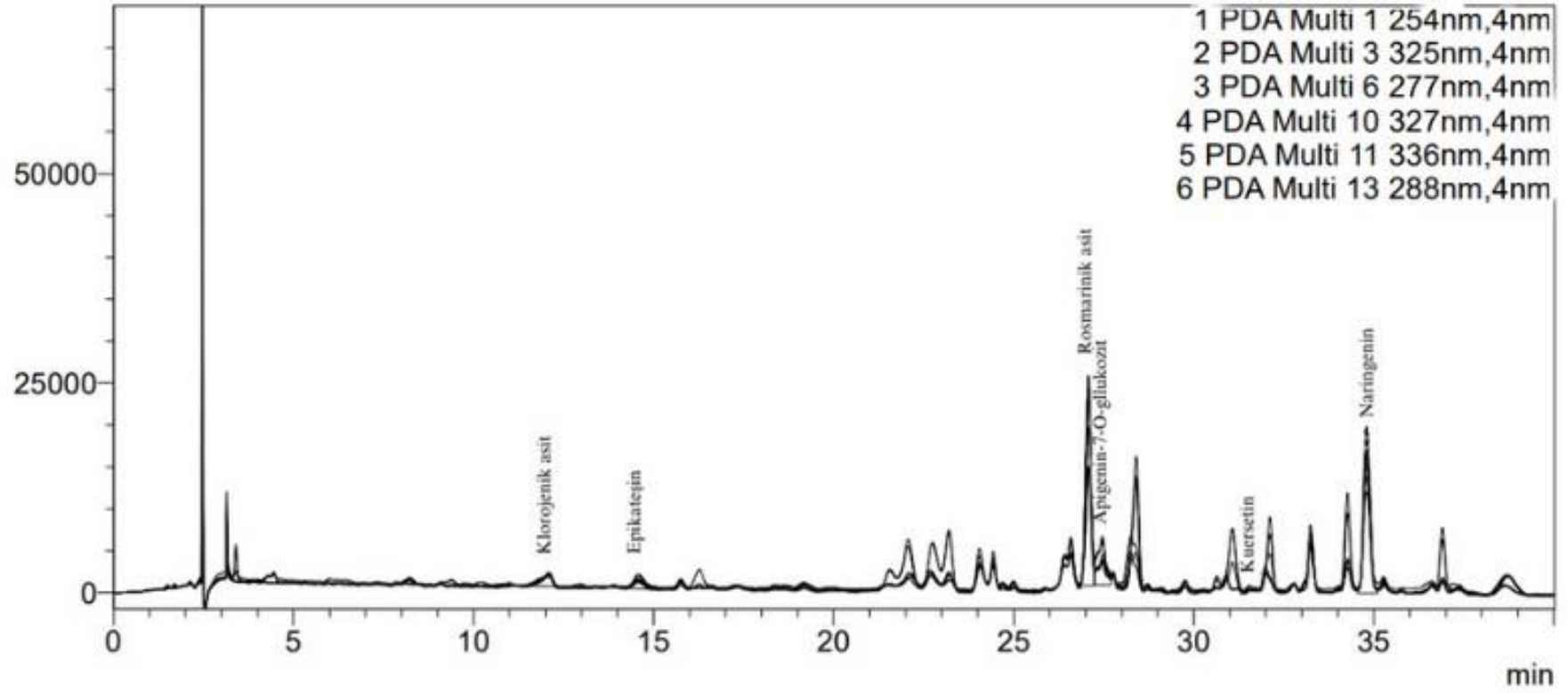
Tablo 4.7: *H. arenarium* subsp. *aucheri* ekstrlerinin HPLC-DAD analiz sonuçları

	Standart madde	HA-EtOH (Konsantrasyon)	HA-EtAc (Konsantrasyon)	HA-Su (Konsantrasyon)	Birim
1	4-hidroksibenzoik asit	0,410	0,424	0,104	mg/g ekstre
2	Klorojenik asit	0,200	0,331	3,597	mg/g ekstre
3	Epikateşin	0,000	0,000	0,525	mg/g ekstre
4	Rosmarinik asit	0,000	1,860	10,128	mg/g ekstre
5	Apigenin-7-glikozit	8,891	3,622	0,000	mg/g ekstre
6	Sinnamik asit	0,000	0,179	0,073	mg/g ekstre
7	Kuersetin	3,961	1,808	0,000	mg/g ekstre
8	Naringenin	5,328	1,066	0,000	mg/g ekstre

4.5.4. *O. majorana*, *M. rotundifolia* ve *H. arenarium* subsp. *aucheri* Bitkilerinin Karışımına Ait etanol ekstresinin Bulguları

O. majorana, *M. rotundifolia* ve *H. arenarium* subsp. *aucheri* bitkilerinin eşit oranda karışımdan (KR) elde edilen etanol ekstresinin HPLC-DAD analizi sonuçları Tablo 4.8’de gösterilmiştir. Çözücü olarak etanol kullanılarak hazırlanan ekstrenin içeriğinde, taranan 15 tane fenolik bileşikten 6 tanesi saptandı. Tespit edilen bileşiklere ait kromatogramlar Şekil 4.26, Şekil 4.27 ve Şekil 4.28 de verilmiştir.

uAU



Şekil 4.26: KR etanol ekstresine ait HPLC kromatogramı

Ekstrenin içediği ana bileşik 23,671 mg/g ekstre konsantrasyon ile rosmarinik asit olarak bulunurken; ekstrenin içeriğinde en az miktarda bulunan fenolik bileşik 0,236 mg/g ekstre konsantrasyon ile kuersetin olarak bulundu (Tablo 4.8). Rosmarinik asit ve kuersetin ile birlikte saptanan diğer 4 fenolik bileşik Tablo 4.8’de gösterilmiştir.

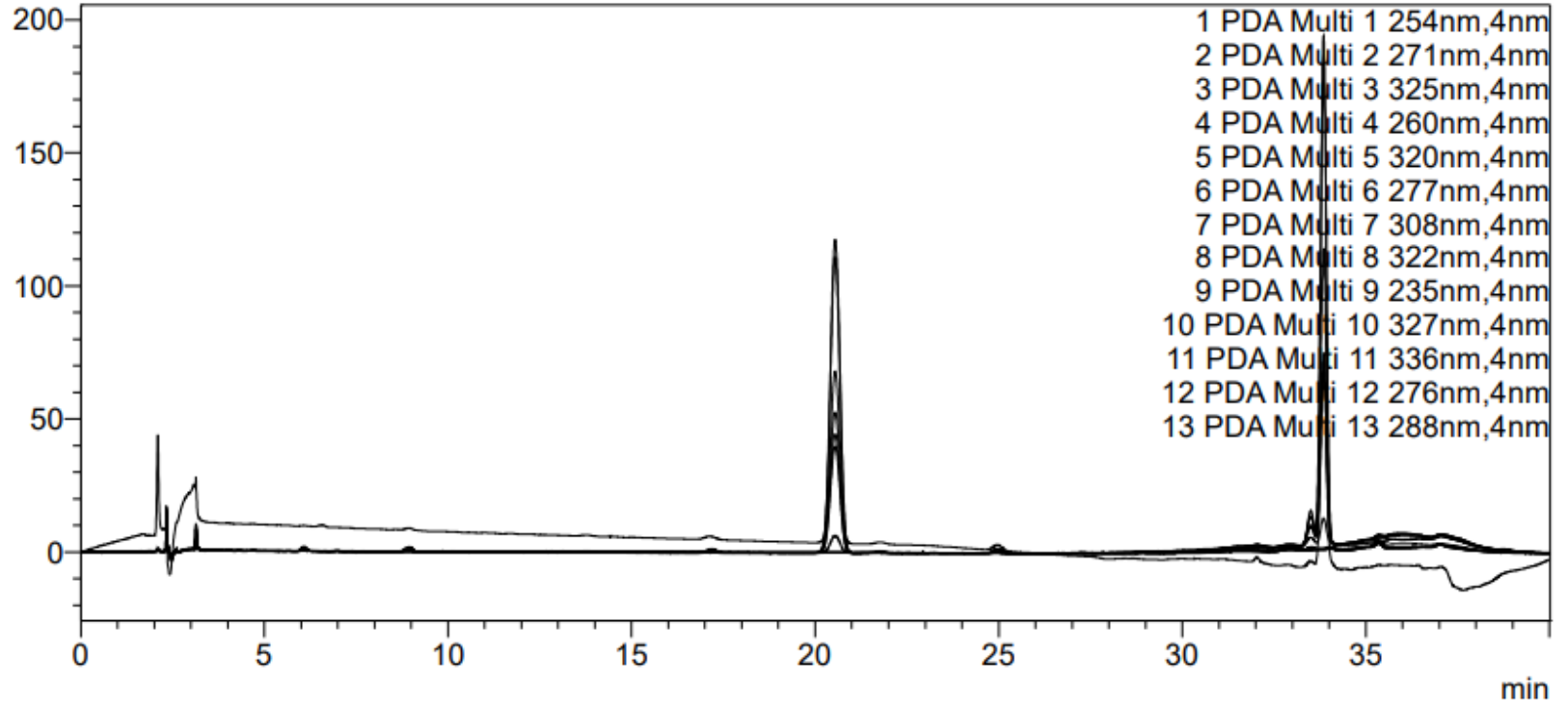
Tablo 4.8: *O. majorana*, *M. rotundifolia* ve *H. arenarium* subsp. *aucheri* bitkilerinin karışımına (KR) ait etanol ekstresinin HPLC-DAD analizi

	Standart madde	KR-EtOH (Konsantrasyon)	Birim
1	Klorojenik asit	1,011	mg/g ekstre
2	Epikateşin	3,270	mg/g ekstre
3	Rosmarinik asit	23,671	mg/g ekstre
4	Apigenin-7-glikozit	2,040	mg/g ekstre
5	Kuersetin	0,236	mg/g ekstre
6	Naringenin	4,891	mg/g ekstre

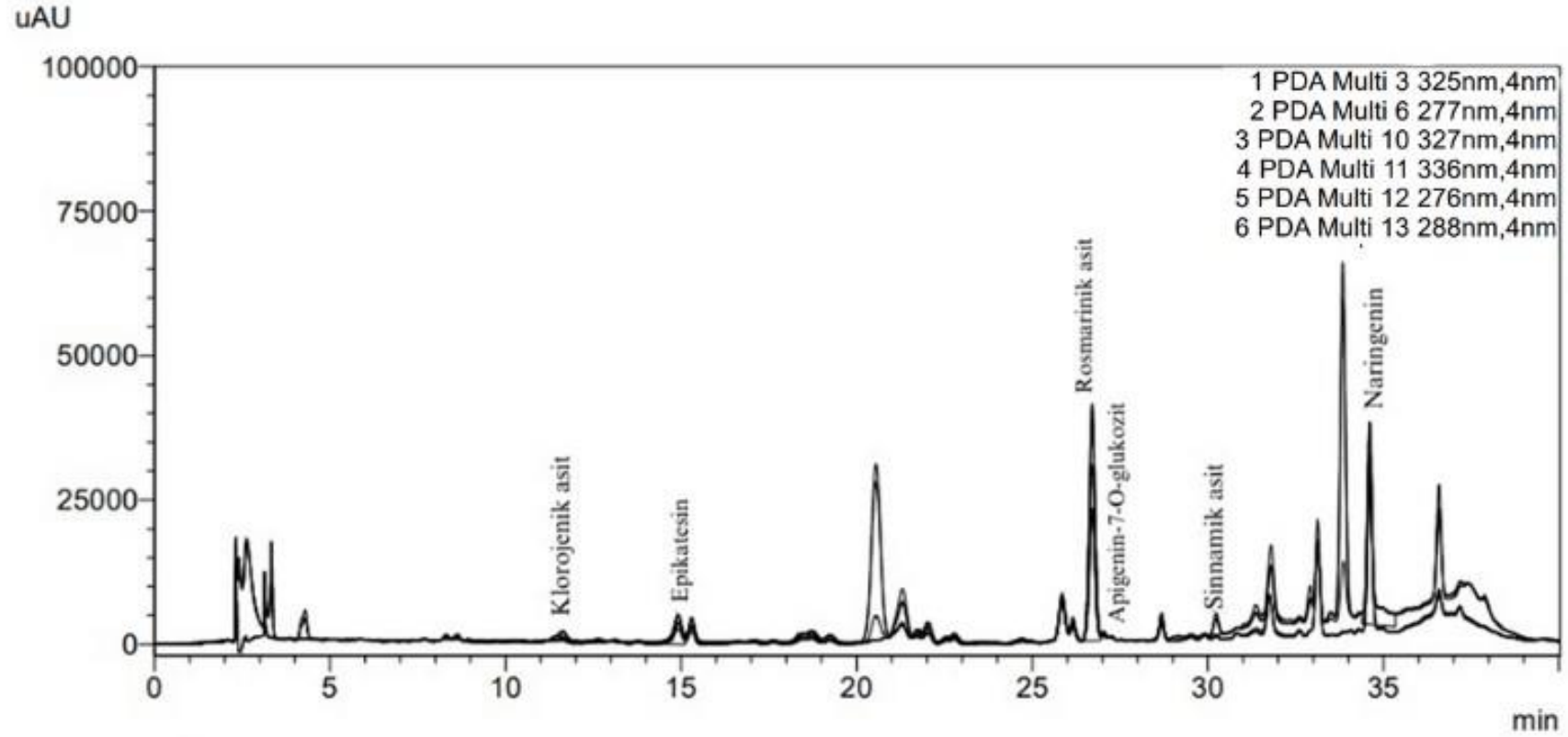
4.5.5. Ekstre Yüklü Emülel Formülasyonlarının Bulguları

O. majorana, *M. rotundifolia* ve *H. arenarium* subsp. *aucheri* bitkilerine ait etanol ekstreleri, bu bitkilerin eşit oranda karışımından elde edilen etanol ekstresi ve ayrıca üç bitki ekstresi ayrı ayrı elde edikten sonra eşit oranda karıştırılarak emüljel formülasyonlarına yüklendi. Elde edilen emüljellere ait HPLC-DAD analizi sonucu Tablo 4.9’da sunuldu. Boş jel formülasyonuna da HPLC-DAD analizi yapıldı ve herhangi bir fenolik bileşik saptanmadı, sonuç Şekil 4.27’de verildi.

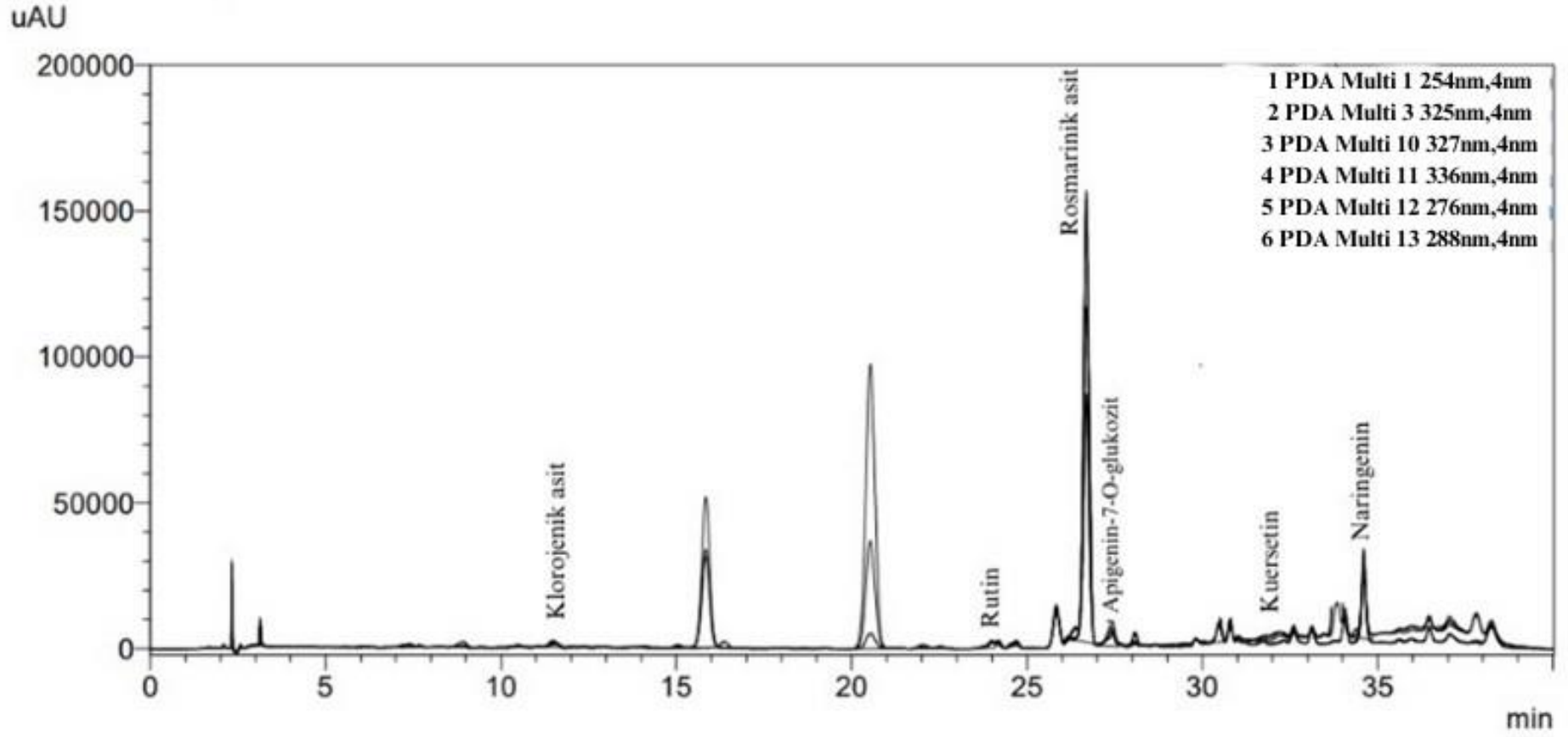
mAU



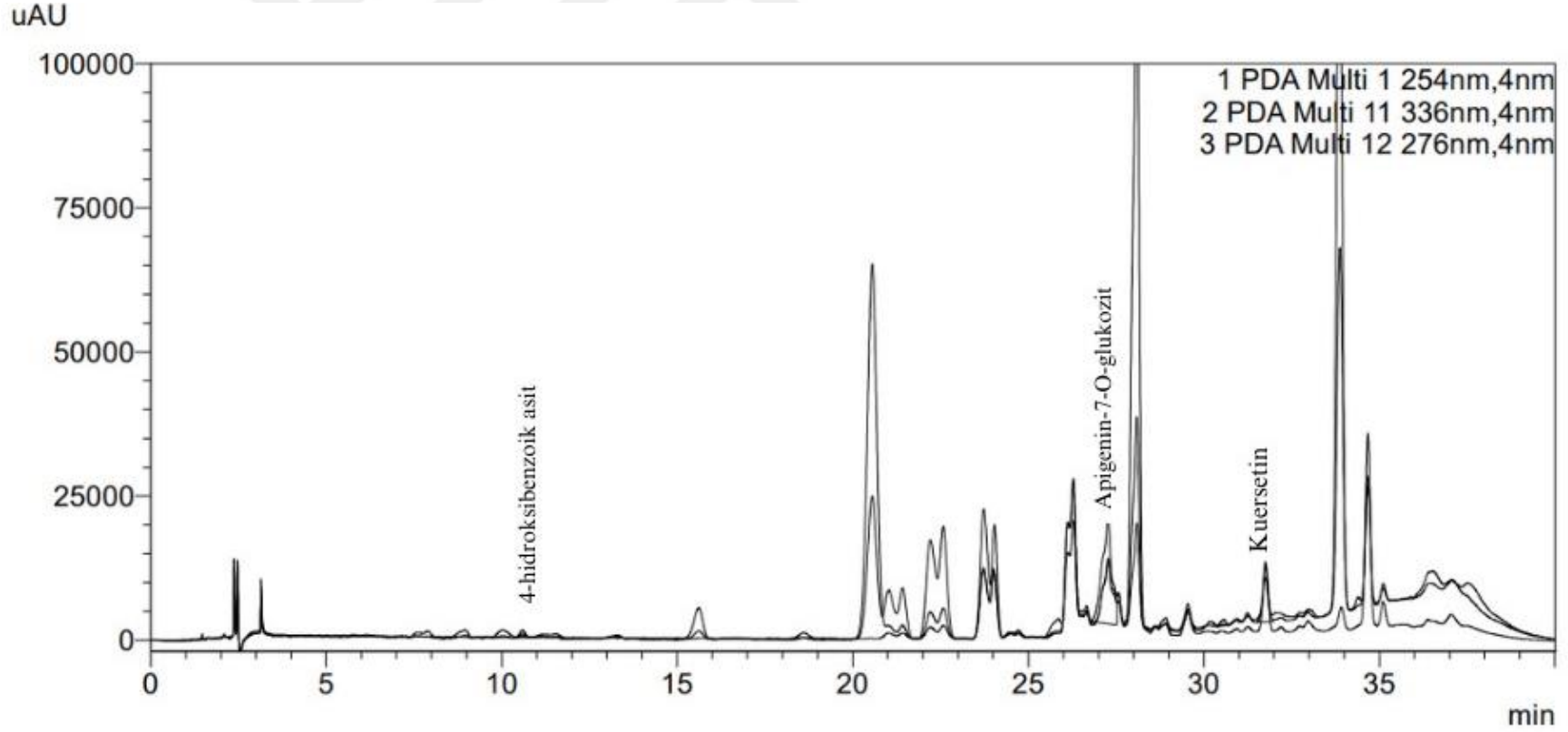
Şekil 4.27: Boş jel formülasyonuna ait HPLC kromatogramı



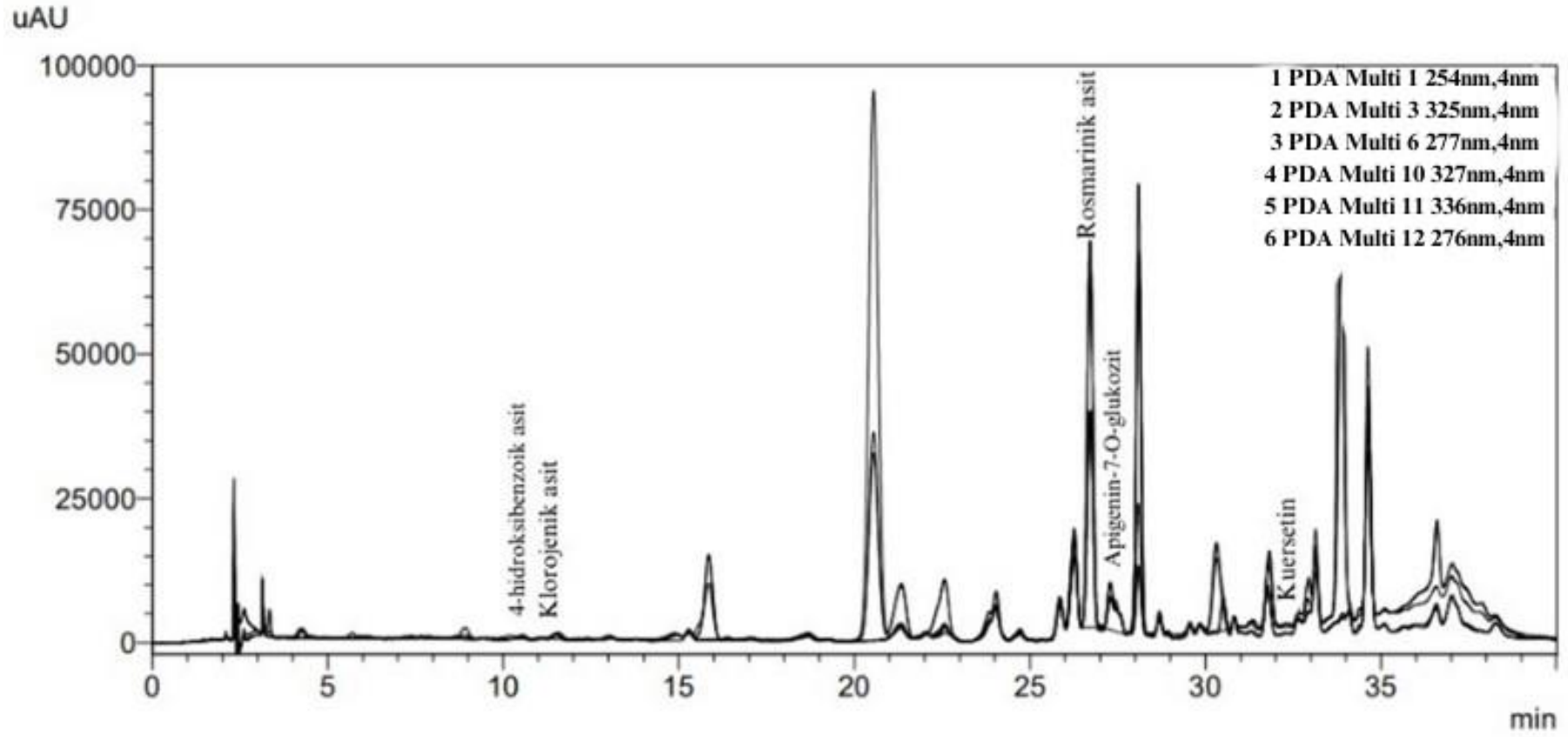
Şekil 4.28: *O. majorana* etanol ekstresi yüklü emüljel formülasyonuna ait HPLC kromatogramı



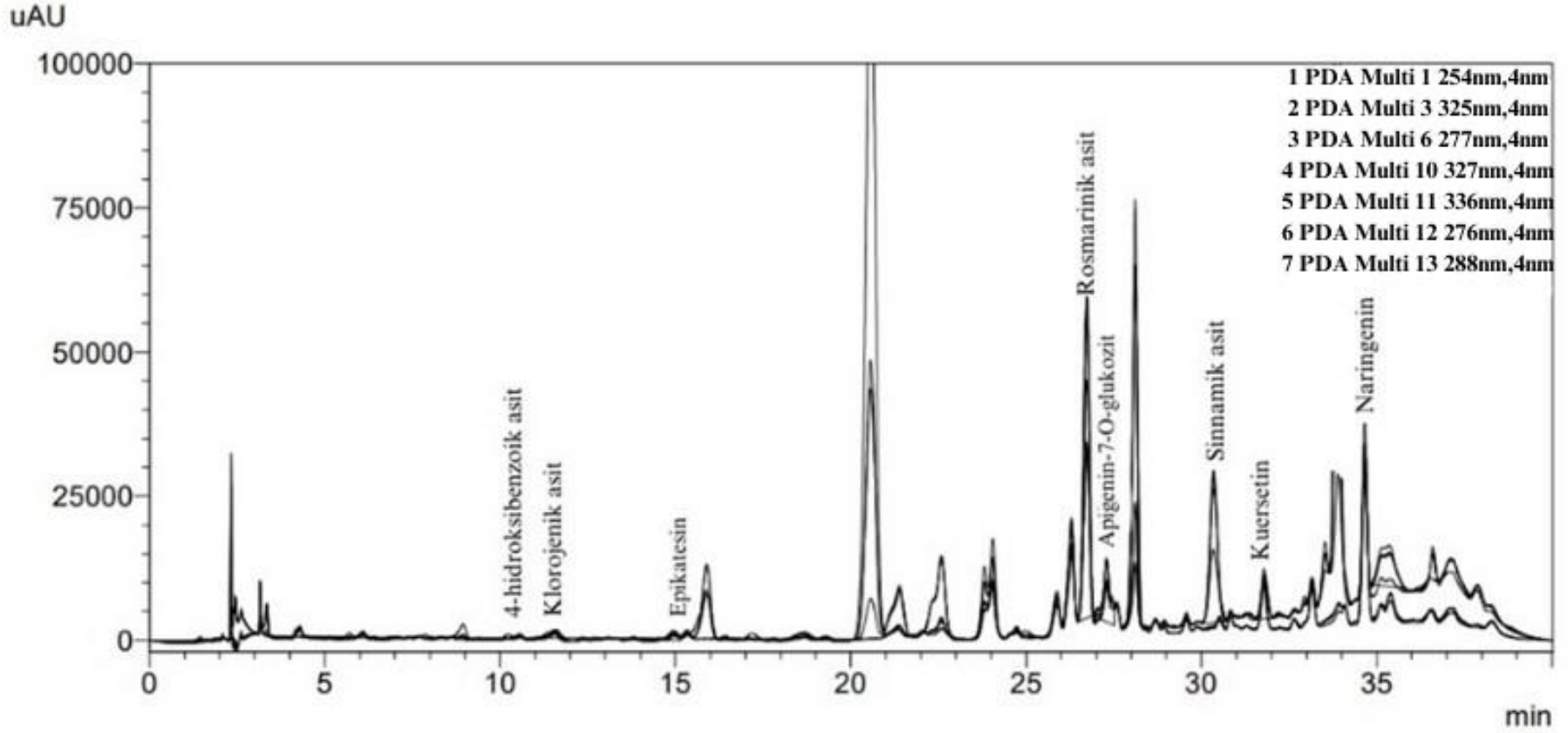
Şekil 4.29: *M. rotundifolia* etanol ekstresi yüklü emüljel formülasyonuna ait HPLC kromatogramı



Şekil 4.30: *H. arenarium* subsp. *aucheri* etanol ekstresi yüklü emüljel formülasyonuna ait HPLC kromatogramı



Şekil 4.31: KR etanol ekstresi yüklenen emüljele ait HPLC kromatogramı



Şekil 4.32: Üç bitki ekstresini eşit oranda içeren emüljele (HJ) ait HPLC kromatogramı

O. majorana, *M. rotundifolia* etanol ekstreleri yüklü emüljeller (sırasıyla OMJ ve MRJ) ve *O. majorana*, *M. rotundifolia* ve *H. arenarium* subsp. *aucheri* bitkilerinin eşit oranda karışımdan elde edilen etanol ekstresi yüklü emüljel (KRJ) ve bu üç bitki ekstresini eşit oranda içeren emüljelin (HJ) içeriğinde ana fenolik bileşik rosmarinik asit olarak saptandı. Çözücü olarak etanol ile hazırlanan OM, MR ve KR ekstrelerinde de ana bileşik rosmarinik asit olarak saptanmıştı (Tablo 4.5, Tablo 4.6, Tablo 4.8). *H. arenarium* subsp. *aucheri* etanol ekstresi yüklü jelde (HAJ) ise *H. arenarium* subsp. *aucheri* etanol ekstresinde olduğu gibi ana fenolik bileşik apigenin-7-glikozit olarak bulundu. HA-EtOH da apigenin-7-glikozit konsantrasyonu 8,891 mg/g ekstre olarak hesaplanırken (Tablo 4.8), HAJ için apigenin-7-glikozit konsantrasyonu 2,571 mg/g jel olarak hesaplandı (Tablo 4.9). OMJ’ de en az miktarda bulunan fenolik bileşik sinamik asit olarak (0,105 mg/g jel) bulunurken, MRJ’de kuersetin (0,124 mg/g jel), HAJ, KRJ ve HJ’de 4-hidroksibenzoik asit (sırasıyla 0,069 mg/g jel, 0,042 mg/g jel ve 0,058 mg/g jel) olarak bulundu (Tablo 4.9). Emüljellere ait HPLC-DAD analiz sonuçları değerlendirildiğinde, ekstrelerin ve ekstre yüklü emüljellerin fenolik içeriklerinin birbirleriyle uyumlu olduğu saptandı. Bu sonuca göre ekstrelerin emüljellere başarılı bir şekilde yüklendiği belirlendi.

Tablo 4.9: Ekstre yüklü jellere ait HPLC-DAD analizi

	Standart madde	OMJ (Konsantrasyon)	MRJ (Konsantrasyon)	HAJ (Konsantrasyon)	KRJ (Konsantrasyon)	HJ (Konsantrasyon)	Birim
1	4-hidroksibenzoik asit	0,000	0,000	0,069	0,042	0,058	mg/g jel
2	Klorojenik asit	0,000	0,246	0,000	0,216	0,297	mg/g jel
3	Epikateşin	2,828	0,000	0,000	1,166	0,801	mg/g jel
4	Rutin	0,000	0,537	0,000	0,000	0,000	mg/g jel
5	Rosmarinik asit	14,321	63,878	0,000	23,195	19,189	mg/g jel
6	Apigenin-7-glikozit	0,007	0,515	2,571	1,046	1,038	mg/g jel
7	Sinnamik asit	0,105	0,000	0,000	1,01	1,517	mg/g jel
8	Kuersetin	0,000	0,124	1,145	0,078	1,024	mg/g jel
9	Naringenin	3,576	2,447	0,000	0,000	1,857	mg/g jel

4.6. TİROZİNİZ İNHİBİSYON ETKİNLİK SONUÇLARI

O. majorana, *H. arenarium* subsp. *aucheri* ve *M. rotundifolia* türlerinden hazırlanan ekstrelerin ve bu bitki türlerine ait etanol ekstresi yüklenen emüljellerin antitirozinaz etkinlikleri, tirozinaz enziminin inhibisyonu ile belirlendi. Standart madde olarak kojik asit (KA) kullanıldı.

Her bir bitkinin farklı polaritelerdeki çözücüler ile elde edilen ekstrlerinin tirozinaz inhibisyon etkinlikleri incelenerek karşılaştırıldı. Ayrıca, etanol ekstrlerinin bireysel olarak yüklendiği jeller ve her bir etanol ekstresinin eşit oranda yüklediği jelin (HJ) etkinliği de saptanarak, ekstrlerinin etkinlikleri ile karşılaştırıldı. Sonuçlar Tablo 4.10'da sunuldu.

En yüksek tirozinaz inhibisyon etkinliği *O. majorana* etanol ekstresinde saptanırken ($\%28,14 \pm 0,74$); *H. arenarium* subsp. *aucheri* etanol ve su ekstrlerinde etkinlik saptanmadı (Tablo 4.12). KR'nin antitirozinaz etkinliği ise $\%17,22 \pm 0,43$ inhibisyon ile MR etanol ekstresinden ($\%9,25 \pm 0,32$ inhibisyon) üstün bulundu.

Emüljellere ait tirozinaz inhibisyonu sonucuna göre ise en yüksek etkinlik $\%19,75 \pm 0,61$ inhibisyon ile ekstrlerinin karışımı yüklenen jelde (KRJ) saptanırken; *O. majorana* etanol ekstresi yüklenen jel ($\%19,66 \pm 0,59$ inhibisyon) ile aralarında anlamlı fark saptanmadı ($p>0,05$). HAJ de ise tirozinaz inhibisyon etkinliği saptanmadı (Tablo 4.10).

Tablo 4.10: Ekstrelerin ve ekstre yüklü jellerin tirozinaz inhibisyonları

Bitki ismi	EtOH	EtAc	Su	KR	J	KRJ	HJ
<i>O. majorana</i> (1 mg/mL)	28,14 ± 0,74 ^a	Nd.	26,82 ± 0,16 ^a	17,22 ± 0,43 ^b	19,66 ± 0,59 ^c	19,75 ± 0,61 ^c	10,13 ± 0,06 ^d
<i>M. rotundifolia</i> (1 mg/mL)	9,25 ± 0,32 ^{ae}	10,72 ± 0,1 ^b	Nd.	17,22 ± 0,43 ^c	8,03 ± 0,01 ^a	19,75 ± 0,61 ^d	10,13 ± 0,06 ^e
<i>H. arenarium subsp. aucheri</i> (1 mg/mL)	Nd.	Nd.	16,38 ± 0,59 ^a	17,22 ± 0,43 ^a	Nd.	19,75 ± 0,61 ^b	10,13 ± 0,06 ^c
Kojik asit* (1 mg/mL)	76,19 ± 1,13	-	-				

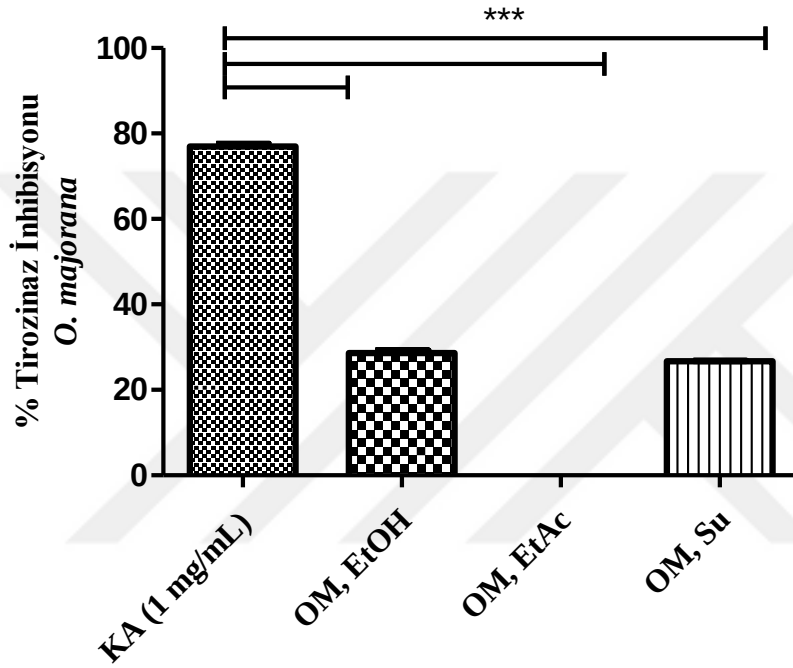
Nd: Saptanmadı.

Sonuçlar %inhibisyon olarak ifade edildi.

Aynı satırdaki farklı harfler anlamlı farklılığı temsil eder ($p < 0.05$).

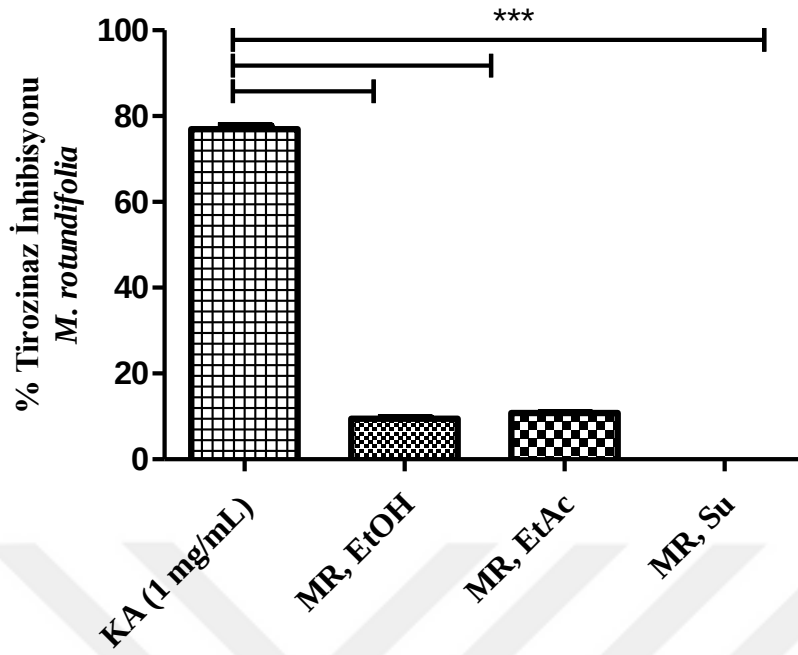
*Kojik asit, standart madde olarak kullanıldı.

O. majorana'nın farklı polaritelerdeki çözücüler ile hazırlanan ekstrelerinin antitirozinaz etkinliği değerlendirildiğinde en yüksek etkinlik $28,14 \pm 0,74$ ile etanol ekstresinde saptanırken, su ekstresi ile aralarında anlamı fark saptanmadı. Antitirozinaz etkinlik, standart olarak kullanılan kojik asitle ile karşılaştırıldığında, kojik asidin etkinliği üstün bulundu (Şekil 4.33).



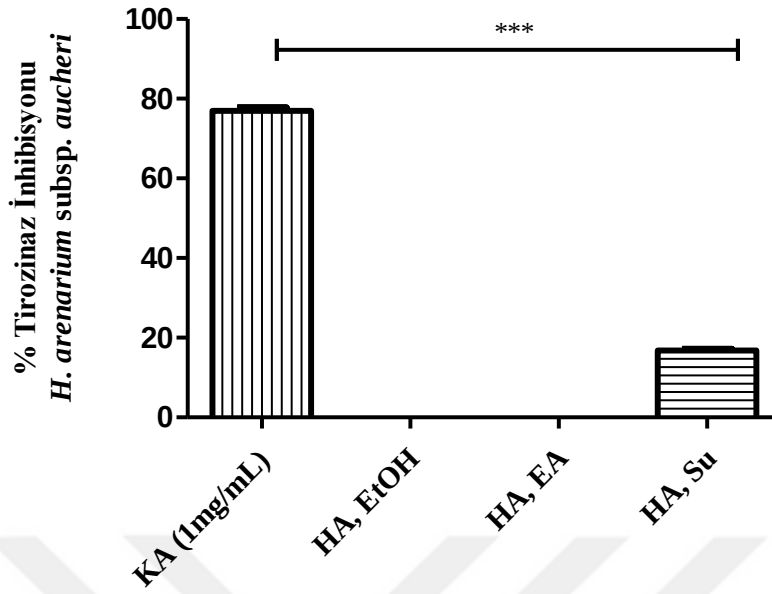
Şekil 4.33: *O. majorana*'nın farklı polaritede çözücülerle hazırlanan ekstrelerinin tirozinaz inhibisyonu

M. rotundifolia'nın farklı polaritelerdeki çözücüler ile hazırlanan ekstrelerinin antitirozinaz etkinliği değerlendirildiğinde en yüksek etkinlik $10,72 \pm 0,1$ ile *M. rotundifolia* etil asetat ekstresinde saptanırken, su ekstresinde etkinlik saptanmadı. Antitirozinaz etkinlik, standart olarak kullanılan kojik asitle ile karşılaştırıldığında, kojik asidin etkinliği üstün bulundu (Şekil 4.34).



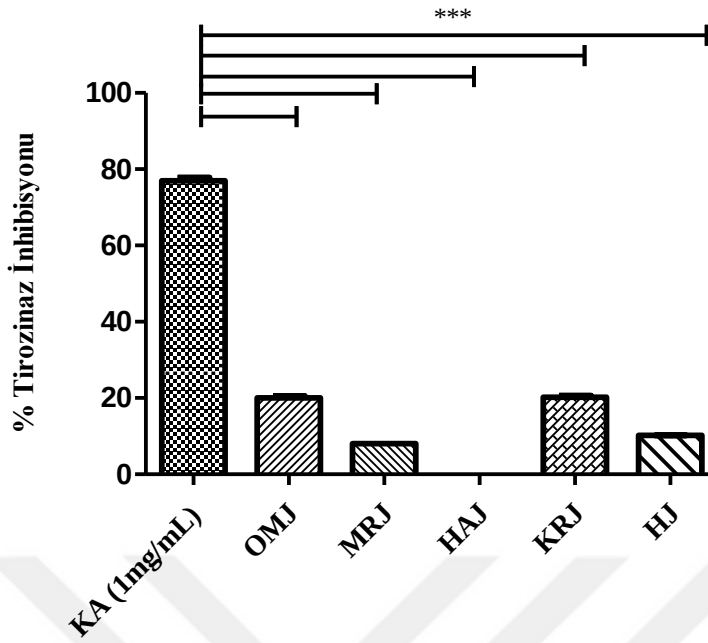
Şekil 4.34: *M. rotundifolia*’nin farklı polaritede çözücülerle hazırlanan ekstrelerinin tirozinaz inhibisyonu

H. arenarium subsp. *aucheri*’nin farklı polaritelerdeki çözücüler ile hazırlanan ekstrelerinin antitirozinaz etkinliği değerlendirildiğinde en yüksek etkinlik $16,38 \pm 0,59$ ile *H. arenarium* subsp. *aucheri* su ekstresinde saptanırken, etanol ve etil asetat ekstrelerinde etkinlik saptanmadı. Su ekstresinin antitirozinaz etkinliği, standart olarak kullanılan kojik asitle ile karşılaştırıldığında, kojik asidin etkinliği üstün bulundu ($p < 0,05$). Şekil 4.35’te *H. arenarium* subsp. *aucheri*’nin farklı polaritede çözücülerle hazırlanan ekstrelerinin tirozinaz inhibisyonu gösterildi.



Şekil 4.35: *H. arenarium subsp. aucheri* 'nin farklı polaritede çözücülerle hazırlanan ekstrelerinin tirozinaz inhibisyonu

Etanol ekstrelerinin bireysel olarak yüklendiği jeller, bitkilerin karışımının etanol ekstresi yüklenen jel (KRJ) ve her bir etanol ekstresinin eşit oranda yüklediği jelin (HJ) tirozinaz inhibisyon etkinliği değerlendirildiğinde en yüksek etkinlik $19,75 \pm 0,61$ inhibisyon ile KRJ'de saptanıp, OMJ ile aralarında anlamlı fark saptanmadı ($p < 0,0001$). HJ ile KRJ' nin etkinlikleri değerlendirildiğinde ise $19,66 \pm 0,59$ inhibisyon ile KRJ'nin etkinliği HJ'den ($10,13 \pm 0,06$) yüksek bulundu. HAJ de ise tirozinaz inhibisyon etkinlik saptanmazken, jellerin tirozinaz inhibisyon etkinlikleri çoktan aza doğru sırasıyla KRJ, OMJ, HJ, MRJ ve HAJ olarak saptandı (Şekil 4.36).



Şekil 4.36: Emüljellere ait tirozinaz inhibisyonu

4.7. ELASTAZ İNHİBİSYON ETKİNLİK SONUÇLARI

O. majorana, *H. arenarium* subsp. *aucheri* ve *M. rotundifolia* türlerinden hazırlanan ekstrelerin ve bu bitki türlerine ait etanol ekstresi yüklenen emüljellerin antielastaz etkinlikleri, elastaz enziminin inhibisyonu ile belirlendi. Standart olarak epigallokateşingallat kullanıldı.

Her bir bitkinin farklı polaritelerdeki çözücüler ile elde edilen ekstrlerinin elastaz inhibisyon etkinlikleri incelenerek karşılaştırıldı. Ayrıca, etanol ekstrlerinin bireysel olarak yüklendiği jeller ve her bir etanol ekstresinin eşit oranda yüklediği jelin (HJ) etkinliği de saptanarak, ekstrlerinin etkinlikleri ile karşılaştırıldı. Sonuçlar Tablo 4.11’de sunuldu.

En yüksek etkinlik $49,83 \pm 1,11$ inhibisyon ile *O. majorana* su ekstresinde saptanırken; en düşük etkinlik $20,81 \pm 0,8$ inhibisyon ile *M. rotundifolia* su ekstresinde saptandı (Tablo 4.11). *H. arenarium* subsp. *aucheri* etanol ve etil asetat ekstrlerinde ise etkinlik saptanmadı (Tablo 4.11). Jellere ait elastaz inhibisyonu sonucuna göre ise en yüksek etkinlik $57,78 \pm 0,13$ inhibisyon ile MRJ’ de saptanırken; en düşük aktivite ise $16,47 \pm 0,09$ inhibisyon ile HJ’ de saptandı.

Tablo 4.11: Ekstrelerin ve ekstre yüklü jellerin elastaz inhibisyonları

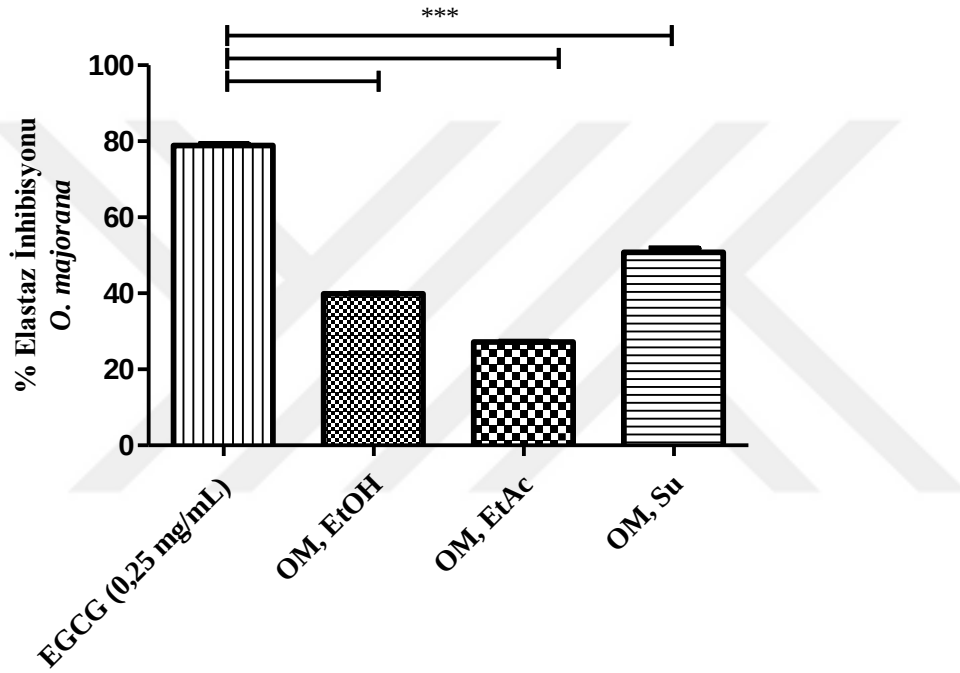
Bitki ismi	EtOH	EtAc	Su	KR	DJ	DJ-KR	DJ-H
<i>O. majorana</i> (1 mg/mL) (	39,81 ± 0,79 ^a	27,03 ± 0,17 ^b	49,83 ± 1,11 ^c	45,88 ± 0,30 ^d	30,85 ± 0,28 ^e	37,71 ± 0,17 ^f	16,47 ± 0,09 ^g
<i>M. rotundifolia</i> (1 mg/mL)	28,87 ± 1,58 ^a	10,60 ± 0,12 ^b	20,81 ± 0,8 ^c	45,88 ± 0,30 ^d	57,78 ± 0,13 ^e	37,71 ± 0,17 ^f	16,47 ± 0,09 ^g
<i>H. arenarium</i> subsp. <i>aucheri</i> (1 mg/mL)	Nd.	Nd.	38,68 ± 0,6 ^a	45,88 ± 0,30 ^b	Nd.	37,71 ± 0,17 ^c	16,47 ± 0,09 ^d
EGCG* (0,25 mg/mL)	78,63 ± 0,32	-	-				

Nd: Saptanmadı.

Sonuçlar %inhibisyon olarak ifade edildi.

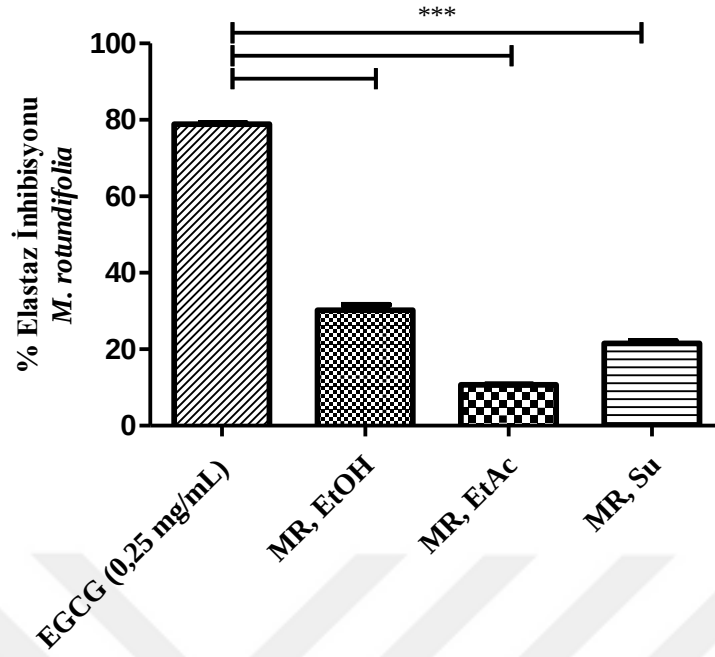
*EGCG: Epigallakateşingallat, standart madde olarak kullanıldı.

O. majorana'nın farklı polaritelerdeki çözücüler ile hazırlanan ekstrelerinin antielastaz etkinliği değerlendirildiğinde en yüksek etkinlik $49,83 \pm 1,11$ ile su ekstresinde saptanırken, su ekstresinin etkinliğini $39,81 \pm 0,79$ inhibisyon ile etanol ekstresi izledi. Anti-elastaz etkinlik, standart madde olarak kullanılan epigallakateşingallat ile karşılaştırıldığında, standart maddenin etkinliği *O. majorana* ekstrelerinden üstün bulundu (Şekil 4.37) ($p < 0,05$).



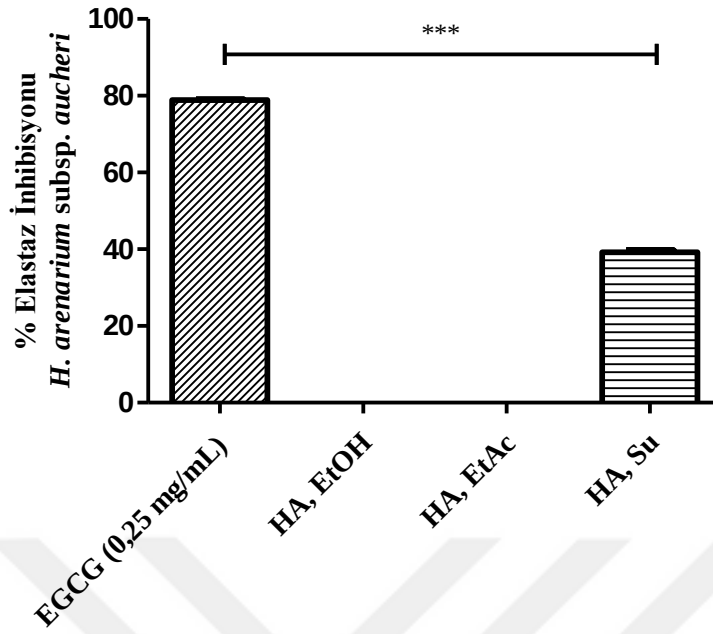
Şekil 4.37: *O. majorana*'nın farklı polaritede çözücülerle hazırlanan ekstrelerinin elastaz inhibisyonu

M. rotundifolia'nın farklı polaritelerdeki çözücüler ile hazırlanan ekstrelerinin antielastaz etkinliği değerlendirildiğinde en yüksek etkinlik $28,14 \pm 0,74$ inhibisyon ile etanol ekstresinde saptanırken, en düşük etkinlik $10,60 \pm 0,12$ inhibisyon ile etil asetat ekstresinde saptandı. Su ekstresine ait antielastaz etkinlik ise $20,81 \pm 0,8$ inhibisyon olarak hesaplandı. Anti-elastaz etkinlik, standart madde olarak kullanılan epigallakateşingallat ile karşılaştırıldığında, standart maddenin etkinliği *M. rotundifolia* ekstrelerinden üstün bulundu (Şekil 4.38) ($p < 0,05$).



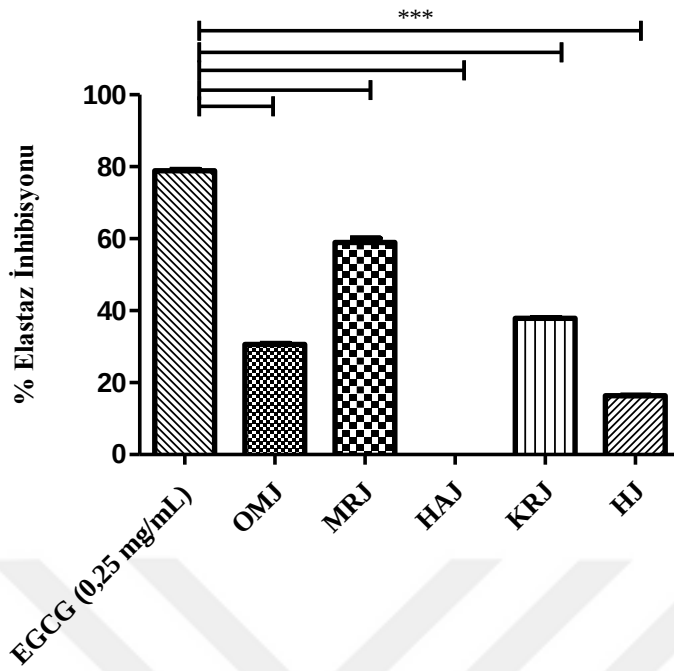
Şekil 4.38: *M. rotundifolia*’nın farklı polaritede çözücülerle hazırlanan ekstrelerinin elastaz inhibisyonu

H. arenarium subsp. *aucheri*’nin farklı polaritelerdeki çözücüler ile hazırlanan ekstrelerinin antielastaz etkinliği değerlendirildiğinde, etkinlik $38,68 \pm 0,61$ inhibisyon su ekstresinde saptanırken, diğer çözücüler ile hazırlanan ekstrelerde etkinlik saptanmadı. Anti-elastaz etkinliği, standart madde olarak kullanılan epigallakateşingallat ile karşılaştırıldığında, standart maddenin etkinliği *H. arenarium* subsp. *aucheri* ekstrelerinden üstün bulundu (Şekil 4.39) ($p < 0,05$).



Şekil 4.39: *H. arenarium subsp. aucheri* 'nin farklı polaritede çözücülerle hazırlanan ekstrelerinin elastaz inhibisyonu

Etanol ekstrelerinin bireysel olarak yüklendiği jeller, bitkilerin karışımının etanol ekstresi yüklenen jel (KRJ) ve her bir etanol ekstresinin eşit oranda yüklediği jelin (HJ) elastaz inhibisyon etkinliği değerlendirildiğinde en yüksek etkinlik $57,78 \pm 0,13$ inhibisyon ile MRJ'de saptanıp, HAJ de ise etkinlik saptanmadı. HJ ile KRJ' nin etkinlikleri değerlendirildiğinde ise $37,71 \pm 0,17$ inhibisyon ile KRJ'nin etkinliği HJ'den ($16,47 \pm 0,09$ inhibisyon) yüksek bulundu. HAJ de ise elastaz inhibisyon etkinlik saptanmazken, jellerin elastaz inhibisyon etkinlikleri çoktan aza doğru sırasıyla MRJ, KRJ, OMJ, HJ, ve HAJ olarak saptandı. Sonuçlar Şekil 4.40' da verildi.



Şekil 4.40: Emüljellere ait elastaz inhibisyonu

4.8. KOLAJENAZ İNHİBİSYON ETKİNLİK SONUÇLARI

O. majorana, *H. arenarium* subsp. *aucheri* ve *M. rotundifolia* türlerinden hazırlanan ekstrelerin ve bu bitki türlerine ait etanol ekstresi yüklenen emüljellerin antikolajenaz etkinlikleri, kolajenaz enziminin inhibisyonu ile belirlendi. Standart olarak epigallokateşingallat kullanıldı.

Her bir bitkinin farklı polaritelerdeki çözücüler ile elde edilen ekstrelerinin kolajenaz inhibisyon etkinlikleri incelenerek karşılaştırıldı. Ayrıca, etanol ekstrelerinin bireysel olarak yüklendiği jeller ve her bir etanol ekstresinin eşit oranda yüklediği jelin (HJ) etkinliği de saptanarak, ekstrelerin etkinlikleri ile karşılaştırıldı. Sonuçlar Tablo 4.12’de sunuldu.

En yüksek etkinlik $63,91 \pm 0,40$ inhibisyon ile *M. rotundifolia* etanol ekstresinde (MR) saptanırken; en düşük etkinlik $20,02 \pm 0,51$ inhibisyon ile *O. majorana* su ekstresinde saptandı. KR’nin antikolajenaz etkinliği ise $58,18 \pm 0,41$ inhibisyon ile OM ve HA etanol ekstrelerinden (sırasıyla $20,19 \pm 0,46$ ve $46,04 \pm 1,21$ inhibisyon) üstün bulundu (Tablo 4.12). Emüljellere ait elastaz inhibisyonu sonucuna göre ise en yüksek etkinlik $28,95 \pm 0,08$ inhibisyon ile *M. rotundifolia* etanol ekstresi

yüklü emülgelde saptanırken; en düşük etkinlik ise $18,48 \pm 0,19$ inhibisyon ile *O. majorana* etanol ekstresi yüklü emülgelde saptandı (Tablo 4.12). Emülgellere ait elastaz inhibisyonu sonucu çoktan aza doğru sırasıyla; MRJ, HAJ, KRJ, HJ ve OMJ olarak saptandı (Tablo 4.12). Sonuçlar standart olarak kullanılan EGGC ($51,85 \pm 1,8$ inhibisyon) ile karşılaştırıldığında, standart maddenin elastaz inhibisyonu, emülgellerin elastaz inhibisyonundan üstün bulundu ($p < 0,05$).



Tablo 4.12: Ekstrelerin ve ekstre yüklü jellerin anti-kolajenez aktivitesi

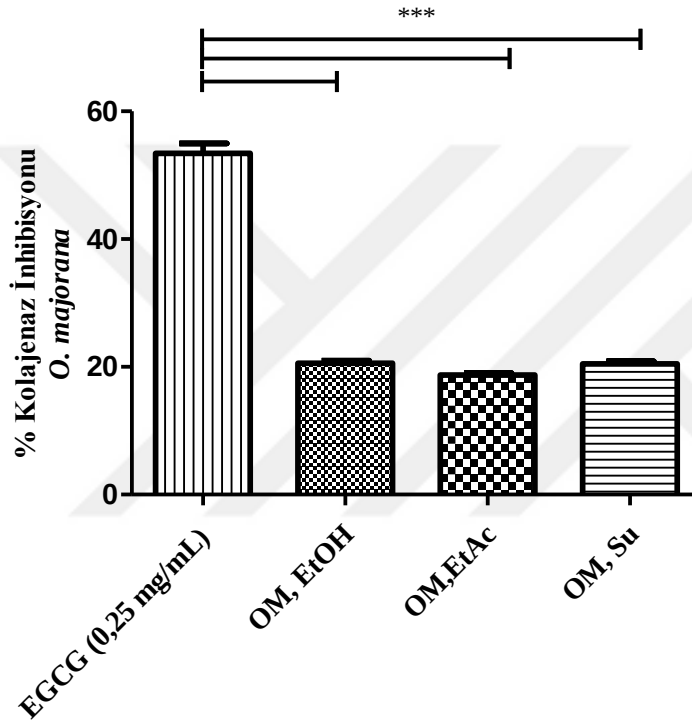
Bitki ismi	EtOH	EtAc	Su	KR	DJ	DJ-KR	DJ-H
<i>O. majorana</i> (1 mg/mL)	20,19 ± 0,46 ^a	18,41 ± 0,37 ^a	20,02 ± 0,51 ^a	58,18 ± 0,41 ^b	18,48 ± 0,19 ^a	19,45 ± 0,96 ^a	19,44 ± 0,87 ^a
<i>M. rotundifolia</i> (1 mg/mL)	63,91 ± 0,40 ^a	25,63 ± 0,35 ^b	35,98 ± 0,49 ^c	58,18 ± 0,41 ^d	28,95 ± 0,08 ^e	19,45 ± 0,96 ^f	19,44 ± 0,87 ^f
<i>H. arenarium</i> subsp. <i>aucheri</i> (1 mg/mL)	46,04 ± 1,21 ^a	26,79 ± 0,01 ^b	53,56 ± 0,41 ^c	58,18 ± 0,41 ^d	27,89 ± 1,26 ^b	19,45 ± 0,96 ^e	19,44 ± 0,87 ^e
EGCG* (0,25 mg/mL)	51,85 ± 1,8	-	-				
EGCG* (0,5 mg/mL)	81,87 ± 2,57						

Nd: Saptanmadı.

Sonuçlar %inhibisyon olarak ifade edildi.

*EGCG: Epigallakateşingallat, standart madde olarak kullanıldı.

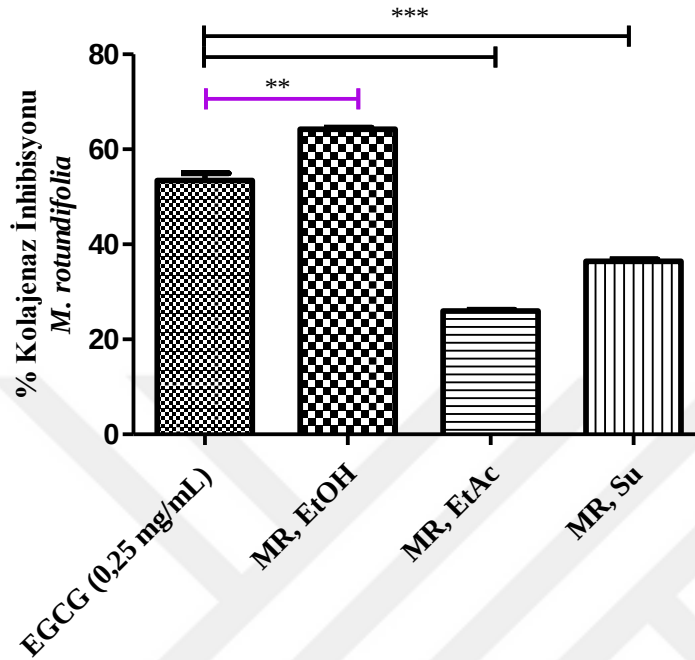
O. majorana'nın farklı polaritelerdeki çözücüler ile hazırlanan ekstrelerinin antikolajenaz etkinliği değerlendirildiğinde en yüksek etkinlik $20,19 \pm 0,46$ ile etanol ekstresinde saptanırken; en düşük etkinlik $18,41 \pm 0,37$ inhibisyon ile etil asetat ekstresinde saptandı. Antikolajenaz etkinlik, standart madde olarak kullanılan epigallakateşingallat ile karşılaştırıldığında, standart maddenin etkinliği *O. majorana* ekstrelerinden üstün bulundu (Şekil 4.41).



Şekil 4.41: *O. majorana*'nın farklı polaritede çözücülerle hazırlanan ekstrelerinin kolajenaz inhibisyonu

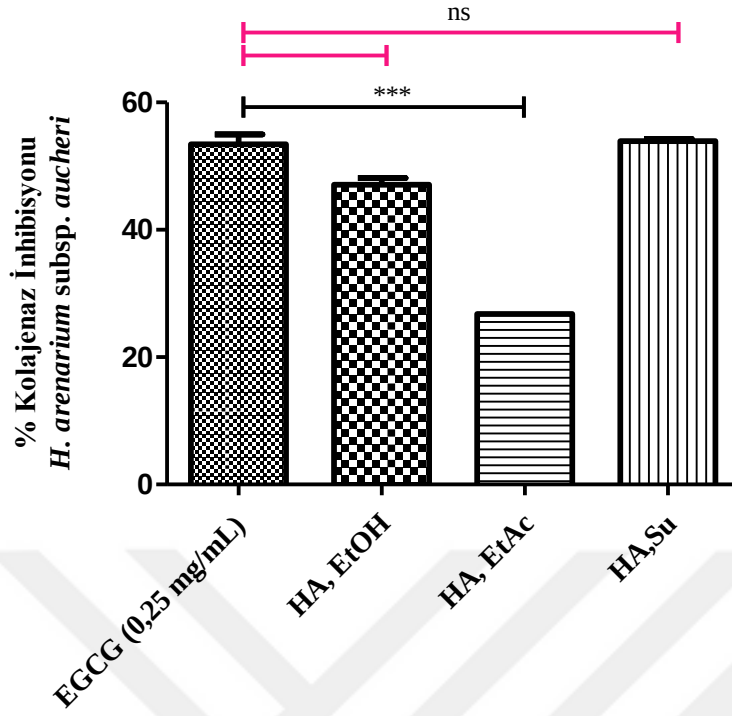
M. rotundifolia'nın farklı polaritelerdeki çözücüler ile hazırlanan ekstrelerinin antikolajenaz etkinliği değerlendirildiğinde en yüksek etkinlik $63,91 \pm 0,40$ inhibisyon ile etanol ekstresinde saptanırken, en düşük etkinlik $25,63 \pm 0,35$ inhibisyon ile etil asetat ekstresinde saptandı. Kolajenaz inhibisyon etkinliği, standart madde olarak kullanılan epigallakateşingallat ile karşılaştırıldığında, *M. rotundifolia* etanol ekstresinin etkinliği ($63,91 \pm 0,40$ inhibisyon) 0,25 mg/mL konsantrasyondaki epigallakateşingallatın etkinliğinden ($51,85 \pm 1,8$ inhibisyon) üstün bulundu (Şekil

4.42). Antikolajenaz etkinlik çoktan aza doğru sırasıyla; MR etanol, EGCG, MR su ve MR etil asetat olarak bulundu (Şekil 4.42).



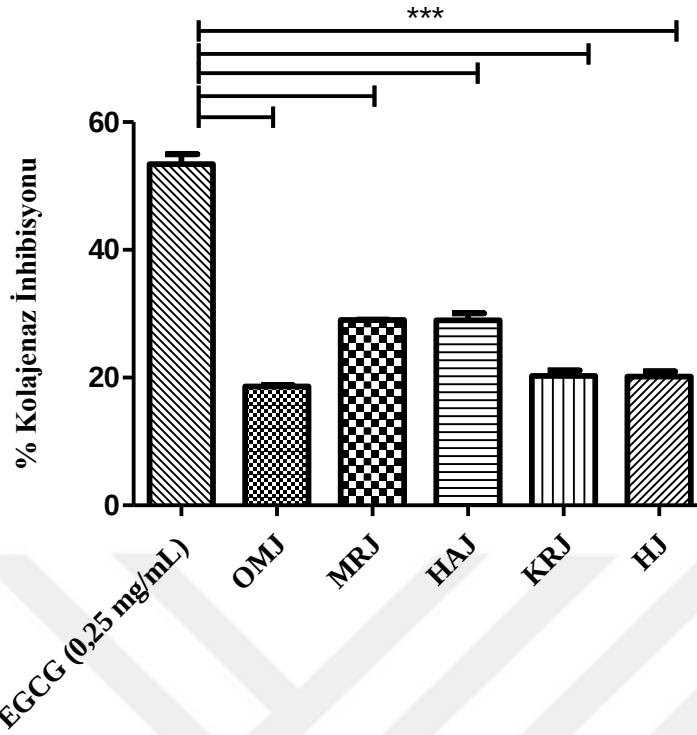
Şekil 4.42: *M. rotundifolia*’nin farklı polaritede çözücülerle hazırlanan ekstrelerinin kolajenaz inhibisyonu

H. arenarium subsp. *aucheri*’nin farklı polaritelerdeki çözücüler ile hazırlanan ekstrelerinin antikolajenaz etkinliği değerlendirildiğinde, etkinlik $53,56 \pm 0,41$ inhibisyon su ekstresinde saptanırken, onu $46,04 \pm 1,21$ inhibisyon ile etanol ekstresi izledi. En az etkinlik $26,79 \pm 0,01$ inhibisyon ile su ekstresinde saptandı. Antikolajenaz etkinlik, standart madde olarak kullanılan epigallakateşingallat ile karşılaştırıldığında, EGCG’nin etkinliği HA etanol ve etil asetat ekstrelerinden üstün bulundu (Şekil 4.43). EGCG ile HA etanol ve HA su ekstreleri antikolajenaz etkinliği arasında anlamlı bir fark saptanmadı ($p>0,05$).



Şekil 4.43: *H. arenarium* subsp. *aucheri* 'nin farklı polaritede çözücülerle hazırlanan kolajenaz inhibisyonu

Etanol ekstralarının bireysel olarak yüklendiği jeller, bitkilerin karışımının etanol ekstresi yüklenen jel (KRJ) ve her bir etanol ekstresinin eşit oranda yüklediği jelin (HJ) kolajenaz inhibisyon etkinliği değerlendirildiğinde en yüksek etkinlik $28,95 \pm 0,08$ inhibisyon ile MRJ'de saptanıp, en düşük etkinlik $18,48 \pm 0,19$ inhibisyon ile OMJ'de saptandı. HJ ile KRJ' nin etkinlikleri değerlendirildiğinde ise $19,45 \pm 0,96$ ve $19,44 \pm 0,87$ inhibisyon ile oldukça benzer bulundu. Emüljellerin kolajenaz inhibisyon etkinlikleri çoktan aza doğru sırasıyla MRJ, HAJ, KRJ, HJ ve OMJ olarak saptandı (Şekil 4.44).



Şekil 4.44: Emüljellere ait kolajenaz inhibisyonu

4.9. HYALURONİDAZ İNHİBİSYON ETKİNLİK SONUÇLARI

O. majorana, *H. arenarium* subsp. *aucheri* ve *M. rotundifolia* türlerinden hazırlanan ekstrelerin ve bu bitki türlerine ait etanol ekstresi yüklenen emüljellerin antihyaluronidaz etkinlikleri, hyaluronidaz enziminin inhibisyonu ile belirlendi. Standart olarak tannik asit kullanıldı.

Her bir bitkinin farklı polaritelerdeki çözücüler ile elde edilen ekstrelerinin hyaluronidaz inhibisyon etkinlikleri incelenerek karşılaştırıldı. Ayrıca, etanol ekstrelerinin bireysel olarak yüklendiği jeller ve her bir etanol ekstresinin eşit oranda yüklediği jelin etkinliği de saptanarak, ekstrelerin etkinlikleri ile karşılaştırıldı (Tablo 4.13).

En yüksek etkinlik $51,64 \pm 0,26$ inhibisyon ile *M. rotundifolia* etanol ekstresinde saptanırken; *H. arenarium* subsp. *aucheri* etanol ve etil asetat ekstrelerinde etkinlik saptanmadı. KR'nin antihyaluronidaz etkinliği ise $51,16 \pm 0,32$ inhibisyon ile *M. rotundifolia* etanol ekstresinden sonra en yüksek etkinlik olarak saptandı. Emüljellere ait hyaluronidaz inhibisyonu sonucuna göre ise en yüksek etkinlik $61,98 \pm 1,65$

inhibisyon ile *M. rotundifolia* etanol ekstresi yüklenen emüljelde saptanırken; en düşük etkinlik ise $36,02 \pm 0,52$ inhibisyon ile ekstrelerin (*O. majorana*, *H. arenarium* subsp. *aucheri* ve *M. rotundifolia* türlerinden hazırlanan) eşit oranda karışımı alınarak yüklenen emüljelde saptandı. Sonuçlar Tablo 4.13'te gösterildi. *H. arenarium* subsp. *aucheri* etanol ekstresi yüklenen emüljelde ise antihyaluronidaz etkinlik saptanmadı. Standart madde olarak kullanılan tannik asidin (1 mg/mL) ise hyaluronidaz inhibisyonu $80,6 \pm 0,59$ olarak bulundu. *O. majorana*, *H. arenarium* subsp. *aucheri* ve *M. rotundifolia* etil asetat, etanol, su ile hazırlanan ekstreleri ve etanol ile hazırlanan ekstrelerin yüklü olduğu emüljeller ile tannik asidin hyaluronidaz inhibisyonu karşılaştırıldığında, tannik asidin hyaluronidaz inhibisyonu üstün bulundu ($p < 0,05$).

Tablo 4.13: Ekstrelerin ve ekstre yüklü jellerin anti-hyaluronidaz aktivitesi

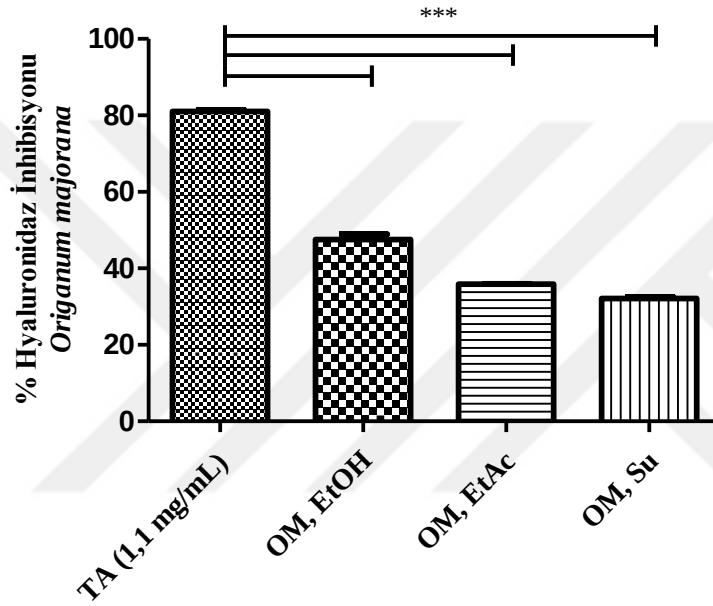
Bitki ismi	EtOH	EtAc	Su	KR	DJ	DJ-KR	DJ-H
<i>O. majorana</i> (1 mg/mL)	46,13 ± 1,97 ^a	35,79 ± 1,11 ^b	31,65 ± 0,65 ^c	51,16 ± 0,32 ^d	51,40 ± 0,65 ^{de}	53,89 ± 0,67 ^e	36,02 ± 0,52 ^b
<i>M. rotundifolia</i> (1 mg/mL)	51,64 ± 0,26 ^{ae}	31,45 ± 0,54 ^b	34,56 ± 0,95 ^c	51,16 ± 0,32 ^a	61,98 ± 1,65 ^d	53,89 ± 0,67 ^e	36,02 ± 0,52 ^c
<i>H. arenarium</i> subsp. <i>aucheri</i> (1 mg/mL)	Nd.	Nd.	9,14 ± 0,03 ^a	51,16 ± 0,32 ^b	Nd.	53,89 ± 0,67 ^c	36,02 ± 0,52 ^d
Tannik asit* (1 mg/mL)	80,6 ± 0,59 ^a	-	-				

Nd: Saptanmadı.

Sonuçlar %inhibisyon olarak ifade edildi.

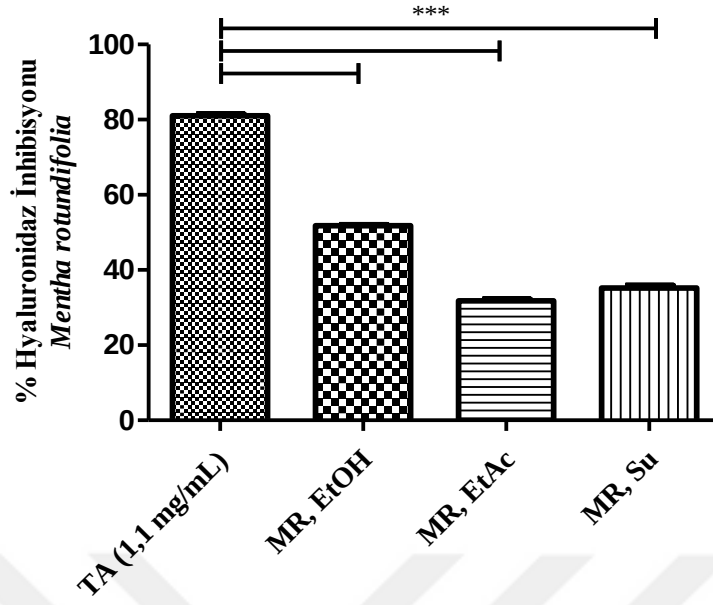
*Tannik asit standart madde olarak kullanıldı.

O. majorana'nın farklı polaritelerdeki çözücüler ile hazırlanan ekstralarının antikolajenaz etkinliği değerlendirildiğinde en yüksek etkinlik $46,13 \pm 1,97$ inhibisyon ile etanol ekstresinde saptanırken; en düşük etkinlik $31,65 \pm 0,65$ inhibisyon ile su ekstresinde saptandı. Antihiyaluronidaz etkinlik, standart madde olarak kullanılan tannik asit ile karşılaştırıldığında, tannik asidin etkinliği *O. majorana* ekstralarından üstün bulundu (Şekil 4.45) ($p < 0,05$).



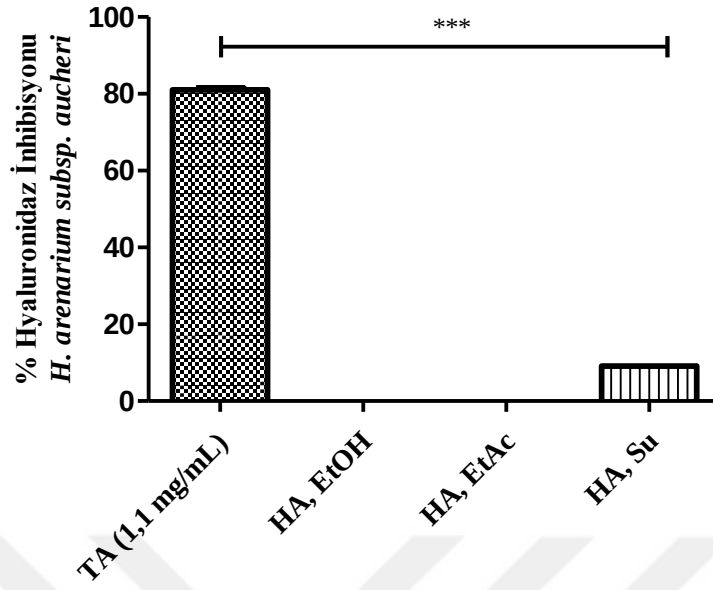
Şekil 4.45: *O. majorana*'nın farklı polaritede çözücülerle hazırlanan ekstralarının hyaluronidaz inhibisyonu

M. rotundifolia'nın farklı polaritelerdeki çözücüler ile hazırlanan ekstralarının antikolajenaz etkinliği değerlendirildiğinde en yüksek etkinlik $51,64 \pm 0,26$ inhibisyon ile etanol ekstresinde saptanırken; en düşük etkinlik $31,45 \pm 0,54$ inhibisyon ile etil asetat ekstresinde saptandı. Antihiyaluronidaz etkinlik, standart madde olarak kullanılan tannik asit ile karşılaştırıldığında, tannik asidin etkinliği *M. rotundifolia* ekstralarından üstün bulundu ($p < 0,05$). Sonuçlar Şekil 4.46' da verildi.



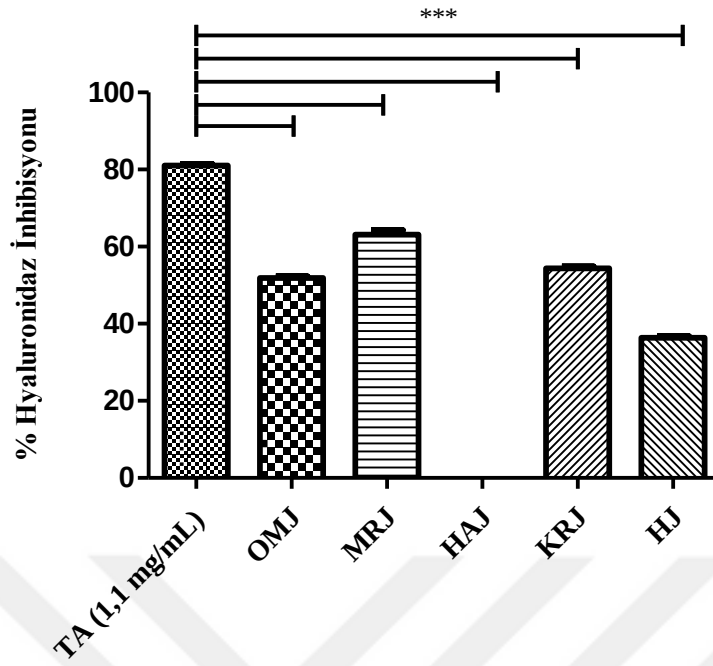
Şekil 4.46: *M. rotundifolia*’nın farklı polaritede çözücülerle hazırlanan ekstrelerinin hyaluronidaz inhibisyonu

H. arenarium subsp. *aucheri*’nin farklı polaritelerdeki çözücüler ile hazırlanan ekstrelerinin hyaluronidaz inhibisyonu değerlendirildiğinde su ekstresinde $9,14 \pm 0,03$ inhibisyon saptanırken, etanol ve etil asetat ekstrelerinde hyaluronidaz inhibisyonu bulunmadı. Anti-hyaluronidaz etkinlik, standart madde olarak kullanılan tannik asit ile karşılaştırıldığında, tannik asidin etkinliği *H. arenarium* subsp. *aucheri* su ekstresinden üstün bulundu ($p < 0,05$). Sonuçlar Şekil 4.47’ de verildi.



Şekil 4.47: *H. arenarium subsp. aucheri*' nin farklı polaritede çözücülerle hazırlanan ekstralarının hyaluronidaz inhibisyonu

Etanol ekstralarının bireysel olarak yüklendiği jeller, bitkilerin karışımının etanol ekstresi yüklenen jel ve her bir etanol ekstresinin eşit oranda yüklediği jelin hyaluronidaz inhibisyon etkinliği değerlendirildiğinde en yüksek etkinlik $61,98 \pm 1,65$ inhibisyon ile MRJ'de saptanıp, en düşük etkinlik $36,02 \pm 0,52$ inhibisyon ile HJ'de saptandı. HJ ile KRJ' nin etkinlikleri değerlendirildiğinde ise $53,89 \pm 0,67$ inhibisyon ile KRJ üstün bulundu. HAJ'de ise etkinlik saptanmadı. Emüljellerin hyaluronidaz inhibisyonu etkinlikleri çoktan aza doğru sırasıyla MRJ, KRJ, OMJ, HJ ve HAJ olarak saptandı (Şekil 4.38). Standart olarak kullanılan tannik asit ile emüljellerin antihyaluronidaz etkinliği kıyaslandığında tannik asit üstün bulundu (Şekil 4.48).



Şekil 4.48: Emüljellere ait hyaluronidaz inhibisyonu

4.10. JEL FORMÜLASYONLARININ ANALİZ SONUÇLARI

4.10.1. Formülasyonların pH ve Viskozite Ölçümü

Formülasyonların pH değerleri $5,500 \pm 0,100$ ile $6,437 \pm 0,055$ arasında bulundu. Deri'nin normalde pH değeri 4,0-6,5 arasında değişmektedir. Sonuçlara bakıldığında geliştirilen formülasyonların pH değerleri derinin pH değeri ile uyumluluk göstermekte olduğu saptandı. Sonuçlar Tablo 4.14'te gösterildi.

Formülasyonların viskozite ölçüm sonuçları Tablo 4.14'te gösterildi. Sonuçlar değerlendirildiğinde literatür ile uyumluluk göstermektedir (157). Hem viskozite hem de pH değerlerine bakıldığında formülasyonun deriye uygulanabilir olduğu belirlendi.

Tablo 4.14: Boş ve yüklü formülasyonların pH ve viskozite sonuçları

Formülasyon Kodu	pH $\pm$ SS	Viskozite (P) $\pm$ SS
J	$6,437 \pm 0,055$	$19,920 \pm 0,492$
OMJ	$5,573 \pm 0,031$	$19,640 \pm 0,174$
MRJ	$5,500 \pm 0,100$	$15,587 \pm 0,151$

Tablo 4.14 (devam)

H AJ	5,503 ± 0,006	16,493 ± 0,167
K RJ	5,523 ± 0,006	19,253 ± 0,140
H J	5,567 ± 0,006	16,467 ± 0,083

4.10.2. Formülasyonların Tekstür Profil Analizleri

Formülasyonlar Tablo 4.15’te sertlik, adeziflik, esneklik, koheziflik özellikleri açısından değerlendirildi. Şekil 4.49’da ise formülasyonların mekanik özelliklerinin grafikleri gösterildi.

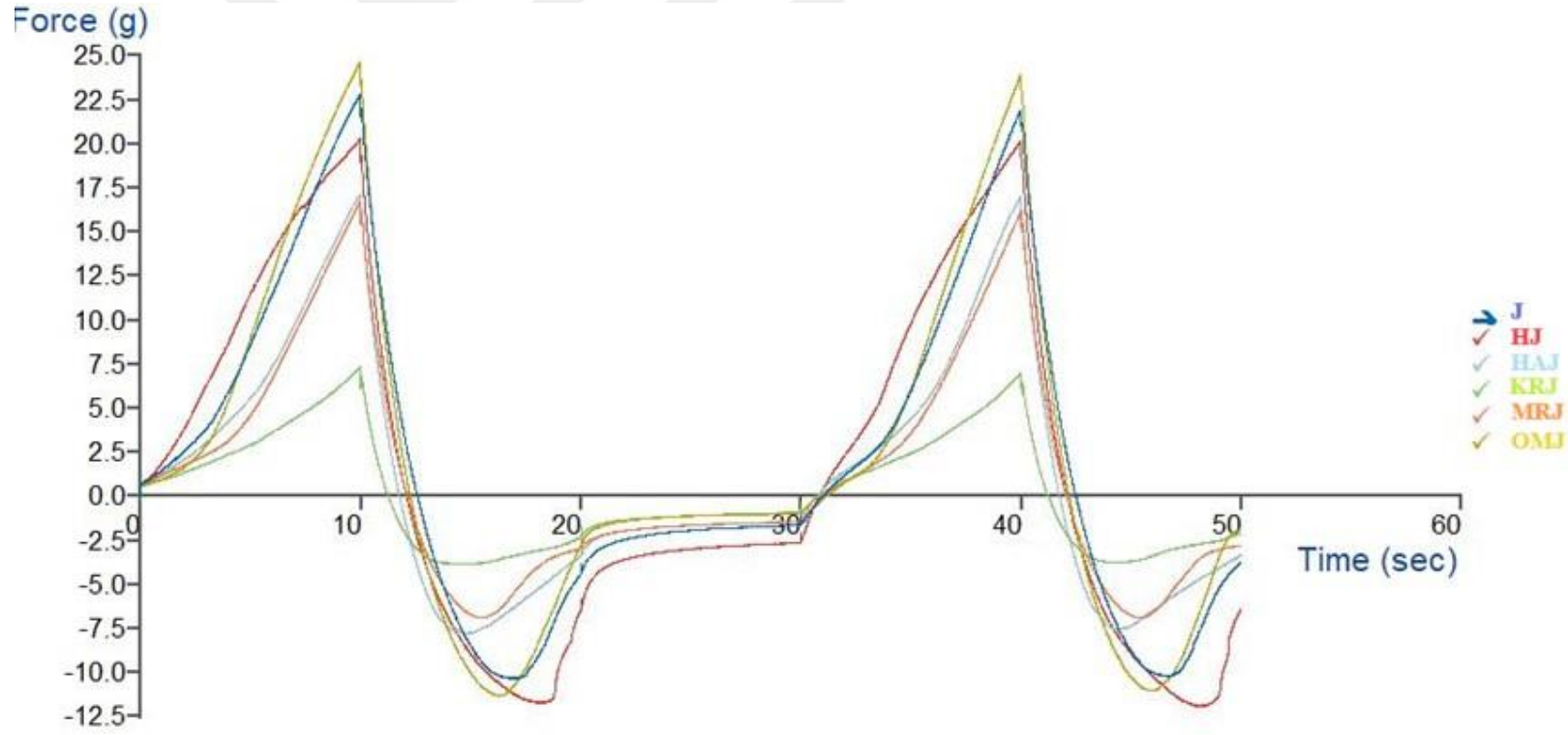
4.10.3. Formülasyonların Yayılabilirlik Analizleri

Formülasyonların yayılabilirlikleri sertlik, yayılma işi, yapışkanlık ve adezyon işi parametreleri dikkate alınarak değerlendirildi. Tablo 4.16’da formülasyonların yayılabilirlik sonuçları gösterildi. Bu çalışmalarda sertlik bir parmak yardımı ile formülasyonun bölgeden kurtarılması için gereken kuvvete, yayılabilirlik ise formülasyonun uygulanan bölgede yayılabilmesi için gerekli işe atıfta bulunuldu (170).

Deriye uygulamalarda formülasyonun uygulama bölgesinde uzun süreli kalmasını sağlamak iyileşme açısından avantajlı bir durumdur. Şekil 4.50, formülasyonların yayılabilirlik çalışmalarının grafiksel olarak gösterimidir.

Tablo 4.15: Boş ve yüklü formülasyonların tekstür profil analizi sonuçları

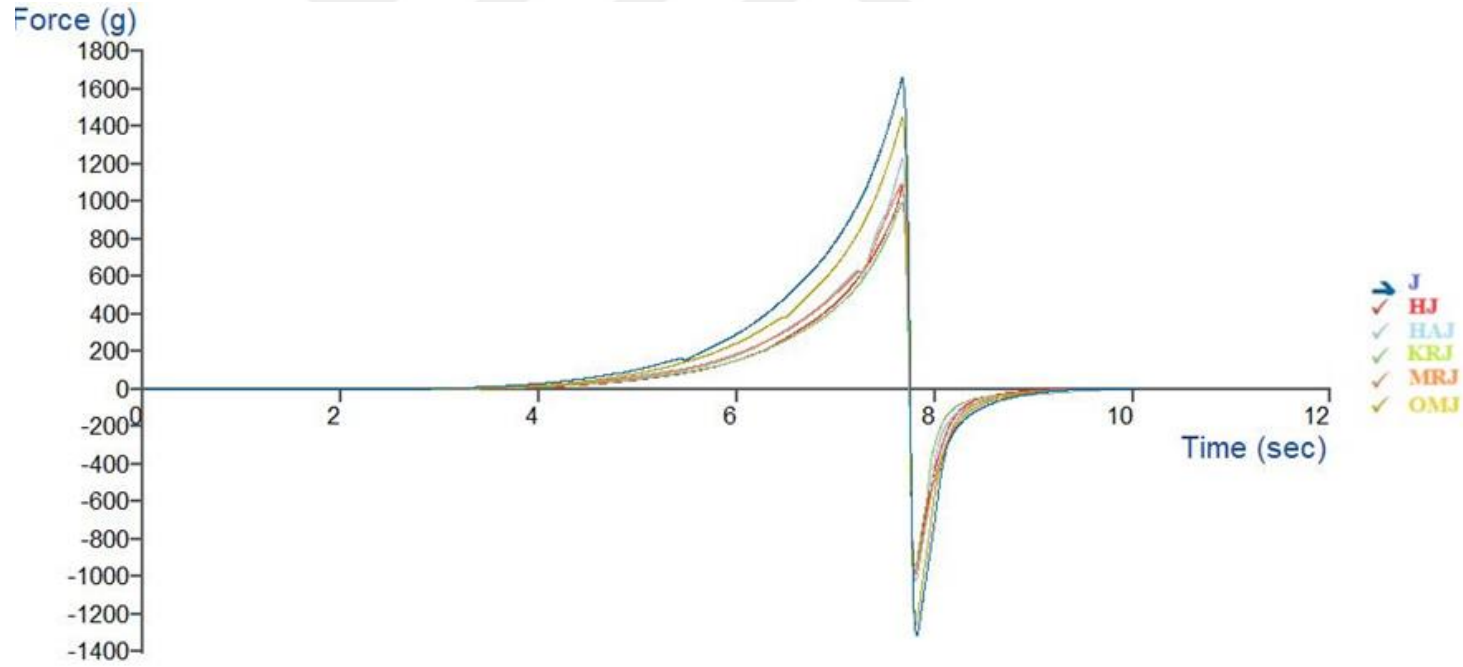
Formülasyon Kodu	Sertlik(g) $\pm$ SS	Adeziflik(g.sec) $\pm$ SS	Esneklik $\pm$ SS	Koheziflik $\pm$ SS
J	-3,802 $\pm$ 0,978	-78,040 $\pm$ 6,279	0,252 $\pm$ 0,023	0,837 $\pm$ 0,046
OMJ	-1,944 $\pm$ 0,412	-73,215 $\pm$ 4,876	0,223 $\pm$ 0,016	0,847 $\pm$ 0,070
MRJ	-2,883 $\pm$ 0,723	-56,350 $\pm$ 13,610	0,235 $\pm$ 0,020	0,869 $\pm$ 0,054
HAJ	-3,393 $\pm$ 0,125	-66,226 $\pm$ 10,498	0,190 $\pm$ 0,037	0,892 $\pm$ 0,064
KRJ	-2,208 $\pm$ 0,150	-41,095 $\pm$ 0,838	0,123 $\pm$ 0,007	0,856 $\pm$ 0,041
HJ	-6,486 $\pm$ 2,745	-101,864 $\pm$ 18,740	0,161 $\pm$ 0,023	0,893 $\pm$ 0,031



Şekil 4.49: Formülasyonların tekstür profil analizlerinin grafik olarak görünüm

Tablo 4.16: Boş ve yüklü formülasyonların yayılabilirlik çalışması sonuçları

Formülasyon Kodu	Sertlik (g)	Yayılma İşi (g.sec)	Yapışkanlık (g)	Adezyon işi (g.sec)
J	1666.17±16.74	1661.03±28.78	-1317.43±6.67	-405.93±5.62
OMJ	1454.02±27.02	1388.34±5.39	-1257.26±20.80	-366.33±39.37
MRJ	1104.14±81.42	1070.96±9.76	-985.18±48.96	-299.87±33.14
HAJ	1236.33±11.95	1085.81±31.91	-1024.35±4.61	-298.94±11.25
KRJ	1002.80±45.49	920.70±10.33	-946.18±34.12	-238.43±2.15
HJ	1083.41±20.76	956.15±15.11	-981.02±27.53	-272.10±12.24



Şekil 4.50: Formülasyonların yayılabilirlik çalışmalarının grafik olarak görünümü

4.11. GÜNEŞTEN KORUYUCU FAKTÖR (SPF) HESAPLAMA ÇALIŞMALARINA AİT BULGULAR

O. majorana, *M. rotundifolia* ve *H. arenarium* subsp. *aucheri* bitkilerine ait etanol ekstraktlarının ve bu bitkilerin ekstraktlarıyla hazırlanan emüljel formülasyonlarının güneşten koruyucu faktörleri (SPF) kolorimetrik yöntem kullanılarak hesaplandı. Ekstrele ait sonuçlar Tablo 4.17’de, ekstraktların yüklendiği emüljellere ait sonuçlar ise Tablo 4.18’de verilmiştir.

Tablo 4.17: *O. majorana*, *M. rotundifolia* ve *H. arenarium* subsp. *aucheri* bitkileri etanol ekstraktlarına ait SPF sonuçları

Örnek	Dalga Boyu	CF	EE*1	A	SPF
OM (1 mg/mL)	290	10	0.015	3,442	26,487
	295	10	0.0817	2,920	
	300	10	0.2874	2,643	
	305	10	0.3278	2,618	
	310	10	0.1864	2,605	
	315	10	0.0839	2,542	
	320	10	0.018	2,332	
MR (1 mg/mL)	290	10	0.015	3,321	26,280
	295	10	0.0817	3,128	
	300	10	0.2874	2,749	
	305	10	0.3278	2,524	
	310	10	0.1864	2,517	
	315	10	0.0839	2,288	
	320	10	0.018	2,463	
HA (1 mg/mL)	290	10	0.015	3,549	25,764
	295	10	0.0817	2,920	
	300	10	0.2874	2,688	
	305	10	0.3278	2,368	
	310	10	0.1864	2,580	
	315	10	0.0839	2,557	
	320	10	0.018	2,429	
KR (1 mg/mL)	290	10	0.015	3,177	24,226
	295	10	0.0817	2,561	
	300	10	0.2874	2,433	
	305	10	0.3278	2,403	
	310	10	0.1864	2,370	
	315	10	0.0839	2,367	
	320	10	0.018	2,145	

En yüksek SPF değerine sahip olan bitki ekstresi 26,487 ile OM olarak bulunurken, en düşük SPF değerine sahip bitki ekstresi 24,226 ile KR olarak bulundu (Tablo 4.17).

Etanol ekstralarının bireysel olarak yüklendiği jeller, bitkilerin karışımının etanol ekstresi yüklenen jel ve her bir etanol ekstresinin eşit oranda yüklediği jelin SPF değerleri hesaplamasının sonucuna göre ise en yüksek SPF değerine sahip emüljel 26,081 ile DH olarak bulunurken; en düşük SPF değerine sahip emüljel 24,560 SPF değeri ile OMJ olarak bulundu (Tablo 4.18).

Tablo 4.18: *O. majorana*, *M. rotundifolia* ve *H. arenarium* subsp. *aucheri* bitkileri etanol ekstresi yüklü emüljel formülasyonlarına ait SPF sonuçları

Örnek	Dalga Boyu	CF	EE*1	A	SPF
J	290	10	0.015	2,760	18,956
	295	10	0.0817	2,318	
	300	10	0.2874	1,961	
	305	10	0.3278	1,823	
	310	10	0.1864	1,767	
	315	10	0.0839	1,719	
	320	10	0.018	1,667	
OMJ (1 mg/mL)	290	10	0.015	3,147	24,560
	295	10	0.0817	2,818	
	300	10	0.2874	2,570	
	305	10	0.3278	2,329	
	310	10	0.1864	2,269	
	315	10	0.0839	2,497	
	320	10	0.018	2,446	
MRJ (1 mg/mL)	290	10	0.015	3,170	24,708
	295	10	0.0817	3,111	
	300	10	0.2874	2,474	
	305	10	0.3278	2,352	
	310	10	0.1864	2,467	
	315	10	0.0839	2,234	
	320	10	0.018	2,213	
HAJ (1 mg/mL)	290	10	0.015	3,205	25,867
	295	10	0.0817	2,766	
	300	10	0.2874	2,951	
	305	10	0.3278	2,320	
	310	10	0.1864	2,511	
	315	10	0.0839	2,310	
	320	10	0.018	2,341	
KRJ (1 mg/mL)	290	10	0.015	3,550	25,589
	295	10	0.0817	3,084	
	300	10	0.2874	2,760	
	305	10	0.3278	2,359	
	310	10	0.1864	2,343	
	315	10	0.0839	2,497	
	320	10	0.018	2,276	
HJ (1 mg/mL)	290	10	0.015	3,440	26,081
	295	10	0.0817	3,007	
	300	10	0.2874	2,763	
	305	10	0.3278	2,500	
	310	10	0.1864	2,364	
	315	10	0.0839	2,534	
	320	10	0.018	2,450	

5. TARTIŞMA

Origanum, *Mentha* ve *Helichrysum* cinsleri uzun yıllardır halk arasında geleneksel olarak tıbbi amaçla kullanılan, içerdikleri çok sayıdaki kompleks yapılı sekonder metabolitleri sayesinde çeşitli farmakolojik etkilere sahip son derece önemli bitkilerdir (21,32,52,171,172).

Çalışmamızda, *Origanum*, *Mentha* ve *Helichrysum* cinslerinin geleneksel kullanımının yanı sıra zengin fenolik içeriğini de dikkate alarak, kozmetikte yaşlanma karşıtı kullanılabilirlik potansiyelinin araştırılması planlanmıştır. Tür olarak, *O. majorana*, *M. rotundifolia* ve *H. arenarium* subsp. *aucheri* türleri kullanıldı ve bu doğal kaynaklar değerlendirilerek yeni bir fitokozmetik ürün geliştirebilmek için çeşitli biyolojik aktivite testleri yapıldı. Çalışmamız, *O. majorana*, *M. rotundifolia* ve *H. arenarium* subsp. *aucheri* türlerinin yaşlanma karşıtı etkilerini araştıran ilk çalışmadır.

Bu bitkilerin toprak üstü kısımlarından etanol, etil asetat ve su ekstraktları ve bu üç bitkinin eşit oranda karışımının etanol ekstresi hazırlandı. Ayrıca hazırlanan etanol ekstraktlarından emüljel formülasyonları hazırlandı. Ekstrelerin ve jellerin kimyasal içerikleri 15 fenolik bileşiğin standart olarak kullanıldığı HPLC metoduyla belirlendi.

Antioksidan aktivite tayinleri; DPPH[•] serbest radikali giderim, FRAP, CUPRAC ve TOAC yöntemleri ile yapıldı. Çalışma sonucunda, ekstraktların antioksidan aktiviteye sahip fenolik bileşikler içerdikleri; DPPH[•] serbest radikali giderim, FRAP, CUPRAC ve TOAC yöntemleri ile tayin edilen antioksidan etkileri ile doğal antioksidan kaynağı olarak kullanılabilecekleri belirlendi.

DPPH[•] serbest radikal giderme aktivitesine ait sonuçlar değerlendirildiğinde; en yüksek aktivite 93,53 mol BHT eşdeğer/g ekstre ile *M. rotundifolia* etanol ekstresinde, en düşük aktivite ise 0,77 mol BHT eşdeğer/g ekstre değeri ile *Helichrysum arenarium* subsp. *aucheri* su ekstresinde belirlendi. MR ve HA bitkileri için en yüksek aktivite etanol ekstresinde saptanırken, OM bitkisinde en yüksek aktivite etil asetat ekstresinde saptandı ve onu etanol ekstresinin aktivitesi izledi (79,52 ± 1,53 mol BHT eşdeğer/g ekstre).

Roby ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada, *O. majorana* bitkisine ait metanol, etanol, dietil eter ve heksan ekstraktlarının DPPH[•] serbest radikal süpürme aktivitesi incelemiştir. Çalışmalarına göre IC₅₀ değerleri metanol, dietil eter, etanol ve

heksan ekstraktları için sırasıyla 0,0013 mg/mL, 0,0020 mg/mL, 0,0025 mg/mL ve 0,0035 mg/mL olarak bulunmuştur (173). Sonuçlar, çalışmamızın sonucundan birim olarak farklı hesaplanmış ve Roby ve arkadaşlarının yaptığı çalışmanın sonucunda OM bitkisinin yüksek antioksidan etkinliğe sahip olduğu rapor edilmiş, bu sonuçta çalışmamızın sonucu ile uyumlu bulunmuştur (173).

Bir diğer çalışmada ise, *O. majorana*'nın toprak üstü kısmından su ve metanol ekstresi hazırlanmış, antioksidan aktivite tayin etmek için DPPH* serbest radikal giderme aktivitesine bakılmıştır. Deneylerin sonucunda, DPPH* serbest radikal süpürücü etkinin metanol ekstraktında daha yüksek olduğu bulunmuş ve EC₅₀ değerleri sırasıyla 16,15 µg/mL ve 19,66 µg/mL olarak hesaplanmıştır. Sonuçlar, mg ekstre başına µg kuersetin eşdeğeri olarak ifade edilmiştir (µg EAG/mg E). Metanol ve su ekstreleri için, polifenolik miktar ve flavonoit konsantrasyonlarının sırasıyla 68,66 µg EAG/mg E ve 11,71 µg EQ/mg E değerleri olduğu, metanol ekstresinin yüksek polifenol ve flavonoit miktarı olduğundan DPPH* serbest radikal giderme aktivitesinin yüksek olduğu saptanmıştır (64). Çalışmamızda OM bitkisine ait en yüksek DPPH* serbest radikal giderme aktivitesinin etanol ekstresinde saptanıp, en düşük aktivite su ekstresinde saptanması mevcut literatürle karşılaştırıldığında sonuçlar benzer bulundu (64).

İki farklı *Mentha* türünün (*Mentha rotundifolia* (MR) ve *Mentha pulegium* (MP)) fenolik içerikleri, kimyasal bileşimleri ve biyolojik aktiviteleri arasındaki ilişki analiz edildiği bir çalışmada, bitkilerin metanol ekstreleri hazırlanmış ve HPLC analizi sonucunda, her iki ekstrakttaki ana bileşenlerin eriocitrin ve rosmarinik asit olduğu gösterilmiştir (MR ve MP'nin metanolik ekstraktlarında sırasıyla 25 ve 20 mg/mL ve 12 ve 8 mg/mL). Ayrıca, MR ekstraktı polifenoller açısından daha zengin olduğu belirtilip, MP ye göre daha yüksek antioksidan aktiviteyi sergilediği saptanmıştır. MR metanol ekstresi, MP ile karşılaştırıldığında daha yüksek antioksidan aktivite sergilemiş; ABTS ve DPPH testlerinin sonucunda IC₅₀ değerleri sırasıyla 44 µg/mL ve 21 µg/mL olarak bulunmuştur (43). Çalışmamız sonucunda, MR ile hazırlanan ekstreler arasında en yüksek rosmarinik asit miktarına sahip olan ekstrenin etanol ekstresi olup (Tablo 4.6), en yüksek DPPH* serbest radikal giderme aktivitesinin de etanol ekstresinde saptanması mevcut literatür ile uyumlu bulunmuştur (43).

Eren ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, *Helichrysum arenarium* subsp. *aucheri* 'nin toprak üstü kısımlarından etanol ve metanol ekstresi hazırlanmış ve

antioksidan etkinlikleri değerlendirilmiştir. Sonuçlar %inhibisyon olarak verilmiş ve 1 mg/mL konsantrasyonda iki ekstrenin de DPPH* serbest radikal giderme etkinliğini birbirine oldukça yakın bulunmuştur (etanol ekstresi için %34,45 ± 0,19 metanol ekstresi için %34,55 ± 0,17 inhibisyon) (174).

Albayrak ve arkadaşları tarafından, Türkiye’den toplanan 16 *Helichrysum* türü üzerinde yapılan *in vitro* antioksidan aktivite çalışmasında *Helichrysum* türlerinin toprak üstü kısımlarından hazırlanan metanol ekstreleri üzerinde yapılan çalışmada, Folin–Ciocalteu ayırıcı temelli yöntemin sonuca göre *Helichrysum arenarium*’ un toplam fenolik içeriği 115,76 mg gallik asit eşdeğeri olarak, DPPH* serbest radikal giderme aktiveye ait IC₅₀ sonucu 37,52 µg/mL olarak, total antioksidan kapasite ise 147,68 mg askorbik asit eşdeğeri olarak hesaplanmıştır (52).

Mevcut literatürdeki DPPH* serbest radikal giderme etkinlik sonuçlarına göre, HA’nın etanol ve metanol ekstresinin antioksidan etkinliğinin varlığı rapor edilmiştir. Çalışmamızın sonucunda etanol ekstresinin DPPH* serbest radikal giderme aktivesinin olduğu saptanması mevcut literatür ile benzerlik gösterip, etil asetat ekstresinin DPPH* serbest radikal giderme aktivesinin olduğu ilk kez çalışmamızda saptandı (50,174).

CUPRAC aktivite sonuçları değerlendirildiğinde, *O. majorana*’nın farklı polaritelerdeki çözücüler ile hazırlanan ekstrelerinin arasında en yüksek aktivite 18,48 ± 2,26 µmol AAE/g ekstre ile etil asetat ekstresinde saptanırken, onu 17,41 ± 1,69 µmol AAE/g ekstre etkinlik ile etanol ekstresi izledi. En düşük aktivite ise 1,75 ± 0,10 µmol AAE/g ekstre ile su ekstresinde saptandı. Mevcut literatürde OM’ye ait CUPRAC aktivitesi çalışılmamış olup, ilk kez bu çalışmada aktivite rapor edildi.

MR için CUPRAC aktivite sonuçları değerlendirildiğinde, daha önce yapılan bir çalışmada farklı bölgelerden toplanan MR yaprakların etanol ekstrelerinin CUPRAC aktivite sonuçları Jijel bölgesinden toplanan MR’nin aktivitesi A₀:10,49 ± 0,43 olarak saptanırken, Mila bölgesinden toplanan MR’nin aktivitesi A₀: 26,33 ± 0,21 olarak saptanmıştır. Bitkinin köklerinin aktivitesi, yapraklara daha üstün bulunmuş, bu da içeriğindeki rosmarinik ve salvianolik asit miktarının daha fazla olmasına atfedilmiştir (175). Çalışmamızda da MR’nin farklı polaritelerdeki çözücüler ile hazırlanan ekstrelerinin CUPRAC aktivitesi değerlendirildiğinde en yüksek aktivite 11,48 ± 0,49 µmol AAE/g ekstre ile etanol ekstresinde saptanırken, rosmarinik asit miktarı en yüksek ekstreninde etanol ekstresi olması mevcut literatür ile uyumlu bulundu (175).

H. arenarium subsp. *aucheri*'nin farklı polaritelerdeki çözücüler ile hazırlanan ekstrelerinin CUPRAC aktivitesi değerlendirildiğinde ise en yüksek aktivite $6,19 \pm 0,11$ $\mu\text{mol AAE/g}$ ekstre ile etanol ekstresinde saptanırken, en düşük aktivite ise $1,75 \pm 0,10$ $\mu\text{mol AAE/g}$ ekstre ile su ekstresinde saptandı. Mevcut literatürde HA'ya ait CUPRAC aktivitesi çalışılmamış olup, ilk kez bu çalışmada aktivite rapor edildi.

Asidik ortam şartlarında Fe^{+3} 'ün Fe^{+2} 'ye indirgenmesi renkli ferric tripyridyl triazine kompleksinin oluşmasına sebep olmakta ve bu oluşan demir tuzu da oksidan olarak kullanılmaktadır. Asidik ortamda, antioksidanların varlığında ferric tripyridyl triazine kompleksi Fe^{+2} 'ye indirgenmesi temeline dayanan FRAP aktivite sonuçları değerlendirildiğinde, en iyi aktivite MR etanol ekstresinde ($62,56 \pm 3,53$ $\mu\text{mol Fe}^{2+}$ eşdeğer/g ekstre) saptanırken, en düşük aktivite ise HA su ekstresinde ($1,61 \pm 1,81$ $\mu\text{mol Fe}^{2+}$ eşdeğer/g ekstre) saptandı (Tablo 4.3). OM'nin farklı polaritelerdeki çözücüler ile hazırlanan ekstrelerinin FRAP aktivitesi değerlendirildiğinde ise en yüksek aktivite $53,70 \pm 2,97$ $\mu\text{mol Fe}^{2+}$ eşdeğer/g ekstre ile etanol ekstresinde saptanırken, en düşük aktivite ise $15,69 \pm 2,61$ $\mu\text{mol Fe}^{2+}$ eşdeğer/g ekstre değeri ile su ekstresinde saptandı.

Yapılan bir çalışmada, Mısır, Libya, Yunanistan ve Sırbistan'dan toplanan *O. majorana*'nın etanol ve su ekstreleri hazırlanmış, ekstrelerin kimyasal kompozisyonu ve antioksidan aktiviteleri araştırılmıştır. Etanol ekstresinin baskın bileşeni rosmarinik asit olarak saptanırken, su ekstrelerinde ise klorojenik asit ana bileşen olarak saptanmıştır. Mısır'dan toplanan OM' nin etanol ekstresi ($796,25 \pm 7,52$ $\mu\text{mol Fe}^{2+}$ eşdeğer/g ekstre), su ekstresinden ($554,66 \pm 3,50$ $\mu\text{mol Fe}^{2+}$ eşdeğer/g ekstre) yüksek FRAP aktivitesi gösterirken, diğer lokasyonlardan toplanan örneklerin su ekstrelerinin etanol ekstrelerinden yüksek aktivite gösterdiği bulunmuştur (66). Çalışmamızda OM etanol ve su ekstrelerinin FRAP aktivitesi sırayla; $53,70 \pm 2,97$ $\mu\text{mol Fe}^{2+}$ eşdeğer/g ekstre ve $15,69 \pm 2,61$ $\mu\text{mol Fe}^{2+}$ eşdeğer/g ekstre değeri ile mevcut literatürden düşük bulunmuştur (66).

Riahi ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, Tunus'un 2 farklı lokasyonundan toplanan *Mentha rotundifolia* yaprak kısmının antioksidan aktivitesini araştırmak üzere metanol-su ekstresi (80:20 h/h) hazırlamış ve DPPH ve FRAP testlerini uygulamışlardır. Farklı lokasyonlardan toplanan MR'lerin aktivitelerinde farklılık olduğu belirlenmiştir. DPPH testine göre yüksek serbest radikal yakalama kapasitesi Bizerte bölgesinden toplanan MR ekstraktında (IC_{50} : $19,25$ $\mu\text{g/mL}$), düşük radikal giderme potansiyeli ise Beja bölgesinden toplanan bitki ekstraktında (IC_{50} : $23,41$ $\mu\text{g/mL}$) kaydedilmiştir. Benzer

şekilde, FRAP testine göre, Bizerte bölgesi için daha yüksek bir FRAP ($527,34 \pm 2,21$ $\mu\text{mol Fe}^{2+}$ E/g DW) ve Beja bölgesi için daha düşük bir antioksidan aktivite ($452,88 \pm 1,51$ $\mu\text{mol Fe}^{2+}$ E/g DW) belirlenmiştir (75). Çalışmamızda, MR ekstreleri arasında en yüksek aktivite MR etanol ($53,70 \pm 2,97$ $\mu\text{mol Fe}^{2+}$ eşdeğer/g ekstre) ekstresinde saptanıp, mevcut literatür ile karşılaştırıldığında düşük bulundu, sebebinin farklı lokasyonlardan toplanan bitkilerinin kimyasal içeriğinin farklılaşabileceğinden kaynaklandığı düşünüldü (75).

Yapılan bir başka çalışmada, *Helichrysum arenarium*'un çiçekleri ile hazırlanan etanol ekstresinin antioksidan, güneşten koruma ve sitotoksik etkileri araştırılmıştır. Ekstrenin ana bileşenleri apigenin-7-glukozit, luteolin-7-glukozit ve rosmarinik asit olarak belirlenmiştir. Antioksidan etkinliği saptamak için yapılan FRAP aktivitesi $0,15 \pm 0,01$ μM eşdeğeri Trolox/mL olarak bulunmuştur (176). Çalışmamızda FRAP aktivitesi g ekstre başına $\mu\text{mol Fe}^{2+}$ eşdeğeri olarak ifade edilmiş olup bitki türü olarakta *Helichrysum arenarium*' un alt türü kullanılmıştır (*H. arenarium* subsp. *aucheri*) ve içeriğindeki anabileşenler apigenin-7-glikozit ve naringenin olarak saptanmıştır (Tablo 4.9). Etanol ekstresinin FRAP aktivitesi ise $23,97 \pm 1,96$ $\mu\text{mol Fe}^{2+}$ eşdeğer/g ekstre olarak hesaplanmıştır. Farklılığın sebebi sonuçların birim olarak uyuşmaması ve çalışmamızda kullanılan bitkinin *Helichrysum arenarium*' un alt türü olmasından kaynaklanan içerik farklılığı ile açıklanabilir.

TOAC aktivite sonuçları değerlendirildiğinde, en iyi aktivite *Mentha rotundifolia* ait ekstrelerde saptandı ve en düşük aktivite ise *Helichrysum arenarium* subsp. *aucheri* su ekstresinde saptandı. *Mentha rotundifolia*'nın farklı polaritelerdeki çözücüler ile hazırlanan ekstrelerinin TOAC aktivitesi değerlendirildiğinde en yüksek aktivite $19,41 \pm 2,26$ $\mu\text{mol AAE/g}$ ekstre ile su ekstresinde saptanırken, onu $18,93 \pm 4,01$ $\mu\text{mol AAE/g}$ ekstre aktivite ile etanol ekstresi ve $16,74 \pm 2,96$ $\mu\text{mol AAE/g}$ aktivite ile etil asetat izledi. Aktivite sonuçları KR ile karşılaştırıldığında $11,00 \pm 0,51$ $\mu\text{mol AAE/g}$ ekstre ile, KR'nin TOAC aktivitesi MR'nin tüm ekstrelerinden düşük bulundu (Tablo 4.4).

Çalışmamızdan elde edilen sonuçlara göre, *Origanum*, *Mentha*, *Helichrysum* türlerinin antioksidan etkiye sahip bileşikler açısından zengin türler olduğunu gösteren çalışmalarla uyumludur (32,86,175). Yapılan farklı deneyler ile, her üç türün de iyi antioksidan aktivite gösterdiği, bu üç tür arasında antioksidan etkinliği en yüksek olan türün ise *M. rotundifolia* olduğu belirlenmiştir. Bu durumun *M. rotundifolia* türünün

fenolik bileşiklerin miktarı açısından diğer iki türe göre daha zengin olmasından kaynaklandığı sonucuna varılmıştır.

Dermis tabakasında bulunan ECM, cildin esnekliğinden, büyümesinden, cilt homeostazisinin düzenlenmesinde ve sağlanmasında önemli bir rol oynayan cildin başlıca yapısal bileşenidir. ECM' nin yapısında, kolajenler, elastin lifleri, glikoproteinler ve matriselüler proteinleri bulunmaktadır (177,178). Cildin kuru ağırlığının yaklaşık %80'ini oluşturan kolajen, ciltteki ana yapısal proteindir ve kaybı veya parçalanması durumu cilt elastikiyetinin, sıkılığının ve dayanıklılığının azalmasına, ayrıca kırışıklıkların ve ince çizgilerin ortaya çıkmasına neden olmaktadır (179,180). Elastin, dokulara esneklik sağlayan ve dokuların onarımında rol oynayan lifli bir ECM proteindir (181). Kuruyken kırılabilir olan elastin lifler, nemliken esnek ve elastiktir olduğundan cildin elastikiyetini korumaktadır (182). Ağırlıklı olarak elastaz enzimi tarafından elastinin parçalanması, cildin sarkmasının ve ince kırışıklıkların oluşmasının temel nedenidir (183). ECM'nin yapısında bulunan bir diğer bileşik glikozaminoglikan yapıda olan hyaluronik asittir. Hyaluronik asit, cildin viskoelastikiyetini, pürüzsüzlüğünü ve nemini korumaktadır (166). Bu nedenle hyaluronik asidin parçalanması cildin nemini kaybetmesine ve kırışmasına neden olmaktadır (184).

Kolajen, elastin ve hyaluronik asidi yapısında bulunduran ECM, doğal yaşlanmaya ve ROS üretiminin artmasına neden olan dış faktörlere bağlı olarak oksidatif stresin artmasıyla bozulma eğilimi göstermektedir (166,185). Doğal yaşlanma sürecine ve dış etkiler kaynaklı oksidatif stresin artmasına bağlı olarak, kolajen, elastin ve hyaluronik asidin yıkımından sorumlu olan kolejenaz, elastaz ve hyaluronidaz enzimleri uyarılmaktadır. Kolajenaz, MMP ailesine ait olan ve insan derisindeki ana yapısal protein olan kolajeni parçalayabilen proteolitik bir enzimdir (186–188). Elastaz, spesifik peptit bağlılarını kırarak elastini azaltabilen bir proteinaz enzimidir ve bu enzimi inhibe ederek cilt elastikiyetini korumak için bir hedef olarak kullanılabilir (189,190). Hyaluronidaz, hidrofobik bir glikozaminoglikan molekülü olan hyaluronik asidin depolimerizasyonuna neden olan bir enzimdir. Hyaluronik asit cildin nemli ve pürüzsüz tutulmasından sorumlu olduğundan hyaluronik asidin parçalanması kurumaya ve kırışmaya neden olmaktadır (184). Bu sebeplere bağlı olarak, kolajenaz, elastaz ve hyaluronidaz enzimlerini inhibe etme potansiyeli olan bileşikler kırışıklık oluşumunu

ve dolayısıyla yaşlanmayı geciktirebilir. Bu nedenle, farklı bileşiklerin yaşlanma karşıtı aktivitesinin analizinde, anti-kolajenaz, anti-elastaz ve anti-hyaluronidaz aktiviteleri ölçen analizler kullanılmaktadır.

Güneş ışığından gelen UV ışınları (UVA ve UVB), ROS üretiminin artmasına sebep olarak, ECM'nin yapısının bozulmasını tetiklemekte ve yaşlanma belirtilerinin ortaya çıkmasına sebep olmaktadır (191). Bu sebeple yaşlanma karşıtı bakımda, güneş koruyucu maddeler ve antioksidan kullanmak da UV aracılı kutanöz hasarın önlenmesinin bir yoludur(192).

Bakır içeren monooksijenaz bir enzim olan tirozinaz, melanositlerdeki melanin sentezini katalize eden önemli bir düzenleyicidir. Melanin, cilt renginin ana belirleyicisidir. UV ışınlarını absorbe ederek, cildin hasar görmesini önleyebilmekte ve reaktif oksijen türlerini de temizleyebilmektedir (193).

Tirozinaz enzimi, L-tirozinin 3,4-dihidroksifenilalanine (L-DOPA) hidroksilasyonu ve bunun sonucunda L-DOPA'nın da dopakinona oksidasyonundan sorumludur. Dopakinon, melanin oluşturmak üzere kendiliğinden polimerleşebilen oldukça reaktif bir bileşiktir. Ancak melaninin deride aşırı üretimi hiperpigmentasyona, melanoma neden olabilmekte ve genotoksik olabilmektedir. Bu nedenle, tirozinaz inhibitörleri kozmetik ve ilaç sanayiinde cilt beyazlatıcı olarak giderek önem kazanmaktadır (194).

Daha önce yapılan çalışmalarda, çeşitli bitkilerin antioksidan, antikolajenaz, antihyaluronidaz, antitirozinaz, antienflamatuvar ve fotoprotektif etkinlikleri raporlanarak, kozmetik ürünlerin bileşiminde yer alabilecekleri belirlenmiştir (119,120,165,195). Yapılan çalışmalarda farklı bitkilere ait yaşlanma karşıtı etkiler ve bu etkilerin olası mekanizmaları Tablo 5.1'de özetlenmiştir. Çalışmamızda yer alan mevcut cinslerden *Mentha* ve *Helichrysum* cinslerine ait *Mentha piperita* ve *Helichrysum stoechas* türlerinin de kozmetik ürünlerin içinde yer alabileceği yapılan çalışmalar ile gösterilmiştir.

Tablo 5.1: Yaşlanma karşıtı etki gösteren bitkiler ve olası etki mekanizmaları

Bitki adı ve familyası	Kullanılan kısım	Olası etki mekanizması	Kaynak
<i>Achillea millefolium</i> L.	Çiçek	Melanogenezi önler ve oksidatif stres azaltır.	(196)
<i>Aesculus hippocastanum</i> L. (Hippocastanaceae)	Yaprak	Fibroblast içeren kolajen jellerini kullanarak kasılma oluşturur.	(197)
<i>Astragalus membranaceus</i> (Fisch.) Bunge (Fabaceae)	Yaprak	Hyaluronik asit içeriğini artırır. Telomeraz ters transkriptazın hücrel ekspresyonunu artırır.	(198,199)
<i>Berberis aristata</i> DC. (Berberidaceae)	Yemiş	MMP-9 ekspresyonunu inhibe eder ve TPA ile indüklenen IL-6 ekspresyonunu baskılar. Tip-1 prokolajen ekspresyonunu artırır.	(200)
<i>Betula pendula</i> Birch		Tirozinaz enzim inhibisyonu yapar.	(201)
<i>Calendula officinalis</i> L. (Asteraceae)	Çiçek	MMP-2 ve MMP-9 aktivitesi/salınımını kontrol eder.	(202)
<i>Camellia sinensis</i> L. (Theaceae)	Yaprak	UV ışınlarına bağlı fotoyaşlanmayı, fotoimmünsüpresyonu, kutanöz eritemi, epidermin kalınlaşmasını, CK5/6, CK16, MMP-2, MMP-9'un aşırı ekspresyonunu baskılar.	(203)

Tablo 5.1 (devam)

<i>Centella asiatica</i> L. Urban. (Umbelliferae)	Tüm bitki	Derin ve yüzeysel kırışıklıklar, esneklik, sıkılık, pürüzlülük ve cilt hidrasyonu için klinik skorunu iyileştirir. Tip-I kolajen sentezini indükler.	(204,205)
<i>Citrus sinensis</i> L. (Rutaceae)	Meyve	İnsan keratinositlerinde (HaCaT) NF-kB ve AP-1 translokasyonu ve prokaspaz-3'ün UV-B'ye bölünmesi gibi hücrel tepkileri modüle etmede üç farklı <i>C. sinensis</i> türünün fotoyaşlanma karşıtı aktivitesinden sorumludur.	(206)
<i>Curcuma longa</i> L. (Zingiberaceae)	Rizom	MMP-2 ekspresyonunu inhibe eder.	(207)
<i>Curcuma xanthorrhiza</i> Roxb. (Zingiberaceae)	Rizom	MMP-1 ekspresyonunu inhibe eder.	(208)
<i>Emblica officinalis</i> L. (Euphorbiaceae)	Meyve	Tip-I kolajen kolejenazı inhibe eder, TIMP-1 seviyesini artırır.	(209)
<i>Glycine max</i> L. Merr. (Fabaceae)	Tohum	Melanozom fagositozunu inhibe eder. Kaspaz-3 yolunun aktivasyonunu engeller.	(210)
<i>Hamamelis virginiana</i> L. (Hamamelidaceae)	Yaprak	Elastin sentezini azaltarak, kırışıklıkları azaltır ve cilt sıkılığını artırır.	(211)
<i>Helichrysum stoechas</i> L.	Çiçek	Yaşlanma karşıtı matris rejenerasyonu	(212)

Tablo 5.1 (devam)

<i>Kaempferia pandurata</i> Roxb. (Zingiberaceae)	Rizom	Mitojenle aktive olan protein kinazların UV kaynaklı fosforilasyonlarını inhibe eder.	(213)
<i>Labisia pumila</i> (Blume) (Myrsinaceae)	Kök	TNF- α , COX-2, MMP-1 ve MMP-9 ekspresyonunu inhibe eder.	(214)
<i>Mentha piperita</i> L.	Yaprak	Antimikrobiyal etkilerinden dolayı kozmetik ürünlerin bileşimine yer alabilmektedir.	(215)
<i>Ocimum basilicum</i> L.	Yaprak	5 α redüktaz aktivitesini inhibe eder, saç dökülmesini önleyici etkinlik ve cilt besleyici etkinlik gösterir.	(216)
<i>Panax ginseng</i> L. (Araliaceae)	Kök	Tip-I prokolajen gen ve protein ekspresyonu sağlar, MMP-9 gen indüksiyonunu önler ve fibrillin-1 lif boyunu uzatır.	(217,218)
<i>Piper betel</i> L. (Piperaceae)	Yaprak	Işığa duyarlılaştırma aracılı lipid peroksidasyonundan (LPO) korur.	(219)
<i>Prunus dulcis</i> Mill. (Rosaceae)	Kabuk	Antioksidan etkinlik gösterir.	(220)
<i>Punica granatum</i> L.	Meyve kabuğu	Tirozinaz inhibisyonu yapar.	(221)
<i>Tagetes erecta</i> L. (Asteraceae)	Çiçek	UV ışınlarından koruyucu etkinlik gösterir.	(222)

Başta zengin polifenolik içerikleri sayesinde antiaging ve fotoprotektif etkinlik gösterdiği sağlanan bazı bitkiler, düşük yan etki profilleri sayesinde de bitkisel kaynaklı kozmetiğe ilgiyi oldukça arttırmıştır (46).

Tüm bu yaşlanma karşıtı stratejiler ve doğal kaynaklara olan ilgi değerlendirildiğinde, çalışmamızda, *O. majorana*, *M. rotundifolia* ve *H. arenarium* subsp. *aucheri* türlerinin yaşlanma karşıtı etkinliklerini saptamak için antioksidan etkinlikleri, tirozinaz, kolajenaz, elastaz, hyaluronidaz enzimleri üzerindeki inhibitör etkileri ve fotokoruyucu etkisi *in vitro* olarak değerlendirildi. Ayrıca, bitkilerin ve bitkilerin karışımından elde edilen ekstraktlardan kozmetik formülasyon geliştirildi. Emülsiyonların avantajları değerlendirildiğinde formülasyon olarak emülsiyon seçildi. Emülsiyonların genel avantajları ise aşağıda sıralandı.

İntravenöz tedavinin bazı yan etkilerinden kaçınmak, gastrik boşalma, farklı enzimlerin varlığı, pH'daki değişiklik gibi çeşitli emilimi etkileyebilecek durumların üstesinden gelmek, emülsiyonların sağladıkları başlıca avantajlar arasındadır (146).

Hidrofobik ilaçların çoğu, etken maddenin serbest bırakılması sırasında çözünürlük engeline takıldığından doğrudan jel bazına dahil edilememektedir (223). Bu problemi çözmek için emülsiyonlar kullanılmaktadır. Emülsiyon, hidrofobik ilaçların yağ fazına dahil edilmesine yardımcı olmakta ve ardından yağlı globüller sulu fazda dağılarak emülsiyon oluşturmaktadır ve bu emülsiyon jel bazına karıştırılabilmektedir. Jel bazına karıştırılan emülsiyon sayesinde, ilacın stabilitesi artmakta ve salınımı iyileşmektedir (224).

Emülsiyon, diğer transdermal preparatlardan daha iyi stabilite göstermektedir. Tozlar doğası gereği higroskopiktir ve kremler kırılgan veya faz inversiyonu gösterirken, merhemler de aynı problemler ile karşılaşılabilir (225). Stabilitenin daha iyi olması emülsiyonun önemli avantajlarından biridir.

Nano boyutlu olan niosomlar ve lipozomlar gibi diğer yeni ilaç verme sistemleri veziküller yapılarından dolayı sızıntıya neden olabilmekte, bu da daha az ilaç yüklemesiyle sonuçlanmaktadır. Fakat, emülsiyonlar daha iyi yükleme kapasitesi ve ilaçların tutulmasını gösterebilen bir ağı sahiptir (146).

Emülsiyonların üretimi veya hazırlanması, üretim fizibilitesini artıran basit ve kısa adımlardan oluşmakta ve emülsiyon hazırlamak için özel herhangi bir ekipmana ihtiyaç

duyulmamaktadır. Ayrıca, kullanılan malzemelerin ucuz olması ve kolay temin edilebilmekte olması da üretim maliyetini düşürmekte, ulaşılabilirliği arttırmaktadır (226).

Emülgjellerin üretimi sırasında sonikasyona gerek olmadığından, veziküler moleküllerin üretimi ile ortaya çıkan ilaç bozunması sorunu çözülmektedir. Emülgjeller, daha kısa yarı ömre sahip ilaçların etkisini uzatmak için de kullanılabilirler (147).

Daha az yağlı olmaları ve cilt yüzeyine kolay sürülebilmeleri hasta uyumunu arttırmakta ve ayrıca kozmetik preparatlar için de tercih edilmelerine neden olmaktadır (145). Tüm bu avantajlar göz önüne alındığında formülasyon olarak emülgjel formülasyonu tercih edildi ve hazırlanan emülgjellere, emülgjellerin karakterizasyonu için gereken pH ve viskozite ölçümü, tekstür profil analizleri ve yayılabilirlik analizleri yapıldı.

Çalışmamızda, *O. majorana*, *M. rotundifolia* ve *H. arenarium* subsp. *aucheri* türlerinin farklı polaritedeki çözücüleriyle hazırlanan ekstrelerinin tirozinaz inhibisyon etkinlikleri değerlendirildiğinde, en yüksek etkinlik $28,14 \pm 0,74$ inhibisyon ile OM etanol ekstresinde saptanırken; HA etanol ve su ekstrelerinde ise etkinlik saptanmadı (Tablo 4.10). Emülgjellere ait tirozinaz inhibisyonu sonucuna göre ise en yüksek etkinlik $19,75 \pm 0,61$ inhibisyon ile ekstrelerin karışımı yüklenen jelde saptanırken; *O. majorana* etanol ekstresi yüklenen emülgjel ($19,66 \pm 0,59$ inhibisyon) ile etkinlikleri benzer bulundu fakat standart olarak kullanılan kojik asitle kıyaslandığında, kojik asidin antitirozinaz etkinliği üstün bulundu.

Yapılan farklı çalışmalarda, polifenoller, flavonoidler ve tanenlerin tirozinaz inhibisyon etkinlikleri gösterilmiştir (227). Yapılan bir çalışmada, aralarında *O. majorana*'nın da bulunduğu 6 bitki türü üzerinde çeşitli enzim inhibisyonu testleri yapılmış ve metanol ile hazırlanan OM yaprak ekstresinin 200 µg/mL konsantrasyondaki tirozinaz inhibisyonu $91,30 \pm 0,17$ olarak saptanmıştır. Aynı çalışmada OM'nin 2 mg/mL konsantrasyondaki SPF değeri $34,99 \pm 0,60$ olarak hesaplanmıştır (228). Çalışmamızda farklı polaritede hazırlanan 1 mg/mL konsantrasyondaki OM ekstrelerinden en yüksek tirozinaz inhibisyon etkinliği $28,14 \pm 0,74$ inhibisyon ile etanol ekstresi gösterdi. Yapılan çalışmada, bitkinin içeriğindeki fitokimyasal bileşikler bireysel olarak aydınlatılmadığından, kesin olarak karşılaştırma yapılamamakla beraber sonucun çalışmamız ile farklı olmasının sebebi bitkinin orjinine bağlı olarak, içeriğindeki

fitokimyasal madde miktarının değişmesinden kaynaklandığı düşünüldü. Ayrıca çalışmamızda, 1 mg/mL konsantrasyonda OM etanol ekstresinin SPF değeri 26,487 olarak bulunmuştur. Farklılığın çalışılan konsantrasyondan kaynaklandığı düşünüldü.

Lee ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, aralarında *O. majorana*'nın da bulunduğu Lamiaceae familyasından 28 farklı türün fitokimyasal içeriği ile cilt bakımı üzerindeki etkileri arasında ilişki kurulmuştur. Türlerin aseton ekstraktları hazırlanmış, tirozinaz inhibisyon, antioksidan ve UV ışınlarına karşı koruyucu etkinlikleri değerlendirilmiştir. Çalışılan 28 farklı tür arasından en yüksek tirozinaz inhibisyonu gösteren tür OM (IC_{50} : 0,107 mg/mL) olarak saptanmıştır. Ayrıca yine DPPH* radikal giderme aktivitesi de en yüksek tür OM olarak bulunmuştur. Bitkilerin içeriğindeki fitokimyasal bileşikler bireysel olarak aydınlatılmamış, toplam fenolik içerik, toplam kumarin içerik ve toplam flavon içerik araştırılmıştır. Toplam fenolik içerik ve kumarin içeriği en yüksek olan tür OM olarak belirlenmiş ve tirozinaz inhibisyon etkinlik ile aralarında pozitif korelasyon bulunmuştur (229).

Yapılan bir başka çalışmada, Cezayir'de hasat edilen üç farklı *Mentha* türünün; *Mentha spicata* L. (MS), *Mentha pulegium* L. (MP) ve *Mentha rotundifolia* (L.) Huds'un (MR) yaprakları n-hekzan karıştırılarak yağdan arındırılmış ve kurutulmuş ve ardından etanol ekstresi hazırlanmıştır. Hazırlanan ekstrenin polifenolik içeriği ve antitirozinaz aktivitesi *in vitro* olarak değerlendirilmiştir. *Mentha* türleri içinde en yüksek tirozinaz inhibisyon etkinliği MR göstermiştir (IC_{50} : 108 ± 20 µg/mL). Standart olarak kojik asit ile kıyaslandığında, kojik asit (IC_{50} : 23 ± 1 µg/mL) üstün bulunmuştur. Etkinliğin fenolik içerikten kaynaklanabileceği belirtilmiştir (42). Çalışmamız sonucunda da MR, kojik asitten düşük tirozinaz inhibisyon göstermiş ve sonuç mevcut literatür ile uyumlu bulunmuştur (42).

Kang ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, *Salvia miltiorrhiza* dan izole edilen rosmarinik asit ve rosmarinik asidin metil esterinin tirozinaz inhibisyonu araştırılmış ve IC_{50} değerleri sırasıyla 16,8 ve 21,5 µM olarak bulunmuştur. Standart olarak kullanılan kojik asidin IC_{50} değeri 22,4 µM olarak bulunmuş ve sonuç olarak rosmarinik asit ve rosmarinik asidin metil esterinin yüksek tirozinaz inhibisyon etkinliğe sahip olduğu saptanmıştır (230).

Çalışmamızın sonucunda da anabileşenleri rosmarinik asit, naringenin ve epikateşin olan OM etanol ekstresinin diğer türlerden yüksek tirozinaz inhibisyonu

göstermesi, bu bileşiklerin miktarı azaldıkça antitirozinaz etkinliğin düşmesi mevcut literatür ile uyumlu bulundu (230).

O. majorana, *M. rotundifolia* ve *H. arenarium* subsp. *aucheri* türlerinin farklı polaritedeki çözücülerile hazırlanan ekstrelerinin elastaz inhibisyon etkinlikleri değerlendirildiğinde, en yüksek etkinlik $49,83 \pm 1,11$ inhibisyon ile OM su ekstresinde saptanırken; en düşük etkinlik $20,81 \pm 0,8$ inhibisyon ile MR su ekstresinde saptandı (Tablo 4.11). HA etanol ve etil asetat ekstrelerinde ise etkinlik saptanmadı (Tablo 4.11). Etanol ekstreleri yüklü emüljellerin elastaz inhibisyonları ise çoktan aza doğru sırayla MRJ, KRJ, OMJ, HJ, ve HAJ olarak saptandı.

Literatür incelendiğinde son yıllarda farklı bitki türlerinin elastaz inhibisyon aktivitesini gösteren çalışmalar mevcuttur. Yapılan bir çalışmada anti-elastaz aktivitesi ile artan fenolik ve flavonoit içerik arasında doğrusal bir korelasyon olduğu rapor edilmiştir (231). Wittenauer ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada, *Vitis vinifera* ekstrelerinin kolajenaz ve elastaz inhibisyon etkileri incelenmiş, iki enzim üzerinde de etkili olduğu bulunmuş, sonuçlar HPLC analizi sonucu ana bileşen olarak bulunan gallik asit, kateşin ve epikateşin içeriğiyle ilişkilendirilmiştir (232). Şahin ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, naringenin yüklenen mikroemülsiyon formülasyonu tasarlanmış ve anti-kolajenaz, anti-elastaz, anti-tirozinaz ve anti-hyaluronidaz aktiveleri in vitro olarak değerlendirilmiştir. Naringenin, anti-elastaz ve anti-kolajenaz aktiviteleri için IC_{50} değerleri sırasıyla $43,67 \pm 0,08$ µg/mL ve $33,88 \pm 0,04$ µg/mL olarak bulunurken, naringenin yüklü formülasyonun anti-elastaz ve anti-kolajenaz aktiviteleri için IC_{50} değerleri sırasıyla $31,98 \pm 0,15$ µg/mL ve $39,99 \pm 0,19$ µg/mL olarak saptanmış ve sonuçların pozitif kontrol ile yakın olduğu bulunmuştur. Çalışmanın sonucunda tasarlanan formülasyonun yaşlanma karşıtı etkinlik için kullanılabileceği belirtilmiştir (233). Bir başka çalışmada, *Helichrysum stoechas* (L.) Moench ve *H. stoechas* subsp. *barrelieri* (Ten) Nyman bitkilerinin kolajenaz ve elastaz enzim inhibisyonları incelenmiş ve sonuçta bitkilere ait su ekstrelerinde orta derece etkinlik bulunurken, etanol ile hazırlanan ekstrelerde düşük etki görülmüş ya da etkinlik bulunmamıştır (234). Çalışmamızda da benzer şekilde HA etanol ve etil asetat ekstresinde ve etanol ekstresi ile hazırlanan emüljelde elastaz inhibisyon etkinliği saptanmadı. 5 farklı *Salvia* türü üzerinde yapılan bir çalışmada, içerik analizi LC/MS-MS ile yapılmış ve tüm ekstrelerde ana bileşen rosmarinik asit olarak saptanmıştır. *S. viridis* ($29,76 \pm 0,15$ inhibisyon) ve *S.*

aytatchii (%28,26 $\pm$ 0,17 inhibisyon) diğer türlere göre daha yüksek elastaz inhibisyon etkinliği göstermiş ancak her iki türün de standart olarak kullanılan oleanolik aside göre (%59,98 $\pm$ 1,06) daha düşük etkinlik gösterdiği saptanmıştır. Karatoprak ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada, *Salvia aramiensis* metanol ekstresi ile hazırlanan nanolipozom formülasyonun antioksidan, antikolajenaz ve antielastaz etkinlikleri değerlendirilmiştir. Bitkinin kimyasal kompozisyonu LC/MS-MS metoduyla aydınlatılmış ve anabilesik rosmarinik asit olarak saptanmıştır. Hazırlanan formülasyonun ve rosmarinik asidin antikolajenaz ve antielastaz etkinliklerinin %50 den fazla inhibisyon gösterdiği saptanmıştır (235). Yapılan başka bir çalışmada, *Helichrysum armenium* subsp. *armenium*' un metanol, etil asetat ve n-hekzan ekstraktlarının elastaz, tirozinaz ve lipooksijenaz inhibisyon etkinlikleri değerlendirilmiş ve tüm ekstraktların elastaz inhibisyon etkinliği düşük (%13-24 inhibisyon) bulunmuştur. Metanol ve etil asetat ekstraktlarında tanımlanan ana bileşenler ise astragalin, kinik asit, apigenin-7-glikozit, izokersitrin, klorojenik asit, naringenin, apigenin ve luteolin-7-glikozit olduğu saptanmıştır. Tirozinaz inhibisyon etkinin sonuçları değerlendirildiğinde ise tüm ekstraktlar tirozinaz inhibisyon aktivitesi göstermiş, en yüksek etkinlik etil asetat ekstresinde (IC₅₀: 460 μ g/mL) saptanmıştır (236).

Çalışmamızın sonucunda etanol ekstraktları ve etanol ekstraktları yüklü emülsiyonlar arasında en yüksek elastaz inhibisyonu sağlayan ekstrakt KR (%45,88 $\pm$ 0,30 inhibisyon) olarak saptanırken; en yüksek elastaz inhibisyonu sağlayan emülsiyon ise MRJ (%57,78 $\pm$ 0,13 inhibisyon) olup, onu KRJ'nin anti-elastaz etkinliği (%37,71 $\pm$ 0,17 inhibisyon) izledi. KR' nin emülsiyonla yüklendiğinde ekstrakt naringenin içerirken, emülsiyon formülasyonuna naringenin yüklenememesi ve rosmarinik asit miktarının düşmesi kaynaklı olduğu düşünülmektedir (Tablo 4.9). KR ve MR ekstraktları için elastaz inhibisyon etkinliği ana bileşenler olan rosmarinik asit ve naringenin kaynaklı olduğu saptandı. Sonuçlar mevcut literatürle uyumlu bulundu (233,235).

Kolajenaz inhibisyon etkinliği değerlendirildiğinde, *O. majorana*, *M. rotundifolia* ve *H. arenarium* subsp. *aucheri* türlerinin etanol ekstraktlarının kolajenaz inhibisyon aktivitesi sırasıyla %20,19, %63,91 ve %46,04 olarak belirlendi (Tablo 4.12). Sonuçlara göre üç bitki içinden en yüksek kolajenaz inhibisyon aktivitesini gösteren bitki *M. rotundifolia* oldu. *O. majorana*, *M. rotundifolia* ve *H. arenarium* subsp. *aucheri* etanol

ekstresi yüklü emülgellerin kolajenaz inhibisyon aktivitesi ise sırasıyla; %18,48, %28,95 ve %27,89 olarak saptandı.

Literatüre bakıldığında son yıllarda farklı bitki türlerinin kolajenaz inhibisyon aktivitesini gösteren çalışmalar mevcuttur. Bu çalışmalara göre kolajenaz inhibisyonunun sorumlu maddeler polifenoller ve flavonoidlerdir. Bazı flavon, flavanon, flavanol ve izoflavon bileşiklerinin kolajenaz inhibitör potansiyelinin araştırıldığı bir çalışmada, flavanol yapısındaki bileşiklerin flavon ve izoflavon yapısındaki bileşiklere göre daha güçlü bir inhibisyon gösterdiği dolayısıyla C-3 pozisyonundaki OH grubunun etkisinin inhibisyon mekanizması açısından önemli olabileceğinin altını çizmiştir (237). Ayrıca test edilen bileşikler arasından en etkili ise flavonol yapıda olan kuersetin olarak görülmüştür (237). Yapılan farklı çalışmalarda, fenolik bileşiklerden özellikle klorojenik asidin iyi bir kolajenaz inhibitörü olduğunu gösteren çalışmalar mevcuttur (166,184,238). Barak ve arkadaşlarının *Achillea clypeolata*'nın metanol ekstresi ile yaptığı çalışmada, ekstrenin fenolik bileşiklerce zengin olduğu ve ana bileşenlerinin de klorojenik asit, hesperidin ve hiperozit olduğu bulunmuş, anti-kolajenaz, anti-elastaz ve anti-hyaluronidaz etkinliği klorojenik asit bileşeni ile ilişkilendirilmiştir (166). Literatürde antiinflamatuvar, antikanser, antioksidan ve DNA koruyucu özellikleri belirlenen naringenin cilt üzerindeki etkileri de araştırılmıştır. HaCaT hücre hattı üzerinde yapılan çalışmada, naringenin UVB ışınlarının sebep olduğu, sitokin üretimi, miyeloperoksidaz aktivitesi, oksidatif stres ve MMP-9 aktivitesinden koruduğu ve bu sayede cilt yaşlanmasına karşı koruma gösterdiği saptanmıştır (239). Bir başka çalışma grubunun yaptığı araştırmada, naringenin yüklene mikroemülsiyon formülasyonu tasarlanmış ve anti-kolajenaz, anti-elastaz, anti-tirozinaz ve anti-hyaluronidaz aktiveleri in vitro olarak değerlendirilmiştir. Çalışmanın sonucunda naringenin tirozinaz inhibisyonu $53,29 \pm 0,01$ olarak bulunurken, naringenin yüklü formülasyonun tirozinaz inhibisyonu $51,98 \pm 0,15$ olarak bulunmuştur. Naringenin, anti-elastaz ve anti-kolajenaz aktiviteleri için IC_{50} değerleri sırasıyla $43,67 \pm 0,08$ µg/mL ve $33,88 \pm 0,04$ µg/mL olarak bulunurken, naringenin yüklü formülasyonun anti-elastaz ve anti-kolajenaz aktiviteleri için IC_{50} değerleri sırasıyla $31,98 \pm 0,15$ µg/mL ve $39,99 \pm 0,19$ µg/mL olarak saptanmış ve sonuçların pozitif kontrol ile yakın olduğu bulunmuştur. Çalışmanın sonucunda tasarlanan formülasyonun yaşlanma karşıtı etkinlik için kullanılabileceği belirtilmiştir (233). Yapılan bir başka çalışmada, rosmarinik asidin muhtemelen metaloproteinaz aktivitesinin inhibisyonu yoluyla kolajen veya elastin

birikimini artırma yeteneğine sahip olduğu belirlenmiştir (240). Ana bileşenleri allantoin, rosmarinik asit, rabdosiin, and globoidnan A olarak belirlenen *Symphytum officinale*'nin anti-aging etkileri araştırılmak üzere yapılan bir çalışmada ise biyolojik olarak aktif maddelerin geniş spektrumuna ve yüksek antioksidan kapasitesine rağmen, kolajenaz ve elastaz aktivitesinin *S. officinale* ekstraktları tarafından inhibisyonu nispeten düşük olduğu saptanmıştır. Yüksek fenolik bileşik ve flavonoit içeriğine rağmen matris metaloproteinazların aktivitesini engelleme yeteneği göstermeyen çok sayıda bitkinin analizinde de benzer sonuçlar elde edilmiştir. Bu eğilim hem bireysel bileşiklerin kimyasal doğasıyla hem de bireysel ekstraktlarda bulunan tüm bileşikler arasındaki etkileşimlerle ilişkili olabilmektedir (241).

Çalışmamızın sonucunda en yüksek kolajenaz inhibisyonu sağlayan tür hem ekstreler arasında hem de formülasyonlar arasında *M. rotundifolia* (%63,91 $\pm$ 0,40 inhibisyon) olarak saptanırken onu, %58,18 $\pm$ 0,41 inhibisyon ile KR ekstresi izledi. Her iki ekstre de standart olarak kullanılan EGCG'nin anti-kolajenaz aktivitesi (%51,85 $\pm$ 1,8 inhibisyon) ile karşılaştırıldığında, standart olarak kullanılan EGCG'den üstün bulundu. İçerik olarak her iki ekstrenin ana bileşenleri rosmarinik asit ve naringenin olarak saptandı (Tablo 4.6 ve Tablo 4.8). *M. rotundifolia*'nın etil asetat ve su ekstraktlarına bakıldığında bu bileşenlerin oranının düşmesi, anti-kolajenaz aktivitenin düşmesini destekledi. Literatür ile karşılaştırıldığında, etkiden bu iki bileşiğin sorumlu tutulması, mevcut literatür ile uyumlu bulundu(233,240).

O. majorana, *M. rotundifolia* ve *H. arenarium* subsp. *aucheri* türlerinin farklı polaritedeki çözücülerıyla hazırlanan ekstraktlarının hyaluronidaz inhibisyon etkinlikleri değerlendirildiğinde, en yüksek etkinlik %51,64 $\pm$ 0,26 inhibisyon ile MR etanol ekstresinde saptanırken; en düşük etkinlik %9,14 $\pm$ 0,03 inhibisyon ile HA su ekstresinde saptandı (Tablo 4.13). HA etanol ve etil asetat ekstraktlarında ise etkinlik saptanmadı (Tablo 4.13). Etanol ekstraktları yüklü emülsiyonların hyaluronidaz inhibisyonları ise çoktan aza doğru sırayla MRJ, KRJ, OMJ, HJ, ve HAJ olarak saptandı. Standart madde olarak kullanılan tannik asidin (1mg/mL) hyaluronidaz inhibisyonu ise örneklerden üstün olarak %80,6 $\pm$ 0,59 olarak bulundu.

Chaiyana ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada, *Thunbergia laurifolia* Lindl yapraklarından hazırlanan su ve etanol ekstraktlarının kozmetik endüstrisindeki potansiyel kullanımı araştırılmak üzere antioksidan ve antihyaluronidaz etkinliği

değerlendirilmiştir. Çalışmanın sonucunda ekstrelerin içerdiği ana bileşen rosmarinik olarak saptanmıştır. Antihiyaluronidaz etkinliğin rosmarinik asit miktarı ve toplam flavonoit miktarı daha fazla olan etanol ekstresinde daha yüksek olduğu bulunmuştur. Antihiyaluronidaz etkinlik, rosmarinik asit ve yüksek flavonoit miktarı ile ilişkilendirilmiştir (195).

Ayrıca yapılan farklı çalışmalarda, bitki ekstrelerinin içerdikleri polifenollerin antihiyaluronidaz etkinlik gösterdikleri saptanmıştır (242–244). Fenolik bileşiklerin, özellikle klorojenik asit, rutin ve kuersetin'in yüksek hyaluronidaz inhibitör etkinlik gösterdiği birçok çalışmayla gösterilmiştir (166,184).

Çalışmamız sonucuna göre emüljeller arasında antihiyaluronidaz etkinlik değerlendirildiğinde çoktan aza doğru sırayla MRJ, KRJ, OMJ, HJ, ve HAJ saptanmışken, rosmarinik asit miktarları ise g jel başına mg rosmarinik asit olarak hesaplanmış ve sırasıyla, 63,878, 23,195, 14,321, 19,189 ve 0 olarak bulunmuştur. Rosmarinik asit miktarında azalışa bağlı etkinlik düşmüş fakat sadece OMJ ile HJ arasında tersi bir durum saptanmıştır. Bunun sebebi olarak da OMJ'nin içeriğinde bulunan naringenin ve epikateşin miktarının HJ'den fazla olması ve bileşiklerin arasında oluşabilecek sinerjik etkiyle açıklanabilir. Etkinlikten sorumlu ana bileşenin ise rosmarinik asit olabileceği düşünüldü ve sonuç mevcut literatür ile uyumlu bulundu (195).

Ayrıca, standart olarak kullanılan tannik asidin hyaluronidaz inhibisyonunun ekstrelerden üstün olması, yapılan farklı çalışmalarda da rapor edilmiştir (245). Ekstrelerin içeriğinde birden fazla bileşik olması, bu bileşiklerin kendi aralarında sinerjik etki göstererek biyolojik aktivitelerde artma gösterebileceği gibi, antagonist etki göstererek birbirlerinin aktivitelerini de düşürebilmektedirler.

Mevcut literatürde, güneşten koruyucu faktör (SPF) ölçülerek fotokoruyucu etkinliğibelirlenen bitkilerin genellikle bu etkinliklerinin içerdikleri polifenoller ve özellikle flavonoitler tarafından sağlandığı belirlenmiştir (246).

Yapılan bir çalışmada, Cezayir'in Mila ve Jijel bölgelerinde toplananan *M. rotundifolia*'nın topraküstü kısımları ve kökleri birbirinden ayrılmış ve etanol ile ekstrakte edilen örneklerin çeşitli biyolojik aktiviteleri ve SPF değerleri saptanarak değerlendirilmiştir. Ekstrelerin ana bileşenleri rosmarinik asit, kuinik asit ve salvianolik asit olarak saptanmıştır. Fenolik içerikleri karşılaştırıldığında Mila bölgesinden toplanan

örneklerin daha yüksek miktarda fenolik bileşen içerdiği saptanmıştır. Bunun nedeninin de iklim farklılığı ve toprak olarak belirtilmiştir. SPF değerleri değerlendiren örneklerin SPF değerleri $35,70 \pm 0,07 - 39,49 \pm 1,42$ arasında bulunmuş, farklılık fenolik içerikteki miktar farklılığına bağlanmıştır (83). Çalışmamız sonucuna göre ise MR toprak üstü etanol ekstresinin SPF değeri 26,280 olarak bulunurken, MR toprak üstü etanol ekstresi yüklenen jelin SPF değeri 24,708 olarak saptandı. Literatür ile farklılığın sebebi farklı bölgelerde yetişen bitkilerin iklim ve toprak yapısına bağlı olarak içerdikleri bileşiklerin miktarlarının farklı olması ile açıklanması doğru olacaktır. Ayrıca MRJ'nin SPF değerinin MR'den daha düşük olması da fenolik etken madde miktarında azalmasına bağlı olarak, mevcut literatürdeki sonuç ile uyumludur (83).

Çalışmamızın sonucuna göre (SPF) sonuçları değerlendirildiğinde; en yüksek SPF değerine sahip olan bitki ekstresi 26,487 ile OM olarak bulunurken, en düşük SPF değerine sahip bitki ekstresi 24,226 ile KR olarak bulundu. MR ve HA'nın SPF değerleri ile sırasıyla; 26,280 ve 25,764 olarak saptandı (Tablo 4.17). Çalışmamızın sonucuna göre, bulunan SPF değeriyle bitki ekstrelerinin güneşten koruma etkinliklerinin olduğu belirlendi ve sonuçlar mevcut literatürler ile uyumlu bulundu (175,176,247).

6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Çalışmamız, *O. majorana*, *M. rotundifolia* ve *H. arenarium* subsp. *aucheri* türlerinin toprak üstü ekstraktları ile geliştirilen emülsiyonları ve bu ekstraktların cilt üzerinde yaşlanma belirtilerini geciktirmek amacıyla kullanılabileceği in vitro olarak yapılan deneyler ile ortaya koymaktadır. Çalışmamız, *O. majorana*, *M. rotundifolia* ve *H. arenarium* subsp. *aucheri* ekstraktlarının emülsiyon formunda antitirozinaz, anti-kolajenaz, anti-elastaz ve anti-hyaluronidaz ve fotokoruyucu etkilerini ortaya koyan ilk çalışmadır.

Çalışmamızın sonucu, *Origanum*, *Mentha* ve *Helichrysum* cinslerinin halk arasında geleneksel olarak kullanımı desteklemekte ve *O. majorana*, *M. rotundifolia* ve *H. arenarium* subsp. *aucheri* türlerinden elde edilen ekstraktlarla oluşturulan emülsiyonların sentetik etken maddeler içeren kozmetik ürünlerin yerine geçebileceğini ortaya koymaktadır. Çalışmamızın sonucunda, elde edilen verilerin literatüre katkılarının yanı sıra doğal kaynaklı yeni kozmetik ürün geliştirilmesine de katkı sağlayabileceği düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

1. Gebelin, C. G. (1997). *Chemistry and our life*, Graphic World Publishing Services, United States of America
2. Patkar, K. B. (2008). Herbal cosmetics in ancient India. *Indian J Plast Surg Supplement*
3. Charles Dorni, A. I., Amalraj, A., Gopi, S., Varma, K., and Anjana, S. N. (2017). Novel cosmeceuticals from plants—An industry guided review. *J Appl Res Med Aromat Plants*. 7, 1–26
4. Mukherjee, P. K., Maity, N., Nema, N. K., and Sarkar, B. K. (2011). Bioactive compounds from natural resources against skin aging. *Phytomedicine*. 19, 64–73
5. Zouboulis, C. C., Ganceviciene, R., Liakou, A. I., Theodoridis, A., Elewa, R., and Makrantonaki, E. (2019). Aesthetic aspects of skin aging, prevention, and local treatment. *Clin Dermatol*. 37, 365–372
6. Poljšak, B., and Dahmane, R. (2012). Free radicals and extrinsic skin aging. *Dermatol Res Pract*. 10.1155/2012/135206
7. Nishigori, C., Hattori, Y., Arima, Y., and Miyachi, Y. (2003). Photoaging and oxidative stress. *Exp Dermatol*. 12 Suppl 2, 18–21
8. Baumann, L. (2007) Skin ageing and its treatment. *Journal of Pathology*. 211, 241–251
9. Elmastas, M., Ozturk, L., Gokce, I., Erenler, R., and Aboul-Enein, H. Y. (2011) Determination of Antioxidant Activity of Marshmallow Flower (*Althaea officinalis* L.). <https://doi.org/10.1081/AL-120039431>. 37, 1859–1869
10. Michalak, M. (2022). Plant-Derived Antioxidants: Significance in Skin Health and the Ageing Process. *Int J Mol Sci*. 10.3390/ijms23020585
11. Lianza, M., Mandrone, M., Chiocchio, I., Tomasi, P., Marincich, L., and Poli, F. (2020). Screening of ninety herbal products of commercial interest as potential ingredients for phytocosmetics. *J Enzyme Inhib Med Chem*. 35, 1287–1291
12. Aburjai, T., and Natsheh, F. M. (2003). Plants Used in Cosmetics. *Phytotherapy Research*. 17, 987–1000
13. Selvi, S., Polat, R., Çakılcıoğlu, U., Celep, F., Dirmenci, T., and Ertuğ, Z. F. (2022) An ethnobotanical review on medicinal plants of the Lamiaceae family in Turkey. *Turk J Botany*. 46, 283–332
14. Frezza, C., Venditti, A., Serafini, M., and Bianco, A. (2019). Phytochemistry, Chemotaxonomy, Ethnopharmacology, and Nutraceuticals of Lamiaceae. in *Studies in Natural Products Chemistry*, pp. 125–178, Elsevier B.V., 62, 125–178
15. Bizim bitkiler. (internette) 2023, 2 Şubat. Erişim <https://bizimbitkiler.org.tr/yeni/demos/technical/>
16. Davis, P. H. (1975) *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*, Edinburgh University Press
17. Vasudeva, N. (2015). *Origanum majorana* L.-Phyto-pharmacological review. *Indian J Nat Prod Resour*. 6, 261–267
18. Davis, P. H. (1982) *Flora of Turkey and East Aegean Islands*, University of Edinburgh
19. Bhat, S., Maheshwari, P., Kumar, S., and Kumar, A. (2002). *Mentha* species: In vitro Regeneration and Genetic Transformation. *Molecular Biology Today*. 3, 11–23
20. Nguyen, D. T. C., Le, H. T. N., Nguyen, T. T., Nguyen, T. T. T., Liew, R. K., Bach, L. G., Nguyen, T. D., Vo, D. V. N., and Tran, T. Van (2021). Engineering conversion of Asteraceae plants into biochars for exploring potential applications: A review. *Science of the Total Environment*. 10.1016/j.scitotenv.2021.149195
21. Lourens, A. C. U., Viljoen, A. M., and van Heerden, F. R. (2008). South African *Helichrysum* species: A review of the traditional uses, biological activity and phytochemistry. *J Ethnopharmacol*. 119, 630–652
22. Perrini, R., Morone-Fortunato, I., Lorusso, E., and Avato, P. (2009). Glands, essential oils and in vitro establishment of *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don ssp. *microphyllum* (Willd.) Nyman. *Ind Crops Prod*. 29, 395–403
23. Tanker, N., and Sezik, G. (1978). Türkiye’de Yetişen *Helichrysum* Türleri Üzerinde Farmasötik Botanik Yönünden Araştırmalar. Researches on Species of *Helichrysum* Growing in Turkey, from the Point of view of Pharmaceutical Botany.
24. Özdemir, E., and Alpınar, K. (2015). An ethnobotanical survey of medicinal plants in western part of central Taurus Mountains: Aladaglar (Nigde - Turkey). *J Ethnopharmacol*. 166, 53–65
25. Tuzlacı, E. (2016). *Türkiye Bitkileri Geleneksel İlaç Rehberi*, İstanbul Tıp Kitabevleri, İstanbul
26. *Traditional Medicine in Turkey 111. Folk Medicine in East Anatolia, Van and Bitlis Provinces*

27. Sellami, I. H., Maamouri, E., Chahed, T., Wannes, W. A., Kchouk, M. E., and Marzouk, B. (2009). Effect of growth stage on the content and composition of the essential oil and phenolic fraction of sweet marjoram (*Origanum majorana* L.). *Ind Crops Prod.* 30, 395–402
28. Bâ, O., Mahmoudi, H., Tarchoun, I., Nasri, N., Trabelsi, N., Kaddour, R., Zaghdoudi, M., Hamdawi, G., Ksouri, R., Lachâ Al, M., and Marzouk, B. (2013). Salt effect on phenolics and antioxidant activities of Tunisian and Canadian sweet marjoram (*Origanum majorana* L.) shoots. *J Sci Food Agric.* 93, 134–141
29. Dhull, S. B., Kaur, P., and Purewal, S. S. (2016). Phytochemical analysis, phenolic compounds, condensed tannin content and antioxidant potential in Marwa (*Origanum majorana*) seed extracts. *Resource-Efficient Technologies.* 2, 168–174
30. Makrane, H., El Messaoudi, M., Melhaoui, A., El Mzibri, M., Benbacer, L., and Aziz, M. (2018). Cytotoxicity of the Aqueous Extract and Organic Fractions from *Origanum majorana* on Human Breast Cell Line MDA-MB-231 and Human Colon Cell Line HT-29. *Adv Pharmacol Sci.* 10.1155/2018/3297193
31. Adam, S. I. Y. (2015) Phytochemical Screening and Biological effect of Indigenous Medicinal plant *Origanum majorana* extracts. 2023, 1 Ağustos. (internette) Erişim 01.08.2023. <https://www.researchgate.net/publication/279872461>
32. Bouyahya, A., Chamkhi, I., Benali, T., Guaouguaou, F. E., Balahbib, A., El Omari, N., Taha, D., Belmehdi, O., Ghokhan, Z., and El Meniyi, N. (2021). Traditional use, phytochemistry, toxicology, and pharmacology of *Origanum majorana* L. *J Ethnopharmacol.* 10.1016/j.jep.2020.113318
33. Makrane, H., Aziz, M., Berrabah, M., Mekhfi, H., Ziyat, A., Bnouham, M., Legssyer, A., Kouoh Elombo, F., Gressier, B., and Eto, B. (2018). Myorelaxant Activity of essential oil from *Origanum majorana* L. on rat and rabbit. 10.1016/j.jep.2018.08.036
34. Méabed, E. M. H., El-Sayed, N. M., Abou-Sreya, A. I. B., and Roby, M. H. H. (2018). Chemical analysis of aqueous extracts of *Origanum majorana* and *Foeniculum vulgare* and their efficacy on *Blastocystis* spp. cysts. 10.1016/j.phymed.2018.04.017
35. Taamalli, A., Arráez-Román, D., Abaza, L., Iswaldi, I., Fernández-Gutiérrez, A., Zarrouk, M., and Segura-Carretero, A. (2015). LC-MS-based metabolite profiling of methanolic extracts from the medicinal and aromatic species *Mentha pulegium* and *Origanum majorana*. *Phytochemical Analysis.* 26, 320–330
36. Dhull, S. B., Kaur, P., and Singh Purewal, S. (2016). Phytochemical analysis, phenolic compounds, condensed tannin content and antioxidant potential in Marwa (*Origanum majorana*) seed extracts-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>). 10.1016/j.refit.2016.09.003
37. Roby, M. H. H., Sarhan, M. A., Selim, K. A. H., and Khalel, K. I. (2013). Evaluation of antioxidant activity, total phenols and phenolic compounds in thyme (*Thymus vulgaris* L.), sage (*Salvia officinalis* L.), and marjoram (*Origanum majorana* L.) extracts. *Ind Crops Prod.* 43, 827–831
38. Abbasi-Maleki, S., Kadkhoda, Z., and Taghizad-Farid, R. (2020). The antidepressant-like effects of *Origanum majorana* essential oil on mice through monoaminergic modulation using the forced swimming test. *J Tradit Complement Med.* 10, 327–335
39. Amor, G., Caputo, L., La Stora, A., De Feo, V., Mauriello, G., and Fechtali, T. (2019). Chemical composition and antimicrobial activity of *artemisia herba-alba* and *origanum majorana* essential oils from Morocco. *Molecules.* 10.3390/molecules24224021
40. El-Akhal, F., El, A., Lalami, O., Zoubi, Y. E., Greche, H., Guemmouh, R., Ouali, E., and Abdelhakim, L. (2014). Chemical composition and larvicidal activity of essential oil of *Origanum majorana* (Lamiaceae) cultivated in Morocco against *Culex pipiens* (Diptera: Culicidae) Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine. *Document heading Asian Pac J Trop Biomed.* 4, 746–750
41. Kecis, H., Abdelouahab, Y., Bagues, M., Gali, L., Mekircha, F., Alloun, W., and Nagaz, K. (2023). Phenolic profile and bioactivity of the aerial part and roots of *Mentha rotundifolia* L. grown in two different localities in northeastern Algeria: A comparative study. *Biocatal Agric Biotechnol.* 47, 102581
42. Fatiha, B., Didier, H., Naima, G., Khodir, M., Martin, K., Léocadie, K., Caroline, S., Mohamed, C., and Pierre, D. (2015). Phenolic composition, in vitro antioxidant effects and tyrosinase inhibitory activity of three Algerian *Mentha* species: *M. spicata* (L.), *M. pulegium* (L.) and *M. rotundifolia* (L.) Huds (Lamiaceae). *Ind Crops Prod.* 74, 722–730
43. Alharbi, N. K., Naghmouchi, S., and Al-Zaban, M. (2021). Evaluation of Antimicrobial Potential and Comparison of HPLC Composition, Secondary Metabolites Count, and Antioxidant Activity of *Mentha rotundifolia* and *Mentha pulegium* Extracts. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine.* 10.1155/2021/9081536

44. Brahmi, F., Abdenour, A., Bruno, M., Silvia, P., Alessandra, P., Danilo, F., Drifa, Y. G., Fahmi, E. M., Khodir, M., and Mohamed, C. (2016). Chemical composition and in vitro antimicrobial, insecticidal and antioxidant activities of the essential oils of *Mentha pulegium* L. and *Mentha rotundifolia* (L.) Huds growing in Algeria. *Ind Crops Prod.* 88, 96–105
45. Yahia, I. B. H., Zaouali, Y., Ciavatta, M. L., Ligresti, A., Jaouadi, R., Boussaid, M., and Cutignano, A. (2019). Polyphenolic Profiling, Quantitative Assessment and Biological Activities of Tunisian Native *Mentha rotundifolia* (L.) Huds. *Molecules* 2019, Vol. 24, Page 2351. 24, 2351
46. Jarzycka, A., Lewińska, A., Gancarz, R., and Wilk, K. A. (2013). Assessment of extracts of *Helichrysum arenarium*, *Crataegus monogyna*, *Sambucus nigra* in photoprotective UVA and UVB; Photostability in cosmetic emulsions. *J Photochem Photobiol B.* 128, 50–57
47. Kurkina, A. V., Ryzhov, V. M., and Avdeeva, E. V (2012) *Medicinal Plants Assay Of Isosalipurposide In Raw Material And Drugs From The Dwarf Everlast (Helichrysum arenarium)*
48. Hänsel, R., and Heise, D. (1959). Zwei diastereomere Naringen-B-D-glukoside aus Flores Stoechados. *Arch. Pharm.* 292, 398–411
49. Sroka, Z., Kuta, I., Cisowski, W., Drys'b, A., and Drys'b, D. (2004). *Antiradical Activity of Hydrolyzed and Non-hydrolyzed Extracts from Helichrysi inflorescentia and its Phenolic Contents*
50. Albayrak, S., Aksoy, A., Sağdıç, O., and Budak, Ü. (2010). Phenolic compounds and antioxidant and antimicrobial properties of *Helichrysum* species collected from eastern Anatolia, Turkey. *Turkish Journal of Biology.* 34, 15
51. Yong, F., Aisa, H. A., Mukhamatkhanova, R. F., Shamc C C C Cyanov, I. D., Levkovich, M. G., and Yunusov, S., Yu (2011). *New Flavanone and Other Constituents of Helichrysum arenarium Indigenous to China*
52. Albayrak, S., Aksoy, A., Sagdic, O., and Hamzaoglu, E. (2010). Compositions, antioxidant and antimicrobial activities of *Helichrysum* (Asteraceae) species collected from Turkey. *Food Chem.* 119, 114–122
53. Morikawa, T., Wang, L.-B., Ninomiya, K., Nakamura, S., Matsuda, H., Muraoka, O., Wu, L.-J., and Yoshikawa, M. (2009). *Medicinal Flowers. XXX. 1) Eight New Glycosides, Everlastosides F-M, from the Flowers of Helichrysum arenarium*
54. Yang, Y., Huang, Y., Gu, D., Yili, A., Sabir, G., and Aisa, H. A. (2009). Separation and purification of three flavonoids from *helichrysum arenarium* (L.) Moench by HSCCC. *Chromatographia.* 69, 963–967
55. Czinner, E., Hagymási, K., Blázovics, A., Kéry, A. ', Szo3 Ke, ', and Lemberkovics, ' (2000). *In vitro antioxidant properties of Helichrysum arenarium (L.) Moench*
56. Babotă, M., Mocan, A., Vlase, L., Cris, O., Ielciu, I., Gheldiu, A.-M., Cristian Vodnar, D., Cris, G., and Păltinean, R. (2018). Phytochemical Analysis, Antioxidant and Antimicrobial Activities of *Helichrysum arenarium* (L.) Moench. and *Antennaria dioica* (L.) Gaertn. *Flowers. Molecules.* 10.3390/molecules23020409
57. Yang, J., Qi, Y., Li, H., Jiang, M., Zhu, Y., Xue, R., Yu, L., Chen, W., and Bo Han (2021). Determination of Quinic Acids in *Helichrysum arenarium* (L.) Moench by Ultrafiltration Affinity and Ultra-High-Performance Liquid Chromatography Coupled with Quadrupole-Time-of-Flight Mass Spectrometry (UF-UPLC-Q-TOF-MS). *Anal Lett.* 54, 772–789
58. Tıǧlı Kaytanlıoǧlu, E. H., Özderin, S., Fakir, H., and Gümüşay, E. (2021). Determination of Volatile Components of *Helichrysum arenarium* subsp. *aucheri* Naturally Distributed in Two Different Regions. *European Journal of Science and Technology.* 10.31590/ejosat.887605
59. Judzentiene, A., and Butkiene, R. (2006). Chemical composition of the essential oils of wild *helichrysum arenarium* (L.) with differently colored inflorescences from eastern Lithuania. *Journal of Essential Oil Research.* 18, 80–83
60. Liu, X., Jing, X., and Li, G. (2019). A process to acquire essential oil by distillation concatenated liquid-liquid extraction and flavonoids by solid-liquid extraction simultaneously from *Helichrysum arenarium* (L.) Moench inflorescences under ionic liquid-microwave mediated. *Sep Purif Technol.* 209, 164–174
61. Mossa, A. T. H., Heikal, T. M., Mohafrash, S. M. M., and Refaie, A. A. (2015). Antioxidant potential and hepatoprotective activity of *Origanum majorana* leaves extract against oxidative damage and hepatotoxicity induced by pirimiphos-Methyl in male mice. *Journal of Applied Sciences.* 15, 69–79
62. Erenler, R., Sen, O., Aksit, H., Demirtas, I., Yaglioglu, A. S., Elmastas, M., and Telci, I. (2016). Isolation and identification of chemical constituents from *Origanum majorana* and investigation of antiproliferative and antioxidant activities. *J Sci Food Agric.* 96, 822–836

63. Khadhri, A., Bouali, I., Aouadhi, C., Lagel, M. C., Masson, E., and Pizzi, A. (2019). Determination of phenolic compounds by MALDI–TOF and essential oil composition by GC–MS during three development stages of *Origanum majorana* L. *Biomedical Chromatography*. 10.1002/bmc.4665
64. Benslama, A., Daci, S., Nabti, L. Z., Bendif, H., and Harrar, A. (2021). Assessment of polyphenols contents, antibacterial and antioxidant activities of *Origanum majorana* extracts. *European Journal of Biological Research Research Article European Journal of Biological Research*. 11, 509–518
65. Partovi, R., Talebi, F., and Sharifzadeh, A. (2018). Antimicrobial Efficacy and Chemical Properties of *Caryophyllus aromaticus* and *Origanum majorana* Essential Oils Against Foodborne Bacteria Alone and in Combination. *Int J Enteric Pathog*. 6, 95–103
66. Duletić-Laušević, S., Aradski, A. A., Kolarević, S., Vuković-Gačić, B., Oalde, M., Živković, J., Šavikin, K., and Marin, P. D. (2018). Antineurodegenerative, antioxidant and antibacterial activities and phenolic components of *Origanum majorana* L. (Lamiaceae) extracts. *Journal of Applied Botany and Food Quality*. 91, 126–134
67. Vági, E., Simándi, B., Suhajda, Á., and Héthelyi, É. (2005). Essential oil composition and antimicrobial activity of *Origanum majorana* L. extracts obtained with ethyl alcohol and supercritical carbon dioxide. *Food Research International*. 38, 51–57
68. Piasecki, B., Balázs, V. L., Kieltyka-Dadasiewicz, A., Szabó, P., Kocsis, B., Horváth, G., and Ludwiczuk, A. (2023). Microbiological Studies on the Influence of Essential Oils from Several *Origanum* Species on Respiratory Pathogens. *Molecules*. 10.3390/molecules28073044
69. Al-Howiriny, T., Alsheikh, A., Alqasoumi, S., Al-Yahya, M., Eltahir, K., and Rafatullah, S. (2009). *Protective Effect of Origanum majorana* L. “Marjoram” on Various Models of Gastric Mucosal Injury in Rats
70. Pimple, B. P., Kadam, P. V., and Patil, M. J. (2012). Ulcer healing properties of different extracts of *Origanum majorana* in streptozotocin-nicotinamide induced diabetic rats. *Asian Pac J Trop Dis*. 2, 312–318
71. Perez Gutierrez, R. M. (2012). Inhibition of advanced glycation end-product formation by *Origanum majorana* L. in vitro and in streptozotocin-induced diabetic rats. *Evidence-based Complementary and Alternative Medicine*. 10.1155/2012/598638
72. Hajlaoui, H., Mighri, H., Aouni, M., Gharsallah, N., and Kadri, A. (2016). Chemical composition and in vitro evaluation of antioxidant, antimicrobial, cytotoxicity and anti-acetylcholinesterase properties of Tunisian *Origanum majorana* L. essential oil. *Microb Pathog*. 95, 86–94
73. Makrane, H., El Messaoudi, M., Melhaoui, A., El Mzibri, M., Benbacer, L., and Aziz, M. (2018). Cytotoxicity of the Aqueous Extract and Organic Fractions from *Origanum majorana* on Human Breast Cell Line MDA-MB-231 and Human Colon Cell Line HT-29. *Adv Pharmacol Sci*. 10.1155/2018/3297193
74. Abou- Seif, H. S., and Hozayen, W. G. (2023). *Origanum majorana* L. extract alleviates dexamethasone-induced hepatotoxicity, oxidative stress and pathological alterations in vivo. *Bull Natl Res Cent*. 10.1186/s42269-023-01012-1
75. Riahi, L., Chakroun, H., Klay, I., Masmoudi, A. S., Cherif, A., and Zoghalmi, N. (2019). Metabolomic fingerprint of *Mentha rotundifolia* L. Leaf tissues promotes this species as a potential candidate for sustainable production of biologically active molecules. *J Complement Integr Med*. 10.1515/jcim-2018-0048
76. Siham, F., Rachid, B., and Al-Zoubi, R. M. (2019). Chemical Composition and Antioxidant Effect of *Mentha rotundifolia* Extracts. *Pharmacognosy Journal*. 11, 521–526
77. Belkaid, A. B., Abou, N. B., Belkaid, B., Bekhechi, C., Boukli, N., and Bendimerad, H. (2014). *Antioxidant and antimicrobial activity of aqueous and methanolic extracts of mentha rotundifolia L. from Algeria Valorization of local flora, characterization and application View project Meryem Seladji*
78. Boualam, K., Bouhaddou, N., Sobeh, M., Tabyaoui, M., and Taghzouti, K. (2023). *Mentha rotundifolia* (L.) Huds. aqueous extract attenuates H2O2 induced oxidative stress and neurotoxicity. *Front Neurosci*. 10.3389/fnins.2023.1121029
79. Riahi, L., Elferchichi, M., Ghazghazi, H., Jebali, J., Ziadi, S., Aouadhi, C., Chograni, H., Zaouali, Y., Zoghalmi, N., and Mliki, A. (2013). Phytochemistry, antioxidant and antimicrobial activities of the essential oils of *Mentha rotundifolia* L. in Tunisia. *Ind Crops Prod*. 49, 883–889
80. Leblalta, A., Daoud, H., Semcheddine, C., and Demirtaş, İ. (2020). Ecol Antifungal Activity of *Mentha Rotundifolia* Essential Oil Against *Fusarium Oxysporum*. *International Journal of Innovative Approaches in Agricultural Research*. 4, 56–68

81. Boussouf, L., Boutennoune, H., Kebieche, M., Adjeroud, N., Al-Qaoud, K., and Madani, K. (2017). Anti-inflammatory, analgesic and antioxidant effects of phenolic compound from Algerian *Mentha rotundifolia* L. leaves on experimental animals. *South African Journal of Botany*. 113, 77–83
82. Nedel, F., Begnini, K., De Azambuja Carvalho, P. H., Lund, R. G., Beira, F. T. A., and Del Pino, F. A. B. (2012). Antiproliferative Activity of Flower Hexane Extract Obtained from *Mentha spicata* Associated with *Mentha rotundifolia* Against the MCF7, KB, and NIH/3T3 Cell Lines. *J Med Food*. 15, 955–958
83. Kecis, H., Abdelouahab, Y., Bagues, M., Gali, L., Mekircha, F., Alloun, W., and Nagaz, K. (2023). Phenolic profile and bioactivity of the aerial part and roots of *Mentha rotundifolia* L. grown in two different localities in northeastern Algeria: A comparative study. *Biocatal Agric Biotechnol*. 10.1016/j.bcab.2022.102581
84. Saada, I., Mahdi, K., Boubekka, N., Benzitoun, N., and Salhi, O. (2022). Variability of insecticidal activity of *Cupressus sempervirens* L., *Juniperus phoenicea* L., *Mentha rotundifolia* (L.) Huds, and *Asphodelus microcarpus* Salzm. & Viv. extracts according to solvents and extraction systems. *Biochem Syst Ecol*. 10.1016/j.bse.2022.104502
85. Tepe, B., Sokmen, M., Askin Akpulat, H., and Sokmen, A. (2005). In vitro antioxidant activities of the methanol extracts of four *Helichrysum* species from Turkey. *Food Chem*. 90, 685–689
86. Czinier, E., Hagymási, K., Blázovics, A., Kéry, A. ', Szo3 Ke, ', and Lemberkovics, ' (2000). *In vitro* antioxidant properties of *Helichrysum arenarium* (L.) Moench
87. Judzentiene, A., Budiene, J., Nedveckyte, I., and Garjonyte, R. (2022). Antioxidant and Toxic Activity of *Helichrysum arenarium* (L.) Moench and *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don Essential Oils and Extracts. *Molecules*. 10.3390/molecules27041311
88. Kutluk, I., Aslan, M., Orhan, I. E., and Özçelik, B. (2018). Antibacterial, antifungal and antiviral bioactivities of selected *Helichrysum* species. *South African Journal of Botany*. 119, 252–257
89. Mao, Z., Gan, C., Zhu, J., Ma, N., Wu, L., Wang, L., and Wang, X. (2017) Anti-atherosclerotic activities of flavonoids from the flowers of *Helichrysum arenarium* L. MOENCH through the pathway of anti-inflammation. *Bioorg Med Chem Lett*. 27, 2812–2817
90. Szadowska, A. (1962). Pharmacology of Galenic Preparations and Flavonoids from *Helichrysum arenarium*. *Acta Pol. Pharm*. 19, 465–479
91. Pljevljakušić, D., Bigović, D., Janković, T., Jelačić, S., and Šavikin, K. (2018). Sandy everlasting (*Helichrysum arenarium* (L.) Moench): Botanical, chemical and biological properties. *Front Plant Sci*. 10.3389/fpls.2018.01123
92. Eroğlu, H. E., Hamzaoglu, E., Aksoy, A., Budak, Ü., and Albayrak, S. (2010). İnsan lenfosit kültürlerinde *Helichrysum arenarium*'un sitogenetik etkileri. *Turkish Journal of Biology*. 34, 253–259
93. Bratu, M., Birghila, S., Cenariu, M., Eموke, P., Popescu, A., Radu, M., and Zglimbea, L. (2023). Antioxidant Activity, UV-screen, Cytotoxic and Antitumoral Activities of a Polyphenolic Extract of *Helichrysum arenarium* (L.) Moench Flowers. *Pol J Environ Stud*. 10.15244/pjoes/157546
94. Pafumi, I., Festa, M., Papacci, F., Lagostena, L., Giunta, C., Gutla, V., Cornara, L., Favia, A., Palombi, F., Gambale, F., Filippini, A., and Carpaneto, A. (2017). Naringenin Impairs Two-Pore Channel 2 Activity and Inhibits VEGF-Induced Angiogenesis /631/67/2328 /631/80/86/1999 /9/74 /96/34 /64/60 /14/63 /96/63 article. *Sci Rep*. 10.1038/s41598-017-04974-1
95. Kenig, S., Kramberger, K., Šik Novak, K., Karnjuš, I., Bandelj, D., Petelin, A., and Jenko Pražnikar, Z. (2022). *Helichrysum italicum* (Roth) G. Don and *Helichrysum arenarium* (L.) Moench infusions in reversing the traits of metabolic syndrome: a double-blind randomized comparative trial. *Food Funct*. 13, 7697–7706
96. Akin, M., and Saki, N. (2019). Antimicrobial, DPPH scavenging and tyrosinase inhibitory activities of *Thymus vulgaris*, *Helichrysum arenarium* and *Rosa damascena* mill. ethanol extracts by using TLC bioautography and chemical screening methods. *J Liq Chromatogr Relat Technol*. 42, 204–216
97. Lai-Cheong John A McGrath, J. E. (2021). *Structure and function of skin, hair and nails*
98. Wortsman, X., Wortsman, J., Carreño, L., Morales, C., Sazunic, I., and Jemec, G. B. E. (2013). Sonographic anatomy of the skin, appendages, and adjacent structures. in *Dermatologic Ultrasound with Clinical and Histologic Correlations*, pp. 15–35, Springer New York, 10.1007/978-1-4614-7184-4_2
99. Baki, G., and Alexander, K. S. (2015). *Introduction to Cosmetic Formulation and Technology*
100. Otlatici, G., Yegen, G., Gungor, S., and Aksu, B. (2019). Overview on nanotechnology based cosmeceuticals to prevent skin aging. *Istanbul Journal of Pharmacy*. 48, 55–62
101. Fisher, G. J., Kang, S., Varani, J., Bata-Csorgo, Z., Wan, Y., and Datta, S. (2002). *Mechanisms of Photoaging and Chronological Skin Aging*

102. Marotta, P., Grossini, E., Farruggio, S., and Panella, M. (2021). Antiaging effects of natural agents in the skin: Focus on mitochondria. in *Mitochondrial Physiology and Vegetal Molecules*, pp. 557–575
103. Uitto, J., and Bernstein, E. F. (1998). *Molecular Mechanisms of Cutaneous Aging: Connective Tissue Alterations in the Dermis*
104. Varani, J., Dame, M. K., Rittie, L., Fligiel, S. E. G., Kang, S., Fisher, G. J., and Voorhees, J. J. (2006). Decreased collagen production in chronologically aged skin: Roles of age-dependent alteration in fibroblast function and defective mechanical stimulation. *American Journal of Pathology*. 168, 1861–1868
105. Baumann, L., Bernstein, E. F., Weiss, A. S., Bates, D., Humphrey, S., Silberberg, M., and Daniels, R. (2021). Clinical Relevance of Elastin in the Structure and Function of Skin. *Aesthet Surg J Open Forum*. 10.1093/asjof/ojab019
106. Zhang, Z., Zhu, H., Zheng, Y., Zhang, L., Wang, X., Luo, Z., Tang, J., Lin, L., Du, Z., and Dong, C. (2020). The effects and mechanism of collagen peptide and elastin peptide on skin aging induced by D-galactose combined with ultraviolet radiation. *J Photochem Photobiol B*. 10.1016/j.jphotobiol.2020.111964
107. McCullough, J. L., and Kelly, K. M. (2006). Prevention and treatment of skin aging. in *Annals of the New York Academy of Sciences*, pp. 323–331, Blackwell Publishing Inc., 1067, 323–331
108. Kammeyer, A., and Luiten, R. M. (2015). Oxidation events and skin aging. *Ageing Res Rev*. 21, 16–29
109. Friedman, O. (2005) Changes associated with the aging face. *Facial Plast Surg Clin North Am*. 13, 371–380
110. Farage, M. A., Miller, K. W., Elsner, P., and Maibach, H. I. (2008). Intrinsic and extrinsic factors in skin ageing: A review. *Int J Cosmet Sci*. 30, 87–95
111. Park, B., Hwang, E., Seo, S. A., Zhang, M., Park, S. Y., and Yi, T. H. (2017). Dietary Rosa damascena protects against UVB-induced skin aging by improving collagen synthesis via MMPs reduction through alterations of c-Jun and c-Fos and TGF- β 1 stimulation mediated smad2/3 and smad7. *J Funct Foods*. 36, 480–489
112. Mesa-Arango, A. C., Flórez-Muñoz, S. V., and Sanclemente, G. (2017). Mechanisms of skin aging. *Iatreia*. 30, 160–170
113. Shin, J. W., Kwon, S. H., Choi, J. Y., Na, J. I., Huh, C. H., Choi, H. R., and Park, K. C. (2019). Molecular mechanisms of dermal aging and antiaging approaches. *Int J Mol Sci*. 10.3390/ijms20092126
114. De Souza, M. P., and Rangel Miller, V. (2013). Elevated Matrix Metalloproteinases and Collagen Fragmentation in Photodamaged Human Skin: Impact of Altered Extracellular Matrix Microenvironment on Dermal Fibroblast Function. *Journal of Investigative Dermatology*. 133, 1362
115. Yokose, U., Hachiya, A., Sriwiriyanont, P., Fujimura, T., Visscher, M. O., Kitzmiller, W. J., Bello, A., Tsuboi, R., Kitahara, T., Kobinger, G. P., and Takema, Y. (2012). The endogenous protease inhibitor TIMP-1 mediates protection and recovery from Cutaneous Photodamage. *Journal of Investigative Dermatology*. 132, 2800–2809
116. Shin, J. W., Kwon, S. H., Choi, J. Y., Na, J. I., Huh, C. H., Choi, H. R., and Park, K. C. (2019). Molecular mechanisms of dermal aging and antiaging approaches. *Int J Mol Sci*. 10.3390/ijms20092126
117. Wang, S. T., Neo, B. H., and Betts, R. J. (2021). Glycosaminoglycans: Sweet as sugar targets for topical skin anti-aging. *Clin Cosmet Investig Dermatol*. 14, 1227–1246
118. Ganceviciene, R., Liakou, A. I., Theodoridis, A., Makrantonaki, E., and Zouboulis, C. C. (2012) Skin anti-aging strategies. *Dermatoendocrinol*. 10.4161/derm.22804
119. Aburjai, T., and Natsheh, F. M. (2003). Plants Used in Cosmetics. *Phytotherapy Research*. 17, 987–1000
120. de Lima Cherubim, D. J., Buzanello Martins, C. V., Oliveira Fariña, L., and da Silva de Lucca, R. A. (2020). Polyphenols as natural antioxidants in cosmetics applications. *J Cosmet Dermatol*. 19, 33–37
121. He, hailun, Li, anqi, Li, shiqin, Tang, jie, Li, li, and Xiong, lidan (2021). Natural components in sunscreens: Topical formulations with sun protection factor (SPF). *Biomedicine and Pharmacotherapy*. 10.1016/j.biopha.2020.111161
122. Ferreira, M. S., Magalhães, M. C., Oliveira, R., Sousa-Lobo, J. M., and Almeida, I. F. (2021). Trends in the use of botanicals in anti-aging cosmetics. *Molecules*. 10.3390/molecules26123584
123. Zhao, X., Zhang, X., and Liu, D. (2021). Collagen peptides and the related synthetic peptides: A review on improving skin health. *J Funct Foods*. 10.1016/j.jff.2021.104680

124. Karin Schagen, S. (2017) Topical Peptide Treatments with Effective Anti-Aging Results. *Cosmetics*. 10.3390/cosmetics4020016
125. Linder, J. (2012) The science behind peptides. *Plastic Surgical Nursing*. 32, 71–72
126. Badenhorst, T., Svirskis, D., and Wu, Z. (2014). *Pharmaceutical Strategies for the Topical Dermal Delivery of Peptides/Proteins for Cosmetic and Therapeutic Applications*
127. Hubbard, B. A., Unger, J. G., and Rohrich, R. J. (2014). Reversal of skin aging with topical retinoids. *Plast Reconstr Surg*. 10.1097/PRS.0000000000000043
128. Milosheska, D., and Roškar, R. (2022). Use of Retinoids in Topical Antiaging Treatments: A Focused Review of Clinical Evidence for Conventional and Nanoformulations. *Adv Ther*. 39, 5351–5375
129. Thomas, J. R., Dixon, T. K., and Bhattacharyya, T. K. (2013). Effects of Topicals on the Aging Skin Process. *Facial Plast Surg Clin North Am*. 21, 55–60
130. Sabzevari, N., Qiblawi, S., Norton, S. A., and Fivenson, D. (2021). Sunscreens: UV filters to protect us: Part 1: Changing regulations and choices for optimal sun protection. *Int J Womens Dermatol*. 7, 28–44
131. Ferreira, S. M., Gomes, S. M., and Santos, L. (2023). A Novel Approach in Skin Care: By-Product Extracts as Natural UV Filters and an Alternative to Synthetic Ones. *Molecules*. 10.3390/molecules28052037
132. Forestier, S. (2008). Rationale for sunscreen development. *J Am Acad Dermatol*. 10.1016/j.jaad.2007.05.047
133. Sunder, S. (2019) Relevant Topical Skin Care Products for Prevention and Treatment of Aging Skin. *Facial Plast Surg Clin North Am*. 27, 413–418
134. Ratanasumarn, N., and Chitprasert, P. (2020). Cosmetic potential of lignin extracts from alkaline-treated sugarcane bagasse: Optimization of extraction conditions using response surface methodology. *Int J Biol Macromol*. 153, 138–145
135. Soleimani, S., Yousefzadi, M., Babaei Mahani Nezhad, S., Pozharitskaya, O. N., and Shikov, A. N. (2023). Potential of the Ethyl Acetate Fraction of *Padina boergeresii* as a Natural UV Filter in Sunscreen Cream Formulation. *Life*. 10.3390/life13010239
136. Alexiades-Armenakas, M. R., Dover, J. S., and Arndt, K. A. (2008). The spectrum of laser skin resurfacing: Nonablative, fractional, and ablative laser resurfacing. *J Am Acad Dermatol*. 58, 719–737
137. Bogle, M. A. (2007). Minimally invasive techniques for improving the appearance of the aging face. *Expert Rev Dermatol*. 2, 427–435
138. Beigvand, H. H., Razzaghi, M., Rostami-Nejad, M., Rezaei-Tavirani, M., Safari, S., Rezaei-Tavirani, M., Mansouri, V., and Heidari, M. H. (2020). Assessment of laser effects on skin rejuvenation. *J Lasers Med Sci*. 11, 212–219
139. Philipp-Dormston, W. G., Bergfeld, D., Sommer, B. M., Sattler, G., Cotofana, S., Snozzi, P., Wollina, U., Hoffmann, K. P. J., Salavastru, C., and Fritz, K. (2017). Consensus statement on prevention and management of adverse effects following rejuvenation procedures with hyaluronic acid-based fillers. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology*. 31, 1088–1095
140. Pollard, J. D., Moulthrop, T. H. M., and Johnson, C. M. (2011). Botulinum Toxin. in *Non-Invasive Cosmetic Procedures*, pp. 17–32, People's Medical Publishing House
141. Badur, S., and Sarıdağ, S. (2020). Gummy Smile'da Etkin Çözüm: Botoks Effective Solution in Gummy Smile: Botox. *Journal of International Dental Sciences*. 3, 17–24
142. Bermann, P. E. (2007). Aging Skin: Causes, Treatments, and Prevention. *Nursing Clinics of North America*. 42, 485–500
143. Arora, R., Khan, R., Ojha, A., Upadhyaya, K., and Chopra, H. (2017). *Emulgel: A Novel Approach for Hydrophobic Drugs*
144. Aydemir, E. H. (2012). Yerel tedavi (bölüm 2): Tasiyicilar, yapı ve islevleri. *Turkderm Deri Hastaliklari ve Frengi Arsivi*. 46, 175–180
145. Ajazuddin, Alexander, A., Khichariya, A., Gupta, S., Patel, R. J., Giri, T. K., and Tripathi, D. K. (2013). Recent expansions in an emergent novel drug delivery technology: Emulgel. *Journal of Controlled Release*. 171, 122–132
146. Talat, M., Zaman, M., Khan, R., Jamshaid, M., Akhtar, M., and Mirza, A. Z. (2021) Emulgel: an effective drug delivery system. *Drug Dev Ind Pharm*. 47, 1193–1199
147. Singh Panwar, A., and Sharma, A. (2011). *Emulgel: A review Biological evaluation of Lagenaria siceraria View project*
148. Kute, M. S. B. (2013). *Emulsified gel A Novel approach for delivery of hydrophobic drugs: An overview*

149. Lu, G. W., and Gao, P. (2010). Emulsions and Microemulsions for Topical and Transdermal Drug Delivery. in *Handbook of Non-Invasive Drug Delivery Systems*, pp. 59–94, Elsevier, 10.1016/b978-0-8155-2025-2.10003-4
150. Mishra, A. P., Saklani, S., Milella, L., and Tiwari, P. (2014). Formulation and evaluation of herbal antioxidant face cream of *Nardostachys jatamansi* collected from Indian Himalayan region. *Asian Pac J Trop Biomed.* 4, S679–S682
151. Mohamed M. (2004). Topical emulsion gel composition comprising diclofenac sodium. *AAPS J.*
152. Jain A, D. P. C. J. (2011). Development of antifungal emulsions based gel for topical fungal infections. *Int J Pharma Res Dev*
153. Beastall, J., and Washington, C. (1988). *Mechanism of action of Azone as a percutaneous penetration enhancer: lipid bilayer fluidity and transition temperature effects*
154. Ashara, K., Soniwal, M., and Shah, K. (2016). Emulgel: A novel drug delivery system. *ournal of Pakistan Association of Dermatologists.* 26, 244–249
155. Alhasso, B., Ghor, M. U., and Conway, B. R. (2022). Systematic Review on the Effectiveness of Essential and Carrier Oils as Skin Penetration Enhancers in Pharmaceutical Formulations. *Sci Pharm.* 10.3390/scipharm90010014
156. Mortazavi, S. A., and Aboofazeli, R. (2003). *An Investigation into the Effect of Various Penetration Enhancers on Percutaneous Absorption of Piroxicam*
157. Chen, M. X., Alexander, K. S., and Baki, G. (2016). Formulation and Evaluation of Antibacterial Creams and Gels Containing Metal Ions for Topical Application. 10.1155/2016/5754349
158. Oliveira, M. B., Calixto, G., Graminha, M., Cerecetto, H., González, M., and Chorilli, M. (2015). Performance of Fluconazole-Loaded Microemulsions for the Topical Treatment of Cutaneous Leishmaniasis. 10.1155/2015/396894
159. Mirani, A., Kundaikar, H., Velhal, S., Patel, V., Bandivdekar, A., Degani, M., and Patravale, V. (2019). Tetrahydrocurcumin-loaded vaginal nanomicrobicide for prophylaxis of HIV/AIDS: in silico study, formulation development, and in vitro evaluation. *Drug Deliv Transl Res.* 9, 828–847
160. Barak, T.H., Celep, E., Git`Inan, Y., and Yesilada, Y. (2020). Available online 4. *Food Biosci.* 37, 2212–4292
161. Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., and Karademir, S. E. (2004) Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method. *J Agric Food Chem.* 52, 7970–7981
162. Barak, T.H., Celep, E., İnan, Y., and Yesilada, E. (2019). Influence of in vitro human digestion on the bioavailability of phenolic content and antioxidant activity of *Viburnum opulus* L. (European cranberry) fruit extracts. 10.1016/j.indcrop.2019.01.037
163. Barak, T. H., Celep, E., İnan, Y., and Yeşilada, E. (2020). In vitro human digestion simulation of the bioavailability and antioxidant activity of phenolics from *Sambucus ebulus* L. fruit extracts. *Food Biosci.* 10.1016/j.fbio.2020.100711
164. Ersoy, E., Ozkan, E. E., Boga, M., Abdullah Yilmaz, M., and Mat, A. (2019). Anti-aging potential and anti-tyrosinase activity of three *Hypericum* species with focus on phytochemical composition by LC-MS/MS. 10.1016/j.indcrop.2019.111735
165. Barak, T. H., Kurt Celep, İ., Şentürk, T. B., Bardakci, H., and Celep, E. (2022). In Vitro Anti-Aging Potential Evaluation of *Maclura pomifera* (Rafin.) Schneider 80% Methanol Extract with Quantitative HPTLC Analysis. *Turk J Pharm Sci.* 19, 400–407
166. Barak, T. H., Kurt-Celep, I., Dilek-Tepe, H., Bardakci, H., Akaydin, G., Yesilada, E., and Celep, E. (2023). In vitro assessment of dermatological activity potential of *Achillea clypeolata* Sm. in H₂O₂-treated human dermal fibroblasts. *South African Journal of Botany.* 160, 1–8
167. Darmawan, M. A., Ramadhani, H., Hubeis, A., Yusuf, M., Ramadhan, A., Sahlan, M., Abd-Aziz, S., and Gozan, M. (2021). Natural sunscreen formulation with a high sun protection factor (SPF) from tengkawang butter and lignin. 10.1016/j.indcrop.2021.114466
168. Mbanga, L., Mulenga, M., Mpiana, P. T., Bokolo, K., Mumbwa, M., and Mvingu, K. (2014). Determination of Sun Protection Factor (SPF) of Some Body Creams and Lotions Marketed in Kinshasa by Ultraviolet Spectrophotometry. *International Journal of Advanced Research in Chemical Science (IJARCS).* 1, 7–13
169. Mansur, J. de S., Breder, M. N. R., Mansur, M. C. A., and Azulay, R. D. (1986) Determinação do fator de proteção solar por espectrofotometria. *An Bras Dermatol.* 61, 121–124
170. Kaewbanjong, J., Wan, P., Heng, S., and Boonme, P. (2017). Clotrimazole microemulsion and microemulsion-based gel: evaluation of buccal drug delivery and irritancy using chick chorioallantoic membrane as the model. 10.1111/jphp.12809

171. Marrelli, M., Statti, G. A., and Conforti, F. (2018). *Origanum* spp.: an update of their chemical and biological profiles. *Phytochemistry Reviews*. 17, 873–888
172. Tafrihi, M., Imran, M., Tufail, T., Gondal, T. A., Caruso, G., Sharma, S., Sharma, R., Atanassova, M., Atanassov, L., Fokou, P. V. T., and Pezzani, R. (2021). The wonderful activities of the genus *Mentha*: Not only antioxidant properties. *Molecules*. 10.3390/molecules26041118
173. Roby, M. H. H., Sarhan, M. A., Selim, K. A. H., and Khalel, K. I. (2013). Evaluation of antioxidant activity, total phenols and phenolic compounds in thyme (*Thymus vulgaris* L.), sage (*Salvia officinalis* L.), and marjoram (*Origanum majorana* L.) extracts. *Ind Crops Prod*. 43, 827–831
174. Eren, A., İnci, Ş., Saleh, K. Kh., Kirbağ, S., and Güven, K. (2023). Antimicrobial and Antioxidant Activities of Different Extracts of *Helichrysum arenarium* subsp. (L.) Moench aucheri. *Turkish Journal of Science and Technology*. 18, 345–351
175. Kecis, H., Abdelouahab, Y., Bagues, M., Gali, L., Mekircha, F., Alloun, W., and Nagaz, K. (2023). Phenolic profile and bioactivity of the aerial part and roots of *Mentha rotundifolia* L. grown in two different localities in northeastern Algeria: A comparative study. *Biocatal Agric Biotechnol*. 10.1016/j.bcab.2022.102581
176. Bratu, M. M., Birghila, S., Cenariu, M. C., Eموke, P., Popescu, A., Radu, M. D., and Zglimbea, L. (2023). Antioxidant Activity, UV-screen, Cytotoxic and Antitumoral Activities of a Polyphenolic Extract of *Helichrysum arenarium* (L.) Moench Flowers. *Pol J Environ Stud*. 32, 2043–2051
177. Fernandes, A., Rodrigues, P. M., Pintado, M., and Tavaría, F. K. (2023). A systematic review of natural products for skin applications: Targeting inflammation, wound healing, and photo-aging. *Phytomedicine*. 10.1016/j.phymed.2023.154824
178. Lv, M., Yang, Y., Choisy, P., Xu, T., Pays, K., Zhang, L., Zhu, J., Wang, Q., Li, S., and Wang, L. (2023). Flavonoid components and anti-photoaging activity of flower extracts from six *Paeonia* cultivars. 10.1016/j.indcrop.2023.116707
179. Selwyn, A., and Govindaraj, S. (2023). Study of plant-based cosmeceuticals and skin care. *South African Journal of Botany*. 158, 429–442
180. Quan, T. (2023). Molecular insights of human skin epidermal and dermal aging. 10.1016/j.jdermsci.2023.08.006
181. Nur, S., Setiawan, H., Hanafi, M., and Elya, B. (2023). Phytochemical composition, antioxidant, in vitro and in silico studies of active compounds of *Curculigo latifolia* extracts as promising elastase inhibitor. *Saudi Journal of Biological Sciences*. 10.1016/j.sjbs.2023.103716
182. Ibrahim, N., Abbas, H., El-Sayed, N. S., and Gad, H. A. (2022). *Rosmarinus officinalis* L. hexane extract: phytochemical analysis, nanoencapsulation, and in silico, in vitro, and in vivo anti-photoaging potential evaluation. *Scientific Reports* 2022 12:1. 12, 1–20
183. Yilmaz, G., Eruygur, N., Bona, G. E., Bona, M., Akdeniz, M., Yilmaz, M. A., and Ertas, A. (2023). Phytochemical analysis, antioxidant, and enzyme inhibition activity of five *Salvia* taxa from Turkey. *South African Journal of Botany*. 152, 212–221
184. Ersoy, E., Eroglu Ozkan, E., Boga, M., Yilmaz, M. A., and Mat, A. (2019). Anti-aging potential and anti-tyrosinase activity of three *Hypericum* species with focus on phytochemical composition by LC–MS/MS. *Ind Crops Prod*. 141, 111735
185. Selwyn, A., and Govindaraj, S. (2023). Study of plant-based cosmeceuticals and skin care. *South African Journal of Botany*. 158, 429–442
186. Sezer, F., Deniz, S., Salmas, R. E., Emerce, E., Irem, I., Cankaya, T., Soliman Yusufoglu, H., and Orhan, E. (2020). Evaluation of collagenase, elastase and tyrosinase inhibitory activities of *Cotinus coggygria* Scop. through in vitro and in silico approaches. *South African Journal of Botany*. 132, 277–288
187. Le Cabec, A., Messaili, S., Colas, C., Campos, P.-E., and Destandau, E. (2023). Phytochemical profiling and evaluation of the anti-aging and anti-inflammatory potential of cultivated *Eclipta alba* (L.). *South African Journal of Botany*. 163, 595–608
188. Michalak, M. (2023). Plant Extracts as Skin Care and Therapeutic Agents. *Int J Mol Sci*. 10.3390/ijms242015444
189. Landa-Cansigno, C., Serviere-Zaragoza, E., Morales-Martínez, T. K., Ascacio-Valdes, J. A., Morreeuw, Z. P., Gauyat, C., Stiger-Pouvreau, V., and Reyes, A. G. (2023). The antioxidant and anti-elastase activity of the brown seaweed *Sargassum horridum* (Fucales, Phaeophyceae) and their early phenolics and saponins profiling for green cosmetic applications. *Algal Res*. 75, 103271
190. Novalia, R., Sianipar, R., Suryanegara, L., Fatriasari, W., Tangke Arung, E., Wijaya Kusuma, I., Achmadi, S., Azelee, I. W., Ain, Z., and Hamid, A. (2023). The role of selected flavonoids from *bajakah tampala* (*Spatholobus littoralis* Hassk.) stem on cosmetic properties: A review. *Saudi Pharmaceutical Journal*. 31, 382–400

191. Halim, H. H., Pak Dek, M. S., Hamid, A. A., Saari, N., Mohd Lazim, M. I., Abas, F., Ngalim, A., Ismail, A., and Jaafar, A. H. (2023). Novel sources of bioactive compounds in coconut (*Cocos nucifera* L.) water from different maturity levels and varieties as potent skin anti-aging strategies and anti-fatigue agents. *Food Biosci.* 10.1016/j.fbio.2022.102326
192. Lin, C.-H., Lin, M.-H., Chung, Y.-K., Alalaiwe, A., Hung, C.-F., and Fang, J.-Y. (2023). Exploring the potential of the nano-based sunscreens and antioxidants for preventing and treating skin photoaging. *Chemosphere.* 10.1016/j.chemosphere.2023.140702
193. Tao, X., Hu, X., Wu, T., Zhou, D., Yang, D., Li, X., Fu, Y., Zheng, F., Yue, H., and Dai, Y. (2023). Characterization and screening of anti-melanogenesis and anti-photoaging activity of different enzyme-assisted polysaccharide extracts from *Portulaca oleracea* L. *Phytomedicine.* 10.1016/j.phymed.2023.154879
194. Liyanaarachchi, G. D., Samarasekera, J. K. R. R., Mahanama, K. R. R., and Hemalal, K. D. P. (2018). Tyrosinase, elastase, hyaluronidase, inhibitory and antioxidant activity of Sri Lankan medicinal plants for novel cosmeceuticals. *Ind Crops Prod.* 111, 597–605
195. Chaiyana, W., Chansakaow, S., Intasai, N., Kiattisin, K., Lee, K. H., Lin, W. C., Lue, S. C., and Leelapornpisid, P. (2020). Chemical constituents, antioxidant, Anti-MMPs, and anti-hyaluronidase activities of *thunbergia laurifolia* lindl. Leaf extracts for skin aging and skin damage prevention. *Molecules.* 10.3390/molecules25081923
196. Peng, H. Y., Lin, C. C., Wang, H. Y., Shih, Y., and Chou, S. T. (2014). The melanogenesis alteration effects of *achillea millefolium* L. Essential oil and linalyl acetate: Involvement of oxidative stress and the JNK and ERK signaling pathways in melanoma cells. *PLoS One.* 10.1371/journal.pone.0095186
197. Fujimura, T., Tsukahara, K., Moriwaki, S., Hotta, M., Kitahara, T., and Takema, Y. (2006). A horse chestnut extract, which induces contraction forces in fibroblasts, is a potent anti-aging ingredient. *J Cosmet Sci.* 57, 369–376
198. Hsu, M.-F., and Chiang, B.-H. (2009). Stimulating effects of *Bacillus subtilis* natto-fermented *Radix astragali* on hyaluronic acid production in human skin cells. *J Ethnopharmacol.* 125, 474–481
199. Liu, P., Zhao, H., and Luo, Y. (2017). Anti-Aging Implications of *Astragalus Membranaceus* (Huangqi): A Well-Known Chinese Tonic. 10.14336/AD.2017.0816
200. Kim, S., and Chung, J. H. (2008) Berberine prevents UV-induced MMP-1 and reduction of type I procollagen expression in human dermal fibroblasts. *Phytomedicine.* 15, 749–753
201. Germanò, M. P., Cacciola, F., Donato, P., Dugo, P., Certo, G., D'angelo, V., Mondello, L., and Rapisarda, A. (2012) *Betula pendula* leaves: Polyphenolic characterization and potential innovative use in skin whitening products. 10.1016/j.fitote.2012.03.021
202. Fonseca, Y. M., Dias Catini, C., Vicentini, F. T. M. C., Nomizo, A., Gerlach, R. F., and Vieira Fonseca, M. J. (2010). Protective effect of *Calendula officinalis* extract against UVB-induced oxidative stress in skin: Evaluation of reduced glutathione levels and matrix metalloproteinase secretion. *J Ethnopharmacol.* 127, 596–601
203. Li, Y. H., Wu, Y., Wei, H. C., Xu, Y. Y., Jia, L. L., Chen, J., Yang, X. S., Dong, G. H., Gao, X. H., and Chen, H. D. (2009). Protective effects of green tea extracts on photoaging and photomunosuppression. *Skin Research and Technology.* 15, 338–345
204. Haftek, M., Mac-Mary, S., Le Bitoux, M. A., Creidi, P., Seité, S., Rougier, A., and Humbert, P. (2008). Clinical, biometric and structural evaluation of the long-term effects of a topical treatment with ascorbic acid and madecassoside in photoaged human skin. *Exp Dermatol.* 17, 946–952
205. Lee, J., Jung, E., Kim, Y., Park, J., Park, J., Hong, S., Kim, J., Hyun, C., Kim, Y. S., and Park, D., (2006) Asiaticoside induces human collagen I synthesis through TGF- β receptor I kinase (T β RI kinase)-independent Smad signaling. *Planta Med.* 72, 324–328
206. Cimino, F., Cristani, M., Saija, A., Bonina, P., and Virgili, F. (2007). *Protective effects of a red orange extract on UVB-induced damage in human keratinocytes*, IOS Press
207. Sumiyoshi, M., and Kimura, Y. (2009). Effects of a turmeric extract (*Curcuma longa*) on chronic ultraviolet B irradiation-induced skin damage in melanin-possessing hairless mice. *Phytomedicine.* 16, 1137–1143
208. Oh, H. I., Shim, J. S., Gwon, S. H., Kwon, H. J., and Hwang, J. K. (2009). The effect of xanthorrhizol on the expression of matrix metalloproteinase-1 and type-I procollagen in ultraviolet-irradiated human skin fibroblasts. *Phytotherapy Research.* 23, 1299–1302
209. Fujii, T., Wakaizumi, M., Ikami, T., and Saito, M. (2008). Amla (*Embllica officinalis* Gaertn.) extract promotes procollagen production and inhibits matrix metalloproteinase-1 in human skin fibroblasts. *J Ethnopharmacol.* 119, 53–57

210. Tsoyi, K., Hyung, B. P., Young, M. K., Jong, I. L. C., Sung, C. S., Hae, J. S., Won, S. L., Han, G. S., Jae, H. L., Ki, C. C., and Hye, J. K. (2008). Protective effect of anthocyanins from black soybean seed coats on UVB-induced apoptotic cell death in vitro and in vivo. *J Agric Food Chem.* 56, 10600–10605
211. Pain, S., Berthélémy, N., Naudin, C., Degrave, V., and André-Frei, V. (2018). Understanding Solar Skin Elastosis-Cause and Treatment. *J Cosmet Sci.* 69, 175–185
212. Barroso, M. R., Barros, L., Dueñas, M., Dueñas, D., Carvalho, A. M., Santos-Buelga, C., Fernandes, I. P., Barreiro, M. F., and Ferreira, I. C. F. R. (2014). Exploring the antioxidant potential of *Helichrysum stoechas* (L.) Moench phenolic compounds for cosmetic applications: Chemical characterization, microencapsulation and incorporation into a moisturizer. *Ind Crops Prod.* 53, 330–336
213. Shim, J.-S., Choi, E.-J., Lee, C.-W., Kim, H.-S., and Hwang, J.-K. (2009). *Matrix Metalloproteinase-1 Inhibitory Activity of Kaempferia pandurata Roxb*
214. Choi, H.-K., Kim, D.-H., Kim, J. W., Ngadiran, S., Sarmidi, M. R., and Park, C. S. (2009) *Labisia pumila* extract protects skin cells from photoaging caused by UVB irradiation. 10.1016/j.jbiosc.2009.08.478
215. Ali, B., Al-Wabel, A., Shams, S., Ahamad, A., Khan, A., and Anwar, F. (2015). Essential oils used in aromatherapy: A systemic review. 10.1016/j.apjtb.2015.05.007
216. Kumar, T., Chaiyasut, C., Rungseewijitprapa, W., and Suttajit, M. (2011). Screening of steroid 5-reductase inhibitory activity and total phenolic content of Thai plants. *Journal of Medicinal Plants Research.* 5, 1265–1271
217. Seo, U. K., Lee, Y. J., Kim, J. K., Cha, B. Y., Kim, D. W., Nam, K. S., and Kim, C. H. (2005). Large-scale and effective screening of Korean medicinal plants for inhibitory activity on matrix metalloproteinase-9. *J Ethnopharmacol.* 97, 101–106
218. Song, K. C., Chang, T. S., Lee, H., Kim, J., Park, J. H., and Hwang, G. S. (2012) Processed Panax ginseng, sun ginseng increases type i collagen by regulating MMP-1 and TIMP-1 expression in human dermal fibroblasts. *J Ginseng Res.* 36, 61–67
219. Mula, S., Banerjee, D., Patro, B. S., Bhattacharya, S., Barik, A., Bandyopadhyay, S. K., and Chattopadhyay, S. (2008). Inhibitory property of the Piper betel phenolics against photosensitization-induced biological damages. *Bioorg Med Chem.* 16, 2932–2938
220. Sarwar, S. (2012). Antioxidant characteristics of different solvent extracts from almond (*Prunus dulcis* L.) shell. *Journal of Medicinal Plants Research.* 10.5897/jmpr11.1723
221. Parveen, R., Akhtar, N., and Mahmood, T. (2014) Topical microemulsion containing Punica granatum extract: Its control over skin erythema and melanin in healthy Asian subjects. *Postepy Dermatol Alergol.* 31, 351–355
222. Shabbir, M., Rather, L. J., and Mohammad, F. (2018). Economically viable UV-protective and antioxidant finishing of wool fabric dyed with *Tagetes erecta* flower extract: Valorization of marigold. *Ind Crops Prod.* 119, 277–282
223. N'Da, D. D. (2014). Prodrug strategies for enhancing the percutaneous absorption of drugs. *Molecules.* 19, 20780–20807
224. Haneefa, Kpm., Easo, S., Prasad Mohanta, G., and Nayar, C. (2013). *Emulgel: An Advanced Review*
225. Singh, R. P., Parpani, S., Narke, R., and Chavan, R. (2014). Emulgel: A Recent Approach For Topical Drug Delivery System. *Asian Journal of Pharmaceutical Research and Development (An International Peer-Reviewed Journal of Pharmaceutical Research and Development).* 2, 112–123
226. Charoenrein, S., Tatirat, O., Rengsutthi, K., and Thongngam, M. (2011). Effect of konjac glucomannan on syneresis, textural properties and the microstructure of frozen rice starch gels. *Carbohydr Polym.* 83, 291–296
227. Zolghadri, S., Bahrami, A., Hassan Khan, M. T., Munoz-Munoz, J., Garcia-Molina, F., Garcia-Canovas, F., and Saboury, A. A. (2019). A comprehensive review on tyrosinase inhibitors. *J Enzyme Inhib Med Chem.* 34, 279–309
228. El Aanachi, S., Gali, L., Rammali, S., Bensouici, C., Aassila, H., and Dari, K. (2021). In vitro study of the antioxidant, photoprotective, anti-tyrosinase, and anti-urease effects of methanolic extracts from leaves of six Moroccan Lamiaceae. *Journal of Food Measurement and Characterization.* 15, 1785–1795
229. Lee, C. J., Chen, L. G., Chang, T. L., Ke, W. M., Lo, Y. F., and Wang, C. C. (2011). The correlation between skin-care effects and phytochemical contents in Lamiaceae plants. *Food Chem.* 124, 833–841
230. Kang, H. S., Kim, H. R., Byun, D. S., Park, H. J., & Choi, J. S. (2004). Rosmarinic acid as a tyrosinase inhibitors from *Salvia miltiorrhiza*. *Natural Product Sciences*, 10(2), 80–84.

231. Chiocchio, I., Mandrone, M., Sanna, C., Maxia, A., Tacchini, M., and Poli, F. (2018). Screening of a hundred plant extracts as tyrosinase and elastase inhibitors, two enzymatic targets of cosmetic interest. *Ind Crops Prod.* 122, 498–505
232. Wittenauer, J., MäcKle, S., Sußmann, D., Schweiggert-Weisz, U., and Carle, R. (2015). Inhibitory effects of polyphenols from grape pomace extract on collagenase and elastase activity. *Fitoterapia.* 101, 179–187
233. Şahin, D., Çağlar, E. Ş., Boran, T., Karadağ, A. E., Özhan, G., and Okur, N. Ü. (2023). Development, characterization of naringenin-loaded promising microemulsion formulations, and demonstration of anti-aging efficacy by in vitro enzyme activity and gene expression. *J Drug Deliv Sci Technol.* 10.1016/j.jddst.2023.104422
234. Abacı Kaplan, N., Gök, H. N., Aslan, M., and Erdoğan Orhan, İ. (2023). Enzyme inhibitory and antioxidant activities and HPLC quantification of chlorogenic acid in *Helichrysum stoechas* (L.) Moench and *H. stoechas* subsp. *barrelieri* (Ten) Nyman. *Current Perspectives on Medicinal and Aromatic Plants (CUPMAP)*. 10.38093/cupmap.1314950
235. Gökçe, G., Karatoprak, G., Gdem Yücel, Ç. ˘, Göger, F., Sobarzo-Sánchez, E., and Akkol, E. K. (2020). Potential Antioxidant and Enzyme Inhibitory Effects of Nanoliposomal Formulation Prepared from *Salvia aramiensis* Rech. f. Extract. *Antioxidants* . 9, 293
236. Yıldız, G., Şeker Karatoprak, G., İlgün, S., Yılmaz, M. A., Köse, Y. B., and Zengin, G. (2023). The relationship between the chemical components and skin-related enzyme inhibition, antioxidant activities, and toxicity profile of *Helichrysum armenium* subsp. *armenium*. *Plant Biosystems - An International Journal Dealing with all Aspects of Plant Biology.* 10.1080/11263504.2023.2287587
237. Sin, B. Y., and Kim, H. P. (2005) *Inhibition of Collagenase by Naturally-Occurring Flavonoids*
238. Boran, R. (2018) Investigations of anti-aging potential of *Hypericum origanifolium* Willd. for skincare formulations. 10.1016/j.indcrop.2018.03.058
239. Martinez, R. M., Pinho-Ribeiro, F. A., Steffen, V. S., Caviglione, C. V., Vignoli, J. A., Barbosa, D. S., Baracat, M. M., Georgetti, S. R., Verri, W. A., and Casagrande, R. (2015). Naringenin Inhibits UVB Irradiation-Induced Inflammation and Oxidative Stress in the Skin of Hairless Mice. *J Nat Prod.* 78, 1647–1655
240. Galicka, A., and Sutkowska-Skolimowska, J. (2021). The beneficial effect of rosmarinic acid on benzophenone-3-induced alterations in human skin fibroblasts. *Int J Mol Sci.* 10.3390/ijms222111451
241. Dresler, S., Ziemlewska, A., Nizioł-Łukaszewska, Z., Zagórska-Dziok, M., Bujak, T., Skic, K., Feldo, M., Hanaka, A., Wójciak, M., Sowa, I., and Strzemiński, M. (2023). A design-of-experiment approach for obtaining *Symphytum officinale* L. extracts for cosmetic purposes. *Ind Crops Prod.* 199, 116768
242. Liyanaarachchi, G. D., Samarasekera, J. K. R. R., Mahanama, K. R. R., and Hemalal, K. D. P. (2018). Tyrosinase, elastase, hyaluronidase, inhibitory and antioxidant activity of Sri Lankan medicinal plants for novel cosmeceuticals. *Ind Crops Prod.* 111, 597–605
243. Shang, Y. F., Hao, W. Di, Ni, Z. J., Thakur, K., Zhang, J. G., Khan, M. R., and Wei, Z. J. (2023). *Lycium barbarum* ethanol extraction: Application as cosmetic product ingredients. *Ind Crops Prod.* 10.1016/j.indcrop.2023.117130
244. Luanda, A., Ripanda, A., Sahini, M. G., and Makangara, J. J. (2023). Ethnomedicinal uses, phytochemistry and pharmacological study of *Ocimum americanum* L.: A review. *Phytomedicine Plus.* 10.1016/j.phyplu.2023.100433
245. İlhan, M., Zengin, G., Küpeli Akkol, E., Aktümsek, A., and Süntar, İ. (2016). Asphodeline türlerinin enzim inhibisyonundaki önemi: Anti-elastaz, anti-hyalüronidaz ve anti-kollajenaz potansiyeli. *Türk J Pharm Sci.* 13, 323–327
246. Cefali, L. C., Ataide, J. A., Fernandes, A. R., Sousa, I. M. de O., Gonçalves, F. C. da S., Eberlin, S., Dávila, J. L., Jozala, A. F., Chaud, M. V., Sanchez-lopez, E., Marto, J., D'ávila, M. A., Ribeiro, H. M., Foglio, M. A., Souto, E. B., and Mazzola, P. G. (2019). Flavonoid-enriched plant-extract-loaded emulsion: A novel phytocosmetic sunscreen formulation with antioxidant properties. *Antioxidants.* 10.3390/antiox8100443
247. Nunes, A. R., Rodrigues, A. L. M., de Queiróz, D. B., Vieira, I. G. P., Neto, J. F. C., Junior, J. T. C., Tintino, S. R., de Moraes, S. M., and Coutinho, H. D. M. (2018). Photoprotective potential of medicinal plants from Cerrado biome (Brazil) in relation to phenolic content and antioxidant activity. *J Photochem Photobiol B.* 189, 119–123

