

**T.C.
ADİYAMAN ÜNİVERSİTESİ
LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

***Achillea kirschneri* Yıld. & Kılıç BİTKİSİNİN BİYOLOJİK AKTİVİTE,
ETNOBOTANİK VE FİTOKİMYASAL ÖZELLİKLERİNİN
BELİRLENMESİ**

DOKTORA TEZİ

TALİP ŞAHİN

**1. DANIŞMAN
PROF. DR. ÖMER KILIÇ
EŞ DANIŞMAN
DOÇ. DR. TURGUT TAŞKIN**

ADİYAMAN, 2025

Bu tez çalışması BAP Komisyonu tarafından kabul edilen FEF/DP 2024-0001 no.lu proje kapsamında desteklenmiştir.

ÖZET

***Achillea kirschneri* Yıld. & Kılıç BİTKİSİNİN BİYOLOJİK AKTİVİTE, ETNOBOTANİK VE FİTOKİMYASAL ÖZELLİKLERİNİN BELİRLENMESİ**

Öğrencinin Adı SOYADI: Talip ŞAHİN

Biyoloji Anabilim Dalı

Adıyaman Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Aralık/2025, Sayfa:147

Danışman: Prof. Dr. Ömer KILIÇ

Eş Danışman: Doç. Dr. Turgut TAŞKIN

Bu tezin amacı, endemik ve daha önce bilimsel olarak incelenmemiş *Achillea kirschneri* Yıld. & Kılıç bitkisinden farklı ekstrater (petrol eteri, kloroform ve metanol) elde ederek bu ekstraterin antioksidan, antikolinesteraz, antiüreaz ve antikanser aktivitelerini belirlemektir. Bu kapsamda, yüksek biyolojik aktivite gösteren ekstraterden kitosan nanopartiküller hazırlanarak antienflamatuvar etkileri incelenmiş; ekstraterin fenolik bileşikleri belirlenerek bunlar üzerinde moleküler docking ve farmakolojik gen ağ analizleri yapılmıştır. Ek olarak, bitkinin uçucu yağ kompozisyonu ve etnobotanik özelliği de ortaya konmuştur.

Elde edilen ekstraterin antioksidan aktiviteleri DPPH, FRAP ve CUPRAC yöntemleriyle; antikolinesteraz, antiüreaz ve antikanser aktiviteleri ise sırasıyla Ellman, İndofenol ve MTT yöntemleriyle değerlendirilmiştir. Ekstraterin fenolik bileşik içerikleri Folin-Ciocalteu yöntemiyle belirlenmiş, yüksek biyolojik aktivite gösteren metanol ekstresinden yeşil kimya prensiplerine uygun şekilde kitosan nanopartiküller hazırlanmıştır. Nanopartiküllerin ve ekstraterin anti-inflamatuvar etkileri WST-1 testi ile incelenmiştir. Ayrıca, HPLC-DAD analiziyle fenolik profili ortaya konmuş ve belirlenen bileşikler üzerinde moleküler docking ile farmakolojik gen ağ analizleri yapılmıştır. GC-MS ile bitkinin uçucu yağ kompozisyonu aydınlatılmıştır. Lokalite bölgesindeki halk ile görüşerek bitkinin etnobotanik özelliği belirlenmiştir.

Metanol ekstresi en güçlü antioksidan, asetilkolinesteraz ve üreaz inhibisyon potansiyeline sahip olup en yüksek fenolik içeriği göstermiştir. Antikanser aktivite testlerinde, 50 µg/mL konsantrasyondaki ekstraterin sitotoksikite göstermediği, kloroform ekstresinin 100 µg/mL'de HeLa (%74.63), HCT116 (%72.96) ve MCF-7 (%69.45) hücrelerinde sitotoksik etki sergilemiştir. Metanol ekstresinden hazırlanan nanopartiküller belirgin antiinflamatuvar aktivite göstermiştir. HPLC-DAD analizinde klorojenik asit, kinik asit, rosmarinik asit ve 8-OH salvigenin; GC-MS analizinde ise 1,8-cineole, piperitone, camphor ve fenol major bileşikler olarak tespit edilmiştir. Bitkinin midevi, yara iyileştirici ve soğuk algınlığı tedavisinde kullanımı en çok tespit edilen etnobotanik özellikleri olmuştur.

Bu çalışma, *Achillea kirschneri*'nin zengin fitokimyasal içeriği ve etnobotaniksel özelliğe sahip olduğunu, biyolojik açıdan umut verici aktiviteler sergilediğini ve farmasötik potansiyel taşıdığını ortaya koymaktadır.

Anahtar Kelimeler: *Achillea*, *Achillea kirschneri*; Biyolojik aktivite; Etnobotanik; Fitokimya.

ABSTRACT

DETERMINATION OF THE BIOLOGICAL ACTIVITY, ETHNOBOTANICAL USES, AND PHYTOCHEMICAL PROPERTIES of *Achillea kirschneri* Yild. & Kılıç PLANT

Name and SURNAME of student: Talip ŞAHİN

Department of Biology

Adıyaman University, Graduate Education Institute, December/2025, Page:147

Supervisor: Prof. Dr. Ömer KILIÇ

Co-Supervisor: Associate Prof. Dr. Turgut TAŞKIN

The aim of this thesis is to obtain different extracts (petroleum ether, chloroform, and methanol) from the endemic and previously unexplored plant *Achillea kirschneri* Yild. & Kılıç and to determine their antioxidant, anticholinesterase, antiurease, and anticancer activities. Within this scope, chitosan nanoparticles were prepared from the extract showing high biological activity, and their anti-inflammatory effects were examined. The phenolic compounds of the extract were identified, and molecular docking as well as pharmacological gene network analyses were conducted on these compounds. Furthermore, the essential oil composition and ethnobotanical properties of the plant was determined.

The antioxidant activities of the extracts were determined using the DPPH, FRAP, and CUPRAC assays, while anticholinesterase, antiurease, and anticancer activities were evaluated by the Ellman, Indophenol, and MTT methods, respectively. Phenolic contents of the extracts were determined by the Folin-Ciocalteu method, and chitosan nanoparticles were prepared from the biologically active methanol extract in accordance with green chemistry principles. The anti-inflammatory effects of the nanoparticles and the extract were examined using the WST-1 assay. The phytochemical profile of the bioactive extract was characterized by HPLC-DAD, and the identified compounds were further analyzed through molecular docking and pharmacological gene network analyses. The essential oil composition of the plant was determined by GC-MS. Ethnobotanical properties of the plant were determined through interviews with the local people in the locality.

The methanol extract exhibited the strongest antioxidant, acetylcholinesterase, and urease inhibition activities and contained the highest amount of phenolic compounds. Anticancer assays revealed no cytotoxicity at 50 µg/mL, whereas the chloroform extract showed significant cytotoxic effects at 100 µg/mL against HeLa (74.63%), HCT116 (72.96%), and MCF-7 (69.45%) cell lines. Nanoparticles prepared from the methanol extract demonstrated marked anti-inflammatory activity. HPLC-DAD analysis identified chlorogenic acid, quinic acid, rosmarinic acid, and 8-OH salvigenin, while GC-MS analysis revealed 1,8-cineole, piperitone, camphor, and phenol as the major volatile compounds. The most commonly identified ethnobotanical uses of the plant were for treating digestive issues, wound healing, and alleviating symptoms of the common cold.

This study reveals that *Achillea kirschneri* possesses a rich phytochemical profile and notable ethnobotanical significance, exhibits promising biological activities, and holds pharmaceutical potential.

Keywords: *Achillea*, *Achillea kirschneri*; Biological activity; Ethnobotany; Phytochemistry.

TEŞEKKÜR / ÖNSÖZ

Doktora eğitimim ve tez çalışmam boyunca ilgi ve desteğini gördüğüm, tecrübeleri ve mütevazı kişiliği ile bana ışık olan danışmanım Sayın Prof. Dr. Ömer KILIÇ 'a (Adıyaman Ünv. Ecz. Fak.); hem yüksek lisans dönemi ve hemde doktora dönemimde, benimle bütün bilgi birikimini paylaşan ve her konuda destek olan Marmara Üniversitesi Öğretim Üyesi ikinci danışmanım Sayın Doç. Dr. Turgut TAŞKIN'a (Marmara Ünv. Ecz. Fak.); çok teşekkür ederek saygılarımı sunarım.

Eğitim dönemimdeki katkılarından dolayı Adıyaman Ünv. Fen-Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölüm Başkanı Prof. Dr. Mustafa COŞKUN başta olmak üzere; Prof. Dr. Özgür FIRAT ve Prof. Dr. Yusuf SEVGİLER'e; tez izleme komitemde yer alan Doç. Dr. Gökem DENİZ SÖNMEZ (Adıyaman Ünv. Ecz. Fak.) ile Doç. Dr. Azize DEMİRPOLAT'a (Bingöl Ünv. Gıda, Tarım ve Hayvancılık MYO); ayrıca arazi çalışmalarım ve bitki teşhisi sırasında yardımını aldığım Prof. Dr. Şinasi YILDIRIMLI (Hacettepe Ünv. Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü emekli öğretim üyesi) hocalarımıza çok teşekkür ederim.

Tezimin laboratuvar aşamalarında yardımcı olan Öğretim Görevlisi Aslı GÜL ACAR (Uludağ Ünv. Gemlik Asım Kocabıyık MYO), Doç. Dr. Murat DOĞAN (Sivas Cumhuriyet Ünv. Ecz. Fak.) ve Dr. Öğr. Üyesi Erkan ÖNER (Adıyaman Ünv. Ecz. Fak.) hocalarımıza çok teşekkür ederim.

Eğitimim boyunca desteklerini her zaman arkamda hissettiğim sevgili annem ve babam başta olmak üzere tüm aileme şükranlarımı sunarak, bu çalışmanın konu ile ilgili yapılacak olan yeni çalışmalara yararlı olmasını dilerim.

Talip ŞAHİN

03 / 12 / 2025

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Bu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı; bu çalışma kapsamında elde edilen tüm veri ve bilgiler için kaynak gösterdiğimi ve bu kaynaklara kaynakçada yer verdiğimi; bu çalışmanın Adıyaman Üniversitesi tarafından kullanılan “bilimsel intihal tespit programı”yla tarandığını ve hiçbir şekilde “intihal içermediğini” beyan ederim. Herhangi bir zamanda, çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçları kabul ettiğimi bildiririm.

Talip ŞAHİN

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
BAŞLIK SAYFASI.....	i
JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI	ivi
ÖZET	iii
ABSTRACT	iv
TEŞEKKÜR / ÖNSÖZ.....	v
ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ	vi
İÇİNDEKİLER.....	vii
TABLolar /ÇİZELGELER DİZİNİ	xii
ŞEKİLLER/GÖRSELLER DİZİNİ.....	xiv
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xv
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	8
2.1. Botanik Bilgiler	8
2.1.1. Asteraceae familyası.....	8
2.1.2. <i>Achillea</i> L. cinsi.....	8
2.1.3. <i>Achillea kirschneri</i> Yıld. & Kılıç	9
2.1.4. Bazı <i>Achillea</i> türlerinin etnobotanik özellikleri.....	10
2.1.5. Bazı <i>Achillea</i> türlerine ait kimyasal ve biyolojik aktivite çalışmaları.....	25
2.2. Nanopartiküller	27
2.3. Serbest Radikaller ve Antioksidanlar	29
2.3.1. Serbest radikaller	29
2.3.2. Antioksidanlar	30
2.4. Alzheimer Hastalığı.....	32
2.5. <i>Helicobacter pylori</i>	34
2.5.1. Morfolojik ve fizyolojik özellikler.....	34

2.5.2. <i>Helicobacter pylori</i> enfeksiyon mekanizması	35
2.5.3. <i>Helicobacter pylori</i> 'nin klinik önemi.....	36
2.6. İnflamasyon	37
2.6.1. İnflamasyon nedir?	37
2.6.2. İnflamasyona neden olan faktörler.....	37
2.6.3. İnflamasyon süreci	38
2.7. Kanser	39
2.7.1. Kanser hücrelerinin enerji metabolizması ve warburg etkisi.....	39
2.7.2. Onkogenler ve tümör baskılayıcı genler: kanser gelişimindeki rolleri	40
2.7.3. Anjiyogenez ve metastaz: Tümör ilerlemesinde temel süreçler	41
2.8. Uçucu Yağlar	41
2.8.1. Uçucu yağların elde edilme yöntemleri	42
2.8.2. Uçucu yağlarla ilgili bazı farmakolojik çalışmalar	43
2.8.3. Uçucu yağların kullanım alanları	44
2.9. Fenolik Bileşikler	45
2.9.1. Fenolik bileşiklerin sınıflandırılması.....	46
2.9.1.1. <i>Fenolik asitler</i>	46
2.9.1.2. <i>Flavonoitler</i>	46
2.9.1.3. <i>Stilbenoidler</i>	47
2.9.1.4. <i>Lignanlar</i>	48
2.9.1.5. <i>Tanenler</i>	49
2.10. Moleküler Docking	50
2.11. Farmakolojik Gen Ağ (Network) Analizi	52
2.11.1. Uygulama alanları.....	52
2.11.1.1. <i>Yeni ilaç hedeflerinin belirlenmesi</i>	52
2.11.1.2. <i>Polifarmakoloji ve çok hedefli ilaç tasarımı</i>	53
2.11.1.3. <i>İlaç yeniden konumlandırma</i>	53

2.11.1.4. İlaç direncinin mekanizmalarının aydınlatılması.....	53
2.11.1.5. Yan etkilerin tahmini ve güvenlik değerlendirmesi	53
2.11.1.6. Bireyselleştirilmiş tıp uygulamaları.....	53
3. GEREÇ ve YÖNTEM	54
3.1. Bitki Materyali	54
3.2. Kullanılan Cihazlar	55
3.3. Kimyasal Maddeler, Çözücüler ve Çözeltiler.....	56
3.4. Bitki Ekstrelerinin Hazırlanması	57
3.5. Çözeltilerin Hazırlanması	57
3.5.1. DPPH serbest radikali giderme kapasitesinde kullanılan çözeltiler	57
3.5.2. Demir (III) iyonu indirgeyici antioksidan kapasite yönteminde kullanılan çözeltiler	58
3.5.3. Bakır (II) iyonu indirgeyici antioksidan kapasite tayininde kullanılan çözeltiler	58
3.5.4. Toplam fenolik madde miktarı tayininde kullanılan çözeltiler	59
3.5.5. Anti-kolinesteraz aktivite tayininde kullanılan çözeltiler.....	59
3.5.6. Anti-üreaz aktivite tayininde kullanılan çözeltiler.....	60
3.6. Yöntemler	60
3.6.1. Antioksidan aktivite yöntemi	60
3.6.1.1. DPPH radikali süpürücü aktivite yöntemi	61
3.6.1.2. Demir (III) indirgeme antioksidan gücü tayini (FRAP)	61
3.6.1.3. Bakır (II) iyonu indirgeyici antioksidan kapasite yöntemi (CUPRAC) ...	62
3.6.2. Toplam fenolik madde miktarlarının belirlenmesi	62
3.6.3. Anti-kolinesteraz aktivite tayin yöntemi	63
3.6.4. Anti-üreaz aktivite tayini.....	64
3.6.5. Antikanser aktivite.....	64
3.6.5.1. Hücrelerin çözülmesi	64

3.6.5.2. Hücrelerin pasajlanması	65
3.6.5.3. Hücre sayısının hesaplanması.....	65
3.6.5.4. MTT yöntemi	65
3.6.6. Kitosan yüklü nanopartiküllerin hazırlanması	67
3.6.6.1. Nanopartiküllerin (NP'lerin) enkapsülasyon verimliliği (EE) ve yükleme kapasitesi (LC) çalışmaları.....	67
3.6.6.2. Parçacık boyutu ve zeta (ζ) potansiyelinin ölçümü	68
3.6.6.3. Ekstre yüklü nanopartiküllerin in vitro salım çalışması	68
3.6.7. Antiinflamasyon aktivite yöntemi.....	69
3.6.8. Uçucu yağın GC-MS analizi.....	69
3.6.9. HPLC cihazı ile fenolik bileşiklerin analizi.....	70
3.6.10. Moleküler docking çalışması.....	71
3.6.10.1. Ligand sistemi	71
3.6.10.2. Protein sistemi.....	71
3.6.10.3. Moleküler modelleme.....	71
3.6.11. Farmakolojik gen ağı analizi	72
3.6.12. Etnobotaniksel çalışma	72
3.6.13. İstatistik hesaplama.....	72
4. BULGULAR	72
4.1. Bitki Ekstrelerinin Antioksidan Aktivite Sonuçları	73
4.1.1. DPPH radikali giderme aktivite tayini.....	73
4.1.2. Demir (III) indirgeme antioksidan gücü tayini (FRAP)	73
4.1.3. Bakır (II) iyonu indirgeyici antioksidan kapasite tayini (CUPRAC)	74
4.2. Toplam Fenolik Madde Miktarlarının Tayini.....	74
4.3. Ekstrelerin Anti-kolinesteraz Aktivite Tayini.....	75
4.4. Ekstrelerin Anti-üreaz Aktivite Tayini.....	75
4.5. Antiproliferatif ve Sitotoksik Aktivite Sonuçları.....	76

4.6. Ekstre İçeren Nanopartiküllerin Karakterizasyon Çalışması.....	78
4.7. Anti-inflamatuar Aktivite Sonuçları.....	79
4.8. <i>A. kirschneri</i> Uçucu Yağının GC-MS Sonuçları.....	80
4.9. Bitkinin İçerdiği Fitokimyasalların Miktar Tayini	81
4.10. Moleküler Docking	82
4.10.1. Uçucu yağdaki iki en aktif bileşenler için moleküler docking	82
4.10.2. Fenolik bileşiklerden en aktif iki bileşen için moleküler docking.....	85
4.11. Farmakolojik Gen Ağ Analizi.....	87
4.11.1. Uçucu yağdaki dört major bileşen ile ilgili gen ağı analizi.....	87
4.11.2. Fenolik bileşikler ile ilgili gen ağı analizi	90
4.12. <i>A. kirschneri</i> Bitkisinin Lokalite Bölgesindeki Etnobotaniksel Özelliği.....	91
5. SONUÇ ve TARTIŞMA.....	93
KAYNAKÇA.....	110
ÖZGEÇMİŞ	

TABLÖLAR /ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa
Tablo 2.1. Bazı <i>Achillea</i> türlerine ait kimyasal çalışmalar.	25
Tablo 2.2. Bazı <i>Achillea</i> türlerine ait farmakolojik çalışmalar.	26
Tablo 2.3. Bazı serbest radikallerin oluşum kaynakları ve olası etkileri.	29
Tablo 2.4. İnflamasyona neden olan faktörler.	37
Tablo 3.1. Antikanser aktivite deneyinde kullanılan hücre hatları	63
Tablo 3.2. HPLC’de kullanılacak gradient elüsyon profili.....	70
Tablo 4.1. Bitkiden maserasyon yöntemiyle elde edilen farklı ekstraların DPPH radikali süpürücü aktiviteleri	72
Tablo 4.2. <i>A. kirschneri</i> bitkisinden elde edilen ekstraların FRAP değerleri	73
Tablo 4.3. <i>A. kirschneri</i> bitkisinden elde edilen ekstraların CUPRAC değerleri	73
Tablo 4.4. <i>A. kirschneri</i> bitkisinden elde edilen ekstraların toplam fenolik madde içeriği	74
Tablo 4.5. <i>A. kirschneri</i> bitkisinden elde edilen ekstraların anti-kolinesteraz aktiviteleri..	74
Tablo 4.6. Ekstrelerin Anti-üreaz Aktivite Tayini	75
Tablo 4.7. <i>A. kirschneri</i> bitkisinin 50µg/mL konsantrasyonda petrol eteri, kloroform ve metanol ekstralarının kanserli hücre hatları üzerindeki % inhibisyon oranları.	75
Tablo 4.8. <i>A. kirschneri</i> bitkisinin 100µg/mL konsantrasyonda petrol eteri, kloroform ve metanol ekstralarının kanserli hücre hatları üzerindeki % inhibisyon oranları.	76
Tablo 4.9. <i>A. kirschneri</i> bitkisinin heptan, kloroform ve metanol ekstralarının normal hücre (NIH-3T3) üzerine % çoğalma etkisi	76
Tablo 4.10. Ekstre yüklü nanopartiküllerin partikül boyutu ve dağılımı sonuçları	77
Tablo 4.11. Ekstre yüklü nanopartiküllerin enkapsülasyon verimliliği.....	78
Tablo 4.12. Metanol ekstresi ve ekstre içeren NP’lerin RAW-264.7 hücre hattı üzerine konsantrasyona bağlı etkileri.	78
Tablo 4.13. <i>A. kirschneri</i> bitkisinin uçucu yağ kompozisyonu	79
Tablo 4.14. 1,8-Cineole ve piperitone bileşiklerinin asetilkolin esterase ve üreaz protein yapılarındaki moleküler doking skorları.....	81
Tablo 4.15. Rosmarinik asit ve kinik asit bileşiklerinin kolinesteraz ve üreaz protein yapılarındaki moleküler doking skorları.....	84
Tablo 4.16. 1,8 cineole, piperotone, camphor ve phenol bileşiklerine ait ortak genlerin listesi.....	87

Tablo 4.17. Klorojenik asit, rosmarinik asit ve salvigenin bileşiklerine ait ortak gen listesi	
.....	89

ŞEKİLLER/GÖRSELLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 2.1. Gümüş nanopartiküllerin (AgNP) TEM görüntüsü.	27
Şekil 2.2. <i>Helicobacter pylori</i>	34
Şekil 3.1. <i>A. kirschneri</i> herbaryum örneği ile habitatındaki görüntüsü.	54
Şekil 3.2. <i>A. kirschneri</i> bitkisinin petrol eteri, kloroform ve metanol ekstraktları	56
Şekil 3.3. Shimadzu GC-MS QP 2010 Ultra analiz cihazı.....	69
Şekil 4.1. Uçucu yağda tespit edilen major bileşenlerin PİK değerleri.....	80
Şekil 4.2. <i>A. kirschneri</i> bitkisinin metanol ekstraktının kromatogramı	81
Şekil 4.3. 1,8-Cineole ve piperitone bileşimlerinin kolinesteraz proteinine bağlanma yapısı	82
Şekil 4.4. 1,8-Cineole ve piperitone bileşimlerinin üreaz proteinine bağlanma yapısı.....	83
Şekil 4.5. Üreaz proteinine rosmarinik asit ve kinik asit bileşiklerinin moleküler doking analiz görselleri.....	85
Şekil 4.6. Asetilkolin esteraz protein yapısında rosmarinik asit ile kinik asit bileşiminin moleküler doking bulguları	86
Şekil 4.7. 1,8 cineole, piperotone, camphor ve phenol bileşiklerine ait ortak gen analizi... ..	88
Şekil 4.8. 1,8 cineole, piperotone, camphor ve phenol bileşiklerine farmakolojik ağ analizindeki moleküler fonksiyon ilişkileri	88
Şekil 4.9. Klorojenik asit, Rosmarinik asit ve Salvigenin bileşiklerine ait venn diyagramı analizi	89
Şekil 4.10. Klorojenik asit, rosmarinik asit ve salvigenin bileşiklerinin ortak genlerinin farmakolojik ağ ilişkisi	90

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AChE:	Asetilkolinesteraz Enzimi
AH:	Alzheimer Hastalığı
AgNP:	Gümüş Nanopartikülleri
COX:	Siklooksijenaz
CUPRAC:	Bakır Cu (II) İyonu İndirgeme Antioksidan Kapasitesi
DMSO:	Dimetil Sülfoksit
DPPH:	2,2-difenil1-pikrilhidrazil
FCR:	Folin-Ciocalteu Reaktifi
FRAP:	Demir (III) İyonu İndirgeyici Antioksidan Kapasite Yöntemi
HPLC :	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
IC ₅₀ :	Enzimin %50'sinin İnhibisyonunu Sağlayan Madde Konsantrasyonu
KEGG:	Kyoto Genler Ve Genomlar Ansiklopedisi
MRI:	Manyetik Rezonans Görüntüleme
MSNs:	Mezogözenekli Silika Nanopartiküller
MTT:	3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür
NF-κB:	Nükleer Faktör Kappa B
NLC:	Nanoyapılı Lipid Taşıyıcılar
NSAİİ:	Nonsteroid Antiinflatuvar İlaçlar
NP:	Nanopartikül
PPI:	Protein-Protein Etkileşim Ağları
SD:	Standart Sapma
SLN:	Katı Lipit Nanopartikülleri
WHO:	Dünya Sağlık Örgütü
TEAC:	Troloks Eşdeğeri Antioksidan Kapasitesi
TPC:	Toplam Fenolik Bileşikler

1. GİRİŞ

Bitkiler en çok ve tıbbi amaçlarla kullanılmakta olup, birçok farklı kullanım alanları bulunmaktadır. Bitkilerin yaprak, toprak altı, meyve, tohum ve kabuk gibi kısımları geleneksel tıp ile etnobotanikte yaygın şekilde kullanılmaktadır. İçerdikleri çok yönlü sekonder metabolitler ile kimyasal zenginliklerden dolayı bitki kısımları etnobotanikte, halk hekimliğinde ve gıda amacıyla kullanılmaktadır. Tıbbi ve aromatik bitkilerle tedavi ve bunların farklı amaçlarla kullanımları insanlık tarihinden beri vardır. Hastalıklara çare arayan ve ihtiyaçlarını gidermeye çalışan insanoğlu, sürekli doğaya ve doğadaki bitkilere yönelmiştir. Başlangıçta bitkilerin kullanımı, hayvanlarda da gözlemlendiği üzere içgüdüsel temellere dayanıyordu [1]. Ancak zamanla, belirli hastalıkların tedavisinde bazı bitkilerin nasıl etkili olduğu anlaşılmış ve böylece bitkisel tedavi yöntemleri deneysel yaklaşımlardan uzaklaşıp bilimsel dayanaklara kavuşmuştur. İnsanlık, hastalıklarla süregelen mücadelesi ve ihtiyaçlarını giderme isteği sonucunda, bitkilerin kabuk, tohum, meyve ve diğer kısımlarını kullanmayı öğrenmişlerdir [2]. Tıbbi kimyanın 16. yüzyılda ortaya çıkışına kadar bitkiler, hem tedavi hem de korunma amacıyla kullanılan başlıca kaynak olmuşlardır. Günümüzde sentetik ilaçların etkinliğinde görülen azalma ve bu ilaçlara bağlı yan etkilerin artması ile beraber bitkisel kaynaklı ilaçlar yeniden gündeme gelmiş ve organik kökenli tedavi konusunda arayışlar daha da yaygınlaşmıştır. Modern bilim, eski uygarlıklar tarafından yüzyıllardır bilinen ve kullanılan birçok bitkisel ilacın terapötik etkilerini onaylamış ve bu ilaçları modern farmakoterapinin önemli bir parçası hâline getirmiştir. Tıbbi bitkilerin kullanımına dair bilgi birikiminin ve farkındalığın gelişimi, özellikle sağlık hizmetlerinin gelişmesiyle birlikte, eczacıların ve doktorların yeni ortaya çıkan sağlık sorunlarına daha etkili yanıtlar verebilmesini sağlamaktadır [3].

Tıbbi aromatik bitkiler bitkisel ilaç olarak değerlendirilmesinin yanında; kozmetik, gıda, ve zirai mücadele gibi alanlarda yaygın kullanılmaktadır. Tıbbi bitkiler, hem kişisel kullanımda hem de sağlık uzmanlarının önerisiyle, tek başına veya sentetik ilaçlarla birlikte tedavi amacıyla kullanılmaktadır. Etkili bir tedavi için bitkilerin farmakolojik özelliklerinin bilinmesi gereklidir. Ayrıca aromatik özelliktekiler başta olmak üzere bazı türler baharat, tatlandırıcı, renklendirici ve koruyucu olarak da değerlendirilir. Bitkinin içerdiği fitokimyasallar hem hastalıkların tedavisinde hem de ilaç yapımında önemlidir. Fitoterapide yaygın olarak kullanılan, bu tür bitkilerin antimikrobiyal, antioksidan, anti-inflamatuar, anti-diyabetik ve antibiyotik gibi birçok etkisi vardır [4].

Türkiye üç fitocoğrafik bölgeyi içine alması (Anadolu-Turan, Avrupa-Sibirya ve Akdeniz), coğrafi konumu, habitat çeşitliliğine sahip olması, Avrupa ve Asya kıtaları arasında geçiş bölgesinde bulunması, jeomorfolojik ile topoğrafik yapısı, farklı edafik, ekolojik ve iklimsel özelliklerinin olması, ılıman iklim kuşağında olması gibi sebeplerle floristik açısından zengindir. Ülkemizde 13.000'in üzerinde bitki taksonu bulunmakta olup, bu sayı Avrupa kıtasındaki toplam tür sayısından fazladır [5]. Türkiye florasının en dikkat çekici özelliğinden biri ise yüksek endemizm oranıdır; 3.200'den fazla bitki türü sadece Türkiye'ye özgü olup, bu oran %30'un üzerindedir [6,7]. Türkiye, bu yüksek floristik zenginlik ve endemizm oranı nedeniyle, dünya genelinde tanımlanmış 34 sıcak biyolojik noktadan (Biyolojik çeşitlilik merkezi) üçüne (Akdeniz, Kafkasya, İran-Anadolu) ev sahipliği yapmakta olup, küresel ölçekte korunması gereken önemli bir biyolojik çeşitlilik merkezi konumundadır [8].

Achillea L. cinsi, Asteraceae (Papatyagiller) familyasına ait olup, dünya genelinde özellikle Avrupa, Batı Asya ve Orta Doğu'da yayılış gösteren çok yıllık otsu bitkileri kapsamaktadır. *Achillea* üyelerinin çoğu tıbbi, kokulu özellikte olup, bu cinse ait türler, ülkemizde genellikle "civanperçemi" adıyla bilinmektedir. İçerdikleri zengin ve farklı sekonder metabolitlerden dolayı cins üyelerinin çoğu etnobotanikte ve fitoterapide kullanılmaktadırlar. *Achillea* taksonları Türkiye florasında da geniş yer kaplar. Yaklaşık 50'den fazla türü bulunmaktadır ve bunların önemli bir kısmı endemiktir [7,9]. *Achillea* taksonlarının hemen hepsi, başta antiinflamatuvar, antimikrobiyal, antioksidan, spazmolitik ve yara iyileştirici özellikleri olmak üzere birçok farmakolojik etki göstermeleri nedeniyle geleneksel tıpta uzun süredir kullanılmaktadır [10,11]. Bu etkiler genellikle uçucu yağlar, flavonoidler, fenolik asitler ve seskiterpen laktonlar gibi biyolojik olarak aktif bileşikler (bitki sekonder metabolitleri) sayesinde ortaya çıkmaktadır [12]. Ülkemizde *Achillea millefolium* L., *A. biebersteinii* Afan, *A. wilhelmsii* K.Koch ve *A. aleppica* DC. en yaygın kullanılan civanperçemi türleridir. *Achillea* taksonlarının biyolojik etkileri ve kimyasal içerikleri üzerine yapılan çalışmalar, *Achillea* cinsinin potansiyel farmasötik kullanımına işaret etmektedir [13].

Nanopartiküllerin boyutları genellikle 1-100 nanometre arasında olup, bunlar nanoteknolojinin temel yapı taşları olarak çeşitli bilim ve teknoloji alanlarında önemli uygulamalara ve kullanım alanlarına sahiptir [14]. Çok küçük boyutları sayesinde nanopartiküller, avantajlı yüksek yüzey alanı ve fizikokimyasal özelliklere sahiptirler. Bu da onları ilaç taşıma sistemleri, teşhis, görüntüleme, kataliz ve çevre uygulamaları gibi

birçok alanda kullanımlarını cazip hale getirmektedir [15]. Nanopartiküller hedefe yönelik ilaç iletimi sağlayarak etkinliği artırmak ve yan etkileri azaltmak amacıyla özellikle tıpta çok kullanılmaktadır [16]. Nanopartiküllerin çeşitleri olup bunlardan; kitosan nanopartikülleri özellikle ilaçların kontrollü salınımı ve hedefe yönelik taşınması amacıyla geliştirilmiştir. Bu nanopartiküller, yüksek pozitif yük taşıması sayesinde negatif yüklü biyomoleküller ve hücre yüzeyleri ile etkin etkileşim sağlarlar [17].

Serbest radikaller, hücre metabolizması sırasında oluşan ve çiftlenmemiş elektron içeren reaktif oksijen türevleridir (ROT). Bu moleküller oldukça reaktif olup, lipitler, proteinler, DNA gibi biyolojik makromoleküllere zarar vererek oksidatif stres oluşumuna neden olurlar [18]. Oksidatif stres, kanser, kardiyovasküler hastalıklar, diyabet, alzheimer gibi birçok hastalığın ve yaşlanmanın temel mekanizmalarından biri olarak kabul edilmektedir [19]. Vücut, bu zararlı etkileri dengelemek amacıyla antioksidan adı verilen savunma sistemlerine sahiptir. Antioksidanlar, serbest radikalleri etkisiz hale getirerek hücresel yapının korunmasına katkıda bulunur. Endojen antioksidanlar (örneğin glutatyon, süperoksit dismutaz, katalaz) vücut tarafından sentezlenirken, dışarıdan alınan ekzogen antioksidanlar (örneğin C vitamini, E vitamini, polifenoller, flavonoidler) besinler yoluyla alınır [20].

Alzheimer hastalığı (AH), ilerleyici ve geri dönüşsüz bir nörodejeneratif hastalık olup, özellikle yaşlı bireylerde bellek kaybı, bilişsel işlev bozuklukları ve davranış değişiklikleriyle karakterizedir. Hastalığın temel patolojik özellikleri arasında β -amiloid plakları, tau proteinlerinin hiperfosforilasyonu sonucu oluşan nörofibriller yumaklar, sinaptik dejenerasyon ve nöronal kayıp yer almaktadır [21]. Alzheimer, dünya genelinde demansın en yaygın formudur ve yaşlı nüfusun artmasıyla birlikte prevalansı hızla yükselmektedir. Oksidatif stres, nöroenflamasyon, kolinerjik sistemin bozulması ve mitokondriyal disfonksiyon, bu hastalığın gelişiminde rol oynayan başlıca mekanizmalar arasında sayılmaktadır [22]. Günümüzde uygulanan tedavi yöntemleri, hastalığın semptomlarını hafifletmeye yönelik olup, genellikle asetilkolinesteraz inhibitörleri (donepezil, rivastigmin) veya NMDA (N-metil-D-aspartat) antagonistleri (memantin) gibi ilaçlar kullanılmaktadır [23].

Helicobacter pylori, insan midesine yerleşen spiral şekilli, gram-negatif ve mikroaerofilik bir bakteridir. Dünya genelinde yetişkin nüfusun yaklaşık %50'sinden fazlası bu bakteriyi taşımaktadır [24]. *H. pylori*, mide mukozasında kronik inflamasyona neden olarak gastrit, peptik ülser, mide adenokarsinomu ve mukozaya bağlı lenfoid doku

lenfoması (MALT lenfoma) gibi çeşitli gastrointestinal hastalıkların ortaya çıkmasına neden olurlar [25]. Bu bakteri, üreaz enzimi üretimi sayesinde midenin asidik ortamında hayatta kalır ve mukoza tabakasına zarar vererek konak hücrelerde iltihabi yanıtı tetikler. Dünya Sağlık Örgütü (WHO), *H. pylori*'yi grup 1 sınıfı karsinojen olarak tanımlamaktadır [26]. Tedavide genellikle antibiyotikler (klaritromisin, amoksisilin, metronidazol) ve proton pompası inhibitörlerinin birlikte kullanıldığı kombinasyon tedavileri uygulanmaktadır. Ancak son yıllarda antibiyotik direncinin artması, tedavi başarısını olumsuz yönde etkilemektedir [27].

Antiinflamatuvar ajanlar, inflamatuvar yanıtı baskılayarak doku hasarını azaltan ve çeşitli kronik hastalıkların (örneğin romatoid artrit, inflamatuvar bağırsak hastalıkları, kardiyovasküler hastalıklar ve kanser) tedavisinde kullanılan önemli bileşiklerdir [28]. İnflamasyon sırasında sitokinler, prostaglandinler, lökotrienler gibi mediyatörler salınır ve bu süreçte özellikle nükleer faktör kappa B (NF- κ B) ve siklooksijenaz (COX) yolları temel rol oynar [29]. Antiinflamatuvar bileşikler bu sinyal yollarını inhibe ederek iltihap yanıtını azaltır. Nonsteroid antiinflamatuvar ilaçlar (NSAİİ'ler) genellikle COX-1 ve COX-2 enzimlerinin inhibisyonu yoluyla prostaglandin sentezini azaltır, ancak uzun süreli kullanımları mide ve böbrek gibi organlarda yan etkilere yol açabilir [30]. Bu nedenle son yıllarda bitkisel kökenli antiinflamatuvar bileşiklere olan ilgi artmıştır. Flavonoidler, terpenoidler ve alkaloidler gibi fitokimyasallar, daha düşük yan etki profiline sahip alternatif ajanlar olarak araştırılmaktadır [31].

Kanser, hücre proliferasyonunun normal fizyolojik kontrol mekanizmalarından sapması sonucu gelişen, çok faktörlü ve genetik temelli bir hastalık grubudur. Normal hücrelerin malign hücrelere dönüşüm süreci, genellikle onkogenlerin aktivasyonu ve tümör supresör genlerin inaktivasyonu ile karakterizedir. Bu süreçte, hücre döngüsünün düzenlenmesinden sorumlu genlerde (TP53, RB1, BRCA1/2) meydana gelen mutasyonlar, apoptozun engellenmesine, sınırsız hücre çoğalmasına ve metastatik potansiyele sahip tümörlerin gelişimine neden olur [32]. Epigenetik değişiklikler, DNA metilasyonu ve histon modifikasyonları da kanser gelişiminde ve tetiklenmesinde etkilidirler. Ayrıca, tümör mikroçevresi (immün hücreler, stromal hücreler ve ekstrasellüler matriks bileşenleri dahil olmak üzere) kanserin ilerlemesini destekleyen karmaşık bir etkileşim ağına sahiptir [33]. Çevresel faktörler (sigara, radyasyon, enfeksiyonlar) ve yaşam tarzı seçimleri de genetik yatkınlıkla birleştiğinde kanser riskini önemli ölçüde artırır [34].

Uçucu yağlar, aromatik bitkilerin çiçek, yaprak, meyve, kabuk, kök, reçine gibi çeşitli kısımlarından buhar distilasyonu, soğuk presleme veya çözücü ekstraksiyonu gibi yöntemlerle elde edilen, lipofilik ve uçucu karakterdeki kompleks karışımlardır. Bu karışımlar çoğunlukla monoterpenler, seskiterpenler ve bunların oksijenli türevleri (alkoller, aldehitler, ketonlar, fenoller, esterler ve oksitler) gibi yüzlerce farklı bileşiği içerir. Bitkilerde bu yağlar, çevresel stres faktörlerine karşı savunma, patojenlere karşı koruma ve tozlaşmayı teşvik etme gibi görevler üstlenirken, insanlar için de farmakolojik açıdan oldukça değerli biyolojik aktiviteler sergilerler [35,36]. Uçucu yağların antimikrobiyal, antifungal, antiviral, antioksidan, antiinflamatuvar, analjezik ve antikanser gibi çok yönlü etkileri, geleneksel tıpta olduğu kadar modern farmasötik ve kozmetik uygulamalarda da yaygın kullanımlarına neden olmuştur [37]. Uçucu yağların antioksidan etkileri lipid peroksidasyonunu inhibe ederek serbest radikallerin yol açtığı hücresel hasarı azaltmakta, bu sayede kardiyovasküler hastalıklar, nörodejeneratif bozukluklar ve kansere karşı koruyucu rol oynayabilmektedir [38]. Ancak uçucu yağların terapötik potansiyeli kadar, yüksek konsantrasyonlarda toksisiteye neden olabileceği ve kullanırken dikkatli formülasyon ile dozaj gerektirdiği de bilimsel olarak vurgulanmaktadır [39].

Fenolik bileşikler, bitkilerde doğal olarak sentezlenen ve yapılarında en az bir aromatik halka ile bir veya daha fazla hidroksil grubu içeren geniş ve çeşitli bir fitokimyasal gruptur. Bu bileşikler başlıca flavonoidler (flavonlar, flavonoller, flavanonlar, izoflavonlar), fenolik asitler (hidroksibenzoik ve hidroksisinamik asitler), tanenler, lignanlar ve stilbenler gibi alt sınıflara ayrılır [40]. Bitkilerde büyüme, gelişme, savunma ve renklenme gibi fizyolojik süreçlerde rol alırken; insan sağlığı açısından antioksidan, antiinflamatuvar, antimikrobiyal, antikanser ve kardiyoprotektif etkileriyle dikkat çekerler [41,42]. Fenolik bileşiklerin antioksidan etkisi, serbest radikalleri yakalama, metal iyonlarını şelatlama ve lipid peroksidasyonunu inhibe etme gibi çeşitli mekanizmalarla gerçekleşmektedir. Bu özellikleri sayesinde yaşlanma, kardiyovasküler hastalıklar, nörodejeneratif bozukluklar ve bazı kanser türlerinin önlenmesinde potansiyel koruyucu etkiye sahiptirler [43].

Moleküler docking, bir ligandın (genellikle küçük moleküllü bir ilaç adayı) hedef bir biyolojik makromolekül (çoğunlukla protein veya DNA) ile nasıl ve ne şekilde etkileşeceğini tahmin etmeye yarayan bilgisayar destekli moleküler bir modelleme yöntemi olup; ligandın aktif bölgeye bağlanma pozisyonunu ve afinitesini tahmin ederek moleküler etkileşimlerin üç boyutlu olarak görselleştirilmesini sağlar [44]. Docking çalışmaları,

özellikle ilaç keşfi ve tasarımı süreçlerinde hedef protein ile potansiyel inhibitörler arasındaki bağlanma modlarını ve bağlanma enerjilerini analiz ederek yüksek verimlilikle ön değerlendirme yapılmasına olanak tanır [45]. Bu teknik; hidrojen bağları, hidrofobik etkileşimler, elektrostatik kuvvetler ve Van der Waals etkileşimlerini hesaba katarak, ligandın hedef bölgeye en uygun bağlanma şeklini çeşitli algoritmalarla (örneğin AutoDock, Glide, GOLD) modellemektedir [46]. Moleküler docking, sanal tarama, yapı-temelli ilaç tasarımı, protein–ligand komplekslerinin incelenmesi ve biyolojik aktivitenin tahmini gibi birçok biyoinformatik ve kimyasal biyoloji alanında önemli bir araçtır [47].

Farmakolojik gen ağı analizi, ilaç etkilerinin altında yatan moleküler mekanizmaları anlamak amacıyla, genler, proteinler, metabolitler ve biyolojik yollar arasındaki ilişkilerin sistematik olarak incelenmesini sağlayan bir sistem biyolojisi yaklaşımıdır. Bu analiz yöntemi, bir ilacın hedef genleri üzerindeki etkilerini, gen-gen etkileşimlerini ve genlerin biyolojik ağlar içerisindeki rollerini ortaya koyar. Özellikle çok hedefli doğal ürünlerin ve kompleks karışımların etki mekanizmalarının aydınlatılmasında yaygın olarak kullanılmaktadır [48]. Gen ekspresyon profilleri, protein-protein etkileşim ağları (PPI), KEGG (Kyoto Genler ve Genomlar Ansiklopedisi) yolu analizleri ve Gene Ontolojisi (GO) terimleri ile zenginleştirilmiş veri kümeleri, farmakolojik gen ağı analizinin temelini oluşturur. Bu analizlerde genellikle Cytoscape, STRING, GeneMANIA ve DAVID gibi biyoinformatik araçlar kullanılmakta; ağ merkeziliği, kümeleme katsayısı ve modül analizi gibi metriklerle ilaç-hedef ilişkileri değerlendirilmektedir [49,50]. Farmakolojik gen ağı analizleri sayesinde, ilaçların yan etkileri, hedef dışı etkileri ve yeni kullanım alanları da öngörülebilir hale gelmektedir. Böylece klasik farmakoloji yaklaşımlarının ötesine geçilerek sistem düzeyinde daha bütüncül bir ilaç-etki haritası oluşturulabilmektedir [51].

Achillea L. üyelerinin çoğunluğu tıbbi aromatik özellikte olup, bu cinse ait taksonlar birçok farklı kültürde hem dahili (çay, tentür) hem harici (merhem, lapa) formlarda kullanılmaktadır [52]. Anadolu etnobotaniğinde ise başta mide ağrısı, gaz sancısı, soğuk algınlığı, kadın hastalıkları gibi birçok alanda tedavi amacı ile kullanılmakta ve bazı üyeleri çay olarak da yaygın şekilde tüketilmektedir [53]. Etnofarmakolojik veriler, bu geleneksel kullanımların, *Achillea* türlerinin içerdiği flavonoidler, uçucu yağlar, seskiterpen laktonlar ve fenolik asitler gibi biyolojik olarak aktif bileşenler (sekonder metabolitler) ile ilişkilendirilebileceğini göstermektedir. Bu nedenle *Achillea* taksonları ile ilgili etnobotanik veriler, modern fitoterapötik ürünlerin geliştirilmesinde önemli bir kaynaktır [54].

Bu tezin amacı;

1. Hakkında hiçbir çalışma olmayan (sistemik veriler hariç) ve henüz bilim dünyasına kazandırılmış olan endemik *Achillea kirschneri* bitkisinden maserasyon yöntemi ile farklı ekstraktlar (petrol eteri, kloroform ve metanol) elde etmek.
2. Elde edilen ekstraktların antioksidan, antikolinesteraz, antiüreaz ve antikanser etkilerini karşılaştırmalı olarak incelemek.
3. En güçlü aktivite gösteren ekstraktın fenolik bileşik içeriğini HPLC-DAD ile aydınlatmak ve ayrıca bu ekstraktın nanopartikül formu ile beraber antiinflamatuvar etkisini incelemek.
4. Bitkinin etnobotaniksel kullanım özelliğini belirleyerek diğer civanperçemi taksonlarının kullanımları ile genel karşılaştırma yapmak.
5. Moleküler docking yöntemi ile bitkiye ait uçucu yağlarda bulunan majör bileşenlerin ve fenolik bileşiklerin kolinesteraz ve üreaz ile nasıl ve ne şekilde etkileşeceğini göstermek.
6. Bitkinin uçucu yağ içeriğini aydınlatmak.
7. Uçucu yağlarda bulunan majör bileşenlerin ve fenolik bileşiklerin bazı hedef genler üzerindeki etkilerini farmakolojik gen ağ analizi yöntemi ile incelemek.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Botanik Bilgiler

2.1.1. Asteraceae familyası

Asteraceae-Compositae (Papatyagiller) familyası, ülkemizde en fazla bitki taksonu içeren familyadır. Asteraceae üyeleri hem tür çeşitliliği hem de ekolojik yayılım açısından dikkat çekici bir konumda olup, çoğunluğu kozmopoit özelliktedir [55]. Bu familyanın üyeleri dünya genelinde, özellikle ılıman ve subtropikal bölgelerde yaygın olmakla birlikte çok geniş bir habitat yelpazesinde bulunurlar. Asteraceae familyasının en ayırt edici morfolojik özelliği, her biri birçok küçük çiçekten oluşan kapitulum adı verilen bileşik çiçek başıdır. Bu yapı, tozlayıcı böcekler için görsel olarak çekici bir "tek çiçek" görünümü sunarak tozlaşma etkinliğini artırır. Çiçek başları genellikle disk (tüpsü) ve ligulat olmak üzere iki farklı tipte çiçek içerir; bu özellik taksonomik ayrımlar için önemlidir. Meyve şekli akendir (tek tohumlu, ince merikarpli-açılmayan kuru küçük meyve). [56].

Asteraceae taksonlarının çoğu sekonder metabolitler açısından zengindir. Bu bileşikler arasında flavonoidler, fenolik asitler, poliasetilenler, seskiterpen laktonlar ve triterpenoidler gibi biyoaktif maddeler yer alır [57]. Bu kimyasal bileşikler, bitkinin savunma sisteminde, ekolojik adaptasyonunda ve tozlaşmasının kolaylığında rol oynarken, aynı zamanda insan sağlığı üzerinde antioksidan, antiinflamatuvar, antimikrobiyal ve antikanser etkiler gibi çok sayıda farmakolojik aktivite de göstermektedirler [58]. Etnobotanik açısından da Asteraceae üyelerinin kullanım alanları geniş olup, birçoğu yüzyıllardır geleneksel tıpta kullanılmıştır. Örneğin, *Matricaria chamomilla* L. (papatya) gastrointestinal rahatsızlıklarda; *Silybum marianum* L. (devediken) karaciğer koruyucu olarak; *Artemisia absinthium* L. (pelinotu) ise antiparazitik ve iştah açıcı olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır [59]. Asteraceae familyasının çoğu üyesi aynı zamanda ekonomik ve ticari olarak da büyük öneme sahiptir. Ayrıca bu familya, bitki evrimi, sistematigi ve adaptasyon stratejileri açısından da model organizma olarak sıklıkla incelenmektedir [60].

2.1.2. *Achillea* L. cinsi

Achillea cinsi, Asteraceae familyasına ait olup, dünyada yaklaşık 140'dan fazla takson içermektedir [61]. Bu cinsin taksonları, genellikle çok yıllık, aromatik ve otsu bitkilerden oluşur. Gövdeleri dik ve genellikle dallı, yaprakları ise almaşık dizilişli, derin parçalı ve tüylüdür. Çiçeklenme yapısı tipik olarak bileşik salkım şeklindedir ve her çiçek başı (kapitulum), genellikle sarı, beyaz veya pembe renkli ligulat ve diskoid çiçekçikler

içerir [62]. Morfolojik varyasyonları yüksek olan bu cins, özellikle polimorfizm ve doğal melezleşme eğilimiyle tanınır. Bu da türler arasında net sınırların belirlenmesini ve taksonomosini zorlaştırmaktadır. *Achillea* üyeleri ekolojik olarak geniş bir yayılım göstermekle birlikte, tür çeşitliliği bakımından zengindir [63]. Türkiye florasında 50'ye yakın civanperçemi türü bulunmakta ve bunların önemli bir kısmı endemiktir. Kromozom sayısı türler arasında değişmekle birlikte genellikle $2n = 18, 36, 54$ olup, bu durum poliploidiye işaret eder [61].

Fitokimyasal açıdan zengin olan *Achillea* taksonları, başta flavonoidler (apigenin, luteolin, rutin), fenolik asitler (klorojenik, kafeik), seskiterpen laktonlar (achilin, partenolid) ve uçucu yağlar (1,8-sineol, borneol, kamazulen) olmak üzere pek çok biyoaktif bileşik içerir [64,65]. Bu bileşikler, bitkilere antiinflamatuvar, antimikrobiyal, antioksidan ve yara iyileştirici gibi farmakolojik etkiler kazandırır. Ayrıca, halk hekimliğinde ve etnobotanikte adet düzensizlikleri, mide rahatsızlıkları, yara tedavisi, hemoroid, diüretik ve antiseptik gibi amaçlarla yaygın şekilde kullanılmaktadır [66-69]. Çok yönlü biyolojik, etnobotaniksel ve kimyasal özellikleri *Achillea* üyelerini hem bilimsel araştırmalar hem de fitoterapötik uygulamalar açısından değerli kılmaktadır [70].

2.1.3. *Achillea kirschneri* Yıld. & Kılıç

Çok yıllık otsu bitkidir. Gövdeler 40-60 cm x 1,5-2 mm, basit, dik, silindirik, çizgili, kırmızımsı ve altta tüysüzden tüsüze, üstte yeşil ve yoğun tüylü, çiçek salkımının alt kısmında tüylü, üst kısımda yapraklıdır. Yapraklar 1-5 cm x 1-1,5 mm, 1-pinnatisekt, tabanda rozetli, alternat, çizgisel, solucansı, tüysüzden yoğun tüylüye, segmentler yaklaşık 2 x 1 mm, mızraksı, basit, yeşil, minik, enine, bindirmeli, beyaz 8-10 dişlidir. Çiçek durumu 1,5 x 2 cm, korimboz, küresel, tüylü. Kapitulum birkaç tane, ışınal. Pedinkul mevcut. Çiçek sapları 0,5-2 mm, lanat, dik. Kalsikülat yaklaşık 3 mm, çok dar oval-çizgisel, lanat. İnvolukrum 4 x 1,5 mm, dikdörtgen-silindirik, köşeli. Fillariler 3 seri, 1-3 mm, çok dar oval-çizgisel, yeşilimsi, geniş beyaz, zarımsı-kenarlı, dümdüz, lanat, karinat. Palealar şeffaf. Tüpsü çiçekler 2-3 mm, hermafrodit, düzenli olarak 5 dişli, tüpler tabanda kesecikli; dilsli çiçekler 3-4 mm; ligüller 5-8 adet, yaklaşık 1 mm, dişli değil, parlak sarı. Akenler 0,5 - 1 mm, dikdörtgen, sırttan basık, kenarlarında 2 beyaz, zarımsı, kesik kanat, tüysüz, pürüzsüz. Bitki endemik özellikte olup, Anadolu-Turan elementidir. *A. kirschneri*'nin lokalite ve habitatu göz önüne alındığında; bitkinin karasal iklime uyum sağladığı; taşlı, kumlu veya kireçli toprakları tercih ettiği, güneşli ve açık alanları sevdiği,

1000 m ve üzeri rakımlarda yaygın olduğu ve daha çok bozkır, dağlık alanlar ve yamaçlarda bulunduğu belirlenmiştir. Ancak *Achillea* taksonlarının bulunduğu mikrohabitat ve lokaliteye göre istekleri farklılık gösterebilir. Bitki lokalitesindeki incelemelere göre, uygun koruma önlemleri alınmazsa yakın gelecekte bitki tehlike altına girebilir (Near Threatened – NT) kategorisinde olduğu belirlenmiştir. Bitki son yıllarda bitki taksonomistleri Prof. Dr. Şinasi Yıldırım ve Prof. Dr. Ömer Kılıç tarafından keşfedilerek literature kazandırılmıştır [71]. *A. kirschneri* bitkisinin sistematik kategorisi ise şöyledir:

- **Alem:** Plantae

- **Bölüm:** Magnoliophyta

- **Sınıf:** Magnoliopsida

- **Takım:** Asterales

- **Familya:** Asteraceae

- **Cins:** *Achillea* L.

- **Tür:** *Achillea kirschneri* Yıld. & Kılıç

2.1.4. Bazı *Achillea* türlerinin etnobotanik özellikleri

Achillea taksonları halk arasında genellikle “civanperçemi” adıyla tanınsa da, Türkiye'nin farklı bölgelerinde çeşitli yerel isimlerle de anılmaktadır [72,73]. Bu cinsin etnobotanik önemi, antik çağlara kadar uzanmakta olup, adı mitolojik olarak Truva Savaşı sırasında yaraları iyileştirmek amacıyla Achilleus tarafından kullanıldığına inanılan bitkiden türetilmiştir [74]. *Achillea* üyeleri geleneksel tıpta genellikle antiseptik, antienflamatuvar, spazmolitik, midevi ve yara iyileştirici özellikleri nedeniyle kullanılmaktadır [75]. *Achillea millefolium* L. türünün dünyada genelinde ve Türkiye’de halk hekimliğinde yaygın olarak kullanılmakla birlikte kültürü de yapılmaktadır. Anadolu’da özellikle *A. millefolium*, *A. santolinoides*, *A. biebersteinii* gibi türler, çay şeklinde hazırlanarak soğuk algınlığı, mide ağrısı, iştahsızlık, adet düzensizlikleri ve hemoroid tedavisinde kullanılmaktadır [76,77]. Ayrıca kadın hastalıkları, ateş düşürücü ve kan durdurucu (hemostatik) olarak da kullanımı yaygındır. Çiçek ve yaprakları kaynatılarak elde edilen infüzyonlar veya merhemler, hem iç hem de dış yaraların tedavisinde uygulanmaktadır [78]. Bazı *Achillea* türleri ve etnobotanik kullanımları şöyledir:

***Achillea millefolium* L.**, dünyanın hemen her bölgesinde (özellikle Avrupa, Asya, Kuzey Amerika ve Orta Doğu’da) yayılış gösteren çok yıllık aromatik bir bitkidir. Halk arasında “civanperçemi, binbiryaprak otu, yarrow, milfoil” gibi isimlerle bilinmektedir. Adı mitolojik olarak Truva Savaşı’nda kahraman Achilleus’un yaraları iyileştirmek için kullandığı bitkiden geldiği kabul edilmektedir [79]. *A. millefolium* dünya genelinde en yaygın tıbbi kullanıma sahip *Achillea* türlerinden biridir. Antik dönemlerden itibaren antienflamatuvar, antiseptik, spazmolitik, analjezik, hemostatik, yara iyileştirici, karminatif, diüretik, antipiretik ve antimikrobiyal özellikleri nedeniyle kullanılmaktadır [80,81]. Avrupa ve Asya geleneksel tıbbında *A. millefolium*’un infüzyon veya dekoksiyonu; mide rahatsızlıkları, iştahsızlık, gaz, hazımsızlık, karaciğer ve safra bozuklukları, adet düzensizlikleri, ateş, grip ve soğuk algınlığı gibi durumların tedavisinde kullanılmaktadır [82,83]. Kuzey Amerika yerlileri, bitkiyi soğuk algınlığı, diş ağrısı, kanama durdurma ve yara tedavisinde kullanmıştır [84]. Çin halk hekimliğinde ise “Yi Mu Cao” adıyla bilinen bitki, kan dolaşımını düzenleyici, menstrüel rahatlatıcı ve ateş düşürücü olarak kullanılır [80]. Orta Doğu ve Akdeniz’de yapılan etnobotanik çalışmalar, bitkinin karaciğer hastalıkları, hemoroid, hipertansiyon, mide ülseri, böbrek taşı, baş ağrısı ve romatizma tedavisinde de kullanıldığını göstermiştir [85]. Anadolu’da *A. millefolium* çayı, soğuk algınlığı, adet ağrısı, mide yanması, gaz ve cilt yaraları için yaygın şekilde tüketilmektedir [86,87]. Etnobotanik veriler, *A. millefolium*’un genellikle çiçekli üst kısımlarının, yapraklarının, nadiren de köklerinin kullanıldığını göstermektedir [81,86].

***Achillea aleppica* DC.**, Türkiye, Suriye, Lübnan, İran, Irak, Filistin ve Ürdün gibi ülkelerde halk hekimliğinde kullanılmaktadır [80,86]. Türkiye’de özellikle Güneydoğu Anadolu Bölgesi’nde doğal yayılış gösteren bu tür, yerel halk arasında “yılan çiçeği” veya “civanperçemi” olarak bilinmektedir [88]. *A. aleppica*, halk hekimliğinde çok yönlü olarak kullanılmakta olup, en çok sindirim sistemi rahatsızlıkları, yara tedavisi, iltihap giderici (antiinflamatuvar) ve kanama durdurucu (hemostatik) amaçlarla kullanılmaktadır [79,84]. Ayrıca bu türün ateş düşürücü, analjezik, spazmolitik, antimikrobiyal ve antiseptik özelliklerinden de faydalanılmaktadır [90,91]. Ürdün, Lübnan ve Suriye gibi ülkelerde yapılan etnobotanik saha çalışmalarında, *A. aleppica*’nın gastrointestinal bozukluklar (mide ağrısı, gaz sancısı, ülser, kolik), soğuk algınlığı, öksürük, romatizmal ağrılar, kadın hastalıkları (adet düzensizlikleri, doğum sonrası ağrılar) ve cilt hastalıkları için yaygın biçimde kullanıldığı bildirilmiştir [80,92]. Bu türün halk arasında özellikle antiseptik ve yara kapatıcı olarak “ezme” formunda cilde uygulandığı, ayrıca çay (infüzyon) veya

kaynatma (dekoksiyon) şeklinde dahilen tüketildiği belirtilmektedir [90]. *A. aleppica*'nın genellikle çiçekli üst kısımları ve yaprakları kullanıldığı rapor edilmiştir [80,86].

***Achillea biebersteinii* Afan**, Batı Asya ve Doğu Avrupa kökenli olup oldukça geniş bir coğrafi yayılışa sahiptir. Tür; daha çok Türkiye, İran, Irak, Suriye, Kafkasya (özellikle Azerbaycan ve Gürcistan), Afganistan, Pakistan, Türkmenistan, Kazakistan ve Özbekistan gibi Batı ve Orta Asya ülkelerinde doğal olarak yayılış göstermektedir [87,92,93]. Ayrıca Doğu Avrupa'nın güney kesimleri (özellikle Ukrayna, Romanya ve Bulgaristan) ile Akdeniz bölgesinin doğu kısmında da bulunmaktadır [87,93]. Türkiye florasında ise neredeyse tüm bölgelerde, özellikle Orta Anadolu, Doğu Anadolu ve Güneydoğu Anadolu bölgelerinde yoğun olarak görülmektedir [87]. Halk tıbbında yaygın olarak yara iyileştirme, karın/bağırsak ağrıları ve çeşitli inflamatuvar şikayetlerin tedavisinde kullanılan bir türdür. Birçok etnobotanik kayıt ve derleme, *A. biebersteinii*'nin özellikle yara (hemostatik ve yara onarımı amaçlı) uygulamalarda ve abdominal ağrı ile ilgili rahatsızlıklarda (karın ağrısı, dispepsi, gaz, ülser benzeri sorunlar) kullanıldığını bildirmektedir [81,94]. Ayrıca tür, ağrılı adet, spazm giderici, sedatif/tonik, antiinflamatuvar ve antimikrobiyal amaçlar için de kullanılmakta; bazı bölgesel geleneklerde topikal uygulamalarla leishmaniasis benzeri cilt lezyonlarına karşı kompres veya merhem biçiminde uygulanmıştır [81,95]. Etnobotanik çalışmalarda en sık kullanılan bitki kısımları olarak toprak üstü kısım (özellikle çiçekli üst kısımlar) ile yapraklar belirtilmiştir [96,97]. Hazırlama biçimleri genelde infüzyon (çay) ve dekoksiyon (kaynatma) şeklinde dahili tüketim; taze veya kurutulmuş çiçeklerin ezilip doğrudan yara üzerine uygulanması (kompres) ya da merhem formunda harici uygulama olarak raporlanmıştır [94,96].

***Achillea cappadocica* Hausskn. & Bornm.**, Türkiye'nin İç Anadolu Bölgesi'ne özgü endemik bir türdür ve adını doğal yayılış gösterdiği Kapadokya yöresinden almaktadır. Cinsin diğer üyeleri gibi, *A. cappadocica* da halk hekimliğinde uzun süredir çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır. Türkiye dışında sınırlı coğrafi dağılıma sahip olan bu tür, özellikle Anadolu'nun Nevşehir, Kayseri, Niğde ve çevre illerinde "civanperçemi", "kapadokya otu" veya "yara otu" gibi isimlerle adlandırılmaktadır [86,87]. *A. cappadocica*, bölgesinde özellikle yara iyileştirici, antiinflamatuvar, antimikrobiyal, sindirim düzenleyici ve ateş düşürücü etkileriyle kullanılmaktadır [80,81]. Bitkinin çiçekli kısımlarından hazırlanan çay (infüzyon), özellikle karın ağrısı, gaz sancısı, mide yanması, ishal, adet düzensizlikleri, soğuk algınlığı ve boğaz ağrısı gibi şikayetlerde

içecek olarak tükutilmektedir [86,87]. Bunun yanı sıra, taze bitki ezilerek veya kaynatılarak yara, kesik, çıban ve cilt iltihapları üzerine haricen uygulanmaktadır [86,90]. Ayrıca bitkinin kaynatılmasıyla elde edilen suyun buharı soğuk algnılığı ve romatizma şikayetlerinde solunum veya banyo yoluyla kullanılır [80]. *A. cappadocica*’nın halk tıbbında en çok kullanılan kısımları iekli üst kısımları ve yapraklardır [80,87].

***Achillea coarctata* Poir.**, Güneydoğru Avrupa, Doğru Akdeniz ve Batı Asya’da doğal olarak yayılış gösteren, Türkiye florasında da yayılışı olan bir türdür [86,87]. Özellikle Türkiye, Yunanistan, Suriye ve Lübnan gibi ölkelerde halk hekimliğinde değlendirilmektedir. Türkiye’de bazı bölgelerde bu tür “civanperçemi, yara otu” veya “karanfilotu” olarak anılmakta; genellikle yara iyileştirici, iltihap giderici, sindirim düzenleyici ve ateş düşürücü etkileri nedeniyle kullanılmaktadır [80,87]. Dünya genelindeki derlemeler, *A. coarctata*’nın antienflamatuvar, antiseptik, hemostatik, karminatif ve analjezik amaçlarla kullanıldığını ortaya koymuştur [80,81]. Bitkinin özellikle yara tedavisi, deri enfeksiyonları, mide ağrısı, gaz ve hazımsızlık, adet düzensizlikleri ve soğuk algnılığı gibi durumlarda yaygın biçimde değlendirildiğı rapor edilmiştir. Anadolu’nun güneydoğusunda, kurutulmuş iekli kısımlar kaynatılarak (dekoksasyon) elde edilen suyun mide ve bağırsak rahatsızlıkları için içildiğı; taze yaprakların ezilerek doğrudan cilt üzerine uygulanmasının yanında, bitkinin kaynatıldığı suyun buharı inhalasyon şeklinde soğuk algnılığı ve sinüzit için de kullanılmaktadır [80,86]. Lübnan ve Suriye gibi bölgelerde, *A. coarctata* infüzyonlarının boğaz ağrısı, öksürük, ateş ve soğuk algnılığı için içildiğı; ezilmiş taze bitkinin yara ve yanıklara kompres şeklinde uygulandığı etnobotanik araştırmalarda kaydedilmiştir [80]. Bunun yanı sıra Balkan bölgesinde bitkinin iekli kısımlarından hazırlanan merhemler romatizma ve kas ağrılarında topikal olarak kullanılmaktadır [81]. Etnobotanik alışmalarda *A. coarctata*’nın en çok iekli üst kısımları ve yapraklarının kullanıldığı bildirilmektedir [80,86].

***Achillea collina* Becker ex Rchb.** Avrupa, Batı Asya ve Orta Doğru’da geniş yayılış gösteren çok yıllık bir *Achillea* türüdür. Türkiye’de de doğal olarak yetişmekte olup, genellikle Trakya, İç Anadolu ve Doğru Anadolu bölgelerinde görülür [87]. Halk arasında çoğunlukla “dağ civanperçemi”, “yara otu” veya “ay otu” olarak bilinen bu tür, *A. millefolium*’a morfolojik ve fitokimyasal olarak oldukça benzerdir ve halk hekimliğinde genellikle benzer şekilde kullanılmaktadır [80,86]. Dünya genelinde yapılan etnobotanik derlemelerden bazlarına göre *A. collina* özellikle yara tedavisi, kanama durdurucu

(hemostatik), sindirim sistemi düzenleyici, antienflamatuvar, antispazmodik, ateş düşürücü ve antimikrobiyal özellikleri nedeniyle kullanılmaktadır [80,81]. Balkanlar, Macaristan, Ukrayna ve Türkiye'nin kuzey kesimlerinde bitkinin çiçeklerinden hazırlanan infüzyon (çay) veya dekoksiyon (kaynatma) geleneksel olarak mide ağrısı, ishal, bağırsak gazı, kadın hastalıkları, soğuk algınlığı ve boğaz ağrısı gibi durumlarda içilmektedir [79,87]. Ayrıca Orta ve Doğu Avrupa'da *A. collina* bitkisinin yara ve cilt lezyonları üzerine haricen uygulanmak üzere merhem veya ezme şeklinde hazırlandığı; taze yapraklarının doğrudan yara, yanık veya böcek ısırığı üzerine sürülerek antiseptik etkisinden yararlanıldığı bildirilmiştir [80,98]. Bitki aynı zamanda adet düzenleyici ve kas gevşetici olarak da halk hekimliğinde kullanılmaktadır [81]. Etnobotanik ve farmakognozik kaynaklara göre *A. collina*'nın en sık kullanılan kısımları çiçekli üst kısımlar ve yapraklardır [86,90]. Bu kısımlar, uçucu yağlar, flavonoidler (apigenin, luteolin, kuersetin), fenolik asitler (klorojenik asit, kafeik asit) ve seskiterpen laktonlar (achillin, matricarin, artemorine) bakımından zengindir. Bu bileşiklerin antienflamatuvar, antiseptik ve spazmolitik etkilerinin bitkinin halk tıbbındaki kullanımını farmakolojik olarak desteklediği bildirilmektedir [87,90].

***Achillea damascena* Hausskn. & Bornm.**, Batı Asya ve Doğu Akdeniz kökenli, Türkiye, Suriye, Lübnan, Ürdün ve Irak gibi ülkelerde doğal olarak yetişen çok yıllık bir türdür [86,87]. Türkiye florasında daha çok Güneydoğu Anadolu Bölgesi (özellikle Gaziantep, Kilis ve Mardin civarı) ile Orta Anadolu'nun güney kısımlarında görülür. Halk arasında "civanperçemi", "yara otu" veya "Damascus yarrow" olarak bilinen bu tür, *A. millefolium* ve *A. santolina* gibi türlerle benzer biçimde halk hekimliğinde uzun süredir kullanılmaktadır [80]. *A. damascena*, özellikle antienflamatuvar, antimikrobiyal, antiseptik, karminatif, yara iyileştirici ve spazmolitik etkileri nedeniyle kullanılmaktadır [80,81,85]. Orta Doğu ülkelerinde (özellikle Suriye, Ürdün ve Lübnan'da) halk arasında bitkinin çiçekli üst kısımlarından hazırlanan infüzyon (çay) sindirim sistemi rahatsızlıkları, mide ağrısı, gaz, ishal, baş ağrısı, soğuk algınlığı ve adet düzensizliklerinin tedavisinde içilmektedir [80,91]. Ayrıca *A. damascena*, halk tıbbında yara, çıban, yanık ve cilt enfeksiyonlarının tedavisinde dıştan uygulanmak üzere ezme veya yağ ekstraktı şeklinde kullanılmaktadır [85,86]. Bitkinin taze yapraklarının zeytinyağında bekletilmesiyle elde edilen yağın antiseptik merhem olarak cilt yaralarına sürüldüğü belirtilmiştir. Bazı bölgelerde ise bitkinin su buharı distilasyonu ile elde edilen uçucu yağ, böcek kovucu ve antimikrobiyal amaçlarla kullanılmaktadır [90]. Etnobotanik literatürlerin çoğunda *A.*

damascena'nın çiçekli üst kısımları ve yaprakları en sık kullanılan kısımlar olarak belirtilmektedir [80,86].

***Achillea erba-rotta* All.**, Avrupa'nın Alp ve Apennin dağları ile Batı Asya'nın serin ve dağlık bölgelerinde doğal olarak yetişen çok yıllık bir türdür. Özellikle İtalya, İsviçre, Fransa ve Avusturya'da yaygındır ve geleneksel tıpta uzun süredir kullanılmaktadır [82,83]. Tür, halk arasında “mountain yarrow”, “erba-rotta”, “white yarrow” veya “silver yarrow” isimleriyle anılmakta olup, halk hekimliğinde *A. millefolium*'a benzer şekilde kullanılmaktadır [79,80]. *A. erba-rotta* Avrupa halk tıbbında başlıca sindirim sistemi hastalıkları, yara tedavisi, ateş düşürücü, antienflamatuvar ve antiseptik amaçlarla kullanılmaktadır [80,83]. İtalya'nın kuzey bölgelerinde ve İsviçre Alpleri'nde yapılan etnobotanik saha araştırmalarında, bitkinin karaciğer ve safra fonksiyonlarını düzenlemek, hazımsızlık, mide ekşimesi ve gaz şikayetlerini gidermek, iştah açıcı ve spazm giderici olarak değerlendirildiği bildirilmiştir [82,83]. Ayrıca, *A. erba-rotta*'nın çiçeklerinden hazırlanan kaynatmaların (dekoksiyon) soğuk algınlığı, öksürük, boğaz iltihabı ve ateşli hastalıklar için içildiği; taze bitki özlerinin ise yara, yanık ve böcek ısırıklarında topikal olarak uygulandığı kaydedilmiştir [80,81]. Bazı Avrupa halk tıbbı kayıtlarında, *A. erba-rotta* bitkisinin karaciğer rahatsızlıkları, safra tıkanıklığı ve iştahsızlık tedavisinde bitkisel likör veya tentür formunda kullanıldığı, bu formun özellikle “elixir digestif” veya “bitter tonik” olarak bilinen geleneksel içeceklerde yer aldığı da belirtilmiştir [82]. Etnobotanik çalışmalar bitkinin çiçekli üst kısımları ve yapraklarının kullanıldığını göstermektedir [80,83].

***Achillea filipendulina* Lam.**, Güneybatı Asya kökenli olup Kafkasya, İran, Afganistan, Türkiye ve Orta Asya'da doğal olarak yetişen bir bitkidir. “Fernleaf yarrow” veya “yellow yarrow” olarak da bilinir. Türkiye'de özellikle Doğu Anadolu ve İç Anadolu bölgelerinde doğal yayılış gösterir [86,88]. Bitki, parlak sarı çiçekleriyle hem süs bitkisi olarak hem de halk hekimliğinde tedavi amaçlı kullanılmaktadır. Dünya genelinde yapılan etnobotanik araştırmalardan bazılarına göre *A. filipendulina* halk tıbbında başlıca antienflamatuvar, antimikrobiyal, yara iyileştirici, analjezik, karminatif, antiseptik ve diüretik özellikleri nedeniyle kullanılmaktadır [80,81,85]. Orta Asya ve İran'da bitkinin çiçeklerinden hazırlanan infüzyon mide ağrısı, gaz, hazımsızlık, iştahsızlık, karaciğer ve safra rahatsızlıkları için içilmektedir. Ayrıca bitkinin ezilmiş taze kısımları veya kaynatılmış suyu yara, çıban, iltihap ve yanık tedavisinde topikal olarak uygulanmaktadır [80,85]. İran ve Afganistan halk hekimliğinde *A. filipendulina* ayrıca soğuk algınlığı,

öksürük, boğaz ağrısı ve romatizmal ağrılar için de kullanılmaktadır [81]. Bazı bölgelerde ise bitkinin kurutulmuş çiçek ve yapraklarından hazırlanan toz, yara üzerine antiseptik olarak serpilmekte; bu uygulama özellikle enfekte kesiklerin tedavisinde geleneksel olarak kullanılmaktadır [79]. Etnobotanik ve fitokimyasal araştırmalarda, *A. filipendulina*'nın en çok çiçekli üst kısımlarının ve yapraklarının kullanıldığı bildirilmiştir [86,90].

***Achillea fragrantissima* (Forssk.) Sch. Bip.**, özellikle Orta Doğu, Kuzey Afrika ve Arap Yarımadası'nda (özellikle Suudi Arabistan, Ürdün, Mısır, Filistin, Lübnan ve Yemen) doğal olarak yetişen aromatik ve çok yıllık bir bitkidir. Lokalitesi ile çevresinde, halk arasında “Qaysoom”, “Qaisoum”, “Qaysoom el Arabi”, “Arabian yarrow” veya “desert yarrow” olarak bilinmektedir [80,85]. Bu tür, bölge halk hekimliğinde *A. millefolium*'a benzer şekilde tıbbi bitki olarak çok eski dönemlerden beri kullanılmaktadır. *A. fragrantissima* dünya genelinde, özellikle Arap Yarımadası, Ürdün, Filistin, Suudi Arabistan ve Mısır gibi ülkelerde halk tıbbında antienflamatuvar, antispazmodik, antimikrobiyal, antiparazitik, analjezik, yara iyileştirici, karminatif, diüretik ve antidiabetik özellikleriyle kullanılmaktadır [81,85]. Ürdün ve Filistin halkı bitkiyi soğuk algınlığı, öksürük, ateş, mide ağrısı, gaz, ishal, adet düzensizliği, bağırsak parazitleri ve cilt yaraları gibi çok sayıda rahatsızlığın tedavisinde kullanmaktadır [80,91]. Ayrıca Suudi Arabistan ve Yemen'de yapılan etnobotanik çalışmalarda *A. fragrantissima*'nın şeker hastalığı, yüksek tansiyon, astım, bronşit, hepatit ve idrar yolu enfeksiyonları gibi kronik hastalıkların destekleyici tedavisinde kullanıldığı rapor edilmiştir [80,99]. Etnobotanik kaynaklar, *A. fragrantissima*'nın en çok çiçekli üst kısımları, yaprakları ve nadiren köklerinin kullanıldığını belirtmektedir [85,86].

***Achillea kellalensis* Boiss. & Hausskn.**, özellikle İran, Irak ve Suriye'de doğal olarak yetişen endemik bir *Achillea* türüdür. Bu bitki, İran ve çevre ülkelerde halk arasında “Bumadaran, Kellal yarrow” veya “İran civanperçemi” adlarıyla bilinmektedir [80,81]. Bitki, geleneksel tıpta antiinflamatuvar, antiseptik, antimikrobiyal, spazmolitik ve yara iyileştirici özellikleriyle tanınmakta ve halk hekimliğinde yaygın şekilde değerlendirilmektedir. Etnobotanik araştırmalara göre *A. kellalensis*, İran ve Kuzey Irak'ta halk tıbbında özellikle mide ağrısı, gaz, hazımsızlık, karaciğer rahatsızlıkları, soğuk algınlığı, boğaz ağrısı, ateş, cilt iltihapları, adet sancıları ve yara tedavilerinde kullanılmaktadır [85,100]. Kırsal bölgelerde bitkinin çiçekli üst kısımları ve yapraklarından hazırlanan infüzyon veya dekoksiyonlar içilmekte; bu preparatlar karaciğer fonksiyonlarını düzenleyici, sindirimi kolaylaştırıcı ve ağrı kesici olarak kullanılmaktadır

[80]. İran'ın Hamedan ve Lorestan bölgelerinde yapılan etnobotanik çalışmalarda, *A. kellalensis*'in taze yapraklarından hazırlanan ezmelerin yara, yanık, çıban ve cilt apselerine doğrudan uygulandığı belirtilmiştir [81]. Ayrıca, bitkinin kurutulmuş çiçek ve yapraklarından hazırlanan tozun, yara üzerine antiseptik olarak serpilmesi yaygın bir uygulamadır [100]. Halk hekimliği uygulamalarında *A. kellalensis*'in en çok çiçekli üst kısımları, yaprakları ve daha az oranda köklerinin kullanıldığı bildirilmektedir [80,86].

***Achillea nobilis* L.**, özellikle Avrupa, Orta Asya, Kafkasya, Türkiye ve Orta Doğu'da yayılış gösteren bir bitkidir. Halk arasında “Asil civanperçemi”, “beyaz civanperçemi”, “ayvadana”, “ayıdanası” ve “kurt otu” gibi isimlerle bilinmektedir [86]. Bitki, hem geleneksel Avrupa hem de Asya tıbbında *A. millefolium*'a benzer biçimde çok yönlü tedavi edici özellikleriyle uzun süredir kullanılmaktadır. Dünya genelinde *A. nobilis*'in halk hekimliğinde antienflamatuvar, antimikrobiyal, spazmolitik, analjezik, antiseptik, karminatif, midevi, yara iyileştirici ve hemostatik etkileriyle değerlendirildiğini göstermektedir [80,81,85]. Avrupa'da özellikle Bulgaristan, Romanya, Almanya ve Rusya'da *A. nobilis* çayı mide ağrısı, gaz, hazımsızlık, karaciğer rahatsızlıkları, safra bozuklukları ve iştahsızlık için kullanılmaktadır [82,83]. Doğu Avrupa ve Rus halk tıbbında bitkinin kaynatılmış ekstresi, yara, çıban, iltihap ve kanama tedavisinde topikal olarak uygulanmaktadır [79]. Orta Doğu ve Türkiye'de *A. nobilis* halk arasında ateş düşürücü, adet düzenleyici, romatizma giderici, idrar söktürücü, soğuk algınlığı, boğaz ağrısı ve baş ağrısı tedavisinde yaygın biçimde kullanılmaktadır [86,87]. Ayrıca kadın hastalıklarında (özellikle dismenore ve menopoz semptomlarında) rahatlatıcı etkisiyle halk tıbbında yer almaktadır [80]. Literatüre göre *A. nobilis*'in en çok çiçekli üst kısımları ve yaprakları kullanılmaktadır. Nadiren kökleri ve tohumları da bazı bölgelerde halk hekimliğinde kullanılmaktadır [81,86].

***Achillea odorata* L.**, özellikle Orta ve Güney Avrupa, Balkanlar, Kafkasya ile Batı Asya ülkelerinde yayılış göstermektedir. Halk arasında “kokulu civanperçemi”, “hoş kokulu yarrow” veya “fragrant yarrow” olarak bilinmektedir [86]. Bitki, diğer *Achillea* türlerine benzer biçimde halk hekimliğinde midevi, antiseptik, antienflamatuvar ve yara iyileştirici özellikleriyle uzun süredir kullanılmaktadır [80]. Etnobotanik araştırmalara göre *A. odorata*, dünya genelinde (özellikle Doğu Avrupa, İran, Azerbaycan, Gürcistan ve Türkiye'de) halk tıbbında sindirim sistemi rahatsızlıkları, gaz ve hazımsızlık, mide ülseri, adet düzensizliği, yara tedavisi, boğaz ağrısı ve soğuk algınlığı için kullanılmaktadır [81,85]. Bulgaristan ve Romanya'da yapılan halk tıbbı kayıtlarında, *A. odorata*'nın

çiçeklerinden hazırlanan infüzyonların mide ağrısı, gaz, karaciğer rahatsızlıkları ve adet sancısı için içildiği belirtilmiştir [83]. İran ve Kafkasya’da ise bitkinin çiçekli üst kısımlarından elde edilen kaynatmaların (dekoksasyon) soğuk algınlığı, öksürük, ateş ve grip tedavisinde kullanıldığı bildirilmiştir [80,81]. Bazı bölgelerde, *A. odorata*’nın taze yaprakları ezilerek yara, çıban, yanık ve böcek ısırıklarına topikal olarak uygulanmaktadır. Ayrıca bitkiden elde edilen uçucu yağ, antiseptik ve aromaterapötik amaçlarla halk arasında değerlendirilmektedir [79,86]. Halk tıbbında *A. odorata*’nın en çok çiçekli üst kısımları ve yapraklarının kullanıldığı bildirilmiştir [80,86].

***Achillea santolina* L.**, özellikle Doğu Akdeniz, Orta Doğu, Kuzey Afrika ve Güney Avrupa bölgelerinde yayılış gösteren bir bitkidir. Halk arasında “Küçük yapraklı civanperçemi”, “Arap civanperçemi” veya “şifalı yarrow” olarak adlandırılır [86,87]. Dünya genelinde yapılan etnobotanik araştırmalar, *A. santolina*’nın halk hekimliğinde antienflamatuvar, antimikrobiyal, antiseptik, spazmolitik, karminatif, analjezik, hepatoprotektif ve yara iyileştirici etkileriyle yaygın olarak kullanıldığını göstermektedir [80,85]. Orta Doğu ülkelerinde (özellikle Ürdün, Lübnan, Filistin ve Suriye’de) *A. santolina*’nın çiçek ve yapraklarından hazırlanan infüzyonların mide ağrısı, gaz, ülser, karaciğer rahatsızlıkları, adet düzensizlikleri, soğuk algınlığı, bronşit ve boğaz ağrısı için içildiği bildirilmiştir [85,91]. Mısır ve Libya’da ise bitki, antiparazitik, idrar söktürücü ve ateş düşürücü olarak kullanılmaktadır [80]. Ayrıca bitki, bazı bölgelerde tütsü olarak yakılarak solunum yolu rahatlatıcı etkisinden yararlanmak amacıyla kullanılmaktadır. Etnobotanik ve farmakolojik araştırmalarda *A. santolina*’nın en sık çiçekli üst kısımları ve yapraklarının kullanıldığı bildirilmektedir. Nadiren kök kısımları da kaynatılarak karın ağrısı ve gaz giderici olarak kullanılmaktadır [81,86].

***Achillea schischkinii* Sosn.**, Türkiye, İran, Ermenistan, Azerbaycan ve Gürcistan’da doğal olarak yetişen endemik veya yarı-endemik bir türdür. Türkiye’de özellikle Doğu Anadolu Bölgesi’nde (Kars, Erzurum, Ardahan, Van, Ağrı ve Bitlis civarı) doğal yayılış göstermekte olup, halk arasında “dağ civanperçemi”, “sarı civanperçemi” veya “kır yarrow’u” olarak adlandırılmaktadır [86,87]. Bu tür, diğer *Achillea* türlerine benzer şekilde, halk hekimliğinde midevi, yara iyileştirici, ateş düşürücü, adet düzenleyici ve antiseptik özellikleriyle kullanılmaktadır. Bölgedeki etnobotanik araştırmalar, *A. schischkinii*’nin özellikle soğuk algınlığı, mide ağrısı, karaciğer rahatsızlıkları, adet düzensizlikleri ve cilt yaralarının tedavisinde kullanıldığını göstermektedir [80,101]. Kafkasya ve Doğu Anadolu bölgelerinde *A. schischkinii*, çiçekli üst kısımlarından

hazırlanan infüzyon (çay) ve dekoksion (kaynatma) şeklinde kullanılmaktadır. Bitkinin infüzyonu, halk arasında mide ve bağırsak spazmlarını hafifletmek, hazımsızlık ve gazı gidermek, soğuk algınlığını azaltmak, adet ağrılarını hafifletmek ve bağışıklığı güçlendirmek amacıyla içilmektedir [85,87]. Yerel halk, *A. schischkinii*'nin taze yaprak ve çiçeklerini ezerek elde ettikleri lapa karışımını yara, çıban, iltihaplı şişlikler ve böcek ısırıkları üzerine uygulamaktadır [81]. Bazı bölgelerde bitki, kurutulup toz haline getirilerek yara üzerine antiseptik olarak serpilmekte veya zeytinyağında bekletilerek yara ve yanık tedavisinde merhem şeklinde kullanılmaktadır [80]. Kafkasya'da *A. schischkinii*, ayrıca idrar söktürücü, karaciğer temizleyici, kan basıncını dengeleyici ve sinir yatıştırıcı bitki çayı olarak da kullanılmaktadır [79]. Halk tıbbında en yaygın olarak kullanılan kısımlar çiçekli üst kısımları ile yapraklarıdır [86,87].

***Achillea setacea* Waldst. & Kit.**, bitkisinin doğal yayılış alanı Orta ve Doğu Avrupa, Balkanlar, Anadolu, Kafkasya ve Batı Asya'yı kapsamaktadır. Türkiye'de genellikle İç Anadolu ve Doğu Anadolu Bölgelerinde, özellikle Erzurum, Kars, Kayseri ve Sivas civarında "tilkikuyruğu, yilandili veya sarı civanperçemi" adlarıyla tanınmaktadır [86,87]. Bu tür, halk hekimliğinde diğer *Achillea* türlerine benzer şekilde antienflamatuvar, antiseptik, spazmolitik, mideyi, yara iyileştirici ve adet düzenleyici etkileriyle öne çıkar [80,81]. Etnobotanik çalışmalara göre, *A. setacea* Avrupa, Balkanlar ve Orta Asya'da halk tıbbında soğuk algınlığı, öksürük, mide rahatsızlıkları, hazımsızlık, adet düzensizliği, yara ve deri enfeksiyonları, ateş düşürme ve ağrı kesici amaçlarla kullanılmaktadır [79,102]. Balkanlar'da yapılan saha çalışmalarında, *A. setacea*'nın çiçeklerinden hazırlanan infüzyonların (çayların) mide ağrısı, gaz ve karaciğer hastalıklarının tedavisinde içildiği, ayrıca adet gecikmelerinde ve regl sancısında düzenleyici olarak kullanıldığı bildirilmiştir [102]. Doğu Avrupa'da, bitkinin çiçekli üst kısımlarından hazırlanan dekoksionların soğuk algınlığı, öksürük ve ateş tedavisinde içecek olarak kullanıldığı; ezilmiş taze yaprakların ise yara ve çıban tedavisinde topikal olarak uygulandığı belirtilmiştir [80,85]. Türkiye ve İran'daki yerel halk arasında *A. setacea*; mideyi, antispazmodik, idrar söktürücü ve hemostatik (kan durdurucu) etkileri nedeniyle de kullanılmaktadır [86,87]. Bitkinin çiçeklerinden hazırlanan uçucu yağ, özellikle antiseptik ve yara iyileştirici olarak halk arasında topikal biçimde uygulanır. Etnobotanik kayıtlara göre, *A. setacea*'nın en sık kullanılan kısımları; çiçekli üst kısımlar, yapraklar ve nadiren kök kısımlarıdır [81,86].

***Achillea sulphurea* Fenzl.**, özellikle İran, Irak, Suriye ve Kafkasya'da doğal olarak yayılış gösterir. Bitki, halk hekimliğinde yüzyıllardır antienflamatuvar, antimikrobiyal,

midevi, antiseptik, spazmolitik, yara iyileştirici, adet düzenleyici ve ağrı kesici özellikleri nedeniyle yaygın şekilde kullanılmaktadır. Etnobotanik çalışmalara göre, *A. sulphurea* özellikle Doğu Anadolu, İran ve Kuzey Irak halk hekimliğinde önemli bir yer tutmaktadır. Bitkinin çiçekli üst kısımlarından hazırlanan infüzyonlar (çay) ve dekoksionlar (kaynatma) geleneksel olarak mide ağrısı, gaz, karaciğer rahatsızlıkları, adet düzensizlikleri, soğuk algınlığı ve boğaz ağrısı gibi durumların tedavisinde içilmektedir [80,81]. İran, Batı Azerbaycan ve Lorestan bölgelerinde *A. sulphurea*'nın çiçekleri ve yapraklarından hazırlanan kaynatmaların, yara, iltihap, ateş ve cilt enfeksiyonlarının tedavisinde hem içten hem de haricen kullanıldığı bildirilmiştir [103]. Ayrıca, bitkinin ezilmiş taze yaprakları ve çiçekleri doğrudan yara, yanık, çıban ve böcek ısırıklarına uygulanmaktadır. Bu uygulamalar, bitkinin antiseptik ve yara kapatıcı etkilerinden yararlanmak amacıyla yapılır [85,86]. Bazı bölgelerde bitkinin kurutulmuş çiçekleri, aromatik tütsü olarak yakılır ve solunum yollarını açtığına inanılır. Aynı zamanda, bitkiden elde edilen uçucu yağ, halk arasında kas gevşetici ve baş ağrısı giderici olarak masaj yağı şeklinde kullanılmaktadır [79]. Halk hekimliğinde en sık kullanılan kısımlar; çiçekli üst kısımlar, yapraklar ve daha nadiren kök kısımlarıdır [86,87].

***Achillea tenuifolia* Lam.,** Türkiye, İran, Irak, Suriye, Azerbaycan, Gürcistan ve Orta Asya bölgelerinde doğal olarak yetişir. Türkiye’de özellikle Doğu ve Güneydoğu Anadolu bölgelerinde, “ince yapraklı civanperçemi” veya “ince ot, çay otu” olarak tanınır [86,87]. Bu tür, halk hekimliğinde uzun süredir antienflamatuvar, antimikrobiyal, antispazmodik, midevi, yara iyileştirici, adet düzenleyici ve ağrı kesici özellikleriyle kullanılmaktadır [80,81]. Dünya genelindeki etnobotanik çalışmalar, *A. tenuifolia*'nın özellikle İran, Türkiye, Irak ve Azerbaycan halk tıbbında yaygın olarak kullanıldığını göstermektedir. Bitkinin çiçekli üst kısımlarından hazırlanan infüzyon (çay) veya dekoksion (kaynatma), halk arasında mide ağrısı, gaz, hazımsızlık, karaciğer rahatsızlıkları, adet düzensizlikleri, soğuk algınlığı ve ateş düşürme amacıyla içilmektedir [81,85]. İran’ın Batı Azerbaycan, Lorestan ve Kerman bölgelerinde yapılan halk tıbbı çalışmalarına göre, *A. tenuifolia*'nın çiçeklerinden hazırlanan çay, mide ve karaciğer fonksiyonlarını düzenleyici, iştah açıcı ve gaz giderici olarak kullanılmaktadır. Ayrıca, bitkinin taze yapraklarından hazırlanan lapa, yara, çıban, böcek ısırığı ve iltihaplı şişliklerin tedavisinde haricen uygulanmaktadır [103]. Türkiye’nin doğu bölgelerinde, özellikle Van ve Hakkari çevresinde, halk arasında *A. tenuifolia* çayı adet sancısı giderici, ateş düşürücü ve soğuk algınlığı tedavisinde yaygın olarak içilmektedir. Ayrıca kurutulmuş çiçek ve yaprak tozu, antiseptik olarak yara üzerine

serpilir [86,87]. Bazı Orta Asya topluluklarında ise bitki, tütsü olarak yakılarak solunum yollarını açmak ve mikropları uzaklaştırmak için kullanılır [80]. Halk hekimliğinde *A. tenuifolia*'nın en sık kullanılan kısımları; çiçekli üst kısımlar, yapraklar ve daha nadir olarak kök kısımlarıdır [81,86].

***Achillea vermicularis* Trin.**, Türkiye, İran, Irak, Kafkasya, Gürcistan ve Azerbaycan bölgelerinde doğal olarak yayılış göstermektedir. Türkiye'de özellikle Doğu Anadolu Bölgesi (Erzurum, Kars, Van, Hakkari, Ağrı) civarında yetişir ve halk arasında “kurt civanperçemi”, “yilandili” veya “tilki otu” gibi isimlerle anılır [86,87]. Bu tür, halk hekimliğinde antienflamatuvar, antimikrobiyal, midevi, antiseptik, spazmolitik, yara iyileştirici ve adet düzenleyici özellikleriyle bilinir. Bitkinin etnobotanik kullanımı özellikle Türkiye, İran ve Kafkasya bölgelerinde oldukça yaygındır. Halk tıbbi uygulamalarında *A. vermicularis*, çiçekli üst kısımlarından hazırlanan infüzyonlar ve dekoksionlar şeklinde mide rahatsızlıkları, gaz, hazımsızlık, ülser, soğuk algınlığı, boğaz ağrısı, adet düzensizlikleri, baş ağrısı ve karaciğer rahatsızlıklarının tedavisinde kullanılmaktadır [80,81]. İran ve Azerbaycan'da yapılan etnobotanik çalışmalara göre, *A. vermicularis*'in çiçeklerinden hazırlanan çaylar, midevi, iştah açıcı, gaz giderici ve adet düzenleyici olarak içilmektedir [103]. Bitkinin taze yaprak ve çiçeklerinden hazırlanan ezmeler ise yara, çiban, apseler, yanıklar ve cilt enfeksiyonları üzerine doğrudan uygulanmaktadır. Türkiye'nin doğu illerinde, özellikle Erzurum ve Kars yöresinde, *A. vermicularis* halk arasında karaciğer temizleyici, ateş düşürücü, idrar söktürücü ve soğuk algınlığı giderici olarak da kullanılmaktadır [86,87]. Ayrıca, kurutulmuş bitkiden elde edilen uçucu yağ, cilt yaraları, böcek ısırıkları ve kas ağrılarında topikal olarak uygulanmaktadır. Bazı Kafkas topluluklarında, bitki tütsü olarak yakılarak hava temizleyici ve mikrop öldürücü amaçla da kullanılmaktadır (Obolskiy et al., 2011). Etnobotanik kayıtlar, *A. vermicularis*'in en çok çiçekli üst kısımları ve yapraklarının kullanıldığını göstermektedir [81,86].

***Achillea wilhelmsii* C. Koch.**, Batı Asya ve Orta Doğu kökenli çok yıllık aromatik bir bitkidir. Özellikle İran, Türkiye, Irak, Afganistan, Pakistan, Azerbaycan ve Gürcistan gibi ülkelerde yayılış gösterir. Türkiye'de özellikle Doğu Anadolu ve İç Anadolu bölgelerinde yetişmekte olup halk arasında “boz civanperçemi”, “yabani civanperçemi”, “dağ otu” ve “şifalı ot” olarak bilinmektedir [86,87]. Bu tür, geleneksel tıpta antienflamatuvar, midevi, hipolipidemik, hipoglisemik, yara iyileştirici, spazmolitik, hepatoprotektif ve antiseptik etkileriyle tanınmakta ve Orta Doğu halk hekimliğinde en çok

kullanılan *Achillea* türlerinden biri olarak kabul edilmektedir [80,81]. *A. wilhelmsii*, özellikle İran, Irak, Türkiye ve Azerbaycan halk tıbbında geniş bir kullanım yelpazesine sahiptir. İran halk hekimliğinde bitkinin çiçekli üst kısımlarından hazırlanan infüzyonlar ve dekoksionlar; mide ağrısı, gaz, iştahsızlık, karaciğer hastalıkları, hipertansiyon, diyabet, adet düzensizlikleri ve soğuk algınlığı için yaygın olarak kullanılmaktadır [81,104]. Irak ve Azerbaycan'da bitki, antiastmatik, antiseptik ve karaciğer detoksifiye edici olarak da değerlendirilmektedir [85]. Ayrıca, çiçeklerinden hazırlanan sıcak infüzyonlar, bronşit, boğaz ağrısı, öksürük ve ateş düşürme amacıyla içilmektedir [80]. Türkiye'nin doğu illerinin bazılarında halk arasında kan temizleyici, midevi, safra artırıcı, yara iyileştirici ve adet düzenleyici bitki olarak kullanılmaktadır [87]. Bitkinin taze yaprakları ezilerek yara, yanık ve çıban üzerine doğrudan uygulanır. Bazı bölgelerde kurutulmuş çiçek ve yaprak tozu, antiseptik toz olarak yaralara serpilir. Ayrıca, İran ve Irak'ta yapılan etnobotanik araştırmalar, *A. wilhelmsii*'nin hipertansiyon, kolesterol yüksekliği ve diyabet tedavisinde de kullanıldığını, bu etkilerin bitkinin kan şekeri ve lipid düzeyini düşürücü bileşenleriyle ilişkili olduğunu bildirmiştir [104,105]. Halk hekimliğinde en sık kullanılan kısımlar; çiçekli üst kısımlar, yapraklar ve nadiren kök ve gövde kısımlarıdır [81,86].

***Achillea multifida* (DC.) Boiss.**, Türkiye, İran, Irak, Suriye ve Lübnan gibi ülkelerde doğal olarak yayılış göstermektedir. Türkiye'de özellikle Doğu ve Güneydoğu Anadolu bölgelerinde yetişir ve halk arasında “ebülmülük”, “marsama otu”, “binbiryaprak otu” veya “dağ civanperçemi” gibi isimlerle tanınmaktadır [86,87]. Bu tür, geleneksel tıpta antienflamatuvar, antiseptik, midevi, spazmolitik, hemostatik ve yara iyileştirici özellikleriyle tanınmakta olup, halk arasında hem dahili hem harici kullanımıyla önemli bir tıbbi bitki olarak yer alır [80,81]. *A. multifida*, dünya genelinde, özellikle Türkiye, İran ve Irak halk hekimliğinde yaygın biçimde kullanılmaktadır. Anadolu halkı, bu bitkiyi çoğunlukla soğuk algınlığı, mide ağrısı, gaz, ishal, hazımsızlık, adet düzensizlikleri, hemoroid, yara ve iltihaplı cilt lezyonlarının tedavisinde kullanmaktadır [87]. İran ve Kuzey Irak'ta, bitkinin çiçekli üst kısımlarından hazırlanan infüzyon midevi, gaz giderici, iştah açıcı ve ağrı kesici olarak tüketilir [80,81]. Ayrıca adet söktürücü ve kan durdurucu özellikleriyle de kullanılmaktadır [85]. Türkiye'de özellikle Van, Hakkari, Siirt ve Bitlis yörelerinde, bitkinin taze yapraklarından hazırlanan ezmeler (poultice) yara, çıban, böcek ısırığı ve yanıklara doğrudan uygulanmaktadır. Bunun yanı sıra kurutulmuş çiçek tozu antiseptik olarak yaraların üzerine serpilmekte ve kurutulmuş bitkiden hazırlanan dekoksion ise soğuk algınlığı ve boğaz ağrısı için içilmektedir [86,87]. Bazı bölgelerde,

A. multifida diş ağrısı ve diş eti iltihaplarında gargara şeklinde kullanılmakta; çiçeklerinden elde edilen buhar distilatı antiseptik ve aromaterapik olarak değerlendirilmektedir [79]. Etnobotanik çalışmalarda *A. multifida*'nın en yaygın kullanılan kısımları; çiçekli üst kısımlar, yapraklar ve nadiren kök kısmıdır [81,86].

***Achillea abrotanoides* (Vis.) Vis.**, Akdeniz havzası, Güneydoğu Avrupa, Batı Asya, İran, Yunanistan, Hırvatistan ve İtalya gibi ülkelerde doğal yayılış göstermektedir [80,86]. Bu tür, geleneksel tıpta antienflamatuvar, antiseptik, yara iyileştirici, spazmolitik, midevi, karaciğer koruyucu ve adet düzenleyici etkileriyle bilinmektedir. Bitki, hem haricen (topikal) hem de dahilen (oral) halk tedavilerinde uzun süredir kullanılmaktadır [79,80]. *A. abrotanoides*, dünya genelinde, özellikle Yunanistan, Hırvatistan, Türkiye, İran ve İtalya'da halk hekimliğinde yaygın şekilde kullanılmaktadır. Güney Avrupa'da (özellikle Hırvatistan ve Yunanistan'da), bitkinin çiçekli üst kısımlarından hazırlanan infüzyonlar, hazımsızlık, mide ağrısı, gaz, ishal, ateş, soğuk algınlığı, adet düzensizliği ve sinirsel gerginlik gibi rahatsızlıkların tedavisinde kullanılmaktadır [80,106]. Ayrıca, öksürük ve bronşit durumlarında yumuşatıcı ve balgam söktürücü olarak içilir. Bazı etnobotanik araştırmalar, *A. abrotanoides*'in yara, yanık, çıban ve cilt enfeksiyonlarının tedavisinde topikal olarak kullanıldığını, ayrıca kadın hastalıkları ve doğum sonrası toparlanma süreçlerinde destekleyici bitki olarak değerlendirildiğini göstermiştir [81,87]. Bazı Balkan topluluklarında, bitkinin kurutulmuş çiçekleri evlerde tütsü olarak yakılarak hava temizleyici ve mikrop öldürücü amaçla kullanılmıştır [85]. Ayrıca, çiçeklerinden elde edilen distilat (gül suyu benzeri su buharı distilatı) geleneksel olarak göz yorgunluğu ve yüz temizliği için uygulanmıştır. Etnobotanik kaynaklarda *A. abrotanoides*'in çiçekli üst kısımlar, yapraklar ve kök kısımlarının kullanıldığı bildirilmiştir [81,86].

***Achillea absinthifolia* Sibth. & Sm.**, Doğu Akdeniz, Türkiye, Yunanistan, Suriye, Lübnan, Irak ve İran gibi bölgelerde doğal olarak yetişmektedir [86,87]. Türkiye'de özellikle Ege, Güneydoğu Anadolu ve Doğu Anadolu bölgelerinde rastlanmakta ve halk arasında "acı civanperçemi", "yılandili", "dağ otu" ve "boz civanperçemi" olarak bilinmektedir. Bu tür, halk hekimliğinde midevi, antienflamatuvar, antiseptik, spazmolitik, yara iyileştirici, adet düzenleyici ve karaciğer koruyucu etkileriyle tanınmaktadır [80,81]. *A. absinthifolia*'nın kullanımı, *Achillea* cinsinin diğer üyeleri olan *A. millefolium*, *A. wilhelmsii* ve *A. aleppica* ile benzer farmakolojik profiller göstermektedir [79,107]. *A. absinthifolia*, Akdeniz bölgesi, Türkiye, İran ve Yunanistan halk tıbbında çok sayıda hastalığın tedavisinde kullanılmaktadır. Anadolu'da, özellikle Mardin, Siirt, Şanlıurfa ve

Bitlis yörelerinde halk tarafından mide ağrısı, gaz, iştahsızlık, adet sancısı, soğuk algınlığı, boğaz ağrısı, karaciğer rahatsızlıkları ve hemoroid tedavisinde kullanılmaktadır [86,87]. İran ve Suriye’de yapılan saha çalışmaları, bitkinin çiçekli üst kısımlarının kaynatılarak içildiğini; bu preparatın mideyi, antispazmodik ve gaz giderici (karminatif) olarak değerlendirildiğini göstermektedir [81]. Ayrıca, taze yaprak ve çiçek ezmeleri halk arasında yara, çıban, apseler ve böcek ısırıklarının tedavisinde doğrudan uygulanmaktadır [80,85]. Yunanistan ve Kıbrıs’ta bitkinin uçucu yağı antiseptik olarak cilt lezyonları, kesikler ve egzama tedavisinde kullanılmakta; ayrıca sinirsel gerginlik ve uykusuzluk için aromaterapötik olarak değerlendirilmektedir [107]. Halk tıbbı uygulamalarında en sık kullanılan kısımlar; çiçekli üst kısımlar, yapraklar ve nadiren kök (özellikle sindirim sistemi rahatsızlıklarında dekoksasyon formunda) kısımlarıdır [81,86].

***Achillea arabica* Kotschy**, Türkiye, Suriye, Irak, İran, Ürdün, Lübnan, Filistin, Mısır ve Suudi Arabistan’da doğal olarak yetişmektedir [86,87]. Türkiye’de genellikle Doğu ve Güneydoğu Anadolu bölgelerinde bulunur ve halk arasında “Arap civanperçemi”, “yıldanili” ve “beyaz dağ otu” adlarıyla bilinir.

Bu tür, *Achillea* cinsinin genel özellikleriyle uyumlu olarak geleneksel halk tıbbında mideyi, antienflamatuvar, yara iyileştirici, antiseptik, ateş düşürücü, adet düzenleyici ve ağrı kesici özellikleri nedeniyle kullanılmaktadır [80,81,85]. *A. arabica*, hem Türkiye hem de Orta Doğu ülkelerinde halk hekimliğinde önemli bir yere sahiptir. Türkiye; Anadolu’da özellikle Mardin, Siirt, Batman ve Şanlıurfa yörelerinde halk tarafından mide ağrısı, gaz, hazımsızlık, soğuk algınlığı, ateş, hemoroid ve yaraların tedavisinde kullanıldığı rapor edilmiştir [86,87]. Bitkinin çiçekli üst kısımları kaynatılarak çay şeklinde içilir. Irak ve Suriye; bitki, yara iyileştirici, antienflamatuvar ve antiseptik amaçlarla kullanılır. Ayrıca bronşit, boğaz ağrısı ve ateş durumlarında çay olarak içilmektedir [85]. İran; *A. arabica*, karın ağrısı, gaz, adet sancısı ve sindirim sistemi bozuklukları için çay olarak içilir; ayrıca taze yaprak ezmesi yara ve yanıklara doğrudan uygulanır [81]. Ürdün ve Lübnan; bitkinin uçucu yağı geleneksel olarak antiseptik, ağrı kesici ve kas gevşetici olarak kullanılır. Buhur olarak yakılarak solunum rahatlatıcı ve mikrop kırıcı amaçlarla da değerlendirilir [80]. Mısır ve Suudi Arabistan; bitki, antipiretik (ateş düşürücü) ve antiseptik özelliklerinden dolayı hem dahili hem harici kullanılmaktadır. Özellikle kaynatılmış bitki suyu vücut yıkama sıvısı olarak uygulanır [103].

2.1.5. Bazı *Achillea* türlerine ait kimyasal ve biyolojik aktivite çalışmaları

Achillea cinsine ait çeşitli türlerin fenolik profilleri ve uçucu yağ bileşimleri önemli kimyasal çeşitlilik göstermekte olup özellikle flavonoidler (apigenin, luteolin), fenolik asitler (klorojenik asit, rosmarinik asit) ve seskiterpen laktonlar başlıca bileşenler arasındadır [110-115]. *Achillea* türlerinden bazılarının ait kimyasal çalışmalar Tablo 2.1.'de, gösterildiği gibidir.

Tablo 2.1. Bazı *Achillea* türlerine ait kimyasal çalışmalar [110-124].

Tür Adı	Analiz Edilen Kimyasal Bileşikler	Analiz Yöntemi	Başlıca Bileşikler
<i>Achillea millefolium</i>	Uçucu yağ, flavonoidler, fenolik asitler	GC-MS, MS/MS, HPLC	1,8-sineol, borneol, kamazulen, apigenin, luteolin
<i>Achillea biebersteinii</i>	Uçucu yağ ve polifenoller	GC-MS	Pinen, sabinen, kamfen
<i>Achillea santolina</i>	Uçucu yağlar, antioksidanlar	GC-MS, DPPH, ABTS	Pinen, sabinen, terpineol
<i>Achillea nobilis</i>	Seskiterpen laktonlar, flavonoidler	HPLC, NMR	Achillicin, luteolin, apigenin
<i>Achillea wilhelmsii</i>	Flavonoidler ve fenolikler	LC-MS/MS	Apigenin, kersetin, luteolin
<i>Achillea setacea</i>	Uçucu yağ	GC-MS	Pinen, karyofillen, sabinen
<i>Achillea coarctata</i>	Uçucu yağ	GC-MS	Pinen, borneol, terpineol
<i>Achillea tenuifolia</i>	Flavonoidler, fenolikler	LC-MS/MS	Apigenin glikozitleri, luteolin
<i>Achillea aleppica</i>	Uçucu yağ	GC-MS	α -pinen, 1,8-sineol, sabinen
<i>Achillea millefolium</i> (İran)	Uçucu yağ	GC-MS	Kamazulen, karyofillen oksit, borneol
<i>Achillea arabica</i>	Uçucu yağ, flavonoidler	GC-MS, LC-MS	α -pinen, karyofillen, luteolin
<i>Achillea lycaonica</i>	Uçucu yağ	GC-MS	Karyofillen, bisabolol, kamfen
<i>Achillea filipendulina</i>	Flavonoidler, fenolikler	HPLC-DAD	Apigenin, sinapik asit
<i>Achillea fragrantissima</i>	Uçucu yağ, antioksidanlar	GC-MS	1,8-sineol, borneol, flavonoid türevleri
<i>Achillea ligustica</i>	Seskiterpen	NMR, MS	Ligustolide,

laktonlar	dehidrokostuslakton
-----------	---------------------

Achillea türlerinin kimyasal yapı zenginliği, türlerin belirgin biyolojik aktiviteleri ile ilişkilendirilmiş; özellikle güçlü antioksidan, antiinflamatuvar, antimikrobiyal ve antikolinesteraz etkiler birçok çalışmada doğrulanmıştır (Tablo 2.2.).

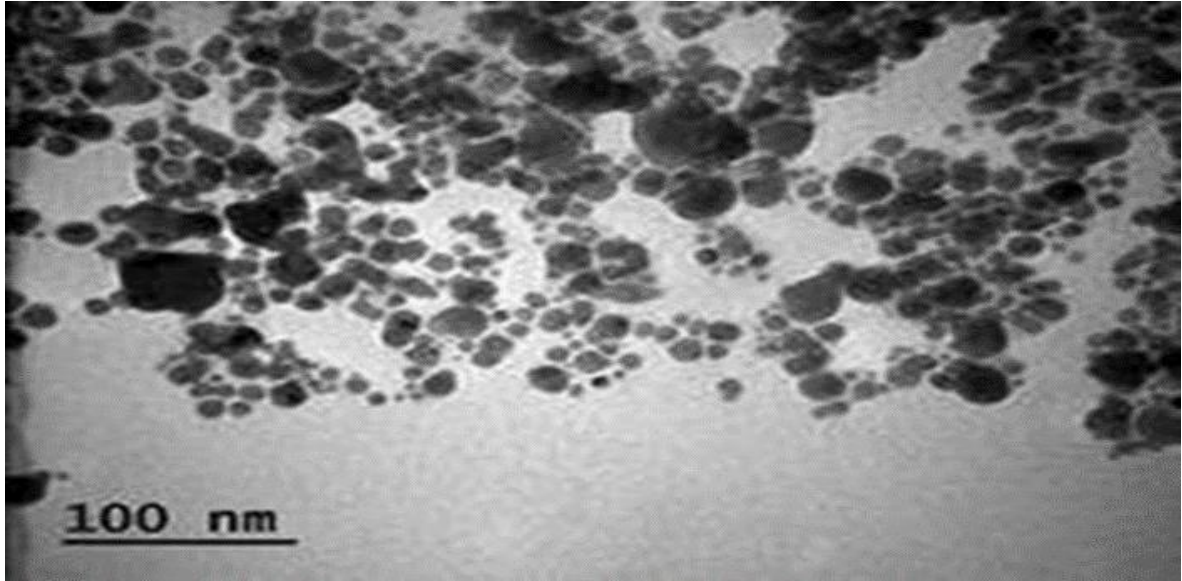
Tablo 2.2. Bazı *Achillea* türlerine ait farmakolojik çalışmalar [125-141].

Tür Adı	Amaç	Yöntem	Sonuç
<i>Achillea millefolium</i>	Antiproliferatif ve sitotoksik etkilerin araştırılması	MTT testi, HT-29 hücre hattı	100 µg/mL'de hücre canlılığı %50'nin altına düşüş.
<i>Achillea millefolium</i>	Antioksidan ve hepatoprotektif etkilerin değerlendirilmesi	CCl ₄ ile hasar oluşturulmuş sıçanlarda 200 mg/kg ekstre uygulaması	ALT, AST, MDA azalmış, GSH artmış
<i>Achillea biebersteinii</i>	Ağrı kesici aktivite değerlendirmesi	Sıçanlarda sıcak plaka ve formalin testleri, 100 mg/kg ekstre	Anlamlı ağrı latensi artışı
<i>Achillea santolina</i>	Antioksidan aktivitenin değerlendirilmesi	DPPH ve FRAP testleri	IC ₅₀ : 45.3 µg/mL, yüksek antioksidan kapasite
<i>Achillea santolina</i>	Antiinflamatuvar etkilerin değerlendirilmesi	Paw ödem modeli, 150 mg/kg ekstre	Ödem inhibisyonu %43
<i>Achillea tenuifolia</i>	Apoptotik etkilerin araştırılması	MCF-7 hücre hattı, Annexin V/PI boyama	%35 apoptotik hücre oranı
<i>Achillea wilhelmsii</i>	ACE inhibitör aktivitesinin incelenmesi	ACE inhibisyon testi	Yüksek ACE inhibitör aktivitesi
<i>Achillea nobilis</i>	Antikanser etkilerin araştırılması	HeLa hücre hattında MTT testi	Hücre canlılığında %60 azalma
<i>Achillea fragrantissima</i>	Antimikrobiyal antioksidan etkilerin araştırılması	DPPH testi ve mikrodilüsyon yöntemi	Yüksek antioksidan kapasite ve MIC < 50 µg/mL
<i>Achillea eriophora</i>	Gastroprotektif etkilerin değerlendirilmesi	Etanolle oluşturulmuş mide ülseri modelinde 300 mg/kg ekstre	Mide lezyonlarında %70 azalma
<i>Achillea arabica</i>	Lipaz enzim inhibitör etkilerinin test edilmesi	Lipaz inhibisyon testi	Orlistat'a yakın inhibisyon potansiyeli
<i>Achillea aleppica</i>	Analjezik etkilerin	Asetik asit ile	%54 ağrı inhibisyonu

	araştırılması	oluşturulan abdominal kıvrınma testi
<i>Achillea ligustica</i>	DNA koruyucu etkilerin araştırılması	Plazmid DNA hasar koruma testi
<i>Achillea setacea</i>	Antihipertansif etkilerin araştırılması	Spontan hipertansif sıçanlarda ekstre uygulanması
		Sistolik kan basıncında anlamlı düşüş

2.2. Nanopartiküller

Nanopartiküller (NP'ler), boyutları yaklaşık 1–100 nanometre (nm) arasında değişen maddelerdir (Şekil 2.1). Bu boyut aralığında, partiküllerin fiziksel, kimyasal ve biyolojik özellikleri büyük oranda değişir ve bu özellikler onları tıp, eczacılık, tarım ve elektronik gibi birçok alanda vazgeçilmez hale getirir. Yüzey alanlarının yüksek olması, hedefleme kabiliyetleri ve hücre içi taşınım özellikleri sayesinde ilaç taşıyıcı sistemlerde özellikle avantajlı özelliklere sahip olduklarından tercih edilirler [142].



Şekil 2.1. Gümüş nanopartiküllerin (AgNP) TEM görüntüsü [143].

Nanopartiküller genellikle bileşimlerine göre sınıflandırılmakta olup, bunlar:

- *Metal nanopartiküller:* Altın (Au), gümüş (Ag), platin (Pt) ve demir oksit (Fe_3O_4) gibi.
- *Polimerik nanopartiküller:* Polilaktik-ko-glikolik asit (PLGA), kitosan, Polietilen glikol (PEG) gibi biyobozunur veya sentetik polimerlerden elde edilir.

- *Lipid bazlı nanopartiküller*: Katı lipit nanopartikülleri (SLN), Nanoyapılı lipid taşıyıcılar (NLC).
- *Karbon bazlı nanopartiküller*: Fullerenler, karbon nanotüpler, grafen oksit.
- *Seramik ve silika nanopartiküller*: Mezogözenekli silika nanopartiküller (MSNs) gibi [144].

Nanopartiküller iki temel yaklaşım ile sentezlenebilir;

- *Top-down yöntemleri*: Makroskobik materyalin fiziksel veya kimyasal yollarla parçalanarak nano boyuta getirilmesidir. Örn. öğütme, lazer ablasyonu.
- *Bottom-up yöntemleri*: Atom ve moleküllerin bir araya gelerek nanopartikül oluşturması. Kimyasal indirgeme, sol-gel yöntemi, mikroemülsiyon teknikleri bu gruba girer [145].

Ayrıca, biyolojik sentez son yıllarda popülerlik kazanmıştır. Bitki ekstraktları, bakteri ve mantarlar kullanılarak çevre dostu "yeşil sentez" yöntemleriyle nanopartikül üretimi mümkündür [146]. Nanopartiküllerin biyomedikal kullanımı ve toksikolojik değerlendirilmesi ise şöyledir:

İlaç Taşıma ve Hedefleme: Nanopartiküller, biyolojik hedeflere özgü olarak tasarlanabilir. Özellikle kanser tedavisinde sitotoksik ilaçlar, tümör bölgesine yönlendirilerek yan etkiler azaltılır. PLGA, PEG ve kitosan nanopartiküller bu amaçla sıkça kullanılır [147].

Gen Tedavisi: Nanopartiküller, DNA, RNA ve siRNA gibi genetik materyalleri taşıyabilir. Katyonik lipid ve polimer bazlı nanopartiküller, gen tedavisinde başarılı taşıyıcılar olarak tanımlanmıştır [148].

Görüntüleme ve Tanı: Metal nanopartiküller (ör. altın, demir oksit) MRI, CT ve foton bazlı görüntüleme yöntemlerinde kontrast artırıcı ajan olarak kullanılır [149].

Antimikrobiyal ve Antikanser Etkiler: Gümüş nanopartiküller güçlü antimikrobiyal etkilere sahiptir. Ayrıca birçok çalışmada metal oksit nanopartiküllerinin (ZnO, TiO₂) kanser hücrelerinde apoptoz indüklediği gösterilmiştir [150].

Toksikolojik değerleri: Nanopartiküller potansiyel toksisite riski taşır çünkü hücre zarını geçebilir, oksidatif stres oluşturabilir ve DNA hasarına yol açabilirler. Bu nedenle *in*

vitro ve *in vivo* toksisite testleri hayati önem taşır. Özellikle metal nanopartiküller, uzun süreli birikim ve ROT üretimi nedeniyle dikkatle değerlendirilmelidir [151].

2.3. Serbest Radikaller ve Antioksidanlar

2.3.1. Serbest radikaller

Serbest radikaller, dış yörüngelerinde eşleşmemiş bir elektrona sahip olan, bu nedenle yüksek kimyasal reaktivite gösteren atom veya moleküllerdir (Tablo 2.3). Bu yapılar biyolojik sistemlerde kısa ömürlü olmakla birlikte hücre yapılarıyla etkileşime girerek zincirleme reaksiyonlara neden olurlar. Canlı organizmalarda bu radikallerin üretimi normal fizyolojik süreçlerin bir parçası olmakla birlikte, kontrolsüz üretim ve birikim durumlarında oksidatif stres oluşur ve bu durum birçok kronik hastalığın temel mekanizmalarından birini oluşturur [152].

Tablo 2.3. Bazı serbest radikallerin oluşum kaynakları ve olası etkileri [153-156].

Serbest Radikal	Kimyasal Formül	Oluşum Kaynağı	Biyolojik Etki
Süperoksit anyonu	O_2^-	Mitokondriyal solunum zinciri, NADPH oksidaz, ksantin oksidaz	Diğer ROT'ların öncüsüdür; doku hasarı başlatabilir
Hidroksil radikali	$\bullet OH$	Fenton reaksiyonu ($Fe^{2+} + H_2O_2 \rightarrow Fe^{3+} + OH^- + \bullet OH$)	DNA, protein ve lipitlere en toksik hasarı verir
Hidrojen peroksit	H_2O_2	SOD tarafından süperoksitten oluşur, mitokondri ve peroksisomlarda üretilir	Kendi başına radikal değildir; Fenton reaksiyonlarıyla toksik hale gelir
Singlet oksijen	1O_2	UV ışınımı, fotosensitizerler	Hücre zarında lipid peroksidasyonuna yol açar
Nitrik oksit	$NO\bullet$	Nitrik oksit sentaz (NOS) enzimleri tarafından argininden üretilir	Vazoaktivite, nörotransmisyon, aşırı üretimde peroksinitrit ile birleşebilir
Peroksinitrit	$ONOO^-$	$NO\bullet + O_2^-$ sonucu reaksiyonu oluşur	DNA hasarı, tirozin nitrasyonu gibi ağır oksidatif stres yaratır
Alkoksil radikali	$RO\bullet$	Lipid peroksidasyonu sırasında oluşur	Hücre zarı lipitlerini parçalar, zincirleme reaksiyonlara neden olur
Peroksil radikali	$ROO\bullet$	Lipidlerin oksidasyonu	Oksidatif zincir

Serbest radikaller başlıca iki kategoriye ayrılır:

- *Reaktif oksijen türleri* (ROT): Süperoksit anyonu (O_2^-), hidroksil radikali ($\bullet OH$), hidrojen peroksit ($H_2 O_2$), singlet oksijen (1O_2).
- *Reaktif azot türleri* (RNT): Nitrik oksit ($NO\bullet$), peroksinitrit ($ONOO^-$), nitrosonyum iyonu (NO^+).

Bu moleküller, hem endojen hem de eksojen yollarla oluşabilirler. Endojen kaynaklar arasında mitokondriyal solunum zinciri, sitokrom P450 sistemleri, inflamatuvar hücrelerin fagositik aktiviteleri ve peroksizomal oksidasyon yer alır. Eksojen kaynaklar ise ultraviyole radyasyon, iyonize radyasyon, sigara dumanı, çevresel toksinler, ağır metaller (örneğin kadmiyum, arsenik) ve bazı ilaçlar olabilmektedir [153].

Serbest radikaller, biyomoleküllerle (DNA, proteinler, lipidler, karbonhidratlar) etkileşime girerek onların yapısını ve işlevini bozarlar. Özellikle membran lipidlerinde peroksidasyona neden olarak hücre zarının geçirgenliğini ve bütünlüğünü kaybetmesine yol açarlar. Proteinlerde oksidatif modifikasyonlar enzim fonksiyonlarını etkileyebilirken, DNA'daki hasar mutasyonlara ve potansiyel olarak kanser gelişimine neden olabilmektedir. Lipid peroksidasyonu sonucu oluşan malondialdehit (MDA) gibi ürünler biyolojik hasarın önemli biyobelirteçleri arasında yer alır [154,155].

Organizmadaki oksidatif/antioksidatif dengenin bozulması, yani serbest radikal üretiminin antioksidan kapasiteyi aşması, oksidatif stres olarak tanımlanır. Bu durumun uzun süreli devamı, çok sayıda hastalığın patogenezeine neden olur.

- *Kardiyovasküler hastalıklar*: LDL kolesterolün oksidasyonu aterosklerozun temelidir.
- *Kanser*: DNA mutasyonları ve proliferasyon sinyallerinin oksidatif modifikasyonu ile ilişkilidir.
- *Nörodejeneratif hastalıklar*: Alzheimer, Parkinson gibi hastalıklarda nöron hasarı serbest radikal kaynaklıdır.
- *Diyabet*: Pankreas β -hücreleri oksidatif hasara karşı hassastır ve bu durum insülin üretiminde bozulmaya yol açar [152,155].

2.3.2. Antioksidanlar

Antioksidanlar, serbest radikallerin neden olduğu zararı engelleyen veya azaltan maddelerdir. Bu bileşikler, serbest radikalleri nötralize ederek hücre ve dokuların korunmasını sağlarlar. Antioksidanlar endojen (vücut tarafından üretilen) veya eksojen (dış kaynaklardan alınan) olabilir. Endojen antioksidanlar arasında glutatyon, süperoksit dismutaz (SOD), katalaz ve glutatyon peroksidaz yer alırken; eksojen antioksidanlar genellikle diyetle alınan vitaminler (C vitamini, E vitamini, A vitamini), polifenoller, karotenoidler gibi bileşenleri içerir [153]. Antioksidanlar, çeşitli kriterlere göre sınıflandırılabilir [156-159]:

1. Kaynaklarına Göre:

- *Endojen antioksidanlar*: Vücut tarafından sentezlenir. Örn: Glutatyon, SOD, katalaz.
- *Eksojen antioksidanlar*: Gıdalarla veya takviyelerle alınır. Örn: Vitamin C, E, flavonoidler.

2. Moleküler Yapılarına Göre:

- *Enzimatik antioksidanlar*: Antioksidan savunmayı enzimatik mekanizmalarla sağlar. Örn: SOD, katalaz, glutatyon peroksidaz.
- *Enzimatik olmayan antioksidanlar*: Serbest radikallerle doğrudan reaksiyona girerek nötralizasyon sağlar. Örn: Vitamin C, E, karotenoidler, polifenoller.

3. Etkime Mekanizmalarına Göre:

- *Primer antioksidanlar* (radikal temizleyiciler): Serbest radikallerle doğrudan etkileşerek onları etkisiz hale getirir. Örn: α - tokoferol (vitamin E), askorbik asit (vitamin C).
- *Sekonder antioksidanlar* (önleyici antioksidanlar): Serbest radikal oluşumunu önler veya metal iyonlarını şelatlayarak oksidatif reaksiyonları engeller. Örn: flavonoidler, fitik asit.
- *Onarıcı antioksidanlar*: Oksidatif hasara uğramış biyomolekülleri onarır veya yeniden sentezler. Örn: DNA onarım enzimleri.

4. Çözünürlüklerine Göre:

- *Suda çözünen antioksidanlar*: Hücre sitoplazmasında etkilidir. Örn: Vitamin C, glutatyon.

- *Yağda çözünen antioksidanlar:* Hücre membranlarını oksidatif stresten korur. Örn: Vitamin E, karotenoidler.

Antioksidanların sağlık üzerindeki etkileri oldukça geniştir. DNA mutasyonlarını önlemesi, bağışıklık sistemini desteklemesi, yaşlanmayı geciktirmesi ve kronik hastalıklara karşı koruyucu rol üstlenmesi gibi önemli biyolojik fonksiyonları vardır. Antioksidan bileşikler, özellikle bitkisel kaynaklardan (meyve, sebze, otlar) elde edilen fenolik maddeler yoluyla önemli ölçüde alınabilir ve bu doğal bileşiklerin sağlık destekleyici etkileri çok sayıda klinik ve laboratuvar çalışması ile belgelenmiştir [160,161].

2.4. Alzheimer Hastalığı

Alzheimer hastalığı (AH), nörodejeneratif bir hastalık olup, ilerleyici hafıza kaybı, bilişsel işlevlerde bozulma, kişilik değişiklikleri ve günlük yaşam aktivitelerinde azalma ile karakterizedir. En yaygın demans türüdür ve dünya genelinde milyonlarca insanı etkilemektedir [162]. Hastada bulunan nörofibriler yumaklar ve amiloid plaklar bu hastalığın temel patolojik bulgularıdır [163].

Dünya genelinde demansla yaşayan insan sayısı yaklaşık 55 milyondur ve bunların %60-70'inde Alzheimer hastalığı tespit edilmiştir [164]. Yaş, hastalığın en önemli risk faktörüdür; 65 yaş üstü bireylerde görülme sıklığı önemli ölçüde artar. Kadınlar, erkeklere oranla daha yüksek risk altındadır. Genetik yatkınlık, özellikle APOE ε4 aleli taşıyan bireylerde risk faktörünü artırmaktadır [165].

Patofizyoloji:

AH, beyin hücrelerinin progresif ölümüne neden olan çok faktörlü bir hastalıktır. Başlıca moleküler mekanizmalar şunlardır:

Amiloid-β (Aβ) Plakları: Aβ peptidi, amiloid öncü protein (APP)'in yanlış şekilde parçalanması sonucu oluşur ve beyinde ekstraselüler birikim yapar. Bu birikim sinaptik iletişimi bozar ve nöronal hasara yol açar [166].

Tau Protein ve Nörofibriler Yumaklar: Tau proteini normalde mikrotübül stabilitesini düzenler. Ancak AH'da anormal fosforilasyon sonucu nörofibriler yumaklar oluşur ve nöron içi taşıma sistemi çökerek hücre ölümüne yol açar [167].

Oksidatif Stres ve Serbest Radikaller: Nöronlar, Aβ ve Tau'nun neden olduğu oksidatif hasara duyarlıdır. Serbest radikaller, hücresel bileşenlere zarar vererek sinir sisteminde dejenerasyona sebep olur [168].

Nöroinflamasyon: Mikroglial aktivasyon ve inflamatuvar sitokin salınımı AH progresyonunda rol oynar [169].

Kolinerjik Hipotez: Alzheimer hastalığının patofizyolojisini açıklamak için öne sürülen en eski ve en yaygın hipotezlerden biri kolinerjik hipotezdir. Bu hipoteze göre, alzheimer hastalığında özellikle hipokampus ve korteksteki kolinerjik nöronların dejenerasyonu sonucunda asetilkolin (ACh) düzeylerinde belirgin bir azalma meydana gelir [170]. Asetilkolin, öğrenme, bellek ve dikkat gibi kognitif fonksiyonlarda önemli rol oynayan temel bir nörotransmitterdir. ACh eksikliğinin, alzheimer hastalarında gözlenen bellek kaybı, bilişsel yetersizlik ve davranışsal bozukluklarla doğrudan ilişkili olduğu gösterilmiştir [171]. Bu hipoteze dayanarak geliştirilen asetilkolinesteraz inhibitörleri (donepezil, rivastigmin, galantamin gibi), ACh yıkımını azaltarak sinaptik boşlukta asetilkolin düzeyini artırmayı hedeflemekte ve semptomatik iyileşme sağlamaktadır. Ancak kolinerjik hipotezin alzheimer hastalığının tek açıklaması olmadığı, hastalığın multifaktöriyel bir yapıya sahip olduğu günümüzde kabul edilmektedir [172].

Kalsiyum Hipotezi: Alzheimer hastalığında nörodejenerasyonun önemli mekanizmalarından biri olarak kalsiyum hipotezi öne sürülmektedir. Bu hipoteze göre, nöronlardaki intrasellüler kalsiyum (Ca^{2+}) homeostazının bozulması, sinaptik disfonksiyona, oksidatif strese ve sonuç olarak hücre ölümüne yol açmaktadır [173]. Normal şartlarda kalsiyum iyonları, sinaptik iletim ve hücrel sinyalleşme gibi birçok fizyolojik süreçte kritik rol oynar. Ancak Alzheimer'da, özellikle amiloid- β ($A\beta$) peptidlerinin ve tau proteinlerinin birikimi, kalsiyum kanallarının disfonksiyona uğramasına ve hücre içi kalsiyum seviyelerinin yükselmesine neden olur [174]. Bu durum, mitokondriyal disfonksiyon ve apoptotik yollarda aktivasyon ile birlikte nöronal dejenerasyonu tetikler. Kalsiyum homeostazının korunması, alzheimer hastalığının ilerleyişini yavaşlatmak amacıyla önemli bir tedavi hedefi olarak değerlendirilmesine neden olmaktadır [175].

İzoprenoid Değişim Hipotezi: Alzheimer hastalığında nörodejeneratif süreçleri açıklayan güncel hipotezlerden biri de izoprenoid değişim hipotezidir. Bu hipoteze göre, hücre içi küçük lipid molekülleri olan izoprenoidler (özellikle farnesil pirofosfat (FPP) ve geranil-geranil pirofosfat (GGPP), nöronal proteinlerin prenilasyon yoluyla işlenmesinde kritik rol oynar ve bu sürecin bozulması alzheimer hastalığıyla ilişkilidir [176]. Prenilasyon, birçok sinyal iletim yolunda görevli küçük GTPaz proteinlerinin (örneğin Rho, Ras, Rab proteinleri) zarla ilişkili hâle gelmesini sağlayarak nöronal yapı ve işlevde

temel rol oynar. Alzheimer hastalarında, özellikle mevalonat yolunun bozulması sonucu izoprenoid düzeylerinde düzensizlik görülmekte, bu da hücre içi sinyal iletiminde bozukluklara, amiloid-beta ($A\beta$) birikimine ve tau hiperfosforilasyonuna yol açabilmektedir [177]. Bu nedenle izoprenoid metabolizmasının düzenlenmesi, alzheimer hastalığı için potansiyel bir tedavi hedefi olarak değerlendirilmektedir [178].

2.5. *Helicobacter pylori*

Helicobacter pylori (*H. pylori*), insan mide mukozasında koloni oluşturan, spiral şekilli, gram-negatif, mikraerofilik bir bakteridir. Hücre duvarında lipopolisakkarit (LPS), dış zarında ise çok sayıda virülans faktörü bulunan bu bakteri, mide epitel hücrelerine yapışarak kronik enfeksiyon oluşturma kapasitesine sahiptir. Dünya genelinde yaygın olarak görülen, özellikle gelişmekte olan ülkelerde enfeksiyon prevalansı %70'in üzerine çıkarken, gelişmiş ülkelerde bu oran genellikle %20–40 arasında değişmektedir. Coğrafi bölge, sosyoekonomik düzey, hijyen koşulları ve kalabalık yaşam ortamları enfeksiyonun dağılımını belirleyen başlıca faktörlerdir. [179].

2.5.1. Morfolojik ve fizyolojik özellikler

H. pylori yaklaşık 2.5–5.0 μm uzunluğunda ve 0.5–1.0 μm çapında kıvrımlı çubuk şeklindedir (Şekil 2.2). Spiral şekli ve çok sayıda flagella (kamçı) sayesinde mukus tabakası içerisinde hareket ederek epitel hücrelerine ulaşabilir [180]. Flagella, bakteriye hem hareket yeteneği kazandırır hem de konak hücreye bağlanmasını kolaylaştırır.



Şekil 2.2. *Heliobacter pylori* [181].

Bakteri mikroaerofilik bir ortamda (yaklaşık %5 O₂ ve %10 CO₂) büyür ve asidik ortama karşı dirençlidir. Bu direnç, esas olarak üreaz enzimi aracılığıyla sağlanır. Üreaz, üreyi amonyağa ve karbondioksit hidrolize ederek lokal pH'yı yükseltir ve bakteriyi mide asidinden korur [182].

2.5.2. *Helicobacter pylori* enfeksiyon mekanizması

Helicobacter pylori, insan mide mukozasına yerleşen ve kronik enfeksiyona yol açabilen spiral şekilli, gram-negatif bir bakteridir. Enfeksiyon mekanizması, bakterinin mide mukozasında hayatta kalması, epitel hücrelerine tutunması, inflamasyon oluşturmaları ve doku hasarına neden olması gibi karmaşık süreçleri içerir [183].

Mide asidinin ekstrem asidik ortamı, çoğu mikroorganizma için öldürücü olmasına rağmen, *H. pylori* bu ortamda üreaz enzimi üretimi sayesinde hayatta kalır. Üreaz, midede bulunan üreyi amonyak ve karbondioksit parçalayarak lokal pH'yı nötralize eder ve bakteri için uygun bir mikroçevre oluşturur [182]. Ayrıca bakteri, spiral şekli ve flagella yapısı sayesinde mide mukus tabakasında hareket ederek mukus tabakasının daha derinlerine ulaşabilir [180].

H. pylori'nin enfeksiyon başarısında önemli adımlardan biri mide epitel hücrelerine sıkı bir şekilde tutunmasıdır. Bu bağlanma, bakterinin yüzeyindeki adezin proteinleri aracılığıyla gerçekleşir. Başlıca adezinler arasında BabA (Kan grubu antijen bağlayıcı adezin) ve SabA (Sialik asit bağlayıcı adezin) bulunur. BabA, özellikle Lewis b kan grup antijenlerine bağlanarak mide epiteline tutunmayı sağlar [184]. SabA ise inflamasyon sırasında artan sialilasyon yapısına bağlanır [185].

H. pylori, patojenitesini artıran birçok virülans faktörüne sahiptir. Bunların başında CagA ve VacA toksinleri gelir:

CagA (Sitotoksinle ilişkili gen A): Bakteri, tip IV sekresyon sistemi aracılığıyla CagA proteinini mide epitel hücrelerine enjekte eder. Hücre içi sinyal yollarını bozan CagA, hücresel yapısal değişikliklere, inflamatuvar yanıtın artmasına ve hücre proliferasyonunun kontrolsüz hale gelmesine neden olur [186].

VacA (Vakuolleştirici sitotoksin A): Bu toksin, hücre içinde vakuol oluşumunu tetikler, mitokondriyal fonksiyonları bozar ve apoptozu teşvik eder [187]. Bu toksinlerin etkisiyle inflamasyon ve doku hasarı gelişir. *H. pylori* ayrıca inflamatuvar sitokinlerin (IL-8

gibi) salgılanmasını uyarak bölgesel bağışıklık yanıtını tetikler, ancak kronik inflamasyon nedeniyle hücre hasarı ve gastrik mukozada erozyon meydana gelir [188].

H. pylori, konak bağışıklık sistemi tarafından tamamen elimine edilemez. Bunun sebeplerinden biri bakterinin yüzey antijenlerinde yaptığı değişiklikler ve anti-fagositoz mekanizmalardır [189]. Ayrıca LPS yapısındaki modifikasyonlar sayesinde inflamatuvar yanıtı kısmen baskılar. Bu durum, enfeksiyonun uzun süre kronikleşmesini sağlar. Ayrıca biofilm oluşumu ile bakteri konak savunmalarına karşı daha dirençli hale gelir. Bu biofilm yapıları aynı zamanda antibiyotik tedavisinin etkinliğini azaltır [190].

2.5.3. *Helicobacter pylori*'nin klinik önemi

H. pylori, dünya genelinde yaklaşık %50-60 oranında enfeksiyona neden olan, spiral şeklinde, gram-negatif ve mikroaerofilik bir bakteridir. Mide mukozasına yerleşerek uzun süreli enfeksiyonlar oluşturabilir ve çeşitli gastroduodenal hastalıkların gelişiminde temel rol oynar [191]. *H. pylori*'nin klinik önemi, özellikle gastrit, peptik ülser hastalığı, mide adenokarsinomu ve MALT (Mukoza ile ilişkili lenfoid doku) lenfoması gibi ciddi patolojilerle ilişkili olmasından kaynaklanmaktadır.

H. pylori, enfekte bireylerin büyük çoğunluğunda kronik aktif gastrite neden olur. Bu inflamasyon, yıllar içinde atrofik gastrit ve intestinal metaplazi gibi premalign değişimlerle ilerleyebilir. *H. pylori*, duodenumda asit artışına yol açarak duodenal ülser gelişimine katkıda bulunur. Ayrıca gastrik asit salgısının azalmasıyla birlikte mide ülserlerinin de oluşmasına neden olur [192]. Yapılan çalışmalarda, duodenal ülser hastalarının %90'ından fazlasında *H. pylori* enfeksiyonu saptanmıştır [193].

Dünya Sağlık Örgütü (WHO), *H. pylori*'yi 1994 yılında sınıf I karsinojen olarak tanımlamıştır [194]. Gastrik adenokarsinom gelişimi genellikle kronik gastrit, atrofik gastrit, intestinal metaplazi ve displazi gibi ardışık histopatolojik değişiklikler sonucunda ortaya çıkar. Bu süreç, "Correa kaskadı" olarak bilinir [195]. *H. pylori* enfeksiyonu bu sürecin tetikleyicisidir. Özellikle CagA-pozitif suşlar, epitel hücre proliferasyonunu artırarak kansere yatkınlığı daha da artırır [196].

MALT lenfoması, *H. pylori* ile ilişkili nadir ancak önemli bir klinik tablodur. Erken evrede teşhis edilen MALT lenfomalarında, yalnızca *H. pylori* eradikasyonu ile tümöral regresyon sağlanabilmektedir [198]. Bu durum, enfeksiyonun onkojenik potansiyelinin sadece epitel hücreler ile sınırlı olmadığını, aynı zamanda immün sistemi de etkileyerek lenfoproliferatif hastalıklara neden olabileceğini göstermektedir.

H. pylori'nin potansiyel ektragastrik etkileri de son yıllarda ilgi odağı haline gelmiştir. Özellikle demir eksikliği anemisi, idiopatik trombositopenik purpura (ITP), B12 vitamini eksikliği ve bazı kardiyovasküler hastalıklarla ilişkisi olduğu düşünülmektedir [198]. Bu bağlamda *H. pylori* sadece gastrointestinal sistemle sınırlı kalmayan sistemik bir patojen olarak kabul edilmektedir [199].

2.6. İnflamasyon

2.6.1. İnflamasyon nedir?

İnflamasyon (iltihap), organizmanın zararlı uyarılara (patojenler, hasarlı hücreler, toksinler, radyasyon vb.) karşı geliştirdiği koruyucu bir yanıttır ve bağışıklık sisteminin temel bileşenlerinden biridir. Amacı, zararlı etkenin ortadan kaldırılması, hasarın sınırlandırılması ve iyileşmenin başlatılmasıdır. Akut inflamasyon, kısa sürede başlayan ve genellikle birkaç gün içinde çözümlenen bir süreçtir. Bu evrede nötrofiller gibi doğuştan bağışıklık hücreleri baskındır. Kronik inflamasyon ise haftalar, aylar hatta yıllar sürebilir ve bu süreçte lenfositler, makrofajlar ve fibroblastlar gibi hücreler rol alır. Kronik inflamasyon sıklıkla doku yıkımı ve fibrozisle karakterize olup, bu durum kardiyovasküler hastalıklar, diyabet, nörodejeneratif hastalıklar, bazı kanser türleri gibi çok sayıda hastalıkla ilişkilidir [200,201].

2.6.2. İnflamasyona neden olan faktörler

İnflamasyon, vücudun zararlı uyarılara karşı gösterdiği bir savunma mekanizmasıdır (Tablo 2.4). Bu süreci başlatan uyarıcılar genellikle iki ana gruba ayrılır: enfeksiyöz faktörler (mikroorganizmalara bağlı olanlar) ve enfeksiyöz olmayan faktörler (fiziksel, kimyasal, metabolik veya otoimmün kaynaklı olanlar). Bu uyarılar, bağışıklık sisteminin "patojen tanıma reseptörleri" (PRR) aracılığıyla algılanır ve inflamatuvar süreci tetikler [200].

Tablo 2.4. İnflamasyona neden olan faktörler [200-205].

Faktör	Açıklama
Enfeksiyöz Faktörler	Bakteri, virüs, mantar ve parazitler gibi mikroorganizmalar; PAMP'lar aracılığıyla bağışıklık sistemini aktive eder.
Travma	Fiziksel yaralanma, cerrahi müdahale ve doku hasarı inflamatuvar süreci başlatır.

Radyasyon	UV veya iyonlaştırıcı radyasyon, DNA hasarına neden olarak inflamasyonu tetikler.
Toksinler	Çevresel kimyasallar, sigara dumanı ve bazı ilaçlar hücre hasarına ve inflamatuvar yanıt oluşumuna yol açar.
Metabolik Faktörler	Obezite, hiperglisemi ve hiperkolesterolemi inflamatuvar sitokinlerin sürekli üretimine neden olur.
Otoimmün Mekanizmalar	Bağışıklık sisteminin kendi hücrelerine saldırması sonucu inflamasyon gelişir (ör. romatoid artrit, lupus).
Mikrobiyota Dengesizliği	Bağırsak mikrobiyotasındaki bozulmalar, bağırsak bariyerini zayıflatarak endotoksemi ve inflamasyona neden olur.
Oksidatif Stres	Reaktif oksijen ve nitrojen türleri hücresel yapıları bozarak inflamasyonu tetikler.
Psikolojik ve Nörolojik Etkenler	Kronik stres, uykusuzluk ve depresyon gibi durumlar HPA aksı yoluyla inflamatuvar sitokin salınımını artırır.

2.6.3. İnflamasyon süreci

İnflamasyon, genellikle akut ve kronik olmak üzere ikiye ayrılır. Akut inflamasyon, hızlı başlayan ve kısa süren bir yanıttır; kronik inflamasyon ise daha uzun süreli olup doku yıkımı ve yeniden yapılanma süreçlerini kapsar [206].

İnflamasyonun ilk aşaması, bağışıklık sisteminin zararlı ajanları tanımasıyla başlar. Bu süreçte konak hücreler, mikroorganizmaların yüzey yapılarındaki patojenle ilişkili moleküler desenleri (PAMPs) ve hasarlanmış hücrelerin oluşturduğu zararlı ilişkili moleküler desenleri (DAMPs) tanır. Bu tanıma, başlıca Toll-benzeri reseptörler (TLR) ve NOD-benzeri reseptörler (NLR) gibi patern tanıma reseptörleri (PRR) aracılığıyla gerçekleşir [202].

PRR'ların aktive olmasıyla birlikte sinyal iletim yolları (örneğin, NF- κ B ve MAPK yolları) aktive edilir. Bu aktivasyon, proinflamatuvar sitokinlerin (örneğin, TNF- α , IL-1 β , IL-6) ve kemokinlerin salınımına neden olur. Bu moleküller, inflamasyonun lokal ve sistemik etkilerini başlatır ve düzenler [207].

Sitokinlerin etkisiyle damar geçirgenliği artar, endotel hücreleri adezyon moleküllerini (örneğin ICAM-1, VCAM-1) eksprese eder. Bu değişiklikler, lökositlerin (özellikle nötrofillerin) damar dışına çıkmasını (diapedez) ve iltihap bölgesine göç etmesini

sağlar. Aynı zamanda damar genişlemesi nedeniyle inflamasyonlu bölgede kızarıklık, sıcaklık, şişlik ve ağrı gibi klasik inflamasyon belirtileri ortaya çıkar [208].

İnflamasyon bölgesine ulaşan nötrofiller ve monositler, fagositik aktivite göstererek patojenleri ve hasarlı hücreleri temizler. Monositler dokuya geçtikten sonra makrofajlara dönüşür ve fagositozun yanı sıra iyileşme sürecini başlatan büyüme faktörleri salgılar [209].

İnflamatuvar uyaran ortadan kaldırılırsa, çözülme evresi başlar. Bu aşamada anti-inflamatuvar sitokinler (ör. IL-10, TGF- β), resolvinler ve lipoksinler gibi lipid mediyatörleri devreye girerek lökosit göçünü durdurur ve hasarlı dokunun onarımı sağlanır. Ayrıca apoptoza uğrayan hücreler, makrofajlar tarafından temizlenir [210].

İnflamatuvar uyaranlar ortadan kaldırılamazsa ya da çözülme başarısız olursa, inflamasyon kronik hale gelir. Bu durum uzun vadede doku yıkımı, fibrozis, anjiyogenez ve otoimmünite gibi sorunlara neden olabilir [211].

2.7. Kanser

Kanser, hücrelerin kontrolsüz şekilde bölünmesi ve yayılması ile karakterize edilen, genetik ve çevresel etkenlerin etkileşimi sonucu ortaya çıkan kompleks bir hastalık grubudur. Genellikle DNA hasarı ve genomik instabilite ile başlayan bu süreç, onkogenlerin aktivasyonu ve tümör baskılayıcı genlerin inaktivasyonu gibi moleküler değişikliklerle ilerler. Kanserın küresel dağılımı, sosyoekonomik faktörler, yaşam tarzı, çevresel maruziyetler ve sağlık hizmetlerine erişim gibi birçok etmene bağlı olarak değişkenlik göstermektedir. Dünya Sağlık Örgütü'ne (WHO) bağlı Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı (IARC) tarafından yayımlanan 2020 verilerine göre, dünya genelinde her yıl yaklaşık 19.3 milyon yeni kanser vakası görülmekte ve yaklaşık 10 milyon kişi kanser nedeniyle hayatını kaybetmektedir. En sık görülen kanser türleri arasında akciğer, meme, kolorektal, prostat ve mide kanserleri yer almakta olup; düşük ve orta gelirli ülkelerde mortalite oranları daha yüksektir. Bu durum, erken tanı eksikliği, sınırlı tedavi olanakları ve halk sağlığı politikalarının yetersizliği gibi faktörlerle ilişkilidir [212].

2.7.1. Kanser hücrelerinin enerji metabolizması ve warburg etkisi

Kanser hücrelerinin biyokimyasal özelliklerinin en dikkat çekici yönlerinden biri, enerji metabolizmalarındaki değişiktir. Normal hücreler oksijen varlığında enerjiyi mitokondriyal oksidatif fosforilasyon yoluyla üretirken, kanser hücreleri oksijen varlığında

dahi glikolizi tercih ederler; bu olguya Warburg etkisi adı verilir. Bu durum, glikozun laktata dönüştürülmesiyle enerji üretiminin gerçekleştirilmesi anlamına gelir ve ATP verimliliği düşük olsa da, hızlı hücre bölünmesi için gerekli biyosentetik öncüllerin (nükleotitler, amino asitler ve lipitler) üretimini destekler. Artan glikoz alımı, glikolitik enzimlerdeki ekspresyon artışı ve laktat dehidrogenaz A (LDHA) gibi enzimlerin aktivasyonu, bu metabolik adaptasyonun başlıca göstergelerindendir. Bu biyokimyasal yeniden programlama, hipoksi-indüklenebilir faktör-1 α (HIF-1 α), c-Myc ve PI3K/Akt/mTOR yolları gibi sinyal yolları tarafından düzenlenmektedir [213].

Kanser hücrelerinin biyokimyası aynı zamanda artmış biyosentez ve redoks dengesindeki değişimlerle karakterizedir. Proliferatif ihtiyaçları karşılamak üzere, kanser hücreleri nükleotid, lipid ve amino asit sentez yollarını aktive eder. Özellikle pentoz fosfat yolu (PPP), hem riboz-5-fosfat üretimiyle DNA/RNA sentezine katkı sağlar hem de NADPH üretimiyle reaktif oksijen türlerine (ROT) karşı savunma mekanizmasını destekler [214]. NADPH, aynı zamanda glutatyon (GSH) gibi antioksidan sistemlerin rejenerasyonu için de gereklidir. Kanser hücreleri, ROT düzeylerini bir yandan hücre içi sinyal yollarını aktive etmek için kullanırken, aşırı ROS'un yol açabileceği apoptozu engellemek için güçlü antioksidan savunma sistemleri geliştirir. Bu bağlamda, glutatyon sistemi, süperoksit dismutaz (SOD), katalaz ve tioredoksin gibi enzimler kanser hücrelerinde sıklıkla aşırı eksprese edilir. Ayrıca, serin-glisin ve folat metabolizması gibi tek karbon metabolizması yolları da hızlandırılarak metilasyon reaksiyonları, redoks homeostazı ve biyosentez desteklenir. Bu metabolik yeniden yapılanmalar, kanserin hem büyümesini hem de ilaç direncini destekleyen temel biyokimyasal adaptasyonları oluşturur [215].

2.7.2. Onkogenler ve tümör baskılayıcı genler: kanser gelişimindeki rolleri

Kanserin moleküler temelini oluşturan en önemli genetik değişiklikler, proto-onkogenlerin onkogenlere dönüşmesi ve tümör baskılayıcı genlerin (TSG) inaktivasyonudur. Proto-onkogenler, normal hücre büyümesi, proliferasyonu ve farklılaşmasında rol oynayan genlerdir. Mutasyon, gen amplifikasyonu veya translokasyon gibi genetik olaylarla onkogenlere dönüşerek hücre bölünmesini kontrolsüz hale getirirler [216]. Örneğin RAS, MYC, HER2/neu gibi onkogenler, birçok solid tümörde sıklıkla aktive olmuş şekilde bulunur. Buna karşılık tümör baskılayıcı genler, hücre döngüsünü durduran, DNA tamirini yöneten veya apoptozu indükleyen genlerdir. En bilinen TSG'lerden TP53, genetik hasar tespit edildiğinde hücre döngüsünü durdurarak ya tamir

mekanizmalarını başlatır ya da hücreyi apoptoza yönlendirir [217]. RB1, BRCA1/2 gibi diğer TSG'ler de hücre döngüsü kontrolü ve genom stabilitesi için kritik öneme sahiptir. Knudson'un "iki vuruş hipotezi"ne göre, bir tümör baskılayıcı genin fonksiyon kaybı için her iki alelinin de inaktive olması gerekir. Onkogenlerin aktivasyonu ve TSG'lerin inaktivasyonu birlikte çalışarak, hücrenin büyüme sinyallerine bağımlı olmadan çoğalmasına, apoptozdan kaçmasına ve tümör oluşumuna zemin hazırlar [218].

2.7.3. Anjiyogenez ve metastaz: Tümör ilerlemesinde temel süreçler

Anjiyogenez ve metastaz, malign tümörlerin ilerlemesi ve yayılımı açısından hayati iki biyolojik süreçtir. Anjiyogenez, yeni kan damarlarının önceden var olan damarlardan tomurcuklanarak oluştuğu fizyolojik bir süreçtir; ancak tümör gelişiminde patolojik bir şekilde aktive olur. Büyümekte olan bir tümör, 1–2 mm³ boyutun üzerine çıkabilmek ve hayatta kalmak için oksijen ve besin ihtiyacını karşılayacak yeni damar yapımını teşvik eder [219]. Tümör hücreleri, hipoksiye yanıt olarak hipoksi-indüklenebilir faktör-1 α (HIF-1 α) aracılığıyla vasküler endotelial büyüme faktörü (VEGF) gibi pro-anjiyogenik sitokinlerin ekspresyonunu artırır. Bu faktörler endotelial hücre proliferasyonunu ve yeni damar oluşumunu tetikler [220]. Metastaz ise primer tümörden ayrılan kanser hücrelerinin lenfatik veya dolaşım sistemi yoluyla uzak dokulara göç ederek yeni tümör odakları oluşturmasıdır. Bu süreç, epitelial-mezenkimal geçiş (EMT), hücre iskeleti yeniden yapılanması, matriks metalloproteinazların (MMP) aktivasyonu ve hücre adezyonunun bozulması gibi çok sayıda moleküler değişikliği içerir. Hücreler dolaşıma girdikten sonra "ekstravazasyon" adı verilen süreçle yeni dokuya yerleşir ve burada büyüyerek sekonder tümörü oluşturur. Anjiyogenez, aynı zamanda metastatik hücrelerin damar yoluyla taşınmasını da kolaylaştırarak metastazı destekleyen bir rol oynar. Bu iki süreç arasındaki sinerji, tümörlerin invaziv ve ölümcül doğasını büyük ölçüde açıklar [221].

2.8. Uçucu Yağlar

Uçucu yağlar, daha çok aromatik bitkilerin çiçek, yaprak, kök, tohum veya kabuk gibi kısımlarından buhar distilasyonu, soğuk presleme veya çözücü ekstraksiyonu gibi yöntemlerle elde edilen, genellikle renksiz veya soluk renkli, uçucu özellikteki kompleks doğal ürün karışımları ve sekonder metabolitlerdir [222]. Bu yağların temel bileşenleri arasında monoterpenler (limonen, pinen), seskiterpenler (β -karyofillen), fenilpropanoidler (öjenol, sinnamaldehit) gibi maddeler bulunur. Uçucu yağlar, bitkilerde antimikrobiyal,

antifungal, antiviral ve antioksidan savunma mekanizmalarında görev alır [223]. İnsan sağlığı açısından da, bu yağların özellikle antimikrobiyal, anti-inflamatuvar, anksiyolitik ve analjezik etkileri birçok çalışmada gösterilmiştir [224]. Uçucu yağlar hücre membranlarına kolayca penetre olabildikleri için, mikroorganizmalarda hücre duvarı ve membran bütünlüğünü bozarak antibakteriyel etki gösterirler [225]. Ayrıca oksidatif stresin yol açtığı hastalıkların önlenmesinde antioksidan aktiviteleri sayesinde önemli rol oynayabilirler. Ancak farmakolojik etkilerinin standardizasyonu ve güvenli doz aralıklarının belirlenmesi halen araştırma konusudur [224].

2.8.1. Uçucu yağların elde edilme yöntemleri

Uçucu yağların elde edilme yöntemleri, uçucu yağın miktarını, kalitesini ve kimyasal bileşimini doğrudan etkiler. Bu nedenle, kullanılan yöntem hem bitki türüne hem de hedeflenen bileşiklere göre dikkatle seçilmelidir [222,223].

Su buharı distilasyonu, uçucu yağların elde edilmesinde en yaygın kullanılan geleneksel yöntemdir. Bitki materyali klavenger cihazı kullanılarak, su buharı ile temas ettirilerek içeriğindeki uçucu bileşiklerin buharlaşması sağlanır. Buharla taşınan uçucu bileşikler, bir kondensatörde yoğunlaştırılarak ayrılır. Bu işlem sonunda su fazı ile yağ fazı ayrışır ve uçucu yağ elde edilir. Yöntemin avantajı, yüksek saflıkta ürün elde edilmesi ve geniş bitki yelpazesinde uygulanabilir olmasıdır. Ancak ısıya duyarlı bileşiklerin bozulma riski bulunmaktadır [226].

Soğuk presleme yöntemi özellikle narenciye türlerinin (örneğin portakal, limon, bergamot) kabuklarındaki uçucu yağların elde edilmesinde kullanılır. Bitki materyali mekanik olarak sıkılarak yağı serbest bırakılır. Yüksek sıcaklık uygulanmadığı için ısıya duyarlı bileşikler korunur. Ancak ekstrakte edilen ürün bazen diğer lipofilik bileşenleri de içerebilir [224,228].

Çözücü ekstraksiyonu yönteminde ise uçucu bileşikler, uçucu organik bir çözücü (örn. hekzan, etanol) ile ekstrakte edilir. Daha sonra çözücü buharlaştırılır ve geriye “konkret” (yarı katı öz) adı verilen yarı katı bir ürün kalır. Bu ürün alkolle işlenerek “absolute” (mutlak yağ) adı verilen saf uçucu yağ elde edilir. Bu yöntem, hassas veya az miktarda yağ içeren bitkiler için uygundur; ancak çözücü kalıntıları toksisite riski yaratabilir [222].

Süperkritik akışkan ekstraksiyon yüksek saflıkta ürün elde etmek için modern bir yöntemdir. Karbondioksit, süperkritik hale getirilerek çözücü olarak kullanılır. Uçucu bileşenlerin CO₂ içinde çözündürülmesiyle ekstraksiyon yapılır, ardından basınç

düşürülerek CO₂ ayrılır ve geride saf uçucu yağ kalır. Bu yöntem, çözücü kalıntısı bırakmaz ve ısıya duyarlı bileşiklerin korunmasını sağlar; ancak maliyeti yüksektir [229].

Mikrodalga destekli ekstraksiyon yönteminde bitki materyaline mikrodalga enerjisi uygulanarak hücre duvarları kırılır ve uçucu bileşiklerin serbest kalması sağlanır. Distilasyon süresini kısaltır ve enerji verimliliği sağlar. Bu yöntem hem kaliteyi artırabilir hem de çevresel sürdürülebilirliği destekleyebilir [230].

Enzimatik ekstraksiyon yönteminde bitki hücre duvarlarını parçalayan enzimlerin (örneğin selüloz, pektinaz) kullanımıyla uçucu bileşiklerin salınımı kolaylaştırılır. Yumuşak koşullar altında yapılması sayesinde uçucu bileşiklerin bozulması önlenabilir [231].

2.8.2. Uçucu yağlarla ilgili bazı farmakolojik çalışmalar

Uçucu yağlar, antimikrobiyal, antiinflamatuvar, antioksidan, analjezik, antikanser ve nöroprotektif gibi birçok farmakolojik etkiye sahip doğal bileşiklerdir. Bu etkiler, bileşenlerin kimyasal yapısına ve bitki türüne göre değişkenlik gösterir.

Uçucu yağlar, bakteriler, mantarlar ve bazı virüslere karşı etkili doğal antimikrobiyal ajanlar olarak öne çıkmaktadır. Özellikle *Thymus vulgaris* L. (kekik) yağı, yüksek oranda timol ve karvakrol içermesi nedeniyle *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* ve *Candida albicans* gibi patojenlere karşı güçlü antibakteriyel aktivite göstermektedir [223,225]. Benzer şekilde, çay ağacı yağı (*Melaleuca alternifolia*) özellikle gram-pozitif bakterilere karşı oldukça etkilidir [232].

Bazı uçucu yağlar, inflamatuvar sitokinlerin üretimini baskılayarak antiinflamatuvar etki gösterir. Örneğin, *Lavandula angustifolia* Mill. (lavanta) yağı, linalool ve linalil asetat içerikleri sayesinde COX-2 enzim aktivitesini baskılayarak inflamasyon üzerinde yatıştırıcı bir etki gösterir [233]. Ayrıca *Boswellia serrata* reçinesinden elde edilen yağların da NF-κB yolağını inhibe ettiği ve TNF-α seviyelerini düşürdüğü gösterilmiştir [234].

Uçucu yağlar, serbest radikalleri nötralize edici kapasiteleriyle dikkat çeker. Özellikle *Rosmarinus officinalis* L. (biberiye) yağı, rosmarinik asit ve karnozik asit gibi bileşenler sayesinde DPPH radikali temizleme kapasitesi açısından güçlü antioksidan aktivite gösterir [235]. Ayrıca *Origanum vulgare* L. (mercanköşk) uçucu yağı da fenolik içeriği sayesinde lipid peroksidasyonunu azaltıcı etki göstermiştir [232].

Bazı uçucu yağ bileşenlerinin, tümör hücrelerinin büyümesini baskılayıcı etkileri olduğu bildirilmektedir. Buhur ağacı (*Boswellia sacra*) yağı, insan mesane kanseri hücre

hatlarında apoptotik etki göstererek hücre proliferasyonunu inhibe etmiştir [236]. Ayrıca limon otu (*Cymbopogon citratus*) yağı da sitotoksik etkilerle, çeşitli kanser hücre hatlarında DNA hasarına neden olarak antikanser potansiyel göstermektedir [237].

Uçucu yağların merkezi sinir sistemi üzerindeki etkileri de araştırılmıştır. Lavanta yağı, farelerde yapılan çalışmalarda anksiyolitik ve antidepresan benzeri etkiler göstermiştir [238]. *Santalum album* (sandal ağacı) yağı ise gama-aminobutirik asit (GABA) reseptörleri üzerinden sakinleştirici etki göstermektedir [239].

Bazı bitkilerin uçucu yağları, ağrı algısını azaltmada doğal destek olarak kullanılmaktadır. Örneğin, *Eucalyptus globulus* yağı, lokal olarak uygulandığında nosiseptif ağrı üzerine baskılayıcı etki göstermiştir [240]. Karvakrol ve timol içeren yağların ise özellikle artrit modellerinde ağrı kesici etkileri rapor edilmiştir [241].

2.8.3. Uçucu yağların kullanım alanları

Uçucu yağlar, aromaterapi başta olmak üzere çok çeşitli alanlarda kullanılmaktadır. Bu kullanımlar; tıp, gıda, kozmetik, tarım ve ev temizlik ürünlerine kadar uzanır.

Uçucu yağlar, antimikrobiyal, antifungal, antiviral, antiinflamatuvar ve analjezik gibi etkileri nedeniyle tıp alanında da yaygın olarak kullanılmaktadır. Örneğin: Lavanta yağı (*Lavandula angustifolia*), anksiyete ve uyku bozukluklarında sakinleştirici etkisi nedeniyle aromaterapide tercih edilir [242]. Çay ağacı yağı (*Melaleuca alternifolia*), özellikle topikal olarak uygulandığında antibakteriyel ve antifungal özellikleri sayesinde akne tedavisinde ve cilt enfeksiyonlarında kullanılır [232]. Okaliptüs yağı (*Eucalyptus globulus*), solunum yolu enfeksiyonlarında balgam söktürücü olarak etkilidir [211].

Uçucu yağlar, doğal aroma verici ve mikrobiyal kontaminasyonu önleyici ajanlar olarak gıda sektöründe de kullanılmaktadır. Nane yağı (*Mentha piperita*) ve portakal yağı (*Citrus sinensis*) gibi yağlar, şekerleme ve içeceklerde aroma verici olarak yaygın kullanılır [223]. Ayrıca antimikrobiyal etkilerinden dolayı, kekik (*Origanum vulgare*) ve karanfil yağı (*Syzygium aromaticum*) gibi yağlar gıda koruyucu olarak da değerlendirilmektedir [243].

Uçucu yağlar, cilt ve saç bakım ürünlerinde hem koku hem de biyolojik aktivite açısından önemli rol oynar. Yasemin yağı (*Jasminum officinale*) ve gül yağı (*Rosa damascena*) gibi yağlar parfümlerde kullanılırken, argan yağı (*Argania spinosa*) ve biberiye yağı (*Rosmarinus officinalis*) saç ürünlerinde saç dökülmesini azaltıcı ve saç

büyümesini teşvik edici etkileriyle yer alır [244]. Çay ağacı yağı, diş macunu ve ağız gargaralarında da antimikrobiyal özelliği nedeniyle kullanılır [245].

Bitki korumada sentetik pestisitlerin yerine geçebilecek doğal alternatifler olarak uçucu yağlar araştırılmaktadır. Son yıllarda bitkisel ekstraktlar, uçucu yağlar, mikrobiyal biyopestisitler, allelokimyasal bileşikler ve biyopolimer temelli formülasyonlar, zararlılarla mücadelede etkili ve ekotoksikolojik açıdan daha güvenli seçenekler olarak öne çıkmaktadır. Özellikle *Achillea*, *Azadirachta indica*, *Rosmarinus officinalis*, *Thymus vulgaris* gibi türlerin içerdiği terpenoidler, fenolik bileşikler ve alkaloidler; antifungal, insektisidal ve repelant özellikleri sayesinde geniş bir kullanım alanı sunmaktadır. Biberiye ve kekik yağları, yaprak bitleri ve diğer tarım zararlılarına karşı doğal insektisit olarak kullanılmıştır [246]. Nane yağı, böcek kovucu etkisiyle organik tarımda dikkat çeker [247].

Doğal temizlik ürünlerinde uçucu yağlar, hem antimikrobiyal özellikleri hem de hoş koku profilleri sayesinde sentetik kimyasallara alternatif olarak giderek daha fazla tercih edilmektedir. Limon, çay ağacı, lavanta, okaliptüs, nane ve biberiye yağları, bakteri, mantar ve bazı virüs türlerine karşı güçlü inhibitör etki göstererek yüzey temizleyiciler, çamaşır deterjanları ve oda spreyleri gibi ürünlerde doğal bir dezenfeksiyon bileşeni olarak kullanılmaktadır. Bu yağların içerdiği monoterpenler, fenolik bileşikler ve aldehitler hem temizlik etkinliğini artırır hem de taze ve doğal bir aroma sağlar. Ayrıca uçucu yağların çevre dostu, biyolojik olarak kolay parçalanabilir yapıları, toksik kalıntı bırakmama özellikleri ve düşük insan sağlığı riski, sürdürülebilir temizlik uygulamalarına önemli katkı sunmaktadır. Bununla birlikte, uçucu yağların yüksek konsantrasyonlarda irritasyona neden olabileceği göz önünde bulundurularak uygun seyreltme oranlarının kullanılması ve kaliteli, saf yağların tercih edilmesi ürün güvenliği açısından kritik önem taşımaktadır. [248].

2.9. Fenolik Bileşikler

Fenolik bileşikler, bitkilerde yaygın olarak bulunan ve yapılarında bir veya daha fazla hidroksil grubu içeren aromatik halkalara sahip geniş bir fitokimyasal sınıftır. Bu bileşikler, özellikle flavonoidler, fenolik asitler, tanenler ve lignanlar gibi alt gruplarıyla bitkilerin savunma mekanizmalarında kritik rol oynar. Fenolik bileşiklerin güçlü antioksidan özellikleri, serbest radikallerin nötralizasyonu ve oksidatif stresin azaltılmasıyla ilişkilendirilmiş olup aynı zamanda antiinflamatuvar, antimikrobiyal ve antikanser gibi çeşitli biyolojik aktivitelere de katkı sağladıkları bilinmektedir. Bu nedenle

fenolik bileşikler, hem geleneksel tıpta hem de modern farmasötik araştırmalarda önemli bir doğal biyoreaktif kaynak olarak değerlendirilmektedir [249].

2.9.1. Fenolik bileşiklerin sınıflandırılması

2.9.1.1. Fenolik asitler

Fenolik asitler, bitkilerde yaygın olarak bulunan, basit aromatik yapılar taşıyan fenolik bileşiklerdir. Bu bileşikler, yapılarında bir benzen halkasına bağlı en az bir karboksilik asit grubu içermektedir. Genellikle iki ana gruba ayrılırlar: hidroksibenzoik asit türevleri (örnek; galik asit, protokateşuik asit) ve hidroksisinamik asit türevleri (örnek; kafeik asit, ferulik asit, sinapik asit) [250,251]. Hidroksibenzoik asitler genellikle çay, kırmızı şarap ve bazı meyvelerde bulunurken, hidroksisinamik asitler kahve, kepekli tahıllar ve bazı sebzelerde daha yaygındır [252]. Bu bileşikler güçlü antioksidan özellikleriyle dikkat çekerler. Reaktif oksijen türlerini (ROT) nötralize ederek hücrel hasarı önleyebilir ve böylece yaşlanma sürecini yavaşlatabilir, kanser, diyabet ve kardiyovasküler hastalıklar gibi oksidatif stresle ilişkili hastalıkların gelişimini engelleyebilirler [253,254]. Örneğin, kafeik asit hem antikanser hem de antimikrobiyal etkileriyle deneysel çalışmalarda umut vadetmektedir [255]. Ayrıca fenolik asitler inflamasyon baskılayıcı etkiler de gösterebilirler. Bu nedenle doğal antiinflamatuvar ajanlar olarak farmasötik ürünlerde araştırılmaktadırlar [256]. Fenolik asitlerin biyoyararlanımı, yani sindirim sisteminden emilerek kana karışma potansiyeli, yapılarına ve bağlandıkları moleküllere bağlı olarak değişiklik gösterirler. Serbest formları genellikle daha kolay emilirken, bağlı formları bağırsak mikrobiyotası tarafından parçalanarak aktif hale gelirler [257].

2.9.1.2. Flavonoidler

Flavonoidler, bitkisel gıdalarda yaygın olarak bulunan ve bitkilere renk, aroma ve tat kazandıran, polifenol yapısındaki ikincil metabolitlerdir. Temel yapıları iki aromatik halka (A ve B) ve aralarındaki üç karbonlu köprüden (C halkası) oluşur. Bu yapısal iskelet flavonoidleri farklı alt sınıflara ayırır; flavonlar, flavonoller, flavanoller (kateşinler), flavanonlar, izoflavonlar ve antosiyaninler [258].

Flavonoidler özellikle sebze, meyve, çay, kırmızı şarap ve kakao gibi gıdalarda bolca bulunurlar. Örneğin, quercetin soğan ve elmada, kemferol lahana ve ıspanakta, epikateşin

ve kateşin ise çayda majör bileşenlerdendirler. Antosiyaninler ise üzüm, böğürtlen ve kiraz gibi koyu renkli meyvelerde yer alır ve bitkilere mor, kırmızı, mavi tonlarını verirler [259].

Flavonoidler, antioksidan, antiinflamatuvar, antikanser, antimikrobiyal, antiviral ve nöroprotektif etkileriyle dikkat çeker. Antioksidan etkileri sayesinde serbest radikalleri nötralize eder, lipid peroksidasyonunu engeller ve oksidatif stresle mücadele ederler [260]. Örneğin, quercetin ve rutin gibi flavonoidler, inflamatuvar mediatörleri inhibe ederek sitokin üretimini azaltır ve bağışıklık sistemini düzenlerler [261]. Ayrıca izoflavonlar (özellikle soya kaynaklı genistein) östrojen benzeri yapıdadır ve menopoz semptomlarının hafifletilmesinde, kemik sağlığında ve hormonla ilişkili kanserlerin önlenmesinde potansiyel rol oynarlar [262].

Flavonoidlerin biyoyararlanımı ise yapısal farklılıklara ve bağırsak mikrobiyotası tarafından metabolize edilebilme durumuna göre değişiklik gösterirler. Glikozid formundaki flavonoidler ince bağırsakta enzimatik olarak aglikon formuna dönüştürülerek emilirler. Ancak, bazı flavonoidlerin emilimi düşük olup bağırsak mikrobiyotası tarafından daha aktif metabolitlere dönüştürülerek etkili hale gelirler [263].

2.9.1.3. Stilbenoidler

Stilbenoidler, fenolik bileşikler grubuna ait doğal bitki sekonder metabolitleri olup, temel yapıları iki aromatik halka arasında yer alan 1,2-difeniletilen iskeletine dayanır. Bu yapı, stilbenoidlerin yapısal çeşitliliğini ve biyolojik aktivitelerini belirler [264]. Bu bileşikler genellikle üzüm, yaban mersini, yerfıstığı, çam reçinesi, kırmızı şarap gibi gıdalarda ve bitkisel kaynaklarda bulunur. En iyi bilinen stilbenoid ise resveratrol'dür (3,5,4'-trihidroksistilben), özellikle *Vitis vinifera* (sofra ve şaraplık üzüm) kabuğunda, ayrıca kırmızı şarapta önemli miktarda bulunur [265].

Başlıca stilbenoid türleri şöyledir; trans-resveratrol ve cis-resveratrol, piceatannol, pterostilben, astringin, viniferin (resveratrol dimeri), izohapontigenin. Her bir stilbenoidin yapısında hidroksil, metoksi veya glikozidik grupların bulunması, biyolojik aktivitelerini ve çözünürlük özelliklerini etkiler [266].

Stilbenoidler birçok önemli farmakolojik özelliğe sahip olup bunlardan bazıları şöyledir;

- Antioksidan: Serbest radikalleri nötralize ederek hücre hasarını azaltırlar. Resveratrol, lipid peroksidasyonunu ve oksidatif DNA hasarını önlemektedirler [267].

- Antikanser: Hücre döngüsünü durdurarak ve apoptotik yolları aktive ederek tümör gelişimini engellediği gösterilmiştir. Resveratrol, kolon, meme, prostat ve akciğer kanseri hücrelerinde antiproliferatif etki göstermiştir [268].
- Kardiyoprotektif: Düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) oksidasyonunu engelleyerek ateroskleroz riskini azaltır [265].
- Antiinflamatuvar: NF- κ B gibi enflamasyonla ilişkili sinyal yollarını baskılayarak inflamatuvar mediatörlerin üretimini azaltır [269].
- Nöroprotektif: Alzheimer ve parkinson gibi hastalıklarda, amiloid-beta birikimini ve nörotoksisiteyi azaltıcı etkileri gözlemlenmiştir [268].

Stilbenoidlerin emilimi yüksek olsa da biyoyararlanımları düşüktür. İnce bağırsakta glukuronidasyon ve sülfatlama gibi metabolik süreçlerle hızla dönüştürülürler. Bu durum, plazmada serbest resveratrol seviyesinin düşük olmasına neden olur. Bu nedenle türev bileşikler veya taşıyıcı sistemler (örn. nanopartiküller) üzerinde çalışmalar yürütülmektedir [270].

2.9.1.4. Lignanlar

Lignanlar, fenilpropanoid yapısına sahip, bitkilerde bulunan bir grup polifenolik bileşiklerdir. Temel olarak iki fenilpropanoid (C6–C3) biriminin oksidatif dimerizasyonu ile oluşurlar. Bu bileşikler, bitkilerde çoğunlukla lignan glikozitleri şeklinde bulunur ve enterolakton ile enterodiol gibi mikrobiyal türevleri insan bağırsağında oluşur [271]. Lignanların temel yapısı, genellikle β – β' bağlarıyla birleşmiş iki fenilpropanoid biriminden oluşur. Yapılarındaki hidroksil, metoksi ve glikozil gruplarına göre farklı lignan tipleri tanımlanmıştır. Başlıca lignan sınıfları şunlardır [272]; ariltetralin lignanlar (örn. podofillotoksin), arilnaftalin lignanlar, furofuran lignanlar (örn. sesamin, sesamolin), furan lignanlar, dibenzilsiklo-oktan lignanlar, enterolakton ve enterodiol (insan bağırsaklarında oluşan lignan türevleri).

Lignanlar; keten tohumu (*Linum usitatissimum*), susam (*Sesamum indicum*), tam tahıllar, çilek, çay ve bazı sebzeler (brokoli, havuç) gibi birçok bitkisel kaynaktan bulunur. Keten tohumu en zengin lignan kaynağıdır ve özellikle sekoizolarisirezanol diglikozit (SDG) içerir [273].

Lignanların sağlık üzerinde çeşitli koruyucu etkileri olduğu gösterilmiştir:

- *Antikanser Etkiler*: Enterolakton ve enterodiol gibi bağırsakta oluşan lignan türevleri, östrojen reseptörlerini bağlayarak meme, prostat ve kolon kanseri riskini azaltıcı etkiler göstermişlerdir [271,274].
- *Antioksidan Etki*: Lignanlar, serbest radikal temizleyici özellikleriyle oksidatif stresi azaltarak hücreleri DNA hasarından korurlar [275].
- *Kardiyovasküler Koruma*: Keten tohumu lignanlarının LDL kolesterolü düşürdüğü ve damar sertliğini önleyici etkileri olduğu bildirilmiştir [276].
- *Antiinflamatuvar Aktivite*: NF-κB yolaklarını inhibe ederek enflamasyon belirteçlerini baskıladıkları gösterilmiştir [277].

Bitki lignanları, gastrointestinal sistemde bağırsak mikroflorası tarafından metabolize edilerek enterolakton ve enterodiol gibi enterolignanlara dönüştürülürler. Bu türevlerin biyolojik etkileri, bireyin bağırsak mikrobiyotasına bağlı olarak değişkenlik gösterir [278].

2.9.1.5. Tanenler

Tanenler, polifenolik yapıya sahip, suyla çözünebilen ve proteinlerle kompleks oluşturabilen sekonder metabolitlerdir. Bitkilerde yaygın olarak bulunurlar ve savunma, büyüme ve hücre duvarı stabilizasyonunda görev alırlar. Kimyasal yapıları gereği güçlü antioksidan ve antimikrobiyal özellikler sergilerler [279].

Tanenler, yüksek moleküler ağırlıklı polifenoller olup, çok sayıda hidroksil grubu içerirler. Bu gruplar sayesinde protein, alkaloid, jelatin ve metal iyonlarıyla kompleks oluşturabilirler. Bu özellikleri nedeniyle büzücü (astrenjan) etki gösterirler [280].

Tanenler başlıca iki ana gruba ayrılır:

a) *Hidrolizlenebilir Tanenler*: Bu grup, galik asit veya ellagik asit türevlerinin glikoz gibi bir çekirdek moleküle ester bağı ile bağlanmasıyla oluşur. Asit, baz ya da enzim etkisiyle kolayca parçalanabilirler. Örnekler: Gallotanenler (ör. gallik asit içerirler) ve ellagitannenler (ör. punikalagin, ellagik asit) [281].

b) *Kondense Tanenler*: Flavonoid birimlerinin (genellikle flavan-3-ol) kondensasyonu sonucu oluşurlar. Asit hidroliziyle antosiyanidin pigmentlerine dönüşebilirler. Doğada en yaygın tanen tipidir. Örnekler: Kateşin ve epikateşin oligomerleri, çam kabuğu ve üzüm çekirdeği ekstraktlarında bolca bulunurlar [282]. Kondanse tanenler ayrıca; Meşe kabuğu, çay, üzüm kabuğu ve çekirdeği, nar, ceviz, hurma ve bazı baklagillerde yaygın olarak bulunurlar [283].

Tanenlerin biyolojik ve farmakolojik etkileri şöyledir:

- *Antioksidan Aktivite*: Tanenler, serbest radikalleri nötralize ederek hücresel hasarı önler. Özellikle proantosiyanidinler güçlü antioksidan bileşiklerdir [284].
- *Antimikrobiyal Etki*: Tanenler, bakteri ve mantar hücre duvarlarını etkileyerek mikrobiyal gelişimi baskırlar [285].
- *Antienflamatuvar Etki*: Sitokin üretimini baskılayarak enflamatuvar yanıtı azaltabilirler [281].
- *Antikanser Potansiyel*: Özellikle ellagitannenlerin, çeşitli kanser hücre hatlarında proliferasyonu baskıladığı gösterilmiştir [286].
- *Sindirim Düzenleyici Etki*: Proteinlerle kompleks oluşturup sindirim sistemini düzenleyebilir, aynı zamanda ishal kesici etki gösterirler [280].

2.10. Moleküler Docking

Yeni terapötik ajanların geleneksel yöntemlerle keşfi, yüksek maliyetli ve zaman alıcı bir süreçtir. Bu nedenle, son yıllarda ilaç keşfi ve geliştirme süreçlerinde hem deneysel yaklaşımlar hem de hesaplamalı modelleme teknikleri giderek daha fazla önem kazanmaktadır. Bu hesaplamalı yaklaşımlardan biri olan moleküler kenetlenme (moleküler docking) yöntemi, biyolojik hedeflerle etkileşime girebilecek potansiyel ligandların belirlenmesinde kritik rol oynamaktadır. Milyonlarca bileşiğin her birinin ayrı ayrı *in vitro* koşullarda test edilmesi pratikte mümkün olmadığından, docking çalışmaları, yüksek bağlanma afinitesi ve özgüllük gösterme olasılığı yüksek olan aday bileşiklerin öncelikli olarak seçilmesine olanak tanıyarak erken aşama ilaç keşif sürecinin verimliliğini artırmaktadır [287,288].

Moleküler docking, bir ligandın hedef biyomolekül (genellikle bir protein) ile nasıl ve ne şekilde bağlandığını öngörmek amacıyla kullanılan hesaplamalı bir yöntemdir. Bu teknik, ligand ve reseptör arasında en uygun bağlanma konumunu ve afinitesini belirlemeye çalışır. Süreç genellikle "anahtar-kilit" modeliyle açıklanır; burada protein kilidi temsil ederken, ligand anahtar olarak değerlendirilir. Doking analizi, hedef proteindeki aktif bölgelere ligandın (örneğin substrat, inhibitör veya aday ilaç molekülü) en uygun bağlanma konumlarını ve konformasyonlarını tahmin eder. Böylece potansiyel ilaç adaylarının biyolojik hedefle etkileşim düzeyi belirlenerek, deneysel testlere yön verilir [287].

Moleküler docking çalışmalarında, bir proteinin ligand ile etkileşim kurduğu bölge genellikle "bağlanma bölgesi" ya da "aktif bölge" olarak tanımlanır. Bu bölge, çoğunlukla

proteinin yüzeyinde bulunan ve kristal yapısı bilinen proteinlerde önceden belirlenmiş inhibitör veya doğal substratın bağlandığı boşluklar olarak tanımlanabilir. Ancak, protein-ligand etkileşimlerinin modellenmesinde "bağ" terimi yerine "ligandın bağlanma modu" ya da "pozisyonu" gibi ifadelerin kullanılması daha doğrudur. Zira bağlanma bölgesi ifadesi, ligandın belirli bir üç boyutlu konformasyonu ve konumunu tanımlayan geometrik bir kavramdır; yani ligandın proteine nasıl ve nerede yerleştiğini gösterir, doğrudan bir kimyasal bağ oluşumundan ziyade, olası bağlanma şekillerinin hesaplanmasına odaklanır [288,289].

Moleküler docking, ligand ve hedef biyomolekül arasındaki bağlanma afinitesini ve etkileşim enerjilerini hesaplayarak, bu iki bileşenin en olası bağlanma konformasyonunu tahmin etmeyi amaçlayan bir *in silico* tekniktir. Rijid docking yaklaşımlarında, hedef proteinin aktif bölgesindeki amino asit yan zincirleri sabit kabul edilirken, ligand serbestçe dönebilir, bükülebilir ve titreşebilir; bu sayede hedef bölgeyle hidrojen bağları, van der Waals kuvvetleri ve elektrostatik etkileşimler gibi non-kovalent bağlar kurabilir. Buna karşılık, indüklenmiş uyum yerleştirme (IFD) gibi daha gelişmiş modeller, ligandın bağlanma sürecinde hedef proteinin konformasyonunda meydana gelebilecek esneklikleri de dikkate alır. Bu yöntem, aktif bölgedeki amino asitlerin birkaç angström düzeyinde yer değiştirmesine izin vererek, daha gerçekçi bağlanma senaryoları oluşturur [290,291].

Tipik bir moleküler docking analizinde, hedef proteinin aktif bölgesi üç boyutlu uzayda grid hücrelerine ayrılır. Ligand molekülü, bu grid üzerinde hareket ettirilerek, her konumda aktif bölgedeki atomların kısmi yükleri ile ligand arasındaki elektrostatik ve van der Waals etkileşim enerjileri hesaplanır [292]. Elde edilen bu enerji verileri, docking algoritmasına bağlı olarak farklı matematiksel modeller kullanılarak toplam bağlanma enerjisine dönüştürülür; bu işleme skorlama denir. Docking skoru, ligandın hedef proteine bağlanma afinitesini yansıtan niceliksel bir değerdir ve farklı docking programları değişik skorlama fonksiyonları uygular. İlaç keşfi çalışmalarında, uygun docking ve skorlama fonksiyonlarının seçimi, hedef proteinin yapısal özellikleri, ligandın kimyasal yapısı ve taranacak bileşiklerin sayısı gibi faktörlere bağlıdır [288,292].

Moleküler docking, bilgisayar destekli ilaç tasarımının temel bileşenlerinden biri olup, ilaç geliştirme sürecinde kritik bir rol oynar. Günümüzde bu amaçla birçok farklı yazılım aracı kullanılmaktadır. Docking yöntemleri sayesinde, yeni terapötik bileşiklerin tasarımı, sentezi ve optimizasyonu mümkün hale gelirken, aynı zamanda çeşitli enzimlerin ve biyomoleküllerin moleküler düzeyde etkileşim mekanizmaları detaylı biçimde

incelenabilmektedir. Bu teknolojik yaklaşım, özellikle kronik hastalıkların tedavisinde etkili yeni ilaç adaylarının keşfi ve geliştirilmesinde yaygın şekilde uygulanmaktadır [293].

2.11. Farmakolojik Gen Ağ (Network) Analizi

Farmakolojik gen ağ (gene network) analizi, belirli bir biyolojik sistemde ilaçların etkilediği genlerin etkileşimlerini ortaya koymayı amaçlayan bir sistem biyolojisi yaklaşımıdır. Bu analiz, ilaçların etkisini sadece hedeflenen bir gen veya protein düzeyinde değil, aynı zamanda hücresel işlevleri yöneten tüm genetik ağlar düzeyinde anlamayı mümkün kılar. Gen ekspresyon profilleri, biyoinformatik araçlar ve veritabanları kullanılarak oluşturulan gen ağları sayesinde, bir ilacın doğrudan veya dolaylı olarak etkilediği yollar, gen grupları ve biyolojik süreçler belirlenebilir [294].

Bu yöntem, özellikle çok hedefli ilaç tasarımı, mevcut ilaçların yeni hastalıklar için kullanımı ve yan etki tahmini gibi alanlarda kullanılmaktadır. Aynı zamanda gen ağlarının topolojik özelliklerinin incelenmesi ile, biyolojik sistemde “hub” rolü oynayan ve potansiyel terapötik hedef olabilecek genler tanımlanabilir. Gen ağ analizleri, genellikle Gen Ontolojisi (GO) analizi, KEGG yolak analizi ve protein-protein etkileşim (PPI) ağları gibi yöntemlerle entegre bir şekilde yürütülür [295].

Özellikle kanser, nörodejeneratif hastalıklar ve otoimmün bozukluklar gibi kompleks hastalıkların tedavisinde, gen ağı temelli farmakolojik analizler, ilaçların sistemsel etkilerini daha doğru öngörmeye olanak sağlamaktadır. Bu bağlamda, geleneksel hedef odaklı yaklaşımların aksine, gen ağları üzerinden yapılan analizler sayesinde sistem düzeyinde etkili ve daha az yan etki gösteren yeni farmasötik bileşikler geliştirilebilmektedir [296].

2.11.1. Uygulama alanları

Farmakolojik gen ağ analizi, ilaçların biyolojik sistemler üzerindeki etkilerini sistematik bir şekilde değerlendirmek amacıyla genler arasındaki etkileşimleri inceleyen çok disiplinli bir yaklaşımdır. Bu analiz, gen ekspresyonu, proteomik veriler ve biyolojik yollar gibi çok katmanlı biyolojik bilgileri entegre ederek, hastalıkların moleküler düzeyde anlaşılmasını ve potansiyel ilaç hedeflerinin belirlenmesini sağlar [295].

2.11.1.1. Yeni ilaç hedeflerinin belirlenmesi

Farmakolojik gen ağları, bir hastalıkla ilişkili gen kümeleri arasındaki bağlantıları analiz ederek, daha önce tanımlanmamış ancak hastalığın patofizyolojisinde rol oynayan

genleri ortaya çıkarabilir. Bu genler, potansiyel ilaç hedefleri olarak değerlendirilebilir. Ağların merkezinde yer alan "hub" genler, sistemin bütünlüğü açısından kritik olduğundan, bu genlerin hedeflenmesi yüksek etki potansiyeline sahip tedavilere yol açabilir [297].

2.11.1.2. Polifarmakoloji ve çok hedefli ilaç tasarımı

Geleneksel ilaç tasarımında genellikle tek bir hedefe odaklanılırken, farmakolojik gen ağ analizleri sayesinde birden fazla hedefe yönelik ilaç geliştirme mümkün hale gelmiştir. Bu sayede, özellikle kompleks ve çok faktörlü hastalıklarda (alzheimer, kanser, diyabet) birden fazla yolakta etkili ajanlar tasarlanabilir [298].

2.11.1.3. İlaç yeniden konumlandırma

Var olan ilaçların farklı hastalıklar için yeniden değerlendirilmesi, ilaç geliştirme sürecinde zaman ve maliyet avantajı sağlar. Gen ağ analizleri, farklı hastalıklarda benzer genetik ağ örüntülerini veya ortak hub genleri tanımlayarak, mevcut ilaçların başka hastalıklarda da etkili olup olamayacağını öngörebilir [299].

2.11.1.4. İlaç direncinin mekanizmalarının aydınlatılması

Kronik hastalıklarda veya kanserde ilaç direnci sık karşılaşılan bir problemdir. Gen ağları üzerinden yapılan analizler, direnç gelişiminde rol oynayan genetik değişiklikleri ve alternatif sinyal yollarını tespit ederek, bu sorunun üstesinden gelinmesine yardımcı olabilir. Özellikle hedef dışı etkilerin, yan yollarla oluşan direnç mekanizmalarının ortaya çıkarılması bu yöntemle mümkündür [300].

2.11.1.5. Yan etkilerin tahmini ve güvenlik değerlendirmesi

İlaçların sadece hedef proteinlerle değil, aynı zamanda çok sayıda off-target (hedef dışı) molekülle etkileşebildiği bilinmektedir. Gen ağ analizleri, bu off-target etkileşimleri tanımlayarak, potansiyel yan etkilerin önceden tahmin edilmesine olanak tanır. Böylece daha güvenli ilaçların geliştirilmesi mümkün hale gelir [301].

2.11.1.6. Bireyselleştirilmiş tıp uygulamaları

Genomik verilerin ağ analiziyle entegre edilmesi, hastaya özel genetik profilin oluşturulmasını sağlar. Bu sayede bireyselleştirilmiş tedavi yaklaşımları geliştirilebilir. Örneğin, aynı kanser türüne sahip iki farklı bireyde farklı genetik mutasyonlar söz konusu

olabilir. Gen ağ analizleriyle bu farklar belirlenerek, her hastaya özel tedavi protokolleri oluşturulabilir [302].

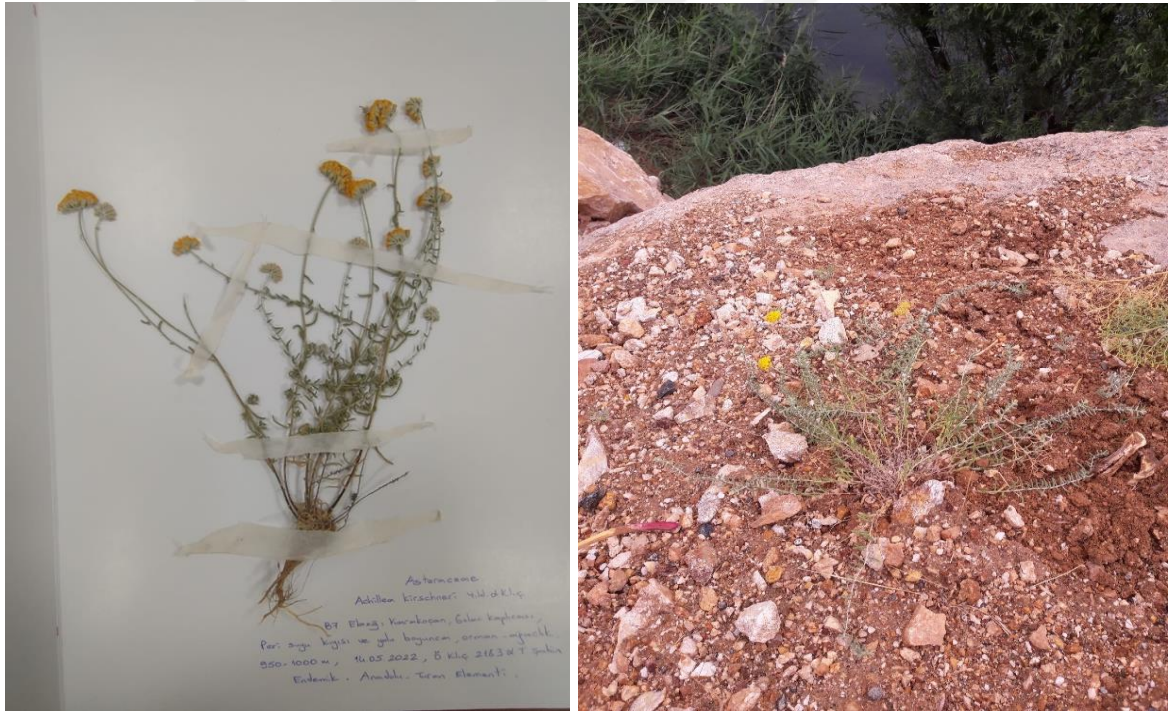


3. GEREÇ ve YÖNTEM

3.1. Bitki Materyali

Arazi çalışmaları Prof. Dr. Ömer Kılıç (danışman) ve Dr. Öğrencisi Talip Şahin tarafından gerçekleştirildi. *Achillea kirschneri* bitkisi Elazığ-Karakoçan, Golan kaplıcası,

Peri suyu kıyısı ve yolu boyunca, orman, ağaçlık, 1000-1100 m rakımda, 2023 haziran ayında habitatından toplandı. Arazi çalışmalarında herbaryum materyalinin toplanmasının yanı sıra, kimyasal ve aktivite çalışmaları için de bitkinin toprak üstü kısımları toplandı. Bitki örneği, kimyasal bileşimini ve miktarının en iyi belirlenebileceği dönem olan bitkilerin tam olarak çiçek açtığı dönemde elde edildi. Bitki herbaryum tekniklerine göre preslendi, kurutuldu ve bilgileri not edildi. *A. kirschneri* taksonomist hocalar Prof. Dr. Ömer Kılıç ve Prof. Dr. Şinasi Yıldırım tarafından teşhis edildi. Daha sonra bitkinin herbaryum örneği hazırlandı. Herbaryum örneği Adıyaman Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Botanik Anabilim dalında ÖK-2163 numaralı kayıt ile bulunmaktadır. Bitkinin herbaryum örneği ile habitatındaki fotoğrafı Şekil 3.1’de görülmektedir. Bitkinin diğer herbaryum örnekleri ise Prof. Dr. Şinasi Yıldırım’ın Ankara-Sincan’da bulunan özel herbaryumunda bulunmaktadır.



Şekil 3.1. *A. kirschneri* herbaryum örneği (solda) ile habitatındaki görüntüsü (Foto: T. Şahin).

3.2. Kullanılan Cihazlar

- Rondo (Premier)
- Rotary evaporatör (Heidolph VV 2000)
- Spektrofotometre (Shimadzu UV-1601)

- Hassas teraziler (SBC 31 (Scaltec))
- Kaba terazi (Mettler)
- Mikro plaka okuyucu (EPOCH, Biotek)
- Santrifüj (Hettich Universal 320)
- CO₂'li inkübatör (MCO-19AIC (UV))
- İnvert mikroskop
- -80 0C ve -20 0C dondurucu buzdolapları
- Su banyosu (GFL 1083)
- Laminar kabin (Class II Biosafety Cabinet, ESCO)
- Vorteks (Ika MS2 Minishaker)
- Etüv (Binder)
- Ependorf tüp (0.5-2 ml)
- Falcon tüp (15-50ml)
- 96'lı well plate
- Steril petri kabı
- 25 cm²'lik steril flask
- 0.44 µm'lik steril filtre
- 5 ml'lik steril enjektör
- Mikro pipetler (5-5000 µl)
- UV-Visible Spektrofotometre (Shimadzu BioSpec-1601)
- GC-MS QP 2010SE (Kyoto, Japan)
- HPLC (Agilent 1260 İnfinity I)
- pH-metre (Henna)

3.3. Kimyasal Maddeler, Çözücüler ve Çözeltiler

Çalışmada kullanılan 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH), askorbik asit, derişik HCl, 2,4,6-tris(2-pridil)-s-triazin (TPTZ), FeCl₃ · 6H₂ O, FeSO₄ · 7H₂ O, NaCH₃ COO · 3H₂ O, glasiyel asetik asit, CuCl₂ · 2H₂ O, amonyum asetat (NH₄ Ac), 2,9-dimetil-1,10-fenantrolin (neokuproin, Nc), (±)-6-Hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilik asit (troloks), sodyum karbonat (Na₂ CO₃), gallik asit, Folin-Ciocalteu fenol reaktifi (FCR), tris-base, asetilkolinesteraz enzimi, 5,5'-ditiyobis-(2-nitrobenzoik asit) (DTNB), asetil tiyokolin iyodür, EDTA (etilendiamin tetraasetik asit), Na₂ HPO₄ , lityum klorür (LiCl),

üreaz enzimi, üre, fenol, sodyum nitroprusid, sodyum hidroksit ve sodyum hipoklorit Sigma-Aldrich Chemie GmbH (Steinheim, Almanya) firmasından temin edildi. Metanol, kloroform ve petrol eteri ise Merck KGaA (Darmstadt, Almanya) firmasından temin edildi. Kullanılan tüm kimyasallar ve çözücüler analitik saflıkta ($\% \geq 99$) idi. Hücre kültürü deneylerinde Dulbecco's Modified Eagle's Medium (DMEM), Phosphate Buffered Saline (PBS) ve Fetal Bovine Serum (FBS) (Hyclone), Dimetilsülfoksit (DMSO) ve MTT (3-[4,5-dimetiltiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazolium bromid) kullanıldı.

3.4. Bitki Ekstrelerinin Hazırlanması

Achillea kirschneri bitkisinin toprak üstü bölümlerinden petrol eteri, kloroform ve metanol ekstraktları (Şekil 3.2) hazırlandı. Bitkinin toprak üstü kısımları toplanıp soğuk suda hafif bir yıkamadan sonra güneş ışığı görmeyecek şekilde, nemsiz ortamda kurumaya bırakıldı. Kurutma işleminden sonra 100 g bitki rondo yardımıyla küçük parçacıklara dönüşüncüye kadar öğütüldü. Öğütülen örnekler ilk önce petrol eteri ile maserasyona bırakıldı. Örnekler belirli aralıklarla çözücülerini değiştirilerek renksiz oluncaya kadar maserasyon işlemine tabi tutuldu. Kloroform ve metanol ile muamelede de aynı işlem uygulandı. Çözücüsü rotary evaporatörde 50°C'yi aşmayan ısıda uçurularak elde edilen ekstraktlar analizlerde kullanılmak üzere buzdolabında muhafaza edildi [303].



Şekil 3.2. *A. kirschneri* bitkisinin petrol eteri, kloroform ve metanol ekstraktları

3.5. Çözeltilerin Hazırlanması

3.5.1. DPPH serbest radikali giderme kapasitesinde kullanılan çözeltiler

- 0,1 mM DPPH çözeltisinin hazırlanması: 0,0099 g DPPH hassas terazide tartıldı, bir miktar metanol içerisinde çözöldü ve 250 mL'lik balonjojeye aktarıldı. Daha sonra balonjoje metanol ile işaret çizgisine kadar tamamlanarak 0,1 mM'lık stok çözelti elde edildi.
- Askorbik asit çözeltisinin hazırlanması: 0,005 g askorbik asit tartıldı, az miktarda saf su içerisinde çözöndü ve 5 mL'lik balonjojeye aktarıldı. Balonjoje saf su ile hacim çizgisine kadar tamamlanarak askorbik asit çözeltisi hazırlandı.

3.5.2. Demir (III) iyonu indirgeyici antioksidan kapasite yönteminde kullanılan çözeltiler

- 40 mM HCl çözeltisinin hazırlanması: %37'lik derişik HCl'den 820 µL alınarak 250 mL'lik balonjojeye eklendi ve distile su ile işaret çizgisine kadar tamamlanarak 40 mM HCl çözeltisi hazırlandı.
- 10 mM TPTZ çözeltisinin hazırlanması: 0,3120 g TPTZ tartılarak 100 mL 40 mM HCl içerisinde, 50 °C'deki su banyosunda tamamen çözöölünceye kadar bekletildi.
- 20 mM FeCl₃·6H₂O çözeltisinin hazırlanması: 1,35 g FeCl₃ ·6H₂ O tartılarak bir miktar distile suda çözöldü ve 250 mL'lik balonjojeye aktarılıp hacim çizgisine kadar distile su ile tamamlandı.
- 1 mM FeSO₄·7H₂O çözeltisinin hazırlanması: 0,00695 g FeSO₄ ·7H₂ O tartıldı, az miktarda distile suda çözöldü ve 25 mL'lik balonjojede işaret çizgisine kadar distile su ile tamamlandı.
- 300 mM asetat tamponu (pH 3,6) çözeltisinin hazırlanması: 3,1 g NaCH₃ COO·3H₂ O tartılarak 600 mL distile suda çözöldü. Daha sonra üzerine uygun miktarda glasiyel asetik asit eklenerek pH 3,6'ya ayarlandı ve son hacim 1 L olacak şekilde distile su ile tamamlandı.

3.5.3. Bakır (II) iyonu indirgeyici antioksidan kapasite tayininde kullanılan çözeltiler

- 10 mM bakır (II) çözeltisi hazırlanması: 0,00426 g CuCl₂ ·2H₂ O tartıldı, bir miktar distile suda çözöldü ve 25 mL'lik balonjojede hacim çizgisine kadar distile su ile tamamlandı.
- 1,0 mM amonyum asetat (NH₄Ac) çözeltisinin hazırlanması: 1,927 g NH₄ Ac tartılarak bir miktar distile suda çözöldü ve 25 mL'lik balonjojeye aktarılıp hacim çizgisine kadar tamamlandı.

- 7,5 mM neokuproin (Nc) çözeltisinin hazırlanması: 0,039 g neokuproin tartıldı, bir miktar etanol içerisinde çözöldü ve 25 mL’lik balonjojede işarec çizgisine kadar etanol ile tamamlandı.
- 1 mM (±)-6-Hidroksi-2,5,7,8-tetrametilkroman-2-karboksilik asit (troloks) çözeltisinin hazırlanması: 0,0063 g troloks tartıldı, az miktarda etanolde çözöldü ve 25 mL’lik balonjojede hacim çizgisine kadar etanol ile tamamlandı.

3.5.4. Toplam fenolik madde miktarı tayinininde kullanılan çözeltiler

- %2’lik sodyum karbonat (Na_2CO_3) çözeltisinin hazırlanması: 1 g Na_2CO_3 tartıldı, bir miktar distile suda çözöldü ve 100 mL’lik balonjojeye aktarıldı. Daha sonra balonjoje distile su ile işarec çizgisine kadar tamamlanarak %2’lik Na_2CO_3 çözeltisi elde edildi.
- Gallik asit çözeltisinin hazırlanması: 0,005 g gallik asit tartıldı, az miktarda distile suda çözöldü ve 5 mL’lik balonjojede hacim çizgisine kadar distile su ile tamamlandı.
- Folin-Ciocalteu reaktifi: Analizlerde, ticari olarak temin edilen Folin–Ciocalteu reaktifi herhangi bir işlem uygulanmadan kullanıldı.

3.5.5. Anti-kolinesteraz aktivite tayinininde kullanılan çözeltiler

- 50 mM tris-HCl tamponunun hazırlanması: 0,161 g Tris-base tartıldı ve bir miktar distile suda çözöndü. Çözelti 100 mL’lik balonjojeye aktarılıp hacim çizgisine kadar distile su ile tamamlandı. Hazırlanan çözeltinin pH değeri yaklaşık 10 olarak ölçöldü ve derişik HCl kullanılarak pH 8,00’e ayarlandı.
- Asetilkolinesteraz enziminin hazırlanması: 1 mg asetilkolinesteraz enzimi, 1 mL Tris-HCl (pH 8,00) tamponunda çözöldü. Daha sonra aynı tampon kullanılarak 0,015625 mg/mL derişime seyreltildi.
- 50 mM asetil kolin iyodür çözeltisinin hazırlanması: 0,072 g asetilkolin iyodür tartılarak bir miktar Tris-HCl (pH 8,00) tamponunda çözöldü ve 5 mL’lik balonjojede işarec çizgisine kadar tamamlandı.
- 5,5- ditiyobis-(2-nitrobenzoik asit) (DTNB) çözeltisinin hazırlanması: 0,5844 g DTNB tartıldı, bir miktar Tris-HCl (pH 8,00) tamponunda çözöldü ve 10 mL’lik balonjojede hacim çizgisine kadar tamamlandı.

3.5.6. Anti-üreaz aktivite tayininde kullanılan çözeltiler

- EDTA (Etilendiamin tetraasetik asit) tamponunun hazırlanması (pH:8.20):
 - 1mM EDTA çözeltisinin hazırlanması: 0,037 g EDTA tartıldı, bir miktar distile suda çözüldü ve 100 mL'lik balonjojeye aktarılıp hacim çizgisine kadar distile su ile tamamlandı.
 - 0,01M Na_2HPO_4 çözeltisinin hazırlanması: 0,142 g Na_2HPO_4 tartıldı, az miktarda distile suda çözüldü ve 100 mL'lik balonjojede hacim çizgisine kadar distile su ile tamamlandı.
 - 0,01M lityum klorür (LiCl) çözeltisinin hazırlanması: 0,042 g LiCl tartıldı, bir miktar distile suda çözüldü ve 100 mL'lik balonjojeye aktarılıp hacim çizgisine kadar tamamlandı.
 - Hazırlanan çözeltilerden eşit hacimlerde alınarak karışım oluşturuldu. Elde edilen karışımın pH değeri yaklaşık 8 olarak ölçüldü ve Na_2HPO_4 kullanılarak pH 8,20'ye ayarlandı.
- Üreaz enziminin hazırlanması: 0,1 g toz haldeki üreaz enzimi tartıldı, bir miktar EDTA tamponu (pH 8,20) içerisinde çözüldü ve 10 mL'lik balonjojede hacim çizgisine kadar tamamlandı.
- Üre hazırlanması: 1,5 g üre tartıldı, bir miktar EDTA tamponu (pH 8,20) içerisinde çözüldü ve 25 mL'lik balonjojede işaret çizgisine kadar tamamlandı.
- %5'lik fenol çözeltisinin hazırlanması: 0,25 mL derişik fenol alındı, 5 mL'lik balonjojeye aktarıldı ve hacim çizgisine kadar etanol ile tamamlandı.
- %0,05'lik sodyum nitroprussid çözeltisinin hazırlanması: 0,025 g sodyum nitroprussid tartıldı, bir miktar distile suda çözüldü ve 5 mL'lik balonjojede hacim çizgisine kadar tamamlandı.
- %5'lik sodyum hidroksit (NaOH) çözeltisinin hazırlanması: 5 g NaOH tartıldı, bir miktar distile suda çözüldü ve 100 mL'lik balonjojede hacim çizgisine kadar tamamlandı.
- Sodyum hipoklorit çözeltisinin hazırlanması (NaOCl): 0,5 M NaOCl çözeltisi hazırlanmak üzere uygun miktarda NaOCl tartıldı ve 50 mL'lik balonjojede distile su ile hacim çizgisine kadar tamamlandı.

3.6. Yöntemler

3.6.1. Antioksidan aktivite yöntemi

3.6.1.1. *DPPH radikali süpürücü aktivite yöntemi*

Ekstrelerin serbest radikal yakalama etkinliği, 2,2-difenil-1-pikrilhidrazil (DPPH) radikali kullanılarak belirlendi [304]. Bu amaçla, 0,5–5 mg/mL konsantrasyon aralığında hazırlanan ekstrelerden ve 0,05–0,8 mg/mL konsantrasyon aralığında hazırlanan standart çözeltiden (askorbik asit) 0,01 mL alınarak, üzerine 0,240 mL 0,1 mM DPPH çözeltisi (metanol içerisinde hazırlanmış) eklendi. Kontrol grubunda ise ekstre veya standart yerine 0,01 mL metanol kullanıldı.

Hazırlanan karışımlar oda sıcaklığında ve karanlık ortamda 30 dakika inkübe edildi. Ardından absorbans değerleri, 517 nm dalga boyunda mikropate reader cihazı (Allsheng AMR-100) ile ölçüldü. Kontrol grubunun absorbansı her deney günü taze olarak ölçüldü. Deneyler üç kez tekrarlanarak ortalama değerler hesaplandı.

IC₅₀ değerlerinin hesaplanmasından önce, örneklerin % DPPH radikali giderme kapasitesi aşağıdaki formül kullanılarak belirlendi:

$$\% \text{ DPPH radikali giderme kapasitesi} = [(A_0 - A_1) / A_0] \times 100]$$

A₀: Kontrol çözeltisinin absorbansı,

A₁: Bitki ekstreleri ve standart çözeltilerin absorbansı

Başlangıçtaki DPPH• derişiminin %50 oranında azalmasına yol açan ekstre veya standart madde konsantrasyonu IC₅₀ olarak tanımlandı. Bu değer, test edilen konsantrasyonlara karşı elde edilen % serbest radikal giderme aktivitesi değerlerinin grafiğe yerleştirilmesiyle oluşturulan doğru denklemi kullanılarak hesaplandı ve sonuçlar IC₅₀ (mg/mL) olarak ifade edildi.

3.6.1.2. *Demir (III) indirgeme antioksidan gücü tayini (FRAP)*

FRAP analizi, Benzie ve Strain (1996) metoduna göre gerçekleştirildi [305]. FRAP ayırıcı, 25 mL 300 mM asetat tamponu (pH 3,6), 2,5 mL TPTZ çözeltisi (10 mM TPTZ'nin 40 mM HCl'de çözölmüş hâli) ve 2,5 mL 20 mM FeCl₃ · 6H₂ O karıştırılarak hazırlandı ve 37 °C'de 30 dakika inkübe edildi.

0,190 mL FRAP ayırıcı, 0,01 mL ekstre veya standart ile karıştırıldı; kontrol grubu için ekstre yerine distile su kullanıldı. Absorbans artışı 4. dakikada, 593 nm'de ölçüldü. Elde edilen absorbans değerleri, 1 mM–0,005 mM aralığında FeSO₄ · 7H₂ O kullanılarak

oluşturulan kalibrasyon grafiği ile karşılaştırıldı. FRAP değeri (mM/L Fe^{+2}), 1 mM Fe^{+3} iyonunun Fe^{+2} iyonuna indirgenmesi olarak ifade edildi.

Kalibrasyon Grafiğinin Hazırlanması: $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 'nın 1 mM'lık stok çözeltisi hazırlandı ve distile su ile seyreltilerek 0,05–0,8 mM aralığında çözeltiler elde edildi. Bu çözeltilere FRAP analizi uygulandı ve oluşan renklerin absorbansları 4. dakikada 593 nm'de, kontrol karşısında ölçüldü. Deney beş kez tekrarlanarak elde edilen absorbans değerlerinden, en küçük kareler yöntemi kullanılarak $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ kalibrasyon grafiği çizildi ve regresyon denklemi elde edildi.

3.6.1.3. *Bakır (II) iyonu indirgeyici antioksidan kapasite yöntemi (CUPRAC)*

Ekstrelerin bakır (II) iyonu indirgeyici antioksidan kapasitesi, Apak ve ark. (2004) tarafından geliştirilen metoda göre belirlendi [306]. Deney, 96 kuyucuklu mikropate kullanılarak gerçekleştirildi. Her kuyucuğa sırasıyla 0,06 mL 10 mM bakır (II) çözeltisi, 0,06 mL 7,5 mM neokuproin (Nc) çözeltisi ve 0,06 mL 1,0 mM amonyum asetat (NH_4Ac) tampon çözeltisi eklendi. Ardından farklı konsantrasyonlardaki bitki ekstrelerinden 0,06 mL ilave edildi ve 0,01 mL distile su eklendi. Kontrol grubu (kör) için ekstre yerine distile su kullanıldı ve diğer işlemler aynı şekilde uygulandı.

Mikropate, oda sıcaklığında 60 dakika reaksiyonun gerçekleşmesi için bekletildi. Reaksiyon sonunda oluşan Cu(I)-Nc kompleksinin karakteristik renkli çözeltisinin absorbansı, 450 nm dalga boyunda ölçüldü.

$0,06 \text{ mL Cu(II)} + 0,06 \text{ mL Nc} + 0,06 \text{ mL NH}_4\text{Ac} + 0,06 \text{ mL bitki ekstre} + 0,01 \text{ mL d.H}_2\text{O}$
 $V_{\text{toplam}} = 0,25 \text{ mL}$

Doğru denklemin elde edilmesi amacıyla, 1,0 mM troloks stok çözeltisi 25 mL'lik balonjojede etanol ile hazırlandı. Bu stok çözeltinin etanol ile seri seyreltmeleri yapılarak 0,1–0,8 mM aralığında çözeltiler elde edildi. Hazırlanan troloks çözeltilerine CUPRAC metodu uygulandı ve oluşan renklerin absorbans değerleri 450 nm dalga boyunda, referans çözeltiye karşı ölçüldü.

3.6.2. *Toplam fenolik madde miktarlarının belirlenmesi*

Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan ekstrelerden 25 μL , 96 kuyucuklu mikropate'e aktarıldı. Üzerine 100 μL Folin–Ciocalteu ayırıcı (distile su ile 1/3 oranında seyreltilmiş)

ve 75 µL %2'lik sodyum karbonat çözeltisi eklendi. Karışımlar, oda sıcaklığında 2 saat inkübe edildi ve oluşan mavi rengin absorbansı, ekstre yerine 25 µL distile su içeren referansa karşı 760 nm dalga boyunda ölçüldü.

Farklı konsantrasyonlarda hazırlanan gallik asit çözeltilerine de aynı prosedür uygulanarak toplam fenolik madde miktarı belirlendi. Ölçülen absorbans değerleri, konsantrasyonlara karşı grafiğe aktarılıp kalibrasyon eğrisi oluşturuldu ve doğru denklemi elde edildi. Elde edilen doğru denklem kullanılarak, örneklerin toplam fenolik madde içerikleri mg gallik asit eşdeğeri (mg GAE/mg ekstre) olarak hesaplandı. Deney üç kez tekrarlanarak ortalama değerler alındı [304].

Gallik Asit Kalibrasyon Eğrisinin Hazırlanması: Standart gallik asit çözeltilerinin farklı konsantrasyonları hazırlandı. Bu çözeltilere Folin–Ciocalteu metodu uygulanarak oluşan renklerin absorbansları 760 nm'de ölçüldü. Deney beş kez tekrarlanarak elde edilen değerlerden, en küçük kareler yöntemi ile gallik asit kalibrasyon eğrisi oluşturuldu. Ekstrelerin toplam fenolik madde miktarları, bu kalibrasyon eğrisinden elde edilen doğru denklem kullanılarak mg gallik asit eşdeğeri şeklinde belirlendi.

3.6.3. Anti-kolinesteraz aktivite tayin yöntemi

Asetilkolinesteraz inhibisyon aktivitesi, mikrotplate okuyucu kullanılarak belirlendi. Enzim olarak elektrik balığından elde edilen AChE, substrat olarak asetil tiyokolin iyodür (AcI) ve renk geliştirme maddesi olarak 5,5'-ditiyobis-(2-nitrobenzoik asit) (DTNB) kullanıldı. Kontrol grubu olarak etanol, standart olarak ise galantamin (Galantus bitkisinden izole edilen alkaloid) kullanıldı [307].

AChE % İnhibisyon Testi: Her kuyucuğa 40 µL 50 mM fosfat tampon çözeltisi (pH 8), 20 µL farklı konsantrasyonlarda hazırlanmış ekstre örnekleri ve 20 µL AChE enzim çözeltisi eklendi. Karışım 10 dakika boyunca 25 °C'de inkübe edildi. İnkübasyon sonrası 20 µL AcI substratı ilave edildi ve 5 dakika süreyle 25 °C'de inkübe edildi. Ardından 100 µL DTNB reaktifi eklendi. Substrat hidrolizi sonucunda açığa çıkan tiyokolin, DTNB ile reaksiyona girerek sarı renkli 5-tiyo-2-nitrobenzoik asit anyonunu oluşturdu ve absorbans değeri 412 nm'de ölçüldü.

Ekstrelerin antikolinesteraz aktivitesi, kontrol grubuna göre % inhibisyon olarak aşağıdaki formül ile hesaplandı:

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

3.6.4. Anti-üreaz aktivite tayini

Üreaz inhibitörlüğü, mikropate okuyucu kullanılarak değerlendirildi. Her kuyucuğa 25 µL üreaz enzimi eklendi ve ardından farklı konsantrasyonlarda hazırlanmış ekstrelerden 10 µL ilave edildi. Karışımlar 15 dakika boyunca 37 °C’de inkübe edildi. Daha sonra 50 µL üre eklenerek ikinci bir 15 dakikalık inkübasyon 37 °C’de gerçekleştirildi.

İnkübasyon süresinin sonunda, 23 µL R1 (%5 fenol + 5 mM sodyum nitroprussid) ve 35 µL R2 (400 mM NaOH, 10 mM NaOCl) eklenerek, karışımlar 50 dakika boyunca 37 °C’de inkübe edildi. Oluşan renk reaksiyonunun absorbansı 625 nm’de ölçüldü.

Kontrol grubu için ekstre yerine tampon (EDTA, pH 8,20) kullanıldı ve tüm prosedür aynı şekilde uygulandı. K r grup olarak ise üreaz enzimi ve ekstre yerine tampon eklendi. Absorbans değerleri, referansa karşı 625 nm’de ölçüldü.

Üreaz inhibitörlüğü yüzdesi aşığıdaki formül ile hesaplandı [308,309]:

$$\% \text{ Üreaz İnhibisyonu} = [(Ac - As)/Ac] \times 100$$

Ac: Kontrolün absorbansı; As: Örneğin absorbansı

3.6.5. Antikanser aktivite

Ekstrelerin antikanser etkilerinin belirlenmesi için  alışmamızda Tablo 3.1’de belirtilen ve ATCC’den alınan kanser hücre hatları kullanılmıştır.

Tablo 3.1. *Antikanser aktivite deneyinde kullanılan hücre hatları.*

Hücre Hattı	Kaynak
DU-145 hücre hattı	Prostat kanseri
A549 hücre hattı	Akciğer kanseri
HCT116	Kolon kanseri
Hela	Serviks kanseri
MCF7	Meme kanseri
NIH3T3	Fare fibroblast hücre hattı

3.6.5.1. Hücrelerin  öz lmesi

Dondurulmuş hücrelerin hızlı çözünmesi amacıyla, -80 °C’den çıkarılan kriyot pler kapaklarından tutulmak suretiyle 37 °C’ye ayarlanmış su banyosuna yerleştirildi ve hafifçe çalkalanarak hızlı bir şekilde çözdürüldü. Çözünme işlemi tamamlandıktan sonra, t p içeriği yavaşça 10 mL taze besiyeri içeren Falcon tüpüne aktarılıp 1500 rpm’de 4 dakika süreyle santrifüj edildi. Santrifüj sonrasında süpernatant dikkatlice uzaklaştırıldı ve oluşan

hücre peleti, kullanılacak kültür flakonunun hacmine uygun miktarda besiyeri ile homojenize edildi. Elde edilen hücre süspansiyonu kültür flakonuna aktarılıp, %5 CO₂ içeren 37 °C'lik inkübatörde kültüre alındı. Hücreler flakon yüzeyini tamamen kaplayana kadar, iki günde bir besiyeri değiştirildi. Yüzeyin dolmasının ardından, hücrelerin canlılığını ve proliferasyonunu sürdürmek amacıyla pasajlama işlemi gerçekleştirildi [310].

3.6.5.2. Hücrelerin pasajlanması

Flaskta %80–90 konfluens seviyesine ulaşan hücrelerin pasajlanması için öncelikle kültürdeki eski besiyeri uzaklaştırıldı. Hücreler, 1–2 mL 1X PBS ile yıkanarak artık maddelerden arındırıldı. Yüzeye tutunmuş hücrelerin ayrılması amacıyla flask içerisine 1–2 mL %0,05'lik Tripsin-EDTA çözeltisi eklendi ve flask, 37 °C'de %5 CO₂ atmosferine sahip inkübatörde 1–2 dakika inkübe edildi. İnkübasyon sonunda, hücrelerin yüzeyden ayrıldığı ters mikroskop ile doğrulandı. Daha sonra, flask içerisine Tripsin-EDTA hacminin yaklaşık iki katı taze besiyeri eklenerek hücre süspansiyonu pipet yardımıyla homojenize edildi ve Falcon tüpe aktarıldı. Hücre süspansiyonu 1500 rpm'de 4 dakika santrifüj edildi, süpernatant uzaklaştırıldı ve oluşan hücre peleti 10 mL taze besiyeri ile homojenize edildi.

Hücre sayımı, Tripan Mavi boyama yöntemi kullanılarak sayım lamı üzerinde ışık mikroskobu ile gerçekleştirildi. Elde edilen hücre yoğunluğuna göre uygun hacimlerde yeni kültür flasklarına ekim yapıldı ve hücreler, çoğalmaları için 37 °C'de %5 CO₂ içeren inkübatörde kültüre alındı [310].

3.6.5.3. Hücre sayısının hesaplanması

1 mL kültür medyumunda sulandırılmış hücre süspansiyonundan 10 µL alınarak Eppendorf tüpe kondu ve üzerine 90 µL PBS eklenerek homojenize edildi. Bu karışım Neubauer sayım lamına aktarılıp alt ve üst bölmelerdeki hücreler sayıldı. Elde edilen hücre sayısı, dilüsyon faktörü (1/10) ve 10⁴ çarpanı ile düzeltilerek 1 mL kültür medyumundaki hücre yoğunluğu belirlendi.

Bu değer kullanılarak, ekim yapılacak hücre sayısı ayarlandı ve 96 kuyucuklu kültür plağının her kuyucuğuna 10⁴ hücre olacak şekilde ekim gerçekleştirildi [310]. Hücre sayısı (mL) = Hücre sayısı x Dilüsyon oranı x 10.000

3.6.5.4. MTT yöntemi

Bitkiden elde edilen ekstrelerin antiproliferatif ve sitotoksik etkileri, MTT (3-[4,5-dimetiltiazol-2-il]-2,5-difeniltetrazolyum bromid) testi kullanılarak incelendi. MTT testi, hücre proliferasyonu, canlılığı ve sitotoksisiteyi kantitatif olarak değerlendirmeye yarayan yaygın bir yöntemdir. Yöntemin temel prensibi, canlı hücrelerin mitokondriyal enzimleri aracılığıyla sarı renkli MTT tetrazolyum tuzunun, çözünmeyen mor renkli formazan kristallerine indirgenmesidir. Oluşan renk değişikliği, spektrofotometrik olarak ölçülür ve elde edilen absorbans değeri, hücrelerin metabolik aktivitesi ile doğru orantılıdır. Böylece test edilen ekstrenin hücre canlılığı üzerindeki etkisi kantitatif olarak belirlenir.

Belirtilen hücre hatlarında, Beekman ve ark. (1997) tarafından geliştirilen yöntem modifiye edilerek bitki ekstrelerinin antiproliferatif ve sitotoksik etkileri araştırıldı [310]. Hücre kültürü ve deney protokolünde, %10 fetal sığır serumu (FBS) ve 100 mM L-glutamin içeren DMEM besiyeri kullanıldı. MTT analizleri, 96 kuyucuklu kültür plakalarında gerçekleştirildi ve tüm deneyler, Vybrant MTT kiti protokolüne uygun şekilde yürütüldü.

Antiproliferatif etki çalışmaları, ekstrelerin 50 ve 100 µg/mL konsantrasyonları kullanılarak üçer tekrar halinde yapıldı. Hücrelerin inkübasyonu 48 saat süreyle devam ettirildi ve ardından MTT testi ile hücre canlılığı değerlendirilerek ekstrelerin sitotoksik etkileri belirlendi.

Deneyin uygulaması: MTT analizine başlamadan bir gün önce, 96 kuyucuklu mikrolakaların her bir kuyucuğuna 1×10^4 hücre eklendi. Hücrelerin yüzeye tutunmasını sağlamak amacıyla plakalar, 24 saat boyunca 37 °C'de %5 CO₂ atmosferine sahip inkübatörde inkübe edildi. Bu ön inkübasyon, hücrelerin metabolik olarak aktif hale gelmesini ve terapötik ajanlarla etkileşime hazır duruma gelmesini sağladı.

İnkübasyonun ardından, seri dilüsyonlar halinde hazırlanan bitki ekstreleri 50 µg/mL ve 100 µg/mL konsantrasyonlarında kuyucuklara eklendi. Plakanın A ve H sırasındaki kuyucuklara, buharlaşmayı önlemek amacıyla PBS konuldu. Diğer kuyucuklar ise test grubu (ekstre + hücre), hücre kontrol grubu ve medyum içeren boş kontrol grubu olarak düzenlendi. Plakalar yeniden inkübatöre alınarak 24 saat boyunca inkübe edildi.

24 saatlik inkübasyonun ardından, kuyucuklardaki medyum uzaklaştırıldı ve hücreler PBS ile dikkatlice yıkandı. Her kuyucuğa 100 µL taze besiyeri eklendi. MTT reaktifi, PBS

içerisinde çözülerek vorteks ile homojen hale getirildi ve her kuyucuğa 10 µL olacak şekilde ilave edildi. Plakalar, 37 °C’de 4 saat süreyle inkübe edildi.

İnkübasyon sonunda, oluşan formazan kristallerinin çözünmesi için her kuyucuğa 100 µL SDS çözeltisi (10 mL PBS-HCl içinde hazırlanmış) eklendi. Plakalar, 12–16 saat boyunca karanlık koşullarda 37 °C’de inkübatörde bekletildi. Süre sonunda meydana gelen renk değişimi, mikroparka okuyucusu (EPOCH, BioTek) kullanılarak 570 nm dalga boyunda ölçüldü [310].

3.6.6. Kitosan yüklü nanopartiküllerin hazırlanması

Kitosan nanopartikülleri, iyonik jelasyon yöntemi kullanılarak hazırlanmıştır. Bu yöntemde, kitosanın pozitif yüklü amino grupları ile tripolifosfat (TPP) çözeltisindeki negatif yüklü fosfat grupları arasındaki elektrostatik etkileşimden yararlanılmıştır [311].

Başlangıçta, %0.1–0.2 (a/h) oranında kitosan, %1’lik asetik asit çözeltisinde manyetik karıştırıcı altında tamamen çözülene kadar karıştırılmıştır. Bu çalışmanın nanopartikül hazırlanması aşamasında çözücü olarak steril bidistile su kullanılmıştır. Katı haldeki TPP (10 mg) 50 ml steril bidistile suda manyetik karıştırıcıda çözüldükten sonra üzerine konsantrasyonu 100µg/ml olacak şekilde ekstre ilave edilerek manyetik karıştırıcıda ekstrenin TPP çözeltisi içinde homojenize olması sağlandı. TPP çözeltisi kitosan çözeltisine damla damla ilave edilmiştir. Karışım, oda sıcaklığında iki saat süreyle manyetik karıştırıcıda homojenize edilmiştir. Oluşan nanopartiküller ultrasantrifüj cihazında 4 °C’ de, 15.000 rpm dönme hızında 30 dk santrifüj edildikten sonra üzerindeki süpernatant atılarak üzerine belirli bir hacimde (25 ml) steril bidistile su ilave edilip 15 dakika süre ile tekrardan santrifüj edilmiştir. Bu yıkama işlemi üç defa yapılarak nanopartiküldeki safsızlıklar uzaklaştırılmıştır. Son olarak nanopartikülün üzerindeki süpernatant atılıp liyofilizasyon işlemi için -20 °C ye kaldırılmıştır.

Nanopartiküllerin ortalama partikül boyutu ve yüzey yükü (ζ-potansiyeli) Zeta analiz cihazıyla, dinamik ışık saçılımı (DLS) yöntemiyle ölçülmüştür. Morfolojik özellikleri ise taramalı elektron mikroskobu (SEM) ile incelenmiştir.

3.6.6.1. Nanopartiküllerin (NP’lerin) enkapsülasyon verimliliği (EE) ve yükleme kapasitesi (LC) çalışmaları

A. *kirschneri* ekstresinin nanopartiküllerdeki enkapsülasyon verimliliği (%EE) ve yükleme kapasitesi (%LC), ultraviyole-görünür (UV-vis) spektrofotometre kullanılarak belirlendi [281]. Ekstrenin standart kalibrasyon eğrisi ve spektral doğrusal denklemi, ekstraktın farklı konsantrasyonlarda 350 nm dalga boyunda ölçülen absorbans değerleri kullanılarak oluşturuldu. Bu doğrusal denklem, süpernatantta bulunan ekstrakt miktarının belirlenmesinde kullanıldı.

Nanopartiküllerin yükleme kapasitesi (%LC) ve enkapsülasyon verimliliği (%EE), aşağıdaki formüller ile hesaplandı:

$$EE (\%) = (m_o - m_s) / m_o \times 100$$

$$LC (\%) = (m_o - m_s) / w_{np} \times 100$$

Burada;

m_o = doğal ekstraktların başlangıç kütlesini,

m_s = süpernatanttaki doğal ekstre kütlesini,

w_{np} = NP'lerde doğal olarak elde edilen ekstrenin toplam ağırlığını ifade eder [313].

Her ölçüm üç kez yapıldı ve sonuçlar ortalama $\pm$ SD (n = 3) olarak sunuldu.

3.6.6.2. Parçacık boyutu ve zeta (ζ) potansiyelinin ölçümü

Nanopartiküllerin ortalama parçacık boyutu ve ζ -potansiyeli, Zetasizer Nano ZS cihazı kullanılarak belirlendi. Ölçümler sırasında nanopartiküller, PBS (pH 7,4) içinde süspanse halde tutuldu ve değerlendirmeler bu koşullar altında gerçekleştirildi. Ayrıca nanopartiküllerin morfolojik özellikleri taramalı electron mikroskobu (SEM) ile karakterize edildi [313].

3.6.6.3. Ekstre yüklü nanopartiküllerin *in vitro* salım çalışması

A. *kirschneri* metanol ekstresi, Keawchaoon ve Yoksan (2011) ile Mohammadi ve ark. (2015) tarafından tanımlanan yöntemler, bazı küçük modifikasyonlarla uygulanarak, PBS (pH 7,4) içinde kitosan nanopartiküllerden *in vitro* olarak salındı [314,315].

Başlangıçta, belirli miktarda ekstre yüklü nanopartikül, 2 mL PBS tampon çözeltisi ile karıştırıldı ve oda sıcaklığında vorteks ile homojenize edildi. Numuneler, belirlenen zaman aralıklarında 25 °C'de 10.000 rpm'de 10 dakika süreyle santrifüj edildi. Salınan

ekstrenin toplam hacmi sabit tutularak, süpernatanttan 400 µL alındı ve eşdeğer hacimde taze PBS tamponu ile değiştirildi.

Belirli zaman noktalarında salınan *A. kirschneri* ekstresi miktarı, UV-vis spektrofotometre kullanılarak ölçüldü ve standart kalibrasyon eğrisi yardımıyla hesaplandı.

3.6.7. Antiinflamasyon aktivite yöntemi

Bu çalışmada WST-1 (hücre proliferasyon, Roche Diagnostik) kiti kullanılarak bitki ekstraktlarının toksik olmayan konsantrasyonları belirlendi. Tetrazolyum bazlı bir tuz boyası olan WST-1, metabolik olarak aktif hücreler tarafından mor bir formazan tuzuna indirgenir ve doğrudan spektrofotometrik ölçümlerle ölçümü gerçekleştirilir. DMEM besiyeri (%10 FBS içeren) içerisinde Raw 264.7 hücreleri 96 kuyucuklu plakalara ekildi (22.500 hücre/kuyu), ve 1 µg/ml konsantrasyonda lipopolisakkrit içeren veya içermeyen örneklerimiz kuyucuklara çeşitli konsantrasyonlarda ilave edilerek 37 °C’de 24 saat inkübe edildi. Süpernatant çıkarıldıktan sonra WST-1 kiti %5’lik (h/h) konsantrasyonunda doğrudan besiyeri içeren hücrelere eklenerek ve hücreler 60 dakika boyunca 37 °C’de inkübe edildi. Daha sonra örneklerin absorbansları bir ELISA okuyucu tarafından 420 ve 480 nm arasında maksimum absorbans verdiği dalga boyu belirlenerek okundu. Tüm örnekler, DMSO içinde çözündürülecek ve DMEM ile uygun konsantrasyonlara seyreltilerek, kültür ortamındaki nihai DMSO konsantrasyonu, % 0.1 (h/h) olarak belirlendi. Kontrol grubunun hücre canlılığı %100 kabul edilerek örneklerimizin hücre canlılığı hesaplanarak sitotoksik etkilerinin olup olmadığı değerlendirildi [316].

3.6.8. Uçucu yağın GC-MS analizi

Uçucu yağ örneklerinin analizi, Shimadzu GC-MS QP 2010 Ultra (Kyoto, Japonya) cihazı kullanılarak Gaz Kromatografisi-Kütle Spektrometrisi (GC-MS) yöntemi ile gerçekleştirildi (Şekil 3.3). Analizlerde, 30 m uzunluğunda, 0,25 mm iç çapında ve 0,25 µm film kalınlığına sahip 5MS kapiler kolon (RESTEK) kullanıldı. Taşıyıcı gaz olarak helyum tercih edildi ve sabit akış hızında uygulandı. Enjeksiyon hacmi 1 µL olarak belirlendi.

GC fırın sıcaklık programı, başlangıçta 60 °C olarak ayarlandı ve dakikada 2 °C artış ile 220 °C’ye yükseltildi. Bu sıcaklıkta 20 dakika sabit tutuldu. Enjektör ve dedektör sıcaklıkları 250 °C olarak sabitlendi [317].



Şekil 3.3. Shimadzu GC-MS QP 2010 Ultra analiz cihazı

3.6.9. HPLC cihazı ile fenolik bileşiklerin analizi

Güçlü biyolojik aktivite gösteren ekstrenin fenolik bileşik profili, Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi–Diyot Array Dedektörü (HPLC-DAD) yöntemi ile belirlendi.

Analizlerde:

- Agilent HPLC sistemi
- Waters Nova-Pak C18 kolonu: 4 μm , 3.9 $\times$ 150 mm
- Kolon sıcaklığı 30 $^{\circ}\text{C}$ (sabit tutuldu)

Mobil faz olarak:

- A fazı; %0,05 asetik asit içeren saf su (H_2O),
- B fazı; %100 asetonitril (CH_3CN)
- Toplam akış hızı; 0,2 mL/dk
- Enjeksiyon hacmi; 20 μL olarak belirlendi [318].

Tablo 3.2. HPLC’de kullanılacak gradient elüsyon profili.

Zaman (dk)	Akış Hızı (mL/dk)	B Fazı	A Fazı
0	0.2	0	100
10	0.2	10	90
15	0.2	15	85
20	0.2	20	80
25	0.2	25	75
30	0.2	30	70
40	0.2	90	10
45	0.2	10	90

3.6.10. Moleküler docking çalışması

3.6.10.1. Ligand sistemi

Kinik asit, klorojenik asit, rosmarinik asit ve 8-OH salvigenin bileşikleri PubChem(<https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov>)’veri tabanından alınmıştır. Open Babel GUI programından pdb formatına dönüştürülmüştür [319].

3.6.10.2. Protein sistemi

Asetil kolin esterase Enzim hedefi için (PDB ID 7E3D) ve üreaz enzim hedefi için (PDB ID: 4UBP) kristal yapıları, Protein Data Bank’tan elde edilmiştir (www.rcsb. Org) [319].

3.6.10.3. Moleküler modelleme

Autodock 4.2.6 kullanılmıştır. Modelleme veri girişi dosyalarını oluşturmak için AutoDockTools programı kullanıldı. Tüm modellemelerde x, y, z yönlerinde 80x80x80 nokta boyutlarında karelere ayrılmış bir küp oluşturulmuştur. 0.375 Å’luk bir uzunluk (karbon-karbon kovalent bağının yaklaşık dörtte biri uzunluğunda) ve dielektrik sabitinin mesafe bağımlı bir fonksiyonu eşlemelerin enerji hesaplanmasında kullanılmıştır. Lamarckian genetik algoritma mantığı kullanılarak 10 işlem yürütüldü. Başlangıç popülasyonu 50 olan rastgele yerleştirilmiş parçalar, maksimum 2.5×10^6 enerji değerleriyle ve maksimum 2.7×10^4 oluşumla kullanılmıştır. 0.02 mutasyon oranı ve 0.8 genetik değişim oranı seçilmiştir. Root mean square deviation (RMSD)’da 0.5 Å’ dan daha az farklılık gösteren sonuçlar bir araya toplanmış ve bağlanmanın en uygun serbest

enerjisinin sonuçları, nihai kompleks yapılar olarak seçilmiştir. Autodock Vina 1.1.2 [320] ve Discovery Studio 2020 programları kullanılarak Kinik asit, klorojenik asit, rosmarinik asit ve 8-OH salvigenin bileşikleri asetil kolin esterase için (PDB ID 7E3D) ve üreaz için (PDB ID: 4UBP) hedef bölgesinde ligand-protein etkileşimleri incelendi [321].

3.6.11. Farmakolojik gen ağı analizi

1,8 cineole, piperotine, camphor ve phenol bileşiklerine ait genler swisstargetprediction veritabanından (<http://www.swisstargetprediction.ch/>) alındı. Genlerin venn diyagramı analizi intractivenn veritabanında (<https://www.interactivenn.net/>) yapıldı [322]. Venn diyagramında analiz edilen ortak genlerin ilişkisi ShinyGo veritabanında analiz edildi [323].

3.6.12. Etnobotaniksel çalışma

Etnobotanik bitki insan ilişkisi ile halkın hangi bitkinin, hangi kısmını, nasıl, ne amaçla kullandığını araştıran bir bilim dalıdır. Bitkinin toplandığı lokalite ile yakın çevresindeki yöre halkından bazılarından bitkileri tanıyan kişiler tespit edilmiş olup, bu kişilere bitkinin kullanım özelliği ve kullanım şekli ilgili çeşitli sorular sorularak (bitkinin yerel adı, toplanma zamanı, hangi kısımlarının ne şekilde kullanıldığı, kullanım amacı), cevaplar kaydedilmiştir [324].

3.6.13. İstatistik hesaplama

Tüm deneysel veriler, en az üç bağımsız ölçümün ortalaması $\pm$ standart sapma (SD) olarak ifade edildi. Verilerin analizi için tek yönlü varyans analizi (One-Way ANOVA) uygulandı. Ortalamalar arasındaki anlamlı farklılıkları belirlemek amacıyla Tukey Çoklu Karşılaştırma Testi kullanıldı. $p < 0,05$ değeri, istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

4.1. Bitki Ekstrelerinin Antioksidan Aktivite Sonuçları

4.1.1. DPPH radikali giderme aktivite tayini

Bu çalışmada *A. kirschneri* bitkisinin toprak üstü kısımlarından maserasyon yöntemi ile elde edilen farklı ekstrelerin serbest radikal süpürücü aktiviteleri DPPH radikali kullanılarak belirlendi. Elde edilen bulgular, bitki ekstrelerinin etkinliğinin standart olarak kullanılan askorbik asit ile karşılaştırılmasıyla değerlendirildi.

Sonuçlar incelendiğinde, metanol ekstresinin diğer ekstrelerden daha yüksek serbest radikal süpürücü aktivite gösterdiği ve bu etkinliğin askorbik asit ile kıyaslanabilir düzeyde olduğu saptanmıştır. Buna karşılık, petrol eteri ve kloroform ekstrelerinin düşük düzeyde DPPH radikali süpürücü aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir (Tablo 4.1).

Tablo 4.1. *Bitkiden maserasyon yöntemiyle elde edilen farklı ekstrelerin DPPH radikali süpürücü aktiviteleri*

Ekstreler/Standart	DPPH (%), 200 µg/mL
Petrol eteri	6.250 ±2.495*
Kloroform	18.821 ± 2.817*
Metanol	96.393 ± 0.270*
Askorbik asit	98.485 ± 0.001

Değerler üç paralel ölçümün ortalaması ± standart sapmasıdır. Pozitif kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, gözlenen fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuş ve $p < 0,05$ düzeyinde değerlendirilmiştir.

4.1.2. Demir (III) indirgeme antioksidan gücü tayini (FRAP)

A. kirschneri bitkisinden elde edilen petrol eteri, kloroform ve metanol ekstrelerinin ferrik iyon (Fe^{+3}) indirgeme kapasiteleri, FRAP yöntemi ile değerlendirildi. Çalışmada referans madde olarak askorbik asit kullanıldı. Ekstrelerin ve standart bileşiğin Fe^{3+} iyonunu indirgeme kapasiteleri, $FeSO_4$ standart eğrisinden elde edilen doğrusal denklem kullanılarak hesaplandı ve sonuçlar mM $FeSO_4$ /mg ekstre cinsinden Tablo 4.2’de sunuldu.

FRAP yönteminde, absorbans değerleri ile antioksidan aktivite arasında doğrusal bir ilişki bulunduğundan, yüksek absorbans değerleri ekstrelerin güçlü antioksidan aktiviteye sahip olduğunu göstermektedir. Elde edilen sonuçlar, metanol ekstresinin en yüksek Fe^{+3} indirgeme kapasitesine sahip olduğunu, buna karşın petrol eteri ve kloroform ekstrelerinin

daha düşük FRAP aktivitesi sergilediğini ortaya koymuştur. Ayrıca, tüm ekstrelerin antioksidan aktivitelerinin referans bileşik olan askorbik asitten daha düşük olduğu belirlenmiştir.

Tablo 4.2. *A. kirschneri* bitkisinden elde edilen ekstrelerin FRAP değerleri

Ekstreler/Standart	FRAP (mM FeSO ₄ /mg ekstre)
Petrol eteri	1.249±0.935*
Kloroform	1.826±0.549*
Metanol	3.196±0.176*
Askorbik asit	20.179±1.099

Değerler üç paralel ölçümün ortalaması ± standart sapmasıdır. Pozitif kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, gözlenen fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuş ve $p < 0,05$ düzeyinde değerlendirilmiştir.

4.1.3. Bakır (II) iyonu indirgeyici antioksidan kapasite tayini (CUPRAC)

A. kirschneri bitkisinden elde edilen petrol eteri, kloroform ve metanol ekstrelerinin bakır (II) iyonu indirgeyici antioksidan kapasiteleri karşılaştırmalı olarak analiz edilmiştir. Elde edilen sonuçlar, metanol ekstresinin en yüksek indirgeme kapasitesine sahip olduğunu göstermiştir; kloroform ekstresi orta düzeyde bir aktivite sergilerken, petrol eteri ekstresi en düşük aktiviteyi göstermiştir. Tablo 4.3'te sunulan verilere göre, tüm ekstrelerin antioksidan kapasitelerinin standart bileşik ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı şekilde daha düşük olduğu belirlenmiştir.

Tablo 4.3. *A. kirschneri* bitkisinden elde edilen ekstrelerin CUPRAC değerleri

Ekstreler/Standart	CUPRAC (mM trolox eşdeğeri/mg ekstre)
Petrol eteri	0.572±0.010*
Kloroform	1.108±0.083*
Metanol	2.109±0.166*
Askorbik asit	5.683±0.338

Değerler üç paralel ölçümün ortalaması ± standart sapmasıdır. Pozitif kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, gözlenen fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuş ve $p < 0,05$ düzeyinde değerlendirilmiştir.

4.2. Toplam Fenolik Madde Miktarlarının Tayini

A. kirschneri bitkisinden elde edilen petrol eteri, kloroform ve metanol ekstrelerinin farklı konsantrasyonlarda hazırlanan örneklerindeki toplam fenolik madde miktarları,

gallik asit standart eğrisinden elde edilen doğrusal denklem kullanılarak hesaplanmıştır. Elde edilen veriler Tablo 4.4’de sunulmuştur. Analiz sonuçları, metanol ekstraktının petrol eteri ve kloroform ekstrelerine kıyasla daha yüksek fenolik bileşik içeriğine sahip olduğunu göstermektedir.

Tablo 4.4. *A. kirschneri* bitkisinden elde edilen ekstrelerin toplam fenolik madde içeriği

Ekstreler	TPC (mg GAE/mg ekstre)
Petrol eteri	3.540±0.800
Kloroform	8.344±3.520
Metanol	13.768±1.518

GAE: gallik asit eşdeğeri.

4.3. Ekstrelerin Anti-kolinesteraz Aktivite Tayini

A. kirschneri bitkisinden elde edilen petrol eteri, kloroform ve metanol ekstrelerinin 100 µg/mL konsantrasyonda asetilkolinesteraz (AChE) enzim inhibisyon aktiviteleri Ellman yöntemi ile belirlenmiştir. Referans inhibitör olarak galantamin kullanılmış ve sonuçlar Tablo 4.5’de sunulmuştur. Analizler, metanol ekstresinin en yüksek enzim inhibisyonunu sergilediğini, kloroform ekstresinin orta düzeyde, petrol eteri ekstresinin ise daha düşük düzeyde aktivite gösterdiğini ortaya koymuştur. Ancak, tüm ekstrelerin enzim inhibisyon kapasitelerinin standart bileşik galantaminin etkinliğinin altında olduğu belirlenmiştir.

Tablo 4.5. *Ekstrelerin anti-kolinesteraz aktiviteleri*

Ekstreler/Standart	% Enzim İnhibisyonu (100 µg/mL)
Petrol eteri	33.24±0.010*
Kloroform	46.18±0.083*
Metanol	89.215±1.85*
Galantamin	97.630±0.810

Değerler üç paralel ölçümün ortalaması ± standart sapmasıdır. Pozitif kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, gözlenen fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuş ve $p < 0,05$ düzeyinde değerlendirilmiştir.

4.4. Ekstrelerin Anti-üreaz Aktivite Tayini

A. kirschneri bitkisinden elde edilen petrol eteri, kloroform ve metanol ekstrelerinin üreaz enzimi inhibitör aktiviteleri, indofenol yöntemi kullanılarak belirlenmiş ve sonuçlar

Tablo 4.6’da sunulmuştur. Çalışmada standart inhibitör olarak tiyoüre kullanılmıştır. Elde edilen bulgular, metanol ekstresinin diğer ekstrelerle kıyaslandığında en yüksek üreaz inhibisyon potansiyeline sahip olduğunu göstermektedir; kloroform ekstresi orta düzeyde, petrol eteri ekstresi ise en düşük anti-üreaz aktivitesi sergilemiştir. Ayrıca, tüm ekstrelerin üreaz inhibitör etkinliklerinin standart bileşik tiyoüreye kıyasla daha düşük olduğu belirlenmiştir.

Tablo 4.6. Ekstrelerin Anti-üreaz Aktivite Tayini

Ekstreler/Standart	% Enzim İnhibisyonu (100 µg/mL)
Petrol eteri	6.24±0.010*
Kloroform	16.16±0.053*
Metanol	52.115±1.05*
Tiyoüre	84.640±0.870

Değerler üç paralel ölçümün ortalaması ± standart sapmasıdır. Pozitif kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, gözlenen fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmuş ve $p < 0,05$ düzeyinde değerlendirilmiştir.

4.5. Antiproliferatif ve Sitotoksik Aktivite Sonuçları

A. kirschneri bitkisinin topraküstü kısımlarından hazırlanan petrol eteri, kloroform ve metanol ekstrelerinin sitotoksik aktiviteleri, insan kolon kanseri hücre hattı (HCT116), insan akciğer kanseri hücre hattı (A549), meme kanseri hücre hattı (MCF-7), insan prostat kanseri hücre hattı (DU-145), insan serviks kanseri hücre hattı (HeLa), ve fare embriyonik fibroblast hücre hattı (NIH-3T3) üzerinde MTT yöntemiyle incelendi. Petrol eteri, kloroform ve metanol ekstrelerinin 50µg/mL ve 100 µg/mL konsantrasyonlarda, kanserli hücreler üzerindeki sitotoksik aktiviteleri sırasıyla Tablo 4.7 ile Tablo 4.8’de verildi.

Tablo 4.7. *A. kirschneri* bitkisinin 50µg/mL konsantrasyonda petrol eteri, kloroform ve metanol ekstrelerinin kanserli hücre hatları üzerindeki % inhibisyon oranları.

Hücre Hatları	Ekstreler (50µg/mL)		
	Petrol Eteri	Kloroform	Metanol
HCT116	19.29±1.10	39.90±4.10	13.21±2.10
A549	10.29±3.20	28.29±1.90	3.29±8.20
MCF-7	17.18±5.60	39.35±4.09	24.85±2.87
DU-145	12.29±6.10	24.48±2.70	12.15±6.40
HeLa	13.48±5.50	42.92±6.60	8.61±7.20

50µg/mL konsantrasyondaki petrol eteri, kloroform ve metanol ekstralarının kanserli hücre hatları üzerindeki etkilerine bakıldığında, petrol eteri ve metanol ekstralarının çok düşük sitotoksikite gösterdiği, kloroform ekstresinin ise diğer ekstralere oranla yüksek ama genel olarak düşük sitotoksik aktivite gösterdiği belirlenmiştir.

Tablo 4.8. *A. kirschneri* bitkisinin 100µg/mL konsantrasyonda petrol eteri, kloroform ve metanol ekstralarının kanserli hücre hatları üzerindeki % inhibisyon oranları.

Hücre Hatları	Ekstreler (100µg/mL)		
	Petrol Eteri	Kloroform	Metanol
HCT116	32.39±2.15	72.96±3.10	3.44±4.21
A549	13.29±3.70	32.88±2.05	6.33±2.20
MCF-7	22.12±4.70	69.45±4.09	12.25±3.47
DU-145	18.77±3.15	38.49±2.92	7.16±3.40
HeLa	39.52±4.30	74.63±3.60	18.67±5.70

100µg/mL konsantrasyondaki petrol eteri, kloroform ve metanol ekstralarının kanserli hücre hatları üzerindeki etkilerine bakıldığında, metanol ekstresinin çok düşük aktivite gösterdiği, petrol eterinin HCT116 ve HeLa hücre hatları üzerinde orta düzeyde, diğer hücre hatları üzerinde ise düşük aktivite gösterdiği, kloroform ekstresinin ise; HCT116, MCF-7 ve HeLa hücre hatları üzerinde yüksek, A549 ve DU-145 hücre hatları üzerinde orta düzeyde sitotoksikite gösterdiği belirlenmiştir.

Tablo 4.9. *A. kirschneri* bitkisinin heptan, kloroform ve metanol ekstralarının normal hücre (NIH-3T3) üzerine % çoğalma etkisi

Konsantrasyon	Petrol eteri	Kloroform	Metanol
50µg/mL	98.12	112.42	105.23
100µg/mL	108.64	86.72	122.44

Tablo 4.9’da yer alan ekstraların normal hücre hattı (NIH-3T3) üzerindeki % çoğalma etkisine bakıldığında, bütün ekstraların normal hücre hatları üzerinde herhangi bir toksik etki göstermediği, metanol ve petrol eteri ekstralarının NIH-3T3 hücre hattı üzerinde konsantrasyona bağlı olarak proliferasyonu arttırdığı görülmüştür. Bu sonuca bağlı olarak; petrol eteri ve metanol ekstralarının iyi bir yara iyileştirici aktiviteye sahip olduğu söylenebilir.

4.6. Ekstre İçeren Nanopartiküllerin Karakterizasyon Çalışması

A. kirschneri bitkisinden elde edilen ekstrelerin biyolojik aktiviteleri ve normal hücre hattı (NIH-3T3) üzerindeki % proliferasyon etkileri incelendiğinde, metanol ekstresinin önemli ölçüde biyolojik aktivite gösterdiği belirlendi. Buna karşın, kloroform ekstresi, kanser hücre hatları üzerinde sitotoksik etki sergilemiş ama normal hücre hattı (NIH-3T3) üzerinde de konsantrasyona bağlı toksik etkiler göstermiştir. Bu bulgular doğrultusunda, metanol ekstresinin nanopartikül formülasyonları hazırlandı ve karakterize edildi.

Partikül boyutları ve dağılımı: Nanopartiküllerin parçacık boyutları ve dağılım özellikleri, Malvern Zeta analiz cihazı kullanılarak belirlenmiş olup, elde edilen sonuçlar Tablo 4.10’da sunulmuştur. Elde edilen sonuçlara göre partikül boyutunun hücre kültürü çalışmaları ve diğer biyokimyasal çalışmalar için elverişli olduğunu göstermektedir. Kitozanın katyonik bir polimer olması sebebiyle zeta potansiyel değerinin pozitif aralıkta olması da zeta potansiyelinin istenen değer aralığında olduğunu göstermektedir. PDI (poli dispers indeks) değerinin 0.1 - 0.4 aralığında olması gerekmektedir.

Tablo 4.10. Ekstre yüklü nanopartiküllerin partikül boyutu ve dağılımı sonuçları

Nanopartiküller	ζ potansiyeli (mV) ± SD	Partikül boyutu (nm) ± SD	PDI± SD
NP	1.29±0.02	197.64±2.04	0.308±0.04
AKNP	1.37±0.02	161.24±0.92	0.229±0.03

NP: Boş nanopartikül, AKNP: *A. kirschneri* yüklü kitosan nanopartikül,

Nanopartiküllerin SEM görüntülerine göre Kitosan nanopartiküllerinin pürüzsüz bir yüzey morfolojisine sahip olduğu bulundu. Ayrıca, SEM analizinden elde edilen nanopartiküllerin boyut ölçümlerinin nanopartiküller arası agregasyon nedeniyle daha büyük olduğu fakat Zetasizer cihazından elde edilen boyut ölçümleriyle istenen değer aralığında olduğu için uyumlu olduğu gözlemlendi.

Enkapsülasyon Ekinliği (EE%): Ekstrelerin yüklendiği nanopartiküllerde tutma (enkapsülasyon) verimliliği değerlendirilmiş ve sonuçlar Tablo 4.11’de sunulmuştur. Metanol ekstresi ile hazırlanan nanopartikül formülasyonunun enkapsülasyon verimliliği %80,32 olarak belirlendi. Bu değere bakılarak nanopartikülün ekstrenin önemli bir kısmını enkapsüle ettiği yani kullanılan ekstrenin önemli bir kısmını nanopartikülün enkapsüle ettiğini göstermektedir. Bu sonuç uygulanan nanopartikül hazırlama yöntemi ve kullanılan

polimerlerin içerdği ekstrelerle bir uyum gösterdiği yüksek enkapsülasyon verimi almamıza imkan sağladığını göstermektedir.

Tablo 4.11. Ekstre yüklü nanopartiküllerin enkapsülasyon verimliliği

Parametreler	AKNP
Doğrusal Denklem	$y=0.2705 x \pm 0.0103$
Eğim $\pm$ SD	0.2705 ± 0.013
Kesişim	0.0103 ± 0.0012
Korelasyon katsayısı	0.9905
EE %	80.32 ± 0.11
LC %	9.27 ± 0.02

AKNP: *A. kirschneri* yüklü nanopartikül, EE %: Enkapsülasyon Ekinliği yüzdesi, LC %: Ekstre yükleme kapasitesi yüzdesi

4.7. Anti-inflamatuvar Aktivite Sonuçları

RAW-264.7 hücre hattı, antiinflamatuvar ilaç veya bitki ekstraktlarının etkinliğini test etmek için, makrofaj fonksiyonlarını iyi yansıtan hücrelerdir. Bitkinin metanol ekstresi ve metanol yüklü nanopartiküllerin farklı konsantrasyonlarda antiinflamatuvar etkisi, RAW-264.7 hücre hattı üzerinde çalışıldı. Sonuçlar Tablo 4.12’de gösterildiği gibidir.

Tablo 4.52. Metanol ekstresi ve ekstre içeren NP’lerin RAW-264.7 hücre hattı üzerine konsantrasyona bağlı etkileri.

Hücre canlılığı (% $\pm$ SD)					
Örnekler/Ekstre Konsantrasyonları	0.1 μ M	0.2 μ M	0.5 μ M	1 μ M	2 μ M
Metanol ekstresi	91.23 ± 0.11	85.75 ± 0.09	80.97 ± 0.07	71.38 ± 0.11	61.27 ± 0.17
Metanol ekstresi içeren KNP	94.25 ± 0.08	88.17 ± 0.07	82.38 ± 0.13	74.68 ± 0.14	65.87 ± 0.08

NP: Nanopartikül, KNP: Kitosan nanopartikül

Elde edilen sonuçlara göre 1 μ M konsantrasyona kadar olan dozlarda metanol ekstresinin ve ekstrelerden elde edilen NP’lerin toksik etki göstermediği gözlenmiştir. Ayrıca hücrelere uygulanan NP’lerin ekstreyle kıyasla hücre canlılığının korunması ve sitotoksikite açısından daha güvenilir olduğu gözlenmiştir.

4.8. *A. kirschneri* Uçucu Yağının GC-MS Sonuçları

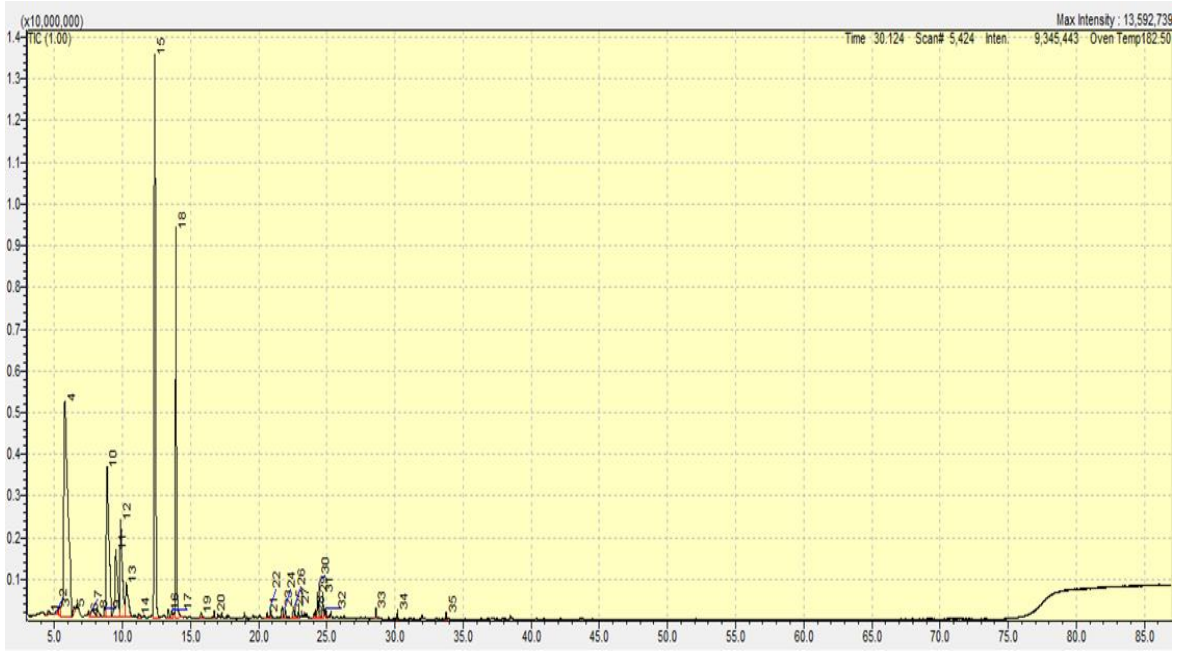
A. kirschneri bitkisinden elde edilen uçucu yağın GC/MS analizi sonucunda, 34 tane kimyasal bileşenin varlığı saptanmıştır. Bu bileşenler, Tablo 4.13’de gösterilmiştir. Temel bileşenlerinin 1,8-Cineole (%27,12), Piperitone (%25,01), Camphor (%11,74), Phenol (%11,45), Terpinen-4-ol (%6,83) ve Borneol (%5,31) olduğu gözlenmiştir. Major bileşenlerin MS spektrumları Şekil 4.1’de verilmiştir.

Tablo 4.13. *A. kirschneri* bitkisinin uçucu yağ kompozisyonu

Pik	Alıkonma Zamanı	% Miktarı	Bileşen İsimleri
1	4.574	0.29	β -Phellandrene
2	5.189	0.21	α -Phellandrene
3	5.395	0.44	α -Terpinene
4	5.765	27.12	1,8-Cineole
5	6.445	0.42	γ -Terpinene
6	7.518	0.22	Sabinene hydrate (trans)
7	7.754	0.65	Octenol
8	8.147	0.53	Menth-2-en-1-ol
9	8.684	0.32	1-Terpineol
10	8.872	11.74	Camphor
11	9.51	3.31	Borneol
12	9.862	3.83	Terpinen-4-ol
13	10.278	0.75	α -Terpineol
14	11.203	0.20	Carveol
15	12.37	25.01	Piperitone
16	13.352	0.34	Isobornyl acetate
17	13.627	0.31	Thymol
18	13.92	11.45	Phenol
19	15.75	0.28	Eugenol
20	16.742	0.21	1-Tetradecene
21	20.623	0.2	γ -Cadinene
22	20.847	0.39	Carvone oxide
23	21.749	0.46	Linalool
24	21.931	0.35	Carvacrol
25	22.538	0.36	Spathulenol
26	22.657	3.32	Caryophyllene oxide
27	22.933	0.31	Octadec-1-ene
28	24.086	0.21	2-propenyl ionone 4

Tablo 4.13. (Devam) *A. kirschneri* bitkisinin uçucu yağ kompozisyonu

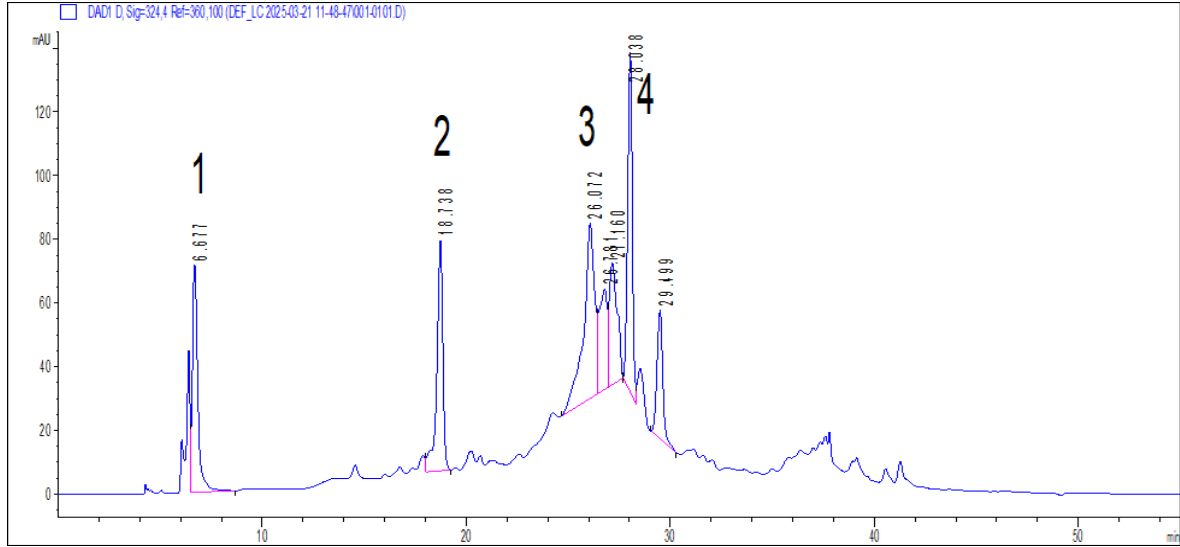
29	24.298	0.56	Caryophylla-5-beta-ol
30	24.428	0.77	Naphth-1-ol
31	24.7	3.74	β -Eudesmol
32	24.922	0.26	Cembrene
33	28.599	0.21	Octadec-1-ene
34	30.18	0.19	Aromadendrene



Şekil 4.1. Uçucu yağda tespit edilen major bileşenlerin PİK değerleri

4.9. Bitkinin İçerdiği Fitokimyasalların Miktar Tayini

A. kirschneri bitkisinin toprak üstü kısımlarından elde edilen maserasyon metanol ekstratlarında bulunan fenolik bileşikler belirlemek için geliştirilen ve validasyonu yapılan HPLC-DAD yöntemi uygulandı. HPLC-DAD sonuçlarına göre, bitkinin ekstresinin klorojenik asit (22,16 µg/mg ekstre), kinik asit (30,59 µg/mg ekstre), rosmarinik asit (79,94 µg/mg ekstre) ve 8-OH salvigenin (19,79 µg/mg ekstre) bileşiklerini içerdiği tespit edildi (Şekil 4.2).



Şekil 4.2. *A. kirschneri bitkisinin metanol ekstresinin kromatogramı*

4.10. Moleküler Docking

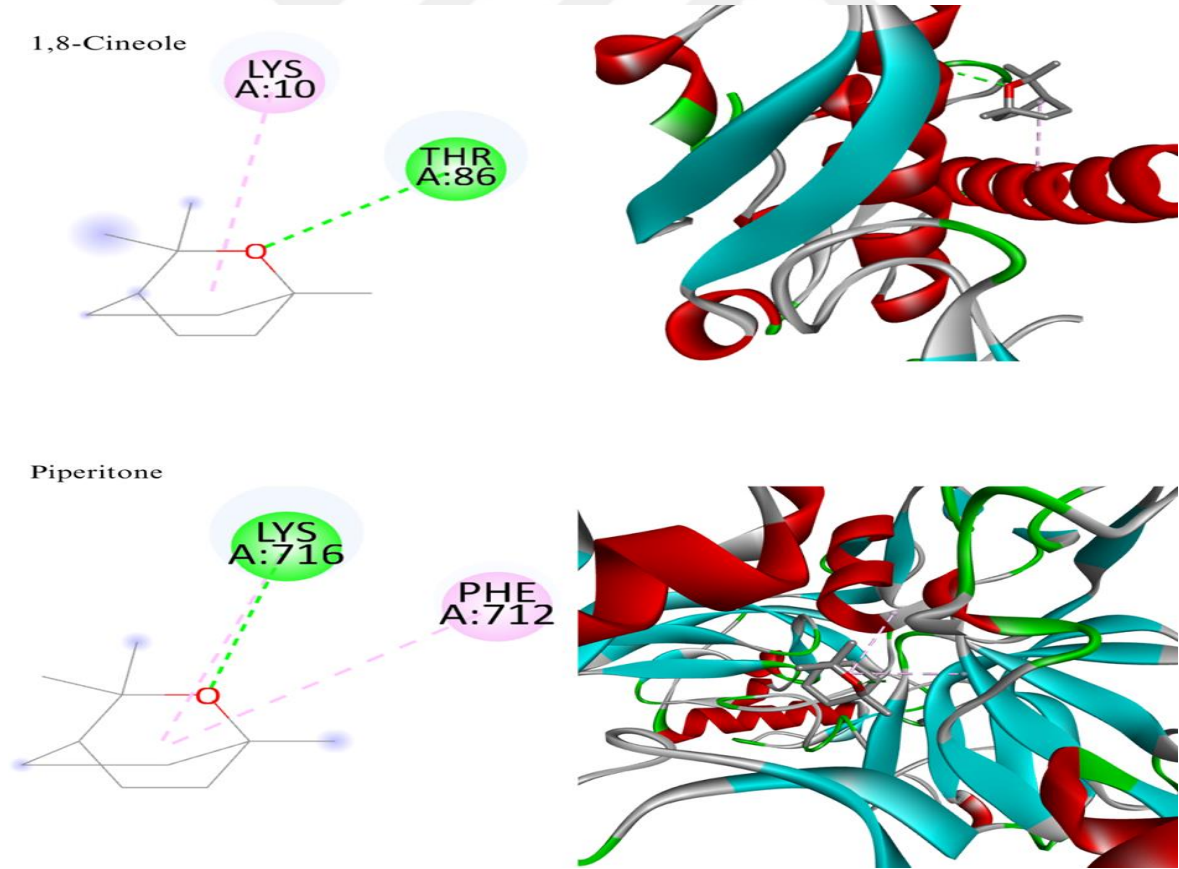
4.10.1. Uçucu yağdaki iki en aktif bileşen için moleküler docking

Tablo 4.14’de *A. kirschneri* bitkisinin uçucu yağ verilerindeki en aktif iki bileşik olan 1,8-Cineole ve piperitone bileşiklerinin asetilkolin esterase ve üreaz protein yapılarındaki moleküler docking skorları verilmiştir. Asetilkolin esterase protein yapısında piperitone bileşiğine iyi bağlanma affinitesi göstermiştir. 1,8-Cineole bileşiği de orta güçlükte bağlanma affinitesi göstermiştir. Üreaz protein yapısında da iki bileşik yaklaşık değerler ile bağlanma affinitesi göstermiştir. İki bileşik üreaz protein yapısında orta güçlükte bağlanma etkisi göstermiştir.

Tablo 4.14. *1,8-Cineole ve piperitone bileşiklerinin asetilkolin esterase ve üreaz protein yapılarındaki moleküler docking skorları*

Protein ID	Protein İsmi	Ligand İsmi	Docking Skoru (kcal/mol)
4EY7	Asetilkolin Esteraz	1,8-Cineole	-5.8
		piperitone	-6.9
4H9M	Üreaz	1,8-Cineole	-5.1
		piperitone	-5.5

Uçucu yağ verilerinde en aktif çıkan iki bileşik olan 1,8-Cineole ve piperitone ile kolinesteraz protein yapısında moleküler docking çalışması yapılmıştır (Şekil 4.8). Analiz sonucunda 1,8-cineole ve piperitone bileşiklerinin hedef proteinin aktif bölgesine başarılı bir şekilde bağlandığı belirlenmiştir. Şekil 4.3'te görüldüğü üzere, 1,8-cineole molekülü proteinin Lys10 ve Thr86 amino asit kalıntılarıyla etkileşim göstermiştir. Bu etkileşimlerin özellikle molekülün oksijen atomu üzerinden gerçekleştiği ve hidrojen bağı karakterinde olduğu saptanmıştır. Bu durum, 1,8-cineole'un aktif bölgedeki polar bölgelerle yüksek özgüllükte etkileşime girdiğini göstermektedir. Piperitone bileşiği ise proteinin farklı bir bölgesine yerleşmiş olup, Lys716 ve Phe712 kalıntılarıyla etkileşim kurmuştur. Bu etkileşimlerin bir kısmı hidrojen bağı (Lys716) ve bir kısmı da hidrofobik veya π -alkil tipi (Phe712) etkileşimler şeklinde gerçekleşmiştir. Piperitone'un karbonil oksijen atomu, elektrostatik etkileşimlerin merkezinde yer alırken, aromatik iskeletin hidrofobik bölgelere gömülmesi bağlanma kararlılığını artırmıştır.

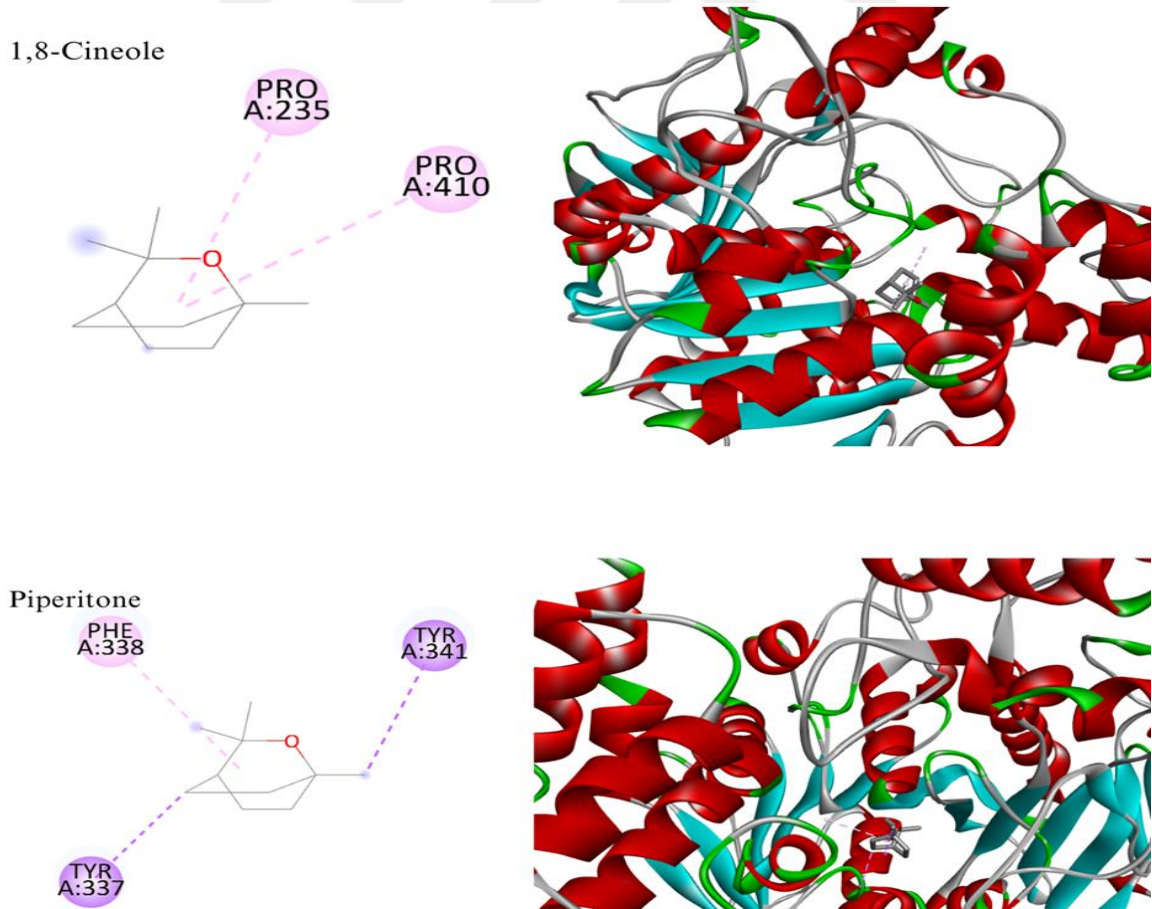


Şekil 4.3. 1,8-Cineole ve piperitone bileşiklerinin kolinesteraz proteinine bağlanma yapısı

Şekil 4.4'te, 1,8-cineole'un prolin kalıntıları ile yakın temasları gösterilmiştir. Prolinler genellikle proteinin hidrofobik ceplerinde yer alır; dolayısıyla 1,8-cineole'un bu bağlanma modu hidrofobik ve van der Waals etkileşimleri ile karakterizedir.

Piperitone'un aromatik amino asitlerle kurduğu π - π ve π -alkil tipi etkileşimler, ligandın bağlanma cebine daha sıkı yerleşmesine olanak verir. Ayrıca piperitone'un karbonil fonksiyonu, aktif bölge yakınında polar etkileşimler veya zayıf dipol-dipol bağları kurarak pozisyonunun sabitlenmesine katkıda bulunur. Üreaz'ın aktif bölgesindeki metal koordinasyonu ve yakın çevredeki aromatik cepler göz önüne alındığında, piperitone'un oluşturduğu aromatik ve hidrofobik etkileşimler bağlanma afinitesini artırarak enzimin katalitik etkinliğini azaltma potansiyeli taşır.

Şekil 4.4'teki etkileşim profiline dayanarak, piperitone'un 1,8-cineole'a kıyasla üreaz inhibitörlüğü bakımından daha kararlı olduğu öngörülebilir; çünkü piperitone daha fazla aromatik/hidrofobik temas ve potansiyel polar bağlantılar göstermektedir.



Şekil 4.4. 1,8-Cineole ve piperitone bileşilerinin üreaz proteinine bağlanma yapısı

4.10.2. Fenolik bileşiklerden en aktif iki bileşen için moleküler docking

Tablo 4.15’de metanol ekstresinin HPLC verilerindeki en aktif iki bileşik olan rosmarinik asit ve kinik asit bileşiklerinin asetilkolin esteraz ve üreaz protein yapılarındaki moleküler docking skorları verilmiştir. Asetilkolin esteraz protein yapısında rosmarinik asit bileşiği çok iyi bağlanma affinitesi göstermiştir. Kinik asit bileşiği de güçlü bağlanma affinitesi göstermiştir. Üreaz protein yapısında da iki bileşik yaklaşık değerler ile bağlanma affinitesi göstermiştir. İki bileşik hem asetilkolin esteraz hem de üreaz protein yapısında çok güçlü bağlanma etkisi göstermiştir.

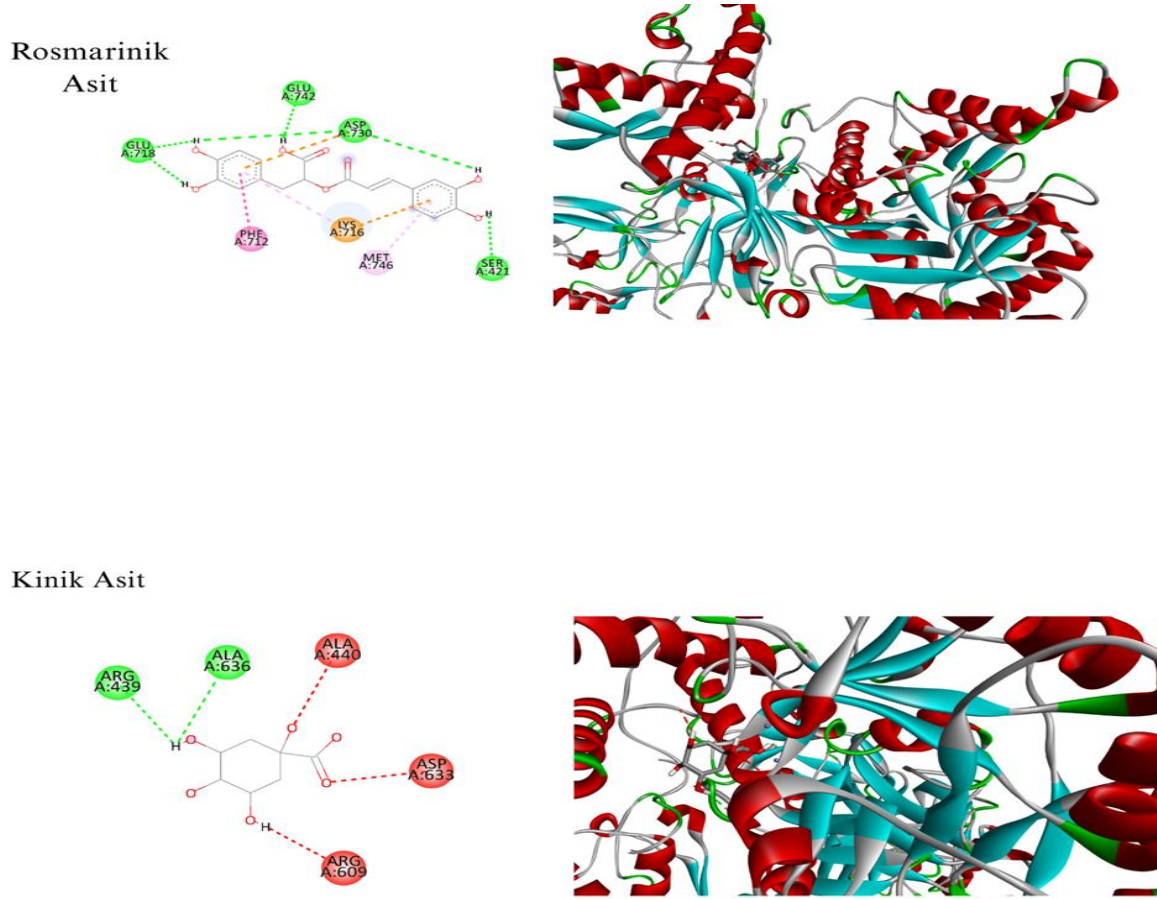
Tablo 4.15. *Rosmarinik asit ve kinik asit bileşiklerinin kolinesteraz ve üreaz protein yapılarındaki moleküler docking skorları*

Protein ID	Protein İsmi	Ligand İsmi	Dokimg Skoru (kcal/mol)
4EY7	Asetilkolin Esteraz	Rosmarinik asit	-10.3
		Kinik Asit	-6.4
4H9M	Üreaz	Rosmarinik asit	-8.1
		Kinik Asit	-6.8

A. kirschneri bitki ekstresinin HPLC verilerinde en aktif çıkan iki bileşik olan rosmarinik asit ve kinik asit ile üreaz protein yapısında moleküler docking çalışması yapılmıştır (Şekil 4.5). Görselde rosmarinik asidin ASP494, ASN518, MET746 ve GLN635 gibi amino asitlerle çok sayıda hidrojen bağı kurduğu görülmektedir. Ayrıca molekülün fenolik hidroksil gruplarının çevredeki polar kalıntılarla etkileşime girmesi, bileşiğin aktif bölgeye yüksek afiniteli şekilde oturduğunu göstermektedir. Rosmarinik asidin aromatik halkaları aktif bölge yakınında bulunan hidrofobik bölgelerle π - π etkileşimler oluşturabilir; bu da bağlanma stabilitesini artırır.

Kinik asit ise üreaz enziminin ARG639, ALA636, ALA640 ve ASP633 gibi amino asitleriyle etkileşmektedir. Özellikle ARG639 ile kurulan hidrojen bağları, ligandın aktif bölgeye doğru yönelmesini sağlamaktadır. Aspartik asit kalıntısı (ASP633) ile gözlenen etkileşim, aktif merkezdeki metal iyonlarının çevresinde yer alan polar ağırlık bir parçasıdır; bu nedenle kinik asidin bağlanması aktif bölgeyi stabilize eden hidrojen köprüleri aracılığıyla gerçekleşmektedir. Ancak rosmarinik aside kıyasla daha az hidrojen bağı

içermesi ve aromatik yapıdan yoksun olması, bağlanma enerjisinin görece daha düşük olmasına yol açar.



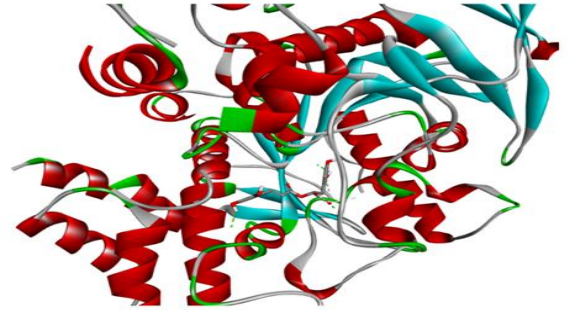
Şekil 4.5. Üreaz proteinine rosmarinik asit ve kinik asit bileşiklerinin moleküler docking analiz görselleri

A. kirschneri bitki ekstresinin HPLC verilerinde en aktif çıkan iki bileşik olan rosmarinik asit ve kinik asit ile asetilkolin esterase protein yapısında moleküler docking çalışması yapılmıştır (Şekil 4.6). Rosmarinik asidin AChE'nin aktif bölgesine güçlü bir şekilde bağlandığı görülmektedir. Ligandın proteinin TRP286, GLY448, ASN87 ve LYS84 gibi kritik amino asitleri ile hidrojen bağları ve hidrofobik etkileşimler kurduğu belirlenmiştir. Özellikle TRP286, AChE'nin katalitik ve periferik anyonik bölgelerindeki kilit kalıntılardan biridir. Bu kalıntıyla etkileşim, rosmarinik asidin asetilkolinin bağlanmasını engelleyerek enzimin aktivitesini inhibe etme potansiyeline işaret etmektedir. Ayrıca üç boyutlu yapıda rosmarinik asidin enzimin bağlanma cebine derinlemesine

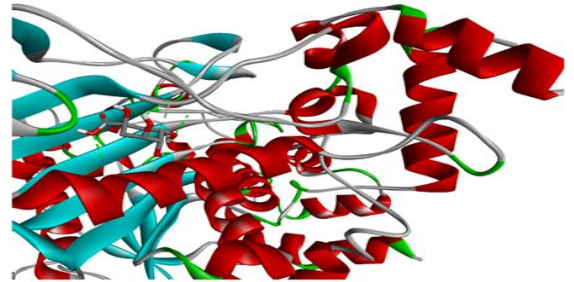
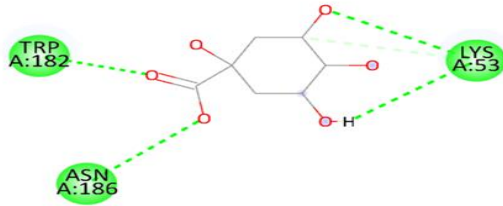
oturduğu ve çevredeki helikal ve beta tabaka bölgeleri arasında stabilize olduğu gözlenmiştir.

Kinik asidin AChE ile olan etkileşimleri incelendiğinde, rosmarinik aside kıyasla daha sınırlı bağlanma gözlenmiştir. Molekülün özellikle TRP182, ASN186 ve LYS53 kalıntıları ile hidrojen bağları kurduğu görülmektedir. Ancak bağlanma konumunun proteinin yüzeyine daha sığ olduğu ve aktif bölgeye tam olarak yerleşmediği anlaşılmaktadır. Bu durum, kinik asidin AChE inhibitörü olarak etkinliğinin rosmarinik aside göre daha düşük olabileceğini göstermektedir.

Rosmarinik Asit



Kinik Asit



Şekil 4.6. Asetilkolin esterase protein yapısında rosmarinik asit ile kinik asit bileşiğinin moleküler docking bulguları

4.11. Farmakolojik Gen Ağ Analizi

4.11.1. Uçucu yağdaki dört major bileşen ile ilgili gen ağı analizi

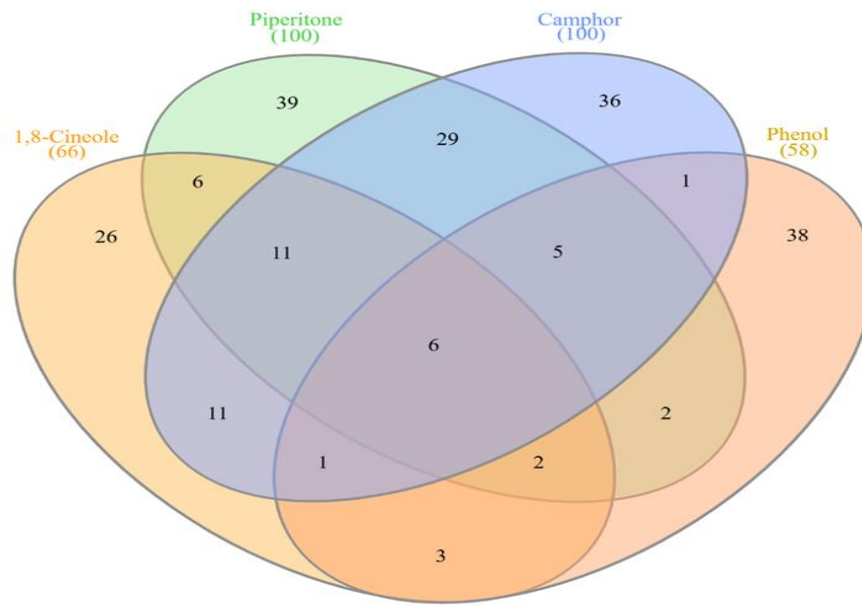
1,8 cineole, piperotine, camphor ve phenol bileşiklerine ait ortak genler Tablo 4.16 ve Şekil 4.7’de verilmiştir. 1,8 cineole, piperotine, camphor ve phenol bileşiklerine ait 6 ortak gen ilişkisi kuruldu. Bu genler HSD17B3, CA1, CA2, CA4, AR ve CES1 genleridir.

Tablo 4.16. *1,8 cineole, piperitone, camphor ve phenol bileşiklerine ait ortak genlerin listesi*

Bileşikler	Ortak Genlerin Listesi
1,8-Cineole $\cap$ Piperitone $\cap$ Camphor $\cap$ Phenol	HSD17B3
	CA2
	CA1
	CA4
	AR
	CES1

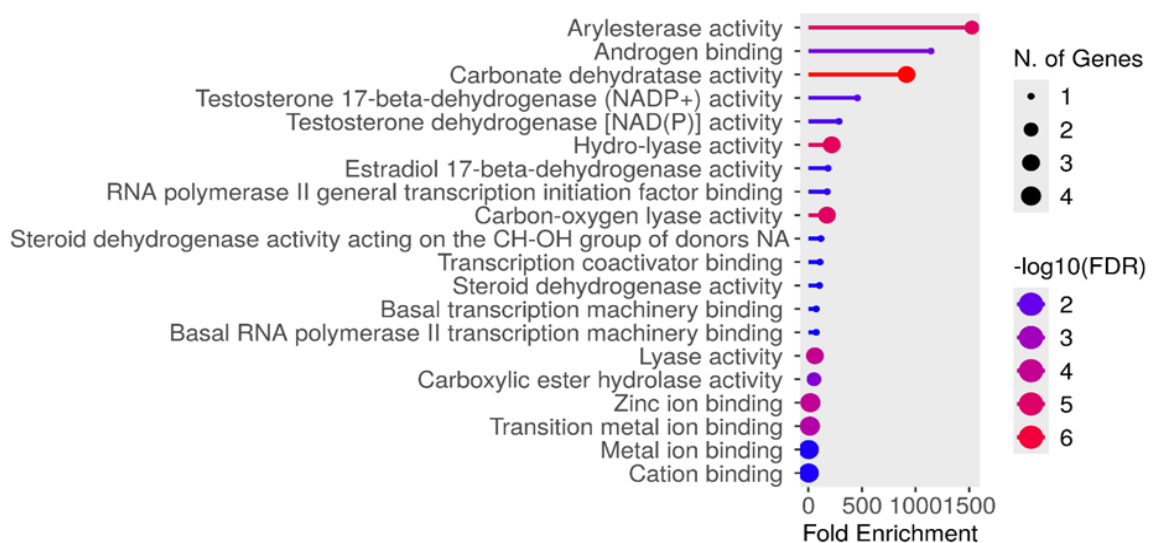
Şekil 4.7’de görüldüğü üzere, incelenen dört bileşiğin hem ortak hem de kendilerine özgü bileşenleri bulunmaktadır. Piperitone (100) ve Camphor (100) en yüksek bileşen çeşitliliğini sergilerken, 1,8-Cineole (66) ve Phenol (58) görece daha düşük sayıda bileşen içermektedir. Dört bileşiğin kesişim kümesinde toplam 6 ortak bileşen bulunması, bu bileşiklerin kimyasal yapılarında ve olası biyolojik aktivitelerinde belirli bir benzerlik olduğunu göstermektedir. Özellikle Piperitone ve Camphor arasında yer alan 29 ortak bileşen, bu iki bileşiğin yapısal ve fonksiyonel açıdan oldukça yakın olduğunu düşündürmektedir. Buna karşılık, 1,8-Cineole ile Phenol arasındaki örtüşme sınırlı olup yalnızca 2 ortak bileşen içermektedir. Özgün bileşenler açısından değerlendirildiğinde, Piperitone (39) ve Phenol (38) en fazla kendine özgü bileşene sahip olup, bu durum her iki bileşiğin farklı biyolojik etkiler gösterebilecek bağımsız yapılar içerdiğini ortaya koymaktadır. 1,8-Cineole (26) ve Camphor (36) ise diğer bileşiklerle daha fazla örtüşme göstermelerine rağmen dikkate değer sayıda özgün bileşene sahiptir.

Genel olarak değerlendirildiğinde, elde edilen bulgular dört bileşiğin hem ortak biyolojik aktivite potansiyeli taşıyabilecek kesişen bileşenler içerdiğini hem de kendilerine özgü farmakolojik etkilere yol açabilecek farklı bileşenler barındırdığını göstermektedir.



Şekil 4.7. 1,8 cineole, piperotine, camphor ve phenol bileşiklerine ait ortak gen analizi

Şekil 4.8’de 1,8-cineole, piperotine, camphor ve phenol bileşiklerinin farmakolojik ağ analizinde ilişkili olduğu moleküler fonksiyon kategorileri yer almaktadır. Görüldüğü üzere, bu bileşiklerle etkileşime giren genlerin büyük bir kısmı, enzimatik aktivite ve bağlanma fonksiyonlarıyla ilişkilidir. Özellikle arilesteraz, dehidrogenaz (testosterone 17-beta-, estradiol 17-beta-, NAD(P)+ bağlı) ve hidrolaz/liyaz aktiviteleri yüksek düzeyde bağlantı göstermektedir.



Şekil 4.8. 1,8 cineole, piperotine, camphor ve phenol bileşiklerine farmakolojik ağ analizindeki moleküler fonksiyon ilişkileri

Şekilde ayrıca androjen bağlanması, transkripsiyonel düzenleme (örneğin “RNA polimeraz II transkripsiyon başlatma faktörü bağlanması”, “transkripsiyon koaktivatörü bağlanması”) ve metal iyon bağlanma (özellikle çinko ve geçiş metalleri) aktivitelerinin de belirgin olduğu görülmektedir.

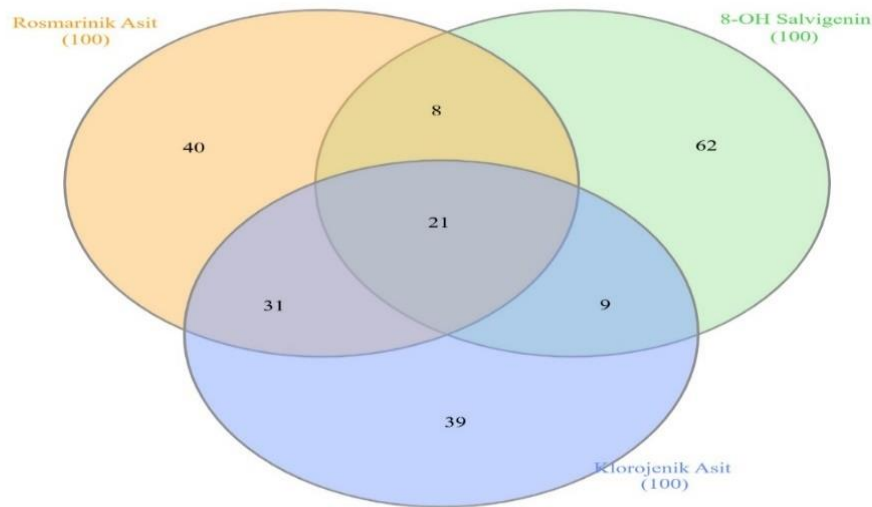
4.11.2. Fenolik bileşikler ile ilgili gen ağı analizi

Klorojenik asit, rosmarinik asit ve 8-OH salvigenin için belirlenen ortak genler Tablo 4.17’de gösterilmiştir. Bu genler arasında yer alan MMP ailesi (MMP2, MMP9, MMP12, MMP13) tümör invazyonu ve inflamasyonda, karbonik anhidraz izoenzimleri (CA1, CA2, CA4, CA6, CA7, CA9, CA12, CA13, CA14) tümör hipoksisi ve metabolik adaptasyonda, EGFR ve MET ise hücre proliferasyonu ve kanser progresyonunda kritik rol oynamaktadır.

Tablo 4.17. Klorojenik asit, rosmarinik asit ve salvigenin bileşiklerine ait ortak gen listesi

Bileşikler	Ortak Genlerin Listesi
Klorojenik asit $\cap$ Rosmarinik asit $\cap$ 8-OH salvigenin	MMP2 CA13 MMP13 LCK MET CA1 AKR1C4 CA6 AKR1B1 CA2 AKR1B10 CA14 CA4 CA9 CA12 AKR1C2 MMP12 APP EGFR CA7 MMP9

Farmakolojik ağ analizinde, rosmarinik asit, 8-OH salvigenin ve klorojenik asit bileşiklerine ait hedef genlerin kesişimi ve özgünlükleri Venn diyagramı ile değerlendirilmiştir (Şekil 4.9). Her bir bileşik için 100 hedef gen tespit edilmiştir.

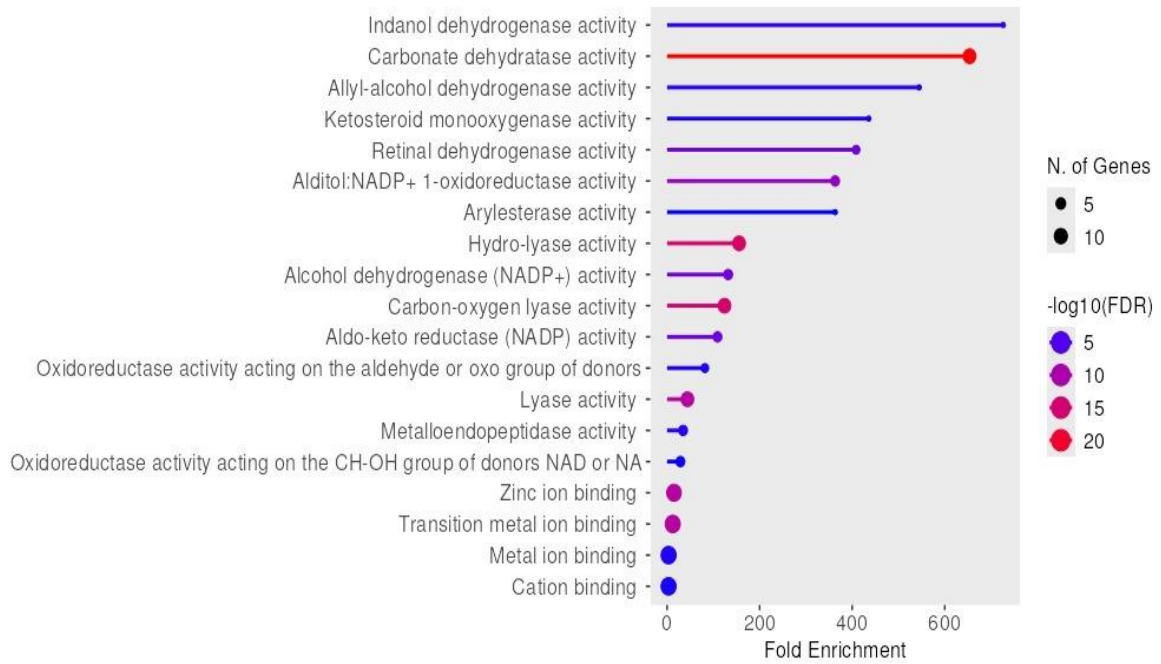


Şekil 4.9. Klorojenik asit, Rosmarinik asit ve 8-OH salvigenin bileşiklerine ait venn diyagramı analizi

Analiz sonucunda, rosmarinik asit'e özgü 40, 8-OH salvigenin'e özgü 62 ve klorojenik asit'e özgü 39 hedef gen belirlenmiştir. İkili karşılaştırmalarda ise rosmarinik asit ve 8-OH salvigenin arasında 8, rosmarinik asit ve klorojenik asit arasında 31, 8-OH salvigenin ve klorojenik asit arasında ise 9 ortak hedef gen tespit edilmiştir. Üç bileşiğin ortak olarak hedeflediği gen sayısı ise 21'dir.

Klorojenik asit, rosmarinik asit ve 8-OH salvigenin bileşiklerinin ortak genlerinin farmakolojik ağı analizi sonucunda, üç bileşiğin ortak genlerinin özellikle oksidoredüktaz enzim aktiviteleri ile güçlü bir şekilde ilişkili olduğu görülmektedir (Şekil 4.10). En yüksek etkileşim sırasıyla indanol dehidrogenaz aktivitesi, karbonat dehidrataz aktivitesi ve allil-alkol dehidrogenaz aktivitesi üzerinde saptanmıştır.

Genel olarak değerlendirildiğinde, klorojenik asit, rosmarinik asit ve 8-OH salvigenin bileşiklerinin ortak genleri, özellikle oksidoredüktaz aktiviteleri, alkol/steroid metabolizması ve metal iyon bağlanması fonksiyonları ile zenginleşmiştir.



Şekil 4.10. Klorojenik asit, rosmarinik asit ve 8-OH salvigenin bileşiklerinin ortak genlerinin farmakolojik ağ ilişkisi

4.12. A. kirschneri Bitkisinin Lokalite Bölgesindeki Etnobotaniksel Özelliği

Bitkinin lokalite bölgesindeki yerel halktan bazıları ile yapılan görüşmeler neticesinde bitkinin toprak üstü kısımlarından hazırlanan infüzyonun midevi ve sindirim sistemini rahatlatıcısı olarak kullanıldığı tespit edilmiştir. Bitkinin yapraklarının toz haline

getirildikten sonra yara tedavisinde kullanıldığı belirlenmiştir. Toprak üstü kısımlarından hazırlanan dekoksiyonun antidiabetik ve soğuk algınlığı hastalıklarının tedavisinde kullanıldığı kayıt altına alınmıştır.

Etnobotaniksel kullanım yönüyle bitkimizin diğer civanperçemi taksonları ile benzer kullanıma sahip olduğu belirlenmiştir.

5. SONUÇ ve TARTIŞMA

Bitkilerle tedavi, insanlık tarihinin en eski ve en köklü tedavi yöntemlerinden biridir ve günümüzde modern tıbbın yanında tamamlayıcı bir tedavi yaklaşımı olarak önemini korumaktadır. Bitkilerin tedavi edici etkileri ve özellikleri içeriklerindeki sekonder metabolitlerden kaynaklanmaktadır [325,326]. Dünya Sağlık Örgütü (WHO), günümüzde dünya nüfusunun yaklaşık %80'inin temel sağlık ihtiyaçları için hâlâ bitkisel tedavilere başvurduğunu bildirmektedir. Ancak bitkisel ilaçların etkililiği kadar güvenilirliği de önemlidir; standardizasyon, toksisite değerlendirmeleri ve klinik çalışmalar olmadan kontrolsüz kullanım ciddi riskler oluşturabilir. Dolayısıyla, bitkilerle tedavi, hem geleneksel bilgeliğin modern farmakolojiyle birleştiği bir alan olarak, hem de yeni ilaç keşifleri için eşsiz bir kaynak olarak değerlendirilmektedir [327].

Bu tezde çalışılan *A. kirschneri* henüz literatüre kazandırıldığı için hakkında herhangi bilimsel bir veri bulunmamaktadır (sistemik çalışma hariç). Diğer *Achillea* taksonları; özellikle fenolik bileşikler, flavonoidler, uçucu yağlar ve seskiterpen laktonlar bakımından zengin içerikleri nedeniyle çok çeşitli biyolojik aktiviteler sergilemektedirler. Araştırma sonuçları, cins üyelerinin antioksidan, antimikrobiyal, antiinflamatuvar, antihipertansif, hipoglisemik, antikanser ve nöroprotektif özellikler gösterdiğini ortaya koymuştur [328-330].

Çalışmada maserasyon yöntemiyle elde edilen petrol eteri, kloroform ve metanol ekstralarının antioksidan, antikolinesteraz, antiürez, antikanser, ekstre yüklü nanopartikül ve onun antiinflamatuvar etkisi belirlenmiş, ayrıca metanol ekstresinin fenolik bileşik analizi, bitkinin uçucu yağ içeriği, fenolik bileşikler ve uçucu yağlardaki major bileşenlerin moleküler docking'i ve farmakolojik gen ağı analizi yapılmıştır.

A. kirschneri bitkisinin toprak üstü kısımlarından elde edilen petrol eteri, kloroform ve metanol ekstralarının antioksidan aktiviteleri DPPH, FRAP ve CUPRAC, toplam fenolik madde miktarlarının belirlenmesi ise Folin-Ciocalteu yöntemleriyle değerlendirilmiştir. Farklı ekstraların DPPH radikal süpürme aktiviteleri incelenerek, sonuçları elde edilmiştir. Bulgulara göre 200 µg/mL konsantrasyonda metanol ekstresi %96,39 inhibisyon oranıyla oldukça yüksek antioksidan etki göstermiştir. Bu değer, standart antioksidan olan askorbik asidin %98,48 inhibisyon oranına oldukça yakın bulunmuştur. Buna karşın kloroform ekstresi %18,82 ve petrol eteri ekstresi %6,25 inhibisyon oranı ile zayıf aktivite göstermiştir. Bu çalışmadaki bulgular, literatürdeki benzer çalışmalarla paralellik göstermektedir. *A. millefolium* bitkisinin metanol ekstresinin

DPPH aktivitesi %92,1 inhibisyon oranı gösterdiği ve bu etkinin kafeik asit türevleri ile flavonoidlerden kaynaklandığı rapor edilmiştir [328]. Benzer şekilde *A. biebersteinii*'nin metanol ekstresinde %94,3 inhibisyon oranı bildirilmiş olup, bunun da luteolin ve apigenin glikozitlerinden kaynaklandığı belirtilmiştir [297]. Ayrıca *A. santolina* üzerine yapılan bir çalışmada, metanol ekstraktının DPPH radikal süpürme oranı %89,5 olarak tespit edilmiş ve bu etkinin uçucu yağlar yerine fenolik bileşiklerle daha güçlü ilişkili olduğu gösterilmiştir [330]. *A. wilhelmsii* üzerine yapılan bir araştırmada ise metanol ekstresinin %95,2 inhibisyon oranına ulaştığı rapor edilmiş olup, bu bulgu bizim sonuçlarımızla büyük ölçüde örtüşmektedir [331]. *A. cucullata*'nın yaprak metanol ekstresinin 200 µg/mL konsantrasyonda %91,6 inhibisyon oranı sergilediği, bu değerin askorbik asit etkisine yakın olduğu bildirilmiştir [332].

A. kirschneri'ye ait farklı ekstrelerin Fe^{3+} iyonu indirgenme potansiyeli FRAP yöntemiyle değerlendirilmiş ve sonuçlar bulgular kısmında sunulmuştur. Sonuçlara göre askorbik asit standardı 20,179 mM $FeSO_4$ /mg ile en yüksek indirgeme kapasitesine sahip olmuştur. Ekstreler arasında ise metanol ekstresi 3,196 mM $FeSO_4$ /mg değeri ile en yüksek antioksidan gücü sergilemiştir. Kloroform (1,826 mM $FeSO_4$ /mg) ve petrol eteri (1,249 mM $FeSO_4$ /mg) ekstrelerinin FRAP aktiviteleri ise daha düşüktür. Literatürde diğer civanperçemi türleri üzerinde yapılan çalışmalar da benzer eğilimler göstermektedir. *A. millefolium* metanol ekstresinin FRAP değerinin 3,45 mM Fe^{2+} /mg olduğu ve bunun yüksek fenolik bileşik içeriği ile ilişkili bulunduğu rapor edilmiştir [328]. *A. santolina*'nin metanol ekstresinde 3,12 mM Fe^{2+} /mg değer elde edilmiş, bu da bizim sonuçlarımıza oldukça yakındır [330]. *A. biebersteinii* üzerine yapılan bir çalışmada, metanol ekstresinin FRAP aktivitesi 2,98 mM Fe^{2+} /mg olarak belirlenmiş, bu sonuç da bizim bulgumuzla paralellik göstermektedir [329]. *A. wilhelmsii*'nin metanol ekstresinin 3,67 mM Fe^{2+} /mg FRAP değeriyle güçlü bir indirgeme kapasitesi sergilediği rapor edilmiştir [299]. Ayrıca *A. cucullata* yaprak ekstresinde 3,01 mM Fe^{2+} /mg değeri tespit edilmiş olup, bu da bizim elde ettiğimiz değerlerle son derece uyumludur [332].

Çalışmamıza ait farklı ekstrelerin CUPRAC değerleri incelenmiş ve polariteye bağlı bir sıralama gözlenmiştir. Metanol ekstresi 2,109 mM TE/mg ile en yüksek indirgeme kapasitesine sahip olurken, kloroform ekstresi 1,108 mM TE/mg ve petrol eteri ekstresi 0,572 mM TE/mg ile daha düşük değerler sergilemiştir. Pozitif kontrol askorbik asit ise 5,683 mM TE/mg değeri ile en yüksek antioksidan gücü göstermiştir. *A. biebersteinii* ve *A. millefolium* üzerine yapılan bir araştırmada metanol ekstrelerinin CUPRAC değerleri

0,096-0,098 mM TE/mg aralığında bulunmuş ve polar çözücülerin non-polar çözücülere göre belirgin üstünlük sağladığı rapor edilmiştir [332]. *A. millefolium* metanol ekstresinde 255,66 mg TE/g CUPRAC değeri bildirilmiş ve bunun yüksek fenolik içerikle ilişkili olduğu vurgulanmıştır [334]. Benzer şekilde *A. phrygia*'da CUPRAC değerleri 175,5 mg TE/g düzeylerinde rapor edilmiştir [335]. *A. clypeolata* üzerine yapılan bir çalışmada da CUPRAC kapasitesi 141 mg TE/g olarak belirlenmiştir [336]. Farklı ekstraksiyon yöntemlerinin CUPRAC üzerine etkisini inceleyen çalışmalar, polar çözücülerin yanı sıra su/alkol karışımlarının da güçlü antioksidan kapasite sağladığını göstermektedir. *A. millefolium* hidroglolik ekstresinde yüksek CUPRAC değeri rapor edilmiş, aynı zamanda ABTS ve FRAP sonuçlarıyla da güçlü korelasyon bulunmuştur [337]. Anadolu'da yetişen 12 farklı *Achillea* türü üzerine yapılan geniş ölçekli bir araştırmada CUPRAC değerlerinin türler arasında farklılık gösterdiği, ancak metanol ekstrelerinin genellikle en yüksek indirgeme kapasitesine sahip olduğu ortaya konmuştur [335]. Benzer şekilde, *A. santolinoides* ve *A. aleppica* üzerine yapılan bir çalışmada polar çözücülerin yüksek CUPRAC değerleri verdiği, kloroform fraksiyonlarının ise orta düzeyde etki gösterdiği bildirilmiştir [338]. *A. grandifolia*'nın su ekstrelerinde de anlamlı düzeyde CUPRAC kapasitesi tespit edilmiştir [339]. Ayrıca, *A. vermicularis* üzerinde yapılan bir araştırmada ekstraksiyon yöntemine bağlı olarak CUPRAC sonuçlarının değiştiği, bazı kloroform ekstrelerinde görece yüksek değerler elde edildiği belirtilmiştir [340]. Neticede, bu çalışmada elde edilen DPPH, FRAP ve CUPRAC değerleri literatürlerle uyumlu olup, *A. kirschneri* bitkisi metanol ekstresinin yüksek antioksidan kapasitesi, fenolik bileşiklerin yoğun ekstraksiyonundan kaynaklandığını, kloroform ve petrol eteri ekstrelerinin daha düşük değerleri ise fenoliklerin düşük çözünürlüğüyle ilişkili olduğunu düşünmekteyiz. Bu durum, *A. kirschneri* bitkisinin doğal antioksidan kaynağı olarak önemli bir potansiyel taşıdığını göstermektedir.

Ekstrelerin toplam fenolik madde içeriklerine göre en yüksek TPC değeri metanol ekstresinde 13,768 mg GAE/mg olarak belirlenmiştir. Kloroform ekstresi 8,344 mg GAE/mg, petrol eteri ekstresi ise 3,540 mg GAE/mg değerine sahiptir. Bu sonuçlar, polar çözücü olan metanolün fenolik bileşikler daha etkin şekilde çözümlediğini göstermektedir. Kloroform orta düzeyde fenolik içerik sağlarken, düşük polariteye sahip petrol eteri fenolik bileşiklerin ekstraksiyonunda sınırlı kalmıştır. *A. millefolium* metanol ekstresinin 35,2 mg GAE/g TPC değerine sahip olduğu ve fenolik asitler ile flavonoidlerden zengin olduğu rapor edilmiştir [341]. *A. biebersteinii* yaprak metanol ekstresinde 27,6 mg GAE/g fenolik

içerik belirlenmiştir [329]. *A. santolina*'da metanol ekstresinin TPC değeri 42,5 mg GAE/g olarak bulunmuş, bu yüksek içerik fenolik bileşiklerin antioksidan kapasiteye katkısını doğrulamıştır [330]. *A. wilhelmsii* üzerine yapılan bir çalışmada metanol ekstresinin 31,8 mg GAE/g fenolik içerdiği bildirilmiştir [331]. Ayrıca, *A. cucullata* yaprak ekstresinde 29,4 mg GAE/g fenolik madde tespit edilmiştir [332]. Türkiye'de ki 12 farklı *Achillea* türü üzerinde yapılan bir araştırmada TPC değerlerinin 15–46 mg GAE/g arasında değiştiği, metanol ve etanol ekstrelerinin her zaman en yüksek değerleri verdiği rapor edilmiştir [333]. *A. phrygia*'da TPC değerinin 24,8 mg GAE/g olduğu, bu değer CUPRAC ve FRAP sonuçlarıyla yüksek korelasyon gösterdiği belirlenmiştir [334]. *A. clypeolata*'nın metanol ekstresinde ise 20,7 mg GAE/g fenolik içerik bulunmuştur [336]. Ayrıca, *A. grandifolia*'nın su/alkol karışımı ekstresinde 22,1 mg GAE/g fenolik içerik saptanmıştır [307]. Bu karşılaştırmalar, çalışmanızdan elde edilen TPC değerlerinin literatürde bildirilen değerlerle paralellik gösterdiğini ortaya koymaktadır. Özellikle metanol ekstresinden elde edilen yüksek TPC değeri, fenolik bileşiklerin antioksidan kapasiteye katkısını desteklemekte ve *A. kirschneri*'nin biyolojik aktivite potansiyelini vurgulamaktadır. Kloroform ve petrol eteri ekstrelerinin düşük fenolik içerikleri ise bu çözücülerin polaritesinin sınırlılığıyla açıklanabilir. Genel olarak, elde edilen sonuçlar *A. kirschneri*'nin güçlü bir doğal antioksidan kaynağı olabileceğini ve farmakolojik açıdan değerlendirilmeye değer bir tür olduğunu göstermektedir.

A. kirschneri bitkisinden elde edilen petrol eteri (%33,24), kloroform (%46,18) ve özellikle metanol ekstresinin (%89,215) 100 µg/mL'de AChE'yi anlamlı biçimde baskıladığı, standart galantaminin (%97,630) altında fakat ona yakın bir etki verdiği görülmektedir. Bu sonuç, *Achillea* cinsinde çözücü polaritesine duyarlı antikolinergik etkinin sık rapor edilen “polar ekstre > orta polar > apolar” sıralamasıyla örtüşmektedir: Doğu Türkiye'de yetişen *A. biebersteinii* ve *A. millefolium* ssp. *millefolium* üzerinde yapılan karşılaştırmalı çalışmada su infüzyonları 500 µg/mL'de sırasıyla %94,3 ve %84,3 AChE inhibisyonu gösterirken n-hekzan ve kloroform ekstrelerinin etkisiz kaldığı bildirilmiştir (galantamin % 96,5) [342]. Bu bulgu, bizim verilerimizde metanol ekstresinin (fenolik/flavonoidce zengin) en güçlü olması ve apolar çözücülerde aktivitenin sınırlı kalmasıyla uyumludur. Benzer şekilde, 16 *Achillea* türünün uçucu yağları üzerinde yürütülen geniş kapsamlı çalışmada kolinesteraz (AChE/BChE) inhibisyonlarının tür ve kimyasal profile göre değiştiği; oksijenli monoterpenlerce (örn. 1,8-sineol, kafur) zengin yağlarda aktivitenin orta düzeyde olduğu, ancak genel olarak ekstraktlara kıyasla daha

zayıf seyrettiği rapor edilmiştir [343]. Bu da bizim apolar fraksiyonlarda (petrol eteri) düşük inhibisyon sonuçlarıyla tutarlıdır. Benzer biçimde, *A. grandifolia*'nın uçucu yağında AChE inhibisyonu %82'nin üzerinde saptanmış ancak IC_{50} değeri 1,77 mg/mL olarak belirlenmiştir; yani yüksek yüzdesel inhibisyona karşın etkin konsantrasyon ihtiyacı ekstraktlara göre daha yüksektir [344], bu da 100 µg/mL'de metanol ekstresinin galantamine yaklaşan etkisini açıklayan matriks-etki farklarına işaret eder. Tür ve çözücü etkisini destekleyen başka çalışmalar da vardır: *A. lycaonica*, *A. vermicularis* ve *A. nobilis* subsp. *neilreichii*'de metanol ve su ekstraktları AChE/BChE üzerinde anlamlı inhibisyonlar göstermiş, apolar fraksiyonlar daha zayıf kalmıştır [313]. *A. fragrantissima*'da hem su-alkollü ekstraktların hem de uçucu yağın kolinesterazları baskıladığı bildirilmiştir [346,347]; bu da kloroform/petrol eterine göre metanol/su fazlarının üstünlüğünü tekrarlamaktadır. *A. aleppica* ve *A. santolinoides*'te ise özellikle metanol ve su ekstraktlarında belirgin BChE/AChE inhibisyonu gözlenmiş, fenolik asitler ve flavonoidlerin katkısı ile ilişkilendirilmiştir [348]. *A. biebersteinii* ve *A. millefolium*'da da metanol/su ekstraktlarının AChE inhibisyonu yüksek, n-hekzan ve kloroform zayıf bulunmuş [342] olup, *A. kirschneri*'nin kloroform fraksiyonunun metanolden düşük kalması durumu ile uyumludur. Öte yandan, *A. millefolium*'dan izole edilen 6-OH-luteolin-7-O-β-D-glukozit gibi spesifik flavonoidlerin AChE için 1,65 µM düzeyinde IC_{50} değerleri verdiği yeni bir derlemede vurgulanmıştır [349]. Bu tür bileşiklerin metanol fazında yoğun olması, bizim metanol ekstresindeki yüksek inhibisyonla (89,2%) tutarlı görünmektedir. Ayrıca, *Achillea* üyelerine ait kapsamlı derlemeler fenolikler (klorojenik/dikaffeoilkinik asitler), flavonlar (apigenin, luteolin türevleri) ve oksijenli monoterpenlerin kolinesteraz inhibisyonuna katkıda bulunduğunu ve aktivitenin coğrafya/hasat zamanı-kimyasal profil üçgeninde değişebildiğini belirtmektedir [350]. Sonuç olarak, 100 µg/mL'de *A. kirschneri* metanol ekstresinin galantamine yaklaşan AChE inhibisyonu, *Achillea* taksonlarında polar çözücülerle elde edilen fenolik/flavonoid-zengin ekstraktların yüksek antikolinesteraz etkinlik gösterdiğini bildiren literatürlerle güçlü biçimde örtüşmektedir. Çalışmalar arası konsantrasyon farkları (bizde 100 µg/mL; literatürde sıklıkla 250–500 µg/mL) ve yöntemsel değişkenler mutlak yüzdeleri etkileyebilebilmektedir [342-344].

Sonuçlara göre 100 µg/mL'de petrol eteri ekstresinin %6,24, kloroform ekstresinin %16,16 ve metanol ekstresinin %52,12 oranında üreaz inhibisyonu gösterdiği, standart inhibitör tiyoürenin ise %84,64 oranında en yüksek aktivite sergilediği görülmektedir. Bu bulgular, özellikle metanol ekstresinin diğer fraksiyonlara kıyasla belirgin bir anti-üreaz

potansiyeli sunduğunu göstermektedir. *A. millefolium*'dan izole edilen akrilik asit türevleri ile ilgili güçlü üreaz inhibisyonu bildirilmiştir (IC_{50} : 10,46–16,87 μ M) [351]. Benzer şekilde, *A. setacea*'da metanol fraksiyonları en yüksek aktiviteyi göstermiştir [352]. Ancak, *A. nobilis*'te eter fraksiyonunun daha etkili olduğu ve bunun apigenin içeriğine bağlı olabileceği rapor edilmiştir [353]. *Achillea* taksonları ile ilgili antiüreaz çalışmaları sınırlı olup, cinsin bağlı olduğu Asteraceae üyelerinde genellikle polar fraksiyonların (metanol, etanol, su) daha yüksek aktivite gösterdiği bildirilmiştir. *Artemisia scoparia*'da toplam flavonoid ve sterolce zengin polar fraksiyonların belirgin inhibitör etki gösterdiği bulunmuştur [354]. *Hypochaeris radicata* ekstrelerinde de anlamlı düzeyde üreaz inhibisyonu rapor edilmiştir [355]. Yine Asteraceae üyesi olan *Inula* cinsine ait 15 takson üzerinde yapılan bir taramada, etanol ekstrelerinin kayda değer inhibitör etki gösterdiği ve bu etkinin klorojenik/ kafeoilkinik asitler gibi fenolik bileşiklere bağlandığı bildirilmiştir [356]. *Matricaria inodora* için bildirilen IC_{50} değerinin (~100 μ g/mL) bizim çalışmamızdaki metanol ekstresinin %52,12 inhibisyonuna oldukça yakın olduğu görülmektedir [357]. Ayrıca, *Helichrysum* türlerinde (ör. *H. plicatum*, *H. graveolens*) yapılan çalışmalarda da metanol/etanol ekstrelerinin yüksek inhibitörlük gösterdiği rapor edilmiştir [358,359]. Bunun yanı sıra, *Centaurea bruguierana* subsp. *bruguierana*'da bildirilen IC_{50} (~250 μ g/mL) değerinin de orta düzeyde aktiviteye işaret ettiği belirtilmiştir [360]. Bu karşılaştırmalar ışığında, çalışmamızda özellikle metanol ekstresinin kayda değer bir aktivite göstermesi çalışılan Asteraceae üyeleri ile genelde benzerdir. Petrol eteri ve kloroform fraksiyonlarının düşük aktivitesi ise kutupsallıkla ilişkili fitokimyasal içerik farklılıklarını yansıtmaktadır. Sonuç olarak, fenolik ve flavonoidçe zengin polar fraksiyonların hedeflenerek fraksiyonlama ve biyoyönlendirilmiş izolasyon çalışmaların yapılması, daha güçlü üreaz inhibitörlerinin elde edilmesine katkı sağlayabileceği kanısındayız.

Antikanser sonuçları değerlendirildiğinde, *A. kirschneri* ekstrelerinin farklı kanser hücre hatları üzerinde değişen düzeylerde sitotoksik etki gösterdiği görülmektedir. Özellikle kloroform ekstraktı, tüm hücre hatlarında diğer ekstrelerden daha yüksek inhibisyon oranlarına ulaşmış, en belirgin etkiyi ise HeLa (%42,92) ve HCT116 (%39,90) hücrelerinde göstermiştir. Bu durum, *Achillea* türlerinde genellikle lipofilik fraksiyonlarda yoğunlaşan sekonder metabolitlerin (örneğin; seskiterpen laktonlar ve flavonoidler) sitotoksik aktivite ile ilişkili olduğunu düşündürmektedir. Metanol ekstraktı ise MCF-7 (%24,85) hücrelerinde orta düzeyde bir etki gösterirken, diğer hücre hatlarında düşük

aktivite sergilemiştir. Petrol eteri ekstresinin ise tüm hücre hatlarında en düşük etkiyi gösterdiği görülmektedir. Literatürde *Achillea* üyeleri ile yapılan benzer çalışmalar da bu bulguları destekler niteliktedir. *A. millefolium*'un metanol ekstraktının MCF-7 hücrelerinde belirgin sitotoksikite oluşturduğu bildirilmiştir [361]. *Achillea biebersteinii*'nin etanol ekstraktının HeLa hücrelerinde apoptotik etki gösterdiği rapor edilmiştir [362]. *A. tenuifolia* ekstraktlarının HCT116 ve MCF-7 hücrelerinde doza bağımlı antiproliferatif aktivite sergilediği kaydedilmiştir [363]. Ayrıca, *A. wilhelmsii* uçucu yağının A549 ve HeLa hücrelerinde sitotoksik etki gösterdiği bildirilmiştir [364]. Benzer şekilde, *A. fragrantissima*'nın etanol ekstraktı MCF-7 ve HeLa hücrelerinde dikkate değer bir inhibisyon sağlamıştır [365]. *A. aleppica*'nın metanol ekstraktı DU-145 ve HCT116 hücrelerinde anlamlı antiproliferatif aktivite göstermiştir [366]. *A. santolina* üzerine yapılan bir çalışmada ise kloroform ekstraktının özellikle HeLa hücrelerinde güçlü sitotoksik aktivite sergilediği bildirilmiştir [367]. *A. clavennae*'nin polifenolik fraksiyonlarının MCF-7 ve A549 hücre hatlarında apoptotik mekanizmaları aktive ettiği belirtilmiştir [368]. Ayrıca, *A. taygetea*'nın metanol ekstraktı üzerine yapılan bir çalışmada, HCT116 hücrelerinde mitokondri aracılı apoptotik yolları aktive ederek antiproliferatif etki sağladığı gösterilmiştir [369]. Son olarak, *A. ligustica* üzerine yapılan bir çalışmada, kloroform fraksiyonunun özellikle servikal kanser hücrelerinde yüksek düzeyde inhibisyon sağladığı rapor edilmiştir [370].

Ekstrelerin 100 µg/mL konsantrasyonda farklı kanser hücre hatları üzerindeki sitotoksik etkileri ise belirgin farklılıklar göstermektedir. Özellikle kloroform ekstresinin HCT116 (%72,96), MCF-7 (%69,45) ve HeLa (%74,63) hücre hatlarında oldukça yüksek inhibisyon oranlarına sahip olduğu görülmektedir. Bu durum, lipofilik bileşiklerin kanser hücre proliferasyonu üzerinde güçlü baskılayıcı etkiye sahip olabileceğini göstermektedir. Petrol eteri ekstresi ise orta düzeyde bir inhibisyon (ör. HCT116 %32,39; MCF-7 %22,12; HeLa %39,52) göstermiştir. Buna karşın metanol ekstresi zayıf inhibisyon değerlerine sahiptir (ör. HCT116 %3,44; A549 %6,33; DU-145 %7,16). Bu bulgular, literatürde bildirilen diğer *Achillea* taksonlarının antikanser aktiviteleriyle uyumludur. Örneğin, *A. millefolium* ekstrelerinin MCF-7 ve A549 hücre hatlarında anlamlı antiproliferatif etki gösterdiği rapor edilmiştir [328]. Benzer şekilde, *A. biebersteinii* ekstrelerinin HeLa ve MCF-7 hücrelerinde sitotoksik etki oluşturduğu bildirilmiştir [371]. *A. wilhelmsii*'nin metanol ekstraktı ise HL-60 ve MCF-7 hücrelerinde apoptoz indükleyici özellik göstermiştir [372]. Yine *A. santolina* ekstrelerinin HeLa hücreleri üzerinde büyümeyi

baskıladığı ve hücre döngüsünü durdurduğu bulunmuştur [373]. Ayrıca, *A. tenuifolia*'nın kloroform ve etanol ekstrelerinin yüksek sitotoksositeye sahip olduğu [374], *A. cretica*'nın metanol ekstresinin MCF-7 hücrelerinde güçlü antiproliferatif etki sergilediği [375], *A. vermicularis*'in ise U87 glioblastoma hücrelerinde anlamlı apoptotik etki gösterdiği rapor edilmiştir [376]. Bunun yanında, *A. schischkinii* ekstrelerinin A549 ve HCT116 hücrelerinde doza bağlı sitotoksikite oluşturduğu bildirilmiştir [377]. Daha yakın zamanda, *A. aleppica* ekstrelerinin kolon kanseri hücreleri (HCT116) üzerinde antiproliferatif etki gösterdiği ve oksidatif stres aracılığıyla apoptoz başlattığı vurgulanmıştır [378]. Elde edilen veriler, özellikle kloroform ekstresinin yüksek sitotoksik aktiviteye sahip olduğunu göstermekte ve bunun *Achillea* cinsine özgü bazı lipofilik sekonder metabolitlerle ilişkili olabileceğini düşündürmektedir. Daha önce de *Achillea* türlerinden izole edilen seskiterpen laktonların ve flavonoidlerin, kanser hücrelerinde apoptoz ve hücre döngüsü durdurma mekanizmalarını aktive ettiği belirtilmiştir [379]. Bu nedenle çalışmamızın sonuçları, *Achillea* taksonlarının antikanser potansiyelini doğrulamakta ve özellikle kloroform fraksiyonunun biyolojik açıdan daha etkili olduğunu göstermektedir.

A. kirschneri bitkisi ekstrelerinin NIH-3T3 fibroblast hücre hattı üzerindeki proliferasyon etkilerini incelediğimizde; 50 µg/mL konsantrasyonunda kloroform ekstresi %112,42 oranında proliferasyonu artırırken, metanol ekstresi %105,23 ve petrol eteri ekstraktı %98,12 oranında proliferasyon sağladığı görülmüştür. 100 µg/mL konsantrasyonunda ise metanol ekstresi %122,44 ile en yüksek proliferasyonu sağlarken, petrol eteri %108,64, kloroform ekstresi ise %86,72 oranında bir proliferasyon artışı göstermiştir. Bu bulgular, *A. kirschneri*'nin fibroblast hücre proliferasyonunu teşvik edici özelliklere sahip olduğunu göstermektedir. Özellikle metanol ekstresi, her iki konsantrasyonda da en yüksek proliferasyon artışını sağlamıştır. Bu durum, metanolün polifenolik bileşiklerin çözünürlüğünü artırarak biyolojik aktivitenin güçlenmesine katkı sağladığını düşündürmektedir. Aynı zamanda, kloroform ekstresinin 50 µg/mL konsantrasyonunda yüksek proliferasyon etkisi göstermesi, bu çözücünün de fibroblast proliferasyonunu artırıcı özelliklere sahip olduğunu göstermektedir. Benzer şekilde literatürde bildirilen çalışmalar, *Achillea* cinsine ait bitkilerin fibroblast proliferasyonu ve yara iyileşmesi üzerindeki etkilerini desteklemektedir. Örneğin, *Achillea kotschyi*, *A. lycaonica*, *A. coarctata*, *A. biebersteinii*, *A. wilhelmsii*, *A. santolina*, *A. tenuifolia*, *A. cretica*, *A. vermicularis* ve *A. schischkinii* bitkilerinin metanol ekstreleri, NIH-3T3 hücrelerinde kollajen üretimini artırmış ve fibroblast proliferasyonunu teşvik etmiştir.

[380]. Bu bulgular, *A. kirschneri*'nin özellikle metanol ve kloroform fraksiyonlarının normal fibroblast proliferasyonunu artırma kapasitesinin literatürdeki diğer *Achillea* türleriyle paralellik gösterdiğini ortaya koymaktadır. Bu ekstrelerin hücre döngüsü düzenleyici proteinler (ör. cyclin D1, p21) ve büyüme faktörleri (VEGF, FGF) üzerinden proliferasyonu destekleyebileceği, aynı zamanda antioksidan özellikleri sayesinde hücre içi oksidatif stresi azaltarak hücre sağkalımını artırabileceği düşünülmektedir [380]. Dolayısıyla, *A. kirschneri* metanol ve kloroform ekstrelerinin normal hücre proliferasyonunu artırıcı etkileri, hem yara iyileşmesi çalışmalarında hem de dokuların yeniden yapılanması süreçlerinde potansiyel uygulamalara işaret etmektedir.

Bitkimizin metanol ekstresi ile hazırlanan nanopartiküller (AKNP-*A. kirschneri*-nanopartikül) karakterize edilmiş ve ortalama partikül boyutu 161,24 nm, zeta potansiyeli +1,37 mV ve PDI değeri 0,229 olarak bulunmuştur. Bu sonuçlar, AKNP'lerin nanometre ölçeğinde, homojen ve stabil bir yapıya sahip olduğunu göstermektedir. Literatürde bildirilen diğer *Achillea* türlerine ait nanopartiküllerle karşılaştırıldığında, *A. gonioccephala* kitosan nanopartiküllerinin ortalama partikül boyutu 274,12 nm, zeta potansiyeli +2,3 mV ve PDI değeri 0,298 olarak rapor edilmiştir [381], bu da AKNP'lerin daha küçük partikül boyutu ve daha düşük PDI değerine sahip olduğunu göstermektedir. Benzer şekilde, *A. millefolium* fenolik bileşiklerle yüklenmiş nanolipozomlarda ortalama partikül boyutu 187,2 nm, zeta potansiyeli +30 mV ve PDI 0,213 olarak bulunmuş, bu da AKNP'lerin daha kompakt ve homojen dağılıma sahip olduğunu ortaya koymuştur [382]. *A. kotschyi*, *A. lycaonica*, *A. coarctata*, *A. biebersteinii*, *A. wilhelmsii*, *A. santolina*, *A. tenuifolia*, *A. cretica*, *A. vermicularis*, *A. schischkinii* ve *A. aleppica* metanol ekstreleri ile hazırlanan nanopartiküller de literatürde ortalama 220–320 nm boyut, +15 ila +36 mV zeta potansiyeli ve 0,25–0,46 PDI değerleri göstermiştir [380]. Bu karşılaştırmalar, AKNP'lerin diğer *Achillea* türlerine kıyasla daha küçük boyut ve daha düşük PDI değerine sahip olduğunu, dolayısıyla daha homojen ve stabil bir yapıda olduğunu göstermektedir. Bu özellikler, biyolojik uygulamalarda partiküllerin daha kontrollü salım, yüksek hücre penetrasyonu ve stabilite açısından avantaj sağlayabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca, zeta potansiyelinin düşük pozitif değerleri, partiküllerin hücre membranları ile etkileşimini optimize ederken, PDI değerinin 0,2–0,3 aralığında olması nanofarmasötik uygulamalarda dağılım homojenliğini desteklemektedir [380-382].

A. kirschneri 'nin metanol ekstresi ile hazırlanan kitosan nanopartiküllerin (AKNP) farmasötik karakterizasyonu ve doğrusal analize dayalı parametrelere bakıldığında;

Doğrusal denklem $y = 0,2705 x$ ile ifade edilmiş, eğim $\pm$ SD değeri 0,2705 ve kesişim değeri 0,0103 olarak saptanmıştır. Korelasyon katsayısı ($R = 0,9905$) yüksek bulunmuş, bu da ölçümlerin doğruluğu ve lineerliğin mükemmel olduğunu göstermektedir. Enkapsülasyon verimliliği (EE %) %80,32 ve yükleme kapasitesi (LC %) %9,27 olarak belirlenmiştir. Bu bulgular, AKNP'nin etkin bir şekilde ekstre içerdiğini ve kitosan nanopartikül formülasyonunun stabil ve kontrollü yükleme sağladığını ortaya koymaktadır. Literatürde, *Achillea* taksonlarına ait nanopartikül sistemleri incelendiğinde, *A. millefolium* metanol ekstreli nanolipozomlarında EE %75–82 ve LC %7–10 aralığında bulunmuş, bu da AKNP'nin yükleme kapasitesi ve enkapsülasyon verimliliği açısından literatürle uyumlu olduğunu göstermektedir [382]. Benzer şekilde, *A. kotschyi*, *A. lycaonica*, *A. coarctata*, *A. biebersteinii*, *A. wilhelmsii*, *A. santolina*, *A. cretica*, *A. tenuifolia*, *A. vermicularis*, *A. schischkinii* ve *A. aleppica* metanol ekstreleri ile hazırlanan nanopartiküllerde enkapsülasyon verimleri %70–85 ve yükleme kapasiteleri %6–11 arasında rapor edilmiştir [380]. Bu karşılaştırmalar, AKNP'nin hem yükleme verimliliği hem de aktif madde içeriği açısından diğer *Achillea* türleriyle uyumlu olduğunu ve bu türün kitosan nanopartikülleri ile biyolojik uygulamalarda etkin bir taşıyıcı sistem olarak kullanılabileceğini göstermektedir. Korelasyon katsayısının yüksekliği ve düşük SD değerleri, AKNP'nin üretim sürecinde homojen ve tekrarlanabilir bir yapıya sahip olduğunu ortaya koymaktadır. Yükleme kapasitesinin %9,27 olarak saptanması, kitosan nanopartiküllerin biyolojik aktiviteyi optimize edecek miktarda aktif bileşik içerdiğini göstermektedir. Bu durum, *A. kirschneri* kitosan nanopartiküllerinin hem antikanser hem de normal hücre proliferasyonu destekleyici etkilerinin etkin bir şekilde uygulanabileceği anlamına gelmektedir. Literatürdeki diğer *Achillea* türlerinde de benzer yüksek EE ve uygun LC değerlerinin, nanopartiküllerin farmakolojik ve terapötik uygulamalarda avantaj sağladığı bildirilmiştir [380-382]. Sonuç olarak, AKNP formülasyonu yüksek lineerlik, uygun enkapsülasyon verimliliği ve yükleme kapasitesi ile literatürdeki diğer *Achillea* nanopartikül sistemleri ile paralellik göstermekte olup, biyolojik uygulamalarda güvenilir ve etkili bir taşıyıcı sistem olarak potansiyelini ortaya koymaktadır.

Bu araştırmada, *A. kirschneri* metanol ekstresi ve metanol ekstresi içeren kitosan nanopartiküllerinin RAW-264.7 makrofaj hücre hattı üzerinde konsantrasyona bağlı sitotoksik etkileri incelenmiştir. Metanol ekstresi 0,1 μ M konsantrasyonda hücre canlılığını %91,23 olarak korurken, konsantrasyon arttıkça canlılık oranı azalmış ve 2 μ M'de %61,27'ye düşmüştür. Benzer şekilde, metanol ekstresi yüklü nanopartiküllerde 0,1

μM 'de %94,25 hücre canlılığı gözlenmiş, 2 μM 'de ise %65,87 olarak kaydedilmiştir. Bu sonuçlar, hem metanol ekstresinin hem de kitosan nanopartikül formülasyonlarının RAW-264.7 hücrelerinde konsantrasyona bağlı olarak sitotoksik etki gösterebileceğini, ancak bu konsantrasyonda nanopartikül formülasyonunun düşük bir koruyucu etki ile hücre canlılığını artırdığını göstermektedir. Bu durum, nanopartikül sistemlerinin aktif bileşikleri kontrollü şekilde salması ve hücrelere yavaş etki etmesi ile açıklanabilir [382]. Araştırma sonuçları, diğer *Achillea* türlerinin metanol ve etanol ekstreleri ile benzer konsantrasyona bağlı etkiler göstermiştir. Örneğin, *A. millefolium*, *A. biebersteinii*, *A. santolina*, *A. wilhelmsii*, *A. coarctata*, *A. cretica*, *A. tenuifolia*, *A. vermicularis*, *A. schischkinii* ve *A. aleppica* ekstreleri RAW-264.7 ve J774A.1 makrofaj hücre hatlarında düşük konsantrasyonlarda hücre proliferasyonunu etkilemezken, yüksek konsantrasyonlarda hücre canlılığını düşürmüş, nanopartikül formülasyonları ise sitotoksik etkileri hafifletmiştir [380,381]. Bu paralellik, *Achillea* türlerinde nanopartikül yüklemesinin aktif bileşiklerin kontrollü salımını sağladığını ve makrofaj hücreleri üzerindeki olumsuz etkileri sınırladığını göstermektedir. Özellikle, metanol ekstresi içeren nanopartiküllerin hücre canlılığını hafifçe artırması, nanoformülasyonun biyouyumluluğunu ve makrofajlarda inflamatuvar yanıtı minimal düzeyde tetiklemesini desteklemektedir. Bu özellik, *A. kirschneri* nanopartiküllerinin hem antiinflamatuvar hem de immün modülatör uygulamalarda potansiyel bir biyomateryal olarak kullanılabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca, literatürde bildirilen diğer *Achillea* üyesi nanopartikül çalışmalarında da benzer şekilde, nanopartikül yüklemesinin aktif bileşiğin kontrollü salımı ve düşük sitotoksiteyi desteklediği rapor edilmiştir [380-381].

A. kirschneri bitkisinin uçucu yağ bileşenleri GC-MS analizi ile incelenmiş ve uçucu yağında 34 farklı bileşiğin varlığı saptandı. Analiz sonuçlarına göre, 1,8-Cineole (%27,12), Piperitone (%25,01), Camphor (%11,74) ve Phenol (%11,45) major bileşenler olarak belirlendi. α -Terpinene, Terpinen-4-ol, Borneol L ve α -Terpineol ise orta düzeyde bulunmuş olup, diğerleri ise minör bileşenler olarak tespit edildi. *A. kirschneri* bitkisinin uçucu yağ kompozisyonu, *Achillea* türlerinin literatürde rapor edilen uçucu yağ profilleri ile paralellik göstermektedir. Örneğin, *A. millefolium* uçucu yağı %18–30 1,8-cineole ve %15–25 piperitone içeriğine sahiptir [380,383]. Benzer şekilde, *A. santolina*, *A. coarctata*, *A. cretica*, *A. biebersteinii*, *A. lycaonica*, *A. wilhelmsii*, *A. vermicularis*, *A. schischkinii* ve *A. aleppica* türlerinde 1,8-cineole, piperitone, kamphor ve borneol başlıca uçucu bileşikler olarak rapor edilmiştir [349,350]. 1,8-Cineole ve piperitone'nin yüksek oranlarda

bulunması, *A. kirschneri* uçucu yağının antioksidan, antimikrobiyal ve antiinflamatuvar aktivitelerde potansiyel biyolojik katkı sağlayabileceğini düşündürmektedir [384]. Camphor ve borneol bileşikler ise literatürde topikal ve sistemik kullanımda hücre proliferasyonu ve antiinflamatuvar etkiler ile ilişkilendirilmiştir [380,383]. Bu veriler, *A. kirschneri*'nin uçucu yağ profili açısından, özellikle *A. millefolium*, *A. santolina*, *A. coarctata* ve *A. cretica* gibi türlerle yüksek derecede benzerlik gösterdiğini ve biyolojik aktiviteler için zengin bir kaynak olabileceğini göstermektedir. Ayrıca, β -Phellandrene, α -Phellandrene, α -Terpinene ve Terpinen-4-ol gibi bulunan diğer minor bileşikler ile monoterpenler ve sesquiterpenler, literatürde *Achillea* türlerinde biyolojik aktiviteyi destekleyen etmenler olarak bildirilmiştir [380,381]. Bu çeşitlilik, hem hücre kültürü çalışmalarında elde edilen antiproliferatif ve antiinflamatuvar etkileri hem de nanopartikül formülasyonları ile yapılan kontrollü salım deneylerini açıklayabilir. Sonuçta, *A. kirschneri* uçucu yağı, literatürdeki diğer *Achillea* türleri ile karşılaştırıldığında benzer ana bileşenleri içerdiği gibi, minor bileşiklerin varlığı ile kompleks biyolojik etkilerini desteklemekte, hem farmakolojik hem de nanofarmasötik uygulamalarda yüksek potansiyel sunmaktadır.

A. kirschneri bitkisinin metanol ekstresi HPLC analizi ile dört önemli fenolik bileşik (kafeik asit, klorojenik asit, 8-hidroksi salvigenin ve rosmarinik asit) tespit edilmiştir. Bu bileşiklerin varlığı, türün biyolojik aktiviteleri açısından önemli ipuçları sunmaktadır. Literatürde, *A. millefolium*, *A. santolina*, *A. coarctata*, *A. cretica*, *A. biebersteinii*, *A. lycaonica*, *A. wilhelmsii*, *A. vermicularis*, *A. schischkinii* ve *A. aleppica* türlerinde yapılan HPLC ve LC-MS analizleri de benzer fenolik bileşiklerin varlığını ortaya koymuş, özellikle rosmarinik asit ve klorojenik asidin dominant bileşikler olduğu rapor edilmiştir [348,350,352]. Rosmarinik asit, literatürde güçlü antioksidan ve antiinflamatuvar etkileri ile bilinir ve *Achillea* türlerinin antikanser ve immün modülatör aktivitelerinde merkezi bir rol oynadığı belirtilmiştir [384]. Klorojenik asit ise hücre proliferasyonu ve sitotoksiste üzerinde önemli biyolojik etkiler gösterebilen bir fenoliktir [280]. 8-hidroksi salvigenin ve kafeik asit, hem antioksidan kapasiteyi artıran hem de apoptotik yolları modüle edebilen bileşikler olarak literatürde yer almaktadır [382]. Bu bağlamda, *A. kirschneri* metanol ekstresinin kromatografik profili, literatürdeki diğer *Achillea* türleri ile yüksek derecede paralellik göstermektedir ve biyolojik aktivitelerde fenolik bileşiklerin sinerjik etkisini desteklemektedir. Bu sonuçlar, metanol ekstresinin antikanser, antiinflamatuvar ve antioksidan aktivitelerinin altında yatan moleküler mekanizmaları açıklamak açısından önemlidir. Diğer *Achillea* türlerinde olduğu gibi, *Achillea kirschneri* ekstresinin fenolik

bileşen profili, nanopartikül yüklemeleri ile kombinlendiğinde kontrollü salım ve biyouyumluluk avantajı sunabilir [381].

Moleküler docking analizleri sonucunda 1,8-cineole ve piperitone bileşiklerinin kolinesteraz enziminin aktif bölgesine yüksek afinite ile bağlandığı belirlenmiştir. Şekil’de görüldüğü üzere 1,8-cineole, LYS10 ve THR86 amino asit kalıntıları ile hidrojen bağları oluşturmuş; bu etkileşimler, bileşiğin enzim aktif merkezinde stabil bir konformasyon kazanmasını sağlamıştır. Benzer şekilde piperitone bileşiği, LYS716 ve PHE712 amino asitleriyle etkileşerek proteinin katalitik bölgesine yakın bir bölgede tutunmuştur. Bu sonuçlar, her iki monoterpen bileşiğin de kolinesteraz enzime karşı potansiyel inhibitör özellik gösterebileceğini ortaya koymaktadır. Literatürde 1,8-cineole ve piperitone gibi oksijenli monoterpenlerin asetilkolinesteraz (AChE) ve bütirilkolinesteraz (BChE) enzimleriyle güçlü etkileşimler kurarak kolinerjik sistem üzerinde düzenleyici etki gösterebildiği, böylece nörodejeneratif hastalıklarda terapötik potansiyel taşıdığı bildirilmiştir [385-387]. Ayrıca Achillea türlerinin uçucu yağlarında bu bileşiklerin yüksek oranda bulunması, bitkinin antikolinesteraz aktivitesine katkıda bulunan temel bileşenlerin bu monoterpenler olduğunu desteklemektedir [388,389]. Dolayısıyla, elde edilen bu sonuçlar 1,8-cineole ve piperitone’un kolinesteraz enzime bağlanma kapasitelerinin nöroprotektif mekanizmalarla ilişkili olabileceğini ve Achillea türlerinin geleneksel bilişsel koruma amaçlı kullanımını bilimsel olarak doğruladığını göstermektedir.

1,8-cineole ve piperitone bileşiklerinin üreaz enziminin aktif bölgesine bağlanma potansiyeline baktığımızda; şekilde görüldüğü üzere, 1,8-cineole PRO235 ve PRO410 amino asit kalıntılarıyla hidrofobik etkileşimler oluşturmuş, bu bağlanmalar bileşiğin enzim yüzeyinde kararlı bir konformasyon kazanmasını sağlamıştır. Benzer şekilde piperitone bileşiği, PHE338, TYR341 ve TYR337 amino asitleriyle etkileşime girerek aromatik halkalar arasındaki π - π etkileşimleri ve Van der Waals kuvvetleri aracılığıyla enzimin aktif bölgesine güçlü bir şekilde tutunmuştur. Bu sonuçlar, her iki monoterpenin de üreaz enziminin katalitik fonksiyonlarını bozabilecek potansiyel inhibitörler olduğunu ortaya koymaktadır. Literatürde 1,8-cineole ve piperitone gibi oksijenli monoterpenlerin, enzimatik aktiviteleri düzenleyici etkiler gösterdiği, özellikle üreaz, α -amilaz ve asetilkolinesteraz gibi hedef proteinlerle yüksek afinite gösterdiği bildirilmiştir [389-391]. Ayrıca Achillea türlerinin uçucu yağlarının zengin monoterpen içeriği sayesinde güçlü antiüreaz ve antiinflamatuvar etkilere sahip olduğu da çeşitli çalışmalarla desteklenmiştir [385,389]. Bu veriler, 1,8-cineole ve piperitone’un üreaz enzimi ile moleküler düzeydeki

etkileşimlerinin bitkinin geleneksel antiinflamatuvar ve mide koruyucu etkilerinin olası mekanizmasını açıklayabileceğini göstermektedir.

Fenolik bileşiklerden rosmarinik asit ve kinik asit bileşiklerinin üreaz enzimiyle güçlü etkileşimler kurduğu görülmüştür. Şekilde görüldüğü üzere rosmarinik asit, ARG439, ASN37, ALA440 ve ASP494 gibi katalitik bölgeye yakın amino asit kalıntılarıyla çoklu hidrojen bağları oluşturmuş ve enzimin aktif merkezine yüksek afinite göstermiştir. Bu bağlanma modeli, rosmarinik asidin fenolik hidroksil grupları sayesinde kararlı bir kompleks yapısı oluşturduğunu ve enzimatik aktivitenin baskılanmasında etkili olabileceğini göstermektedir. Benzer şekilde kinik asit, ALA440, ASP494, TYR543 ve GLU493 kalıntılarıyla hidrojen bağları kurarak üreaz proteinine sıkı bir şekilde tutunmuştur. Bu sonuçlar, her iki fenolik asidin de üreaz enzimi aktivitesini inhibe ederek antiülserojenik ve antiinflamatuvar etkilere katkı sağlayabileceğini göstermektedir. Literatürde rosmarinik ve kinik asidin üreaz inhibitörleri olarak tanımlandığı, bu bileşiklerin ayrıca antioksidan, antiinflamatuvar ve antimikrobiyal aktiviteleriyle de dikkat çektiği bildirilmektedir [391-393]. Achillea türlerinin fenolik bileşik bakımından zengin ekstraktlarının benzer inhibitör profiller sergilediği ve bu etkinin büyük ölçüde rosmarinik ve kinik asit varlığından kaynaklandığı da daha önce rapor edilmiştir [388-389]. Dolayısıyla, bu analizler söz konusu fenolik asitlerin Achillea türlerinin antiüreaz etkisine katkı sağlayan temel bileşenler olduğunu doğrulamaktadır.

Moleküler docking analizleri, rosmarinik asit ve kinik asidin asetilkolinesteraz (AChE) enziminin aktif bölgesiyle güçlü etkileşimler kurduğunu göstermektedir. Şekilde, rosmarinik asit AChE proteininin aktif bölgesinde yer alan TRP86, TYR337, HIS447 ve GLY448 gibi kritik amino asit kalıntılarıyla çok sayıda hidrojen bağı oluşturmuştur. Bu bağlanmalar, rosmarinik asidin hem katalitik hem de periferik aniyonik bölgeye yakın konumlanarak enzimin asetilkolin hidrolizini engelleyebilecek potansiyele sahip olduğunu göstermektedir. Kinik asit ise LYS35, TRP186 ve ASN186 kalıntılarıyla hidrojen bağları kurarak enzimin aktif bölgesinde kararlı bir konformasyon kazanmıştır. Bu sonuçlar, her iki fenolik asidin kolinesteraz enzimini inhibe etme kapasitesine sahip olduğunu ve nörodejeneratif hastalıklarda (özellikle Alzheimer hastalığı) terapötik adaylar olabileceğini göstermektedir. Literatürde rosmarinik asit ve kinik asidin asetilkolinesteraz inhibitör etkilerinin yanı sıra güçlü antioksidan ve nöroprotektif özellikler gösterdiği bildirilmiştir [385,392,394]. Ayrıca Achillea türlerinde bu bileşiklerin varlığı, bitkinin antikolinesteraz aktivitesinin fenolik asit içerikleriyle ilişkili olduğunu desteklemektedir [388,389]. Bu

bağlamda elde edilen docking bulguları, *Achillea* türlerinin geleneksel olarak bilişsel fonksiyonları destekleyici kullanımlarının moleküler temelini doğrulamaktadır.

Farmakolojik ağ analizine göre 1,8-cineole, piperitone, camphor ve phenol bileşiklerinin moleküler düzeyde çeşitli biyolojik fonksiyonlarla ilişkili olduğu belirlenmiştir. Şekilde görüldüğü üzere, bu bileşiklerin özellikle arilesteraz, androjen bağlanma, karbonik anhidraz, dehidrogenaz ve hidrolaz aktiviteleriyle anlamlı düzeyde ilişkili olduğu belirlenmiştir. Ayrıca, steroid dehidrogenaz aktivitesi, RNA polimeraz II transkripsiyon makinesi ile bağlanma ve metal iyon bağlanması gibi fonksiyonel kategorilerde de yüksek “zenginleşme katsayısı” değerleri elde edilmiştir. Bu sonuçlar, ilgili bileşiklerin steroid hormon metabolizması, transkripsiyonel düzenleme ve metal iyon homeostazı gibi temel biyokimyasal süreçlerde düzenleyici roller üstlenebileceğini göstermektedir. Özellikle 1,8-cineole ve camphor’un enzimatik hidro-liaz aktiviteleri üzerinde etkili olduğu, piperitone’un karbon-oksijen liyaz aktivitelerini modüle ettiği ve phenol’un metal iyon bağlama yoluyla oksidoredüktaz sistemlerine etki ettiği daha önce de rapor edilmiştir [389,395,396]. Literatürde monoterpenlerin enzimatik ve transkripsiyonel mekanizmalar üzerindeki etkilerinin, antiinflamatuvar, nöroprotektif ve metabolik dengeleyici aktivitelerle yakından ilişkili olduğu bildirilmiştir [388,397]. Dolayısıyla, elde edilen bu fonksiyonel ağ verileri, incelenen bileşiklerin *Achillea* türlerinin farmakolojik potansiyeline katkı sağlayan biyomoleküler etki mekanizmalarını desteklemektedir.

Klorojenik asit, rosmarinik asit ve 8-OH salvigenin bileşiklerinin ortak genlerinin bir dizi oksidoredüktaz ve dehidrogenaz aktivitesiyle ilişkili olduğu görülmüştür. Şekilde görüldüğü üzere, bu bileşiklerin özellikle indanol dehidrogenaz, karbonat dehidrataz, allil alkol dehidrogenaz ve ketosteroid monooksijenaz aktiviteleriyle yüksek “zenginleşme katsayısı” değerlerine ulaştığı belirlenmiştir. Ayrıca, retinal dehidrogenaz ve aldol dehidrogenaz (NADP⁺) aktivitelerinin de anlamlı düzeyde zenginleşme gösterdiği saptanmıştır. Bu bulgular, fenolik asitlerin ve flavonoid yapıli bileşiklerin, redoks dengesinin düzenlenmesinde görev alan enzimleri modüle ederek antioksidan ve metabolik dengeleyici etkiler oluşturabileceğini düşündürmektedir. Klorojenik ve rosmarinik asitlerin oksidoredüktaz sistemleriyle etkileşimi, serbest radikal temizleme kapasitesini artırarak hücrel oksidatif stresi azalttığı bildirilmiştir [392,398]. Benzer şekilde, 8-OH salvigenin de hidroksil ve metoksi gruplarının elektron donör özellikleri sayesinde güçlü redoks düzenleyici aktivite gösterdiği rapor edilmiştir [385,389]. Bu ağ etkileşimleri, söz konusu bileşiklerin steroid metabolizması, metal iyon homeostazı ve karbon-oksijen liyaz

aktiviteleri gibi biyokimyasal süreçlerde de düzenleyici roller üstlenebileceğini ortaya koymaktadır [388]. Dolayısıyla, bu veriler *Achillea* türlerinden izole edilen fenolik ve flavonoid bileşiklerin çok yönlü farmakolojik aktivitelerini moleküler düzeyde desteklemektedir.

A. kirschneri nin toprak üstü kısımlarından hazırlanan infüzyonun mide ve sindirim sistemini rahatlatıcısı olarak kullanıldığı tespit edilmiştir. Bitkinin yapraklarının toz haline getirildikten sonra yara tedavisinde kullanıldığı belirlenmiştir. Toprak üstü kısımlarından hazırlanan dekoksionun antidiabetik ve soğuk algınlığı hastalıklarının tedavisinde kullanıldığı kayıt altına alınmıştır. Cinsin taksonları ile ilgili literatürdeki bazı çalışmalar incelendiğinde, *A. kirschneri* 'nin etnobotaniksel kullanım olarak benzer özellikler sergilediği tespit edilmiştir [79-107]. Neticede, *A. kirschneri* ile diğer civanperçemi taksonlarının etnobotaniksel açıdan önemli oldukları bu çalışma ile tekrar ortaya konularak; *Achillea* üyelerinin tarım, gıda, tıp, eczacılık, kozmetik, peyzaj gibi alanlarda yüksek kullanım potansiyelinin olduğunun anlaşılmasına olanak tanınmıştır.

Genel Değerlendirme:

Bu çalışma, yeni tanımlanmış endemik bir tür olan *A. kirschneri* üzerine yapılan ilk kapsamlı biyolojik ve fitokimyasal araştırma olması bakımından literatüre önemli bir katkı sunmaktadır. Çalışmada bitkinin farklı çözücülerle elde edilen ekstraktları ve bunlardan hazırlanan nanopartikül formülasyonları değerlendirilmiş, çok yönlü biyolojik aktiviteler ortaya konmuştur.

- ✓ Antioksidan aktivite açısından, metanol ekstresinin yüksek fenolik ve flavonoid içeriğiyle güçlü bir etki gösterdiği, bu yönüyle literatürdeki diğer *Achillea* türleriyle uyumlu olduğu görülmüştür.
- ✓ Antikolinesteraz aktivite bulguları, özellikle metanol ekstresinin galantamin standardına yakın düzeyde etki göstermesiyle dikkat çekmiştir. Bu, *A. kirschneri*'nin nörodejeneratif hastalıklar (Alzheimer vb.) için umut verici bir kaynak olabileceğini düşündürmektedir.
- ✓ Antiürece aktivitesi, polar çözücüde daha yüksek çıkmış ve bu da mide ülseri gibi *Helicobacter pylori* ilişkili hastalıklara yönelik bir potansiyel göstermektedir.
- ✓ Sitotoksik (antikanser) etkiler, özellikle kloroform fraksiyonunun güçlü inhibisyon göstermesi ile belirgin hale gelmiş, bu durum lipofilik sekonder metabolitlerin (ör. seskiterpen laktonlar) önemini ortaya koymuştur.

- ✓ *A. kirschneri*'nin bölgedeki etnobotaniksel özelliği belirlenmiş ve literatürdeki bazı *Achillea* taksonları ile benzer etnobotaniksel özellikler segilediği ortaya konulmuştur.
- ✓ Fibroblast proliferasyonu bulguları, bitkinin yara iyileşmesi ve doku yenilenmesi süreçlerinde potansiyel bir aday olduğunu göstermiştir.
- ✓ Nanopartikül formülasyonları, metanol ekstresi yüklendiğinde hem stabilite hem de biyoyumluluk açısından başarılı bulunmuş, kontrollü salım sayesinde biyolojik etkilerin güçlendirilmesi ve toksisitenin azaltılması sağlanmıştır.
- ✓ Uçucu yağ ve fenolik bileşik profili, literatürdeki çoğu *Achillea* taksonları ile paralellik göstermekte, özellikle 1,8-sineol, piperitone, kafur ve rosmarinik asit gibi bileşikler öne çıkmaktadır.

Araştırma sonuçları göstermektedir ki, *A. kirschneri* bitkisinden elde edilen sonuçlar, literatürde yer alan diğer *Achillea* taksonları ile genellikle paralellik göstermektedir. Çalışma kapsamında ulaşılan veriler *A. kirschneri*'nin farmakolojik ile etnobotaniksel olarak önemli bir tür olduğunu; dolayısı ile hem farmasötik ile fitoterapötik uygulamalarda hem de ilaç geliştirme çalışmalarında değerlendirilebilecek zengin bir biyolojik potansiyele sahip olduğunu göstermektedir. Ayrıca, bu çalışma benzer çalışmalara katkı sunmakta, bilimsel açıdan yol gösterici olmakta ve çalışılan bitkinin farklı amaçlarla ve farklı sektörlerde değerlendirilmesine olanak sunmaktadır.

KAYNAKÇA

- [1] Stojanoski, N. (1999). Development of health culture in Veles and its region from the past to the end of the 20th century. *Society of Science and Art*, 13(1), 13–34
- [2] Kelly, K. (2009). *History of medicine* (pp. 29–50). New York: Facts on File.
- [3] Wiart, C. (2006). *Etnopharmacology of medicinal plants* (pp. 1–50). New Jersey: Humana Press.
- [4] Sivakumar, T., and Balasubramanian, D. (2020). A review on some folk medicinal plants and their common uses. *Research Biotica*, 2(4), 131–134. <https://doi.org/10.54083/ResBio/2.4.2020.131-134>
- [5] Ekim, T., Başer, K. H. C., Güner, A., Vural, M., and Çolak, A. (2006). *Türkiye Bitkileri Kırmızı Kitabı*. Ankara: TTB Yayınları.
- [6] Davis, P. H. (1985). *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*. Edinburgh: Edinburgh University Press.
- [7] Güner, A., Aslan, S., Ekim, T., Vural, M., and Babaç, M. T. (2012). *Türkiye Bitkileri Listesi (Damarlı Bitkiler)*. İstanbul: Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi ve Flora Araştırmaları Derneği Yayını.
- [8] Myers, N., Mittermeier, R. A., Mittermeier, C. G., da Fonseca, G. A. B., and Kent, J. (2000). Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature*, 403, 853–858. <https://doi.org/10.1038/35002501>
- [9] Duman, H. (2000). *Achillea* L. In A. Güner, N. Özhatay, T. Ekim, & K. H. C. Başer (Eds.), *Flora of Turkey and the East Aegean Islands* (Vol. 11, Supplement II). Edinburgh: Edinburgh University Press.
- [10] Benedek, B., Kopp, B., and Melzig, M. F. (2008). *Achillea millefolium* L. s.l.– Is the anti-inflammatory activity mediated by protease inhibition? *Journal of Ethnopharmacology*, 116, 347–353. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2007.12.018>
- [11] Orhan, I. E., Özçelik, B., and Kartal, M. (2010). Biological activities of essential oils and extracts of Turkish *Achillea* species. *Turkish Journal of Biology*, 34, 27–40. <https://doi.org/10.3906/biy-0909-22>
- [12] Candan, F., Unlu, M., Tepe, B., Daferera, D., Polissiou, M., Sökmen, A., and Akpulat, H. A. (2003). Antioxidant and antimicrobial activity of the essential oil and methanol extracts of *Achillea millefolium* subsp. *millefolium* Afan. (Asteraceae). *Journal of Ethnopharmacology*, 87, 215–220. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(03\)00112-0](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(03)00112-0)

- [13] Baser, K. H. C., Özek, T., and Kürkçüoğlu, M. (1996). Essential oils of Turkish *Achillea* species. *Journal of Essential Oil Research*, 8, 287–289. <https://doi.org/10.1080/10412905.1996.9711503>
- [14] Bhushan, B. (2017). *Springer Handbook of Nanotechnology*. Cham: Springer.
- [15] Khan, I., Saeed, K., and Khan, I. (2020). Nanoparticles: Properties, applications and toxicities. *Arabian Journal of Chemistry*, 12(7), 908–931. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2017.05.011>
- [16] Peer, D., Karp, J. M., Hong, S., Farokhzad, O. C., Margalit, R., and Langer, R. (2007). Nanocarriers as an emerging platform for cancer therapy. *Nature Nanotechnology*, 2(12), 751–760. <https://doi.org/10.1038/nnano.2007.387>
- [17] Dash, M., and d’Agostino, M. (2011). Nanotechnology-based delivery systems for anticancer drugs. *Drug Delivery*, 18(8), 539–548. <https://doi.org/10.3109/10717544.2011.596634>
- [18] Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T., Mazur, M., and Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 39(1), 44–84. <https://doi.org/10.1016/j.biocel.2006.07.001>
- [19] Pham-Huy, L. A., He, H., and Pham-Huy, C. (2008). Free radicals, antioxidants in disease and health. *International Journal of Biomedical Science*, 4(2), 89–96.
- [20] Lobo, V., Patil, A., Phatak, A., and Chandra, N. (2010). Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacognosy Reviews*, 4(8), 118–126. <https://doi.org/10.4103/0973-7847.70902>
- [21] Selkoe, D. J., and Hardy, J. (2016). The amyloid hypothesis of Alzheimer’s disease at 25 years. *EMBO Molecular Medicine*, 8(6), 595–608. <https://doi.org/10.15252/emmm.201606210>
- [22] Querfurth, H. W., and LaFerla, F. M. (2010). Alzheimer’s disease. *The New England Journal of Medicine*, 362, 329–344. <https://doi.org/10.1056/NEJMra0909142>
- [23] Yiannopoulou, K. G., and Papageorgiou, S. G. (2020). Current and future treatments in Alzheimer disease: An update. *Journal of Central Nervous System Disease*, 12, 1–12. <https://doi.org/10.1177/1179573520907397>

- [24] Kusters, J. G., van Vliet, A. H. M., and Kuipers, E. J. (2006). Pathogenesis of *Helicobacter pylori* infection. *Clinical Microbiology Reviews*, 19(3), 449–490. <https://doi.org/10.1128/CMR.00054-05>
- [25] Wroblewski, L. E., Peek, R. M., and & Wilson, K. T. (2010). *Helicobacter pylori* and gastric cancer: Factors that modulate disease risk. *Clinical Microbiology Reviews*, 23(4), 713–739. <https://doi.org/10.1128/CMR.00011-10>
- [26] IARC (International Agency for Research on Cancer). (1994). Schistosomes, liver flukes and *Helicobacter pylori*. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, 61, 177–240.
- [27] Thung, I., Aramin, H., Vavinskaya, V., Gupta, S., Park, J.Y., Crowe, S.E., and Valasek, M.A. (2016). Review article: The global emergence of *Helicobacter pylori* antibiotic resistance. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*, 43(4), 514–533.
- [28] Medzhitov, R. (2008). Origin and physiological roles of inflammation. *Nature*, 454, 428–435.
- [29] Lawrence, T. (2009). The nuclear factor NF- κ B pathway in inflammation. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 1(6), a001651.
- [30] Vane, J.R., and Botting, R.M. (1998). Mechanism of action of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. *The American Journal of Medicine*, 104(3A), 2S–8S.
- [31] Azab, A., Nassar, A., and Azab, A.N. (2016). Anti-inflammatory activity of natural products. *Molecules*, 21(10), 1321
- [32] Hanahan, D., and Weinberg, R. A. (2011). Hallmarks of cancer: The next generation. *Cell*, 144(5), 646–674. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2011.02.013>
- [33] Sung, H., Ferlay, J., Siegel, R. L., Laversanne, M., Soerjomataram, I., Jemal, A., & Bray, F. (2021). Global cancer statistics 2020: GLOBOCAN estimates of incidence and mortality worldwide for 36 cancers in 185 countries. *CA: A Cancer Journal for Clinicians*, 71(3), 209–249. <https://doi.org/10.3322/caac.21660>
- [34] Bray, F., Jemal, A., Grey, N., Ferlay, J., and Forman, D. (2018). Global cancer transitions according to the Human Development Index (2008–2030): A population-based study. *The Lancet Oncology*, 13(8), 790–801. [https://doi.org/10.1016/S1470-2045\(12\)70211-5](https://doi.org/10.1016/S1470-2045(12)70211-5)
- [35] Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., and Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential oils – A review. *Food and Chemical Toxicology*, 46(2), 446–475. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.09.106>

- [36] Dhifi, W., Bellili, S., Jazi, S., Bahloul, N., and Mnif, W. (2016). Essential oils' chemical characterization and investigation of some biological activities: A critical review. *Medicines*, 3(4), 25. <https://doi.org/10.3390/medicines3040025>
- [37] Sharifi-Rad, M., Varoni, E. M., and Salehi, B. (2017). Plants of the *Melaleuca* genus as antimicrobial agents: From farm to pharmacy. *Phytotherapy Research*, 31(10), 1475–1494. <https://doi.org/10.1002/ptr.5875>
- [38] Miguel, M. G. (2010). Antioxidant and anti-inflammatory activities of essential oils: A short review. *Molecules*, 15(12), 9252–9287. <https://doi.org/10.3390/molecules15129252>
- [39] Reichling, J., Schnitzler, P., Suschke, U., and Saller, R. (2009). Essential oils of aromatic plants with antibacterial, antifungal, antiviral, and cytotoxic properties – An overview. *Forschende Komplementärmedizin*, 16(2), 79–90. <https://doi.org/10.1159/000201379>
- [40] Tsao, R. (2010). Chemistry and biochemistry of dietary polyphenols. *Nutrients*, 2(12), 1231–1246. <https://doi.org/10.3390/nu2121231>
- [41] Scalbert, A., Johnson, I. T., and Saltmarsh, M. (2005). Polyphenols: Antioxidants and beyond. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 81(1), 215S–217S. <https://doi.org/10.1093/ajcn/81.1.215S>
- [42] Pandey, K. B., and Rizvi, S. I. (2009). Plant polyphenols as dietary antioxidants in human health and disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2(5), 270–278. <https://doi.org/10.4161/oxim.2.5.9498>
- [43] Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Rémésy, C., and Jiménez, L. (2004). Polyphenols: Food sources and bioavailability. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 79(5), 727–747. <https://doi.org/10.1093/ajcn/79.5.727>
- [44] Meng, X. Y., Zhang, H. X., Mezei, M., and Cui, M. (2011). Molecular docking: A powerful approach for structure-based drug discovery. *Current Computer-Aided Drug Design*, 7(2), 146–157. <https://doi.org/10.2174/157340911795677602>
- [45] Ferreira, L. G., Dos Santos, R. N., Oliva, G., and Andricopulo, A. D. (2015). Molecular docking and structure-based drug design strategies. *Molecules*, 20(7), 13384–13421. <https://doi.org/10.3390/molecules200713384>
- [46] Morris, G. M., and Lim-Wilby, M. (2008). Molecular docking. In *Molecular Modeling of Proteins* (pp. 365–382). Humana Press. https://doi.org/10.1007/978-1-59745-177-2_19

- [47] Pagadala, N. S., Syed, K., and Tuszynski, J. (2017). Software for molecular docking: A review. *Biophysical Reviews*, 9(2), 91–102. <https://doi.org/10.1007/s12551-017-0260-8>
- [48] Hopkins, A. L. (2008). Network pharmacology: The next paradigm in drug discovery. *Nature Chemical Biology*, 4(11), 682–690. <https://doi.org/10.1038/nchembio.118>
- [49] Shannon, P., Markiel, A., Ozier, O., Baliga, N. S., Wang, J. T., Ramage, D., and Ideker, T. (2003). Cytoscape: A software environment for integrated models of biomolecular interaction networks. *Genome Research*, 13(11), 2498–2504. <https://doi.org/10.1101/gr.1239303>
- [50] Szklarczyk, D., Gable, A. L., Lyon, D., Junge, A., Wyder, S., Huerta-Cepas, J., and Morris, J. H. (2019). STRING v11: Protein–protein association networks with increased coverage, supporting functional discovery in genome-wide experimental datasets. *Nucleic Acids Research*, 47(D1), D607–D613. <https://doi.org/10.1093/nar/gky1131>
- [51] Barabási, A. L., Gulbahce, N., and Loscalzo, J. (2011). Network medicine: A network-based approach to human disease. *Nature Reviews Genetics*, 12(1), 56–68. <https://doi.org/10.1038/nrg2918>
- [52] Sałaga, M., Piechota-Polańczyk, A., and Celińska-Janowicz, K. (2015). *Achillea millefolium* L. in the treatment of gastrointestinal disorders – a review. *Herba Polonica*, 61(3), 26–36. <https://doi.org/10.1515/hepo-2015-0020>
- [53] Kültür, Ş. (2007). Medicinal plants used in Kırklareli Province (Turkey). *Journal of Ethnopharmacology*, 111(2), 341–364. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2006.11.040>
- [54] Orhan, I. E. (2014). Pharmacognosy and phytochemistry of *Achillea* species. In R. R. Watson & V. R. Preedy (Eds.), *Bioactive Food as Dietary Interventions for Liver and Gastrointestinal Disease* (pp. 301–312). Academic Press. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-397154-8.00025-2>
- [55] Funk, V. A., Susanna, A., Stuessy, T. F., and Bayer, R. J. (2009). *Systematics, Evolution, and Biogeography of Compositae*. Vienna: IAPT.
- [56] Bremer, K. (1994). *Asteraceae: Cladistics and Classification*. Portland, OR: Timber Press.

- [57] Bohlmann, F., and Jakupovic, J. (1990). The role of sesquiterpene lactones in the taxonomy of the Asteraceae. *Plant Systematics and Evolution*, 171(1–4), 167–178. <https://doi.org/10.1007/BF00937708>
- [58] Salehi, B., Sharopov, F., and Martorell, M. (2019). The therapeutic potential of *Artemisia* species in traditional medicine. *European Journal of Pharmacology*, 852, 238–256. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2019.01.036>
- [59] López, V., Akerreta, S., Casanova, E., García-Mina, J. M., Cavero, R. Y., and Calvo, M. I. (2011). In vitro antioxidant and anti-inflammatory activities of *Helichrysum italicum*. *Journal of Ethnopharmacology*, 133(2), 658–664. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2010.10.033>
- [60] Panero, J. L., and Funk, V. A. (2008). The value of sampling anomalous taxa in phylogenetic studies: Major clades of the Asteraceae revealed. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 47(2), 757–782. <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2008.02.011>
- [61] Vallès, J., Garnatje, T., García, S., and Hidalgo, O. (2004). Cytogenetic and molecular diversity in the genus *Achillea* (Asteraceae). *Folia Geobotanica*, 39(2), 183–199. <https://doi.org/10.1007/BF02807782>
- [62] Kandemir, N., and Türkmen, Z. (2010). Cytotaxonomical studies on *Achillea* L. species distributed in Eastern Anatolia. *Turkish Journal of Botany*, 34(4), 287–296. <https://doi.org/10.3906/bot-1003-22>
- [63] Gharibi, S., Tabatabaei, B. E. S., Saeidi, G., and Goli, S. A. H. (2019). Variation in chemical composition, antioxidant and antibacterial activities of essential oil from *Achillea millefolium* populations in Iran. *Industrial Crops and Products*, 131, 147–155. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2019.01.016>
- [64] Benedek, B., and Kopp, B. (2008). *Achillea millefolium* L. s.l. – Is the anti-inflammatory activity mediated by protease inhibition? *Journal of Ethnopharmacology*, 113(2), 312–317. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2007.06.002>
- [65] Ghani, A., Raza, A., Iqbal, M., and Ullah, F. (2020). Phytochemical and pharmacological potential of genus *Achillea* L. *Phytotherapy Research*, 34(3), 450–470. <https://doi.org/10.1002/ptr.6537>
- [66] Najafi, F., Nejatbakhsh, F., and Ghahramanloo, F. (2020). Traditional uses of *Achillea* species in Iranian medicine: A review. *Avicenna Journal of Phytomedicine*, 10(4), 303–313.

- [67] Kökçü, B., Esen, O., and Uysal, İ. (2015). Medicinal plants sold in Çanakkale/Turkey city center herbalists. *Biological Diversity and Conservation*, 8(3), 80–91.
- [68] Polat, R., Çakılcıoğlu, U., Kaltalıoğlu, K., Uluşan, M. D., and Türkmen, Z. (2015). An ethnobotanical study on medicinal plants in Espiye and its surrounding (Giresun-Turkey). *Journal of Ethnopharmacology*, 163, 1–11. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2015.01.008>
- [69] Çakılcıoğlu, U., and Türkoğlu, I. (2009). Plants used for hemorrhoid treatment in Elazığ central district. *Acta Horticulturae*, 826, 89–96. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2009.826.12>
- [70] di Novella, R., di Novella, N., de Martino, L., Mancini, E., and de Feo, V. (2013). Traditional plant use in the National Park of Cilento and Vallo Di Diano, Campania, Southern Italy. *Journal of Ethnopharmacology*, 145(1), 328–342. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2012.11.013>
- [71] Yıldırım, Ş., and Kılıç, Ö. (2019). A remarkable new species, *Achillea kirschneri* from Karakoçan-Elazığ-Turkey. *Ot Sistematik Botanik Dergisi*, 26(1), 79–84.
- [72] Tuzlacı, E. (2006). Türkiye'nin Bitkisel Halk İlaçları, “Şifa Niyetine”. İstanbul: Alfa Yayınları.
- [73] Baser, K. H. C., Demirci, B., Demirci, F., Kocak, S., Akinci, C., Malyer, H., and Guleryuz, G. (2002). Composition and antimicrobial activity of the essential oil of *Achillea multifida*. *Planta Medica*, 68(10), 941–943. <https://doi.org/10.1055/s-2002-36096>
- [74] Benedek, B., and Kopp, B. (2007). *Achillea millefolium* L. s.l.—Is the anti-inflammatory activity mediated by protease inhibition? *Journal of Ethnopharmacology*, 113(2), 312–317. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2007.06.017>
- [75] Gökçe, Y., Gökçe, G., and Çolak, E. (2020). *Achillea* species in Anatolian folk medicine: Phytochemistry and pharmacological properties. *Natural Product Communications*, 15(8), 1–11. <https://doi.org/10.1177/1934578X20937371>
- [76] Sezik, E., Yesilada, E., Honda, G., Takaishi, Y., Takeda, Y., and Tanaka, T. (2001). Traditional medicine in Turkey X: Folk medicine in central Anatolia. *Journal of Ethnopharmacology*, 75(2–3), 95–115. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(00\)00396-8](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(00)00396-8)

- [77] Kırmızı, S., and Özçelik, H. (2013). An ethnobotanical survey of medicinal plants used in Aksaray, Turkey. *Journal of Ethnopharmacology*, 146(1), 250–260. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2012.12.005>
- [78] Nadpal, J. D., Lesjak, M. M., Šibul, F. S., Anačkov, G. T., Četojević-Simin, D. D., Mimica-Dukić, N. M., and Beara, I. N. (2018). Comparative study of biological activity of acetone extracts from selected *Achillea* and *Tanacetum* species. *Industrial Crops and Products*, 123, 173–182. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2018.06.062>
- [79] Obolskiy, D., Penzina, T. A., Suleymanov, S. M., and Dushenkov, S. (2011). Pharmacological and ethnomedicinal review of *Achillea* species. *Phytotherapy Research*, 25(3), 337–358. <https://doi.org/10.1002/ptr.3374>
- [80] Salehi, B., Sharifi-Rad, J., Quispe, C., Sharopov, F., Fathi, H., Imran, M., and Martorell, M. (2020). *Achillea* spp.: A comprehensive review on its ethnobotany, phytochemistry, biological activity, and applications. *Cellular and Molecular Biology*, 66(4), 1–18. <https://doi.org/10.14715/cmb/2020.66.4.1>
- [81] Saeidnia, S., Gohari, A. R., and Mahmoodabadi, M. K. (2011). A review on phytochemistry and medicinal properties of the genus *Achillea*. *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences*, 19(3), 173–186.
- [82] Pieroni, A., Giusti, M. E., de Pasquale, C., Lenzarini, C., Censorii, E., Gonzáles-Tejero, M. R., and Sánchez-Rojas, C. P. (2002). Medicinal plants and food medicines in the folk traditions of the Italian Alps. *Journal of Ethnopharmacology*, 80(2–3), 149–165. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(02\)00022-X](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(02)00022-X)
- [83] Cornara, L., La Rocca, A., Marsili, S., and Mariotti, M. G. (2009). Traditional uses of plants in the Ligurian Alps (Italy). *Journal of Ethnopharmacology*, 125(1), 16–30.
- [84] Moerman, D. E. (2003). *Native American Ethnobotany*. Timber Press, Oregon, USA.
- [85] Al-Snafi, A. E. (2013). The pharmacological importance of *Achillea* species (Yarrow). *IOSR Journal of Pharmacy*, 3(3), 41–47.
- [86] Başer, K. H. C. (2016). Essential Oils of *Achillea* Species of Turkey. *Journal of Essential Oil Research*, 28(2), 85–99.

- [87] Dönmez, C., and Yılmaz, B. (2024). Endemic *Achillea* species in Turkey; phytochemical contents and pharmacological activities. *Journal of Ethnopharmacology*, 315, 117633.
- [88] Güner, A., Aslan, S., Ekim, T., Vural, M., and Babaç, M. T. (2012). Türkiye Bitkileri Listesi (Damarlı Bitkiler). Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi Yayını. İstanbul.
- [89] Applequist, W. L. (2011). Yarrow (*Achillea millefolium* L.): A neglected panacea? *Economic Botany*, 65(2), 209–225.
- [90] Turkmenoglu, F. P., Goger, F., Demirci, B., and Baser, K. H. C. (2015). Characterization of volatile compounds of eleven *Achillea* species from Turkey. *Molecules*, 20(6), 11432–11458. <https://doi.org/10.3390/molecules200611432>
- [91] Al-Qura'n, S. (2009). Ethnopharmacological survey of wild medicinal plants in Jordan. *Journal of Ethnopharmacology*, 123(1), 45–50.
- [92] Rechinger, K. H. (1963). *Flora Iranica*, Vol. 158. Akademische Druck- und Verlagsanstalt, Graz.
- [93] Davis, P. H. (Ed.) (1975). *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*, Vol. 5. Edinburgh University Press, Edinburgh.
- [94] Akkol, E. K., Koca, U., Peşin, İ., and Yilmazer, D. (2011). Evaluation of the wound healing potential of *Achillea biebersteinii*. *Journal of Ethnopharmacology*, 133(2), 623–630.
- [95] Mazandarani, M. (2012). Antioxidant activity and ethnopharmacological survey of *Achillea biebersteinii*. *International Journal of Women's Health and Reproduction Sciences (IJWHR)*, 1(1), 19–24.
- [96] Sevindik, E. (2018). Essential oil composition and antimicrobial activity of *Achillea biebersteinii* collections from central Turkey. *Notulae Scientia Biologicae*, 10(1), 57–61.
- [97] Mirahmadi, S. H., Mirfathi, S. M., and Ghasemi, N. (2012). Phytochemical screening and antioxidant activity of *Achillea biebersteinii* extracts. *Journal of Medicinal Plants Research*, 6(23), 3942–3947.
- [98] Konyar, D., Çelik, S., and Yücel, E. (2014). Ethnobotanical uses of *Achillea* species in the Balkans and Anatolia. *Plant Biosystems*, 148(3), 457–466.

- [99] Abdelhalim, A., Aburjai, T., Hanrahan, J., and Abdel-Halim, H. (2014). Medicinal plants used by traditional healers in Jordan, Saudi Arabia and Yemen for diabetes and hypertension. *Journal of Ethnopharmacology*, 157, 92–102.
- [100] Yousefi, H., Ghasemi Pirbalouti, A., and Malekpoor, F. (2012). Ethnobotanical study of medicinal plants used by Kurdish people in Iran (Kurdistan region). *Journal of Ethnopharmacology*, 141(3), 751–761.
- [101] Sargin, S. A., Akçiçek, E., and Selvi, S. (2013). An ethnobotanical study of medicinal plants used in Bozdoğan (Aydın–Turkey). *Journal of Ethnopharmacology*, 148(3), 901–913.
- [102] Jarić, S., Popović, Z., Mačukanović-Jocić, M., Djurdjević, L., Mijatović, M., Karadžić, B., and Pavlović, P. (2007). Traditional knowledge on the use of wild medicinal plants in Serbia. *Journal of Ethnopharmacology*, 111(1), 160–175. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2006.11.007>
- [103] Ahmad, N., Fazal, H., Abbasi, B. H., Anwar, S., Basir, A., and Fazal, L. (2018). Ethnobotanical and pharmacological properties of *Achillea* species: A review. *Journal of Ethnopharmacology*, 219, 129–145. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2018.03.021>
- [104] Asgarpanah, J., Ziarati, P., and Salehi, B. (2017). Phytochemistry, traditional uses, and pharmacological activities of *Achillea wilhelmsii* C. Koch: A review. *Journal of Ethnopharmacology*, 202, 42–60. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2017.02.019>
- [105] Rezaei, A., Jafari, M., Asghari, B., and Mirzaei, M. (2015). Antihypertensive and hypolipidemic effects of *Achillea wilhelmsii* extracts in humans. *Phytomedicine*, 22(3), 252–259. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2014.11.012>
- [106] Petelinc, T., Polak, T., Demšar, L., and Jamnik, P. (2018). Antioxidant and anti-inflammatory properties of *Achillea abrotanoides* extracts. *Natural Product Research*, 32(8), 1003–1011. <https://doi.org/10.1080/14786419.2017.1338294>
- [107] Barda, C., Kiełtyka-Dadasiewicz, A., Zielińska, S., and Matkowski, A. (2021). Phytochemistry and evidence-based traditional uses of the genus *Achillea* L.: An update (2011–2021). *Plants*, 10(9), 1828. <https://doi.org/10.3390/plants10091828>
- [108] Orhan, I. E., Özçelik, B., Kartal, M., and Şener, B. (2010). Contemporary studies on ethnobotany, ethnopharmacology and phytochemistry of the genus *Achillea* L. (Asteraceae). *Current Pharmaceutical Design*, 16(28), 3776–3805. <https://doi.org/10.2174/138161210793175974>

- [109] Zengin, G., Mahomoodally, M. F., Mollica, A., Yılmaz, M. A., and Aktumsek, A. (2019). Chemical characterization and biological properties of the essential oils from *Achillea biebersteinii* and *Achillea setacea*: Two Turkish endemic species. *Flavour and Fragrance Journal*, 34(2), 134–144. <https://doi.org/10.1002/ffj.3496>
- [110] Orav, A., Arak, E., and Raal, A. (2001). Essential oil composition of *Achillea millefolium* L. of different geographical origin. *Proceedings of the Estonian Academy of Sciences, Chemistry*, 50(1), 29–34.
- [111] Gheribi, E., Boussaid, M., Hmida, M. B., and Selmi, S. (2021). LC-MS/MS based profiling of polyphenols from *Achillea millefolium* and evaluation of their antioxidant activity. *South African Journal of Botany*, 137, 112–118.
- [112] Zengin, G., Mahomoodally, M. F., Aktumsek, A., and Ceylan, R. (2017). Evaluation of chemical profile and biological activities of *Achillea biebersteinii* and *A. santolina*. *Pharmaceutical Biology*, 55(1), 117–123.
- [113] Csupor, D., Blazso, G., and Hohmann, J. (2010). Pharmacological and phytochemical studies of *Achillea* species used in traditional medicine in Europe. *Current Pharmaceutical Design*, 16(19), 2038–2054.
- [114] Saeidnia, S., Gohari, A. R., and Hadjiakhoondi, A. (2005). Flavonoids from *Achillea tenuifolia* Lam. *DARU Journal of Pharmaceutical Sciences*, 13(2), 105–109.
- [115] Demirci, B., Demirci, F., and Başer, K. H. C. (2011). Chemical composition of the essential oil of *Achillea setacea* Waldst. et Kit. *Natural Product Communications*, 6(4), 555–558.
- [116] Kırimer, N., Kızılarşlan, H., Başer, K. H. C., and Demirci, B. (2004). Composition of the essential oil of *Achillea coarctata* Poir. from Turkey. *Journal of Essential Oil Research*, 16(6), 565–566.
- [117] Tabanca, N., Demirci, B., Gören, N., and Başer, K. H. C. (2003). Composition of the essential oil of *Achillea aleppica*. *Turkish Journal of Chemistry*, 27(6), 705–710.
- [118] Rustaiyan, A., Masoudi, S., Monfared, A., and Kamalinejad, M. (1999). Volatile constituents of *Achillea millefolium* L. from Iran. *Flavour and Fragrance Journal*, 14(6), 410–412.
- [119] Baser, K. H. C., Kürkçüoğlu, M., and Demirci, F. (2006). Essential oils of *Achillea arabica* and related taxa from Turkey. *Records of Natural Products*, 1(1), 29–37.

- [120] Topçu, G., Öztürk, M., Kuşman, T., and Gören, N. (2009). Chemical composition and antimicrobial activity of essential oil of *Achillea lycaonica*. *Natural Product Research*, 23(4), 336–343.
- [121] Pereira, R. P., Fachinetto, R., de Souza Prestes, A., Puntel, R. L., Santos da Silva, G. N., Heinzmann, B. M., and Morsch, V. M. (2009). Antioxidant effects of different extracts from *Achillea filipendulina*. *Food and Chemical Toxicology*, 47(10), 2459–2467.
- [122] El-Bakatoushi, R. A., Mohamed, H. M. H., and El-Sayed, S. H. (2017). Chemical composition and antioxidant activity of essential oils from *Achillea fragrantissima* cultivated in Egypt. *Journal of Essential Oil Bearing Plants*, 20(2), 522–534.
- [123] Maggi, F., Venditti, A., Bianco, A., Quassinti, L., Bramucci, M., Lupidi, G., and Marini-Bettolo, G. B. (2015). Phytochemical composition and biological activities of *Achillea ligustica*. *Chemistry & Biodiversity*, 12(4), 569–582.
- [124] Bozan, B., and Temelli, F. (2015). Antioxidant activity and total phenolic content of selected *Achillea* species growing in Turkey. *International Journal of Food Properties*, 18(8), 1820–1830.
- [125] Koçyiğit, A., and Gülçin, İ. (2009). Antioxidant and hepatoprotective activities of *Achillea millefolium* L. against CCl₄-induced liver damage in rats. *Food and Chemical Toxicology*, 47(6), 1370–1376. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2009.03.002>
- [126] Sargsyan, A., and Ohanyan, G. (2019). Antiproliferative activity of *Achillea millefolium* extract in colon cancer cells. *Journal of Medicinal Plants Research*, 13(10), 234–240.
- [127] Sharifi-Rad, J., Salehi, B., Stojanović-Radić, Z., Fokou, P. V. T., Sharopov, F., Martorell, M., and Iriti, M. (2015). Biological activities and phytochemicals of *Achillea biebersteinii* Afan. extract. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 18(4), 411–419.
- [128] Zengin, G., Uysal, S., Ceylan, R., and Aktumsek, A. (2018). Pharmacological potential of *Achillea biebersteinii* in animal models. *Journal of Ethnopharmacology*, 210, 200–207. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2017.08.035>
- [129] Saeidnia, S., Gohari, A. R., and Hadjiakhoondi, A. (2014). Antioxidant constituents of *Achillea santolina* L. growing in Iran. *Pharmaceutical Biology*, 52(10), 1314–1319. <https://doi.org/10.3109/13880209.2014.892514>

- [130] Hadj-Bekhoucha, R., Houari, S., and Sabaou, N. (2017). Anti-inflammatory effects of *Achillea santolina* in experimental animal models. *Phytomedicine*, 24, 136–142. <https://doi.org/10.1016/j.phymed.2016.11.010>
- [131] Iranshahy, M., and Iranshahi, M. (2011). Biological activities of *Achillea tenuifolia* extracts in breast cancer models. *Cytotechnology*, 63(5), 451–459. <https://doi.org/10.1007/s10616-010-9352-6>
- [132] Tayarani-Najaran, Z., Asili, J., Emami, S. A., and Mousavi, S. H. (2010). ACE inhibitory and antioxidant activities of *Achillea wilhelmsii*. *Phytotherapy Research*, 24(2), 186–191. <https://doi.org/10.1002/ptr.2874>
- [133] Boskabady, M. H., Shafei, M. N., Saberi, Z., and Amini, S. (2012). Antidiabetic effect of *Achillea kellalensis* in streptozotocin-induced diabetic rats. *Phytotherapy Research*, 26(6), 821–825. <https://doi.org/10.1002/ptr.3636>
- [134] El-Ghazaly, M. A., Khayyal, M. T., and El-Sherbeni, A. A. (2014). Antitumor activity of *Achillea nobilis* extract on HeLa cells. *Natural Product Research*, 28(5), 351–357. <https://doi.org/10.1080/14786419.2013.871327>
- [135] Shakeri, A., Hazratian, M. M., Shahraki, M., and Shahraki, A. (2016). Evaluation of anticonvulsant activity of *Achillea nobilis* in mice. *Avicenna Journal of Phytomedicine*, 6(3), 275–282.
- [136] Mohamed, T. K., Ammar, N. M., and Osman, M. S. (2018). Antioxidant and antimicrobial activity of *Achillea fragrantissima* essential oil and extract. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 8(6), 309–315. <https://doi.org/10.4103/2221-1691.235270>
- [137] Bahramikia, S., Yazdanparast, R., and Rezaei, M. (2009). Gastroprotective effects of *Achillea eriophora* in rats with ethanol-induced ulcers. *Archives of Iranian Medicine*, 12(1), 28–34.
- [138] Al-Mustafa, A. H., Ali, M. N., and Al-Salem, A. M. (2017). Pancreatic lipase inhibitory activity of *Achillea arabica* extracts. *Journal of Medicinal Plants Research*, 11(9), 164–170.
- [139] Khatibi, S. R., Ghadiri, M., and Amini, M. (2015). Analgesic activity of *Achillea aleppica* in experimental models. *Iranian Journal of Pharmaceutical Research*, 14(3), 823–830.

- [140] Messaoudi, M., Slima, A. B., and Hadj Hassine, M. (2013). DNA protective and antioxidant activities of *Achillea ligustica* extract. Food Chemistry, 138(2–3), 1232–1237. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2012.11.016>
- [141] Süntar, I., Akkol, E. K., and Keles, H. (2012). Evaluation of antihypertensive activity of *Achillea setacea* in spontaneously hypertensive rats. Journal of Ethnopharmacology, 143(1), 286–291. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2012.06.031>
- [142] Bhattacharya, R., and Mukherjee, P. (2008). Biological properties of “naked” metal nanoparticles. Advanced Drug Delivery Reviews, 60(11), 1289–1306. <https://doi.org/10.1016/j.addr.2008.03.013>
- [143] Hatipoğlu, A. (2022). Gümüş Nanopartiküllerin Yeşil Sentezi ve Bazı Gıda Patojenleri Üzerindeki Antimikrobiyal Etkileri. Journal of Natural and Applied Sciences, 26(1), 106–114.
- [144] Panyam, J., and Labhasetwar, V. (2003). Biodegradable nanoparticles for drug and gene delivery to cells and tissue. Advanced Drug Delivery Reviews, 55(3), 329–347. [https://doi.org/10.1016/S0169-409X\(02\)00228-4](https://doi.org/10.1016/S0169-409X(02)00228-4)
- [145] Khan, I., Saeed, K., and Khan, I. (2019). Nanoparticles: Properties, applications and toxicities. Arabian Journal of Chemistry, 12(7), 908–931. <https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2017.05.011>
- [146] Iravani, S. (2011). Green synthesis of metal nanoparticles using plants. Green Chemistry, 13(10), 2638–2650. <https://doi.org/10.1039/c1gc15386b>
- [147] Danhier, F., Feron, O., and Préat, V. (2012). To exploit the tumor microenvironment: Passive and active tumor targeting of nanocarriers for anti-cancer drug delivery. Journal of Controlled Release, 161(2), 505–522. <https://doi.org/10.1016/j.jconrel.2011.09.009>
- [148] Moghimi, S. M., Hunter, A. C., and Murray, J. C. (2005). Nanomedicine: Current status and future prospects. FASEB Journal, 19(3), 311–330. <https://doi.org/10.1096/fj.04-2747rev>
- [149] Gupta, A. K., and Gupta, M. (2005). Synthesis and surface engineering of iron oxide nanoparticles for biomedical applications. Biomaterials, 26(18), 3995–4021. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2004.10.012>
- [150] Raghunandan, D., Ravishankar, B., Sharanbasava, G., Mahesh, D. B., Harsoor, V., and Venkataraman, A. (2011). Anti-cancer studies of noble metal nanoparticles

- synthesized using different plant extracts. *Biotechnology Reports*, 1(1–2), 1–6.
<https://doi.org/10.1016/j.btre.2011.05.001>
- [151] Oberdörster, G., Oberdörster, E., and Oberdörster, J. (2005). Nanotoxicology: An emerging discipline evolving from studies of ultrafine particles. *Environmental Health Perspectives*, 113(7), 823–839. <https://doi.org/10.1289/ehp.7339>
- [152] Valko, M., Leibfritz, D., Moncol, J., Cronin, M. T. D., Mazur, M., and Telser, J. (2007). Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 39(1), 44–84.
<https://doi.org/10.1016/j.biocel.2006.07.001>
- [153] Lobo, V., Patil, A., Phatak, A., and Chandra, N. (2010). Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. *Pharmacognosy Reviews*, 4(8), 118–126. <https://doi.org/10.4103/0973-7847.70902>
- [154] Pham-Huy, L. A., He, H., and Pham-Huy, C. (2008). Free radicals, antioxidants in disease and health. *International Journal of Biomedical Science*, 4(2), 89–96.
- [155] Birben, E., Sahiner, U. M., Sackesen, C., Erzurum, S., and Kalayci, O. (2012). Oxidative stress and antioxidant defense. *World Allergy Organization Journal*, 5(1), 9–19. <https://doi.org/10.1097/WOX.0b013e3182439613>
- [156] Halliwell, B., and Gutteridge, J. M. C. (2015). *Free radicals in biology and medicine* (5th ed.). Oxford University Press.
- [157] Pisoschi, A. M., and Pop, A. (2015). The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *European Journal of Medicinal Chemistry*, 97, 55–74.
<https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2015.04.040>
- [158] Prior, R. L., Wu, X., and Schaich, K. (2005). Standardized methods for the determination of antioxidant capacity and phenolics in foods and dietary supplements. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(10), 4290–4302.
<https://doi.org/10.1021/jf0502698>
- [159] Young, I. S., and Woodside, J. V. (2001). Antioxidants in health and disease. *Journal of Clinical Pathology*, 54(3), 176–186. <https://doi.org/10.1136/jcp.54.3.176>
- [160] Frei, B. (2004). Efficacy of dietary antioxidants to prevent oxidative damage and inhibit chronic disease. *Journal of Nutrition*, 134(11), 3196S–3198S.
<https://doi.org/10.1093/jn/134.11.3196S>
- [161] Carocho, M., and Ferreira, I. C. F. R. (2013). A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: Natural and synthetic compounds, screening

- and analysis methodologies and future perspectives. *Food and Chemical Toxicology*, 51, 15–25. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2012.09.021>
- [162] Alzheimer's Association. (2024). 2024 Alzheimer's Disease Facts and Figures. <https://www.alz.org>
- [163] Alzheimer, A. (1907). Über eine eigenartige Erkrankung der Hirnrinde. *Allgemeine Zeitschrift für Psychiatrie und psychisch-gerichtliche Medizin*, 64, 146–148.
- [164] World Health Organization. (2023). Dementia. <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/dementia>
- [165] Corder, E. H., Saunders, A. M., Strittmatter, W. J., Schmechel, D. E., Gaskell, P. C., Small, G. W., and Roses, A. D. (1993). Gene dose of apolipoprotein E type 4 allele and the risk of Alzheimer's disease in late-onset families. *Science*, 261(5123), 921–923. <https://doi.org/10.1126/science.8346443>
- [166] Hardy, J., and Selkoe, D. J. (2002). The amyloid hypothesis of Alzheimer's disease: Progress and problems on the road to therapeutics. *Science*, 297(5580), 353–356.
- [167] Grundke-Iqbal, I., Iqbal, K., Tung, Y. C., Quinlan, M., Wisniewski, H. M., and Binder, L. I. (1986). Abnormal phosphorylation of the microtubule-associated protein tau in Alzheimer cytoskeletal pathology. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America (PNAS)*, 83(13), 4913–4917. <https://doi.org/10.1073/pnas.83.13.4913>
- [168] Markesbery, W. R. (1997). Oxidative stress hypothesis in Alzheimer's disease. *Free Radical Biology and Medicine*, 23(1), 134–147.
- [169] Heneka, M. T., Golenbock, D. T., Latz, E., Morgan, D., and Brown, R. (2015). Neuroinflammation in Alzheimer's disease. *The Lancet Neurology*, 14(4), 388–405. [https://doi.org/10.1016/S1474-4422\(15\)70016-5](https://doi.org/10.1016/S1474-4422(15)70016-5)
- [170] Bartus, R. T., Dean, R. L., Beer, B., and Lippa, A. S. (1982). The cholinergic hypothesis of geriatric memory dysfunction. *Science*, 217(4558), 408–414. <https://doi.org/10.1126/science.7046051>
- [171] Francis, P. T., Palmer, A. M., Snape, M., and Wilcock, G. K. (1999). The cholinergic hypothesis of Alzheimer's disease: a review of progress. *Journal of Neurology, Neurosurgery & Psychiatry*, 66(2), 137–147. <https://doi.org/10.1136/jnnp.66.2.137>

- [172] Birks, J. (2006). Cholinesterase inhibitors for Alzheimer's disease. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, 2006(1), CD005593. <https://doi.org/10.1002/14651858.CD005593>
- [173] Khachaturian, Z. S. (1989). Calcium hypothesis of Alzheimer's disease and brain aging. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 568(1), 1–4. <https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.1989.tb29927.x>
- [174] LaFerla, F. M. (2002). Calcium dyshomeostasis and intracellular signalling in Alzheimer's disease. *Nature Reviews Neuroscience*, 3(11), 862–872. <https://doi.org/10.1038/nrn960>
- [175] Berridge, M. J. (2010). Calcium hypothesis of Alzheimer's disease. *Pflügers Archiv - European Journal of Physiology*, 459(3), 441–449. <https://doi.org/10.1007/s00424-009-0736-1>
- [176] Hooff, G. P., Wood, W. G., Müller, W. E., and Eckert, G. P. (2010). Isoprenoids, small GTPases and Alzheimer's disease. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular and Cell Biology of Lipids*, 1801(8), 896–905. <https://doi.org/10.1016/j.bbalip.2010.02.007>
- [177] Zhou, Q., and Liao, J. K. (2013). Statins and cardiovascular diseases: from cholesterol lowering to pleiotropy. *Current Pharmaceutical Design*, 17(9), 935–943. <https://doi.org/10.2174/138161211795164378>
- [178] Eckert, G. P., Hooff, G. P., and Müller, W. E. (2009). Mevalonate pathway and its regulation: a therapeutic target in Alzheimer's disease? *Current Pharmaceutical Design*, 15(29), 2988–2995. <https://doi.org/10.2174/138161209789058124>
- [179] Suerbaum, S., and Michetti, P. (2002). *Helicobacter pylori* infection. *New England Journal of Medicine*, 347(15), 1175–1186. <https://doi.org/10.1056/NEJMra020542>
- [180] Montecucco, C., and Rappuoli, R. (2001). Living dangerously: how *Helicobacter pylori* survives in the human stomach. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 2(6), 457–466. <https://doi.org/10.1038/35073084>
- [181] <https://www.usbiotek.com/blog/is-h.-pylori-a-pathogen-or-normal-flora> Erişim tarihi: 06.06.2025
- [182] Mobley, H. L., Cortesia, M. J., Rosenthal, L. E., and Jones, B. D. (2001). Molecular biology of microbial ureases. *Microbiological Reviews*, 59(3), 451–480
- [183] Tomb, J. F., White, O., Kerlavage, A. R., Clayton, R. A., Sutton, G. G., Fleischmann, R. D., and Venter, J. C. (1997). The complete genome sequence of

- the gastric pathogen *Helicobacter pylori*. *Nature*, 388(6642), 539–547.
<https://doi.org/10.1038/41483>
- [184] Amieva, M., and Peek, R. M. (2016). Pathobiology of *Helicobacter pylori*-induced gastric cancer. *Gastroenterology*, 150(1), 64–78.
<https://doi.org/10.1053/j.gastro.2015.09.004>
- [185] Kusters, J. G., van Vliet, A. H. M., and Kuipers, E. J. (2006). Pathogenesis of *Helicobacter pylori* infection. *Clinical Microbiology Reviews*, 19(3), 449–490.
<https://doi.org/10.1128/CMR.00054-05>
- [186] Hatakeyama, M. (2004). Oncogenic mechanisms of the *Helicobacter pylori* CagA protein. *Nature Reviews Cancer*, 4(9), 688–694. <https://doi.org/10.1038/nrc1433>
- [187] Cover, T. L., and Blanke, S. R. (2005). *Helicobacter pylori* VacA, a paradigm for toxin multifunctionality. *Nature Reviews Microbiology*, 3(4), 320–332.
<https://doi.org/10.1038/nrmicro1109>
- [188] Hatakeyama, M. (2004). Oncogenic mechanisms of the *Helicobacter pylori* CagA protein. *Nature Reviews Cancer*, 4(9), 688–694. <https://doi.org/10.1038/nrc1433>
- [189] Blaser, M. J., and Atherton, J. C. (2004). *Helicobacter pylori* persistence: Biology and disease. *Journal of Clinical Investigation*, 113(3), 321–333.
<https://doi.org/10.1172/JCI20925>
- [190] Cellini, L., Grande, R., Di Campli, E., Di Bartolomeo, S., Di Giulio, M., and Trubiani, O. (2008). Biofilm formation and modulation of gene expression by *Helicobacter pylori*. *Current Microbiology*, 56(4), 274–279.
<https://doi.org/10.1007/s00284-007-9077-0>
- [191] Suerbaum, S., and Michetti, P. (2002). *Helicobacter pylori* infection. *New England Journal of Medicine*, 347(15), 1175–1186. <https://doi.org/10.1056/NEJMra020542>
- [192] Blaser, M. J. (1999). Hypotheses on the pathogenesis and natural history of *Helicobacter pylori*-induced inflammation. *Gastroenterology*, 116(2), 306–310.
[https://doi.org/10.1016/S0016-5085\(99\)70178-5](https://doi.org/10.1016/S0016-5085(99)70178-5)
- [193] NIH Consensus Development Panel. (1994). *Helicobacter pylori* in peptic ulcer disease. *JAMA*, 272(1), 65–69.
<https://doi.org/10.1001/jama.1994.03520010087035>
- [194] IARC Working Group on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans. (1994). Schistosomes, liver flukes and *Helicobacter pylori*. IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans, 61, 1–241.

- [195] Correa, P. (1992). Human gastric carcinogenesis: A multistep and multifactorial process—First American Cancer Society Award Lecture on Cancer Epidemiology and Prevention. *Cancer Research*, 52(24), 6735–6740.
- [196] Peek, R. M., and Blaser, M. J. (2002). *Helicobacter pylori* and gastrointestinal tract adenocarcinomas. *Nature Reviews Cancer*, 2(1), 28–37. <https://doi.org/10.1038/nrc703>
- [197] Wotherspoon, A. C., Ortiz-Hidalgo, C., Falzon, M. R., and Isaacson, P. G. (1991). *Helicobacter pylori*-associated gastritis and primary B-cell gastric lymphoma. *Lancet*, 338(8776), 1175–1176. [https://doi.org/10.1016/0140-6736\(91\)92035-Z](https://doi.org/10.1016/0140-6736(91)92035-Z)
- [198] Franceschi, F., Gasbarrini, A., and Polyzos, S. A. (2014). Extragastric diseases and *Helicobacter pylori*. *Helicobacter*, 19(Suppl 1), 52–58. <https://doi.org/10.1111/hel.12161>
- [199] Muhsen, K., and Cohen, D. (2008). *Helicobacter pylori* infection and iron stores: A systematic review and meta-analysis. *Helicobacter*, 13(5), 323–340. <https://doi.org/10.1111/j.1523-5378.2008.00624.x>
- [200] Medzhitov, R. (2008). Origin and physiological roles of inflammation. *Nature*, 454(7203), 428–435. <https://doi.org/10.1038/nature07201>
- [201] Furman, D., Campisi, J., Verdin, E., Carrera-Bastos, P., Targ, S., Franceschi, C., and Slavich, G. M. (2019). Chronic inflammation in the etiology of disease across the life span. *Nature Medicine*, 25(12), 1822–1832. <https://doi.org/10.1038/s41591-019-0675-0>
- [202] Kawai, T., and Akira, S. (2010). The role of pattern-recognition receptors in innate immunity: Update on Toll-like receptors. *Nature Immunology*, 11(5), 373–384. <https://doi.org/10.1038/ni.1863>
- [203] Reuter, S., Gupta, S. C., Chaturvedi, M. M., and Aggarwal, B. B. (2010). Oxidative stress, inflammation, and cancer: How are they linked? *Free Radical Biology and Medicine*, 49(11), 1603–1616. <https://doi.org/10.1016/j.freeradbiomed.2010.09.006>
- [204] Hotamisligil, G. S. (2006). Inflammation and metabolic disorders. *Nature*, 444(7121), 860–867. <https://doi.org/10.1038/nature05485>
- [205] Belkaid, Y., and Hand, T. W. (2014). Role of the microbiota in immunity and inflammation. *Cell*, 157(1), 121–141. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2014.03.011>

- [206] Chen, G. Y., and Nuñez, G. (2010). Inflammasomes in intestinal inflammation and cancer. *Gastroenterology*, 139(3), 791–800. <https://doi.org/10.1053/j.gastro.2010.08.002>
- [207] O'Neill, L. A. J., Golenbock, D., and Bowie, A. G. (2013). The history of Toll-like receptors—redefining innate immunity. *Nature Reviews Immunology*, 13(6), 453–460. <https://doi.org/10.1038/nri3446>
- [208] Libby, P. (2007). Inflammatory mechanisms: the molecular basis of inflammation and disease. *Nutrition Reviews*, 65(suppl_3), S140–S146. <https://doi.org/10.1111/j.1753-4887.2007.tb00352.x>
- [209] Gordon, S., and Taylor, P. R. (2005). Monocyte and macrophage heterogeneity. *Nature Reviews Immunology*, 5(12), 953–964. <https://doi.org/10.1038/nri1733>
- [210] Serhan, C. N., Chiang, N., and Van Dyke, T. E. (2007). Resolving inflammation: dual anti-inflammatory and pro-resolution lipid mediators. *Nature Reviews Immunology*, 8(5), 349–361. <https://doi.org/10.1038/nri2294>
- [211] Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., and Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential oils – A review. *Food and Chemical Toxicology*, 46(2), 446–475. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.09.106>
- [212] Warburg, O. (1956). On the origin of cancer cells. *Science*, 123(3191), 309–314. <https://doi.org/10.1126/science.123.3191.309>
- [213] Vander Heiden, M. G., Cantley, L. C., and Thompson, C. B. (2009). Understanding the Warburg effect: The metabolic requirements of cell proliferation. *Science*, 324(5930), 1029–1033. <https://doi.org/10.1126/science.1160809>
- [214] Patra, K. C., and Hay, N. (2014). The pentose phosphate pathway and cancer. *Trends in Biochemical Sciences*, 39(8), 347–354. <https://doi.org/10.1016/j.tibs.2014.06.005>
- [215] Gorrini, C., Harris, I. S., and Mak, T. W. (2013). Modulation of oxidative stress as an anticancer strategy. *Nature Reviews Drug Discovery*, 12(12), 931–947. <https://doi.org/10.1038/nrd4002>
- [216] Croce, C. M. (2008). Oncogenes and cancer. *New England Journal of Medicine*, 358(5), 502–511. <https://doi.org/10.1056/NEJMra072367>
- [217] Vousden, K. H., and Lane, D. P. (2007). p53 in health and disease. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 8(4), 275–283. <https://doi.org/10.1038/nrm2147>

- [218] Knudson, A. G. (1971). Mutation and cancer: Statistical study of retinoblastoma. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 68(4), 820–823. <https://doi.org/10.1073/pnas.68.4.820>
- [219] Folkman, J. (2002). Role of angiogenesis in tumor growth and metastasis. *Seminars in Oncology*, 29(6 Suppl 16), 15–18. <https://doi.org/10.1053/sonc.2002.37263>
- [220] Carmeliet, P. (2005). Angiogenesis in life, disease and medicine. *Nature*, 438(7070), 932–936. <https://doi.org/10.1038/nature04478>
- [221] Lambert, A. W., Pattabiraman, D. R., and Weinberg, R. A. (2017). Emerging biological principles of metastasis. *Cell*, 168(4), 670–691. <https://doi.org/10.1016/j.cell.2016.11.037>
- [222] Burt, S. (2004). Essential oils: Their antibacterial properties and potential applications in foods—A review. *International Journal of Food Microbiology*, 94(3), 223–253. <https://doi.org/10.1016/j.ijfoodmicro.2004.03.022>
- [223] Denny, E. F., and Setzer, W. N. (2010). The chemistry and bioactivity of citrus essential oils. *Flavour and Fragrance Journal*, 25(6), 407–414. <https://doi.org/10.1002/ffj.2010>
- [224] Edris, A. E. (2007). Pharmaceutical and therapeutic potentials of essential oils and their individual volatile constituents: A review. *Phytotherapy Research*, 21(4), 308–323. <https://doi.org/10.1002/ptr.2072>
- [225] Guenther, E. (1972). *The essential oils: Vol. 1. History, origin in plants, production, analysis*. New York: Van Nostrand.
- [226] Lucchesi, M. E., Chemat, F., and Smadja, J. (2004). Solvent-free microwave extraction of essential oil from aromatic herbs: Comparison with conventional hydrodistillation. *Journal of Chromatography A*, 1043(2), 323–327. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2004.05.083>
- [227] Marongiu, B., Piras, A., and Porcedda, S. (2004). Comparative analysis of supercritical CO₂ and hydrodistillation methods for the extraction of essential oils from *Thymus herba-barona*. *Natural Product Research*, 18(2), 173–182. <https://doi.org/10.1080/14786410310001629078>
- [228] Reverchon, E., and De Marco, I. (2006). Supercritical fluid extraction and fractionation of natural matter. *The Journal of Supercritical Fluids*, 38(2), 146–166. <https://doi.org/10.1016/j.supflu.2006.03.020>

- [229] Ammon, H. P. T. (2010). Modulation of the immune system by *Boswellia serrata* extracts. *Planta Medica*, 76(11), 1106–1116. <https://doi.org/10.1055/s-0030-1250027>
- [230] Buchbauer, G., Jirovetz, L., Jäger, W., Plank, C., and Dietrich, H. (1993). Fragrance compounds and essential oils with sedative effects upon inhalation. *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 82(6), 660–664.
- [231] Carson, C. F., Hammer, K. A., and Riley, T. V. (2006). *Melaleuca alternifolia* (Tea Tree) oil: A review of antimicrobial and other medicinal properties. *Clinical Microbiology Reviews*, 19(1), 50–62.
- [232] Chioca, L. R., Ferro, M. M., Baretta, I. P., Oliveira, S. M., Silva, C. R., Ferreira, J., and Losso, E. M. (2013). Anxiolytic-like effect of lavender essential oil inhalation in mice. *Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry*, 45, 421–428.
- [233] Frank, M. B., Yang, Q., Osban, J., Azzarello, J. T., Saban, M. R., Saban, R., and Chen, D. (2009). Frankincense oil derived from *Boswellia carteri* induces tumor cell specific cytotoxicity. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 9, 6.
- [234] Juergens, U. R., Stöber, M., Vetter, H., and Koch, B. (2004). Antiinflammatory effects of eucalyptus oil. *Drugs in R&D*, 5(3), 123–129.
- [235] Lopez, V., Akerreta, S., Casanova, E., Garcia-Mina, J. M., Caverro, R. Y., and Calvo, M. I. (2007). In vitro antioxidant and anti-rhizopus activities of essential oils obtained from aromatic plants used in traditional medicine in Spain. *Journal of Ethnopharmacology*, 110(2), 343–347.
- [236] Manosroi, A., Dhumtanom, P., and Manosroi, J. (2006). Anti-proliferative activity of essential oil extracted from *Cymbopogon citratus* (Lemongrass). *Journal of Ethnopharmacology*, 105(1–2), 161–168.
- [237] Nazzaro, F., Fratianni, F., De Martino, L., Coppola, R., and De Feo, V. (2013). Effect of essential oils on pathogenic bacteria. *Pharmaceuticals*, 6(12), 1451–1474.
- [238] Peana, A. T., D'Aquila, P. S., Panin, F., Serra, G., Pippia, P., and Moretti, M. D. L. (2002). Anti-inflammatory activity of linalool and linalyl acetate constituents of essential oils. *Phytomedicine*, 9(8), 721–726.
- [239] Silva, F. V., Oliveira, A. D. R., Silva, A. M. O., and Leal-Cardoso, J. H. (2016). Antinociceptive effects of essential oils: A systematic review. *Phytotherapy Research*, 30(9), 1427–1440.

- [240] Samadi, M., Abidin, Z. Z., Yunus, R., Biak, D. R. A., Yoshida, H., and & Lok, E. H. (2017). Assessing the kinetic model of hydro-distillation and chemical composition of *Aquilaria malaccensis* leaves essential oil. *Chinese Journal of Chemical Engineering*, 25(2), 216–222.
- [241] Ali, B., Al-Wabel, N. A., Shams, S., Ahamad, A., Khan, S. A., and Anwar, F. (2015). Essential oils used in aromatherapy: A systematic review. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 5(8), 601–611.
- [242] Bajpai, V. K., Baek, K. H., and Kang, S. C. (2012). Control of *Salmonella* in foods by using essential oils: A review. *Food Research International*, 45(2), 722–734.
- [243] Hammer, K. A., Carson, C. F., and Riley, T. V. (2003). Antifungal effects of *Melaleuca alternifolia* (tea tree) oil and its components on *Candida albicans*, *Candida glabrata* and *Saccharomyces cerevisiae*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 53(6), 1081–1085.
- [244] Isman, M. B. (2000). Plant essential oils for pest and disease management. *Crop Protection*, 19(8–10), 603–608.
- [245] Regnault-Roger, C., Vincent, C., and Arnason, J. T. (2012). Essential oils in insect control: Low-risk products in a high-stakes world. *Annual Review of Entomology*, 57, 405–424.
- [246] Saeed, S., Khan, M. R., Shabbir, M., and Mehmood, R. (2015). Antioxidant activity, cytotoxic effect and phytochemical analysis of *Digera muricata* (L.) Mart. extracts. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*, 5(7), 512–518.
- [247] Woelk, H., and Schläpke, S. (2010). A multi-center, double-blind, randomized study of the Lavender oil preparation Silexan in comparison to Lorazepam for generalized anxiety disorder. *Phytomedicine*, 17(2), 94–99.
- [248] Balasundram, N., Sundram, K., and Samman, S. (2006). Phenolic compounds in plants and agri-industrial by-products: Antioxidant activity, occurrence, and potential uses. *Food Chemistry*, 99(1), 191–203.
- [249] Gülçin, İ. (2006). Antioxidant and antiradical activities of L-carnitine. *Life Sciences*, 78(8), 803–811.
- [250] Kähkönen, M. P., Hopia, A. I., Vuorela, H. J., Rauha, J. P., Pihlaja, K., Kujala, T. S., and Heinonen, M. (1999). Antioxidant activity of plant extracts containing phenolic compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47(10), 3954–3962.

- [251] Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Rémésy, C., and Jiménez, L. (2004). Polyphenols: Food sources and bioavailability. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 79(5), 727–747.
- [252] Rice-Evans, C. A., Miller, N. J., and Paganga, G. (1996). Structure–antioxidant activity relationships of flavonoids and phenolic acids. *Free Radical Biology and Medicine*, 20(7), 933–956.
- [253] Scalbert, A., and Williamson, G. (2000). Dietary intake and bioavailability of polyphenols. *The Journal of Nutrition*, 130(8), 2073S–2085S.
- [254] Shahidi, F., and Naczk, M. (2004). *Phenolics in food and nutraceuticals*. CRC Press.
- [255] Sroka, Z., and Cisowski, W. (2003). Hydrogen peroxide scavenging, antioxidant and anti-radical activity of some phenolic acids. *Food and Chemical Toxicology*, 41(6), 753–758.
- [256] Manach, C., Scalbert, A., Morand, C., Rémésy, C., and Jiménez, L. (2004). Polyphenols: Food sources and bioavailability. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 79(5), 727–747.
- [257] Middleton, E., Kandaswami, C., and Theoharides, T. C. (2000). The effects of plant flavonoids on mammalian cells: Implications for inflammation, heart disease, and cancer. *Pharmacological Reviews*, 52(4), 673–751.
- [258] Panche, A. N., Diwan, A. D., and Chandra, S. R. (2016). Flavonoids: An overview. *Journal of Nutritional Science*, 5, e47. <https://doi.org/10.1017/jns.2016.41>
- [259] Pietta, P. G. (2000). Flavonoids as antioxidants. *Journal of Natural Products*, 63(7), 1035–1042.
- [260] Scalbert, A., and Williamson, G. (2000). Dietary intake and bioavailability of polyphenols. *The Journal of Nutrition*, 130(8), 2073S–2085S.
- [261] Messina, M., Nagata, C., and Wu, A. H. (2006). Estimated Asian adult soy protein and isoflavone intakes. *Nutrition and Cancer*, 55(1), 1–12.
- [262] Albani, D., Polito, L., and Forloni, G. (2010). SIRT1 as a drug target for neurodegenerative diseases. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 10(13), 1490–1498.

- [263] Athar, M., Back, J. H., Tang, X., Kim, K. H., Kopelovich, L., Bickers, D. R., and Kim, A. L. (2007). Resveratrol: A review of preclinical studies for human cancer prevention. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 224(3), 274–283.
- [264] Baur, J. A., and Sinclair, D. A. (2006). Therapeutic potential of resveratrol: The in vivo evidence. *Nature Reviews Drug Discovery*, 5(6), 493–506.
- [265] Das, S., and Das, D. K. (2007). Anti-inflammatory responses of resveratrol. *Inflammation & Allergy-Drug Targets*, 6(3), 168–173.
- [266] Gambini, J., Inglés, M., Olaso-Gonzalez, G., Lopez-Grueso, R., Bonet-Costa, V., Gimeno-Mallench, L., and Viña, J. (2015). Properties of resveratrol: In vitro and in vivo studies about metabolism, bioavailability, and biological effects in animal models and humans. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2015, Article ID 837042.
- [267] Pervaiz, S. (2003). Resveratrol: From grapevines to mammalian biology. *FASEB Journal*, 17(14), 1975–1985.
- [268] Piotrowska, H., Kucinska, M., and Murias, M. (2012). Biological activity of piceatannol: Leaving the shadow of resveratrol. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 750(1), 60–82.
- [269] Walle, T., Hsieh, F., DeLegge, M. H., Oatis, J. E., and Walle, U. K. (2004). High absorption but very low bioavailability of oral resveratrol in humans. *Drug Metabolism and Disposition*, 32(12), 1377–1382.
- [270] Adlercreutz, H. (2007). Lignans and human health. *Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences*, 44(5–6), 483–525.
- [271] Clavel, T., Henderson, G., Alpert, C. A., Philippe, C., Rigottier-Gois, L., Doré, J., and Blaut, M. (2006). Intestinal bacterial communities that produce active estrogen-like compounds enterolignans in humans. *Applied and Environmental Microbiology*, 72(10), 6769–6777.
- [272] Durazzo, A., Lucarini, M., Souto, E. B., Cicala, C., Caiazzo, E., Izzo, A. A., and Lucarini, L. (2013). Lignans in food and diet: An overview of their occurrence, metabolism, and health effects. *Phytochemistry Reviews*, 12(2), 471–479.
- [273] Imran, M., Anjum, F. M., Nadeem, M., Khan, M. K., Mushtaq, Z., Arshad, M. S., and Sheikh, M. A. (2015). Potential protective properties of flax lignan secoisolariciresinol diglucoside. *Nutrients*, 7(5), 3244–3260.

- [274] Landete, J. M. (2012). Plant and mammalian lignans: A review of source, intake, metabolism, intestinal bacteria and health. *Food Research International*, 46(1), 410–424.
- [275] Milder, I. E. J., Arts, I. C. W., van de Putte, B., Venema, D. P., and Hollman, P. C. H. (2005). Lignan contents of Dutch plant foods: A database including lariciresinol, pinoresinol, secoisolariciresinol and matairesinol. *British Journal of Nutrition*, 93(3), 393–402.
- [276] Pan, A., Yu, D., Demark-Wahnefried, W., Franco, O. H., and Lin, X. (2007). Meta-analysis of the effects of flaxseed interventions on blood lipids. *American Journal of Clinical Nutrition*, 90(2), 288–297.
- [277] Thompson, L. U., Robb, P., Serraino, M., and Cheung, F. (1991). Mammalian lignan production from various foods. *Nutrition and Cancer*, 16(1), 43–52.
- [278] Chung, K. T., Lu, Z., and Chou, M. W. (1998). Mechanism of inhibition of tannic acid and related compounds on the growth of intestinal bacteria. *Food and Chemical Toxicology*, 36(12), 1053–1060.
- [279] Hagerman, A. E., Riedl, K. M., Jones, G. A., Sovik, K. N., Ritchard, N. T., Hartzfeld, P. W., and Riechel, T. L. (1998). High molecular weight plant polyphenolics (tannins) as biological antioxidants. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 46(5), 1887–1892.
- [280] Haslam, E. (1996). Natural polyphenols (vegetable tannins) as drugs: Possible modes of action. *Journal of Natural Products*, 59(2), 205–215.
- [281] Okuda, T., Yoshida, T., and Hatano, T. (1992). Classification of hydrolyzable tannins. *Phytochemistry*, 31(4), 1173–1182.
- [282] Scalbert, A. (1991). Antimicrobial properties of tannins. *Phytochemistry*, 30(12), 3875–3883.
- [283] Seeram, N. P., Adams, L. S., Henning, S. M., Niu, Y., Zhang, Y., Nair, M. G., and Heber, D. (2005). In vitro antiproliferative, apoptotic and antioxidant activities of punicalagin, ellagic acid and a total pomegranate tannin extract are enhanced in combination with other polyphenols. *Journal of Nutritional Biochemistry*, 16(6), 360–367.
- [284] Serrano, J., Puupponen-Pimiä, R., Dauer, A., Aura, A. M., and Saura-Calixto, F. (2009). Tannins: Current knowledge of food sources, intake, bioavailability and biological effects. *Molecular Nutrition & Food Research*, 53(S2), S310–S329.

- [285] Waterman, P. G., and Mole, S. (1994). Analysis of phenolic plant metabolites. Blackwell Scientific Publications.
- [286] Kitchen, D. B., Decornez, H., Furr, J. R., and Bajorath, J. (2004). Docking and scoring in virtual screening for drug discovery: Methods and applications. *Nature Reviews Drug Discovery*, 3(11), 935–947. <https://doi.org/10.1038/nrd1549>
- [287] Meng, X.-Y., Zhang, H.-X., Mezei, M., and Cui, M. (2011). Molecular docking: A powerful approach for structure-based drug discovery. *Current Computer-Aided Drug Design*, 7(2), 146–157. <https://doi.org/10.2174/157340911795677602>
- [288] Türkkan, B. (2013). Moleküler modelleme ve ilaç tasarımı da bilgisayar destekli yaklaşımlar. Ankara: Nobel Yayıncılık.
- [289] Sherman, W., Day, T., Jacobson, M. P., Friesner, R. A., and & Farid, R. (2006). Novel procedure for modeling ligand/receptor induced fit effects. *Journal of Medicinal Chemistry*, 49(2), 534–553. <https://doi.org/10.1021/jm050540c>
- [290] Yuriev, E., and Ramsland, P. A. (2013). Latest developments in molecular docking: 2010–2011 in review. *Journal of Molecular Recognition*, 26(5), 215–239. <https://doi.org/10.1002/jmr.2266>
- [291] Muegge, I., and Enyedy, I. J. (2004). Structure-based virtual screening. *Methods in Molecular Biology*, 275, 113–125. <https://doi.org/10.1385/1-59259-831-7:113>
- [292] Kökcü, Y. (2019). Antitümör ve Antioksidant Özellikli Tripeptid Yüklü Polimerik Nanopartiküllerin Geliştirilmesi [Yüksek lisans tezi, İstanbul Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü].
- [293] Barabási, A. L., Gulbahce, N., and Loscalzo, J. (2011). Network medicine: A network-based approach to human disease. *Nature Reviews Genetics*, 12(1), 56–68. <https://doi.org/10.1038/nrg2918>
- [294] Zhang, R., Zhu, X., Bai, H., and Ning, K. (2019). Network pharmacology databases for traditional Chinese medicine: Review and assessment. *Frontiers in Pharmacology*, 10, 123. <https://doi.org/10.3389/fphar.2019.00123>
- [295] Li, S., Zhang, B., Jiang, D., Wei, Y., and Zhang, N. (2021). Herb network construction and co-module analysis for uncovering the combination rule of traditional Chinese herbal formulae. *Scientific Reports*, 11(1), 2985. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-82539-1>

- [296] Zhou, X., Menche, J., Barabási, A. L., and Sharma, A. (2014). Human symptoms–disease network. *Nature Communications*, 5, 4212. <https://doi.org/10.1038/ncomms5212>
- [297] Hopkins, A. L. (2008). Network pharmacology: The next paradigm in drug discovery. *Nature Chemical Biology*, 4(11), 682–690. <https://doi.org/10.1038/nchembio.118>
- [298] Li, J., Zheng, S., Chen, B., Butte, A. J., Swamidass, S. J., and Lu, Z. (2016). A survey of current trends in computational drug repositioning. *Briefings in Bioinformatics*, 17(1), 2–12. <https://doi.org/10.1093/bib/bbv020>
- [299] Sun, W., Sanderson, P. E., and Zheng, W. (2019). Drug combination therapy increases successful drug repositioning. *Drug Discovery Today*, 21(7), 1189–1195. <https://doi.org/10.1016/j.drudis.2016.03.018>
- [300] Lounkine, E., Keiser, M. J., Whitebread, S., Mikhailov, D., Hamon, J., Jenkins, J. L., and Urban, L. (2012). Large-scale prediction and testing of drug activity on side-effect targets. *Nature*, 486(7403), 361–367. <https://doi.org/10.1038/nature11159>
- [301] Chen, B., Ma, L., Paik, H., Sirota, M., Wei, W., Chua, M. S., and Butte, A. J. (2020). Reversal of cancer gene expression correlates with drug efficacy and reveals therapeutic targets. *Nature Communications*, 8, 16022. <https://doi.org/10.1038/ncomms16022>
- [302] Jia, P., and Zhao, Z. (2014). VarWalker: Personalized mutation network analysis of putative cancer genes from next-generation sequencing data. *PLoS Computational Biology*, 10(2), e1003460. <https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1003460>
- [303] Şenol Yazkan, S. N., and Hendek Ertop, M. (2024). Maserasyon, reflüks ve ultrasonik destekli ekstraksiyon yöntemleri ile üretilen kestane propolis ekstraktlarının farklı gıda modellerinde kullanımı: Fizikokimyasal, duyuşal ve biyoaktif niteliklere etkisi. *Food and Health*, 10(1), 22-39. <https://doi.org/10.3153/FH24003>
- [304] Taşkın, T. (2011). Çakırlı (Bursa-Orhangazi) yöresinde yenebilen bazı yabancı bitkilerin antioksidan aktivitelerinin incelenmesi [Yüksek lisans tezi, Marmara Üniversitesi].

- [305] Benzie, I. F. F., and Strain, J. J. (1996). The ferric reducing ability of plasma (FRAP) as a measure of “antioxidant power”: The FRAP assay. *Analytical Biochemistry*, 239(1), 70–76. <https://doi.org/10.1006/abio.1996.0292>
- [306] Apak, R., Güçlü, K., Özyürek, M., and Karademir, S. E. (2004). Novel total antioxidant capacity index for dietary polyphenols and vitamins C and E, using their cupric ion reducing capability in the presence of neocuproine: CUPRAC method. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(22), 7970–7981. <https://doi.org/10.1021/jf048741x>
- [307] Ellman, G. L., Courtney, K. D., Andres, V., and Featherstone, R. M. (1961). A new and rapid colorimetric determination of acetylcholinesterase activity. *Biochemical Pharmacology*, 7(2), 88–95. [https://doi.org/10.1016/0006-2952\(61\)90145-9](https://doi.org/10.1016/0006-2952(61)90145-9)
- [308] Ghous, T., Murtaza, S., Altaf, Y., Khan, M., and Riaz, T. (2010). On-line anti-acetylcholine esterase activity of extracts of *Oxystelma esculentum*, *Aerva javanica*, and *Zanthoxylum armatum*. *Journal of the Chemical Society of Pakistan*, 35(3), 800–804.
- [309] Ahmed, M., Shoaib, M., Ghias, M., and Bari, W. U. (2022). Antioxidant, antidiabetic, and anticholinesterase potential of *Chenopodium murale* L. extracts using in vitro and in vivo approaches. *Chemistry Select*, 7(21), e202202322. <https://doi.org/10.1515/chem-2022-0232>
- [310] Berridge, M. V., Herst, P. M., and Tan, A. S. (2005). Tetrazolium dyes as tools in cell biology: New insights into their cellular reduction. *Biotechnology Annual Review*, 11, 127–152. [https://doi.org/10.1016/S1387-2656\(05\)11004-7](https://doi.org/10.1016/S1387-2656(05)11004-7)
- [311] Calvo, P., Remuñán-López, C., Vila-Jato, J. L., and Alonso, M. J. (1997). Novel hydrophilic chitosan–polyethylene oxide nanoparticles as protein carriers. *Journal of Applied Polymer Science*, 63(1), 125–132. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-4628\(19970103\)63:1](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-4628(19970103)63:1)
- [312] Giri, A. K., Jena, B., Biswal, B., Pradhan, A. K., Arakha, M., Acharya, S., and Acharya, L. (2022). Green synthesis and characterization of silver nanoparticles using *Eugenia roxburghii* DC. extract and activity against biofilm-producing bacteria. *Scientific Reports*, 12, 8383. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-12484-y>
- [313] Okka, E. Z., Tongur, T., Aytas, T. T., Yılmaz, M., Topel, Ö., and Şahin, R. (2022). Green synthesis and the formation kinetics of silver nanoparticles in aqueous *Inula*

- viscosa extract. *Scientific Reports*, 12, 12484. <https://doi.org/10.1038/s41598-022-12484-y>
- [314] Keawchaoon, L., and Yoksan, R. (2011). Preparation, characterization and in vitro release study of carvacrol-loaded chitosan nanoparticles. *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, 84(1), 163–171. <https://doi.org/10.1016/j.colsurfb.2010.12.031>
- [315] Mohammadi, F. M., and Ghasemi, N. (2018). Influence of temperature and concentration on biosynthesis and characterization of zinc oxide nanoparticles using cherry extract. *Journal of Nanostructure in Chemistry*, 8(18), 1–10. <https://doi.org/10.1007/s40097-018-0257-6>
- [316] Doğan, M., Koçyiğit, Ü. M., Taşkın, D., Yılmaz, B. N., and Taşkın, T. (2024). Preparation and characterization of chitosan nanoparticles with extracts of *Rheum ribes*, evaluation of biological activities of extracts and extract-loaded nanoparticles. *International Journal of Secondary Metabolite*, 11(4), 751–764. <https://doi.org/10.21448/ijsm.1425978>
- [317] Lange, N., and Steck, A. (2013). Gas chromatography–mass spectrometry analysis of essential oils: Principles and applications. *Journal of Chromatography A*, 1312, 1–13. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2013.08.036>
- [318] Taşkın, D., Yılmaz, B. N., Taşkın, T., and Omurtag, G. Z. (2021). The influence of different extraction methods/solvents on composition, biological activities and ADMET predictions of phenolics in *Tribulus terrestris*. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 64, e21210249.
- [319] RCSB Protein Data Bank. (n.d.). Retrieved from <https://www.rcsb.org>
- [320] Leach, A. R. (2001). *Molecular modelling: Principles and applications* (2nd ed.). Pearson Education.
- [321] Kollman, P. A. (1993). Free energy calculations: Applications to chemical and biochemical phenomena. *Chemical Reviews*, 93(7), 2395–2417. <https://doi.org/10.1021/cr00024a004>
- [322] Barabási, A.-L., Gulbahce, N., and Loscalzo, J. (2011). Network medicine: A network-based approach to human disease. *Nature Reviews Genetics*, 12(1), 56–68. <https://doi.org/10.1038/nrg2918>
- [323] Li, S., Zhang, B., Jiang, D., Wei, Y., and Zhang, N. (2010). Herb network construction and co-module analysis for uncovering the combination rule of

- traditional Chinese herbal formulae. BMC Bioinformatics, 11, 233.
<https://doi.org/10.1186/1471-2105-11-233>
- [324] Furkan, M. K. (2016). Adıyaman İlinde Yetişen Bazı Bitkilerin Etnobotanik Özellikleri. Adıyaman Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı. Yüksek Lisans Tezi.
- [325] Panche, A. N., Diwan, A. D., and Chandra, S. R. (2016). Flavonoids: An overview. Journal of Nutritional Science, 5, e47.
- [326] Sharifi-Rad, J., Salehi, B., Stojanović-Radić, Z. Z., Fokou, P. V. T., Sharopov, F., Martorell, M., and Iriti, M. (2017). Medicinal plants as sources of natural active compounds for drug discovery. Pharmacognosy Reviews, 11(22), 59–68.
https://doi.org/10.4103/phrev.phrev_64_17
- [327] World Health Organization (WHO). (2019). WHO global report on traditional and complementary medicine. Geneva: WHO.
- [328] Csupor-Löffler, B., Hajdú, Z., Zupkó, I., Réthy, B., Falkay, G., Forgo, P., and Hohmann, J. (2009). Antiproliferative activity of flavonoids and sesquiterpenoids from *Achillea millefolium* s.l. Phytotherapy Research, 23(5), 672–676.
<https://doi.org/10.1002/ptr.2687>
- [329] Esmaeili, M. A., Sonboli, A., and Gohari, A. R. (2013). Anticancer activity of flavonoid-rich fraction of *Achillea biebersteinii* Afan. against human breast and cervical cancer cells. Phytomedicine, 20(6), 458–464.
- [330] Al-Yousef, H. M., Amina, M., Eltahir, M. M., Alqahtani, A. S., and Ashour, A. E. (2017). Chemical composition and antimicrobial, antioxidant, and anti-inflammatory activities of *Achillea santolina* essential oil. Saudi Pharmaceutical Journal, 25(5), 715–721.
- [331] Nickavar, B., and Mojab, F. (2003). Antihyperglycemic and antihyperlipidemic effects of *Achillea wilhelmsii* in streptozotocin-induced diabetic rats. Journal of Ethnopharmacology, 86(2–3), 239–243.
- [332] El-Sayed, M. A., El-Ansary, A. L., El-Tantawy, M. E., El-Gengaihi, S. E., and Abo-El-Maati, M. F. (2023). Antioxidant and cytotoxic activities of *Achillea cucullata*. Separations, 11(8), 236. <https://doi.org/10.3390/separations11080236>
- [333] Zengin, G., Mahomoodally, M. F., Uysal, S., Aktumsek, A., and Ceylan, R. (2022). Comparative studies on essential oil and phenolic content with in vitro antioxidant

- activity of *Achillea biebersteinii* and *A. millefolium* ssp. *millefolium*. *Molecules*, 27(11), 3569. <https://doi.org/10.3390/molecules27113569>
- [334] Zengin, G., Mahomoodally, M. F., Uysal, S., Ceylan, R., and Aktumsek, A. (2024). Phytochemistry and evidence-based traditional uses of the genus *Achillea*. *Pharmaceuticals*, 17(2), 245. <https://doi.org/10.3390/ph17020245>
- [335] Zengin, G., Mahomoodally, M. F., Uysal, S., Aktumsek, A., and Ceylan, R. (2022b). Chemical fingerprints and bioactivities of 12 Anatolian *Achillea* species. *Turkish Journal of Botany*, 46(6), 555–570. <https://doi.org/10.3906/bot-2206-36>
- [336] Doğan, M., Demirci, B., and Baser, K. H. C. (2021). Phytochemical composition and antioxidant activity of *Achillea clypeolata*. *Industrial Crops and Products*, 171, 113933. <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2021.113933>
- [337] Corbu, A., Rotaru, L., Tanase, C., and Păduraru, C. (2020). *Achillea millefolium* L. and *A. biebersteinii* Afan. hydroglycolic extracts: Chemical characterization and antioxidant capacity. *Molecules*, 25(21), 5032. <https://doi.org/10.3390/molecules25215032>
- [338] Açar, O. T., Orhan, I. E., and Kartal, M. (2019). Characterization and pharmacological activity of *Achillea vermicularis*. *Indian Journal of Pharmaceutical Sciences*, 81(5), 824–832. <https://doi.org/10.36468/pharmaceutical-sciences.597>
- [339] Strzpek-Gomołka, M. (2021). Phytochemical profile and antioxidant activity of *Achillea grandifolia*. *Natural Product Research*, 35(21), 4530–4536.
- [340] Alim, A., Cifci, G., and Yildiz, S. (2019). Which extraction solvents and methods are more effective in terms of phenolics and antioxidant capacity of *Achillea* species? *Molecules*, 24(21), 3940. <https://doi.org/10.3390/molecules24213940>
- [341] Candan, F., Unlu, M., Tepe, B., Daferera, D., Polissiou, M., Sokmen, A., and Akpulat, H. A. (2003). Antioxidant and antimicrobial activity of *Achillea millefolium*. *Journal of Ethnopharmacology*, 87(2–3), 215–220. [https://doi.org/10.1016/S0378-8741\(03\)00112-0](https://doi.org/10.1016/S0378-8741(03)00112-0)
- [342] Yılmaz, G., Kılınç, S., Zengin, G., Mahomoodally, M. F., and Aktumsek, A. (2022). Comparative studies on essential oil and phenolics with in vitro antioxidant, anticholinesterase, and antimicrobial activities of *Achillea biebersteinii* and *A. millefolium* ssp. *millefolium*. *Molecules*, 27(6), 1956. <https://doi.org/10.3390/molecules27061956>

- [343] Kandemir, A., Kılıç, T., Zengin, G., Mahomoodally, M. F., and Aktumsek, A. (2020). A detailed biological and chemical investigation of sixteen *Achillea* species: Enzyme inhibition, antioxidant, antimicrobial, and toxicity of essential oils. *Chemistry & Biodiversity*, 17(4), e1900484. <https://doi.org/10.1002/cbdv.201900484>
- [344] Petrakis, E. A., Polissiou, M. G., and Roussis, V. (2018). Phytochemical characterization of *Achillea grandifolia* essential oil and its potency against oxidative damage, acetylcholinesterase, and α -amylase. *Erzincan University Journal of Science and Technology*, 11(2), 359–370.
- [345] Çoban, S., Çoban, M., Zengin, G., and Aktumsek, A. (2021). Analysis of trace elements, anticholinesterase activity, and ADME of *Achillea lycaonica*, *A. vermicularis* and *A. nobilis* subsp. *neilreichii*. *Journal of the Turkish Chemical Society, Section A*, 8(3), 981–994. <https://doi.org/10.18596/jotcsa.911573>
- [346] Al-Jaber, H. I., Abu-Zaiton, A. S., and Abu-Darwish, M. S. (2013). Biological activities of the hydro-alcoholic and aqueous extracts of *Achillea fragrantissima*. *Pharmacology & Pharmacy*, 4(8), 483–495. <https://doi.org/10.4236/pp.2013.48069>
- [347] Abu-Darwish, M. S., Efferth, T., Al-Jaber, H. I., and Al-Qudah, M. A. (2018). Essential oil composition and anticholinesterase activity evaluation of *Achillea fragrantissima* growing wild in Jordan. *Journal of Essential Oil Products*. Advance online publication. <https://doi.org/10.1080/0972060X.2018.1509005>
- [348] Zengin, G., Mahomoodally, M. F., Uysal, S., Ceylan, R., and Aktumsek, A. (2021). UHPLC-MS characterization and biological insights of different solvent extracts of two *Achillea* species (*A. aleppica* and *A. santolinoides*) from Turkey. *Antioxidants*, 10(8), 1180. <https://doi.org/10.3390/antiox10081180>
- [349] Zhang, Y., Li, X., Wang, Q., Zhou, Y., and Xu, W. (2024). Plant extracts and phytochemicals targeting Alzheimer's through cholinesterase inhibition: An updated review. *Exploration of Neurotherapeutics*, 4(2), 100697. <https://doi.org/10.37349/enthor.2024.100697>
- [350] Petrović, S., Palić, R., Stojanović, G., and Lakić, N. (2021). *Achillea* species as sources of active phytochemicals for cosmeceutics: A review. *Plants*, 10(4), 721. <https://doi.org/10.3390/plants10040721>
- [351] Stojanović, G., Zlatković, B., Randjelović, P., and Najman, S. (2019). Urease inhibition by acrylic acid derivatives from *Achillea millefolium*. *Journal of Enzyme*

Inhibition and Medicinal Chemistry, 34(1), 1110–1116.
<https://doi.org/10.1080/14756366.2019.1613273>

- [352] Asgharian, S., Farhoosh, R., and Asnaashari, S. (2022). Anti-urease potential of *Achillea setacea* extracts: Relation to phenolic composition. Journal of Ethnopharmacology, 282, 114642. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2021.114642>
- [353] Nabavi, S. M., Ebrahimzadeh, M. A., Nabavi, S. F., and Eslami, B. (2013). Biological activities of *Achillea nobilis* L. extracts. Pharmacognosy Magazine, 9(34), 126–132. <https://doi.org/10.4103/0973-1296.111249>
- [354] Ali, N., Khan, A., Rahman, S. U., Shah, S. M., and Khan, S. (2023). Phytochemical profiling and urease inhibition potential of *Artemisia scoparia*. Pharmaceutical Biology, 61(1), 45–55. <https://doi.org/10.1080/13880209.2022.2161426>
- [355] Suo, Y., Wang, R., and Li, Y. (2023). Evaluation of urease inhibitory effects of *Hypochaeris radicata* extracts. Natural Product Communications, 18(2), 1–7. <https://doi.org/10.1177/1934578X231154213>
- [356] Orhan, I., Kartal, M., Tosun, F., and Şener, B. (2010). Screening of 15 *Inula* species for urease inhibitory activity. Zeitschrift für Naturforschung C, 65(7–8), 419–424. <https://doi.org/10.1515/znc-2010-7-802>
- [357] Khattab, A., Hamed, A. I., and Shahat, A. A. (2023). Urease inhibitory activity of selected medicinal plants including *Matricaria inodora*. Plants, 12(3), 456. <https://doi.org/10.3390/plants12030456>
- [358] Aydın, C., Şenol, F. S., and Orhan, I. E. (2020). Enzyme inhibitory and antioxidant properties of *Helichrysum plicatum*. Natural Product Research, 34(12), 1714–1719. <https://doi.org/10.1080/14786419.2018.1512707>
- [359] Cayan, F., Gencer, N., and Tel, G. (2021). Phytochemical composition and urease inhibition of *Helichrysum graveolens*. South African Journal of Botany, 137, 226–233. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2020.10.012>
- [360] Ghasemi, E., Rahmani, F., and Ebrahimi, S. (2015). Anti-*Helicobacter pylori* and urease inhibitory activities of *Centaurea bruguierana* subsp. *bruguierana*. BMC Complementary and Alternative Medicine, 15, 118. <https://doi.org/10.1186/s12906-015-0645-7>
- [361] Ardestani, A., Yazdanparast, R., and Jamshidi, S. (2015). Cytotoxic effect of *Achillea millefolium* extract on breast cancer cells. Iranian Journal of Pharmaceutical Research, 14(1), 291–298.

- [362] Abu-Dahab, R., and Afifi, F. (2007). Antiproliferative activity of selected medicinal plants of Jordan against a breast adenocarcinoma cell line (MCF7). *Scientific Research and Essays*, 2(7), 276–279.
- [363] Rashid, S., Ahmad, M., Zafar, M., Sultana, S., and Khan, M. A. (2014). Anticancer potential of *Achillea tenuifolia* extracts in vitro. *Pharmacognosy Magazine*, 10(39), 458–463. <https://doi.org/10.4103/0973-1296.141826>
- [364] Gholamhoseinian, A., Moradi, M. N., and Sharifi-Far, F. (2015). Cytotoxicity of *Achillea wilhelmsii* essential oil against cancer cell lines. *Avicenna Journal of Phytomedicine*, 5(4), 350–356.
- [365] El-Mahmoudy, A., Shalaby, A., and El-Haggar, S. (2016). Cytotoxic activity of *Achillea fragrantissima* against human cancer cell lines. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 16, 350.
- [366] Al-Snafi, A. E. (2017). Medical importance of *Achillea* species (Yarrow). *IOSR Journal of Pharmacy*, 7(6), 46–58.
- [367] El-Tantawy, W. H., El-Nekeety, A. A., and Abdel-Wahhab, M. A. (2019). Cytotoxic effects of *Achillea santolina* extracts on cancer cell lines. *Journal of Applied Pharmaceutical Science*, 9(5), 50–56. <https://doi.org/10.7324/JAPS.2019.90507>
- [368] Katalinić, M., Milos, M., Kulisic, T., and Jukic, M. (2010). Polyphenolic profile, antioxidant and anticancer activity of *Achillea clavennae*. *Food Chemistry*, 119(3), 1009–1018. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.08.036>
- [369] Petrović, J., Stanković, M., Radulović, N., and Čomić, L. (2018). Antiproliferative effects of *Achillea taygetea* extracts on colon cancer cells. *Journal of Ethnopharmacology*, 214, 229–237. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2017.12.040>
- [370] Ballero, M., Poli, F., and Sacchetti, G. (2017). Phytochemical and biological properties of *Achillea ligustica*. *Natural Product Research*, 31(2), 220–228.
- [371] Salehi, B., Sharifi-Rad, J., Quispe, C., Sharopov, F., Fathi, H., Martins, N., and Iriti, M. (2019). Bioactive compounds and therapeutic potential of *Achillea* species. *Biomolecules*, 9(11), 615. <https://doi.org/10.3390/biom9110615>
- [372] Ghorbani, A., Esmaeilizadeh, M., Rajabi, O., and Mahmoudabady, M. (2013). Anticancer activity of *Achillea wilhelmsii* hydroalcoholic extract in human leukemia and breast cancer cell lines. *Avicenna Journal of Phytomedicine*, 3(3), 234–242.

- [373] El-Toumy, S. A., Rauwald, H. W., and Ibraheim, Z. Z. (2011). Cytotoxic effects of *Achillea santolina* on HeLa cells and other tumor cell lines. *Pharmaceutical Biology*, 49(10), 1031–1036. <https://doi.org/10.3109/13880209.2011.590272>
- [374] Khazneh, E., Abu-Rmaileh, B. E., Al-Lahham, S., and Ali-Shtayeh, M. S. (2018). Cytotoxic potential of *Achillea tenuifolia* extracts on colon and breast cancer cell lines. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 18, 320. <https://doi.org/10.1186/s12906-018-2365-0>
- [375] Erel, S. B., Karaalp, C., and Konyalıoğlu, S. (2011). Antiproliferative effects of *Achillea cretica* extracts on human breast cancer cells. *Journal of Ethnopharmacology*, 137(1), 341–349. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2011.04.029>
- [376] Rahmati, M., Rastegar, H., Keshavarz, M., and Moghaddam, M. M. (2017). Apoptotic effects of *Achillea vermicularis* on U87 glioblastoma cells. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 20(5), 548–555.
- [377] Mohammadhosseini, M., Venditti, A., Mahdavi, B., and Sarker, S. D. (2017). Cytotoxicity evaluation of *Achillea schischkinii* extracts in A549 and HCT116 cell lines. *Journal of Essential Oil Research*, 29(5), 389–402. <https://doi.org/10.1080/10412905.2017.1332527>
- [378] Kargar, H., Sadeghnia, H. R., and Mohammadi, A. (2020). Antiproliferative and apoptotic activity of *Achillea aleppica* on colon cancer cells. *Journal of Cancer Research and Therapeutics*, 16(5), 1120–1126. https://doi.org/10.4103/jcrt.JCRT_1384_19
- [379] Fakhari, A. R., Mojab, F., Hamedani, M. P., and Yassa, N. (2012). Sesquiterpene lactones and flavonoids in *Achillea* species: Mechanistic insights into anticancer activity. *Phytochemistry Reviews*, 11, 275–287. <https://doi.org/10.1007/s11101-011-9227-3>
- [380] Agar, O. T., Dikmen, M., Ozturk, N., Yilmaz, M. A., Temel, H., and Turkmenoglu, F. P. (2015). Comparative studies on phenolic composition, antioxidant, wound healing and cytotoxic activities of selected *Achillea* L. species growing in Turkey. *Molecules*, 20(10), 17976–18000. <https://doi.org/10.3390/molecules201017976>
- [381] Yılmaz, M. A., Dikmen, M., and Temel, H. (2021). *Achillea gonioccephala* extract loaded into nanochitosan. *DergiPark*. <https://dergipark.org.tr/en/download/article-file/1883550>

- [382] Hasan, M. S., Rahman, M. M., and & Rahman, M. M. (2014). The zeta potential of *Achillea millefolium* phenolics-loaded nanoliposomes. ResearchGate. https://www.researchgate.net/figure/The-zeta-potential-of-Achillea-millefolium-phenolics-loaded-nanoliposomes_fig1_358783347
- [383] El Babili, F., Haouala, R., Fakhfakh, N., Marzouk, B., and Bouajila, J. (2016). Chemical composition and biological activities of *Achillea santolina* L. essential oil from Tunisia. Journal of Ethnopharmacology, 194, 1030–1038. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2016.10.040>
- [384] Pires, T. C. S. P., Gouveia, T. I., Oliveira, E. S., and Soares, F. A. (2018). Cytotoxicity of *Achillea millefolium* extracts on human cancer cell lines. Journal of Ethnopharmacology, 222, 178–185. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2018.05.003>
- [385] Orhan, I. E., Özçelik, B., Kartal, M., and Şener, B. (2012). Screening of antifungal, antiviral, and cholinesterase inhibitory activities of the essential oils from three *Achillea* species. Journal of Ethnopharmacology, 140(2), 287–296. <https://doi.org/10.1016/j.jep.2012.01.015>
- [386] Savelev, S., Okello, E. J., and Perry, E. K. (2004). Butyryl- and acetylcholinesterase inhibitory activities in essential oils of *Salvia* species and their constituents. Phytotherapy Research, 18(4), 315–324. <https://doi.org/10.1002/ptr.1455>
- [387] Dohi, S., Terasaki, M., and Makino, M. (2009). Acetylcholinesterase inhibitory activity and chemical composition of commercial essential oils. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 57(10), 4313–4318. <https://doi.org/10.1021/jf8040305>
- [388] Kaskoos, R. A., Shafi, S., and Farooq, S. (2020). Phytochemical and pharmacological profile of the genus *Achillea*. Phytomedicine Plus, 1(3), 100018. <https://doi.org/10.1016/j.phyplu.2020.100018>
- [389] Salehi, B., Venditti, A., Sharifi-Rad, M., Kręgiel, D., Sharifi-Rad, J., Durazzo, A., and Lucarini, M. (2018). The therapeutic potential of *Achillea* species: A review. Frontiers in Pharmacology, 9, 1066. <https://doi.org/10.3389/fphar.2018.01066>
- [390] Benarba, B., and & Pandiella, A. (2018). Pharmacological and toxicological effects of *Thymus vulgaris* essential oil: A review. Food and Chemical Toxicology, 123, 241–249. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2018.11.015>

- [391] Dholakia, S., Mistry, K., and Patel, R. V. (2020). Molecular docking and enzyme inhibitory evaluation of natural monoterpenes as potential urease inhibitors. *Journal of Molecular Structure*, 1208, 127902. <https://doi.org/10.1016/j.molstruc.2020.127902>
- [392] Lee, J., Scagel, C. F., and Nemec, D. A. (2013). Rosmarinic acid and its derivatives: Biological activities and potential health benefits. *Phytochemistry Reviews*, 12(4), 753–768. <https://doi.org/10.1007/s11101-013-9326-4>
- [393] Şenol, F. S., Orhan, I. E., and Erdem, S. A. (2010). Antioxidant and enzyme inhibitory activities of various phenolic acids and their derivatives. *Food Chemistry*, 120(1), 178–182. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.09.086>
- [394] Bubols, G. B., Vianna, D. R., Medina-Remón, A., von Poser, G., Lamuela-Raventós, R. M., Eifler-Lima, V. L., and Garcia, S. C. (2013). The antioxidant activity of coumarins and flavonoids. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, 13(3), 318–334. <https://doi.org/10.2174/1389557511313030005>
- [395] Bakkali, F., Averbeck, S., Averbeck, D., and Idaomar, M. (2008). Biological effects of essential oils – A review. *Food and Chemical Toxicology*, 46(2), 446–475. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2007.09.106>
- [396] Miguel, M. G. (2010). Antioxidant and anti-inflammatory activities of essential oils: A short review. *Molecules*, 15(12), 9252–9287. <https://doi.org/10.3390/molecules15129252>
- [397] de Sousa, D. P., de Almeida Soares Hocayen, P., Andrade, L. N., and Andreatini, R. (2021). A systematic review of the anxiolytic-like effects of essential oils in animal models. *Molecules*, 26(3), 695. <https://doi.org/10.3390/molecules26030695>
- [398] Clifford, M. N., Zheng, W., Kuhnert, N., and Bridle, P. (2017). Chlorogenic acids and their derivatives: Structure, biological activity, and pharmacological properties. *Food Reviews International*, 33(4), 386–412. <https://doi.org/10.1080/87559129.2016.1196486>