



**T.C.
GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**DOKTORA
TEZİ**

**HALK TIBBINDA CİLT ÜZERİNDE KULLANILAN
BİTKİ EKSTRELERİNİN NANOÇİÇEK METODU İLE
HAZIRLANMASI VE ETKİNLİKLERİNİN
İN VİTRO YÖNTEMLERLE ARAŞTIRILMASI**

EMRAH BOR

FARMAKOĞNOZİ ANABİLİM DALI

MART 2021



**HALK TIBBINDA CİLT ÜZERİNDE KULLANILAN BİTKİ EKSTRELERİNİN
NANOÇİÇEK METODU İLE HAZIRLANMASI VE ETKİNLİKLERİNİN *İN VİTRO*
YÖNTEMLERLE ARAŞTIRILMASI**

Emrah BOR

DOKTORA TEZİ

FARMAKOGNOZİ ANABİLİM DALI

GAZİ ÜNİVERSİTESİ

SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Mart 2021

ETİK BEYAN

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

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

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

Emrah BOR

09/03/2021

HALK TIBBINDA CİLT ÜZERİNDE KULLANILAN BİTKİ EKSTRELERİNİN NANOÇİÇEK METODU İLE HAZIRLANMASI VE ETKİNLİKLERİNİN *İN VİTRO* YÖNTEMLERLE ARAŞTIRILMASI

(Doktora Tezi)

Emrah BOR

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Mart 2021

ÖZET

Son yıllarda, dünya genelinde kozmetik sektörü de dahil pek çok alanda, insanların doğala ve doğal kaynaklı ürünlere yöneldiği görülmektedir. Bu sebeple halk tıbbında kullanılan doğal kaynaklar da yeniden önem kazanmıştır. Bu çalışmamızda, geleneksel olarak, Anadolu'da cilt problemlerinde kullanıldığı belirlenen beş bitki, *Asplenium ceterach* L., *Malva sylvestris* L., *Portulaca oleracea* L., *Persea americana* Mill. ve *Equisetum arvense* L. bitkilerinin cilt üzerindeki etkilerinin bilimsel olarak araştırılması ve özellikle yaşlanma karşıtı (anti-aging) olarak kullanılabileceğinin kanıtlanması hedeflenmiştir. Bu doğrultuda *A. ceterach*, *M. sylvestris*, *P. oleracea* ve *E. arvense* 'nin toprak üstü kısımları, *P. americana* 'nın ise yaprakları kullanılarak metanollü (MeOH) ekstraktları hazırlanmıştır. Bu ekstraktlardan hareketle, ilk kez bakır (Cu^{2+}) ve çinko (Zn^{2+}) iyonları kullanılarak iki farklı organik-inorganik hibrit nanoçipek yapıları sentezlenmiştir. Sentezlenen bu nanoyapılar SEM, EDX, XRD ve FT-IR analizleri ile karakterize edilmiştir. Organik-inorganik nanoçipeklerin ve bitkilerin metanollü ekstraktlarının karşılaştırmalı olarak ciltte önemli fonksiyonlara sahip hyaluronidaz ve jelatinaz (MMP-2/MMP-9) enzimlerinin inhibisyonuna yönelik *in vitro* çalışmalar yapılmıştır. Tez kapsamında yapılan araştırmalarımız sonucunda nanoçipek yapıların aktivitesinin, metanollü ekstraktlarına kıyasla daha yüksek oldukları belirlenmiştir. Hyaluronidaz enzimi üzerindeki en yüksek inhibitör aktiviteye *P. americana* 'nın çinko (Zn^{2+}) hibrit nanoçipek yapısı; jelatinaz enzimi üzerindeki en yüksek inhibisyona ise *E. arvense* 'nin bakır (Cu^{2+}) hibrit nanoçipek yapısının sahip olduğu tespit edilmiştir. Bu bilgiler ışığında, belirlenen bitki ekstraktlarının nanoçipek yapıları kullanılarak etkili, güvenli, kaliteli ve yeni jenerasyon preparatların kozmetik sektörüne kazandırılması amaçlanmaktadır.

Bilim Kodu : 1017

Anahtar Kelimeler : Halk tıbbı, etnofarmakoloji, cilt problemleri, nanoçipek, *in vitro*, hyaluronidaz, jelatinaz, enzim inhibisyonu

Sayfa Adedi : 155

Danışman : Doç. Dr. Ufuk KOCA ÇALIŞKAN

INVESTIGATION OF PLANT EXTRACTS USED ON THE SKIN IN FOLK
MEDICINE BY NANOFLOWER METHOD AND INVESTIGATION OF THE
EFFECTS BY *IN VITRO* METHODS

(Ph. D. Thesis)

Emrah BOR

GAZI UNIVERSITY
GRADUATE SCHOOL OF HEALTH SCIENCES

MARCH 2021

ABSTRACT

In recent researches around the world, it is seen that in many areas, including the cosmetics sector, people turn to natural origin products. For this reason, it is aimed to investigate the activities of *Asplenium ceterach* L., *Malva sylvestris* L., *Portulaca oleracea* L., *Persea americana* Mill. and *Equisetum arvense* L. plants, which have been used traditionally for skin problems in our country for years, and to scientifically prove that they can be used as anti-aging. Accordingly, the aerial parts of *A. ceterach*, *M. mylvestris*, *P. oleracea* and *E. arvense* and the leaves of *P. americana* were prepared with methanol (MeOH) extracts. In addition, based on these extracts, two different organic-inorganic hybrid nanoflower structures were synthesized using copper (Cu^{2+}) and zinc (Zn^{2+}) ions for the first time. These synthesized nanostructures were characterized by SEM, EDX, XRD and FT-IR analyzes. Subsequently, *in vitro* studies were conducted on the inhibition of hyaluronidase and gelatinase (MMP-2 / MMP-9) enzymes, which have important functions in our skin. It has been determined that the activity of nanostructures is superior to methanol extracts in our research within the scope of the thesis. Zinc (Zn^{2+}) hybrid nanoflower structure of *P. americana* with the highest inhibitory activity on hyaluronidase enzyme. And it was determined that *E. arvense* had the highest inhibition on gelatinase enzyme with its copper (Cu^{2+}) hybrid nanoflower structure. In the light of these information, it is aimed to bring effective, safe, high quality and new generation preparations to the cosmetics sector by using the nanoflower structures of the plant extracts.

Science Code : 1017
Key Words : Folk medicine, ethnopharmacology, skin problems, nanoflower, *invitro*, hyaluronidase, gelatinase, enzyme inhibition
Page Number : 155
Supervisor : Assoc. Prof. Dr. Ufuk KOCA ÇALIŞKAN

TEŞEKKÜR

Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi'ndeki lisans ve lisansüstü eğitimim boyunca bilgisini, deneyimlerini, yardımlarını ve sabrını benden esirgemeyerek değerli zamanını bana ayıran danışman hocam Sayın Doç. Dr. Ufuk KOCA ÇALIŞKAN'a

Farmakognozi Anabilim Dalı'nın imkanlarından yararlanmamı sağlayan, tez çalışmalarım sırasındaki Anabilim Dalı Başkanı hocam Sayın Prof. Dr. Didem DELİORMAN ORHAN'a,

Tez savunma sürecimdeki yardımlarından dolayı şu andaki Farmakognozi Anabilim Dalı Başkanı hocam Sayın Prof. Dr. Esra AKKOL'a

Tez sürecine başladığım andan itibaren bilimsel donanımları ve önerileri ile bana yol gösteren, doktora tez izleme komitesi üye hocalarım Sayın Prof. Dr. Fatma TOSUN ve Doç. Dr. Nalan ÖZDEMİR'e

Destekleri için Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmakognozi Anabilim Dalı'nın tüm öğretim üye ve yardımcılara,

T.C. Sağlık Bakanlığı Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu'ndaki değerli mesai arkadaşlarıma,

Hayatımın her anında olduğu gibi bu süreçte de hep yanımda olan sevgili aileme,

Tez kapsamındaki araştırmalarıma 02/2018-012 proje kodu ile maddi destek veren Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi'ne teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT	v
TEŞEKKÜR	vi
İÇİNDEKİLER	vii
RESİMLERİN LİSTESİ	ix
ÇİZELGELERİN LİSTESİ	xii
ŞEKİLLERİN LİSTESİ	xiii
GRAFİKLERİN LİSTESİ	xv
SİMGELER VE KISALTMALAR	xvii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	7
2.1. Araştırılan Bitkiler Hakkında Genel Bilgiler.....	7
2.1.1. <i>Asplenium ceterach</i> L.	7
2.1.2. <i>Malva sylvestris</i> L.....	11
2.1.3. <i>Portulaca oleracea</i> L.....	15
2.1.4. <i>Persea americana</i> Mill.....	20
2.1.5. <i>Equisetum arvense</i> L.	26
2.2. Cildin Yapısı ve Yaşlanma Süreci	31
2.2.1. Cildin Genel Yapısı	31
2.2.2. Cilt Yaşlanması	33
2.3. <i>İn Vitro</i> Çalışmalarda Kullanılan Enzimler	38
2.3.1. Hyaluronidaz Enzimi	38
2.3.2. Jelatinaz A ve B Enzimleri (MMP-2 ve MMP-9)	40
2.4. Organik - İnorganik Hibrit Nanoçiçekler	43

	Sayfa
2.5. Organik - İnorganik Hibrit Nanoçiçeklerin Sentezlenmesi	46
3. GEREÇ VE YÖNTEM	49
3.1. Gereç	49
3.2. Yöntem.....	52
3.2.1. Ekstraksiyon Çalışmaları.....	52
3.2.2. Biyolojik Aktivite Çalışmaları	55
3.2.3. Sentezlenen Hibrit Nanoçiçek Yapıların Karakterizasyonu	63
4. BULGULAR	69
4.1. Hazırlanan Ekstrelerin Verimlerine Ait Bulgular	69
4.2. Sentezlenen Bakır (Cu ²⁺) ve Çinko (Zn ²⁺) Organik – İnorganik Hibrit Nanoçiçek Yapılarına Ait Bulgular	70
4.2.1. Nanoçiçek Yapıların SEM Görüntüleri	70
4.2.2. Nanoçiçek Yapıların EDX Analizi	77
4.2.3. Nanoçiçek Yapıların XRD Analizi	88
4.2.4. Nanoçiçek Yapıların FT-IR Analizi.....	99
4.3. <i>In Vitro</i> Enzim İnhibisyonu Tayinine Ait Bulgular	111
4.3.1. <i>In vitro</i> Hyaluronidaz Enzim İnhibisyonu Tayinlerine Ait Bulgular....	111
4.3.2. <i>In Vitro</i> Jelatinaz Enzim İnhibisyonu Tayinlerine Ait Bulgular.....	120
5. TARTIŞMA	129
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	135
KAYNAKLAR	139
ÖZGEÇMİŞ	154

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 2.1. <i>A. ceterach</i> bitkisinin genel görünüşü ve kurutulmuş hali	8
Resim 2.2. <i>A. ceterach</i> bitkisinin Türkiye'deki yayılışı	8
Resim 2.3. <i>M. sylvestris</i> bitkisinin genel görünüşü ve kurutulmuş hali	12
Resim 2.4. <i>M. sylvestris</i> bitkisinin Türkiye'deki yayılışı	12
Resim.2.5. <i>P. oleracea</i> bitkisinin genel görünüşü ve kurutulmuş hali	16
Resim 2.6. <i>P. oleracea</i> bitkisinin Türkiye'deki yayılışı	16
Resim.2.7. <i>P. americana</i> bitkisinin genel görünüşü ve kurutulmuş hali	21
Resim 2.8. 2016 yılı verilerine göre <i>P. americana</i> bitkisinin dünyadaki üretimi ve yayılışına dair veriler	22
Resim 2.9. <i>E. arvense</i> bitkisinin genel görünüşü ve kurutulmuş hali	27
Resim 2.10. <i>E. arvense</i> bitkisinin Türkiye'deki yayılışı	27
Resim 2.11. Cildin genel yapısı ve katmanlarının görünüşü	32
Resim 2.12. Genç ve yaşlı cildin karşılaştırmalı görünüşü	36
Resim 2.13. Organik-inorganik hibrit nanoçiçek yapılarının oluşumuna dair basamakların özeti	48
Resim 3.1. Tez kapsamında çalışılan bitkilerden hazırlanmış olan herbaryum örnekleri	51
Resim 3.2. Bitki öğütmelerinin yapıldığı cihaz.....	53
Resim 3.3. Ekstraksiyon aşamaları.....	53
Resim 3.4. Kullanılan rotavapor cihazları.....	53

Resim	Sayfa
Resim 3.5. Absorbans ölçümünün yapıldığı ELISA cihazı	55
Resim 3.6. Deney kitinin içeriği ve enzimler.....	57
Resim 3.7. Floresans ölçümünün yapıldığı cihaz	59
Resim 3.8. Sentez reaksiyonlarının sonucunda elde edilmiş olan mavi renkli bakır (Cu^{2+}) hibrit nanoçiçekler ve gri/beyaz renkli çinko (Zn^{2+}) hibrit nanoçiçeklere ait örnekler.....	60
Resim 3.9 Sentezlenen bakır (Cu^{2+}) hibrit nanoçiçekleri.....	62
Resim 3.10. Sentezlenen çinko (Zn^{2+}) hibrit nanoçiçekleri.....	63
Resim 3.11. SEM ve EDX analizlerinin gerçekleştirildiği cihaz.....	64
Resim 3.12. XRD analizlerinin gerçekleştirildiği cihaz.....	66
Resim 3.13. FT-IR analizlerinin gerçekleştirildiği cihaz.....	67
Resim 4.1. Bakır (Cu^{2+}) hibrit nanonanoçiçeklerin boyut analizleri ve ölçümleri	72
Resim 4.2. Çinko (Zn^{2+}) hibrit nanonanoçiçeklerin boyut analizleri ve ölçümleri.....	73
Resim 4.3. 2.50 KX–20.00 KX SEM, <i>P. oleracea</i> bitkisinin (Cu^{2+}) hibrit nanoçiçek görüntüleri	74
Resim 4.4. 2.50 KX–20.00 KX SEM, <i>A. ceterach</i> bitkisinin (Cu^{2+}) hibrit nanoçiçek görüntüleri	74
Resim 4.5. 2.50 KX–20.00 KX SEM, <i>P. americana</i> bitkisinin (Cu^{2+}) hibrit nanoçiçek görüntüleri	74
Resim 4.6. 2.50 KX–20.00 KX SEM, <i>M. sylvestris</i> bitkisinin (Cu^{2+}) hibrit nanoçiçek görüntüleri.....	75
Resim 4.7. 2.50 KX–20.00 KX SEM, <i>E. arvense</i> bitkisinin (Cu^{2+}) hibrit nanoçiçek görüntüleri.....	75
Resim 4.8. 5.00 KX–10.00 KX SEM, <i>P. oleracea</i> bitkisinin (Zn^{2+}) hibrit nanoçiçek görüntüleri.....	76
Resim 4.9. 5.00 KX–10.00 KX SEM, <i>A. ceterach</i> bitkisinin (Zn^{2+}) hibrit nanoçiçek görüntüleri	76

Resim	Sayfa
Resim 4.10. 5.00 KX–10.00 KX SEM, <i>P. americana</i> bitkisinin (Zn^{2+}) hibrit nanoçiçek görüntüleri	76
Resim 4.11. 5.00 KX–10.00 KX SEM, <i>M. sylvestris</i> bitkisinin (Zn^{2+}) hibrit nanoçiçek görüntüleri	77
Resim 4.12. 5.00 KX–10.00 KX SEM, <i>E. arvense</i> bitkisinin (Zn^{2+}) hibrit nanoçiçek görüntüleri	77



ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. Yaşlanma ile beraber ciltte meydana gelen değişiklikler.....	37
Çizelge 3.1. Tezde çalışılan bitki materyallerin toplandığı yer, yükseklik ve toplanma tarihi ve herbaryum kayıt bilgileri	50
Çizelge 3.2. Bitki materyallerinin maserasyon süreleri ve kullanılan metanol miktarları	54
Çizelge 4.1. Ekstraksiyon sonucu elde edilen verimler.....	69
Çizelge 4.2. Sentezlenen bakır (Cu^{2+}) ve çinko (Zn^{2+}) hibrit nanoçiçek yapılarının boyut analizi.....	71
Çizelge 4.3. Farklı konsantrasyonlardaki metanollü bitki eksterelerinin hyaluronidaz enzimi üzerindeki inhibisyonları.....	111
Çizelge 4.4. Farklı konsantrasyonlardaki hibrit bakır (Cu^{2+}) nanoçiçek yapılarının hyaluronidaz enzimi üzerindeki.....	113
Çizelge 4.5. Farklı konsantrasyonlardaki hibrit çinko (Zn^{2+}) nanoçiçek yapılarının hyaluronidaz enzimi üzerindeki inhibisyonları.....	115
Çizelge 4.6. Farklı konsantrasyonlardaki metanollü bitki eksterelerinin varlığında jelatinaz enzim aktivitesi.....	111
Çizelge 4.7. Farklı konsantrasyonlardaki hibrit bakır (Cu^{2+}) nanoçiçeklerin varlığında jelatinaz enzim aktivitesi.....	113
Çizelge 4.8. Farklı konsantrasyonlardaki hibrit çinko (Zn^{2+}) nanoçiçeklerin varlığında jelatinaz enzim aktivitesi.....	115

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 4.1. <i>P. oleracea</i> bitkisinin bakır (Cu^{2+}) hibrit nanoçiçek formuna ait EDX analiz sonuçları.....	78
Şekil 4.2. <i>A. ceterach</i> bitkisinin bakır (Cu^{2+}) hibrit nanoçiçek formuna ait EDX analiz sonuçları.....	79
Şekil 4.3. <i>P. americana</i> bitkisinin bakır (Cu^{2+}) hibrit nanoçiçek formuna ait EDX analiz sonuçları.....	80
Şekil 4.4. <i>M. sylvestris</i> bitkisinin bakır (Cu^{2+}) hibrit nanoçiçek formuna ait EDX analiz sonuçları.....	81
Şekil 4.5. <i>E. arvense</i> bitkisinin bakır (Cu^{2+}) hibrit nanoçiçek formuna ait EDX analiz sonuçları.....	82
Şekil 4.6. <i>P. oleracea</i> bitkisinin çinko (Zn^{2+}) hibrit nanoçiçek formuna ait EDX analiz sonuçları	83
Şekil 4.7. <i>A. ceterach</i> bitkisinin çinko (Zn^{2+}) hibrit nanoçiçek formuna ait EDX analiz sonuçları	84
Şekil 4.8. <i>P. americana</i> bitkisinin çinko (Zn^{2+}) hibrit nanoçiçek formuna ait EDX analiz sonuçları	85
Şekil 4.9. <i>M. sylvestris</i> bitkisinin çinko (Zn^{2+}) hibrit nanoçiçek formuna ait EDX analiz sonuçları	86
Şekil 4.10. <i>E. arvense</i> bitkisinin çinko (Zn^{2+}) hibrit nanoçiçek formuna ait EDX analiz sonuçları.....	87
Şekil 4.11. <i>P. oleracea</i> bitkisinin bakır (Cu^{2+}) hibrit nanoçiçek formuna ait XRD spektrumu.....	89
Şekil 4.12. <i>A. ceterach</i> bitkisinin bakır (Cu^{2+}) hibrit nanoçiçek formuna ait XRD spektrumu.....	90
Şekil 4.13. <i>P. americana</i> bitkisinin bakır (Cu^{2+}) hibrit nanoçiçek formuna ait XRD spektrumu	91
Şekil 4.14. <i>M. sylvestris</i> bitkisinin bakır (Cu^{2+}) hibrit nanoçiçek formuna ait XRD spektrumu	92
Şekil 4.15. <i>E. arvense</i> bitkisinin bakır (Cu^{2+}) hibrit nanoçiçek formuna ait XRD spektrumu.....	93

Şekil	Sayfa
Şekil 4.16. <i>P. oleracea</i> bitkisinin çinko (Zn^{2+}) hibrit nanoçiçek formuna ait XRD spektrumu	94
Şekil 4.17. <i>A. ceterach</i> bitkisinin çinko (Zn^{2+}) hibrit nanoçiçek formuna ait XRD spektrumu.....	95
Şekil 4.18. <i>P. americana</i> bitkisinin çinko (Zn^{2+}) hibrit nanoçiçek formuna ait XRD spektrumu	96
Şekil 4.19. <i>M. sylvestris</i> bitkisinin çinko (Zn^{2+}) hibrit nanoçiçek formuna ait XRD spektrumu	97
Şekil 4.20. <i>E. arvense</i> bitkisinin çinko (Zn^{2+}) hibrit nanoçiçek formuna ait XRD spektrumu	98
Şekil 4.21. <i>P. oleracea</i> bitkisinin bakır (Cu^{2+}) hibrit nanoçiçek formuna ait FT-IR spektrumu.....	100
Şekil 4.22. <i>A. ceterach</i> bitkisinin bakır (Cu^{2+}) hibrit nanoçiçek formuna ait FT-IR spektrumu	101
Şekil 4.23. <i>P. americana</i> bitkisinin bakır (Cu^{2+}) hibrit nanoçiçek formuna ait FT-IR spektrumu.....	102
Şekil 4.24. <i>M. sylvestris</i> bitkisinin bakır (Cu^{2+}) hibrit nanoçiçek formuna ait FT-IR spektrumu.....	103
Şekil 4.25. <i>E. arvense</i> bitkisinin bakır (Cu^{2+}) hibrit nanoçiçek formuna ait FT-IR spektrumu.....	104
Şekil 4.26. <i>P. oleracea</i> bitkisinin çinko (Zn^{2+}) hibrit nanoçiçek formuna ait FT-IR spektrumu	106
Şekil 4.27. <i>A. ceterach</i> bitkisinin çinko (Zn^{2+}) hibrit nanoçiçek formuna ait FT-IR spektrumu	107
Şekil 4.28. <i>P. americana</i> bitkisinin çinko (Zn^{2+}) hibrit nanoçiçek formuna ait FT-IR spektrumu	108
Şekil 4.29. <i>M. sylvestris</i> bitkisinin çinko (Zn^{2+}) hibrit nanoçiçek formuna ait FT-IR spektrumu	109
Şekil 4.30. <i>E. arvense</i> bitkisinin çinko (Zn^{2+}) hibrit nanoçiçek formuna ait FT-IR spektrumu	110

GRAFİKLERİN LİSTESİ

Grafik	Sayfa
Grafik 4.1. Konsantrasyonlara göre, metanollü bitki ekstraktları ve tannik asidin hyaluronidaz enzim inhibisyonu	112
Grafik 4.2. Her bir bitki ekstresi ve tannik asidin hyaluronidaz enzim inhibisyon oranlarının, farklı konsantrasyonlarına göre kıyaslanması	113
Grafik 4.3. Konsantrasyonlara göre, Bakır (Cu^{2+}) Nanoçiçeklerin ve tannik asidin hyaluronidaz enzim inhibisyonu	114
Grafik 4.4. Her bir Bakır (Cu^{2+}) Nanoçiçeklerin ve tannik asidin hyaluronidaz enzim inhibisyon oranlarının, farklı konsantrasyonlarına göre kıyaslanması	115
Grafik 4.5. Konsantrasyonlara göre, Çinko (Zn^{2+}) Nanoçiçeklerin ve tannik asidin hyaluronidaz enzim inhibisyonu.....	116
Grafik 4.6. Her bir Çinko (Zn^{2+}) Nanoçiçeklerin ve tannik asidin hyaluronidaz enzim inhibisyon oranlarının, farklı konsantrasyonlarına göre kıyaslanması.....	117
Grafik 4.7. <i>P. oleracea</i> bitkisinin metanollü ekstresi, Bakır (Cu^{2+}) ve Çinko (Zn^{2+}) hibrit nanoçiçek yapılarının, farklı konsantrasyonlarda % hyaluronidaz inhibisyonu karşılaştırmaları	118
Grafik 4.8. <i>M. sylvestris</i> bitkisinin metanollü ekstresi, Bakır (Cu^{2+}) ve Çinko (Zn^{2+}) hibrit nanoçiçek yapılarının, farklı konsantrasyonlarda % hyaluronidaz inhibisyonu karşılaştırmaları.....	118
Grafik 4.9. <i>E. arvense</i> bitkisinin metanollü ekstresi, Bakır (Cu^{2+}) ve Çinko (Zn^{2+}) hibrit nanoçiçek yapılarının, farklı konsantrasyonlarda % hyaluronidaz inhibisyonu karşılaştırmaları	119
Grafik 4.10. <i>A. ceterach</i> bitkisinin metanollü ekstresi, Bakır (Cu^{2+}) ve Çinko (Zn^{2+}) hibrit nanoçiçek yapılarının, farklı konsantrasyonlarda % hyaluronidaz inhibisyonu karşılaştırmaları.....	119
Grafik 4.11. <i>P. americana</i> bitkisinin metanollü ekstresi, Bakır (Cu^{2+}) ve Çinko (Zn^{2+}) hibrit nanoçiçek yapılarının, farklı konsantrasyonlarda % hyaluronidaz inhibisyonu karşılaştırmaları.....	120
Grafik 4.12. Farklı konsantrasyonlardaki metanollü bitki ekstraktlarının varlığında, jelatinaz enzim aktivitesinin değişimi.....	121

Grafik	Sayfa
Grafik 4.13. Farklı konsantrasyonlardaki Bakır (Cu^{2+}) Nanoçiçeklerin varlığında, jelatinaz enzim aktivitesinin değişimi	122
Grafik 4.14. Farklı konsantrasyonlardaki Çinko (Zn^{2+}) Nanoçiçeklerin varlığında, jelatinaz enzim aktivitesinin değişimi	123
Grafik 4.15. <i>P. oleracea</i> bitkisinin metanollü ekstresi, Bakır (Cu^{2+}) ve Çinko (Zn^{2+}) hibrit nanoçiçek yapılarının, farklı konsantrasyonlardaki MMP aktivitesi	124
Grafik 4.16. <i>M. sylvestris</i> bitkisinin metanollü ekstresi, Bakır (Cu^{2+}) ve Çinko (Zn^{2+}) hibrit nanoçiçek yapılarının, farklı konsantrasyonlardaki MMP aktivitesi.....	125
Grafik 4.17. <i>E. arvense</i> bitkisinin metanollü ekstresi, Bakır (Cu^{2+}) ve Çinko (Zn^{2+}) hibrit nanoçiçek yapılarının, farklı konsantrasyonlardaki MMP aktivitesi.....	125
Grafik 4.18. <i>A. ceterach</i> bitkisinin metanollü ekstresi, Bakır (Cu^{2+}) ve Çinko (Zn^{2+}) hibrit nanoçiçek yapılarının, farklı konsantrasyonlardaki MMP aktivitesi.....	126
Grafik 4.19. <i>P. americana</i> bitkisinin metanollü ekstresi, Bakır (Cu^{2+}) ve Çinko (Zn^{2+}) hibrit nanoçiçek yapılarının, farklı konsantrasyonlardaki MMP aktivitesi	126
Grafik 5.1. 1 mg/mL konsantrasyondaki tüm bitki ekstraktları ve hibrit nanoçiçek yapılarının hyaluronidaz enzim inhibisyonlarının karşılaştırılması	131
Grafik 5.2. 1 mg/mL konsantrasyondaki tüm bitki ekstraktları ve hibrit nanoçiçek yapılarının varlığında, ortamdaki MMP aktivitesinin karşılaştırılması.....	132

SİMGELER VE KISALTMALAR

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

Simgeler	Açıklamalar
°C	Santigrad derece
%	Yüzde
~	Yaklaşık
±	Artı eksi
m	Metre
cm	Santimetre
µm	Mikrometre
nm	Nanometre
µL	Mikrolitre
mL	Mililitre
dk	Dakika
kg	Kilogram
g	Gram
mg	Miligram
mM	Milimolar
a/a	Ağırlık/Ağırlık
kDa	Kilodalton
rpm	Dakikada bir birim
Ex/Em	Excitation/Emission (Uyarma/Emisyon)

Kısaltmalar**Açıklamalar****BPH**

Benign Prostat Hiperplazisi

DNA

Deoksiribo Nükleik Asit

DSÖ

Dünya Sağlık Örgütü

EDX

Energy Dispersive X-Ray

ERÜ – TAUM

Erciyes Üniversitesi Teknoloji Araştırma ve Uygulama merkezi

FAO

Food and Agriculture Organization

FRET

Flüoresan Rezonans Enerji Transfer

FT-IR

Fourier Transform Infrared Spectroscopy

GUEF

Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Herbaryumu

HIV

Human Immunodeficiency Virus

ITIS

Integrated Taxonomic Information System

JCPDS

Joint Committee on Powder Diffraction Standards

KOAH

Kronik Obstrüktif Akciğer Hastalığı

LDL

Low Density Lipoprotein

M.Ö.

Milattan Önce

MeOH

Metanol

MMP

Matriks metalloproteinaz

O.S.S.

Ortalama Standart Sapma

PBS

Phosphate Buffered Saline

RFU

Relative Fluorescence Units

SEM

Scanning Electron Microscope

TÜBİVES	Türkiye Bitkileri Veri Servisi
TÜİK	Türkiye İstatistik Kurumu
UV	Ultraviyole
UVA	Ultraviyole A
UVB	Ultraviyole B
XRD	X-Ray Diffraction



1. GİRİŞ

Antik çağlardan itibaren insanoğlu, hayatlarını idame ettirebilmek için doğal kaynaklara başvurarak barınma, giyinme, korunma, yakacak gıda ve şifalanma gibi ihtiyaçlarını gidermeye çalışmışlardır. Faydalandıkları bu doğal kaynaklar arasında bitkilerin de oldukça geniş bir yeri olduğu bilinmektedir. İnsanlar yaşamlarını sürdürebilmek için binlerce yıldır hastalıklardan korunmak ve hastalıklarını tedavi etmek durumunda kalmışlardır. Bu amaçla birçok kaynağı farklı yöntemlerle kullanmışlardır. Bu kaynakların büyük bir kısmını, doğadan doğrudan veya dolaylı olarak ulaşılabildikleri bitkiler başta olmak üzere çeşitli hayvanlar ve mikroorganizmalar oluşturmuştur.

Eski çağlarda insanlar, hastalıkların nedenlerini veya hangi bitkilerin nasıl kullanılabileceğine dair yeterli bilgiye sahip olmadıkları için, deneme yanılma yoluyla bir tedavi aramışlardır. Zamanla belirli hastalıklarda, belirli bitkilerin kullanılabileceği öğrenilmiş olup, şifalı bitkilerden ilaç hazırlanabileceğine dair yazılı kanıtlar ortaya konulmaya başlanmıştır. Bu konuda bilinen en eski yazılı belge yaklaşık 5000 yıllık, Nagpur (Hindistan)'dan gelen bir Sümer kil levhasında ortaya çıkmıştır. Bu kaynakta 250'den fazla çeşitli bitkiye (bazıları alkaloid içeren) atıfta bulunarak 12 ilaç hazırlama tarifi de yer almaktadır (Kelly, 2009; Petrovska, 2012).

Milattan önce (M.Ö.) 2500 yılı dolaylarında Çin İmparatoru tarafından yazılan "Pen T'Sao" isimli kitapta, halen günümüzde bile kullanılan çeşitli şifalı bitkilerin yer aldığı 365 adet ilaç bilgisi (Bottcher, 1965; Wiart, 2006) ve M.Ö. 1550 yılı civarında yazılan "Ebers Papirüsü" kaynağında 700 civarı bitkisel kökenli ilaçların bilgisi yer almaktadır (Glesinger, 1954; Tucakov, 1964). Bunlar gibi birçok şifalı bitkilerin, baharatların, meyvelerin kullanımına çeşitli antik kalıntılarda da rastlanmıştır. Tüm bu yazılı kanıtlardan hareketle, bitkilerle tedavi tarihinin, insanlık tarihi kadar eski olduğu anlaşılmaktadır.

Günümüzde de özellikle Çin ve Hindistan'ın geleneksel tıbbında halen oldukça önemli yere sahip olan bitkisel ürünler günümüzde kullanılan birçok ilacın da kökenini oluşturmaktadır. Buna rağmen bitkilerin, modern batı tıbbına dahil olması çok daha sonraki yüzyıllarda olmuştur. Bugünlerde de ekonomik sebepler ya da

coğrafi koşullardan dolayı ilaca ulaşımın zor olduğu yerlerde, insanlar birçok hastalığına çözüm bulmak amacıyla bitkileri yaygın olarak halen kullanmaktadırlar.

Doğalların sentetiklere göre daha az yan etki potansiyeline sahip olması, daha kolay elde edilebilmesi, sentetik/kimyasal ürünlerin yanında alternatif destekleri de denemek ve şifa bulabilmek için çaba sarf etmeleri sonucunda doğal ilaç ve ilaç hammaddelerine olan ilgiyi artmıştır. Bitkisel kaynaklı ürünler üzerine olan bu ilgi her geçen gün artmaya devam etmektedir. Dünya Sağlık Örgütü' nün (DSÖ) verilerine göre dünya nüfusunun %80'i sağlık sorunlarının tedavisi için ilk önce bitki veya bitkisel kaynaklı ürünlere başvurmaktadır (Faydaoğlu ve Sürücüoğlu, 2011). Haliyle ciltte oluşan fizyolojik durumların veya dermatolojik rahatsızlıkların önlenmesinde, tedavisinde ve estetik kaygılar sonucu istenmeyen durumların önüne geçebilmek için de bitkisel kaynaklı ürünler oldukça yaygın olarak kullanılmaktadır. Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'nde dermatolojik problemleri için sağlık kuruluşlarına başvuran hastalarda bitkisel ürünlerin kullanılma sıklığı %86, Almanya'da %52 oranında olduğu bildirilmiştir (Ernst, 2000).

Ülkemiz sahip olduğu coğrafi konumu, dört mevsimin de yaşanabilmesi, iklimi, mikrokliması ve dağlarının konumu, sulak alanları, kurak büyük bozkırlar, kayalık yamaçlar, verimli topraklar, büyük vadiler gibi jeolojik özellikleri sayesinde oldukça zengin floraya sahiptir. Avrupa kıtasının güneyi ile Asya kıtasının güneybatı floraları arasında köprü konumunda olması sebebiyle çeşitli cins ve türlerin orijin ve farklılaşma merkezi olmuştur. Türler ve çevre arasındaki binlerce yıllık etkileşim sonucunda endemik bitkiler de dahil olmak üzere sayısız aromatik ve tıbbi bitkiye ülkemiz coğrafyasında rastlanır hale gelmiştir. Bir bölgenin florasındaki zenginliğin, endemizim düzeyi ve toplam bitki türü sayısı ile belirlendiği de göz önüne alınarak, yaklaşık 12 000 adet bitki taksonuna sahip olan ülkemizin ne kadar büyük bir hazineye sahip olduğu anlaşılmaktadır. Floristik verilerden hareketle, toplam floranın yaklaşık olarak %30'unu oluşturan, 3 000'den fazla bitki türünün endemik olduğu kayıtlarda yer almaktadır. Dünyadaki en eski yerleşim yerleri arasında sayılan Çatalhöyük, Çayönü, Nevalı Çori, Hacılar ve Göbeklitepe gibi bölgeler ile sayısız biyolojik çeşitliliği ve oldukça dinamik bir habitatı bünyesinde barındıran Anadolu toprakları, halk hekimliğinde yüz yıllardır süre gelen ciddi tecrübelerle sahip olmasına rağmen bu farklı mozaiklerden ve zenginliğinden yeterince

faydalanılamamaktadır. Bitkilerin halk tıbbında kullanımının büyük bir kısmı, atalardan sözel aktarımlar sonucu günümüze kadar gelmiştir. Bu bilgilerin ciddi bir kısmı yapılan araştırmalar ile kayıt altına alınmış olsa da, kırsal alandan şehir yaşamına geçişten dolayı halen pek çok etnobotanik bilgi kaybolma tehlikesiyle karşı karşıyadır (Davis, 1965-1985; Davis, Mill ve Tan, 1988; Güner, Özhatay, Ekim ve Başer, 2000; Kaya ve Raynal, 2001; Yeşilada, 2002; Bulut ve Yılmaz, 2010; Faydaoğlu ve Sürücüoğlu, 2011; Özhatay, Kültür ve Gürdal 2015, 2017; Gürbüz ve diğerleri, 2019).

Yapılan yeni çalışmalarda da belirtildiği üzere, Anadolu'da şifalı ve yabani bitkileri tanıyan ve kullananların sayısı gün geçtikçe azalmaktadır. Etnobotanik ve etnomedikal veriler, düzgün bir şekilde kaydedilmez ve aktarılmaz ise, bir sonraki kuşak ne yazıkki bu kültürel hazinemizden doğru bir şekilde faydalanamayacaktır. Bununla birlikte modern yaşamın getirdiği popüler medyadaki bilgi kirliliği de, geleneksel halk tıbbımızın kayıt altına alınmasındaki önemi bir kez daha vurgulamaktadır. Şehir yaşamından en uzaktaki kırsal bölgelerde dahi, hiçbir bilimsel dayanağı olmayan çeşitli medya kaynaklı yanıltıcı veriler, tıbbi bitkilerin kullanımı konusundaki abartılı ve hatalı reklamlar sebebiyle, mütevazı yerel halkın kullandığı geleneksel tıp bilgileri de tehdit altına girmekte ve halk sağlığı üzerinde olumsuz etkilere yol açabilmektedir. Ayrıca farklı yörelerde, farklı bitkiler için aynı ismin kullanıldığı da gözlenmiş olup, bu durumun istenmeyen sonuçlar doğurabileceği de unutulmamalıdır (Gürbüz ve diğerleri, 2019).

Akne, psöriazis, dermatit, yara ve yanıkların tedavisi, kırışıklık giderici, antienflamatuvar etki, enfeksiyonlarda antibakteriyel, antiviral, antifungal, antimikrobiyal etkinin sağlanması, uyuz ve bitlenme, kronik venöz yetmezliklerde rahatlama sağlanması, alopesi, hiperpigmentasyon gibi renk bozuklukları ve hatta cilt kanserinin tedavisinde bitkisel kaynaklı ürünlere başvurulduğu görülmektedir (Durusoy ve Ulusal, 2007).

Farklı tipteki cilt sorunları, dış görünüşteki estetik kaygıyı etkilediği için insan hayatında ruhsal ve fiziki yönden olumsuzluklara yol açabilmektedir. Anadolu insanının da egzema, sedef ve vitiligo gibi rahatsızlıklar için çeşitli bitkilerden şifa aradıkları bilinmektedir (Kültür, Ecevit-Genç ve Erarslan, 2020).

Türk geleneksel halk tıbbı üzerinde yapılan bir başka araştırmada, özellikle cilt yanığı, saç dökülmesi, akne, sakatlıklar (ezilme, yara, bere) ve hemoroid için çeşitli bitkilerden, doğrudan yiyerek, yağ ile karıştırıp lapa yaparak, infüzyon ya da dekoksiyon hazırlayarak dahilen veya haricen kullandıkları belirtilmiştir (Yılmaz, 2018).

“Halk Tıbbında Cilt Üzerinde Kullanılan Bitki Ekstrelerinin Nanoçiçek Metodu İle Hazırlanması Ve Etkinliklerinin *In Vitro* Yöntemlerle Araştırılması” isimli doktora tezi çalışmalarımızda geleneksel olarak halk arasında cilt problemlerinde kullanılan bazı bitkilere bilimsel açıdan etkili olup olmadıklarına dair ışık tutularak, cilt yaşlanmasında, yıpranmasında ve kırılgılığının önlenmesinde ya da giderilmesinde kullanılabilirliği tespit edilecektir.

Tez kapsamında seçilen beş farklı bitkiden hazırlanan metanollü ekstreler ve bunlardan hareketle sentezlenmiş olan organik-inorganik hibrit nanoçiçek formlarının, *in vitro* koşullarda enzim üzerindeki aktivitelerinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

Özellikle artan yaş sonucu meydana gelen metabolik süreç (genetik miras, zamanla hücrelerin doğal yaşlanması, endokrinolojik değişimler, dokularda biriken serbest radikaller, vs.) ve çeşitli dış etkenler (yanık, yaralanma, güneş ışığı, rüzgar, sigara dumanı, hava kirliliği, radyasyon, çeşitli ilaçlar, dengesiz beslenme, stres, yer çekimi etkisi vs.) sonucu hyaluronik asitin ve jelatinin ciltteki seviyesinin oldukça azaldığı bilinmektedir. Bunların kozmetik ürünlerle yerine konulmasından ziyade, ciltte doğal olarak bulunan bu maddelerin parçalanmasının önüne geçilmesi tezimizin esas hedefidir.

Halk tıbbında cilt üzerinde geleneksel kullanıma sahip bitkilerden hareketle, bu bitkilerin cilt üzerindeki tedavi edici etkilerinin bilimsel açıdan değerlendirilmesi amacıyla *in vitro* “hyaluronidaz” ve matriks metalloproteinaz enzim ailesinin bir üyesi olan “jelatinaz A, 72 kDa ve jelatinaz B, 92 kDa (MMP-2 ve MMP-9)” enzimleri üzerindeki inhibisyon etkisinin araştırılması amaçlanmaktadır.

Asplenium ceterach L. (yanıkotu/dalakotu), *Malva sylvestris* L. (ebegümeci), *Portulaca oleracea* L. (semizotu), *Persea americana* Mill. (avokado) ve *Equisetum arvense* L. (at kuyruğu otu/kırkkilit otu) bitkileri halk tıbbında, geleneksel yöntemlerle cilt üzerine uygulanarak çeşitli rahatsızlıkların tedavisinde kullanılmaktadır. Bu bitkilere ait ekstrelerin bilimsel olarak biyolojik/farmakolojik etkilerinin olup olmadığının kanıtlanması hedeflenmiştir. Ayrıca seçilen bu bitkilerin, söz konusu hyaluronidaz ve jelatinaz A, B (MMP-2 ve MMP-9) enzimleri üzerindeki inhibisyon etkisinin olup-olmadığı da *in vitro* yöntemlerle aydınlatılacaktır. Bu bitkilerin seçilme sebeplerinden bir diğeri ise, cilt üzerindeki etkilerine yönelik literatürde fazla çalışma yapılmamış olmasıdır.

Cildin nem dengesi ve canlılığı üzerinde etkisi olan hyaluronik asit ve cildin elastik yapısı üzerinde etkili olan jelatinin parçalanmasını önleyici enzim inhibitörleri, seçilen bitkilerin ekstreleri üzerinde araştırılacaktır. Ayrıca ekstreden hareketle hibrit nanoçiçek (nanoflower) formu oluşturularak, söz konusu enzimler üzerindeki inhibisyon etkisinin değişimine bakılacaktır. Etkili olduğu kanıtlanan ekstre/nanoçiçek yapılarından, Türkiye’de cilt üzerinde efektif fitoterapötik ürünlerin geliştirilmesi amaçlanmaktadır. Böylece hem ilaç hem de kozmetik sektörüne fayda sağlayacaktır.

Tez kapsamında seçilen bitkilerin, şimdiye kadar söz konusu enzimlerle etkileşimlerine bakılmamış olması, ayrıca şimdiye kadar hiçbir şekilde hibrit nanoçiçek formlarının da oluşturulmamış olması, tezimizi özgün ve orijinal kılacaktır. Elde edilen sonuçlar yeni cilt preparatların geliştirilmesine ışık tutması, bilime getirdiği ayrı bir yenilik olacaktır.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Araştırılan Bitkiler Hakkında Genel Bilgiler

Bu bölümde tez çalışmasında, cilt üzerindeki olumlu etkileri araştırılmış olan sırasıyla *Asplenium ceterach* L., *Malva sylvestris* L., *Portulaca oleracea* L., *Persea americana* Mill. ve *Equisetum arvense* L. bitkileri hakkında genel bilgiler verilecektir. Bu bilgiler arasında söz konusu bitkilerin başlıca botanik özellikleri, ülkemizdeki yetiştiği bölgeler ve ihtiva ettikleri fitokimyasal içerikleri yer almaktadır. Ayrıca, bitkilerin sahip oldukları farmakolojik özelliklerinin yanı sıra, yüzyıllardır süre gelen dünyanın farklı bölgelerindeki geleneksel halk tıbbında nasıl ve ne amaçla kullanıldıklarından da bahsedilecektir.

2.1.1. *Asplenium ceterach* L.

Asplenium ceterach L.'in Botanik Özellikleri

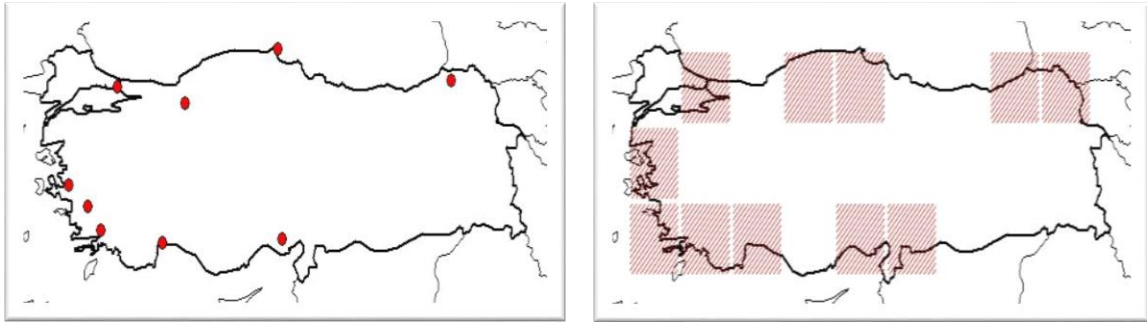
Familiya	:	Aspleniaceae
Cins	:	<i>Asplenium</i> L.
Tür	:	<i>Asplenium ceterach</i> L.
Sinonim	:	<i>Ceterach officinarum</i> Willd.

Kaynak: ITIS (Integrated Taxonomic Information System – *Asplenium ceterach* L.)

Asplenium ceterach L. ya da diğer bilinen adıyla *Ceterach officinarum* DC. bitkisi Aspleniaceae familyasına ait bir eğrelti türüdür ve toprak üstü kısmı kullanılmaktadır. (Resim 2.1.).



Resim 2.1. *A. ceterach* bitkisinin genel görünüşü ve kurutulmuş hali (Emrah BOR)



Adana, Bolu, İstanbul, Antalya, Artvin, Aydın, İzmir, Muğla, Sinop

A2, A4, A5, A8, A9, B1, C1, C2, C3, C5, C6

Resim 2.2. *A. ceterach* bitkisinin Türkiye'deki yayılışı (Türkiye Bitkileri Servisi – Tübives, 2020)

Ülkemizde genellikle altınotu, yanıkotu ya da dalakotu isimleriyle bilinmekte olup özellikle Akdeniz, Ege ve Karadeniz kıyılarında nemli yerlerde bulunmaktadır (Resim 2.2.). Kaya yarıkları ve taşlık duvar kenarlarında kendiliğinden yetişen, pinnat yapraklara (3-12 cm) sahip olan, çok yıllık otsu bir bitki çeşididir. Yapraklarının alt kısmı pas rengi-kahverengi tonlarında, üst kısmı ise yeşil renkli küçük ve yaygın bir eğrelti (sporofit) olup, toprak altında kısa rizomlara sahiptir (Živković, Popović, Dragišić-Maksimović, Momčilović, ve Grubišić, 2010).

A. ceterach'ın Geleneksel Kullanım Alanları

Geleneksel Yunan tıbbında *A.ceterach*'ın idrar söktürücü olarak, böbrek taşlarının düşürülmesinde, dalak şikayetlerinde, hemoroid tedavisinde ve balgam söktürücü olarak olarak kullanıldığı bildirilmiştir (Vokou, Katradi ve Kokkini, 1993). Yine Yunan tıbbına dair yapılan etnofarmakoloji çalışmalarında halk arasında böbrek taşı tedavisinin yanı sıra, safra taşlarına karşı da diürezi kolaylaştırmak ve iyi huylu prostat hiperplazisini (BPH–Benign Prostat Hiperplazisi) tedavi etmek için *A. ceterach* bitkisinin kullanıldığı kayıtlara geçmiştir (Tomou ve Skaltsa, 2018).

Yine Yunanistan'da halkın diüretik, antihelmintik, yumuşatıcı ve balgam söktürücü etkileri nedeniyle *A. ceterach* bitkisini yaygın olarak kullanmış oldukları gösterilmiştir (Malamas ve Marselos, 1992). Ayrıca söz konusu bitkinin pekçok farklı terapötik aktivitelerinin olduğu Theophrastus, Dioscorides ve Nikolaos Myrepsos gibi antik Yunan Tıbbının önemli isimleri tarafından da, yüzyıllar öncesinde kayıtlara alınmıştır (Wimmer, 1866; Wellmann, 1958; Valiakos, Marselos, Sakellaridis, Constantinidis ve Skaltsa, 2017).

Farklı ülkelerde geleneksel halk tıbbında *A. ceterach* infüzyon hazırlanarak, böbrek taşları, ishal (Bulut, 2006), bağırsak rahatsızlıkları, nevralji, prostat (Hanlidou, Karousou, Kleftoyanni ve Kokkini, 2004) ve gastrointestinal şikayetler (Viegi, Pieroni, Guarrera ve Vangelisti, 2003) için kullanılmıştır.

İtalya'nın güney kesimlerinde "spaccapietre" veya "stone-breaker" yani taş kırıcı ismi de verilen *A. ceterach* bitkisi, idrar söktürücü ve böbrek taşı düşürmek için oldukça fazla kullanılmıştır (Leporatti ve Impieri, 2007).

İspanya'nın doğu Mallorca taraflarında (Balear Adaları), *A. ceterach*'ın toprak üstü kısımlarından hazırlanan çayın, antihipertansif ve hepatik antienflamatuvar olarak kullanıldığı görülmüştür (Carrió ve Vallès, 2012).

İran'da geleneksel halk tıbbında, macun kıvamına getirilen *A. ceterach* saç derisindeki kaşıntıların tedavisinde kullanılmaktadır (Baharvand Ahmadi ve diğerleri, 2015).

Konya ilinde yapılan etnobotanik bir araştırmada söz konusu bitkinin infüzyonu ve dekoksasyonu hazırlanarak hemoroid (%5 - 10 luk infüzyonu haricen hemoroid şişliklerinin yıkanması ve pansuman yapılması), astım, mide ülseri, abdominal ağrılar, böbrek taşı rahatsızlıklarında ve afrodizyak etkisi sebebiyle kullanıldığı kayıt altına alınmıştır (Çimen Oral, 2007).

Ayrıca ülkemizde *A. ceterach* üzerine yapılan bir başka araştırmada, bitkinin serbest radikal süpürücü, antioksidan aktiviteye sahip olduğu, antimikrobiyal ve DNA hasarını koruma potansiyeli olduğu da gösterilmiştir (Berk, Tepe, Arslan ve Sarikurkcu, 2011; Karadeniz, Cinbilgel, Gün ve Çetin, 2015).

A. ceterach'ın Fitokimyasal İçeriği

Asplenium ceterach L. bitkisinin içerdiği fitokimyasal bileşikler şu şekilde aydınlatılmıştır. Fenolik asitler (hidroksibenzoik ve hidroksisinnamik asitler), flavonoid (flavan-3-ol'ler, flavonoller) ve ksantonlar, magniferin, hidroksisinnamik asitler (eskulin, klorojenik asit, kafeik asit, p-kumarik asit, rosmarinik asit), sporofit ve gametofitlerinde flavonoidler ve flavan-3-ol'ler (gallokateşin, epigallokateşin, kateşin, epikateşin ve epigallokateşin gallat) ve flavonoller (rutin) bulunur. Sporofitler fenolik asitlerin (özellikle klorojenik asit) yaygınlığı ile karakterize olmakla

birlikte gametofitlerdeki ksantonlar (mangiferin glukosid) fenoliklerin başlıca grubudur (Živković ve diğerleri 2017).

2.1.2. *Malva sylvestris* L.

Malva sylvestris L.'in Botanik Özellikleri

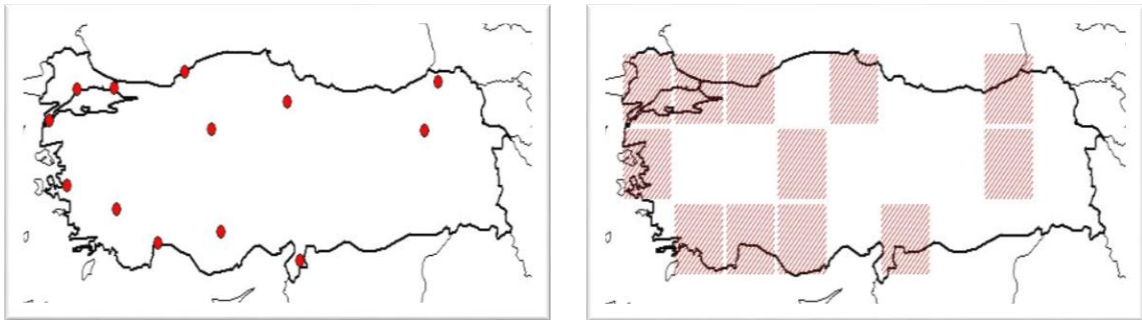
Familya	:	Malvaceae
Cins	:	<i>Malva</i> L.
Tür	:	<i>Malva sylvestris</i> L.
Sinonimleri	:	<i>Malva mauritiana</i> L. <i>Malva sylvestris</i> ssp. <i>mauritiana</i> (L.) Thellung <i>Malva sylvestris</i> var. <i>mauritiana</i> (L.) Boiss.

Kaynak: ITIS (Integrated Taxonomic Information System)

Malva sylvestris L. bitkisi Malvaceae familyasına ait olup halk arasında ebegümeci isimiyle oldukça geniş kitlelerce bilinmektedir (Resim 2.3.).



Resim 2.3. *M. sylvestris* bitkisinin genel görünüşü ve kurutulmuş hali (Emrah BOR)



İstanbul, Zonguldak, Amasya, Ankara, Antalya, Artvin, Çanakkale, Denizli, Erzurum, Hatay, İzmir, Tekirdağ, Karaman

A1, A2, A3, A5, A8, B1, B4, B8, C2, C3, C4, C6

Resim 2.4. *M. sylvestris* bitkisinin Türkiye'deki yayılışı (Türkiye Bitkileri Servisi – Tübives, 2020)

Ülkemizde Güneydoğu Anadolu bölgelerimiz haricinde tarlalarda, çalılık alanlarda ve açık arazide, deniz seviyesinden 1 500 metre rakıma kadar olan yerlerde rastlanır (Resim 2.4.). İki ya da çok yıllık otsu bir bitkidir. Gövdesi dik, yatık ya da eğik yükselişlidir. Yaprakları rotundat 5-7 parçalı, krenat, tüylü veya tüysüz olabilmektedir. Yaprakların koltuklarından çıkan çiçekler, eflatun, pembe veya açık mor tonlarındadır. Demetler halinde bulunan çiçekler 3-5 parçalı olup, epikaliks parçaları şeritsi veya dar yumurtamsı bir yapıdadır. Epikaliks segmentleri lineerden oblonga veya daralan ovat şeklinde bulunmaktadır. Bitkinin sepalleri geniş üçgen şeklinde olup 3-7 mm boyundadır. Petalleri ise mavi veya pembe renge sahip 18-25 mm boyunda, sepallerden 4 kat veya daha uzundur (Davis, Coode ve Cullen, 1965).

M. sylvestris'in Geleneksel Kullanım Alanları

İnsanlar *M. sylvestris* bitkisini mutfaklarında çeşitli şekillerde gıda olarak kullandığı gibi, bununla birlikte yüzyıllardan beri çeşitli ülkelerde geleneksel tıbbın içerisinde de birçok hastalığa şifa bulmuşlardır. Bitkinin toprak üstü bölümleri yaprakları ve çiçekleri, gerek infüzyon ya da dekoksion yoluyla hazırlanıp dahilen alınarak, gerekse lapa yapılarak lokal olarak kullanılmıştır. Mide ağrısı, dispepsi, kabızlık gibi gastrointestinal sistem rahatsızlıklarında, yara, yanık, tahriş, çatlaklar, cilt döküntüleri, böcek sokması, akne gibi dermatolojik rahatsızlıklarda, adet sancılarında, hemoroid, böbrek ve idrar yolları rahatsızlıklarında, romatizmal ağrılarda, astımda, diş ve dişeti ağrılarında, balgam söktürücü olarak ve öksürüğe karşı kullanıldığı görülmüştür (Gaspardo, Martins, Hayashi, Otaky ve Pontarolo, 2012).

İtalyada insanların, *M. sylvestris* bitkisinin yapraklarını salata ve çorbalarına ekleyerek, yumuşatıcı, laksatif ve diüretik etkisinden yararlandıkları tespit edilmiştir (Guarrera, 2003). Yine güney İtalya'da, geleneksel olarak şifa amaçlı kullanılan bitkiler üzerine yapılan bir çalışmada, *M. sylvestris* bitkisinin kökleri dekoksion yapılarak öksürük tedavisi, boğaz ağrısı, mide ağrıları ve diş ağrılarında kullanılmıştır. Ayrıca yöre halkı, bitkinin çiçek ve yapraklarından infüzyon yaparak mide rahatsızlıklarında, boğaz ağrısında, vajinal kaşıntılarda ve kilo kontrolünde kullanmışlardır (Scherrer, Motti ve Weckerle 2005).

Pakistanda yapılan bir etnomedikal araştırmada, yerel halkın öksürük tedavisinde ve kronik mesane ülserinde *M. sylvestris* bitkisinden şıfa aradıkları görölmüştür (Ishtiaq, Hanif, Khan, Ashraf ve Butt, 2007).

Lübnan halk tıbbı üzerine yapılan bir araştırmada, *M. sylvestris* bitkisinin yapraklarının ve çiçeklerinin zeytin yağı ile karıştırılarak romatizmal ve nevraljik ağrıların tedavisinde lokal olarak uygulandığı ifade edilmiştir (Nelly, Annick ve Frederic, (2008).

M. sylvestris bitkisinin ciltteki egzema, kesilmiş ve dermal enfekte olmuş yaralarda iltihapların giderilmesi için kullanıldığı da bilinmektedir (Pirbalouti, Yousefi, Nazari, Karimi ve Koohpayeh, 2009).

Malva sylvestris L.'in Fitokimyasal İçeriğı

M. sylvestris bitkisinin fitokimyasal içeriğı oldukça zengindir. Çeşitli aminoasitler ve protein türevleri, müsilaj, flavonoidler, terpenoidler, fenolik bileşikler, çeşitli enzimler, kumarinler, yağ asitleri, steroller, renk pigmentleri, vitamin ve mineraller bulunur (Gasparetto ve diğeri, 2012).

M. sylvestris bitkisinin ihtiva ettiğı bileşiklerin yapısı şu şekilde aydınlatılmıştır. Sabit yağlar (malvik asit, palmitik asit, palmitoleik asit, oleik asit, lineoik asit ve çok az miktarda stearik asit, kaprilik, α -linolenik, γ -linolenik, miristik asit, polienolik asit) terpenler (karveol, neral, 1,8-sineol, pulegol) ve retinol (Mukarram, Ahmad ve Ahmad, 1984; Emets, Klyuev, ve Petrenko, 1994; Guil, Torija, Gimenez ve Rodriguez, 1996). Müsilaj, redüktör şeker, glukozitler ve çok az miktarda alkaloid ile bazı vitaminler (A, B, B1 ve C vitaminleri) bulunur (Callagari ve Montolivo, 1938). Yapısında yüksek molekül ağırlıklı asidik polisakkaritler yer alır. Bunlar başlıca glukuronik asit, galakturonik asit, ramnoz ve galaktozdan; daha az miktarda ise glukoz, arabinoz, mannoz, fukoz ve ksilozdan oluşmuştur (Classen ve Blaschek, 1998; Karawya, Balbaa ve Afifi, 1971).

Ayrıca *M. sylvestris* bitkisinin yapısında flavonoidler (dihidrokemferol 4'-O- β -glukozit, apigenin, apigenin-7-O- β -glukozit, apigenin 4'-O- β -glukozit, kemferol-3-O-rutinozit ve kersetin-3-O-rutinozit), hidroksi kumarin (skopoletin) yer almaktadır (Matlawska, 1994; Tosi, Tirillini, Donini ve Bruni, 1995).

2.1.3. *Portulaca oleracea* L.

Portulaca oleracea L.'nin Botanik Özellikleri

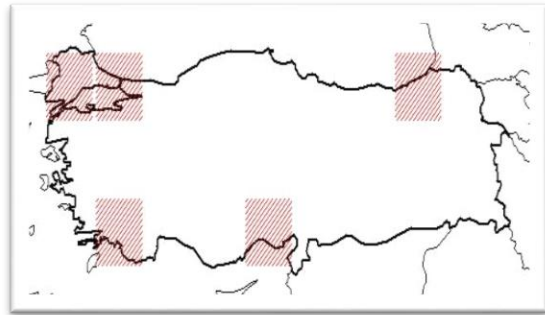
Familiya	:	Portulacaceae
Cins	:	<i>Portulaca</i> L.
Tür	:	<i>Portulaca oleracea</i> L.
Sinonimleri	:	<i>Portulaca neglecta</i> Mack. & Bush <i>Portulaca retusa</i> Engelm. <i>Portulaca oleracea</i> ssp. <i>granulatostellulata</i> (Poelln.) Danin & H.G. Baker <i>Portulaca oleracea</i> ssp. <i>impolita</i> Danin & H.G. Baker <i>Portulaca oleracea</i> ssp. <i>nicaraguensis</i> Danin & H.G. Baker <i>Portulaca oleracea</i> ssp. <i>nitida</i> Danin & H.G. Baker <i>Portulaca oleracea</i> ssp. <i>oleracea</i> L. <i>Portulaca oleracea</i> ssp. <i>papillatostellulata</i> Danin & H.G. Baker <i>Portulaca oleracea</i> ssp. <i>stellata</i> Danin & H.G. Baker

Kaynak: ITIS (Integrated Taxonomic Information System)

P. oleracea bitkisi Portulaceae familyasına ait olup ülkemizde de oldukça yaygın olarak yetişmekte olup, semizotu adıyla bilinmektedir (Resim 2.5.).



Resim.2.5. *P. oleracea* bitkisinin genel görünüşü ve kurutulmuş hali (Emrah BOR)



Adana, İstanbul, Artvin, Bursa, Çanakkale, Denizli, Kocaeli

A1, A2, A8, C2, C5

Resim 2.6. *P. oleracea* bitkisinin Türkiye'deki yayılışı (Türkiye Bitkileri Servisi – Tübives, 2020)

Semizotu, tek yıllık ve otsu bir bitkidir. Küçük ve etli yaprakları olan bu bitkinin toprak üstü kısmı oldukça bol miktarda su içerir. Kökleri bol saçak kök şeklinde olup, toprağın 20-40 cm derinliğine kadar ulaşabilmektedir.

Bitkinin gövdesi yere yatık ve tüsüzdür. Kırmızı - kahverengi ya da yeşil - sarı renklerde olabilen gövde üzerinde birçok boğum taşımakta ve dallanarak 20-30 cm boyutlarına çıkabilmektedir. Gövde üzerinde yer alan boğumlardan yapraklar ve koltuk sürgünleri oluşmaktadır. Bitki yeşil ve canlı yapraklara sahiptir. Bu yapraklar aşağı tarafta genellikle alternat, yukarıda ise oldukça sık ve bir araya toplanmış haldedir. Her bir boğumda 3-5 adet kadar bulunan yapraklar, elips (eliptik), obovat ve basit yapraklardır. Yaprakların uzunlukları 0,5 – 3,3 cm, genişlikleri 0,2 – 1,5 cm aralığındadır. Yaprakların uçları “obtüs” ya da “turunkat” şeklindedir. Yaprakların alt kısımları kurşuni renkte olup, üst yüzeyi iste parlak ve hafif çizgili bir yapıdadır.

Sürgün uçlarında ise yaz aylarında küçük ve sarı renkte çiçekler meydana gelir. Çiçek durumu kimozdur. Her bir kimoza 3-6 adettir ve sapları yoktur. Çiçek tübünün tabanında birleşen sepaller, 2 adettir ve serbest loblar çabuk düşer ve solar. Petaller ise 5 adet olup, 2 veya 3 lobludur. Taban kısmı zayıf bir halde birbiriyle kaynaşmıştır. Petallerin boyları, sepallere göre daha uzundur ve yaklaşık olarak 4-6 mm boyundadır. Çiçekleri biyolojik açıdan erselik olmakla beraber, yabancı tozlaşma gösterirler.

Semizotunda fazla sayıda erkek organ bulunurken, dişi organ 3-5 karpellidir. Eğer biçilmez ise Mayıs-Eylül ayları arasında ana ve yan sürgünlerinin uç noktalarından çiçeklenmeye başlar. Ovaryum alt durumlu, sepaller ve petallerin bağlantı noktasından bir kapakla açılmaktadır. Tohumların sapı devamlı olup tohumlar düştükten sonra, dışarıya doğru bir çıkıntı oluşturur. Siyah, parlak ve papillalı tohumlar olgunlaştıkça açılabilen ince yapıya sahip bir kapsülde meydana gelirler. Bu tohumların çimlenme gücü çok yüksektir. Bu yüzden semizotu yabancı olarak da oldukça yaygın bir şekilde çoğalabilmektedir (Davis, 1967; Öztürk, Seçmen, Gemici ve Görk, 1990; FAO, 1994; Vural, Eşiyok ve Duman, 2000).

P. oleracea tohumlarının çimlenmesi için minimum, optimum ve maksimum sıcaklık değerleri sırasıyla: 15°C, 35°C ve 40°C olarak belirlenmiştir (Üremiş ve Uygur, 1999).

Semizotu bitkisi, ülkemizde kültür sebzeciliği alanında önemli bir yetiştiriciliğe sahip olmakla birlikte, doğadan yabani formları da toplanarak kullanılmaktadır.

P. oleracea'nin Geleneksel Kullanım Alanları

Semizotu, dünya mutfağında çiğ ya da pişmiş şekilde salata ve çorbalarda gıda malzemesi olarak kendine yer edinmiş olmasının yanı sıra, pek çok hastalığın tedavisinde de geleneksel tıpta kullanılmıştır. Baş ağrısı, mide ağrısı, böbrek ağrıları, laktasyon dönemindeki annelerin süt salgısının artırılması, çeşitli enfeksiyonlarda, diyare tedavisinde, şekeri dengelemede ve zihin açıcı olarak dahilen kullanılmıştır (Yazıcı, Türkan, Sekmen ve Demiral, 2007; Oliveira ve diğerleri, 2009).

Yara, yanık tedavisinde, çeşitli böcek ısırıklarında, egzema, sivilce, dermatit gibi cilt problemlerinde antimikrobiyal etkilerinden faydalanılmıştır. Ayrıca kas gevşetici olarak kullanılmaktadır. Genelde lapa yapılarak ya da doğrudan bitkinin kendisi ezilerek haricen kullanılmıştır. İçeriğindeki yüksek bitkisel omega-3 sayesinde kalp damar sisteminde koruyucu etkisi çok yüksektir.

P. oleracea bitkisi, “De Materia Medica” da astrenjan, baş ağrısı için bir ağrı kesici, gözlerin ve diğer organların inflamasyonunda, mide yanması, erizipel (yılancık hastalığı – deride ağrı kızarıklık, şişlik ve ısı artışı), mesane bozuklukları, dişlerin uyuşması, aşırı cinsel istek, yüksek ateş, solucan hastalığı, dizanteri, hemoroid ve böcek ısırıklarında kullanıldığı belirtilmektedir. Ayrıca modern farmakolojik çalışmalar ile *P. oleracea*'nin geleneksel olarak kullanımının anti-hiperlipidemik, anti-hiperglisemik, hepatoprotektif ve renoprotektif aktiviteleri de dahil olmak üzere pek çok etkisi kanıtlanmıştır. Bunlara ek olarak yine yapılan klinik çalışmalarda, söz konusu bitkinin, kabızlık haricinde hiçbir yan etki profiline sahip olmadığı gösterilmiştir (Iranshahy ve diğerleri, 2017).

Eski Yunan tıbbında, kadın hastalıklarında, ateşlenmelerde, ciltteki yaralarda, mide ağrıları ve hemoroid tedavilerinde kullanılmıştır (Dweck, 2001).

Geleneksel Çin Tıbbında böcek ısırması, yılan sokması, egzema, kanlı dizanteri gibi hastalıkların tedavisi için, insanların *P. oleracea* bitkisinden yararlandıkları belirtilmiştir (Xu, Yu ve Chen, 2006). Son zamanlarda, *P. oleracea* bitkisindeki biyoaktif katekolamin, noradrenalin ve dopamin içeriğinin araştırılması ve bu çalışmaların ışığında, Çin Tıbbının geleneğinde semizotuna “uzun ömürlü bitki” ifadesinin kullanımının aslında uygun olduğu ortaya çıkmaktadır (Chen, Shi ve Liu, 2003).

Nepal'de yapılan bir araştırmada, *P. oleracea* yapraklarının suyu içecek olarak kullanımı oldukça yaygın olduğu görülmüştür. Ayrıca bitkinin yaprakları ve tohumları, kardiyovasküler şikayetler ile dolaşım sistemi hastalıklarının tedavisinde kullanılmaktadır. *P. oleracea* tohumları ve yaprakları kullanılarak hazırlanan macun ve sakız ile diş problemlerini tedavi etmeye çalışmışlardır (Joshi ve Joshi, 2000).

Yapılan birçok araştırmalar sonucunda semizotu bitkisinin; antimikrobiyal, antioksidan, anti-aterojenik, böbrek koruyucu, immünomodülatör, anti-hiperlipidemik, anti-artritik, anti-diyabetik, hepatoprotektif, nefroprotektif, nöronal aktivite, nöroprotektif, anti nosiseptif ve anti inflamatuvar aktiviteye sahip olduğu bilinmektedir (Chowdhary, Meruva ve Elumalai, 2013).

P. oleracea'nin Fitokimyasal İçeriği

P. oleracea bitkisinin içerdiği fitokimyasal maddeler oldukça zengin olup; bu bileşiklerin aydınlatılmasına yönelik birçok çalışma yapılmıştır. Semizotunun nitrat (Tosun, Karadeniz ve Yüksel, 2003), müsilaç (Ezekwe, Omara-Alwala ve Membrahtu, 1999), fosfor, potasyum, kalsiyum, kükürt, sodyum, demir, mangan, bakır, çinko ve magnezyum (Turan, Kordali, Zengin, Dursun ve Sezer, 2003), biyoflavanoidler, fenoller, tiyoller, indoller, glukosinolatlar ve organik kükürtlü bileşikler (Dillard ve German, 2000), protein, karbonhidrat, lif, omega-3, E vitamini, C vitamini, α - tokoferol, askorbik asit, beta-karoten ve glutatyon (Simopoulos, Norman, Gillaspı ve Duke, 1992; Simopoulos, Norman, Gillaspı ve Duke, 1995; Odhav, Beekrum, Akula ve Baijnath, 2007), % 0,25 l-noradrenalin içerdiği, aynı

zamanda da vitaminler, mineraller (özellikle potasyum) ve doymamış yağ asitleri (özellikle omega-3) bakımından oldukça zengin olduğu bildirilmiştir (Dweck, 2001).

Semizotunun farklı kısımlarının ekstreleri kullanılarak yapılan araştırmada noradrenalin ve dopamin içerdiği gösterilmiştir (Chen, Shi ve Liu, 2003; Yue, Jiang ve Shi, 2005). Bir başka araştırmada ise bu katekolamin miktarlarının % 0,15 noradrenalin ve % 0,25 dopaminin şeklinde bulunduğunu tespit etmişlerdir (Zhang, Chen, Hu ve Ma, 2002). Ayrıca kuru ağırlığın yaklaşık % 25'ini oluşturan bir polisakkarit kompleksi izole edilmiştir. Bu viskoz madde, gıdaların kullanım süresini uzatmak amacıyla uygun fizikokimyasal özelliklere sahiptir (Wenzel, Fontana ve Correa, 1990). Semizotundan 5 farklı alkaloid (oleraceins A, B, C, D ve E) izole edilmiş ve yapıları belirlenmiştir (Xiang ve diğerleri, 2005). Semizotunun sulu ekstresinin yüksek miktarda fenolik madde, flavonoid ve antosiyanin içerdiği tespit edilmiştir. (Peksel, Arisan-Atac ve Yanardag, 2006).

2.1.4. *Persea americana* Mill.

Persea americana Mill.'nin Botanik Özellikleri

Familiya	:	Lauraceae
Cins	:	<i>Persea</i> Mill.
Tür	:	<i>Persea americana</i> Mill.
Sinonimleri	:	<i>Persea gratissima</i> C.F. Gaertn. <i>Laurus persea</i> L. <i>Persea nubigena</i> L.O. Williams <i>Persea persea</i> (L.) Cockerell <i>Persea nubigena</i> var. <i>guatemalensis</i> L.O. Williams <i>Persea americana</i> var. <i>americana</i> Mill. <i>Persea americana</i> var. <i>drymifolia</i> (Schltdl. & Cham.) S.F. Blake <i>Persea americana</i> var. <i>guatemalensis</i> (L.O. Williams) Scora <i>Persea americana</i> var. <i>nubigena</i> (L.O. Williams) L.E. Kopp.

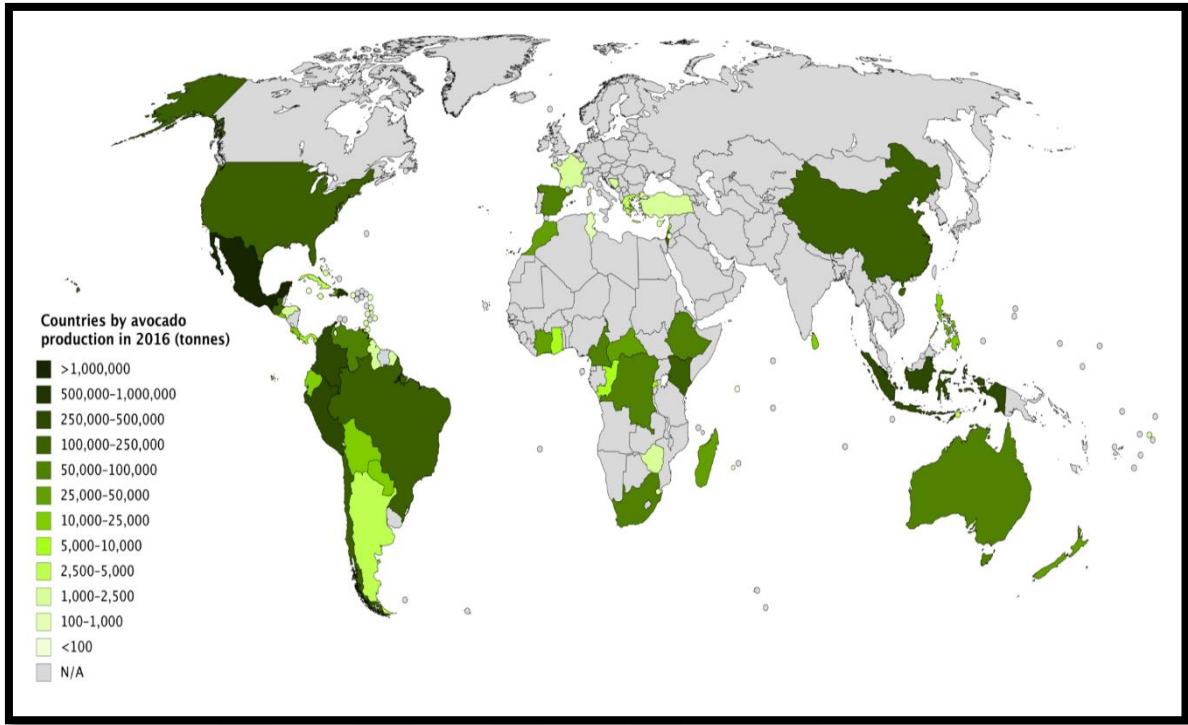
Kaynak: ITIS (Integrated Taxonomic Information System)

Geçmişı tarih öncesi dönemlere kadar dayanan *P. americana* bitkisi Lauraceae familyasına ait olup her mevsim yeşil yapraklara sahip olan çok yıllık bir ağaçtır (Resim 2.7.).



Resim. 2.7. *P. americana* bitkisinin genel görünüşü ve kurutulmuş hali (Emrah BOR)

Avokado isimiyle bilinen, Orta Amerika'ya özgü olup dünyanın birçok ülkesinde tropik ve subtropik iklimlerde yetiştirilebilmektedir. Ülkemiz habitatında doğal olarak yer almamasına rağmen özellikle Antalya, Mersin ve Hatay gibi Akdeniz kıyısı olan nemli şehirlerimizde kurulan kültür alanları ile yetiştirciliği yapılmaktadır. Bu sayede *P. americana* ülkemizde her yıl tonlarca miktarda üretilmektedir. Avokado kozmetik sanayinde, geleneksel tıpta ve mutfaklarda gıda olarak kendine önemli yer bulmuştur (Resim 2.8.).



Resim 2.8. 2016 yılı verilerine göre *P. americana* bitkisinin dünyadaki üretimi ve yayılışına dair veriler (FAO - Food And Agriculture Organization, Statistical Database)

Ülkemizde 1970'li yıllarda kültürüne başlanan avokado, 2018 yılı TÜİK (Türkiye İstatistik Kurumu) verilerine göre, 1997 yılındaki üretimi 225 ton iken bu rakamın 2018 yılında 3 bin 164 tona ulaşarak yaklaşık 14 kat artmıştır. Ayrıca dünya genelinde ortalama ağaç başına verimin yaklaşık 4045 kilogram iken, bu değerler Türkiye'de 5060 kilogramlara kadar çıkabilmektedir. Akdeniz bölgesinin iklimi, topraklarının verimli olmasının ve ülkemizin kültür yetiştiriciliğindeki başarısının bu rakamlarda büyük payı vardır.

Yüksekliği 9-20 metreye ulaşabilen avokado ağacı, çiçeklenmeden kısa bir süre önce yapraklarını dökebilir. Yaprakları 7-41 cm arasında değişen boyutlarda ve değişik şekillerde (eliptik, oval veya mızrak) olabilir. Bu yapraklar genç döneminde kırmızı tonlarında olup tüysüzdür. Olgunlaşmaya başladığında ise kösele gibi bir hale gelerek pürüzüz ve koyu yeşil renge dönerler. Çiçeklerinin çapı 1-1,3 cm arasında değişmekte olup sarımsı-yeşil renklindedir. Çiçeklenmeler psödodoterminal pozisyonda oluşmaktadır. Çiçeklenme merkezi eksenlidir.

Avokado meyvesi ise tek bir büyük tohumun etrafında oldukça etli ve yağlı bir yapıya sahiptir. Meyvenin dokusu değişkenlik gösterebilir. Özellikle olgunlaşan meyveler yeşil, siyah hatta mor-kırmızı bir renge bürünebilirler. Meyvelerin şekli kürselden piriforma (armut şeklinde) kadar değişmekte olup 2,3 kg ağırlığa çıkabilmektedir (Ambasta ve Ramchandran, 1986; Bekele-Tesemma, Birnie ve Tengnas, 1993; Cogley, 1976; White ve Crane, 1975; Crane ve Walker, 1984; Yasir, Das ve Kharya, 2010).

P. americana'nın Geleneksel Kullanım Alanları

Avokado bitkisi arkeolojik kazılarda M.Ö. 8000 – 7000 yılları arasında Tecuhan (Meksika)'da yer alan Coxcatlan Mağaraları'nda rastlanmıştır. Antik çağlardan beri çok uzun zamandır, dünyanın birçok yerinde insan vücudunun çeşitli hastalıklarını tedavi etmek için geleneksel olarak kullanılmıştır. Kök, ağaç kabuğu, meyve, tohum ve yaprak, geleneksel hastalıklarda, çeşitli hastalıkların tedavisi için birçok tropik ve subtropikal ülkede yaygın olarak kullanılmaktadır (Owolabi, Jaja ve Coker, 2005).

Aztek ve Maya uygarlıklarında da avokado meyvesinin oldukça geniş bir yeri vardı. Bu kültürler üzerine yapılan etnofarmakolojik çalışmalarda, insanların avokado çekirdeklerinden dekoksion yaparak mikotik ve parazit kaynaklı enfeksiyonların tedavisinde şifa aradıkları görülmüştür (Kunow, 2003).

Avokado tohumu (ham veya kızartılmış haliyle) Meksika geleneksel tıbbında, mantar ve bakterilerin neden olduğu bulaşıcı hastalıkların yanı sıra astım, yüksek tansiyon, romatizma, cilt döküntüleri, ishal ve dizanteriyi tedavi etmek için de kullanılır (Aguilar, Camacho, Chino, Jacquez ve López, 1994; Argueta, Gallardo ve Instituto Nacional Indigenista (Mexico), 1994; Moreno-Urbe, 2008; Torres, Pérez ve Contreras, 2005; del Refugio Ramos ve diğerleri 2004).

Tohumu ishal, dizanteri, diş ağrısı, bağırsak parazitlerinin tedavisinde ve güzellik amacıyla kullanılır (Pamplona-Roger 1999). Küba'da, bu bitkinin öksürük kesici, gaz giderici, ishal tedavisi, idrar söktürücü, spazm ve mide rahatsızlıklarında; safra,

karaciğer rahatsızlıkları, grip ve ürik asit fazlalığı durumlarında ve kadınlarda adet düzensizliklerinde kullanıldığı belirtilmiştir (Roig, 1998)

Avokadonun yaprakları, Latin Amerika ve Afrika ülkelerinde diyabet tedavisinde popüler olarak kullanılmıştır (Lima, 2012)

Avokadonun kabuğu, meyvesi ve yaprağı, Güney Amerika, Batı Hint Adaları ve Afrika'daki geleneksel tıpta çeşitli hastalıklara çare bulmak için kullanılmaktadır. Meyvesi ayrıca dizanteri ve solucanlara karşı da kullanılır. Yapraklarının dekoksasyonu ishal, boğaz ağrısı ve kanamalara karşı ve kadınlarda menstrüasyonu uyarmak ve düzenlemek için de kullanılmıştır (Morton, 1987).

Kamerun'da, avokado yaprakları kaynatılarak diş ağrısı, yüksek tansiyon, diyabet, sıtma tedavi edilmiş; rahim kasılmalarını ve ağrılı menstrüasyonu rahatlatmak için kullanılmıştır (Odugbemi, 2006).

Avokadonun yaprakları ve gövde kabuğu beraber suyun içinde kaynatılarak da diş ağrısı, sıtma ve tifo ateşinin tedavisinde kullanılmıştır. Meyvesi düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL – Low-density lipoprotein) kolesterolünü düşürmek ve mental iyileşme ve kardiyovasküler hastalıkları önlemek için doğrudan yiyecek olarak kullanılmıştır. Tohumun sulu ekstresi bağırsak solucanlarına karşı dahilen kullanılmıştır. Ayrıca evlerin etrafına ekilen bu ağaç hava temizleyici olarak da işlev görür (Tcheghebe, Nyamen, Tatong ve Seukep, 2016).

Gastrointestinal sistem bozukluklarından biri olan gastrik ülser, özellikle uzun süreli anti-inflamatuar ilaçların kullanımlarıyla meydana gelen ve dünya çapında da yaygın olarak karşılaşılan bir rahatsızlıktır. Avokado tohumunun sahip olduğu, anti-inflamatuar, antioksidan ve antimikrobiyal aktiviteleri sayesinde gastrik ülserin tedavisinde ve önlenmesinde uygun bir doğal kaynak olduğu görülmüştür (Athaydes ve diğerleri, 2019).

Analjezik, antienflamatuvar, hipotansif aktivite, antikonvülsan, antiviral, antimikrobiyal, antibakteriyel, antikanser, antiülser, kardiyovasküler aktivite, antihepatotoksik, antioksidan, tansiyon düşürücü, antiplatelet ve antitrombik aktivite,

karaciğer koruyucu, kolesterol düşürücü aktivite, kan şekerini dengelemek, eklem rahatsızlıkları, artrit, diyare, kilo kontrolü, yara ve yanıkların tedavisinde kullanılmaktadır (Yasir, Das ve Kharya, 2010)

P. americana'nın Fitokimyasal İçeriği

P. americana bitkisinin içeriğindeki fitokimyasal maddeler oldukça zengin olup; bu bileşiklerin aydınlatılması için çeşitli çalışmalar yapılmıştır. Avokadonun flavonoidler, fenolik bileşikler, saponin, tanen, steroidler ve alkaloidlerin yanı sıra sodyum, magnezyum, kalsiyum, potasyum, fosfor, demir ve çinko gibi mineralleri içerdiği gösterilmiştir. (Arukwe ve diğerleri, 2012).

Yapılan bir başka çalışmada içerdiği başlıca kimyasal bileşenler arasında karotenoidler (lutein, β -kriptoksantin, zeaksantin, α -karoten ve β -karoten), yağ asitleri (oleik ve palmitik asitler gibi tekli doymamış yağ asitleri; linoleik, palmitoleik ve linolenik asitler gibi doymamış yağ asitleri), mineraller (kalsiyum, magnezyum, demir, fosfor, sodyum, potasyum, bakır, çinko, manganez ve selenyum), fenolik ve polifenolik bileşikler (Fenolik asitler (hidroksibenzoik ve hidrokinamik asitler), flavonoidler (rutin), stilbenler (resveratrol), kumarin ve tanenler (tannik asit)), fitosteroller ve fitostanoller (β -sitosterol, kampesterol, stigmasterol ve β -sitostanol, kampestanol ve stigmastanol), proteinler (asparajin, aspartik asit, glutamin ve glutamik asit), yedi karbonlu şekerler (D-mannoheptuloz ve perseitol (indirgenmiş formu poliol)) ve çeşitli vitaminleri (A vitamini, B vitamini (B1, B2, B3, B5, B6, B12, folat ve kolin), betain, C vitamini, E vitamini (α - tokoferol, β - tokoferol, γ - tokoferol, δ - tokoferol) ve K1 vitamini) içerdiği gösterilmiştir (Tabeshpour, Razavi ve Hosseinzadeh, 2017; Savaş, 2018).

2.1.5. *Equisetum arvense* L.

Equisetum arvense L.'nin Botanik Özellikleri

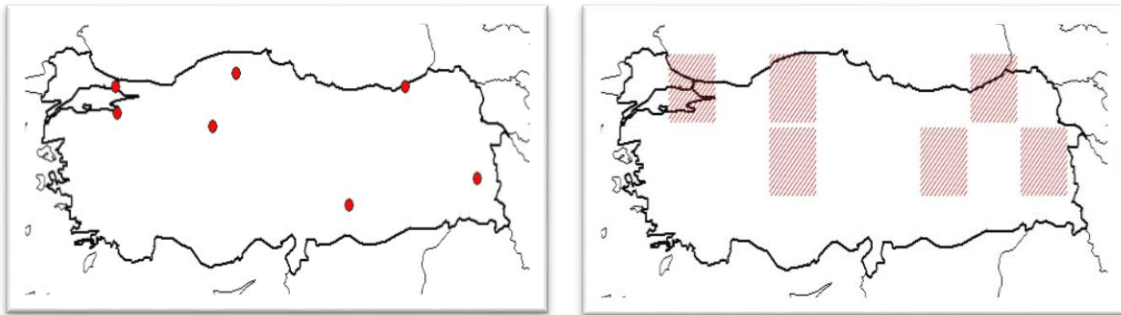
Familya	:	Equisetaceae
Cins	:	<i>Equisetum</i> L.
Tür	:	<i>Equisetum arvense</i> L.
Sinonimler	:	<i>Equisetum calderi</i> B. Boivin <i>Equisetum arvense</i> var. <i>alpestre</i> Wahlenb. <i>Equisetum arvense</i> var. <i>boreale</i> (Bong.) Rupr. <i>Equisetum arvense</i> var. <i>campestre</i> Wahlenb. <i>Equisetum arvense</i> var. <i>riparium</i> Farw.

Kaynak: ITIS (Integrated Taxonomic Information System)

E. arvense bitkisi Equisetaceae familyasına ait olup, ülkemizde kırkkilit otu veya atkuyruğu otu ismiyle bilinen çok yıllık, çiçeksiz ve otsu bir bitkidir (Resim 2.9.).



Resim 2.9. *E. arvense* bitkisinin genel görünüşü ve kurutulmuş hali (Emrah BOR)



İstanbul, Kastamonu, Adıyaman, Ankara, Bursa, Rize, Van

A2, A4, A8, B4, B7, B9

Resim 2.10. *E. arvense* bitkisinin Türkiye'deki yayılışı (Türkiye Bitkileri Servisi – Tübives, 2020)

İlkbahar aylarının başlangıcında, toprağın derinlerindeki köksaptan, ilk önce sporları taşıyan başak sapları gün yüzüne çıkar. Bu saplar kahverengi tonlarındadır. Her zaman yeşil rengini koruyan *E. arvense*'nin boyu 1 - 2 metreye kadar uzayabilmektedir. Yerlerde sürünen kollarında yaklaşık 10 - 15 cm boyutlarında yeşil dallar meydana gelir. Bitki dört yaşına geldiğinde sarımsı tonlarda başaklar verir ve çiçek açmaz. Bu başakların içerisinde oldukça yumuşak, suda ıslanmadan yüzebilen ve sarı renge sahip sporlar yer alır. Bu sporlar bitki 5 - 7 yaşına gelmeden önce çimlenebilecek güce sahip değildir. Bitkinin gövdesi silindir yapısında, dallı veya dalsız, yeşil ya da koyu yeşil renkte, sert ve içi boş haldedir. Yaprakları ise oldukça küçük, pul şeklinde ve ucu sivridir.

E. arvense spor ile çoğalan bir bitkidir. Spor keseleri verimli gövdelerin uç kısımlarında başak şeklinde toplanmış haldedir. Özellikle nemli topraklarda, tarla aralarında ve dere kıyılarında oldukça sık rastlanır (Resim 2.10.). Doğrudan güneşe maruz kaldığı yerlerde yaşayamayan bu bitki, genelde çalı ve ağaçların altlarında, orman içinde yaşamaktadır (Bebbington ve Wright, 2007).

E. arvense'nin Geleneksel Kullanım Alanları

E. arvense bitkisinden geleneksel tıpta analjezik, antiinflamatuvar, diyabet tedavisinde kan şekerini düzenleme, antioksidan, serbest radikal avcısı, antimikrobiyal, anemi tedavisi, astrenjan, diyare, dizanteri, ağız/burun kanamaları, zor iyileşen yaralar, konjunktivit, sedatif etki, cilt bakımı (anti-aging, akne karşıtı, terleme önleyici, saç güçlendirici, kepek önleyici), kanser tedavisi, diüretik, karaciğer koruyucu, HIV, yara iyileştirme (özellikle içeriğindeki yüksek oranda silika sayesinde), vasorelaksan etkilerinden faydalandığı kayıt altına alınmıştır (Sandhu, Kaur ve Chopra, 2010).

Halk tıbbında insanlar, tüberküloz tedavisinde, böbrek ve mesane bölgelerinde gerçekleşen iltihaplarda, normalin üzerindeki adet kanamalarında kanama durdurucu olarak, burun, pulmoner ve mide kanamalarında, romatizmal hastalıklarda, gut tedavisinde, zayıf tırnak ve saçların bakımında, zor iyileşen yaralarda, şişliklerde, kırıklarda ve soğuk ısırmasında *E. arvense* bitkisinden şifa aramışlardır (Asgarpanah ve Roohi, 2012).

Ayrıca *E. arvense* bitkisinin romatizma ağrılarının giderilmesinde, osteoporoz gibi iskelet sistemi hastalıklarında, oral hijyen ve ağız kokusu problemlerinde, kan lipid metabolizması üzerindeki etkisiyle kardiyovasküler problemlerde, kollajen üretimini artırarak cilt sorunlarında, saç ve tırnak sağlığında, varis tedavisinde, ürinogenital rahatsızlıklarda (idrar yolu enfeksiyonu, iyi huylu prostat bezi hiperplazisi (bph), sistit, idrar kaçırma, aşırı aktif mesane, idrar kaçırma) da kullanıldığı bildirilmiştir (Sandhu, Kaur ve Chopra, 2010).

E. arvense'nin çok çeşitli terapötik amaçlar için Türkiye, İtalya ve Kanada gibi dünyanın farklı yerlerinde kullanıldığı bilinmektedir. Söz konusu bitkinin oldukça dikkat çekici diüretik aktivitesi nedeniyle böbrek taşları veya kumlarını düşürmede, piyelonefrit, prostatit ve sistit gibi üriner sistem enfeksiyonlarının tedavisinde şifa olmuştur. Ayrıca Türkiye florasında da çeşitli bölgelerde bulunmakta olup, Türk geleneksel tıbbının üzerinde yapılan entobotanik araştırmalarda, yerel halkın karın ağrısı, peptik ülser ve hemoroid gibi gastrointestinal sistem rahatsızlıklarında; romatolojik ağrılarda *E. arvense* bitkisine başvurduğu bildirilmiştir. Bunlara ek olarak romatizmal ağrılarda, eskiden kırılmış kemiklerdeki sızlamalarda, çeşitli kanamaları durdurmak amaçlı olarak, sarılık ve hepatit gibi karaciğer rahatsızlıklarında, bronşitte, egzema, akne, mantar ve aft gibi cilt sorunlarında kullanıldığı görülmüştür. Özellikle damar sertleşmesi olarak bilinen arterioskleroz gibi kardiyovasküler rahatsızlıklarına karşı da kullanılmıştır. Bir diğer yaygın kullanım alanı ise zengin silikat içeriğinden ötürü saç, cilt ve tırnakların daha canlı ve dayanıklı hale getirilebilmesi olarak kayıtlara geçmiştir (Yeşilada ve diğerleri, 1995; Yeşilada ve diğerleri 1999; Tuzlacı ve Tolon, 2000; Tuzlacı ve Aymaz, 2001; Novais, Santos, Mendes ve Pinto-Gomes, 2004; Pieroni ve diğerleri, 2004; Oh, Kim, Cho ve Kim, 2004; Uzun ve diğerleri, 2004; Kültür, 2007; Ugurlu ve Secmen, 2008; Gurbuz, Yesilada ve Ito, 2009; Temamogullari, Hayat ve Baba, 2009).

Yine yapılan bir başka çalışmada, *E. arvense* bitkisinin ihtiva ettiği silika, silisik asit, silikon ve sapoininler gibi bileşikler sayesinde, ciltteki yaraların iyileşmesi üzerine oldukça pozitif etkisinin olduğu gösterilmiştir (Hayat, Temamogullari, Yilmaz ve Karabulut, 2011).

E. arvense'nin Fitokimyasal İçeriği

E. arvense bitkisinin içeriği oldukça zengin olup, yapısında yer alan farklı fitokimyasal bileşikler, yapılan çeşitli araştırmalar sonucunda şu şekilde aydınlatılmıştır.

Mineraller (Silisik asit ve silikatlar (% 5-8), potasyum (% 1,8), kalsiyum (% 1,3), alüminyum, kükürt, magnezyum ve manganez) içerdiği bildirilmiştir. Fenolik asitler (di-E-kaffeoil-meso-tartarik asit, mono-O-kaffeoil-meso-tartarik asit, protokateşik metil esterler, kafeik asit ve 5-kaffeoilşikimik asit), çeşitli flavonoidler (kemferol 3-O-soforozit-7-O-glikozit, kemferol 3-O-(6'-O-malonil-glikozit) -7-O-glukozit, kemferol 3-O-soforozit, kersetin 3-O-glukozit, apigenin, apigenin 5-O-glukozit 6, luteolin, luteolin 5-O-glukozit, genkwanin 5-O-glukozit, izoasitrin), fenolik glikozitler (ekuisetumozit A, ekuisetumozit B, ekuisetumozit C, onitin ve onitin-9-O-glukozit) stilipiron glukozitler (3'-deoksiekuisetumpiron (3,4-hidroksi-6- (4'-hidroksi-D-stiril) -2-piron-3-O-D-glikopiranozit) ve 4'-O-metil-sülfonpetron (3,4-hidroksi-6-(3'-hidroksi-4'-metoksi-E-stiril)-2-piron-3-O- β -D-glikopiranozit) ve ekuisetumpiron), triterpenoidler (isobauerenol, tarakserol, germanikol, ursolik asit, oleanolik asit ve betulitik asit), alkaloidler (nikotin, palustrin ve palustrinin), saponin (ekuisetonin) ve çeşitli enzimler (özellikle tiaminaz) bu bitkinin içeriğinde yer almaktadır (Sandhu, Kaur ve Chopra, 2010; Badole ve Kotwal, 2014).

Bunların yanı sıra, *E. arvense*'nin içerdiği tiaminaz enzimi sebebiyle oldukça zehirli ve toksik etkiye sahip olduğu için kullanım dozuna dikkat edilmesi gerekmektedir (Phillipson ve Melville, 1960).

2.2. Cildin Yapısı ve Yaşlanma Süreci

2.2.1. Cildin Genel Yapısı

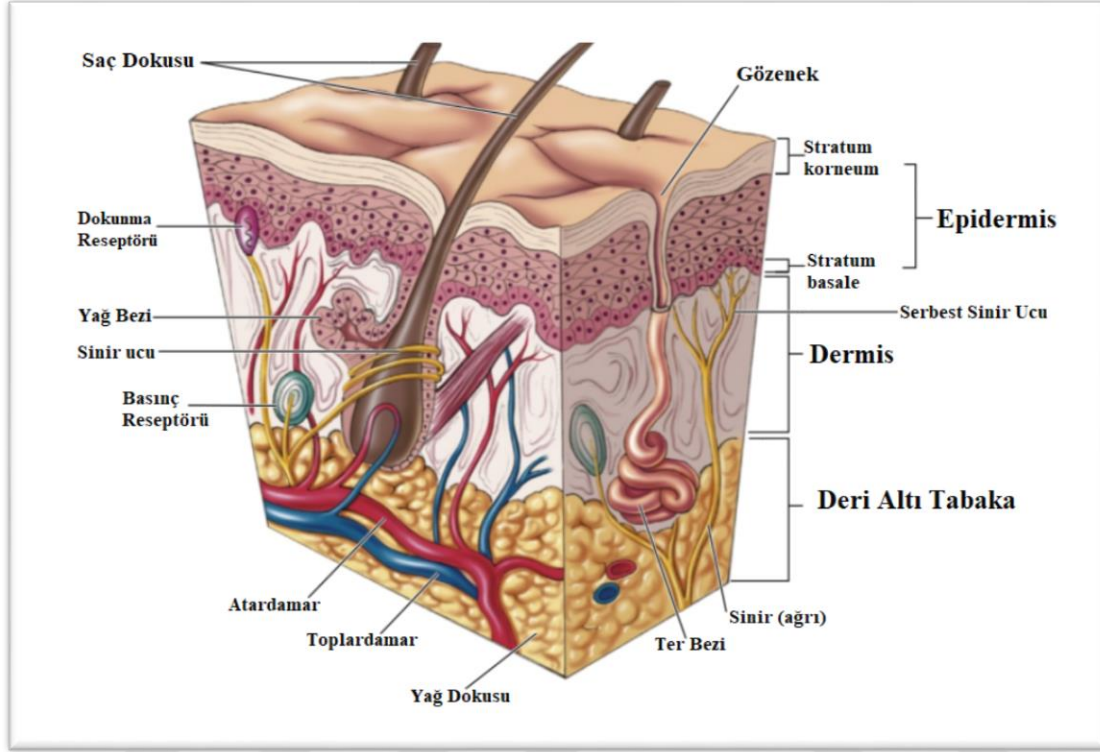
Cildimiz yani derimiz, ortalama bir yetişkin vücut ağırlığının yaklaşık olarak %15'ini oluşturan en büyük yaşamsal organımızdır. Vücudun farklı bölgelerine göre değişen renk, sertlik, dayanıklılığa ve zengin sinir uçlarına sahiptir. Hem bir duyu organı hem de vücut sıcaklığının düzenlenmesine yardımcı olan, insan vücudundaki en büyük, en geniş ve en görünür organdır. Topikal ürünlerin uygulanmasındaki ana engel olup, oldukça karmaşık bir fizyolojiye sahiptir. Yapısındaki yoğun lipid içeriği ve protein tuğlaları şeklindeki bariyerleri sebebiyle ilaç geçirgenliğini sınırlamaktadır. Bu sebeple, topikal kullanıma sahip ilaçlar ve kozmetik ürünlerinde, derideki farklı penetrasyon yolları aranarak en uygun olanı hedeflenmektedir. Uygulanacak moleküllerin ağırlığı, yapısı, büyüklüğü, lipofilik ya da hidrofilik oluşu bu husustaki en önemli faktörlerdir.

Günümüzde topikal ürünlerde de yeni ilaç taşıyıcı sistemler olarak, düşük yan etki profili, daha az toksisite, yüksek çözünürlük ve yüksek biyoyararlanım sebebiyle fitokimyasal bileşiklere olan yönelim artmaktadır. Aynı zamanda daha spesifik uygulama ve daha iyi farmakokinetik parametreleri de sağlamaktadırlar (Semalty, Semalty, Rawat, Franceschi, 2010). Fitokimyasal bileşikler, anti-enflamatuar, antioksidan, apoptoz, foto koruyucu, antiproliferatif gibi çok çeşitli farmakolojik özelliklere sahiptir, bu aktivitelerin tümü doğrudan cilde ve dolayısıyla topikal taşımayla bağlantılıdır (Khan, Alexander, Saraf ve Saraf 2013).

Gerek ilaç sektöründe gerekse kozmetik sektöründe bitki ekstraktları ve doğal bileşikler içeren ürünlerin sayısı oldukça yüksektir. Ayrıca geleneksel tedavide kullanılan kaynakların, modern tedaviye ve farmasötik formlara aktarılması da her geçen gün artmaktadır.

Söz konusu topikal ürünlerin haricen uygulandığı ve altındaki tüm doku ve organları, başta patojenlerden olmak üzere tüm dış etkenlerden koruyan ilk bariyer olan

cildimiz; epidermis, dermis ve deri altı tabaka olmak üzere başlıca 3 ana katmandan oluşmaktadır (Resim 2.11.).



Resim 2.11. Cildin genel yapısı ve katmanlarının görünüşü (Reicherter J. M., 2015)

1) Epidermis: Derinin en dış tabakasıdır ve dört bölümden oluşarak ana bariyer görevi görür. Stratum basalis, dermis tabakasının yanında bulunur ve epidermisin en alttaki tabakasıdır. Stratum basalis'in üzerindeki ikinci katman, keratinositlerin, derinin yapısal bütünlüğünü koruyan ayrışmalarla birbirine bağlandığı stratum spinosum'dur. Bir sonraki tabaka olan stratum granülozm, yassı keratinositlerden oluşur ve su gibi akışkanların engeli olarak işlev görür. Stratum korneum ise yarı geçirgen membran görevi gören ve mikropların, kimyasalların girişini engelleyen son tabakadır. Ayrıca stratum korneum derinin en sert tabakası olup, bu tabakada yer alan keratinositler keratinize olarak çekirdeklerini kaybederler.

2) Dermis: Papiller dermis ve retikülat dermis olmak üzere toplam iki tabakadan oluşmaktadır. Epidermisteki hücrelere destek vererek onların beslenmesini sağlayan oldukça zengin kılcal kan damarlarını içeren bir yapıya sahiptir.

Papiller dermis, gevşek bir şekilde düzenlenmiş kolajenlerden oluşan ince bir tabakadır. Retikülat dermis ise, subkutan yağ dokusunu içeren ve papiller dermise oranla kalın bir kısımdır. Dermis katmanında yer alan ana hücreler fibroblastlar, mast hücreleri ve makrofajlardır.

3) Derialtı tabaka: Derinin bu kısmı ise vücuda termoregülasyon ve yalıtım sağlayan adipositlerden oluşmuştur ve aynı zamanda enerji depolama sistemi olarak da görev yapmaktadır. Beyaz ve kahverengi olmak üzere iki tipi bulunan adipositler, subkutan tabakada oldukça yaygın olarak dağılmışlardır (Barbieri, Wanat ve Seykora, 2014; Carlson, 2019; Marks ve Miller, 2019; Nagula ve Wairkar, 2019)

2.2.2. Cilt Yaşlanması

Dünyanın her yerindeki insanların temel arzusu daha uzun ve daha sağlıklı bir yaşam sürmektir. Bununla birlikte özellikle yaşadığı toplumdaki sosyal konumu gereğince ve modern hayat tarzının bir sonucu olarak, insanlar daha genç olmak ya da daha genç ve dinamik gözükme istemektedirler. Bu sebeple yaşam tarzlarına dikkat ederek ve gelişen modern tıbbın getirdiği bazı nimetlerden faydalanarak (plastik cerrahi, lazer teknolojisi, cilt dolgusu, ilaçlar, kozmesötikler vs) bu yaşlanma sürecini geciktirmeye ve yavaşlatmaya çalışmaktadırlar.

Yaşlılık genelde 65 yaş ve üzeri olarak tanımlanıyor olsa da, esasen cildimizin yaşlanma süreci doğduğumuz andan itibaren başlar ve 20'li yaşlardan itibaren cilt yüzeyinde yaşlanmaya dair bulgular ortaya çıkmaya başlar (Oğuz, 2002). Vücudumuzdaki her hücre gibi, doğal yaşlanma sürecinin bir parçası olarak cilt hücreleri de zamanla yaşlanmaya ve yavaşlamaya başlaması sonucu, genç deride yer alan maddeler ve bileşiklerin optimal seviyesi, deri yaşlandıkça düşmeye başlar. Kollajen, elastin, glikozaminoglikan ve özellikle hyaluronik asit gibi bileşenlerin azalan miktarı deriyi yaşlandırmakta ve görünümünü olumsuz yönde etkilemektedir. Önlem alınmadığı takdirde cilt yaşlanması, istenmeyen dış görünümünün yanı sıra, deriyi pek çok enfeksiyona, kuruluğa, karşıtıya, dermatit, egzema gibi çeşitli cilt

hastalıklarından, cilt kanserine kadar ilerleyen pek çok rahatsızlıklara davetiye çıkardığı bilinmektedir. Cilt rahatsızlıkları, sistemik hastalıklar kadar hayatı tehdit etmeseler bile, yaşam kalitesini etkilemektedir (Wollina, 2011; Bulur, 2016).

Yaşlanmayla birlikte, normal fizyolojik yapısından ve olması gerekenden daha farklı ve daha kalın bir yapıya dönüşen fibriller ile ciltteki anormal elastin madde birikimleri, cildin yapısını bozmaktadır. Deride meydana gelen bu kompleks yaşlanma süreci, cildin farklı tabaklarında meydana gelen kimyasal ve morfolojik sürecin bir bütünüdür. Söz konusu bu yaşlanmalar, intrinsik yaşlanma ve ekstrinsik yaşlanma olmak üzere temelde 2 gruba ayrılabilir.

a) İntinsik (İç) Yaşlanma: Kronolojik olarak zaman ilerledikçe ve genetik miras etkisiyle, cilt hücrelerinin kendini yenileme hızı gittikçe yavaşlar. Meydana gelen bu yavaşlama bireyler arasında farklılık gösterse de, temelde genetik, metabolik ve endrokin faktörlerinin rol oynadığı bir süreçtir. Bu süreçte cilt dokusundaki fibroblastlar ve keratinositlerin sayısı normalin dışındadır. Söz konusu bileşiklerin artışı cildin gittikçe sertleşmesine ve kırışıklıkların gün yüzüne çıkmasına sebebiyet verir. Buna bağlı olarak, özellikle cilt hücrelerinin kendisini onarmasında, dış etkenlere karşı bariyer vazifesi görmesinde, yara/yanıkların iyileştirilmesinde, çeşitli immünolojik cevaplarda, vücut sıcaklığının ayarlanabilmesinde, ter bezi ile yağ bezinin çalışmasında ve D vitamininin üretilmesinde ciddi azalmalar yaşanmaktadır (Yaar ve Gilchrest, 2003; Bulur, 2016).

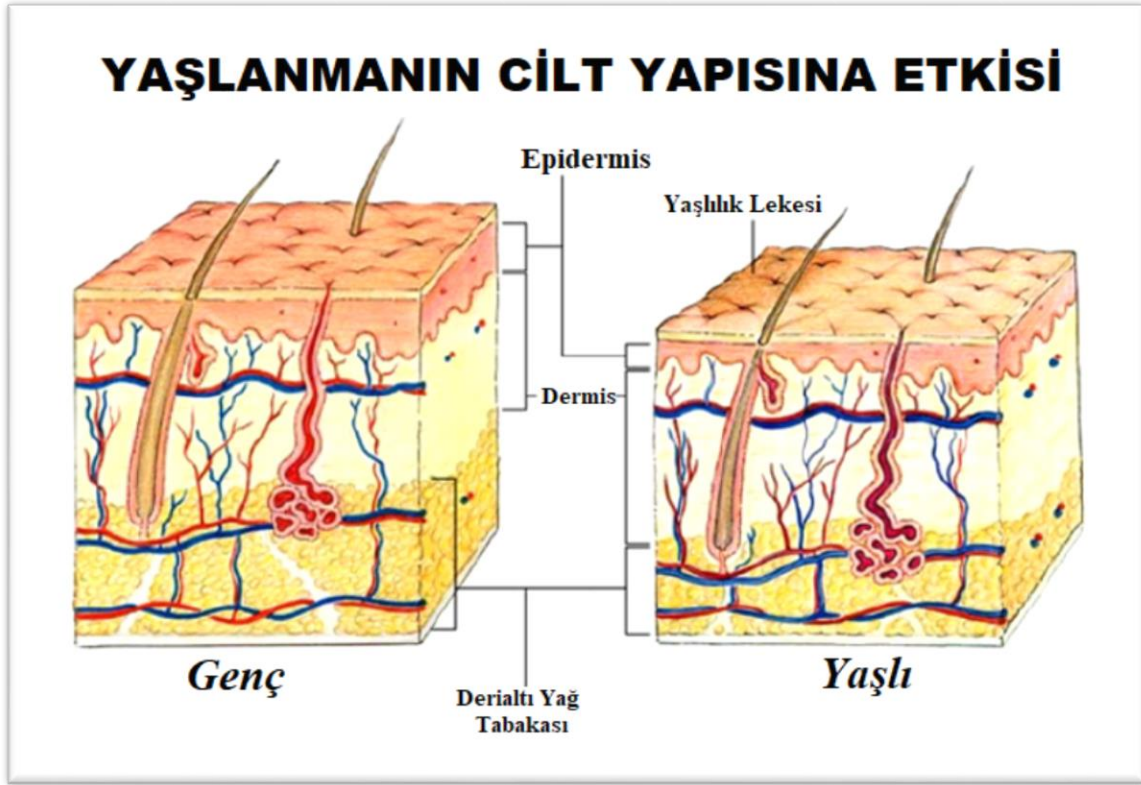
Zamanla meydana gelen bu yaşlanmada epidermal tabakanın yenilenebilme süresi yaklaşık olarak %30-50 arasında uzar, bunun sonucunda epidermisin incelmesi ve tüm işlevlerinde azalmaların meydana gelmesi gözlemlenir. Fibroblast hücrelerinin sayısının azalması sonucunda elastin ve kolajen üretimi de düşer, bununla birlikte cilt sıkılığını kaybeder. Ayrıca ter ve yağ bezlerinin tam anlamıyla çalışmaması sonucunda, kserozis, ciltte döküntüler, rozase ve çeşitli karsinomlara kadar ilerleyen hastalıklara yol açabilir (Aydemir, 2013).

b) Ekstrinsik (Dış) Yaşlanma: Fotoyaşlanma olarak da bilinen, zamandan bağımsız olarak dış etkenlerin sebep olduğu cilt yaşlanmasıdır. Yaşanılan çevre şartları en önemli etkindir. Hava sıcaklığı, nem, rüzgar, hava kirliliği, radyasyon, sigara, alkol, çeşitli ilaçlar, yaşam tarzı, cilde temas eden ürünler, yer çekiminin etkisi ve özellikle ultraviyole ışınlarına maruziyet derecesi sonucunda oluşan cilt yaşlanmasıdır.

Fotoyaşlanma olarak da bilinen ekstrinsik yaşlanmada, güneş ışınlarının etkisi oldukça önemli bir rol oynamaktadır. Ultraviyole-A (UVA) ışını ciltte dermal değişikliklere yol açarken, ultraviyole-B (UVB) ışını ise epidermal değişikliklere yol açarak cildin yaşlanmasına sebep olmaktadır (Braun-Falco, Plewing ve Burgdorf, 2000).

Tüm bu dış etkenlere maruziyet süresi ve seviyesi, oluşacak olan cilt yaşlanmasını hızlandırabilmektedir. Cildin yapısında bulunan kolajen, elastin, hyaluronik asit gibi doğal bileşiklerin azalması sonucunda, cildin elastikiyetini ve esnekliğini kaybetmesi durumudur.

İntrinsik ve ekstrinsik yaşlanmaların her ikisinin de sonucunda, cilt dokusu olması gereken halinden çok daha farklı bir yapıya bürünerek nemini, esnekliğini, canlılığını kaybeder (Resim 2.12.). Bağ dokusundaki protein yapısı bozulur, fibroblast, keratinosit, melanosit, sebosit ve cilt kök hücrelerinin sayısı ve yapısı değişir. Bunun sonucunda istenmeyen kırışıklıklar, sarkmalar, lekeler, renk değişiklikleri gibi cilt problemleri meydana gelmektedir (Yapar ve Tanrıverdi, 2016).



Resim 2.12. Genç ve yaşlı cildin karşılaştırmalı görünüşü. (Farage, Miller, Elsner ve Maibach, 2007)

İntrinsik yaşlanma ve ekstrinsik yaşlanmalara bağlı olarak cilt dokusu birçok hastalığa davetiye çıkarmış hale gelmektedir. Özellikle kuru cilt problemi, kaşıntı, mantar ya da bakteriyel enfeksiyonlar ve cilt kanserine kadar çeşitli klinik vakalara rastlanmaktadır.

Bu iki yaşlanmayı klinik ve histolojik açıdan birbirinden ayıran yönler vardır. İntrinsik yaşlanmada cilt yüzeyinde ince çizgiler ve kuruluklar gözükmemektedir. Fakat bunun aksine ekstrinsik yaşlanmada ise, derin kırışıklık çizgileri, yaşlılık lekeleri ve daha fazla nem kaybedip kuruyarak kösele gibi görünen bir cilt dokusu meydana gelmektedir.

Her iki cilt yaşlanmasında da hücrelerin çoğalma hızı ve yeteneği yavaşlamaktadır. Bununla birlikte cilt kendini yenileyememekte ve çizgiler, kırışıklıklar ve yıpranmalar meydana gelmektedir. Ciltte oluşan bu ince ve derin çizgiler, cilt dokusundaki dermis ve epidermis bölümlerinin kalınlığında oluşan farklılıkların yansımasıdır (Toutfaire, Bauwens ve Debacq-Chainiaux, 2017).

Yaşlanan deride meydana gelen, yapısal değişiklikler ve yol açtığı klinik sonuçlar aşağıdaki Çizelge 2.1.'de özetlenmiştir (Tangül, 2016).

Çizelge 2.1. Yaşlanma ile beraber ciltte meydana gelen değişiklikler (Tangül, 2016)

Derinin Katmanları	Ciltteki Yapısal Değişiklik	Meydana Gelen Klinik Sonuç
Epidermis	Dermoepidermal bileşkede düzleşme	Vezikül oluşumuna yatkınlık
	Melanositlerde azalma	Düzensiz pigmentasyon
	Fokal melanosit kümelenmesi	Senil lentigo (yaşlılık lekeleri)
	Bazal hücrelerde heterojenlik	Benign/malign epidermal neoplaziler
	Langerhans hücrelerinde azalma	Benign/malign epidermal neoplaziler
Dermis	Dansitede azalma	Zayıf koruyuculuk
	Kollajen fibrillerin çapraz bağlarında ve hacimlerinde artma	Yalıtım kapasitesinde azalma
	Elastik fibrillerin kaybı	Yüzeysel deri gevşekliliği, kırışıklıklar
	Damarlanmada azalma	Termoregülasyon bozukluğu
	Azalmış "ground substance"	Termoregülasyon bozukluğu

Cildin yaşlanmasına yol açan sebeplerin büyük bir kısmı dış (ekstrinsik) etkenlerden kaynaklanmaktadır ve genç yaşlardan itibaren yaşam tarzında yapılan değişiklikler, güneş ışığına (UV ışınlarına) maruziyetin azaltılması, cildin daha iyi korunması ve

beslenmesi sayesinde, istenmeyen cilt problemlerinin ve cilt yaşlanmalarının önüne geçilebilecektir.

2.3. *İn Vitro* Çalışmalarda Kullanılan Enzimler

“Halk Tıbbında Cilt Üzerinde Kullanılan Bitki Ekstrelerinin Nanoçiçek Metodu İle Hazırlanması ve Etkinliklerinin *İn Vitro* Yöntemlerle Araştırılması” isimli doktora tezi kapsamında, *A. ceterach*, *M. sylvestris*, *P. oleracea*, *P. americana* ve *E. arvense* bitkilerinden hazırlanan metanollü ekstraktlar ve bu ekstraktlardan hareketle sentezlenen hibrit nanoçiçek yapıları üzerinde çalışılmıştır. Söz konusu bu ekstraktların *in vitro* ortamda “hyaluronidaz” ve “jelatinaz” enzimlerinin inhibisyonu üzerindeki aktiviteleri araştırılmıştır. Söz konusu bu enzimler cilt dokusundaki nem seviyesine, elastikiyet kapasitesine, cildin canlılığı ve daha genç görünümü üzerine doğrudan etki etmektedirler.

2.3.1. Hyaluronidaz Enzimi

Hyaluronidaz enzimleri, hyaluronik asidin bozulmasını, parçalanmasını katalize eden enzim ailesidir. Bu enzimler, reaksiyon sonucu oluşan ürünlere göre üç farklı gruba sınıflandırıldı. Bu 3 ana hyaluronidaz türünden ikisi ökaryotik endoglikozidaz hidrolaz sınıfı ve geriye kalan biri ise prokaryotik liyaz tipi glikozidaz türüdür (Meyer, 1971).

İnsanlarda ise beş fonksiyonel tipte hyaluronidaz enzimi tanımlanmıştır. Bunlar HYAL1, HYAL2, HYAL3, HYAL4 ve HYAL5 (ayrıca SPAM1 veya PH-20 olarak da bilinir). Ayrıca bunlara ilaveten bir de psödojen, HYAL6 (HYALP1 olarak da bilinir) bulunmaktadır (Csóka, Scherer ve Stern, 1999; Csóka, Frost ve Stern, 2001).

Hyaluronik asit, vücudumuzda birçok dokuda doğal olarak bulunan oldukça önemli fizyolojik işlevlere sahip olan bir maddedir. Gözün içerisindeki vitröz sıvıda, hyalin kıkırdakta, eklem sıvısında ve cildin yapısında (epidermis ve dermis) yer alır. Vitröz sıvıda hacim artırıcı, kaslarda ve tendonlarda kayganlaştırıcı-kaydırıcı olarak, omurganın direncini artırıcı ve göbek kordonunda anne ile bebek arasındaki ilişkide

önemli rol oynamaktadır. Vücumuzda miktar olarak en fazla bulunduğu yer deridir (Tırnaksız ve Kaymak, 2008).

Dermisteki miktarı, epidermise oranla daha fazla olan hyaluronik asit, oldukça yüksek oranda su tutabilme kapasitesine sahip olduğu için (kendi hacminin 1000 katı kadar) cildin canlı, dolgun ve sağlıklı gözükmesinde önemli rol oynar.

Hyaluronidaz enzimi ise, hyaluronik asidi parçalayan enzimdir. Derideki hyaluronik asit sentezi ve parçalanması fizyolojik bir denge içerisindeydir. Fakat çevresel faktörler ve yaşlanma sonucunda, bu denge bozularak cildin yapısındaki hyaluronik asit miktarı gittikçe azalmaya başlar. Bunun sonucunda ciltte kuruluk, kırışıklık ve sarkmalar başta olmak üzere, çeşitli dermatolojik rahatsızlıklar meydana gelmektedir.

Hyaluronik asidin insan fizyolojisindeki ortalama yarı ömrü kanda 2 - 5 dakika, deri ve eklemlerde 12 saat, kırıkdaalarda 1– 3 hafta ve vitroz sıvıda ise 70 gün kadardır. Bu sürelerin sonucunda meydana gelen parçalanmalarda hyaluronidazlar, kondroitinazlar, heksozaminidazlar ve serbest oksijen radikalleri görev almaktadır (Weindl, Schaller, Schäfer-Korting ve Korting, 2004).

Hyaluronik asidin lokal metabolizma ile yıkımının yaklaşık %20 – 30 civarında değişen miktarı deri ve eklem dokusunda, geriye kalan kısmı ise lenfatik yolla sağlanmaktadır (Fraser, Laurent ve Laurent, 1997).

Doktora tezi çalışmamız kapsamında geleneksel kullanıma sahip olduğu bilinen bitkilerin, ekstreleri ve çeşitli organik-inorganik hibrit nanoçiçek yapıları kullanılarak hyaluronidaz enziminin inhibe edilmesi hedeflenmiş olup; ciltte bulunan hyaluronik asidin parçalanmasının engellenmesi amaçlanmıştır. Böylece kırışıklıkların ve cilt yaşlanmasının, ciltteki yaşlılık belirtilerinin önüne geçilerek istenilen anti-aging etki sağlanmış olacaktır.

2.3.2. Jelatinaz A ve B Enzimleri (MMP-2 ve MMP-9)

Matriks metalloproteinazlar (MMP), ciltte oldukça önemli fonksiyonlara sahip olan bir enzim grubudur. Bu enzimler yıpranmış, hasar görmüş ya da yapısı bozulmuş cilt bileşenlerini parçalamaktan sorumludurlar. Söz konusu bileşenlerinin en önemlileri kollajen ve elastin liflerdir. Bu maddeler sayesinde oluşan matriks, cildi bir arada tutan bir çerçeve görevi yapar. Ayrıca cildin sıkılığından, sağlamlığından ve esnekliğinden sorumludur.

Matriks metalloproteinazlar (MMP); ekstrasellüler matriks (ECM) ile bazal membran bileşenlerini parçalayan ve aktif bölgesinde çinko (Zn^{2+}) mineralini ihtiva eden, kalsiyum bağımlı homolog bir enzim ailesidir (Rundhaug, 2005). MMP'ler başta embriyogenez (embriyonun oluşması ve gelişmesi süreci), dokuların yeniden yapılanması, morfogenez (canlının büyüme ve hücrelerin farklılaşması ile özel şeklini alması), yara iyileşmesi ve anjiyogenez (var olan damarlardan tomurcuklanma yolu ile yeni damar oluşması) gibi birçok fizyolojik süreçte ve ateroskleroz, artrit, kanser gibi pekçok patolojik olayda oldukça önemli role sahiptirler (Öztürk, 2013).

Bilim insanları tarafından bugüne kadar fotoyaşlanma, yara iyileşmesi, iskelet sisteminin büyümesi ve yeniden şekillenmesi, artrit, iltihaplanma, damar sistemi ve kanser gibi çeşitli patofizyolojik süreçlerde görev alan en az 28 farklı MMP türü tanımlanmıştır.

MMP enzim ailesi etki ettikleri substratlara ve yapısal organizasyonlarına göre 5 farklı ana alt gruba ayrılabilirler.

Bunlar;

- 1) Kollojenazlar (MMP-1, MMP-8 ve MMP-13)
- 2) Jelatinazlar (MMP-2 ve MMP-9)
- 3) Stromelizinler (MMP-3, MMP-10 ve MMP-11)
- 4) Matrilisinler (MMP-7 ve MMP-26)
- 5) Membran Tipi MMP'lar (MMP-14, MMP -15 ve MMP-16)

Ayrıca bu bahsedilen MMP alt gruplarına ek olarak metalloelastaz (MMP-12), RASI-1 (MMP-19), enamelisin (MMP-20) ve epilisin (MMP-28) gibi bu kategorilerden herhangi birinde gruplanamayan az sayıda MMP çeşidi daha vardır (Pittayapruek, Meephansan, Prapapan, Komine ve Ohtsuki, 2016).

Kollojenazlar, kollojen tip I, II, III, VII ve X gibi sağlam fibriler kollojenlerin parçalanmasından sorumlu enzimlerdir. Tezimizde çalışılan jelatinazlar ise, 72 kDa ve 92 kDa tip IV kollojenazlar (MMP-2 ve MMP-9) olarak da bilinmekte olup; denatüre kollojenin (jelatin) ve bazal membranın parçalanmasına yol açan enzimlerdir.

MMP-2 (Jelatinaz-A / 72 kDa jelatinaz) enziminin biyoaktif substratları Pro IL-1 β , pro-TNF- α , pro-TGF β , IGFBP- 3,-5, FGFR-1, SDF-1, MCP-3, dekorin, α 1- proteinaz inhibitörü, α 1-antikimotripsin ve α 2-makroglobulin'dir.

MMP-9 (Jelatinaz-B / 92 kDa jelatinaz) enziminin biyoaktif substratları ise Pro IL-1 β , IL2R α , pro IL-8, pro-TNF- α , pro-TGF β , IFN- β , FGFR-1, SDF-1, endostatin, plazminojen, α 1-proteinaz inhibitörü, α 2-makroglobulin, KISS-1/metastin'dir (Öztürk, 2013).

Hücreden salınan MMP'ler genelde inaktif moleküller halinde salınırlar ve ekstrasellüler olarak aktive edilirler. Hücrelerden salınan bu MMP'lerin seviyesi çeşitli sebeplerden dolayı artmaktadır. Bu sebepler arasında çeşitli hormonlar, kimyasal ajanlar, fiziksel stres, UV ışınlarının etkisi, büyüme faktörleri ve tümör oluşumu gibi faktörler sayılabilir.

Jelatinaz (MMP-2 ve MMP-9) enzimlerinin salımını indükleyen hastalıklar arasında; malign glioma, meme kanseri, kolorektal kanser, akciğer kanseri ve over kanseri gibi çeşitli kanser yer almaktadır. Ayrıca bronşiektazi, kronik astım, kronik obstruktif akciğer hastalığı (KOAH), kistik fibrozis, HIV ile ilişkili demans, hipertansiyon ve inme gibi sağlık problemleri de jelatinaz enzimlerinin seviyesini artırmaktadır (Öztürk, 2013).

Cilt dokusu genç, dinamik ve sağlıklı olduğu dönemlerde, matriksteki bozulma ile yenilenme arasında bir denge vardır. Yaşlandııkça ciltte meydana gelen hasarlar ve çevresel faktörler sonucu bu denge zamanla bozulmaktadır. Böylece istenmeyen kırışıklıklar meydana gelir ve cilt sarkmaya başlar. Bunun sebebi, cildin eskisi kadar desteğe sahip olmamasıdır.

Bu problemlerin önüne geçebilmek amacıyla başlıca 3 temel hedef sayılabilir. Zamanla kaybedilen ciltteki bileşenlerin sentezini hızlandırarak cilt dokusunun yenilenmesini sağlamak, kaybedilen bileşikler çeşitli yollarla yerine koymaya çalışmak ya da sahip olunan bu bileşiklerin bozulmasını/parçalanmasını engellemektir.

Cilt matriksini yenilemek, kollajen sentezini artırmak ya da yerine koymak amacıyla çeşitli cilt bakım ürünleri ve takviyeler kullanılabilir. Bunlardan en sık faydalananlar arasında kollajen ürünleri, askorbik asit (C vitamini), retinol içeren topikal östrojenler ve peptitler sayılabilir. Ayrıca başta UVA ve UVB gibi ultraviyole ışınlar olmak üzere çevresel stres etkilerinden korunmak için kullanılan güneş koruyucu gibi dermokozmetik ürünler de ciltte hasara sebep olan faktörlerden kaçınmak için son derece önem arz etmektedir.

Derinin yaşlanmasını önlemeyi ya da yavaşlatmayı hedefleyen bir diğer yöntem ise, cilt dokusunu oluşturan bileşikler parçalatan matriks metalloproteinaz enzimlerinin seviyesini azaltmak amacıyla bu enzimleri inhibe edici ajanların kullanılmasıdır. Böylece cildin genç ve sağlıklı iken sahip olduğu dengeyi yeniden kurması sağlanabilir. Sonuç olarak, cilt bakım ürünlerinde MMP inhibitörlerinin bulunması oldukça akılcı ve efektif bir yöntemdir (İnternet: "Matrix Metalloproteinases and Your Skin").

Tez çalışmamız kapsamında bu yöntem araştırılmıştır. Cilt üzerinde geleneksel kullanıma sahip olduğu bilinen bitkiler arasından seçilen beş bitkinin, ekstraktları ve çeşitli organik-inorganik hibrit nanoçiçek yapıları sentezlenerek Jelatinaz-A ve Jelatinaz-B enzimleri (MMP-2 ve MMP-9) üzerindeki inhibisyon etkileri *in vitro* koşullarda incelenmiştir. Bu sayede jelatinaz enzimlerinin parçalanmasının önüne

geçilerek, anti-aging etkinin elde edilmesi ve ciltteki yaşlılık belirtilerinin önüne geçilmesi hedeflenmektedir.

2.4. Organik - İnorganik Hibrit Nanoçiçekler

Günümüzde bilim dünyasının hemen hemen her alanında, nanoteknolojinin, nanoparçacıkların, nanomalzemelerin ve nanoteknolojik uygulamaların giderek hız kazandığı görülmektedir.

Bu hususta 2000'li yılların başından itibaren çiçek desenine benzer morfolojik şekli olan metal, metal oksit veya metal hidroksit gibi nanoçiçek yapıları sentezlenmiştir. Bu şekilde altın nanoçiçekleri, bakır nanoçiçekleri, çinko nanoçiçekleri, kalsiyum nanoçiçekleri, alüminyum nanoçiçekleri ve magnezyum nanoçiçekleri gibi farklı türlerde nanoçiçek formları oluşturulmuştur. Elde edilen bu yapılar özellikle biyoteknoloji, biyomedikal ve çevre kimyası gibi farklı alanlarda çeşitli uygulamalarda kullanılmaktadır (Bai, Lu, Yang ve Yang, 2008; Jena ve Raj, 2008; Mao, Wang, Pan ve Zhu, 2011; Wei ve diğerleri, 2012; Sun ve diğerleri, 2014; Yan, Cheng, Wei, Huang ve He, 2017; Lakkakula, Matshaya ve Krause, 2017).

Nanoçiçek yapılara artan ilgiye rağmen, nanoçiçeklerin yaprakları ve boyutları gibi yapısal özelliklerinden dolayı, gerçekleşen reaksiyonlar sırasında ve sonucunda, bu yapıların ne durumda olduğunun kontrol edilmesi oldukça zordur. Bu yapıların sentezlerinde toksik organik çözücüler, yüksek basınç ve yüksek sıcaklık gibi çok zorlu koşullar gerekebilir (Kharisov, 2008; Lee, Cheon, Kim ve Park, 2015)

Fakat organik-inorganik hibrit nanoçiçekler ise ilk kez 2012 yılında Stanford Üniversitesi'nde Dr.Zare ve çalışma arkadaşları tarafından tamamen tesadüf eseri, inorganik ve organik bileşenlerin etkileşmesi sonucunda meydana gelmiştir. $\text{Cu}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ kristalleri inorganik kısmı, çeşitli protein ve enzimler ise organik kısmı oluşturmaktadır. Geleneksel yöntemlerden farklı olarak organik-inorganik hibrit nano yapıların sentezlenmesi ile etkililiği ve dayanıklılığı arttırılmış farklı türde materyallerin oluşturulabileceği gösterilmiştir. Sentez reaksiyonları sonucunda oluşan bu yeni formlara "çiçek şekilli nano yapılar - nanoçiçekler" ismi de ilk kez

belirtilerek “Flower-Like Nanostructures, Nanoflowers” terimi literatüre kazandırılmıştır (Ge, Lei ve Zare, 2012). Bu yapılar organik-inorganik hibrit nanoparçacıklar olup, kolay sentezlenebildikleri ve küresel şekilli nanoparçacıklara kıyasla daha geniş yüzey alanına sahip oldukları için reaksiyonlardaki yüksek verimleri ve enzimleri stabilize etme yetenekleri nedeniyle oldukça dikkat çekmişlerdir (Lee, Cheon, Kim ve Park, 2015).

Yakından bakıldığında üç boyutlu çiçek şekline benzeyen, küresel ve yüksek yüzey/hacim oranına sahip olan hibrit nanoyapılar, gösterebileceği olumlu etkileri sebebiyle son yıllarda farklı bilim alanlardaki pek çok araştırmacının ilgisini çekmeyi başarmıştır.

Ayrıca metal iyonları kullanılarak hazırlanan hibrit nanoçiçek yapılarda, bu iyonlar sayesinde proteinler ve enzimler immobilize edilebilmektedir. Bu durum stabiliteyi de artırmaktadır (Altinkaynak, Tavlasoglu, Ozdemir ve Ocsoy, 2016).

Son zamanlarda, geleneksel sentez yöntemlerindeki kısıtlamaların üstesinden gelebilmek adına, hibrit nanoyapıların kolay ve güvenilir şekilde sentezlenmesi için yeni yaklaşımlar geliştirilmiş olup, tezimiz kapsamında yürütülen hibrit nanoçiçek sentezi çalışmalarında da bu yöntem uygulanmıştır (Ge, Lei ve Zare, 2012). Böylece “organik-inorganik hibrit nanoçiçek” ya da kısaca “hibrit nanoçiçek” ismi verilen bu formların hazırlanması oldukça ucuz, basit ve toksik olmayan bir süreç haline gelmiştir (Wang ve diğerleri 2014). Sentezlenen hibrit nanoçiçek yapıları sayesinde, geniş yüzey alanları ile artan adsorpsiyonlar gözlenmiştir. Bu durum, meydana gelen reaksiyonların kinetiğini hızlandırmaktadır. Ayrıca nanoçiçeklerin sahip olduğu 3D (3 boyutlu) yapıları, daha yüksek yüzey/hacim oranına sahip olduğu için gerçekleşen reaksiyonların etkinliğini ve verimliliğini de artırmaktadır (Shende, Kasture ve Gaud, 2018).

Ülkemizde son dönemde yapılan bazı araştırmalarda, bitki ekstralarının protein yapılarını içerdiği bilindiği için, hibrit nanoçiçeklerin sentezlenmesi için bitki ekstralarının organik bileşen olarak, bakır (Cu^{2+}) iyonunun ise inorganik bileşen olarak kullanıldığı görülmüştür. Bu çalışmalarda bitki ekstralarından hareketle sentezlenen hibrit nanoçiçek formları karakterize edilerek, sahip oldukları morfolojik

yapılarının analizi gerçekleştirilmiştir. Ayrıca söz konusu yapıların, gösterdiği katalitik, antioksidan ve antimikrobiyal etkinliği gibi çeşitli aktivitelerine dair veriler de sunulmuştur (Baldemir ve diğerleri, 2017; Koca Çalışkan, Özdemir, Altinkaynak ve Aka, 2017; Koca Çalışkan, Altinkaynak, Dönmez, Eruygur ve Özdemir, 2018; Altinkaynak ve diğerleri, 2019; Durbilmez, ve diğerleri, 2019; Bor, Durbilmez ve Koca Çalışkan, 2020).

Özellikle sentezinde organik kısım olarak çeşitli enzimlerin kullanıldığı hibrit nanoçiçeklerin, şaşırtıcı şekilde sahip olduğu yüksek katalitik yetenek, stabilite ve dayanıklılığı sebebiyle bilim insanlarının yeni nesil potansiyel ürünleri geliştirilmesine katkı sağlamaktadır. Yüksek performansa sahip, aynı anda birden fazla enzimin bir arada kullanıldığı hibrit nanoyapıların da sentezleri de gerçekleştirilmiştir. Son yıllarda çeşitli enzimlerin (lipaz, katalaz, tripsin, amilaz, BSA, GOx vs) haricinde, yüksek bağlanma afinitesine sahip olan çeşitli proteinler, peptidler, amino asitler, DNA/RNA'lar, kitosan gibi biyomoleküllerin de kullanıldığı birbirinden farklı işlevleri gerçekleştiren, hibrit nanoyapılar oluşturulabilmiştir. Bu sayede biyomedikal uygulamalar, ilaç taşıyıcı sistemler, biyokatalizör, biyosensör ve kanser tedavilerini/immünoterapileri kapsayan biyoteknoloji ve tıp alanında çeşitli uygulamaların yapılabilirdiği gösterilmiştir. Tüm bu yeni yaklaşımlarda Cu^{2+} , Ni^{2+} , Co^{2+} , Ca^{2+} , Mn^{2+} , Mg^{2+} , Zn^{2+} , Fe^{2+} ve Co^{2+} gibi iki değerlikli birçok metal iyonlu kullanılmıştır. Hibrit nanoyapıların inorganik bölümü olarak karışımıza çıkan bu metal iyonları, organik kısımdaki gruplarla etkileşime girerek, sentez sonucunda elde edilen ürünün biyolojik aktivitesini de doğrudan etkilemektedir (Lui, Ji ve He, 2019).

Ayrıca söz konusu metal iyonlarının yanısıra, sentez reaksiyonlarının gerçekleştirildiği farklı pH seviyelerinin de oluşan hibrit nano yapılarının sahip olduğu çiçek morfolojisine etki ettiği tespit edilmiştir. Özellikle pH 7,4 olduğunda, daha küresel ve kompakt bir yapının sergilendiği gösterilmiştir (Altinkaynak ve diğerleri, 2017). Bunun yanısıra, sentez reaksiyonlarındaki inkübasyon sıcaklıklarının da nanoçiçek yapısını önemli ölçüde etkilediği gözlemlenmiştir. (Altinkaynak ve diğerleri, 2016). Bu hususların dışında, nanoyapıların sentez süresi ve sonikasyon işlemleri de elde edilecek olan nanoçiçeklerin tam olarak oluşturulabilmesi açısından oldukça kritik faktörlerdir. Tüm bu değişkenlere dikkat

edildiği takdirde, istenilen düzeyde ve hedeflenen aktiviteye sahip olan hibrit nanoçiçek yapıları elde edilebilmektedir. Bu sayede nano yapıların üstün katalitik özelliklerinden faydalanılarak, biyosensörler, biyoanaliz, biyoremediasyon, endüstriyel biyokataliz ve atık su arıtımı gibi birbirinden farklı operasyonel alanlara sahip geniş bir biyoteknoloji uygulamaları yelpazesine ulaşılabilmektedir (Cui ve Jia, 2017).

Tüm bu avantajlarının ve potansiyel kullanım alanlarının haricinde, sentezlenen nano yapıların stabilite avantajı da gösterilmiştir. Serbest haldeki organik kısmına kıyasla, nanoçiçek yapılarının oluşturulması sayesinde materyallerin stabilitesi ve uygun şartlar altında bozulmadan saklanabilmesi de sağlanmıştır. Bu sayede yeniden kullanılabilirliği ve aktivitedeki kayıpların da önüne geçilebilmektedir (Somturk, Hancer, Ocsoy ve Özdemir, 2015).

2.5. Organik – İnorganik Hibrit Nanoçiçek Yapıların Sentezlenmesi

Organik-inorganik hibrit yapıların tanımlanmasında yer alan “hibrit” terimi, kendini oluşturan organik ve inorganik bileşenlerde ayrı ayrı olarak bulunmayan fakat bir araya geldiklerinde gösterdikleri sinerjistik etkiyle yeni özellikler taşıyan melez bir yapıyı ifade etmektedir. Meydana gelen bu yapılar, sahip olduğu yüzey etkileşimleri ve kimyasal etkileşimleri sayesinde, tıptan mühendisliğe, kimya sektöründen çevresel sorunlara kadar pek çok farklı alanda daha avantajlı konuma gelebilmektedirler (Povolotskaya, Povolotskiy ve Manshina, 2015).

Ge ve arkadaşları, söz konusu sentez reaksiyonları sonucunda oluşan organik-inorganik hibrit nano yapılarının göstermiş olduğu aktivitelerdeki artışın, perde arkasındaki nedenlerini şu şekilde sıralamışlardır:

- Sentez ile elde edilen yapıların, sahip olduğu yüzey alanlarında meydana gelen artış,
- Oldukça küçük boyuta (nano boyutta) sıkıştırılmış moleküllerin kooperatif etki göstermesi,

- Sentezlenen yapıların içerdği metal iyonları sayesinde sonradan kazandığı farklı çevresel etkileşimler (Ge, Lei ve Zare, 2012).

Organik-inorganik hibrit nanoçiçek formlarının sentez mekanizması ise başlıca üç ana adımda açıklanabilmektedir. Bunlar kısaca; çekirdeklenme, büyüme ve tamamlanma olarak özetlenebilir.

1. Aşama: Çekirdeklenme

Bu ilk aşamada, nanoçiçek sentezinde kullanılan metal iyonuna göre metalfosfat kristalleri meydana gelmektedir. Organik kısımdaki moleküller ile metal iyonları arasında amid grupları üzerinden bir kompleks yapı oluşmaya başlar. Meydana gelen bu kompleksler, primer kristallerin çekirdeklenebilmesi için uygun alanı sağlarlar.

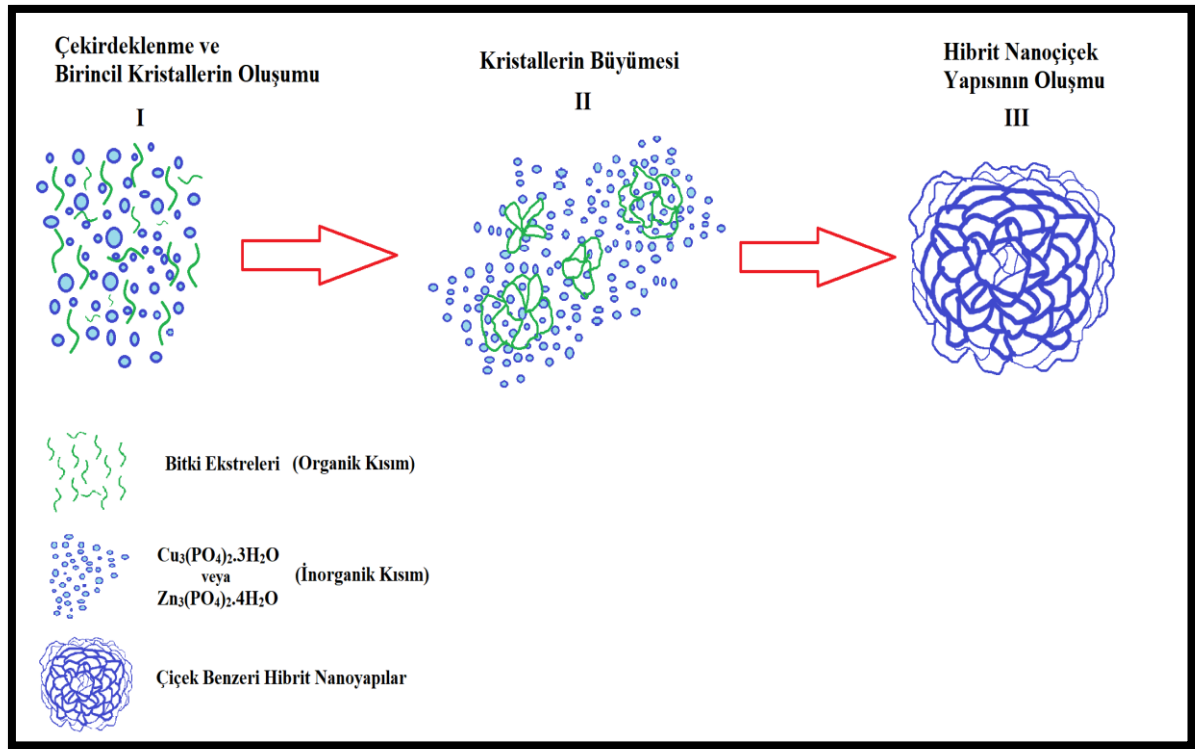
2. Aşama: Büyüme

Bu basamakta, primer kristaller ile protein molekülleri bir araya gelirler ve kümelenmeleri sonucunda, nanoçiçek yapılarının ilk yapraklarını oluşturmaya başlarlar.

3. Aşama: Tamamlanma

Son adımda ise, farklı yönlerde doğru büyümeler gerçekleşir. Böylece dallanmış ve çiçek benzeri bir yapının oluşması sağlanır. Nano boyutlardaki yaprak şekline sahip yapıların bir araya gelmesi ve birbirlerine bağlanmaları sonucunda çiçek benzeri formlar meydana gelmektedir (Flower – Like Hybrid structures). Bu yapıların “nanoçiçek” olarak adlandırılmaları da ilk defa Ge ve arkadaşları tarafından literatüre kazandırılmıştır (Ge, Lei ve Zare, 2012).

Yapısal ve şekil olarak çiçekleri andıran organik – inorganik hibrit yapıların sentezlenme aşamaları Resim 2.13.’ de gösterilmiştir.



Resim 2.13. Organik-inorganik hibrit nanoçiçek yapılarının oluşumuna dair basamakların özeti (Çizim: Emrah BOR)

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

Tez çalışmalarında kullanılacak olan bitki örneklerinin toplandığı yerler, toplanma tarihleri, familyaları, latince isimleri ve herbaryum kayıt numaraları Çizelge 3.1.'de verilmiştir. Toplanan bu bitkiler, Gazi Üniversitesi, Fen Fakültesi, Biyoloji Bölümü'nden emekli öğretim üyesi Prof. Dr. Mecit VURAL tarafından teşhis edilmiştir. Etkinliği araştırılan bitkilere ait hazırlanan herbaryum örnekleri ise Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Herbaryumu'nda (GUEF) kayıt altına alınmış olup, uygun koşullarda muhafaza edilmektedir. Söz konusu herbaryum örnekleri Resim 3.1.'de yer almaktadır.

Diğer materyaller, kimyasallar ve sarf malzemeleri ise Gazi Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmakognozi Anabilim Dalı'nda muhafaza edilmektedir.

Çizelge 3.1. Tezde çalışılan bitki materyallerin toplandığı yer, yükseklik, toplanma tarihi ve herbaryum kayıt bilgileri

Bitki Adı	Familiya	Kısım	Toplandığı Yer	Toplandığı Yükseklik (metre)	Toplanma Tarihi	Herbaryum Numarası*
<i>Asplenium ceterach</i> L.	Aspleniaceae	Herba	Mersin-Erdemli, Kösbucağı Köyü-Sazak mevki	703 m	25 Ağustos 2017	GUEF 3501
<i>Equisetum arvense</i> L.	Equisetaceae	Herba	Mersin-Erdemli, Kösbucağı Köyü-Köypınarı Mevkii	554 m	20 Ağustos 2017	GUEF 3499
<i>Malva sylvestris</i> L.	Malvaceae	Herba	Ankara-Yenimahalle, Beştepe Mahallesi	884 m	25 Haziran 2017	GUEF 3498
<i>Persea americana</i> Mill.	Lauraceae	Folia	Mersin-Erdemli, Kargıcak Mahallesi	22 m	25 Ağustos 2017	GUEF 3496
<i>Portulaca oleracea</i> L.	Portulacaceae	Herba	Ankara-Yenimahalle, Beştepe Mahallesi	887 m	23 Eylül 2017	GUEF 3497



Resim 3.1. Tez kapsamında çalışılan bitkilerden hazırlanmış olan herbaryum örnekleri
a) *P. americana*, b) *P. oleracea*, c) *M. sylvestris*, d) *E. arvense*, e) *A. ceterach*

3.2. Yöntem

3.2.1. Ekstraksiyon Çalışmaları

%80'lik metanol kullanılarak, ekstresi hazırlanacak olan bitki örnekleri Çizelge 3.1.'de belirtildiği yerlerden, belirtilen tarihlerde toplanarak; oda sıcaklığında ve gölgede kurutulmuştur. Kurutulan bitki materyalleri öğütücü cihaz (Spice Herb&Grinder IC-04A) yardımı ile parçalanıp daha küçük boyutlara getirilmiştir (Resim 3.2.). Bu sayede, ekstraksiyon işlemi sırasında solvan ile temas edecek olan bitki materyalinin yüzey alanı artırılarak daha yüksek oranda verim alınmıştır.



Resim 3.2. Bitki öğütmelerinin yapıldığı cihaz. (Emrah BOR)

Tartılan her bir bitki örneğinin üzerine, metanol ilave edilerek 4 – 6 kez oda sıcaklığında maserasyon işlemine tabi tutulmuştur. Bu süre zarfında, ara sıra elle çalkalanarak maserasyona bırakılan bitki örnekleri pilili süzgeç kağıdı yardımıyla süzölmüştür (Resim 3.3.). Süzülen metanol ekstresi 42°C sıcaklıkta, alçak basınç altında rotavapor cihazları (Buchi, İsviçre ve Heidolph, Almanya) yardımıyla kuruluğa kadar yoğunlaştırılmıştır (Resim 3.4.).

Süzüldükten sonra kalan bitki örneklerinin üzerine, rotavaporlarda yoğunlaştırılmış distile metanol tekrar ilave edilerek yeniden oda sıcaklığında maserasyona bırakılmıştır. Bu işlemin sayısı her bitki için aynı olmamakla birlikte, maserasyon işlemi 4 - 6 kez gerçekleştirilmiştir (Resim 3.3).



Resim 3.3. Ekstraksiyon aşamaları (Emrah BOR)



Resim 3.4. Kullanılan rotavapor cihazları (Emrah BOR)

Söz konusu bitki materyallerinin ekstraksiyon işlemi süresinde kullanılan %80'lik metanol miktarı ve toplam maserasyon süresi Çizelge 3.2.'de gösterilmektedir.

Çizelge 3.2. Bitki materyallerinin maserasyon süreleri ve kullanılan metanol miktarları

Bitki Adı	Kuru Ağırlığı	1.	2.	3.	4.	5.	6.
<i>A. ceterach</i>	70 gr	1000 mL Metanol	1000 mL Metanol	1000 mL Metanol	1000 mL Metanol	1000 mL Metanol	1000 mL Metanol
<i>E. arvense</i>	200 gr	1000 mL Metanol	1000 mL Metanol	1000 mL Metanol	1000 mL Metanol	1000 mL Metanol	
<i>M. sylvestris</i>	200 gr	1000 mL Metanol	1000 mL Metanol	1000 mL Metanol	1000 mL Metanol	1000 mL Metanol	
<i>P. americana</i>	240 gr	1000 mL Metanol	1000 mL Metanol	1000 mL Metanol	1000 mL metanol		
<i>P. oleracea</i>	250 gr	1000 mL Metanol	1000 mL Metanol	1000 mL Metanol	1000 mL Metanol	1000 mL Metanol	

Elde edilen metanollü bitki ekstratlarının her biri ayrı ayrı tartılarak verimleri (a/a) hesaplanmıştır (Çizelge 4.1). Bu ekstratlar, tez kapsamında gerçekleştirilecek olan *in vitro* enzim inhibisyonu çalışmalarında ve organik-inorganik hibrit nanoçiçek yapılarının sentez reaksiyonlarında kullanılmak üzere buzdolabında +4°C sıcaklıkta saklanmıştır.

3.2.2. Biyolojik Aktivite Çalışmaları

Bu bölümde ise, hyaluronidaz ve jelatinaz (MMP-2/MMP-9) enzimlerinin *in vitro* koşullardaki inhibisyonun nasıl tayin edildiğine dair bilgilere yer verilmiştir.

In Vitro Enzim İnhibisyonu Tayin Yöntemleri

Hyaluronidaz Enzim İnhibisyonu

Tez kapsamında yapılan biyolojik aktivite çalışmalarından ilki hyaluronidaz enzim inhibisyonudur. Hazırlanan metanollü bitki ekstrelerinin ve bu ekstrelerden hareketle sentezlenen organik-inorganik hibrit nanoçiçek yapılarının hyaluronidaz enzimi üzerindeki inhibisyon etkisi (anti-hyaluronidaz aktivitesi) yapılan literatür taramalarında önerilen türbidimetrik yöntem üzerinden, hyaluronik asidin albümin çözeltisiyle reaksiyona girmesi esasına göre gerçekleştirilmiştir (Kass ve Seastone, 1944; Tolksdorf ve McCready, 1949).

Hyaluronik asit ile albumin çözeltisi etkileştiğinde bir bulanıklık meydana gelir ve *in vitro* koşullarda oluşan bu bulanıklık, ortamdaki hyaluronik asit konsantrasyonuyla ve dolayısıyla enzim aktivitesi ile ilişkilidir (Madan ve Nanda, 2018).

96 kuyucuklu ELISA mikrolakası üzerinde her bir numune (bitki ekstresi, bakır (Cu^{2+}) veya çinko (Zn^{2+}) hibrit nanoçiçek yapıları) 5 farklı konsantrasyonda ve 3 paralel şeklinde çalışılmıştır. Söz konusu numunelerden 20 μL alınarak kuyucuklara eklenmiştir. Üzerlerine 10 μL hyaluronik asit (0,4 mg/mL konsantrasyonda hyaluronik asit çözeltisi) ilave edilerek etüvde (Nüve EN400) 37°C sıcaklıkta 4 – 5 dakika süreyle sıcaklık dengesini sağlamak amacıyla inkübe edilmiştir. Ardından üzerlerine, 10 μL hyaluronidaz enzimi (0,05 mg/ml) ilave edilerek 10 dakika süreyle beklemeye alınmıştır. Daha sonra elde edilen bu karışım, oda sıcaklığına kadar buz banyosunda soğutulmuştur. Oda sıcaklığına gelen mikrolakalar üzerindeki her bir kuyucuğun içine 180 μL albümin çözeltisi ilave edilerek tekrardan 10 dakika süreyle inkübe edilmiştir. İnkübasyon işleminin ardından 540 nm dalga boyunda absorbands

değerleri ELISA mikroparka okuyucusu (Versamax tunable microplate reader, ABD) kullanılarak okutulmuştur (Resim 3.5.) Elde edilen veriler sayesinde, söz konusu numunelerin hyaluronidaz enzim inhibisyonu, “SoftMax Pro” isimli bilgisayar programı kullanılarak değerlendirilmiştir.



Resim 3.5. Absorbans ölçümünün yapıldığı ELISA cihaz (Emrah BOR)

(Çalışmamızda albümin çözeltisi boş (kör) olarak alınmıştır. Kontrol çözeltisi ise metanol, hyalüronik asit, hyalüronidaz ve albümin çözeltisinden meydana gelmektedir.)

Elde edilen değerler üzerinden, aşağıda yer alan formüle göre gerekli hesaplamalar yapılmıştır. Her bir bitki örneğinden 3 deney sonucunda elde edilen veriler ile % hyaluronidaz enzim inhibisyonlarının ortalaması $\pm$ standart sapma olarak gösterilmiştir.

$$\% \text{ Hyaluronidaz İnhibisyonu} = \frac{[\text{Örneklemin OAD'si} - \text{Kontrolün OAD'si}]}{\text{Örneklemin OAD'si}} \times 100$$

Örneklemin OAD : Örnek çözeltinin 540 nm dalga boyunda okunan absorbans değeri

Kontrol OAD : Kontrol çözeltinin 540 nm dalga boyunda okunan absorbans değeri

Jelatinaz (MMP-2 / MMP-9) Enzim İnhibisyonu

Tez çalışmaları kapsamında yapılmış olan biyolojik aktivite çalışmalarından ikincisi ise jelatinaz (MMP-2 / MMP-9) enzim inhibisyonudur. Hazırlanan metanollü bitki ekstraktlarının ve bu ekstraktlardan hareketle sentezlenen organik-inorganik hibrit nanoçiçek yapılarının, matriks metalloproteinaz (MMP) enzim ailesinin üyesi olan MMP-2 / Jelatinaz-A (72 kDa) ve MMP-9 / Jelatinaz-B (92 kDa) enzimleri (MMP-2 ve MMP-9) üzerindeki inhibisyon etkisi (anti-jelatinaz aktivitesi), satın alınan “MMP Activity Assay Kit (Fluorometric - Green) (ab112146 - Abcam, Cambridge, MA, USA)” isimli deney kiti kullanılarak araştırılmıştır.

Bu kit ile birlikte kullanılmak üzere “MMP-2 enzimi (ab81550 – Abcam, Cambridge, MA, USA)” ve “MMP-9 enzimi (ab82907 - Abcam, Cambridge, MA, USA)” satın alınarak, numunelerimizin inhibisyon aktivitesi *in vitro* ortamda araştırılmıştır (Resim 3.6.).

Söz konusu inhibisyon testindeki çalışmalar, üreticinin kullanım protokolü doğrultusunda gerçekleştirilmiştir. Söz konusu deney kiti, genel bir MMP aktivite göstergesi olarak bir flüoresan rezonans enerji transfer (FRET) peptidi içermektedir. Reaksiyon sonucunda bozulmadan kalan FRET peptidinde, bir parçanın floresansı bir başkası tarafından söndürülmektedir.



Resim 3.6. Deney kitinin içeriği ve enzimler (Emrah BOR)

FRET peptidi, MMP enzimleri tarafından iki parçaya ayrılır ise açığa çıkan floresan, geri kazanılmaktadır. Bu geri kazanım, floresans okuyucu cihazlar tarafından anlamlı verilere dönüştürülmektedir.

Tez çalışmalarımızda jelatinaz (MMP-2 ve MMP-9) enziminin inhibisyonu hedeflenmiş olup; reaksiyon sonucunda deney kitindeki FRET peptidinin bozulmadan kalması amaçlanmıştır. Bu sayede en yüksek jelatinaz enzim inhibisyonuna sahip ekstre/nanoçiçek yapısı tespit edilmiş olacaktır.

İlgili deney kiti kullanılarak; her bir bitki ekstresi, bakır (Cu^{2+}) ve çinko (Zn^{2+}) hibrit nanoçiçek formlarının farklı konsantrasyonlarından hareketle “bağıl floresans birimi (Relative Fluorescence Units / RFU)” cinsinden veriler elde edilerek, jelatinaz enzimi üzerindeki inhibisyon aktiviteleri *in vitro* koşullarda değerlendirilmiştir.

Çalışmalarımıza başlanmadan önce kitle yer alan tüm bileşenler ve jelatinaz enzimlerinin sıcaklıkları oda ısısına getirilmiştir. Deney protokolü doğrultusunda, kit içeriğinde yer alan tampon çözelti kullanılarak, MMP Yeşil substratı 1: 100 oranında dilüe edilmiştir. Jelatinaz enzimleri de yine aynı tampon çözeltisi ile seyreltilerek kullanılmıştır.

96 kuyucuklu ELISA mikrolakaları, enzim reaksiyonuna başlamadan önce 37°C sıcaklık altında etüvde (Nüve EN400) 10 – 15 dakika süreyle inkübe edilmiştir. Istılmış olan mikrolakaların üzerinde her bir numune (bitki ekstresi, bakır (Cu^{2+}) veya çinko (Zn^{2+}) hibrit nanoçiçek yapıları) 5 farklı konsantrasyonda ve 3 paralel şeklinde çalışılmıştır. Söz konusu numunelerden 25 μL alınarak, kuyucuklara eklenmiştir. Hemen ardından her bir kuyucuğa 25 μL MMP-2/MMP-9 enzimi (0,001 mg/mL konsantrasyonda) ilave edilmiş ve 15 dakika süreyle oda sıcaklığında inkübasyonu sağlanmıştır.

Daha sonra her bir kuyucuğa 50 μL florojenik özelliğe sahip MMP substratından (ışığa karşı duyarlı) eklenerek, mikrolakada yer alan tüm komponentlerin iyice karışması sağlanmıştır. Ardından yine oda sıcaklığında ve karanlık ortamda 1 saat boyunca inkübe edilmiştir.

İnkübasyonun ardından mikroplakalar, Ex/Em: 490/525 nm dalga boyunda filtre setine sahip bir floresans mikrolaka okuyucusu cihaz kullanılarak (SpectraMax® i3x Multi-Mode Microplate Reader, Molecular Devices, Sunnyvale, CA, ABD) okutulmuştur (Resim 3.7.). “SoftMax Pro” isimli bilgisayar programı kullanılarak elde edilen sinyaller sayesinde jelatinaz enzim aktivitesi değerlendirilmiştir. Bu sinyaller reaksiyon başlangıcından 60 dk sonra (end-point ölçüm) okunmuştur. Her bir numuneden alınan floresans sinyalleri, kit üreticisinin protokolü doğrultusunda substrat kontrolünde normalize edilmiştir.



Resim 3.7. Floresans ölçümünün yapıldığı cihaz (Emrah BOR)

Substrat kontrol kuyucuğundan alınan floresan, bir kontrol olarak kullanılmıştır ve diğer kuyucuklar için alınan değerlerden çıkarılarak, gerekli hesaplamalar yapılmıştır.

Organik – İnorganik Hibrit Nanoçiçek Yapıların Sentezi

Tez çalışmaları kapsamında araştırılmakta olan bitkilerin metanollü ekstrelerinden hareketle, farklı metal iyonları kullanılarak bakır (Cu^{2+}) ve çinko (Zn^{2+}) hibrit nanoçiçek formları sentezlenmiştir. Bakır (Cu^{2+}) iyonu kullanılarak oluşturulan hibrit nanoçiçeklerin sentezlenmesi daha kolay ve basit olsa da, yaklaşık 3 gün gibi bir süreye ihtiyaç duyulmaktadır. Bunun aksine, çinko (Zn^{2+}) iyonu ile daha kısa sürede (optimum koşullarda 3-6-12 veya 24 saatte) hibrit nanoçiçekler elde edilebilmektedir. Bu bilgilerden hareketle çinko (Zn^{2+}) iyonunun sentez sırasında daha hızlı reaksiyon verdiği ve daha kolay nanoyapılar meydana getirdiği anlaşılmaktadır.

Söz konusu sentez reaksiyonlarının sonucunda elde edilen final ürünler, sentez reaksiyonu sırasında kullanılan metal iyonuna göre mavi veya gri/beyaz renkli çökeltiler meydana getirmiştir (Resim 3.8).



Resim 3.8. Sentez reaksiyonlarının sonucunda elde edilmiş olan mavi renkli bakır (Cu^{2+}) hibrit nanoçiçekler ve gri/beyaz renkli çinko (Zn^{2+}) hibrit nanoçiçeklere ait örnekler (Fotoğraflar Emrah BOR tarafından çekilmiştir.)

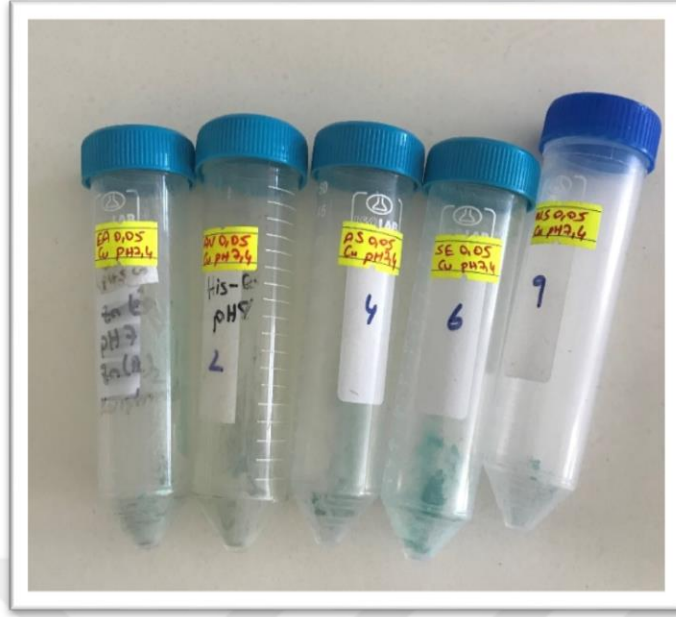
Elde edilen bu yapılar, orijini bitki ekstresi olan hibrit nanoçiçek yapılar olarak adlandırılmıştır. Sentezlenen bu yapıların analizi ve karakterizasyonu için ERÜ-TAUM'da (Erciyes Üniversitesi, Teknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi) çeşitli analizler ve görüntülemeler yapılmıştır.

Bakır (Cu^{2+}) İyonu ile Hibrit Nanoçiçeklerinin Sentezi

Daha önceki bölümlerde de belirtildiği üzere daha yüksek aktiviteye ve stabiliteye sahip olan ve bakır (Cu^{2+}) iyonu ile proteinin etkileşim yoluyla yeni bir nanoparçacık türünün oluşumunun keşfi ve karakterizasyonu ilk kez 2012 yılında rapor edilmiştir (Ge, Lei ve Zare, 2012). Tez çalışmalarımız kapsamında da bu yöntem uygulanarak, organik-inorganik hibrit yapıları nanoçiçeklerin sentezi gerçekleştirilmiştir. Bu doğrultuda, organik kısım olarak bitkilerin metanollü ekstraktları, inorganik kısım olarak ise bakır (Cu^{2+}) iyonu kullanılarak organik-inorganik hibrit nanoçiçekler sentezlenmiştir.

Öncelikle, moleküler-biyoloji derecesine sahip su ile hazırlanan 333 μL sulu (120 mM) bakır (II) sülfat pentahidrat ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$) çözeltisi, (10 mM PBS) 50 mL fosfat (PBS) tamponu içerisindeki 1 mg/mL konsantrasyona sahip bitki ekstraktlarının üzerine eklenmiştir. Ardından $+4^\circ\text{C}$ sıcaklıkta ve hiç karıştırılmadan 3 gün boyunca beklemeye bırakılmıştır (Ge, Lei ve Zare, 2012). Bu işlemler tüm bitki ekstraktları için ve fosfat tamponunun pH değeri pH 5-9 olacak şekilde, ayrı ayrı pH seviyelerinde gerçekleştirilmiştir.

Reaksiyon sonucunda meydana gelen mavi renkli çökeltiler 10 dakika boyunca 5000 rpm'de santrifüj cihazında 3 kez distile su ile yıkanmıştır. Ardından, elde edilen nihai ürünler etüvde 30°C sıcaklıkta bekletilerek tamamen kurutulmuşlardır (Resim 3.9.).



Resim 3.9 Sentezlenen bakır (Cu^{2+}) hibrit nanoçiçekleri, (pH 7,4)

Çeşitli bitki ekstraterinden hareketle, farklı konsantrasyonlarda ve farklı pH seviyelerinde hazırlanmış olan bakır (Cu^{2+}) hibrit nanoçiçek yapılarına ait en iyi SEM görüntüsü (morfolojik olarak çiçek yapısına en yakın görüntü) pH seviyesi 7,4 iken elde edilmiştir.

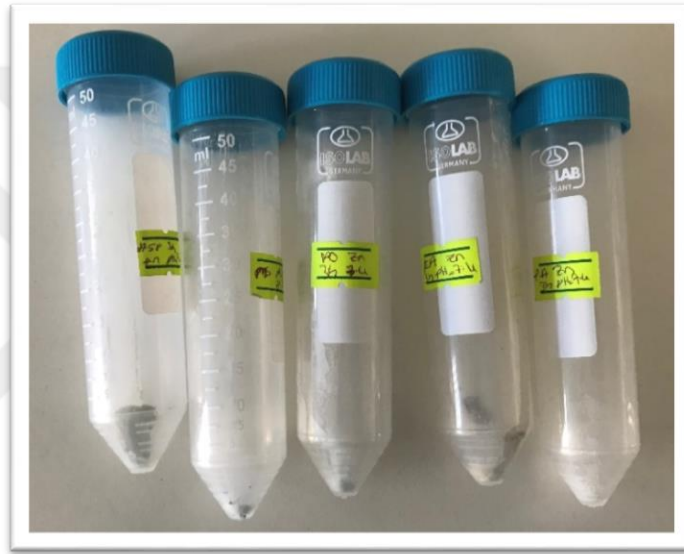
Çinko (Zn^{2+}) İyonu ile Hibrit Nanoçiçeklerinin Sentezi

Nanoyapılarının üstünlüklerinden dolayı, bilim insanları hibrit yapıların elde edebilmek için çeşitli sentez yöntemleri geliştirmişlerdir. 2016 yılında Zhang ve arkadaşları tarafından “Red-blood-cell-like” (kırmızı kan hücreleri benzeri), çiçek yapısını andıran hibrit yapıları, kolay ve hızlı bir yöntem olarak literatüre kazandırılmıştır (Zhang ve diğerleri, 2016).

Bu sentez yöntemi doğrultusunda, tez kapsamında çalışılan metanollü bitki ekstrateri organik, çinko (Zn^{2+}) iyonu ise inorganik kısım olacak şekilde kullanılarak organik-inorganik hibrit nanoçiçek yapıları sentezlenmiştir. Her bir bitki ekstraterinden 0,016 g alınarak, 20 mL fosfat (PBS) tampon içerisinde pH 7,4 olarak ayarlanacak şekilde tamamen çözülmüştür. Ardından, elde edilen karışım 50 mL’lik falkon tüpüne aktarılmıştır. Üzerine 0,05 g/mL konsantrasyonda hazırlanan, 1,6 mL hacminde

Çinko asetat dihidrat ($\text{ZnAc} \cdot 2\text{H}_2\text{O}$) özeltisi eklenmiş ve manyetik karıştırıcıda, manyetik balık yardımıyla 3 saat süreyle karıştırılmıştır.

Karıştırma işleminin sona ermesiyle birlikte sentez reaksiyonu son aşamaya gelmiştir. Falcon tüplerinde beyaz/gri renkte çökelti ler oluşmuştur. Bunlar “bitki ekstresi/ $\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COO})_2$ ” nin hibrit haldeki çökelti partikülleridir. Bu partiküller 5000 rpm’de santrifüj edilerek 3 kez yıkanmıştır. Son olarak, elde edilen nihai sentez ürünlerinin etüvde 30 °C sıcaklıkta bekletilerek tamamen kurumaları sağlanmıştır (Resim 3.10.).



Resim 3.10. Sentezlenen inko (Zn^{2+}) hibrit nanoçiçekleri, (pH 7,4)

3.2.3. Sentezlenen Hibrit Nanoçiçek Yapıların Karakterizasyonu

Doktora tez çalışmalarımız kapsamında, sentezlenen bakır (Cu^{2+}) nanoçiçek yapılarının ve inko (Zn^{2+}) nanoçiçek yapılarının çeşitli analizleri için Erciyes Üniversitesi, TAUM (Teknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi) ’dan hizmet alımı gerçekleştirilmiştir. Burada nanoyapıların görüntüleri çekilmiş olup, kristal yapısı ve kimyasal yapısı çeşitli yöntemler aracılığı ile aydınlatılmaya çalışılmıştır. Bu sayede, sentezlenen hibrit nanoçiçek yapılarının başarıyla oluşturulabildiği kanıtlanmıştır.

Tez kapsamında, farklı metal iyonları kullanılarak sentezi gerçekleştirilen tüm hibrit nanoçiçek yapılarının morfolojileri, SEM (Scanning Electron Microscope) görüntüleri, EDX (Energy Dispersive X-Ray) analizi, XRD (X-Işını Kırınım / X-Işını Difraktometresi) analizi, FT-IR (Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi) analizi ve boyutlarının tespiti yapılmıştır. Bu yöntemler yardımıyla, organik-inorganik hibrit nanoçiçek yapılar farklı açılardan karakterize edilmiştir.

SEM (Scanning Electron Microscope):

Taramalı elektron mikroskobunda veya diğer bir ifadeyle SEM’de sıvı olmayan her türlü numune incelenebilmektedir. Odaklanmış bir elektron demeti ile incelenmekte olan numunenin yüzeyi taranarak, elektronların söz konusu numunedeki atomlarla etkileşmesi sonucu, numunenin yüzeyindeki topografi, morfoloji, şekil, boyut ve kompozisyonuna dair verileri içeren birbirinden farklı sinyaller üretilmektedir. Erciyes Üniversitesi - TAUM’da “Leo 440 Computer Controlled Digital” isimli cihaz (Resim 3.11.) kullanılarak bu işlem gerçekleştirilmiştir. Elde edilen görüntüler sayesinde incelenen örneklerin boyutları, yüzeylerinin şekilleri ve yapıları hakkında bilgi sahibi olunmuştur.



Resim 3.11. SEM ve EDX Analizlerinin Gerçekleştirildiği Cihaz (ERÜ-TAUM)

Çalışılan numune iletken bir malzemeye kaplanması sonucunda altın/paladyum (Au-Pd) incelenebilir hale getirilmiştir. Bu sırada söz konusu numune vakum altına alınmıştır. SEM’de incelenecek olan numuneye göre değişen sürelerde vakum süresi beklenmiştir. Beklenen bu süre ortalama olarak 30 dakikadır. Vakum süresi tamamlanmasının ardından incelenmekte olan numunenin yüzey şeklini gösteren resimler çekilmiştir (McMullan, 1995). Böylece tez kapsamında sentezlenmiş olan organik-inorganik hibrit nanoçiçek formlarının boyutları ve yüzey şekilleri belirlenmiştir.

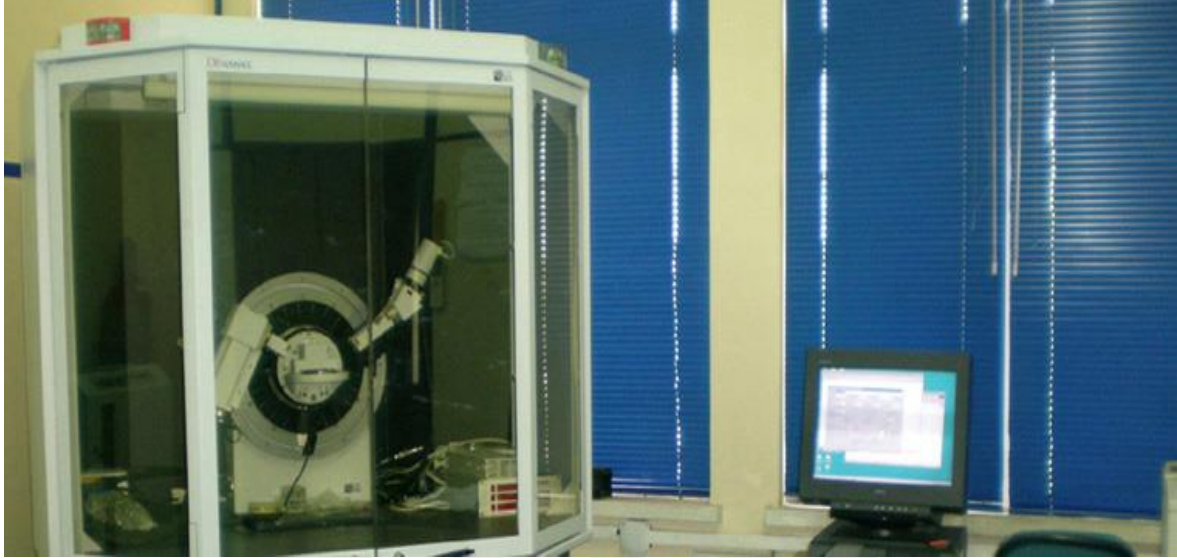
EDX (Energy Dispersive X-Ray):

Enerji dağılımlı X-ışınları (EDX) analizi yöntemi kullanılarak, incelenen numunenin ihtiva ettiği elementlerin kompozisyonu kantitatif olarak aydınlatılabilmektedir. Bu analiz, araştırılan numunenin yüzeyine yüksek enerjiye sahip elektronlar çarptırılarak, numudene kopan yüzeysel elektronların enerjilerinin (X-ışını şeklindeki enerji) anlamlı sinyallere dönüştürülmesi esasına dayanmaktadır. Erciyes Üniversitesi - TAUM’da “Leo 440 Computer Controlled Digital” isimli cihaz (Resim 3.7.) kullanılarak bu işlem gerçekleştirilmiştir. Elde edilen EDX spektrumlarında yer alan piklerden hareketle, tez kapsamında sentezlenmiş olan nanoçiçek yapılarının içerisinde bakır (Cu^{2+}) ve çinko (Zn^{2+}) metallerinin olup-olmadığı ve böylece hibrit nanoçiçek yapılarının oluşup-oluşmadığı değerlendirilmiştir.

XRD (X-Ray Diffraction):

X-ışını Kırınım/ X-ışını Difraktometresi (XRD) yöntemi çoğunlukla ağır elementlerden oluşan, katı anorganik ve kristal maddelerin araştırılmasına uygun bir aletsel yöntemdir. Bu yöntem, her bir maddenin spesifik olarak ihtiva ettiği atomik dizimlerine göre X-ışınlarını karakteristik olarak kırması esasına dayanmaktadır. Bu analiz için Erciyes Üniversitesi - TAUM’da bulunan “Bruker Axs D8 Advance Model” isimli cihaz (Resim 3.12.) kullanılmıştır. XRD toz deseni veri değerlendirmeleri ise veri değerlendirme ve işlemlerini içeren hazır paket programlarla, merkezde bulunan veri değerlendirme ve işleme bilgisayarında yapılmıştır (Giannini ve diğerleri, 2016).

Bu sayede elde edilen spektrumlardan hareketle, incelenen numunelerin içerdği bileşikler ve kristal yapısı aydınlatılmıştır.



Resim 3.12. XRD analizlerinin gerçekleştirildiği cihaz (ERÜ-TAUM)

FT-IR (Fourier Transform Infrared Spectroscopy):

Fourier Dönüşümlü Kızılötesi Spektroskopisi (FT-IR) analizi katı, sıvı veya gaz maddelerin soğurma (absorpsiyon) ve emisyon kızılötesi spektrumunun elde edildiği bir spektroskopi tekniğidir. Bu spektroskopi sayesinde her türlü organik ve inorganik bileşikler analiz edilebilmektedir. FT-IR yöntemindeki esas amaç herhangi bir bileşiğin kimyasal yapısı hakkında bilgi sahibi olmak veya yapısındaki değişiklikleri inceleyebilmektir. Bu teknik yardımıyla, ERÜ - TAUM' da bulunan “Perkin Elmer 400 FT-IR / FT-FIR Spectrometer Spotlight 400 Imaging System” isimli cihaz (Resim 3.13.) kullanılarak tez kapsamında sentezlenmiş olan organik-inorganik hibrit nanoçiçek formları karakterize edilmiştir. Bu cihaz ile nanoçiçek yapılardan çeşitli absorpsiyon pikleri ve bu böylece IR spektrumları elde edilmiştir. Bu sayede araştırılan numunenin yapısındaki atomlar arası bağların durumu, bağlanma yerleri ve yapının aromatik veya alifatik olduğuna dair bilgiler edinilmiştir (Gallagher, 2009).



Resim 3.13. FT-IR analizlerinin gerçekleştirildiği cihaz (ERÜ-TAUM)



4. BULGULAR

4.1. Hazırlanan Ekstrelerin Verimlerine Ait Bulgular

Tez kapsamında çalışılan bitkilerden hareketle elde edilen metanollü bitki ekstraktlarının her biri tartılarak (a/a) verimleri hesaplanmıştır. Hesaplanan bu verimler Çizelge 4.1.'de belirtilmiştir.

Çizelge 4.1. Ekstraksiyon sonucu elde edilen verimler

Bitki Adı	Kullanılan Kısım	Kuru Bitki Ağırlığı	Ekstre Ağırlığı	% Verim (a/a)
<i>A. ceterach</i>	Herba	70 g	18.57 g	%26,5
<i>E. arvense</i>	Herba	200 g	19.46 g	%9,7
<i>M. sylvestris</i>	Herba	200 g	46.54 g	%23,3
<i>P. americana</i>	Folia	240 g	44.08 g	%18,4
<i>P. oleracea</i>	Herba	250 g	30.17 g	%12,1

Bu çizelgede de görüldüğü üzere, tez materyallerinden hazırlanan metanol ekstraktları arasında, en yüksek verime sahip olan bitkinin %26,5 'lik verim oranıyla *A. ceterach* olduğu görülmüştür.

4.2. Sentezlenen Bakır (Cu^{2+}) ve Çinko (Zn^{2+}) Organik – İnorganik Hibrit Nanoçiçek Yapılarına Ait Bulgular

Tez kapsamındaki *in vitro* hyaluronidaz ve jelatinaz enzim inhibisyonu çalışmalarında kullanılmak üzere sentezlenen nanoçiçek yapıların, ihtiva ettiği metal iyonuna göre farklı renklerde olduğu gözlenmiştir. Bakır (Cu^{2+}) iyonu içeren hibrit nanoçiçek yapıları mavi renge sahipken, çinko (Zn^{2+}) içeren formlarının gri/beyaz renkli olduğu görülmüştür. Farklı miktarda amin gruplarını ihtiva eden bitki ekstrakterinin, çiçek benzeri morfolojik yapıdaki görüntüleri elde edilmiştir. Hibrit nanoçiçek yapılarının sentezinde kullanılan söz konusu bitki ekstrakterinin konsantrasyonları da bu morfolojik yapıyı etkilemektedir.

Bu bölümde, tez kapsamında metanollü ekstraktları hazırlanan bitki ekstrakterinden hareketle sentezlenmiş olan, organik-inorganik hibrit nanoçiçek yapılarının karakterizasyonuna dair bilgilere yer verilecektir. Yapılan SEM, EDX, XRD ve FT-IR analizleri sayesinde, sentezlenen bu nanoyapıların içerisinde bakır (Cu^{2+}) ve çinko (Zn^{2+}) iyonlarının varlığı tespit edilmiştir. Bu sayede, sentez reaksiyonları ile elde edilmek istenilen bakır (Cu^{2+}) ve çinko (Zn^{2+}) nanoçiçek hibrit yapılarının başarıyla oluşturulabildiği kanıtlanmıştır.

4.2.1. Nanoçiçek Yapıların SEM Görüntüleri

Tez çalışmaları kapsamında sentezlenen nanoçiçek formlarına dair en iyi SEM görüntüsü pH seviyesi 7,4 değerindeyken elde edilmiştir. Oluşan tüm organik-inorganik hibrit nanoçiçek yapılarının yüzey morfolojileri incelendiğinde, çiçek benzeri ve oldukça fazla katmanlara, gözeneklere sahip olduğu tespit edilmiştir. Sentezde kullanılan farklı metal iyonlarına göre, farklı yüzey yapılarında ve boyutlarda nanoçiçekler meydana gelmiştir. Oluşan her bir nano yaprak ve bunların oluşturduğu nanoçiçek yapısının, gerçek çiçek şekline ve görüntüsüne en benzer olduğu optimum pH seviyesinin 7,4 olduğu görülmüştür.

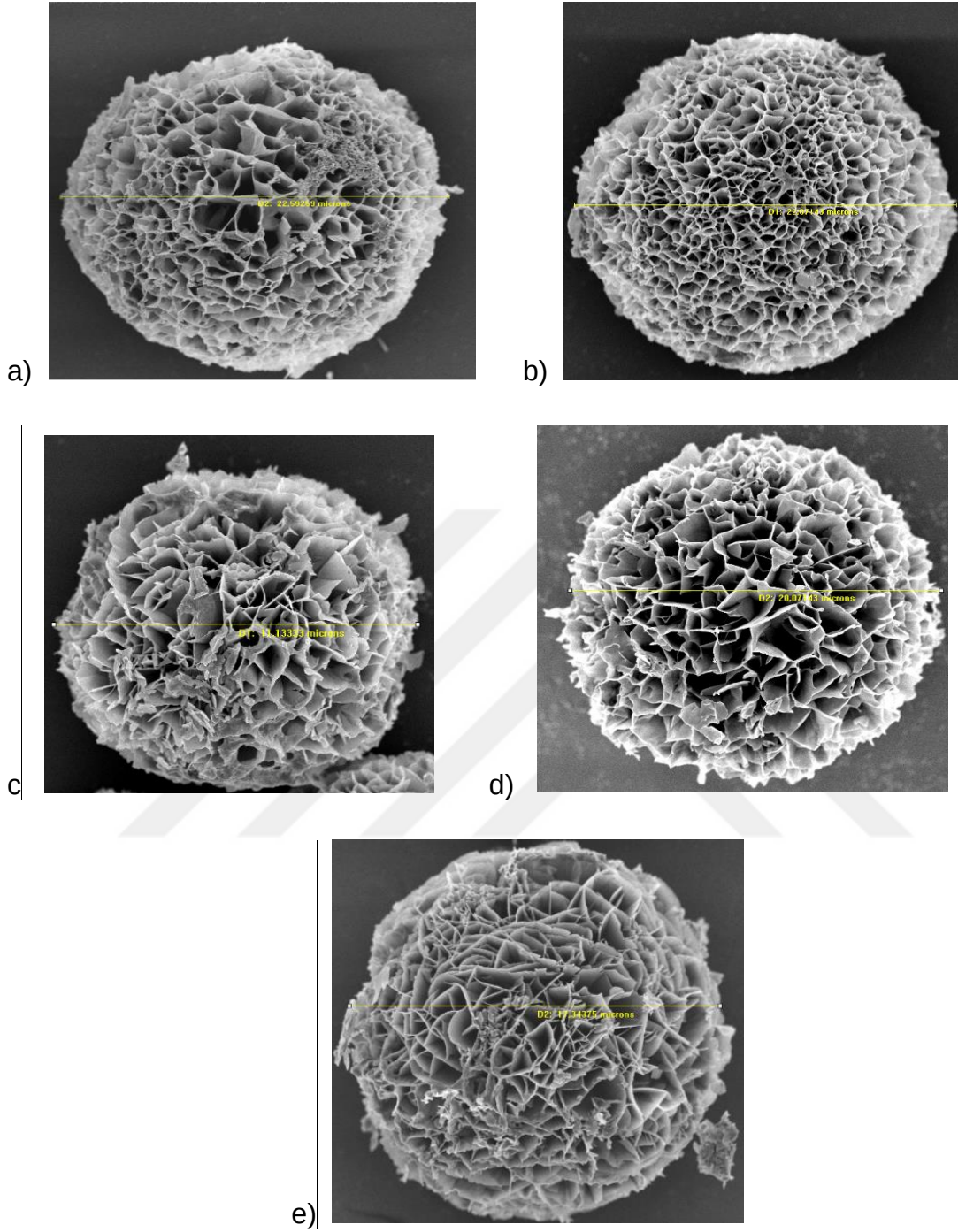
Söz konusu nanoçiçekler ve bunları oluşturan kompleks yapraklar daha detaylı incelendiğinde, bakır (Cu^{2+}) hibrit nanoçiçeklerin yüzey morfolojilerinin daha yuvarlak/oval hatlara ve daha gözenekli bir yapıya sahip olduğu görülmüştür. Bu durumun aksine, çinko (Zn^{2+}) hibrit nanoçiçeklerin ise daha köşeli, düz ve bloklardan oluşan bir yapıya sahip olduğu gözlemlenmiştir. Tüm bu yapısal farklılıklarına rağmen, her iki hibrit nanoçiçek yapıları da elektron mikroskobu altında çiçek benzeri görüntüye sahip olduğu tespit edilmiştir.

Elde edilen SEM görüntüleri “Image Pro-Plus” isimli bilgisayar programı yardımıyla incelenerek, sentezlenen bakır (Cu^{2+}) ve çinko (Zn^{2+}) hibrit nanoçiçek yapılarının boyutları hakkında da bilgi sahibi olunmuştur (Resim 4.1.). Bu sonuçlara göre her bir bitki ekstresinin bakır (Cu^{2+}) nanoçiçek formlarının, çinko (Zn^{2+}) nanoçiçeklere kıyasla daha büyük çapa sahip olduğu sonucuna varılmıştır (Çizelge 4.2.).

Çizelge 4.2. Sentezlenen bakır (Cu^{2+}) ve çinko (Zn^{2+}) hibrit nanoçiçek yapılarının boyut analizi (μm)

Hibrit Nanoçiçek Yapıları	Bakır (Cu^{2+}) Nanoçiçek Boyutu ($\sim \mu\text{m}$)	Çinko (Zn^{2+}) Nanoçiçek Boyutu ($\sim \mu\text{m}$)
<i>A. ceterach</i>	$\sim 22,07 \mu\text{m}$	$\sim 5,47 \mu\text{m}$
<i>E. arvense</i>	$\sim 17,34 \mu\text{m}$	$\sim 4,79 \mu\text{m}$
<i>M. sylvestris</i>	$\sim 20,07 \mu\text{m}$	$\sim 13,29 \mu\text{m}$
<i>P. americana</i>	$\sim 11,13 \mu\text{m}$	$\sim 6,47 \mu\text{m}$
<i>P. oleracea</i>	$\sim 22,59 \mu\text{m}$	$\sim 6,56 \mu\text{m}$

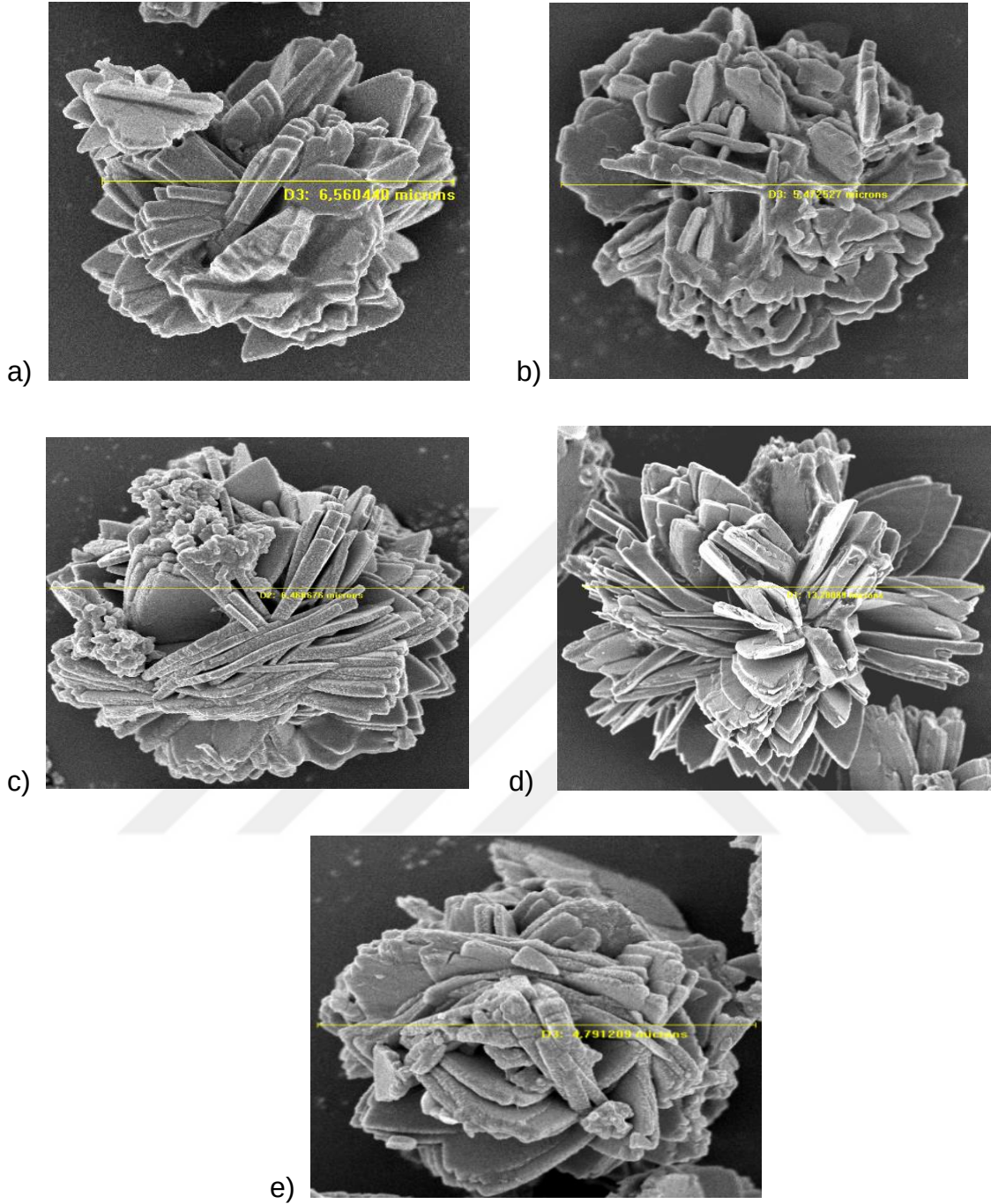
En büyük ve en küçük boyutlu bakır (Cu^{2+}) hibrit nanoçiçek formları sırasıyla; yaklaşık $\sim 22,59 \mu\text{m}$ ile *P. oleracea* 'ye ve yaklaşık $\sim 11,13 \mu\text{m}$ ile *P. americana* 'ya aittir (Resim 4.1.).



Resim 4.1. Bakır (Cu^{2+}) hibrit nanonoçiçeklerin boyut analizleri ve ölçümleri

- a) *P. oleracea*
- b) *A. ceterach*
- c) *P. americana*
- d) *M. sylvestris*
- e) *E. arvense*

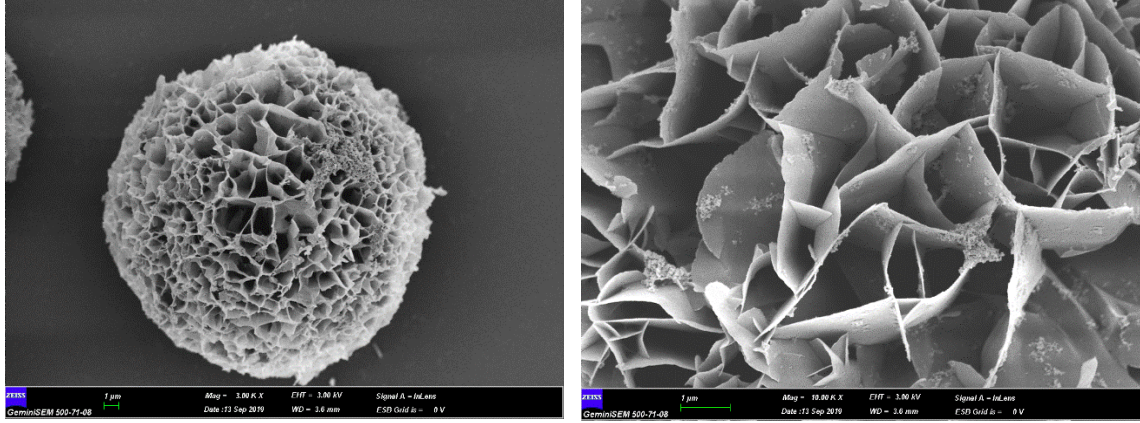
Çinko (Zn^{2+}) hibrit nanoçiçeklerdeki durum ise farklıdır. En büyük ve en küçük boyutlarda olanların sırasıyla; yaklaşık $\sim 13,29 \mu\text{m}$ ile *M. sylvestris* ve yaklaşık $\sim 4,79 \mu\text{m}$ ile *E. arvense*' ye ait olduğu görülmüştür (Resim 4.2.).



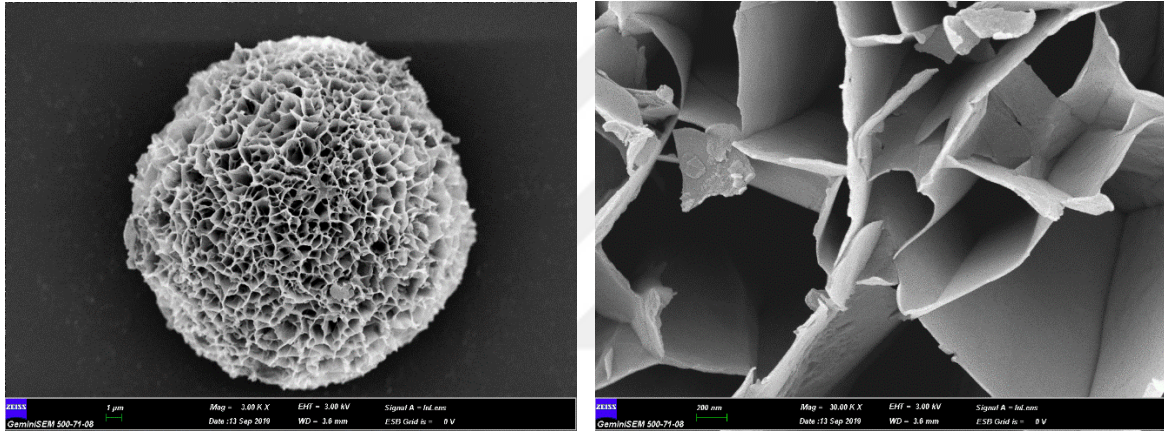
Resim 4.2. Çinko (Zn^{2+}) hibrit nanonoçiçeklerin boyut analizleri ve ölçümleri

- a) *P. oleracea*
- b) *A. ceterach*
- c) *P. americana*
- d) *M. sylvestris*
- e) *E. arvense*

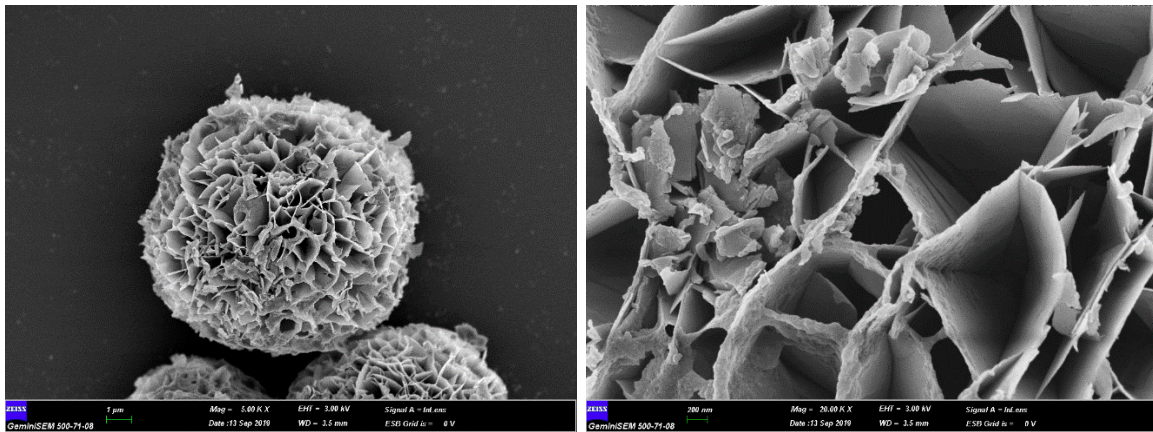
İlgili reaksiyonlar sonucunda sentezlenmiş olan bakır (Cu^{2+}) hibrit nanoçiçek formlarının, taramalı elektron mikroskobu yardımıyla elde edilen SEM görüntüleri, farklı yakınlaştırma dereceleriyle birlikte Resim 4.3., Resim 4.4., Resim 4.5., Resim 4.6. ve Resim 4.7. 'de daha ayrıntılı bir şekilde verilmiştir.



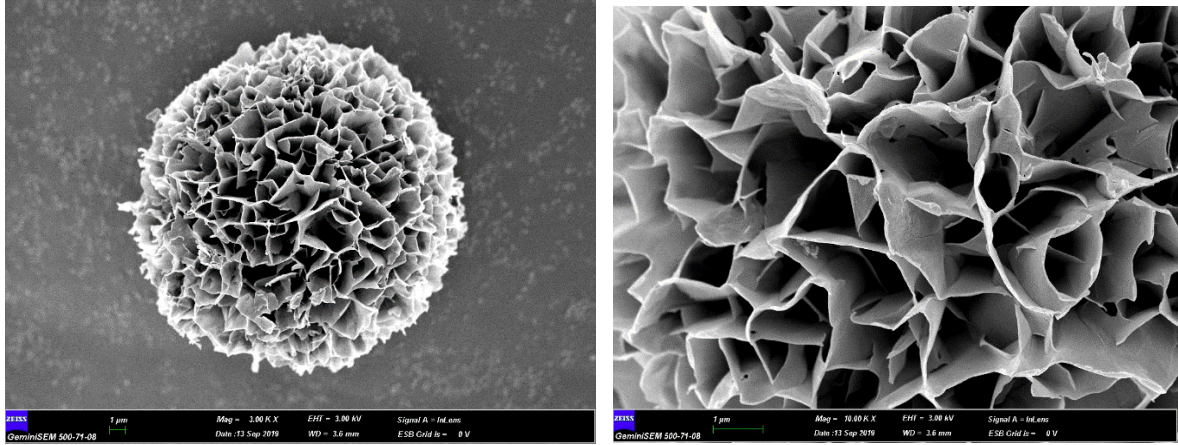
Resim 4.3. 2,50 KX–20,00 KX SEM, *P. oleracea* bitkisinin (Cu^{2+}) hibrit nanoçiçek görüntüleri (pH 7,4)



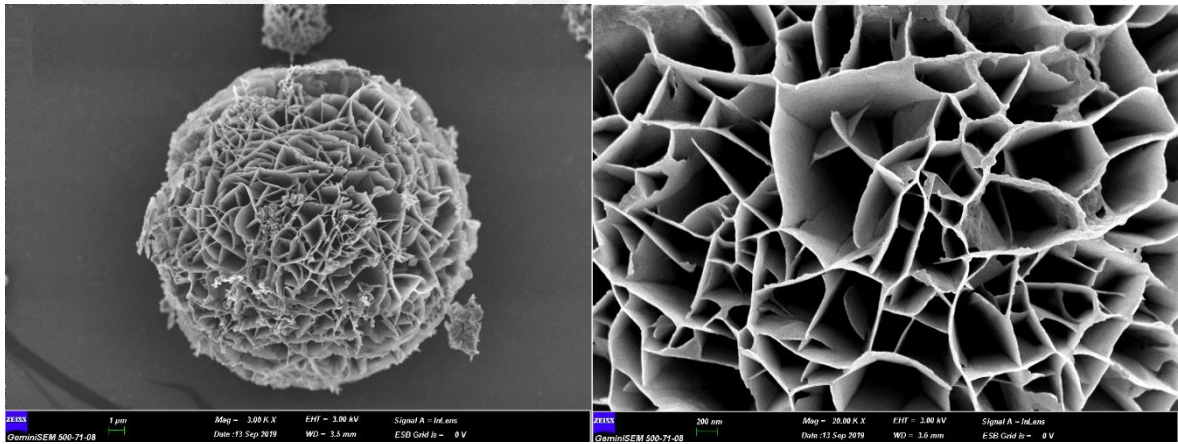
Resim 4.4. 2,50 KX–20,00 KX SEM, *A. ceterach* bitkisinin (Cu^{2+}) hibrit nanoçiçek görüntüleri (pH 7,4)



Resim 4.5. 2,50 KX–20,00 KX SEM, *P. americana* bitkisinin (Cu^{2+}) hibrit nanoçiçek görüntüleri (pH 7,4)

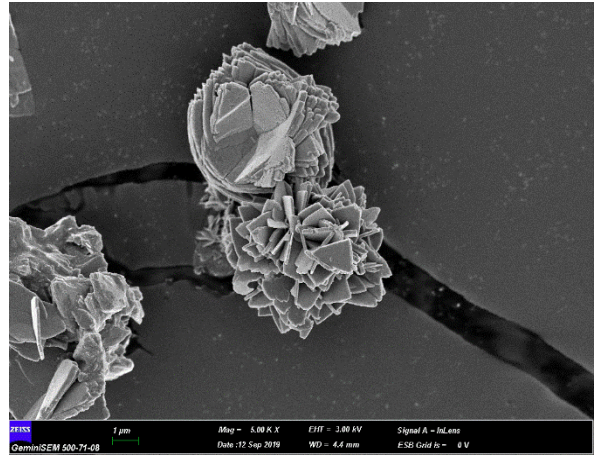
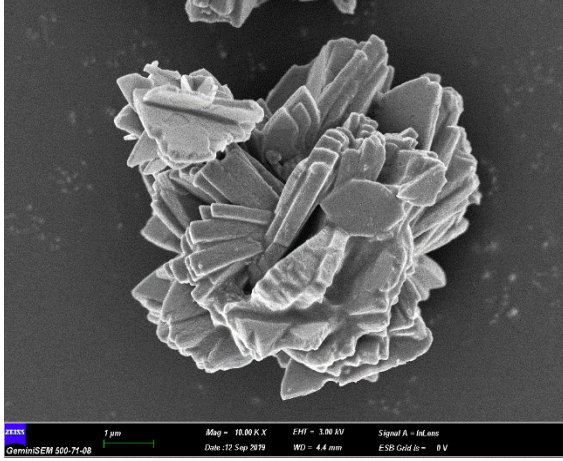


Resim 4.6. 2,50 KX–20,00 KX SEM, *M. sylvestris* bitkisinin (Cu^{2+}) hibrit nanoçiçek görüntüleri (pH 7,4)

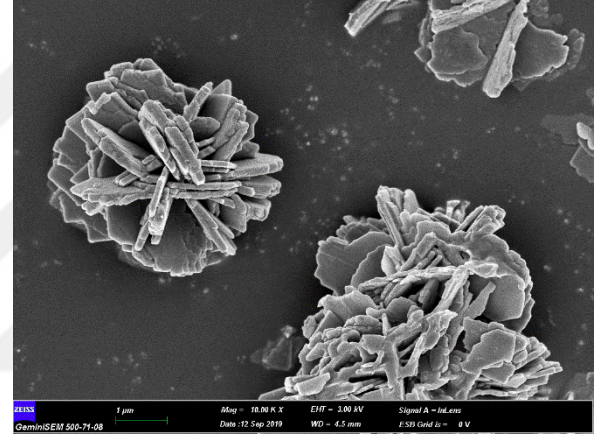
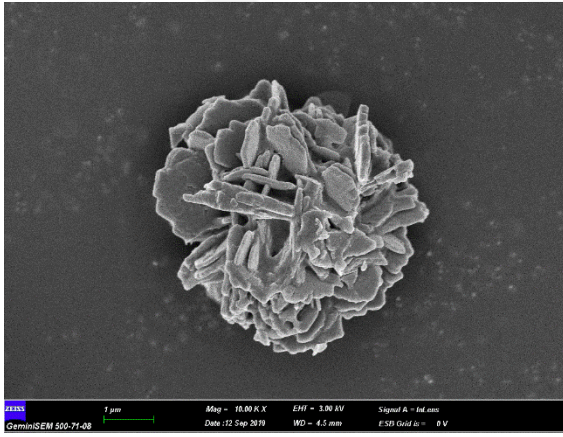


Resim 4.7. 2,50 KX–20,00 KX SEM, *E. arvense* bitkisinin (Cu^{2+}) hibrit nanoçiçek görüntüleri (pH 7,4)

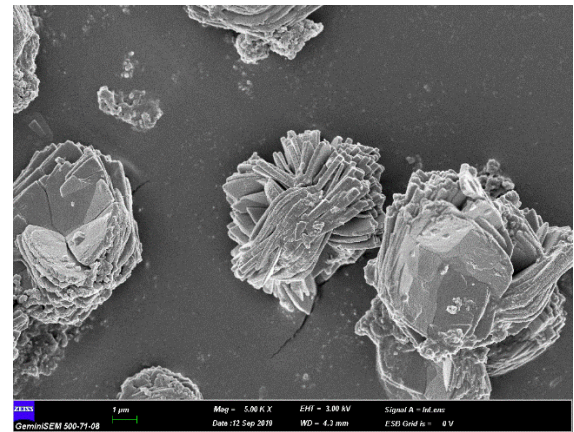
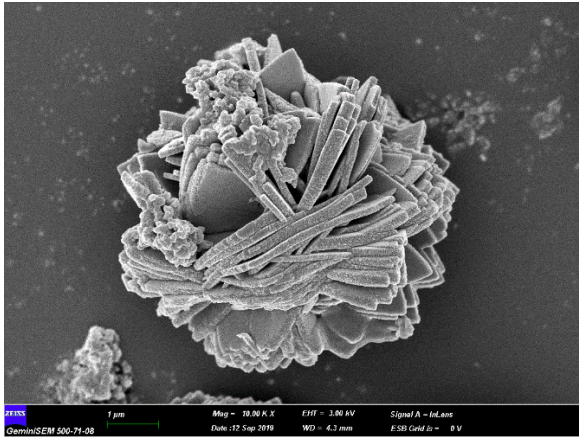
Elde edilen çinko (Zn^{2+}) hibrit nanoçiçek formlarının SEM görüntüleri ise Resim 4.8., Resim 4.9., Resim 4.10. Resim 4.11. ve Resim 4.12.' de verilmiştir.



Resim 4.8. 5,00 KX–10,00 KX SEM, *P. oleracea* bitkisinin (Zn^{2+}) hibrit nanoçiçek görüntüleri (pH 7,4)

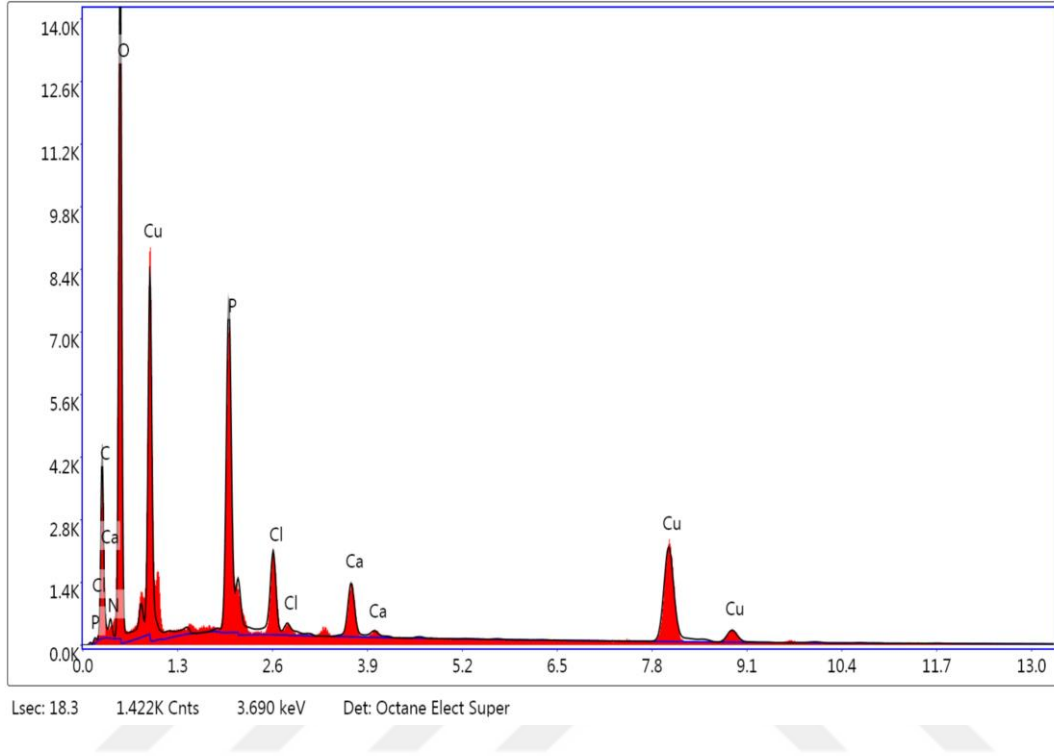


Resim 4.9. 5,00 KX–10,00 KX SEM, *A. ceterach* bitkisinin (Zn^{2+}) hibrit nanoçiçek görüntüleri (pH 7,4)



Resim 4.10. 5,00 KX–10,00 KX SEM, *P. americana* bitkisinin (Zn^{2+}) hibrit nanoçiçek görüntüleri (pH 7,4)

Söz konusu bakır (Cu^{2+}) hibrit nanoçiçek yapılarının EDX analizlerinden elde edilen spektrumlar, nanoçiçek yapılarındaki bakır (Cu^{2+})' ın ağırlık ve atomik yüzdeleri Şekil 4.1 – Şekil 4.5.'de verilmiştir.

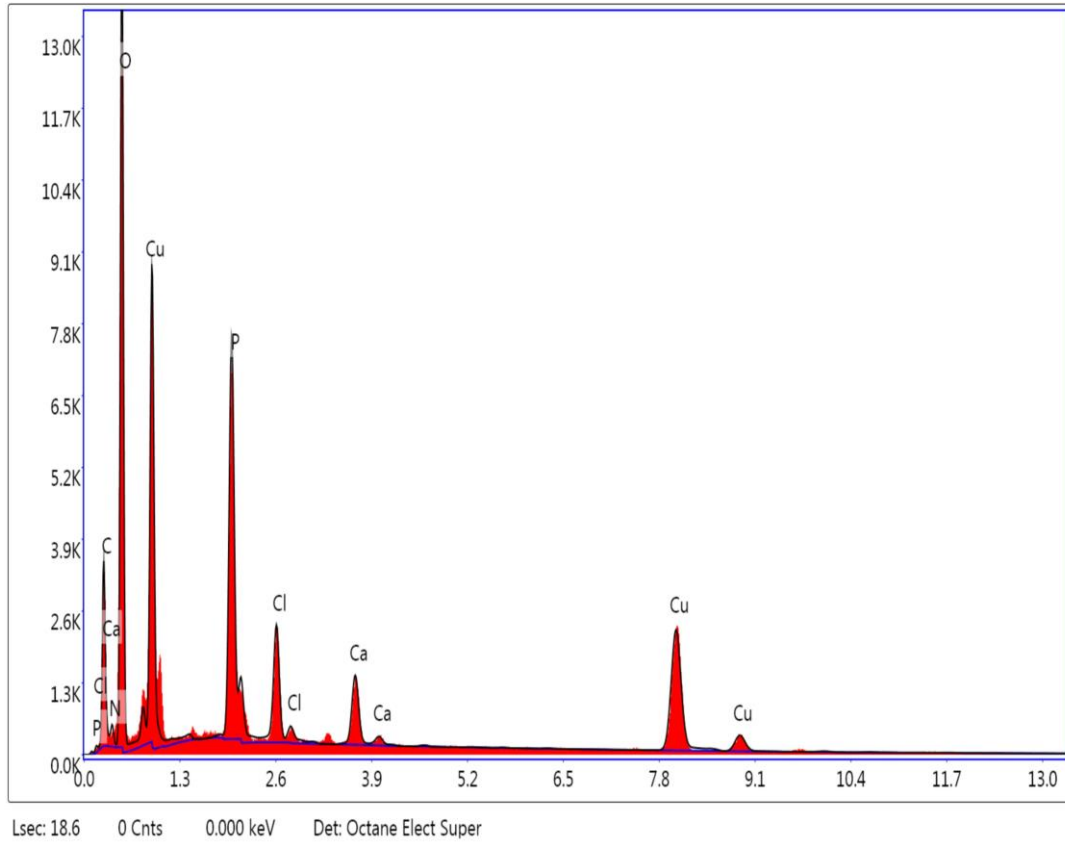


eZAF Smart Quant Results

Element	Weight %	Atomic %	Net Int.
C K	22.62	35.09	973.37
N K	2.07	2.76	88.55
O K	41.32	48.12	4717.85
P K	9.65	5.81	3764.71
ClK	2.77	1.46	1052.29
CaK	2.61	1.21	792.47
CuK	18.95	5.56	2045.94

Şekil 4.1. *P. oleracea* bitkisinin bakır (Cu^{2+}) hibrit nanoçiçek formuna ait EDX analiz sonuçları

P.O.'nin bakır hibrit nanoçiçek yapısında, Cu^{2+} 'ın ağırlık ve atomik yüzdelerinin ortalama %18,95 ve %5,56 oranlarında olduğu tespit edilmiştir.

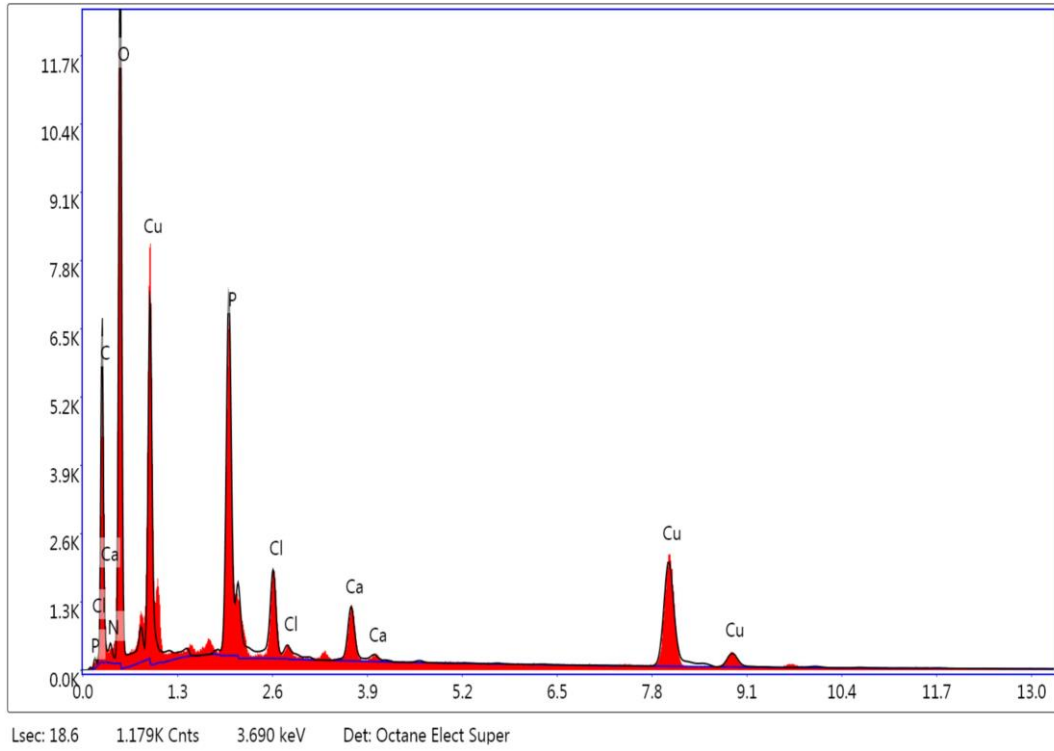


eZAF Smart Quant Results

Element	Weight %	Atomic %	Net Int.
C K	20.42	32.61	759.63
N K	2.11	2.9	83.9
O K	40.82	48.94	4297.1
P K	10.07	6.23	3541.45
ClK	3.32	1.8	1139.56
CaK	2.87	1.37	788.3
CuK	20.4	6.16	2004.58

Şekil 4.2. *A. ceterach* bitkisinin bakır (Cu^{2+}) hibrit nanoçiçek formuna ait EDX analiz Sonuçları

A.C.'nin bakır hibrit nanoçiçek yapısında, Cu^{2+} 'ın ağırlık ve atomik yüzdelerinin ortalama %20,40 ve %6,16 oranlarında olduğu tespit edilmiştir.

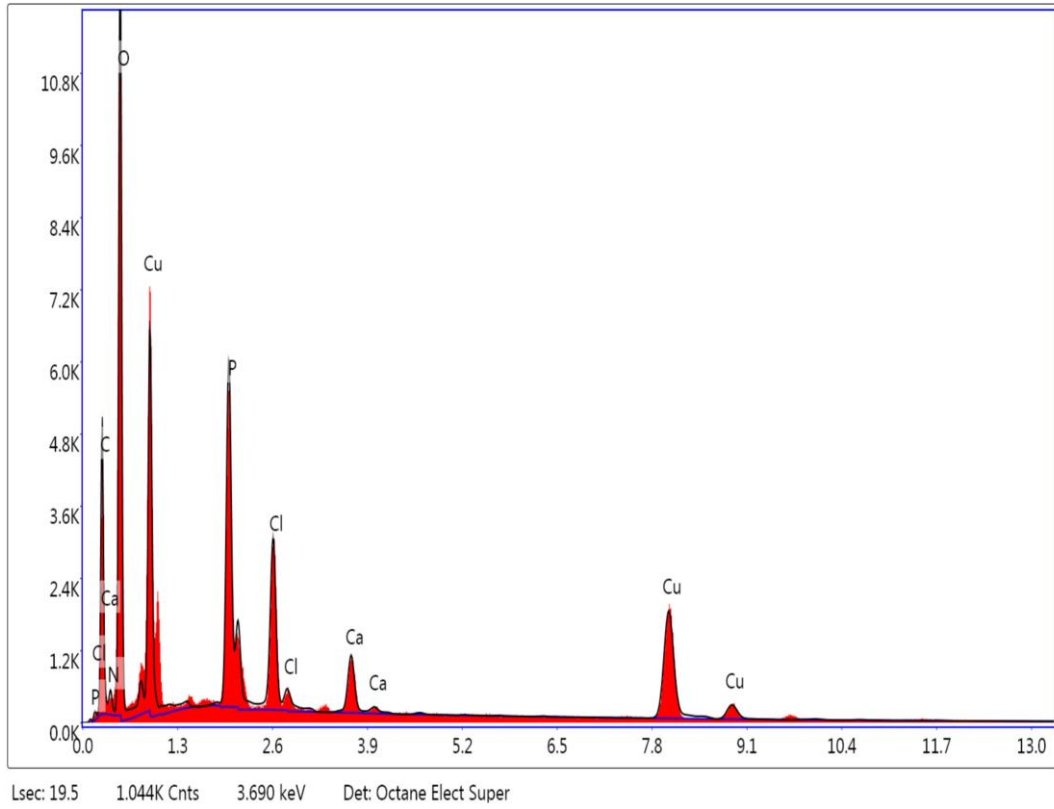


eZAF Smart Quant Results

Element	Weight %	Atomic %	Net Int.
C K	30.96	45.16	1571.38
N K	1.48	1.85	58.9
O K	37.99	41.59	4174.24
P K	8.28	4.69	3504.25
Cl K	2.33	1.15	957.73
Ca K	2.1	0.92	681.03
Cu K	16.86	4.65	1931.29

Şekil 4.3. *P. americana* bitkisinin bakır (Cu^{2+}) hibrit nanoçiçek formuna ait EDX analiz sonuçları

P.A.'nın bakır hibrit nanoçiçek yapısında, Cu^{2+} 'ın ağırlık ve atomik yüzdelерinin ortalama %16,86 ve %4,65 oranlarında olduğu tespit edilmiştir.

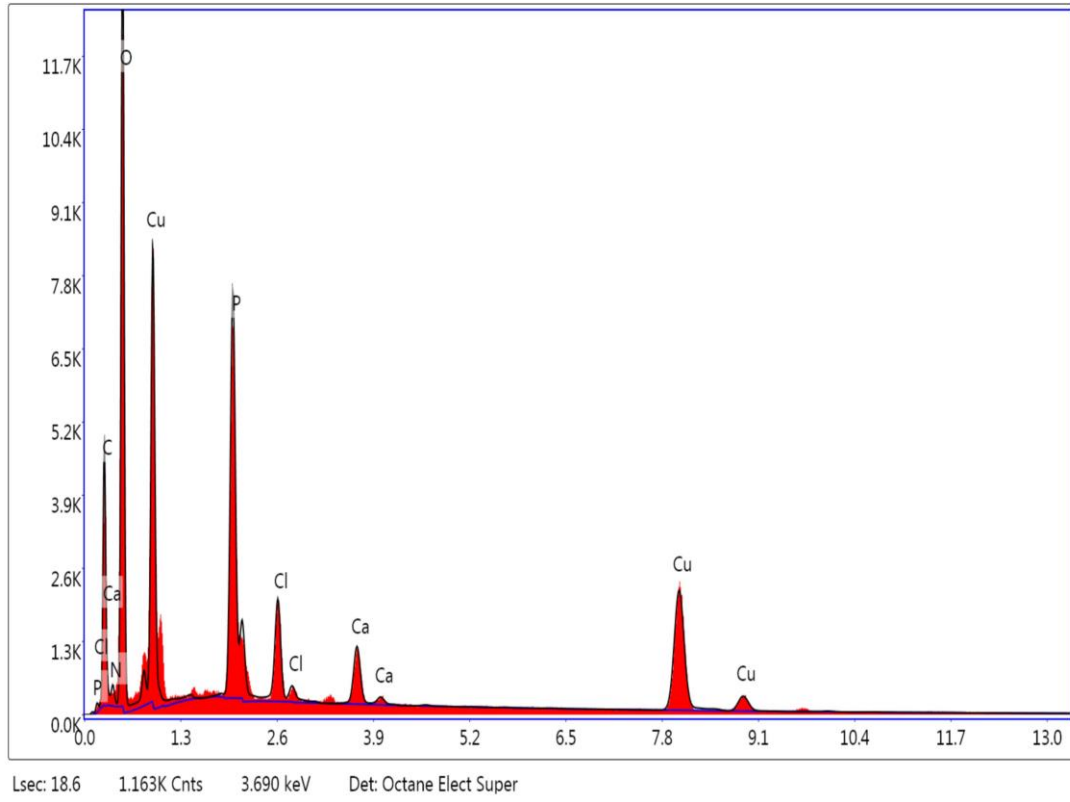


eZAF Smart Quant Results

Element	Weight %	Atomic %	Net Int.
C K	27.92	41.48	1081.95
N K	2.26	2.88	77.08
O K	38.85	43.34	3565.47
P K	7.69	4.43	2703.42
Cl K	4.41	2.22	1511.97
Ca K	2.15	0.96	576.61
Cu K	16.72	4.7	1593.34

Şekil 4.4. *M. sylvestris* bitkisinin bakır (Cu^{2+}) hibrit nanoçiçek formuna ait EDX analiz sonuçları

M.S.'nin bakır hibrit nanoçiçek yapısında, Cu^{2+} 'ın ağırlık ve atomik yüzdelerinin ortalama %16,72 ve %4,70 oranlarında olduğu tespit edilmiştir.



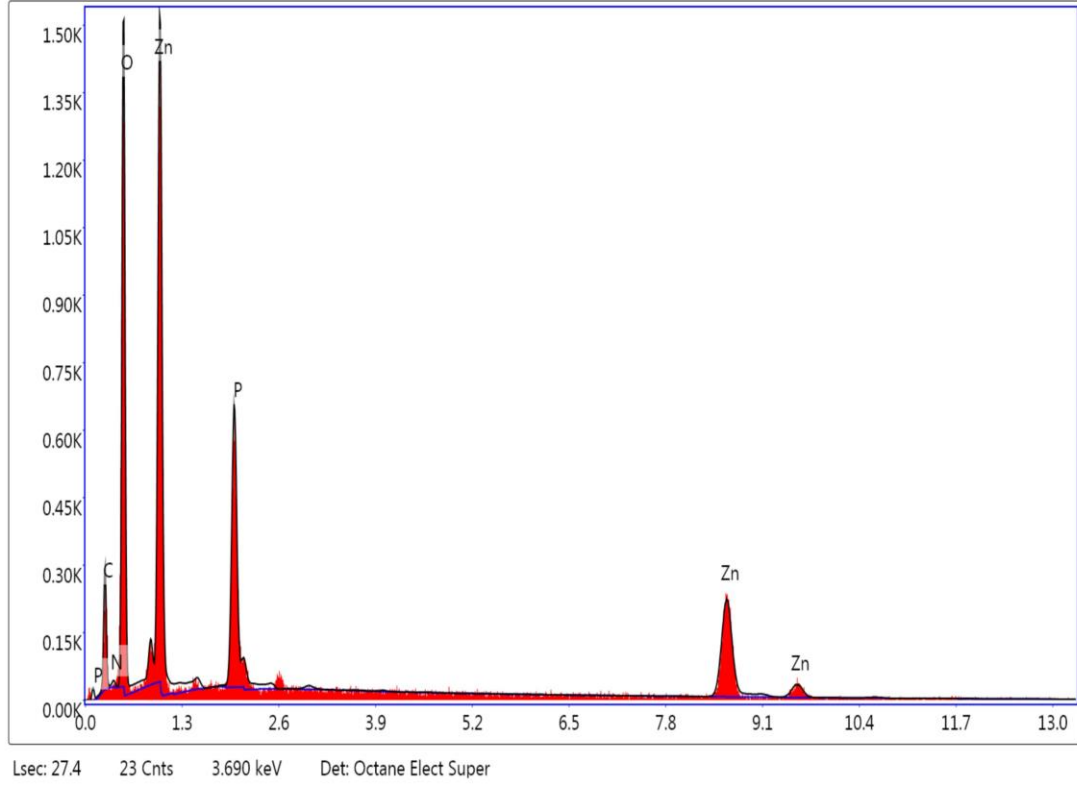
eZAF Smart Quant Results

Element	Weight %	Atomic %	Net Int.
C K	25.78	39.36	1063.14
N K	2.09	2.74	79.73
O K	38.77	44.44	3971.92
P K	9.4	5.56	3454.93
Cl K	2.68	1.39	958.11
Ca K	2.21	1.01	631.14
Cu K	19.07	5.5	1930.91

Şekil 4.5. *E. arvense* bitkisinin bakır (Cu^{2+}) hibrit nanoçiçek formuna ait EDX analiz sonuçları

E.A.'nin bakır hibrit nanoçiçek yapısında, Cu^{2+} 'ın ağırlık ve atomik yüzdelerinin ortalama %19,07 ve %5,50 oranlarında olduğu tespit edilmiştir.

Söz konusu çinko (Zn^{2+}) hibrit nanoçiçek yapılarının EDX analizlerinden elde edilen spektrumlar, nanoçiçek yapılarındaki çinko (Zn^{2+})'nun ağırlık ve atomik yüzdeleri ise Şekil 4.6 – 4.10 'da verilmiştir.

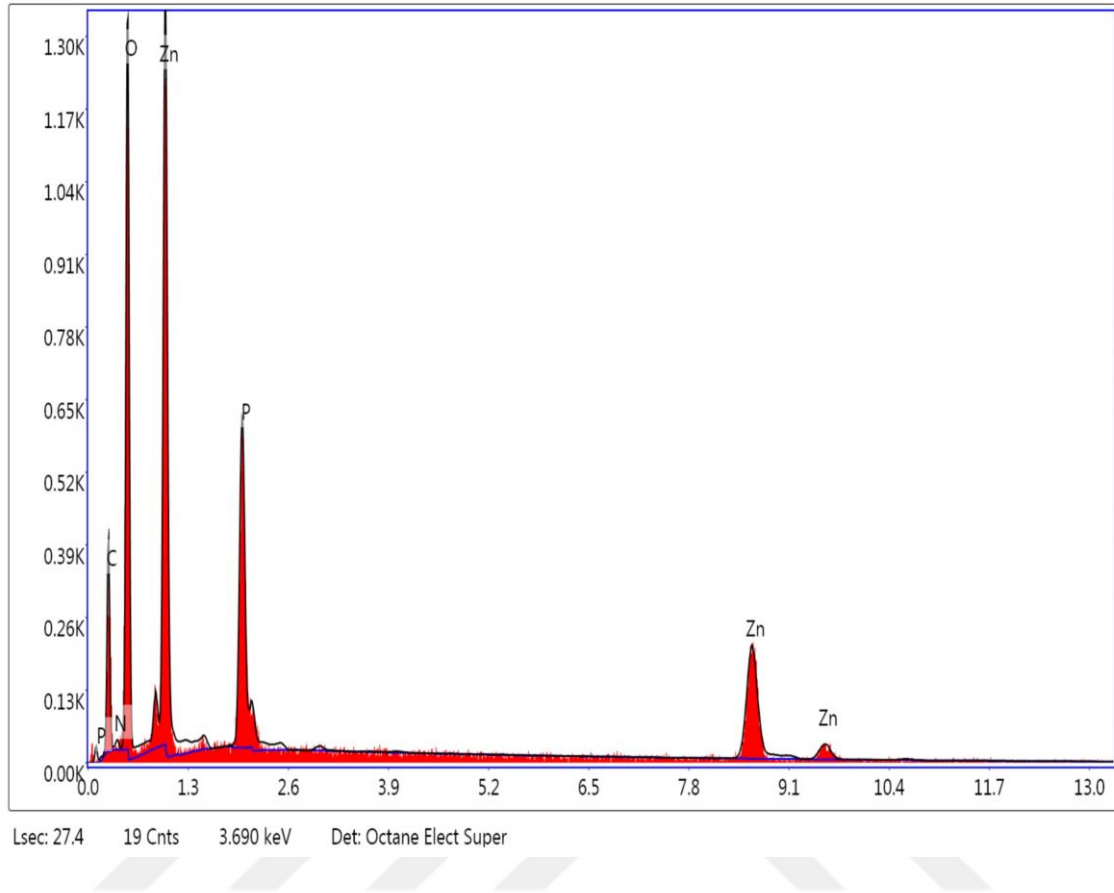


eZAF Smart Quant Results

Element	Weight %	Atomic %	Net Int.
C K	19.81	32.61	44.81
N K	1.32	1.86	3.6
O K	41.04	50.71	310.01
P K	10.09	6.44	209.07
ZnK	27.74	8.39	144.84

Şekil 4.6. *P. oleracea* bitkisinin çinko (Zn^{2+}) hibrit nanoçiçek formuna ait EDX analiz sonuçları

P.O.'nin çinko hibrit nanoçiçek yapısında, Zn^{2+} 'nin ağırlık ve atomik yüzdelerinin ortalama %27,74 ve %8,39 oranlarında olduğu tespit edilmiştir

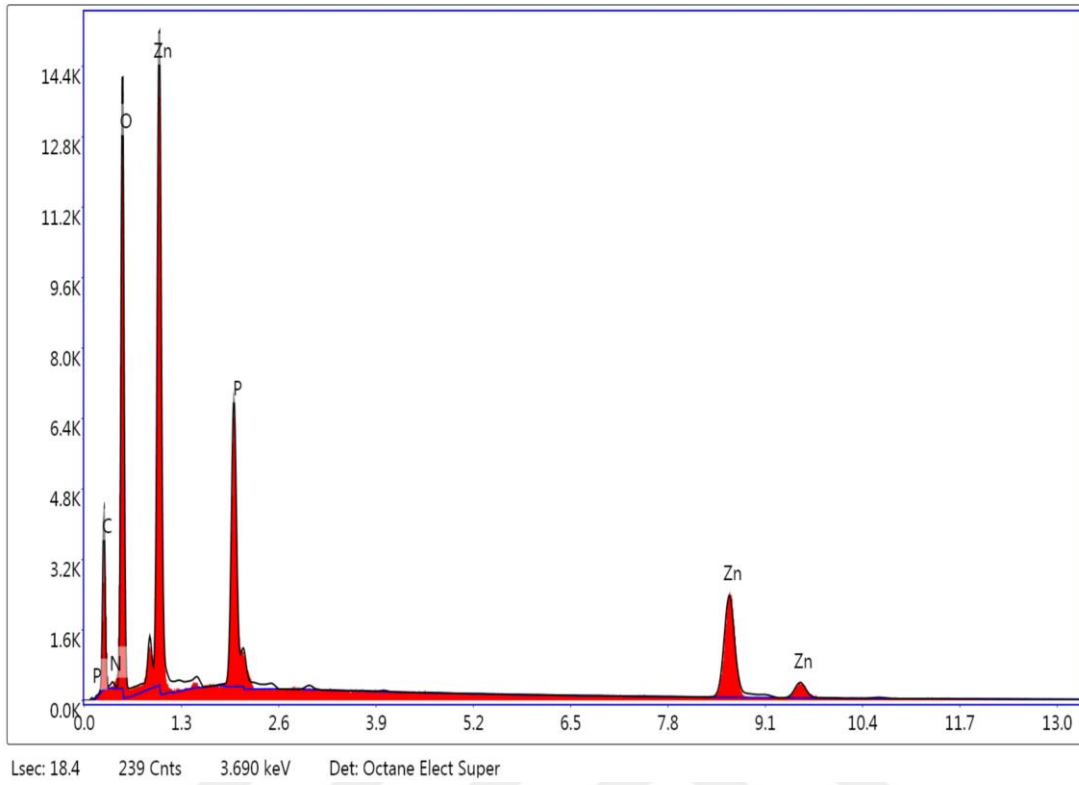


eZAF Smart Quant Results

Element	Weight %	Atomic %	Net Int.
C K	32.85	48.56	1586.38
N K	0.62	0.78	24.14
O K	36.2	40.17	4070.23
P K	7.45	4.27	2887.24
ZnK	22.88	6.21	2124.81

Şekil 4.7. *A. ceterach* bitkisinin çinko (Zn^{2+}) hibrit nanoçiçek formuna ait EDX analiz sonuçları

A.C.'nin çinko hibrit nanoçiçek yapısındaki Zn^{2+} 'nin ağırlık ve atomik yüzdelerinin ortalama %22,88 ve %6,21 oranlarında olduğu tespit edilmiştir.

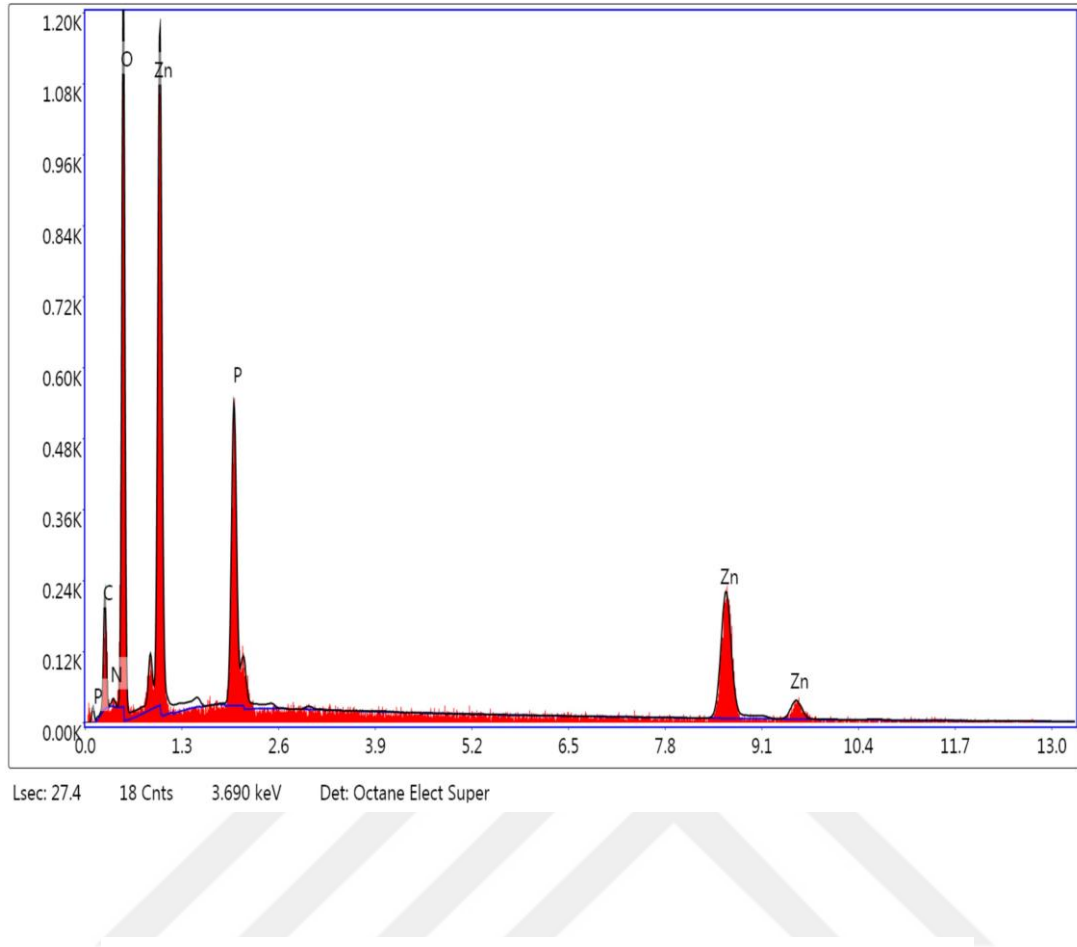


eZAF Smart Quant Results

Element	Weight %	Atomic %	Net Int.
C K	25.37	40.21	1007.49
N K	1.1	1.5	45.23
O K	37.64	44.8	4324.89
P K	9.4	5.78	3300.86
ZnK	26.48	7.71	2305.88

Şekil 4.8. *P. americana* bitkisinin çinko (Zn^{2+}) hibrit nanoçiçek formuna ait EDX analiz sonuçları

P.A.'nin çinko hibrit nanoçiçek yapısında, Zn^{2+} 'nin ağırlık ve atomik yüzdelerinin ortalama %26,48 ve %7,71 oranlarında olduğu tespit edilmiştir.

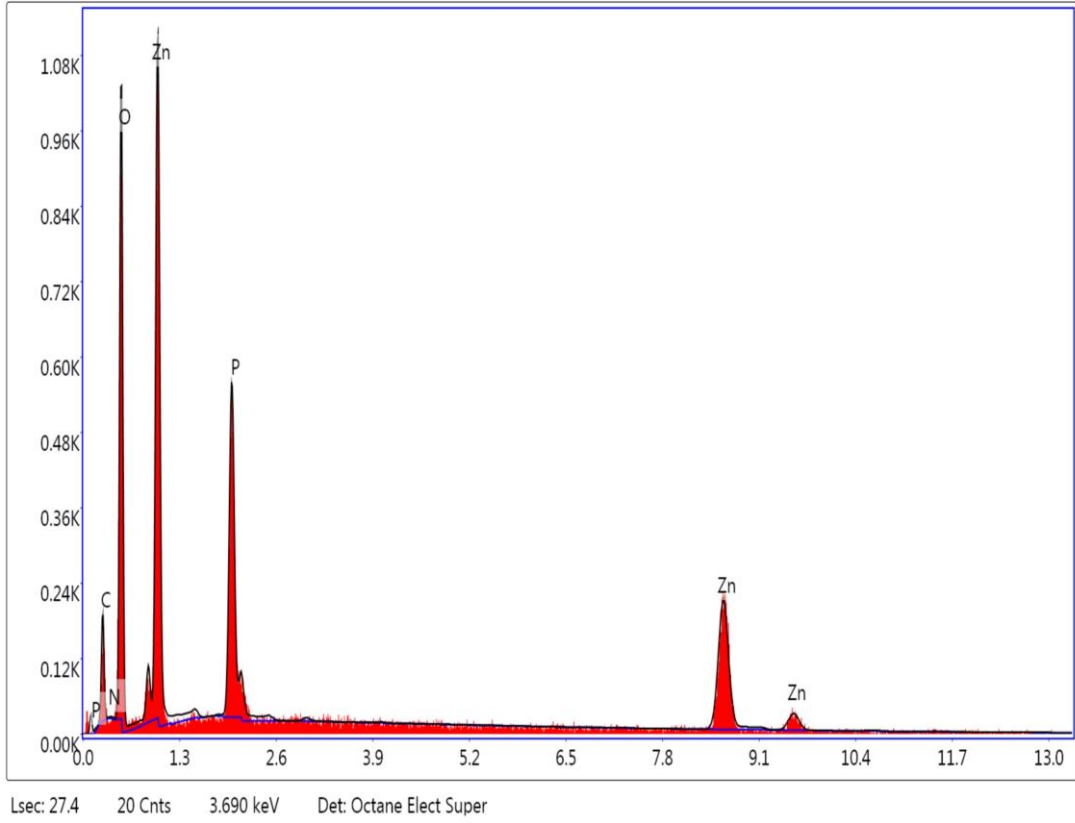


eZAF Smart Quant Results

Element	Weight %	Atomic %	Net Int.
C K	17.87	30.93	32.13
N K	1.43	2.13	3.34
O K	38.41	49.91	244.46
P K	10.15	6.81	169.92
Zn K	32.14	10.22	139.82

Şekil 4.9. *M. sylvestris* bitkisinin çinko (Zn^{2+}) hibrit nanoçiçek formuna ait EDX analiz sonuçları

M.S.'nin çinko hibrit nanoçiçek yapısında, Zn^{2+} 'nin ağırlık ve atomik yüzdelerinin ortalama %32,14 ve %10,22 oranlarında olduğu tespit edilmiştir.



eZAF Smart Quant Results

Element	Weight %	Atomic %	Net Int.
C K	18.21	32.31	28.4
N K	0.61	0.94	1.26
O K	35.85	47.76	205.9
P K	11.64	8.01	177.57
ZnK	33.69	10.99	134.52

Şekil 4.10. *E. arvense* bitkisinin çinko (Zn^{2+}) hibrit nanoçiçek formuna ait EDX analiz sonuçları

E.A.'nin çinko hibrit nanoçiçek yapısında, Zn^{2+} 'nin ağırlık ve atomik yüzdelerinin ortalama %33,69 ve %10,99 oranlarında olduğu tespit edilmiştir.

4.2.3. Nanoecek Yapıların XRD Analizi

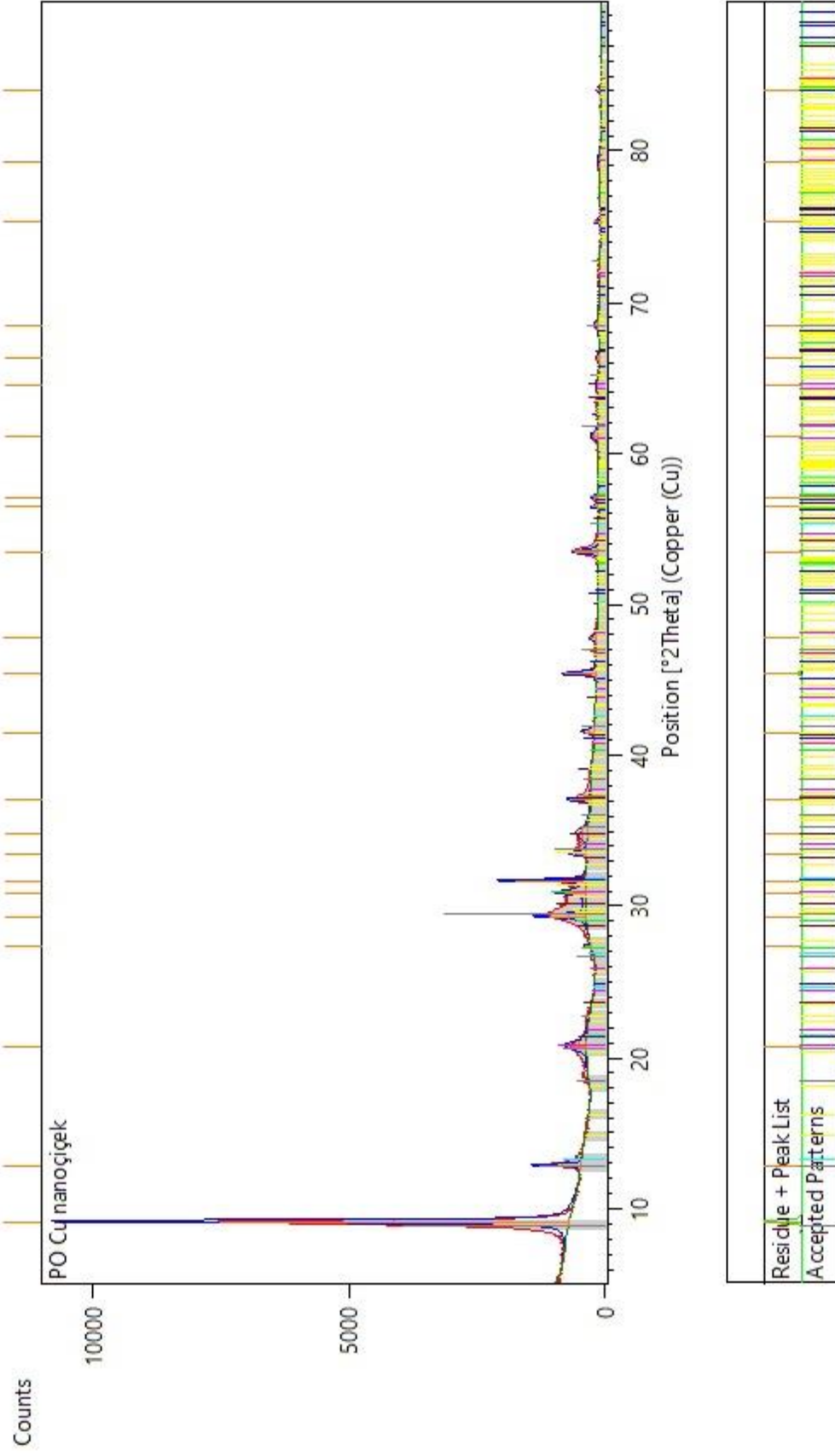
Sentezlenen bakır (Cu^{2+}) ve inko (Zn^{2+}) hibrit nanoecek formlarının kristal yapılarının aydınlatıldığı XRD spektrumları Şekil 4.11 – 4.19 'larda verilmektedir. Bu sonuçlara göre, elde edilen X- ışını kırınım spektrumlarındaki kırılma tepe noktaları izlenmiş olup; analizler sonucunda nanoecek formlarının kristal bir yapıya sahip olduğu görölmektedir. Elde edilen XRD sonuçlarından hareketle, sentezlenen hibrit nanoecek formlarının;

- Bitki ekstresi- $\text{Cu}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ (JCPDS card no. 22-0548)
- Bitki ekstresi- $\text{Zn}_3(\text{PO}_4)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (JCPDS card no. 33-1474)

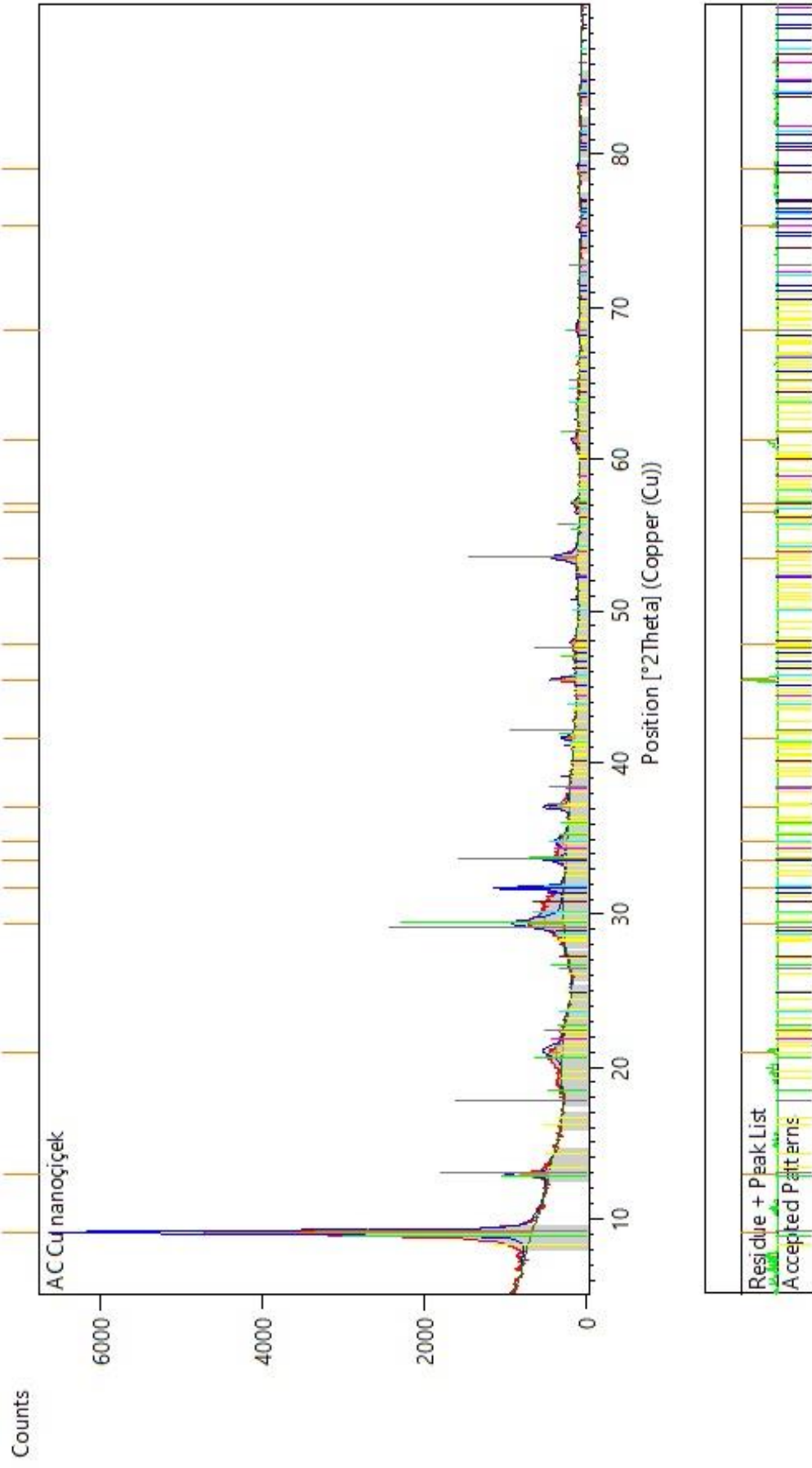
yapılarına sahip olduğu ve belirtilen JCPDS standartlarıyla uyumlu olduğu görölmüştür.

Oluşan bakır (Cu^{2+}) hibrit nanoecek formlarına ait XRD spektrumları Şekil 4.11 – 4.15'de yer almaktadır.

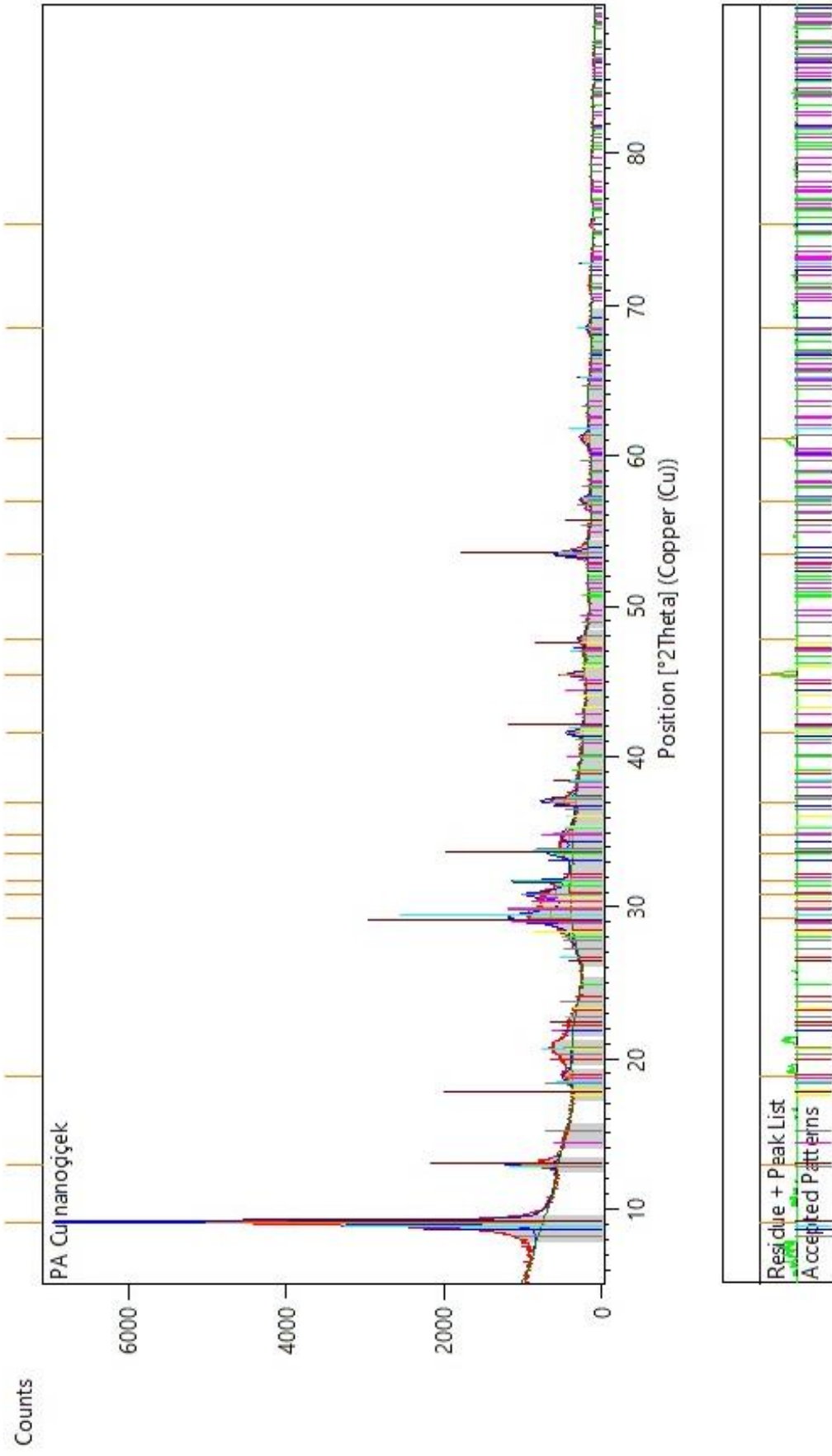
Oluşan inko (Zn^{2+}) hibrit nanoecek formlarına ait XRD spektrumları ise Şekil 4.16 – 4.20'de yer almaktadır.



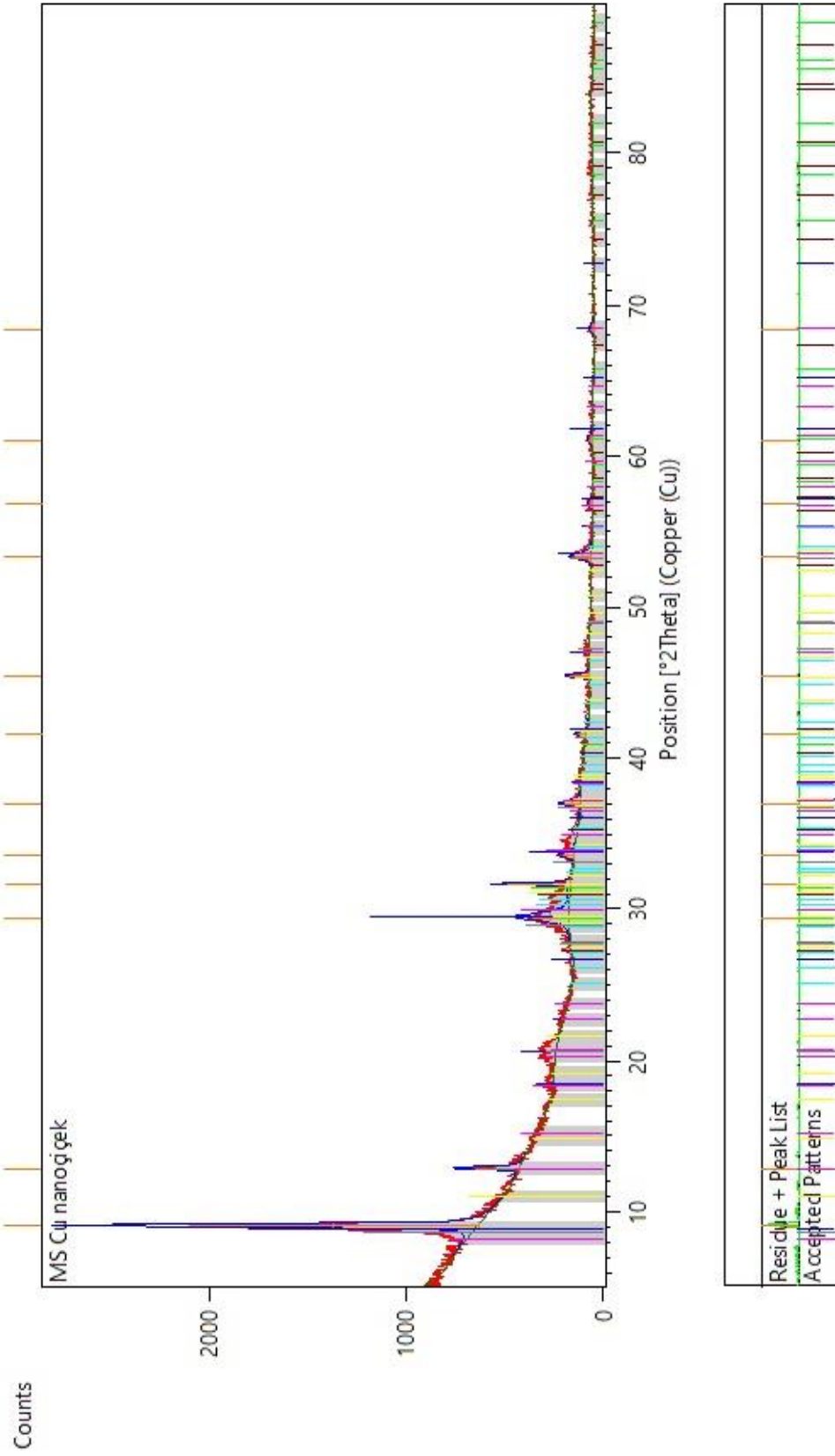
Şekil 4.1.1. *P. oleracea* bitkisinin bakır (Cu^{2+}) hibrit nanoççek formuna ait XRD spektrumu



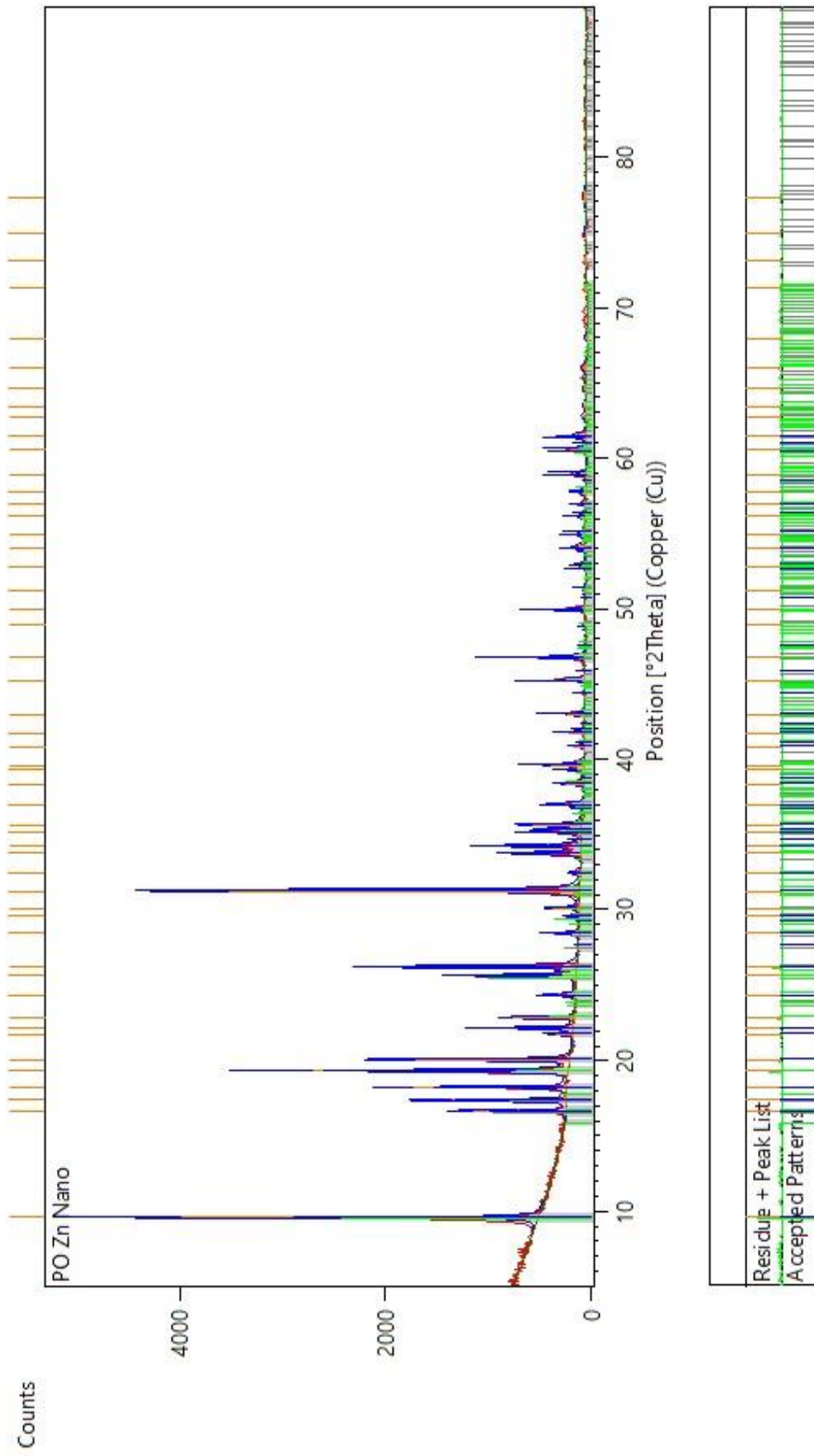
Şekil 4.12. A. ceterach bitkisinin bakır (Cu^{2+}) hibrit nanoçiçek formuna ait XRD spektrumu



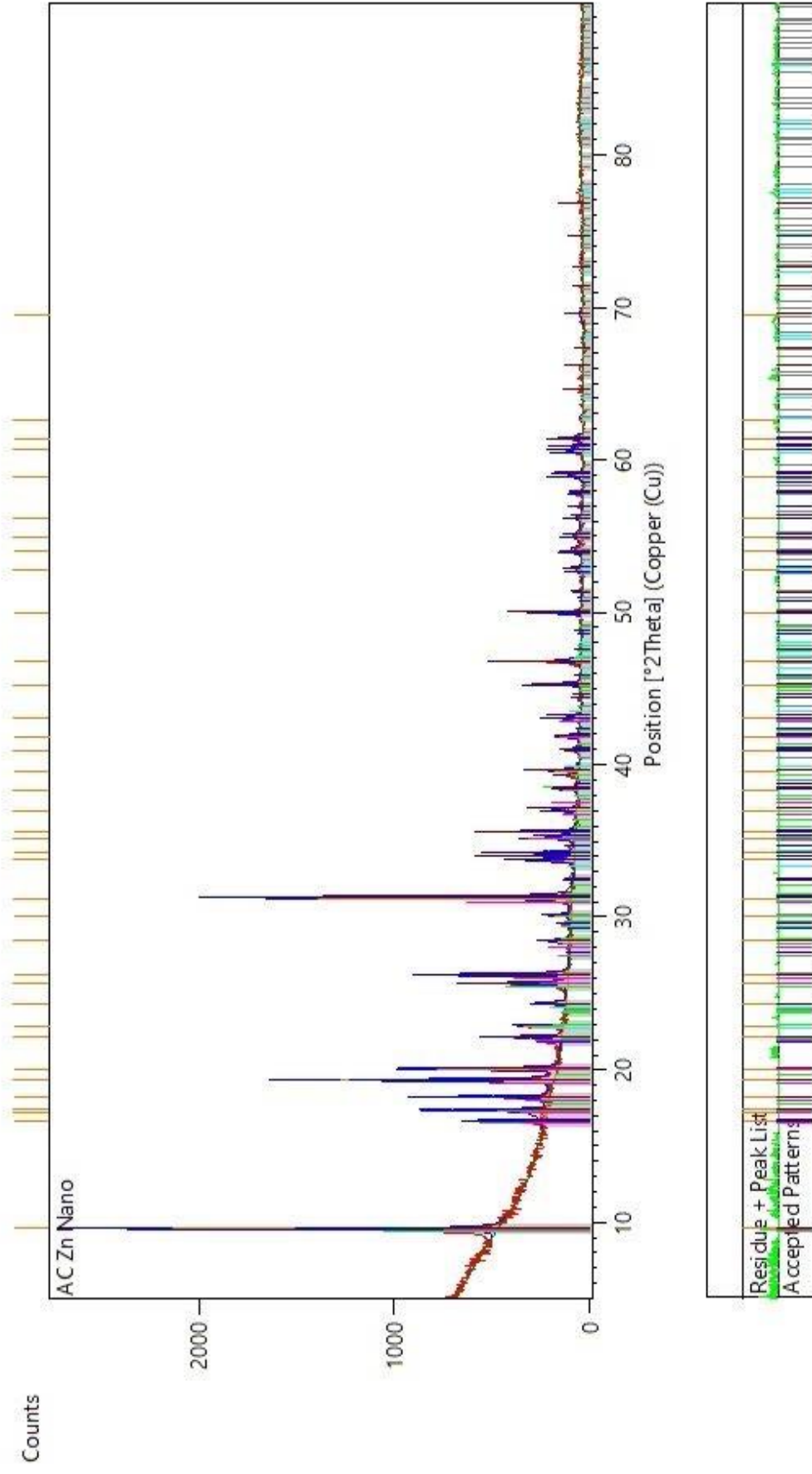
Şekil 4.13. *P. americana* bitkisinin bakır (Cu^{2+} hibrit nanoççek formuna ait XRD spektrumu



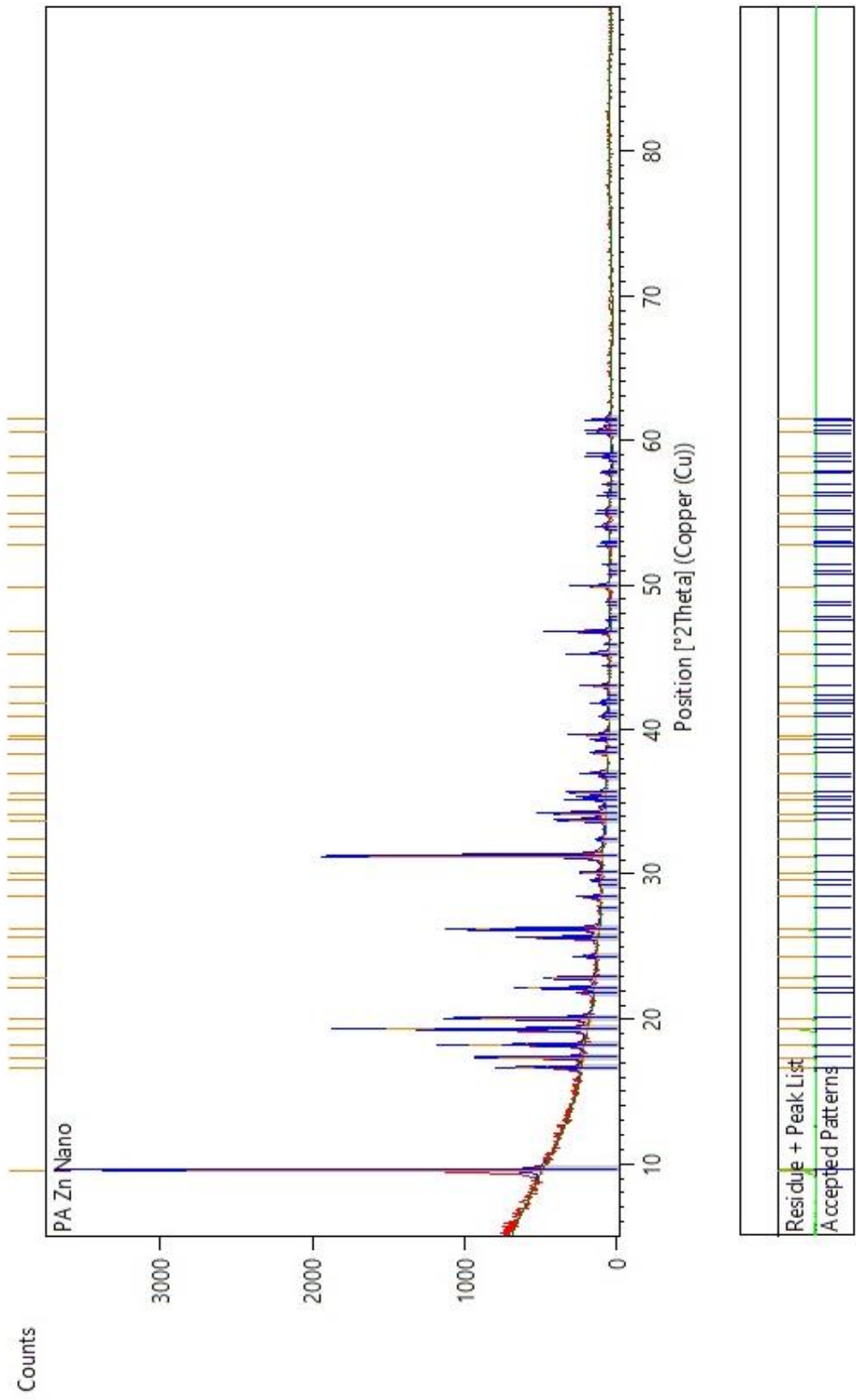
Şekil 4.14. *M. sylvestris* bitkisinin bakır (Cu^{2+}) hibrit nanoççek formuna ait XRD spektrumu



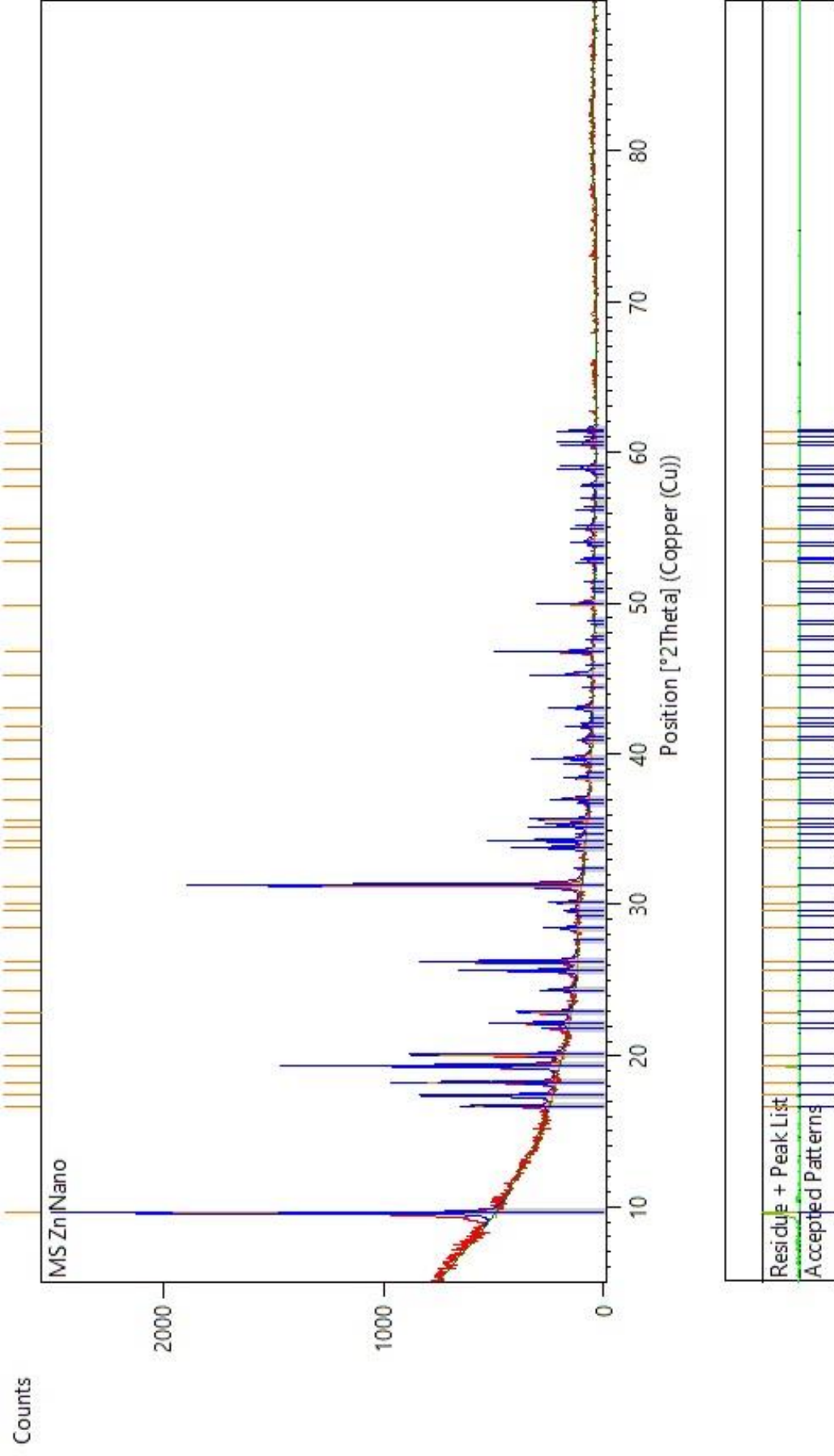
Şekil 4.16. *P. oleracea* bitkisinin çinko (Zn^{2+}) hibrit nanoçiçek formuna ait XRD spektrumu



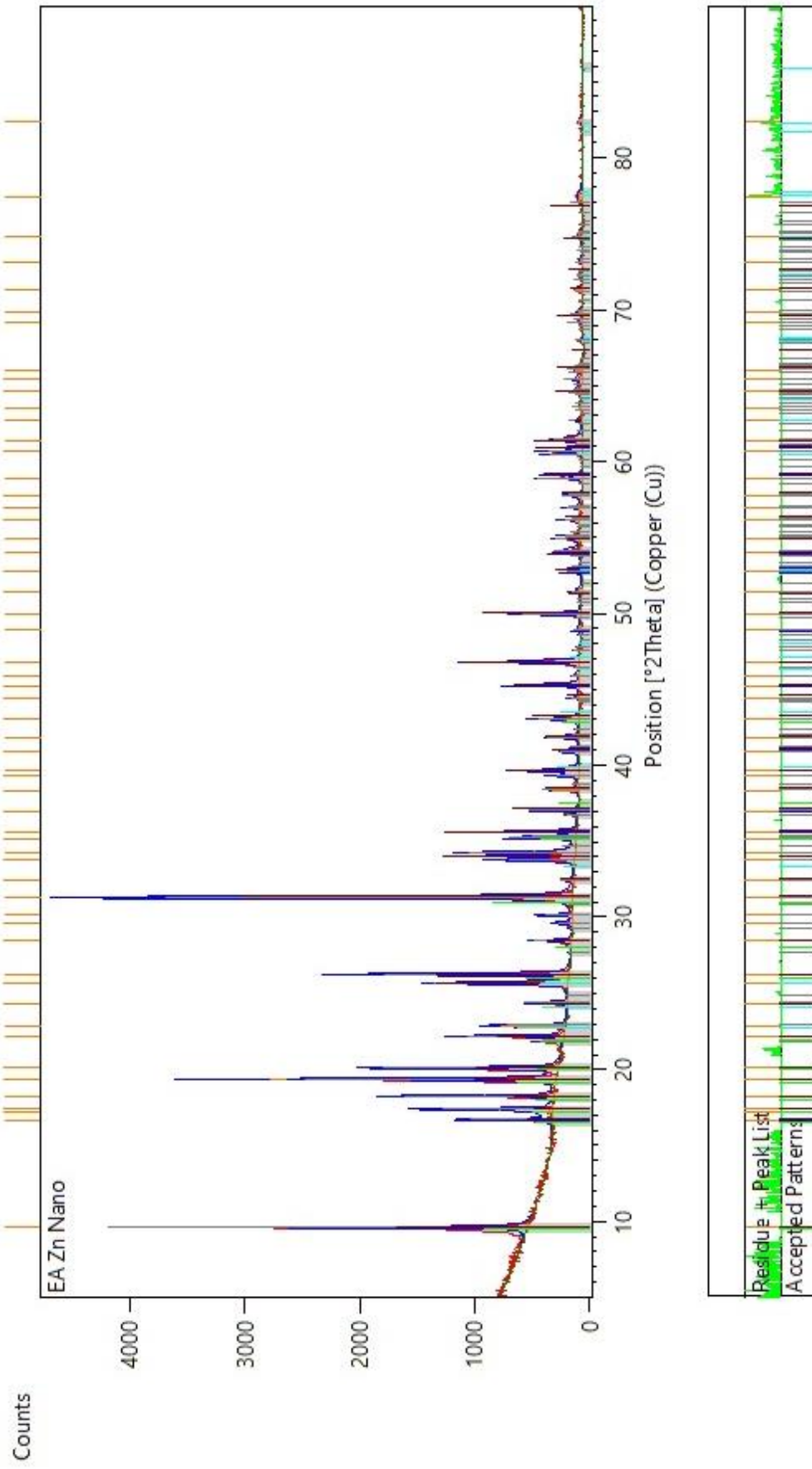
Şekil 4.17. A. ceterach bitkisinin çinko (Zn^{2+}) hibrit nanoççek formuna ait XRD spektrumu



Şekil 4.18. *P. americana* bitkisinin çinko (Zn^{2+}) hibrit nanoçitek formuna ait XRD spektrumu



Şekil 4.19. *M. sylvestris* bitkisinin çinko (Zn^{2+}) hibrit nanoççek formuna ait XRD spektrumu



Şekil 4.20. *E. arvense* bitkisinin çinko (Zn^{2+}) hibrit nanoççek formuna ait XRD spektrumu

4.2.4. Nanoçiçek Yapıların FT-IR Analizi

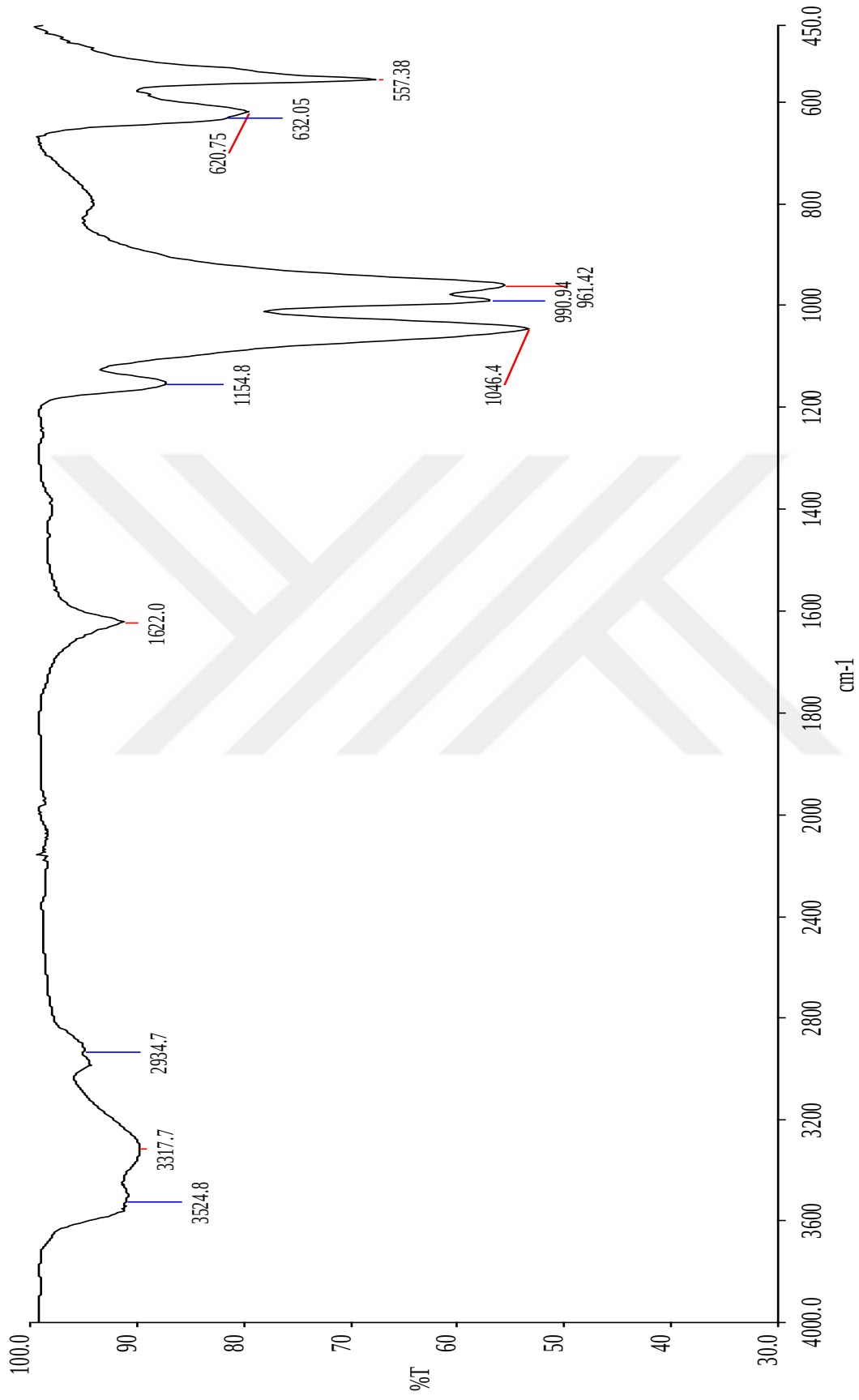
Tez çalışmamız kapsamında sentezlenen bakır (Cu^{2+}) ve çinko (Zn^{2+}) hibrit nanoçiçek yapılarından elde edilen FT-IR spektrumları Şekil 4.21. – 4.30. 'lerde verilmektedir. Elde edilen bu spektrumlardan hareketle, hazırlanan MeOH bitki ekstraktlarının organik kısım olarak söz konusu hibrit nanoçiçek formlarına başarıyla dahil edildiği anlaşılmıştır. Sentezlenen tüm bakır (Cu^{2+}) ve çinko (Zn^{2+}) hibrit nanoçiçek yapılarının FT-IR spektrumlarına bakıldığında, fosfat grubunun ve proteinlerin (bitki ekstresi kaynaklı) sahip olduğu karakteristik bantlar gözlemlenmiştir.

Bakır (Cu^{2+}) hibrit nanoçiçek yapılarının ihtiva ettiği metal-fosfat kristalleri FT-IR spektrumları ile teşhis edilmiştir. Spektrumlarda görülen $\sim 557 \text{ cm}^{-1}$ ve $\sim 620 \text{ cm}^{-1}$ 'deki bantlar, O=P=O 'e ait karakteristik bükülme titreşimlerini işaret etmektedir. P=O ve P-O gruplarına ait gerilme bantları ise ~ 1046 ve $\sim 988 \text{ cm}^{-1}$ 'de tespit edilmiştir. Görülen bu karakteristik titreşim bantları sayesinde, sentezlenen hibrit nanoçiçek yapılarındaki metal-fosfat kristallerinin varlığı ispatlanmıştır.

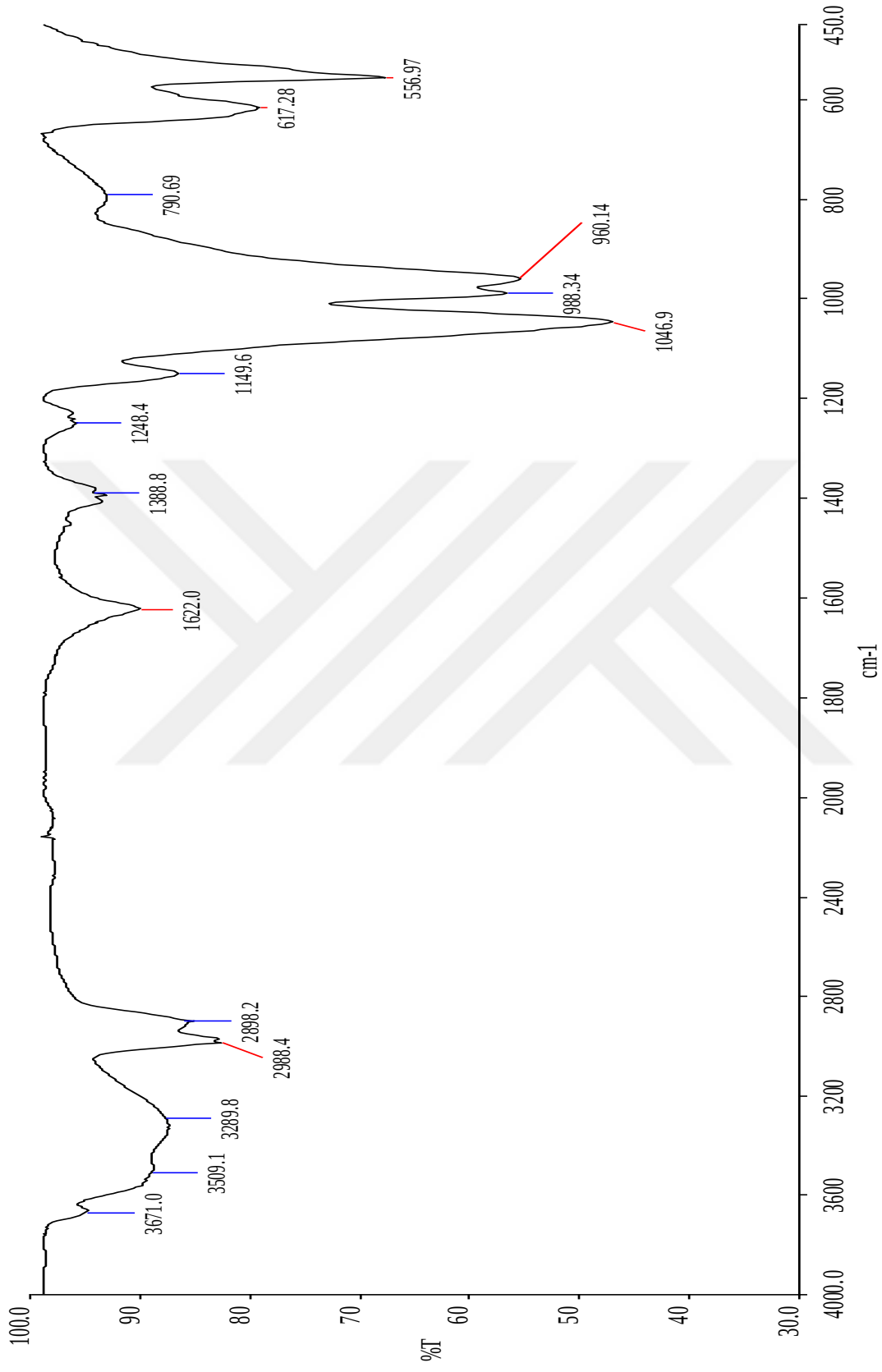
Ayrıca, C=O gerilme titreşimi, N-H bükülme titreşimi ve C-N arasındaki gerilme titreşim (amit I ve II bantları) bantları ~ 1154 ve $\sim 1622 \text{ cm}^{-1}$ 'de gözlemlenmiştir. Bu karakteristik bantlar sayesinde, sentezlenen hibrit nanoçiçek yapısındaki protein (organik kısım – bitki ekstresi) bölümünün varlığı da kanıtlanmıştır.

Tespit edilen tüm bu karakteristik bantlar, oluşturulmak istenilen bakır (Cu^{2+}) hibrit nanoçiçek yapılarının başarıyla sentezlendiğini göstermektedir.

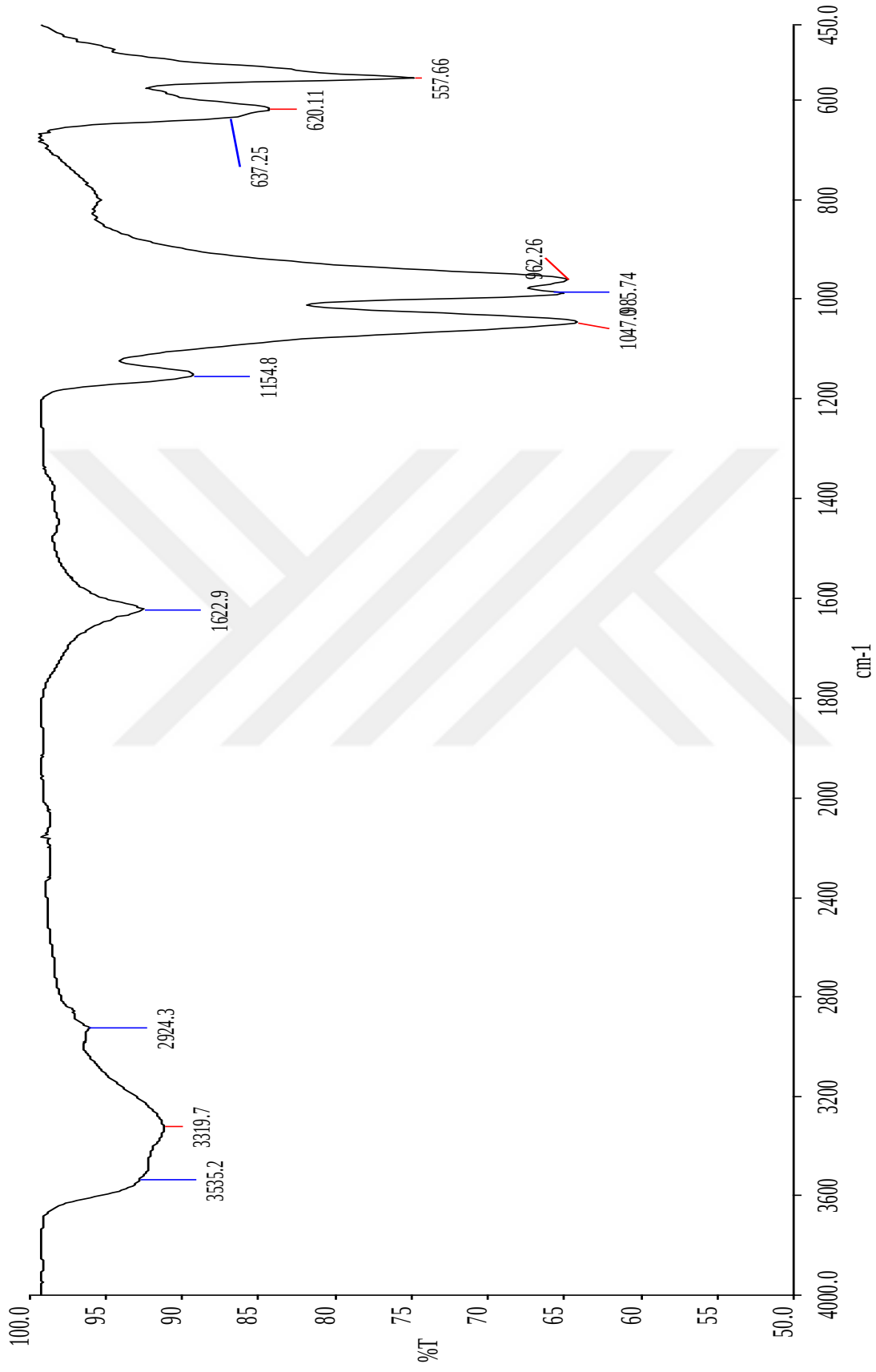
Sentezlenmiş olan bakır (Cu^{2+}) hibrit nanoçiçek formlarından elde edilen FT-IR spektrumları Şekil 4.21. – 4.25.'de yer almaktadır.



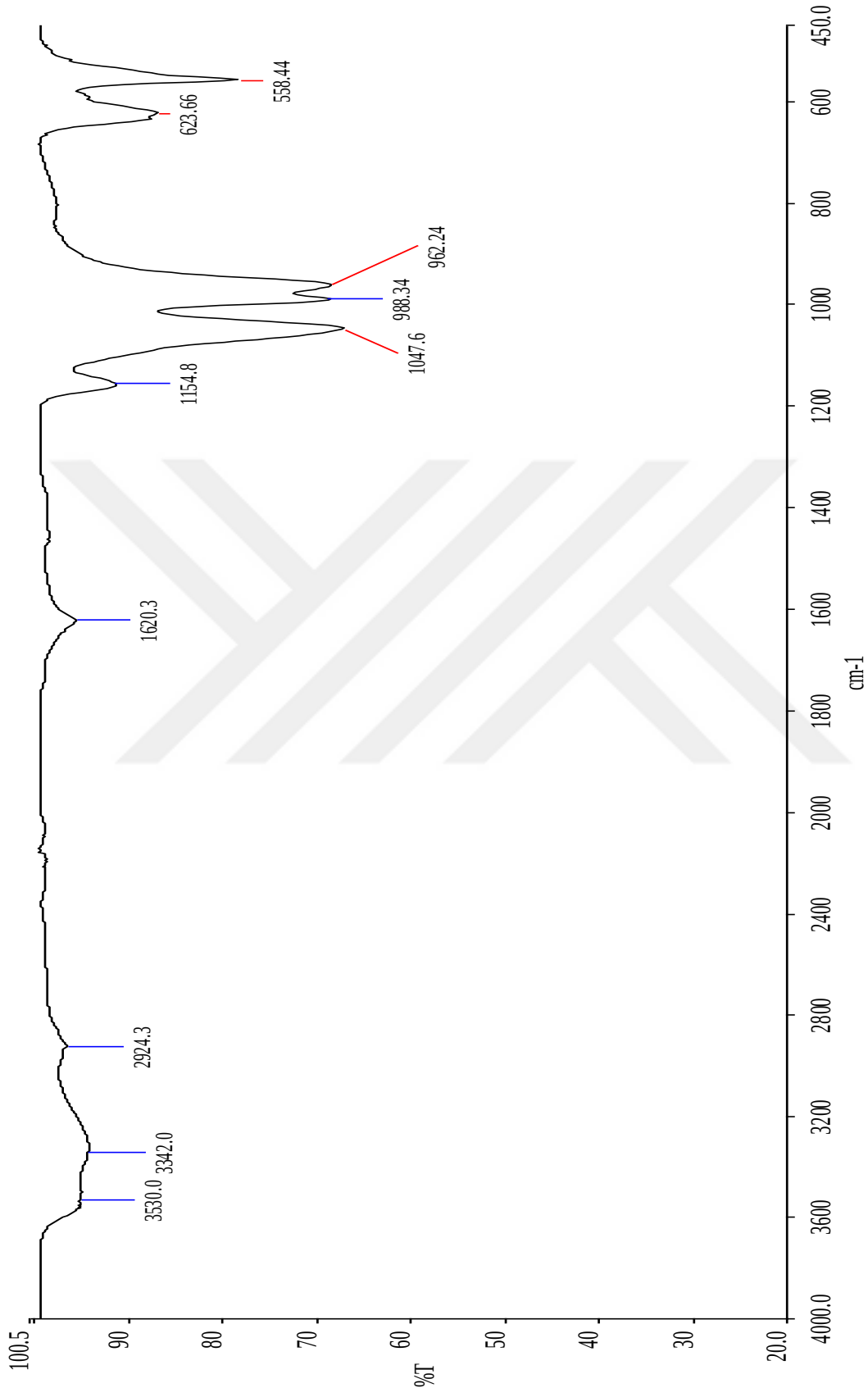
Şekil 4.21. *P. oleracea* bitkisinin bakır (Cu^{2+}) hibrit nanoççek formuna ait FT-IR spektrumu



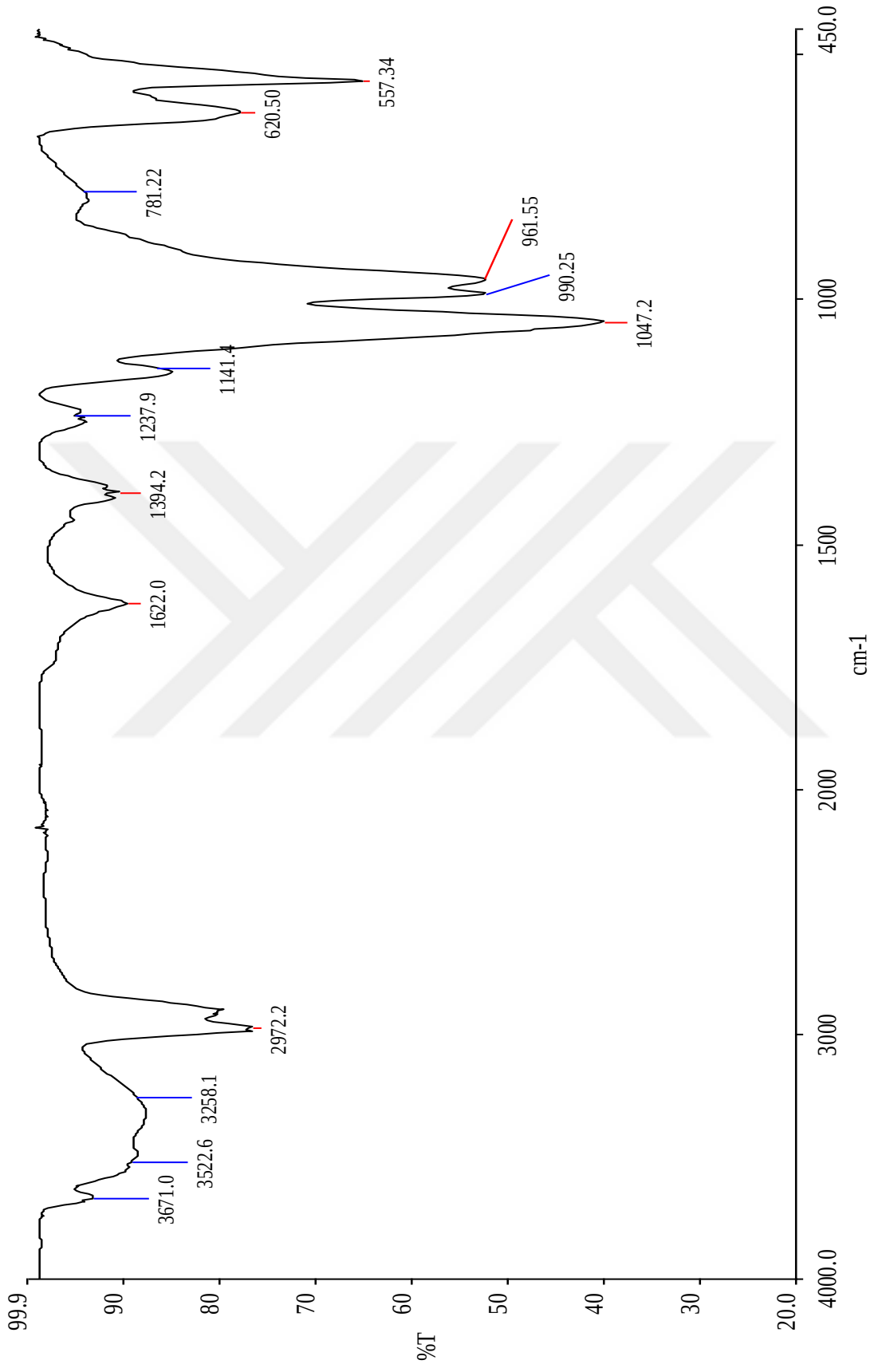
Şekil 4.22. *A. ceterach* bitkisinin bakır (Cu^{2+}) hibrit nanoçiçek formuna ait FT-IR spektrumu



Şekil 4.23. *P. americana* bitkisinin bakır (Cu^{2+}) hibrit nanoççek formuna ait FT-IR spektrumu



Şekil 4.24. *M. sylvestris* bitkisinin bakır (Cu²⁺) hibrit nanoçipek formuna ait FT-IR spektrumu



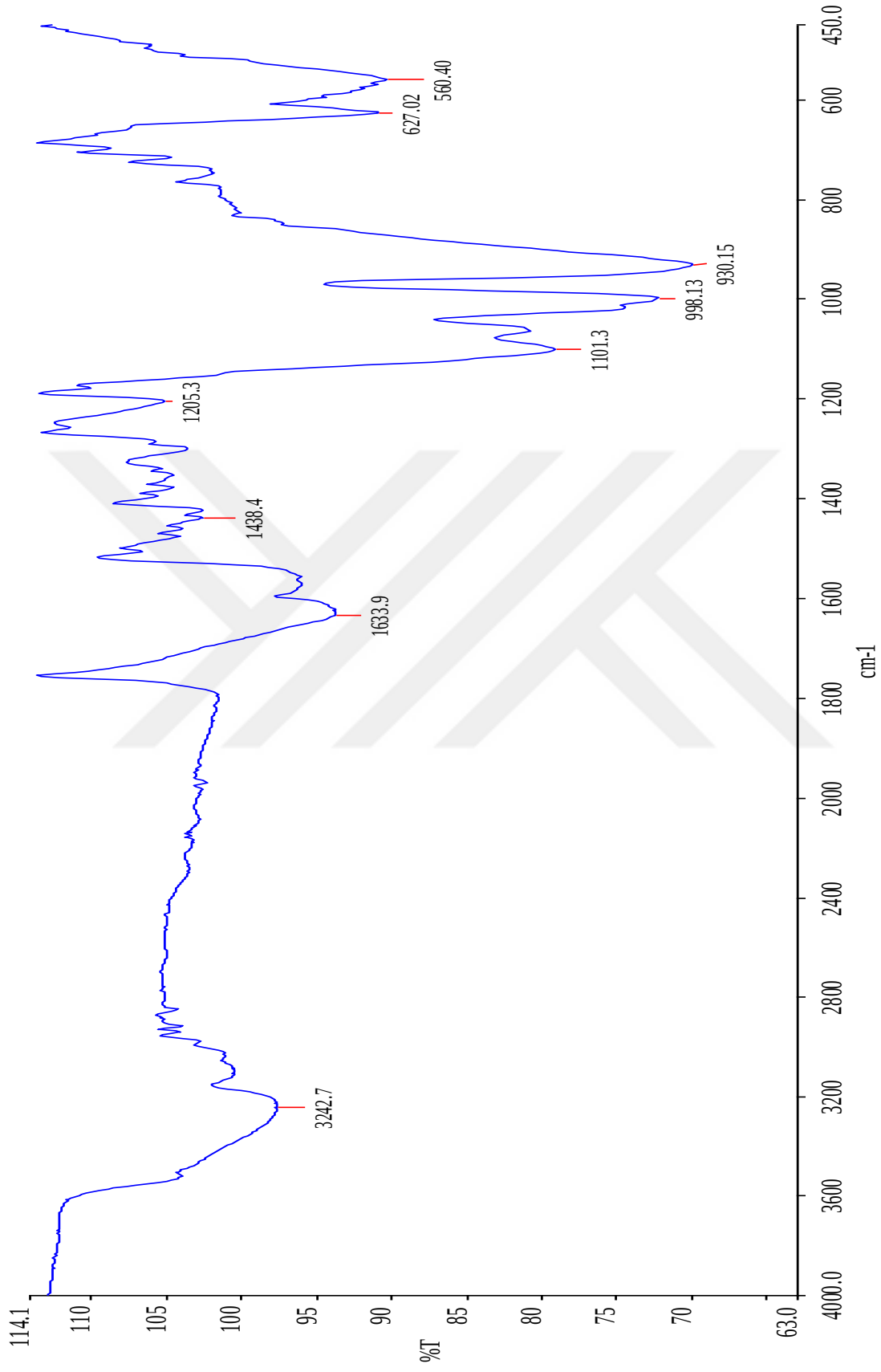
Şekil 4.25. *E. arvense* bitkisinin bakır (Cu²⁺) hibrit nanoçiçek formuna ait FT-IR spektrumu

Sentezlenmiş olan çinko (Zn^{2+}) hibrit nanoçiçek formlarından elde edilen FT-IR spektrumları ise Şekil 4.26 – 4.30’ da yer almaktadır.

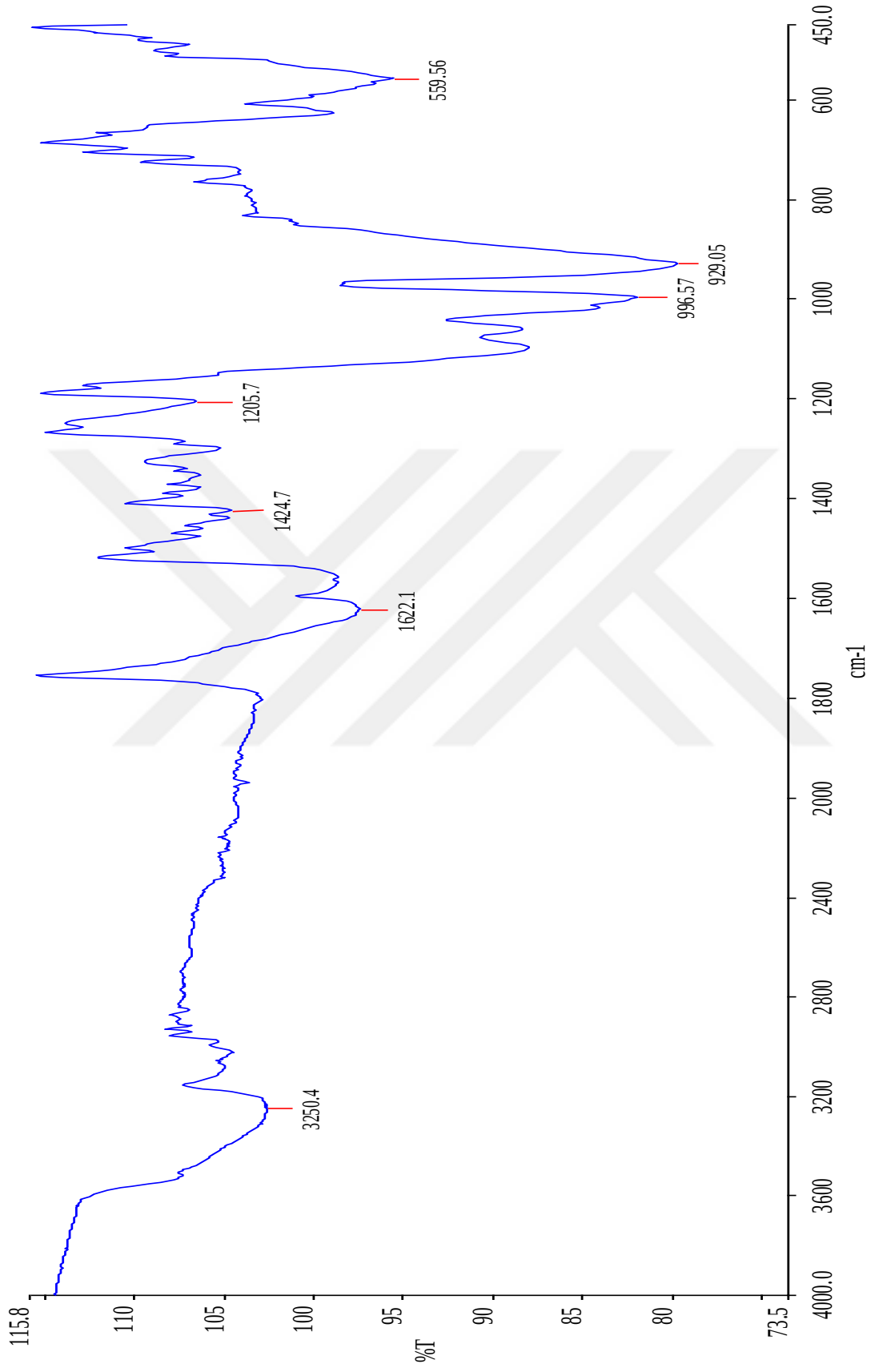
Çinko (Zn^{2+}) hibrit nanoçiçek yapılarının ihtiva ettiği metal-fosfat kristalleri FT-IR spektrumları ile teşhis edilmiştir. Spektrumlarda görülen $\sim 559\text{ cm}^{-1}$ ve $\sim 627\text{ cm}^{-1}$ ‘deki bantlar, $O=P=O$ ’e ait karakteristik bükülme titreşimlerini işaret etmektedir. $P=O$ ve $P-O$ gruplarına ait gerilme bantları ise ~ 1100 ve $\sim 998\text{ cm}^{-1}$ ‘de tespit edilmiştir. Görülen bu karakteristik titreşim bantları sayesinde, sentezlenen hibrit nanoçiçek yapılarındaki metal-fosfat kristallerinin varlığı ispatlanmıştır.

Ayrıca, $C=O$ gerilme titreşimi, $N-H$ bükülme titreşimi ve $C-N$ arasındaki gerilme titreşim (amit I ve II bantları) bantları ~ 1557 ve $\sim 1630\text{ cm}^{-1}$ ‘de gözlemlenmiştir. Bu karakteristik bantlar sayesinde, sentezlenen hibrit nanoçiçek yapısındaki protein (organik kısım – bitki ekstresi) bölümünün varlığı da kanıtlanmıştır.

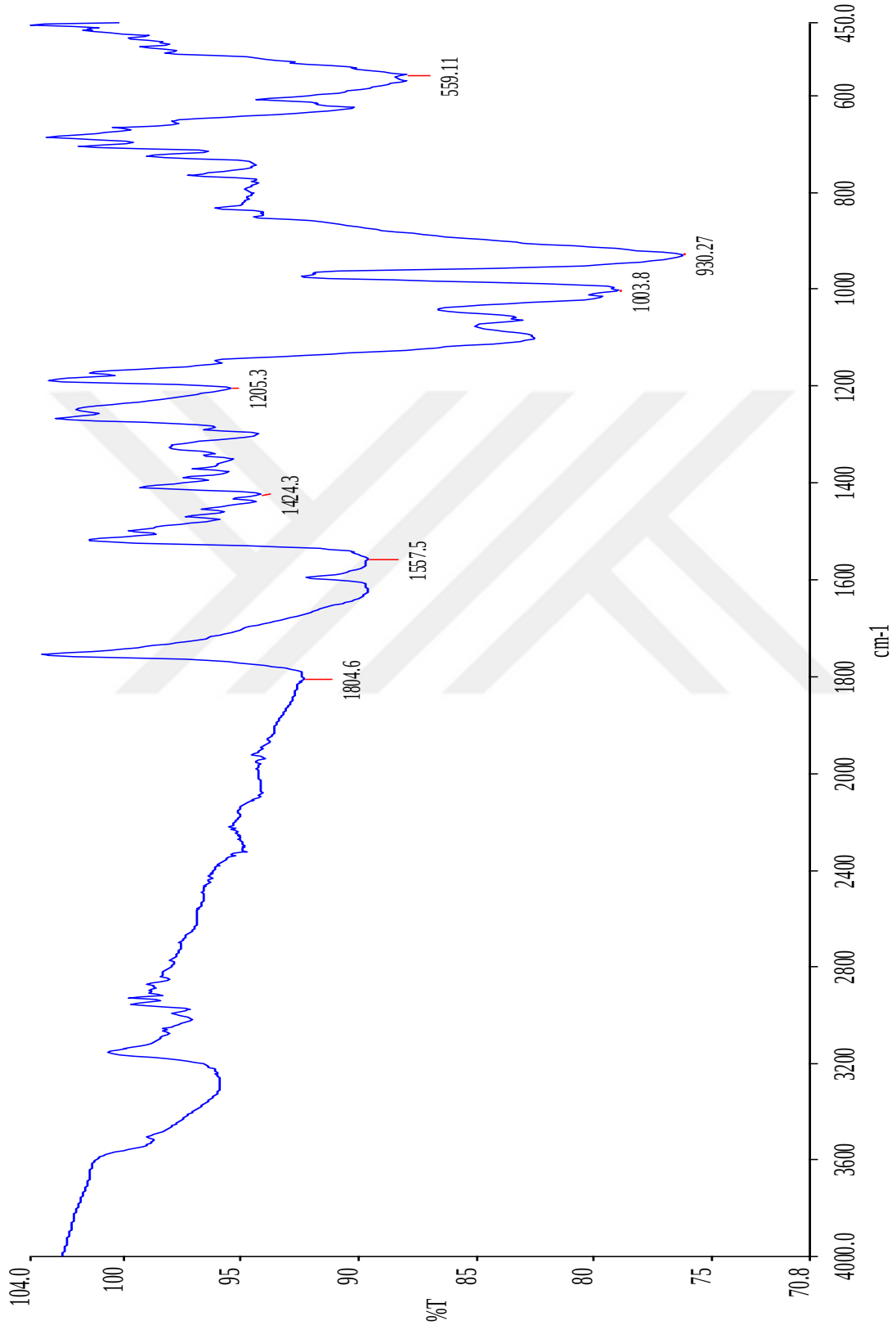
Tespit edilen tüm bu karakteristik bantlar, oluşturulmak istenilen bakır (Cu^{2+}) hibrit nanoçiçek yapılarının başarıyla sentezlendiğini göstermektedir.



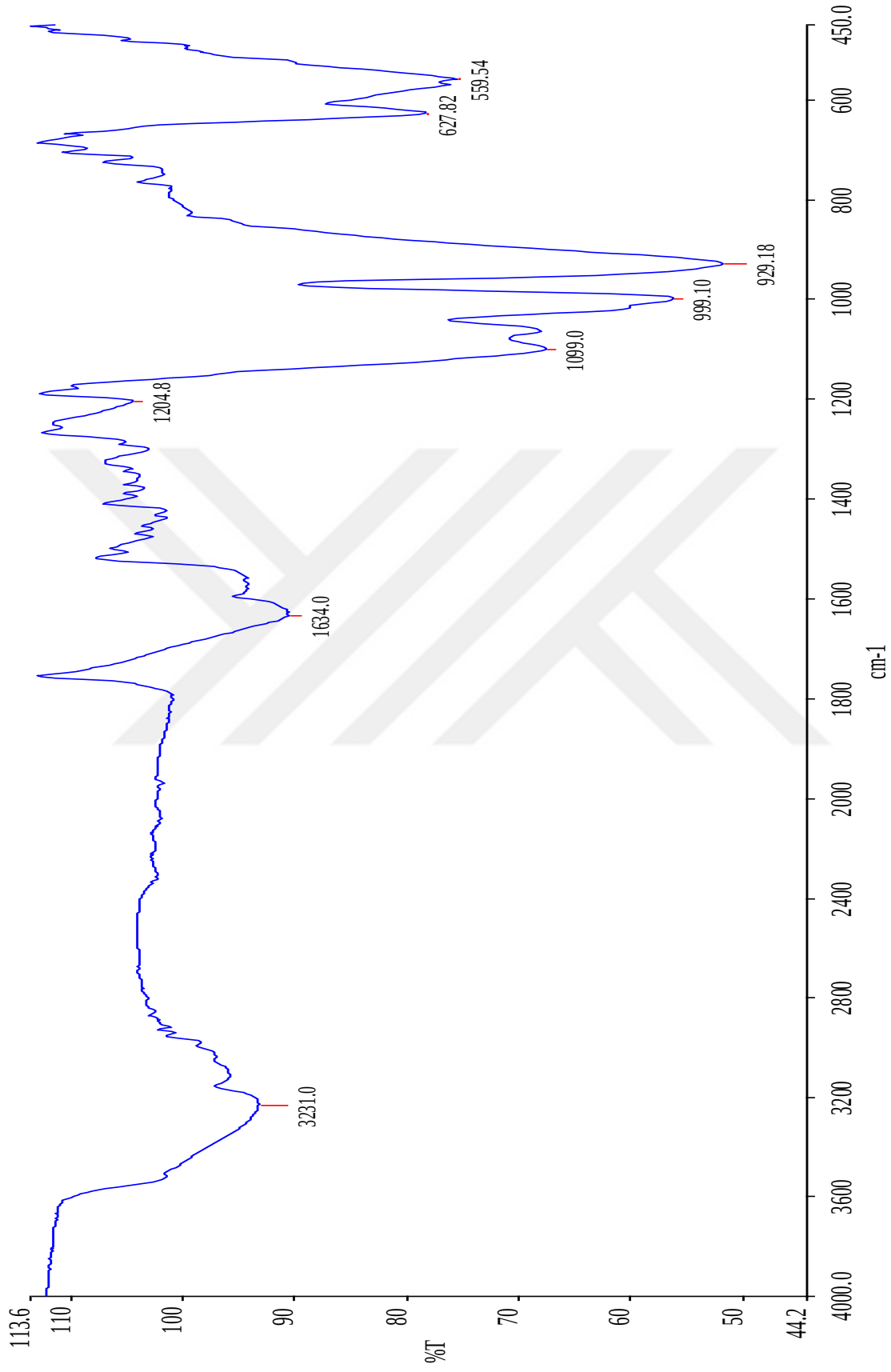
Şekil 4.26. *P. oleracea* bitkisinin çinko (Zn^{2+}) hibrit nanoççek formuna ait FT-IR spektrumu



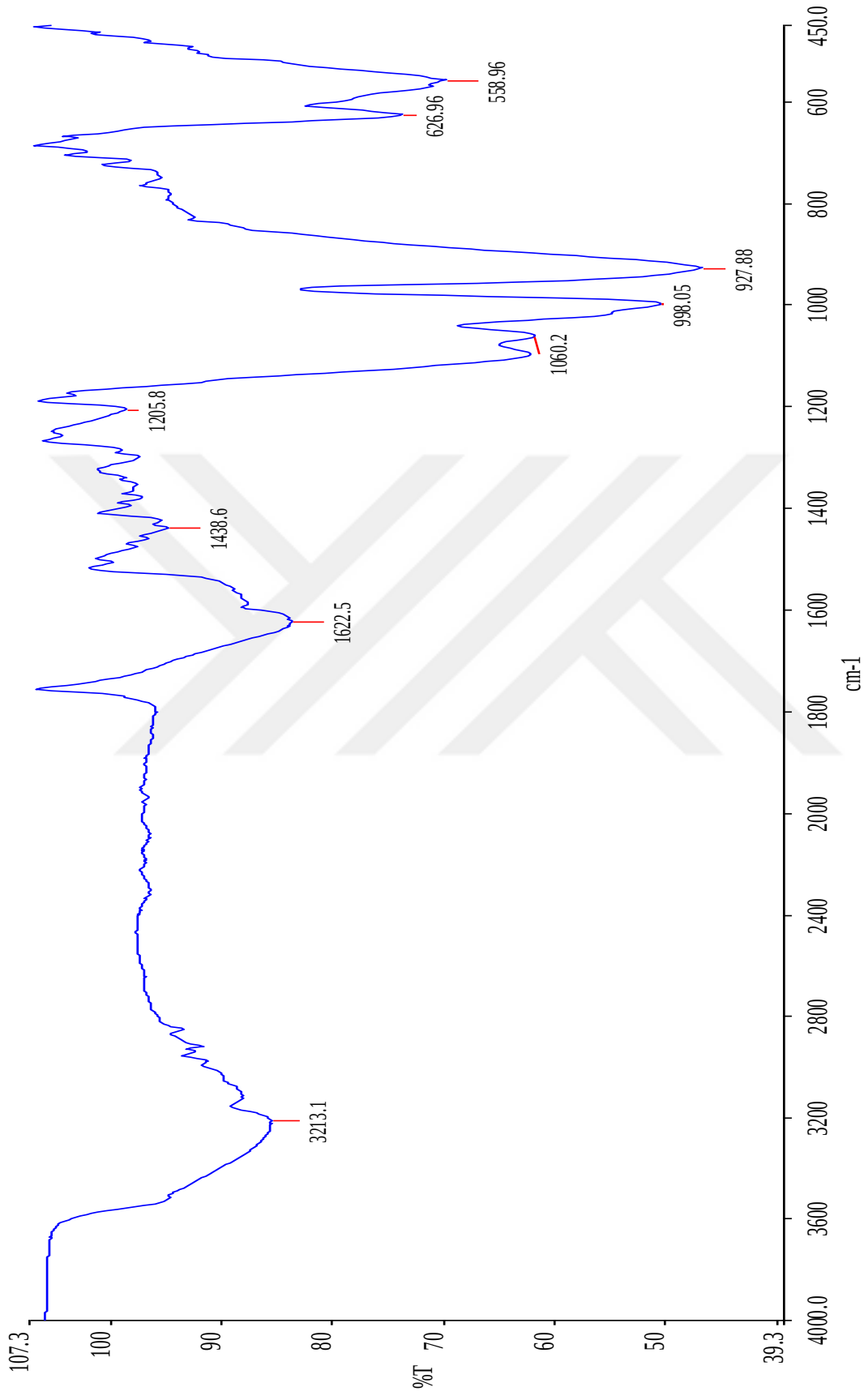
Şekil 4.27. *A. ceterach* bitkisinin çinko (Zn^{2+}) hibrit nanoççek formuna ait FT-IR spektrumu



Şekil 4.28. *P. americana* bitkisinin çinko (Zn^{2+}) hibrit nanoççek formuna ait FT-IR spektrumu



Şekil 4.29. *M. sylvestris* bitkisinin çinko (Zn^{2+}) hibrit nanoçiçek formuna ait FT-IR spektrumu



Şekil 4.30. *E. arvense* bitkisinin çinko (Zn^{2+}) hibrit nanoçiçek formuna ait FT-IR spektrumu

4.3. *In Vitro* Enzim İnhibisyonu Tayinine Ait Bulgular

Bu bölümde, tez çalışmaları kapsamında hazırlanan metanollü bitki eksteleri ve bu ekstrelerden hareketle sentezlenmiş olan bakır (Cu^{2+}) veya çinko (Zn^{2+}) hibrit organik-inorganik nanoçiçek yapılarının, *in vitro* koşullarda gerçekleştirilen hyaluronidaz ve jelatinaz enzimleri üzerindeki inhibisyon aktivitelerine dair elde edilen hesaplamalar ve sonuçlar verilmiştir.

4.3.1. *In vitro* Hyaluronidaz Enzim İnhibisyonu Tayinlerine Ait Bulgular

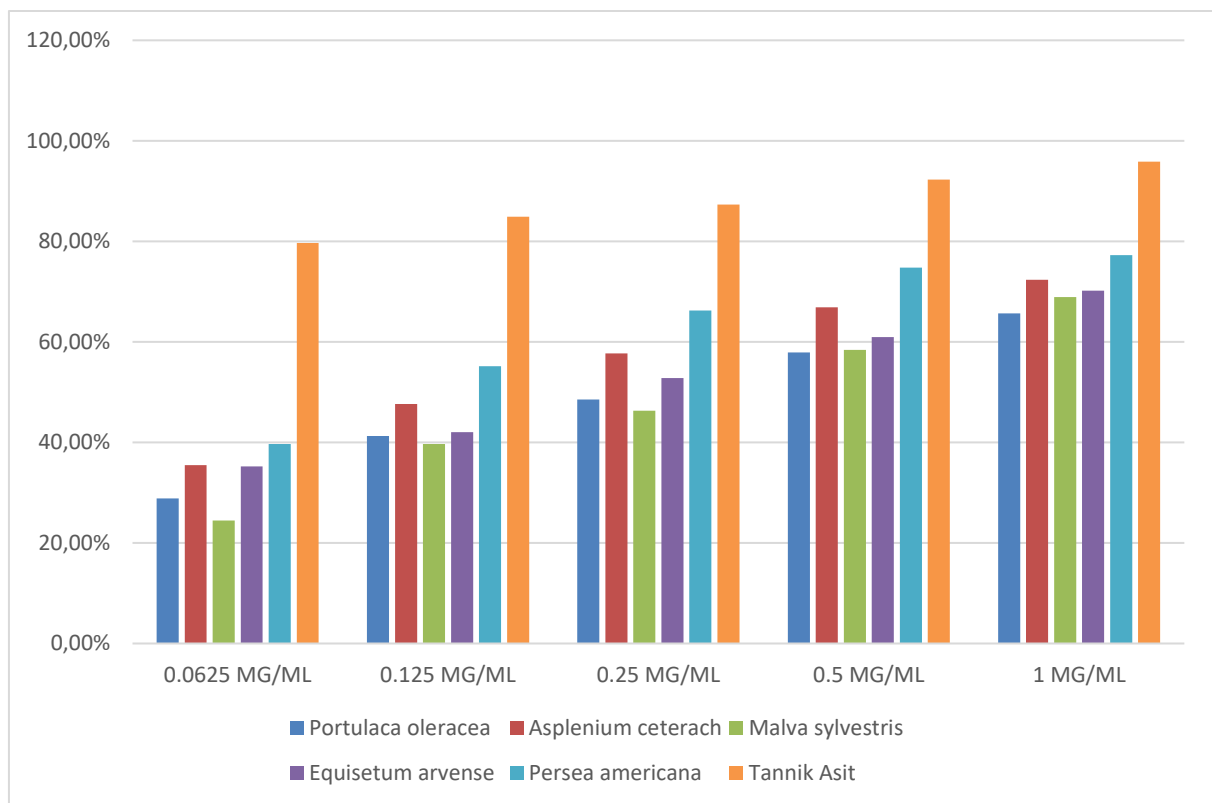
Tezimizde seçilen bitkilerden hareketle hazırlanmış olan metanollü ekstrelerinin *in vitro* koşullarda hyaluronidaz enzimi üzerindeki inhibisyon etkileri Çizelge 4.3.'de verilmektedir. Sentezlenen bakır (Cu^{2+}) ve çinko (Zn^{2+}) hibrit nanoçiçek formlarının *in vitro* koşullardaki hyaluronidaz enzimi üzerindeki inhibisyon etkileri ise Çizelge 4.4. ve Çizelge 4.5. verilmektedir.

Çizelge 4.3. Farklı konsantrasyonlardaki metanollü bitki eksterelerinin hyaluronidaz enzimi üzerindeki inhibisyonları.

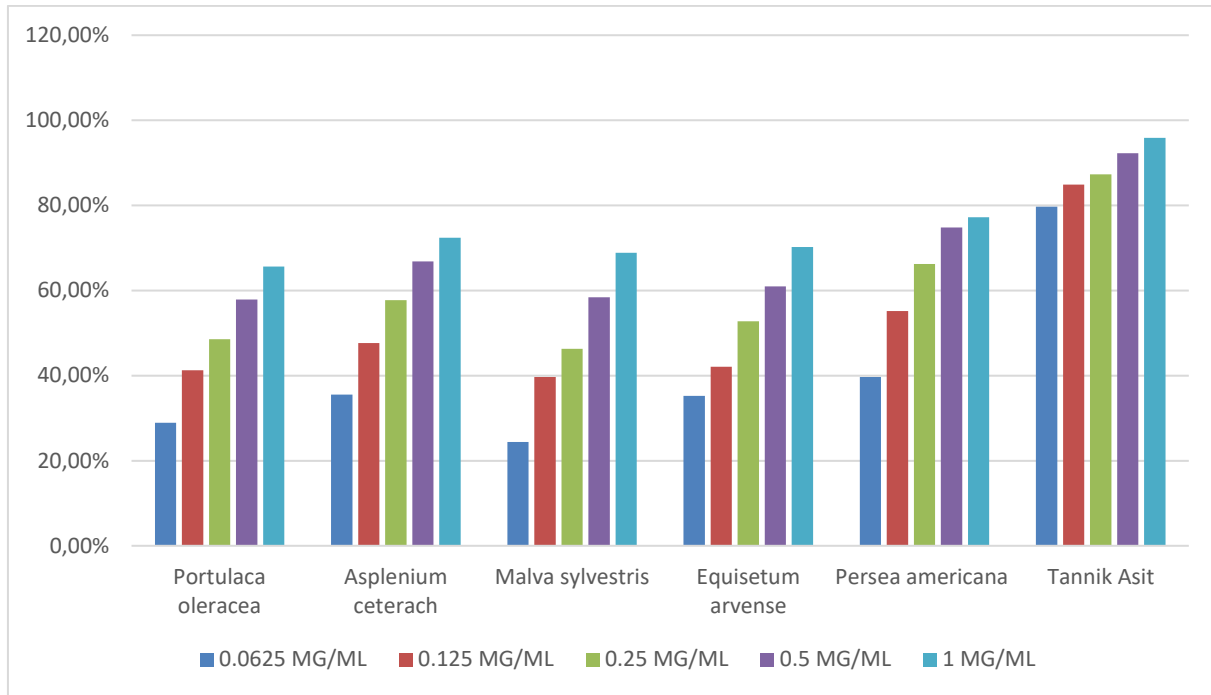
Bitki Adı (MeOH Ekstresi)	Kısım	Hyaluronidaz Enzim İnhibisyonu (% İnhibisyon $\pm$ O.S.S.*)				
		0,0625 mg/mL	0,125 mg/mL	0,25 mg/mL	0,5 mg/mL	1 mg/mL
A. ceterach	Herba	35,51 $\pm$ 13,43	47,62 $\pm$ 4,12	57,72 $\pm$ 12,96	66,87 $\pm$ 5,59	72,38 $\pm$ 3,71
E. arvense	Herba	35,24 $\pm$ 13,2	42,06 $\pm$ 8,89	52,80 $\pm$ 8,89	60,96 $\pm$ 9,89	70,21 $\pm$ 7,12
M. sylvestris	Herba	24,44 $\pm$ 7,69	39,68 $\pm$ 5,49	46,30 $\pm$ 11,56	58,44 $\pm$ 8,99	68,89 $\pm$ 3,84
P. americana	Folia	39,68 $\pm$ 5,49	55,19 $\pm$ 5,01	66,23 $\pm$ 4,49	74,81 $\pm$ 2,56	77,24 $\pm$ 2,03
P. oleracea	Herba	28,89 $\pm$ 7,69	41,29 $\pm$ 9,58	48,57 $\pm$ 9,89	57,88 $\pm$ 7,06	65,66 $\pm$ 6,89
Tannik asit (pozitif kontrol)	-	77,43 $\pm$ 3,58	84,21 $\pm$ 2,22	88,82 $\pm$ 1,08	92,61 $\pm$ 0,56	95,11 $\pm$ 0,64

*: Ortalama Standart Sapma

Çalışılan bitki ekstralarının, hyaluronidaz enzimi üzerinde benzer inhibisyon etkilerinin sahip olduğu tespit edilmiş olup, en yüksek hyaluronidaz inhibisyonunu gösterdikleri konsantrasyonun 1 mg/mL olduğu görülmüştür. Bu konsantrasyondaki en yüksek inhibisyon gücüne sahip bitkiler sırasıyla; *P. americana*, *A. ceterach*, *E. arvense*, *M.sylvestris* ve *P. oleracea* olmuştur. Literatürlerden hareketle pozitif kontrol olarak seçilen tannik asidin ise oldukça yüksek düzeyde hyaluronidaz enzim inhibisyonu aktivitesine sahip olduğu da gözlemlenmiştir (Grafik 4.1. ve Grafik 4.2.).



Grafik 4.1. Konsantrasyonlara göre, metanollü bitki ekstraları ve tannik asidin hyaluronidaz enzim inhibisyonu



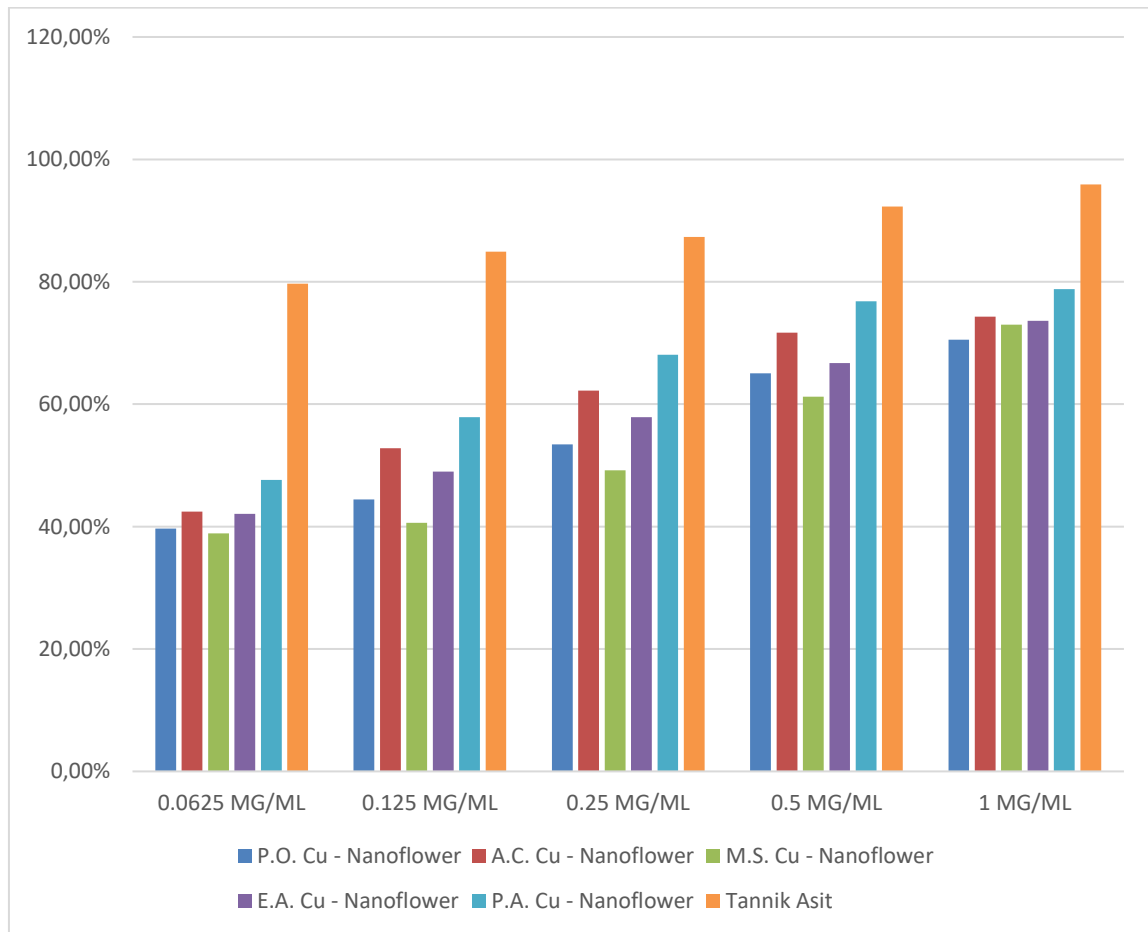
Grafik 4.2. Her bir bitki ekstresi ve tannik asidin hyaluronidaz enzim inhibisyon oranlarının kendi içerisinde, farklı konsantrasyonlarına göre kıyaslanması

Çizelge 4.4. Farklı konsantrasyonlardaki hibrit bakır (Cu^{2+}) nanoçiçek yapılarının hyaluronidaz enzimi üzerindeki inhibisyonları.

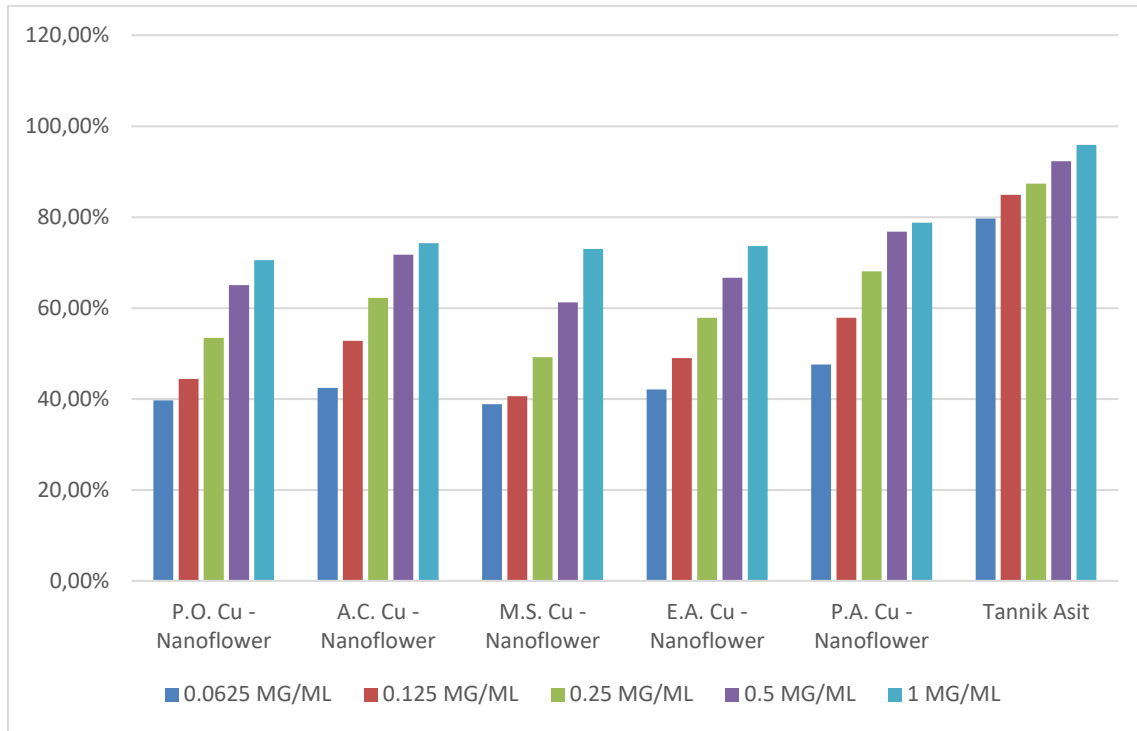
Bitki Adı (Cu^{2+} Nanoçiçek)	Kısım	Hyaluronidaz Enzim İnhibisyonu (% İnhibisyon $\pm$ O.S.S.*)				
		0,0625 mg/mL	0,125 mg/mL	0,25 mg/mL	0,5 mg/mL	1 mg/mL
A. ceterach	Herba	42,47 $\pm$ 8,95	52,80 $\pm$ 8,89	62,22 $\pm$ 3,84	71,70 $\pm$ 7,02	74,30 $\pm$ 2,59
E. arvense	Herba	42,06 $\pm$ 8,36	48,98 $\pm$ 6,77	57,88 $\pm$ 7,06	67,42 $\pm$ 6,56	73,64 $\pm$ 6,07
M. sylvestris	Herba	38,89 $\pm$ 9,62	40,60 $\pm$ 8,53	49,19 $\pm$ 6,79	61,21 $\pm$ 2,09	73,01 $\pm$ 3,63
P. americana	Folia	47,62 $\pm$ 4,12	57,88 $\pm$ 7,06	68,10 $\pm$ 4,01	76,81 $\pm$ 1,99	78,79 $\pm$ 2,24
P. oleracea	Herba	39,68 $\pm$ 5,49	44,44 $\pm$ 9,62	53,43 $\pm$ 8,99	65,02 $\pm$ 5,83	70,51 $\pm$ 6,46
Tannik asit (pozitif kontrol)	-	77,43 $\pm$ 3,58	84,21 $\pm$ 2,22	88,82 $\pm$ 1,08	92,61 $\pm$ 0,56	95,11 $\pm$ 0,64

*: Ortalama Standart Sapma

Bakır (Cu^{2+}) nanoçiçek yapılarının inhibisyon aktivitesi, bitki ekstraları ile kıyaslandığında, her bir numunenin nanoçiçek formunda daha yüksek oranda hyaluronidaz enzim inhibisyona sahip olduğu görülmüştür. Sentezlenmiş olan bakır (Cu^{2+}) nanoçiçek yapıları arasındaki en yüksek hyaluronidaz inhibisyona $\%78,79 \pm 2,24$ oranı ile 1 mg/mL konsantrasyondaki *P. americana*'nın sahip olduğu tespit edilmiştir (Grafik 4.3 ve Grafik 4.4.).



Grafik 4.3. Konsantrasyonlara göre, Bakır (Cu^{2+}) Nanoçiçeklerin ve tannik asidin hyaluronidaz enzim inhibisyonu



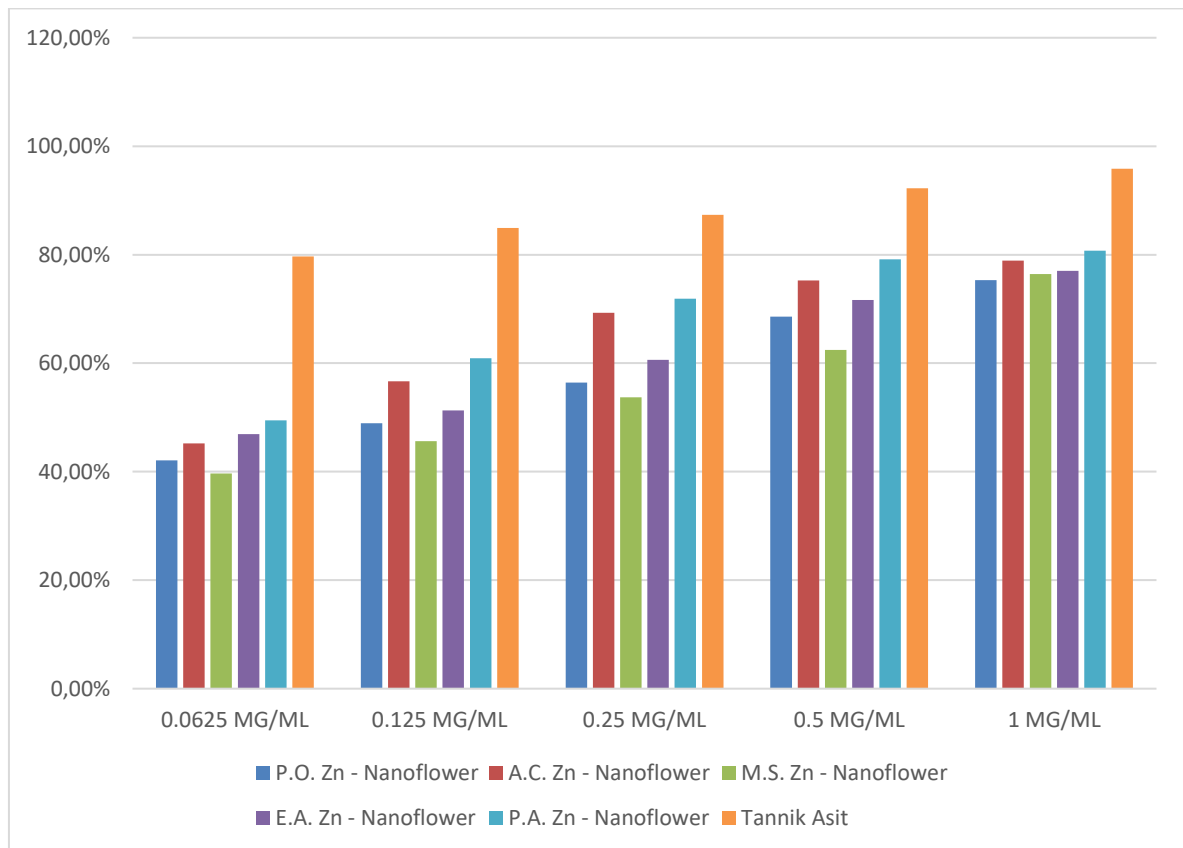
Grafik 4.4. Her bir Bakır (Cu^{2+}) Nanoçiçeklerin ve tannik asidin hyaluronidaz enzim inhibisyon oranlarının, farklı konsantrasyonlarına göre kıyaslanması

Çizelge 4.5. Farklı konsantrasyonlardaki hibrit çinko (Zn^{2+}) nanoçiçek yapılarının hyaluronidaz enzimi üzerindeki inhibisyonları

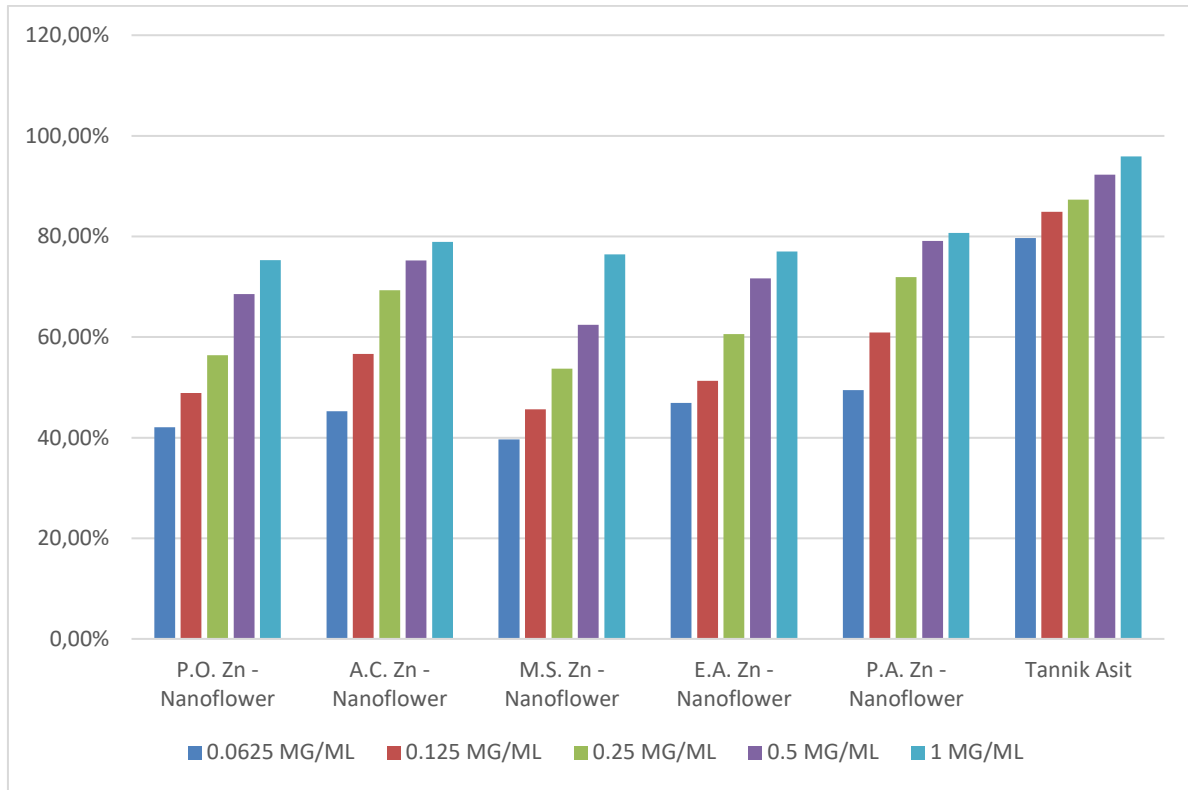
Bitki Adı (Zn^{2+} Nanoçiçek)	Kısım	Hyaluronidaz Enzim İnhibisyonu (% İnhibisyon $\pm$ O.S.S.*)				
		0,0625 mg/mL	0,125 mg/mL	0,25 mg/mL	0,5 mg/mL	1 mg/mL
<i>A. ceterach</i>	Herba	45,24 $\pm$ 4,12	56,67 $\pm$ 5,77	69,29 $\pm$ 5,68	75,20 $\pm$ 3,35	78,90 $\pm$ 1,11
<i>E. arvense</i>	Herba	49,92 $\pm$ 8,66	51,32 $\pm$ 7,33	60,61 $\pm$ 5,25	71,67 $\pm$ 6,14	77,04 $\pm$ 3,39
<i>M. sylvestris</i>	Herba	39,68 $\pm$ 5,49	45,62 $\pm$ 8,87	53,70 $\pm$ 3,21	62,42 $\pm$ 2,09	76,42 $\pm$ 1,39
<i>P. americana</i>	Folia	49,47 $\pm$ 6,36	60,94 $\pm$ 4,66	71,89 $\pm$ 2,36	79,14 $\pm$ 2,36	80,73 $\pm$ 2,59
<i>P. oleracea</i>	Herba	42,06 $\pm$ 8,36	48,91 $\pm$ 7,25	56,40 $\pm$ 6,86	68,57 $\pm$ 8,26	75,32 $\pm$ 5,31
Tannik asit (pozitif kontrol)	-	77,43 $\pm$ 3,58	84,21 $\pm$ 2,22	88,82 $\pm$ 1,08	92,61 $\pm$ 0,56	95,11 $\pm$ 0,64

*: Ortalama Standart Sapma

Çinko (Zn^{2+}) nanoçiçek yapılarının inhibisyon aktivitesi de aynı şekilde, bitki ekstraktları ile kıyaslandığında, her bir numunenin nanoçiçek formunda daha yüksek oranda hyaluronidaz enzim inhibisyonu sahip olduğu görülmüştür. Sentezlenmiş olan çinko (Zn^{2+}) nanoçiçek yapıları arasındaki en yüksek hyaluronidaz inhibisyonu $80,73 \pm 2,59$ oranı ile 1 mg/mL konsantrasyondaki *P. americana*'nın sahip olduğu tespit edilmiştir (Grafik 4.5. ve Grafik 4.6.).



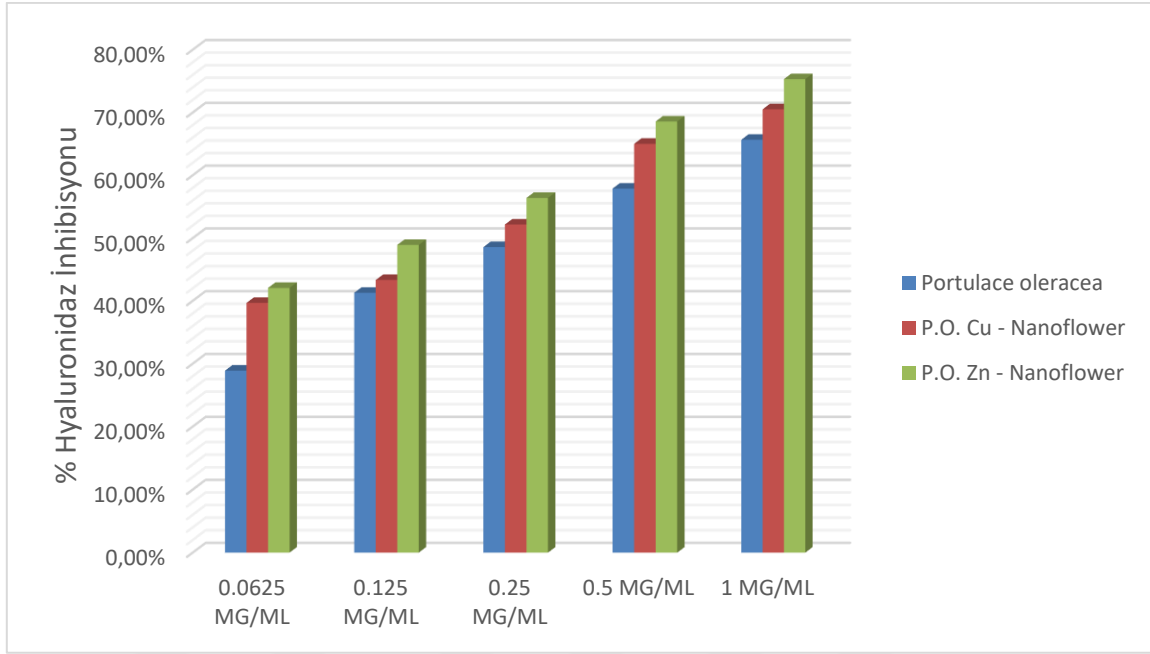
Grafik 4.5. Konsantrasyonlara göre, Çinko (Zn^{2+}) Nanoçiçeklerin ve tannik asidin hyaluronidaz enzim inhibisyonu



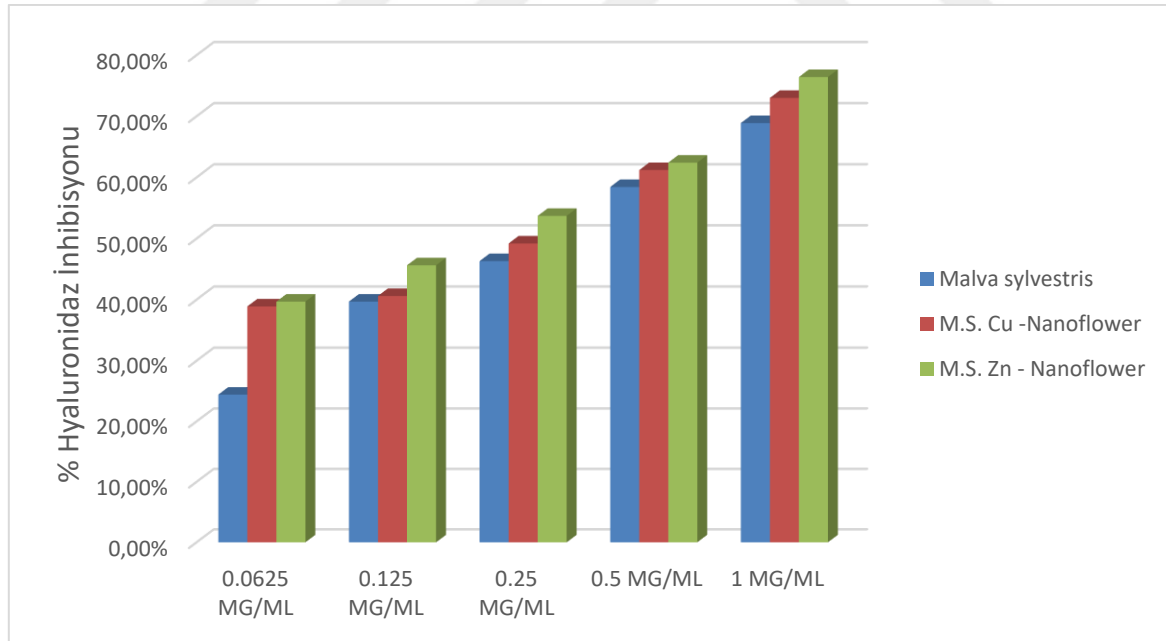
Grafik 4.6. Her bir Çinko (Zn^{2+}) Nanoçiçeklerin ve tannik asidin hyaluronidaz enzim inhibisyon oranlarının, farklı konsantrasyonlarına göre kıyaslanması

Yukarıda verilen tüm bu çizelgeler ve grafiklerden hareketle şu sonuca varılmıştır. Çalışılan bitki ekstelerinin sahip oldukları hyaluronidaz enzim inhibisyon aktiviteleri, söz konusu ekstraların nanoçiçek formları sentezlendiğinde daha da artış göstermiştir. Nanoçiçek yapıları arasında ise çinko (Zn^{2+}) formunun, bakır (Cu^{2+}) formuna göre daha yüksek oranda hyaluronidaz enzim inhibisyonuna sahip olduğu belirlenmiştir.

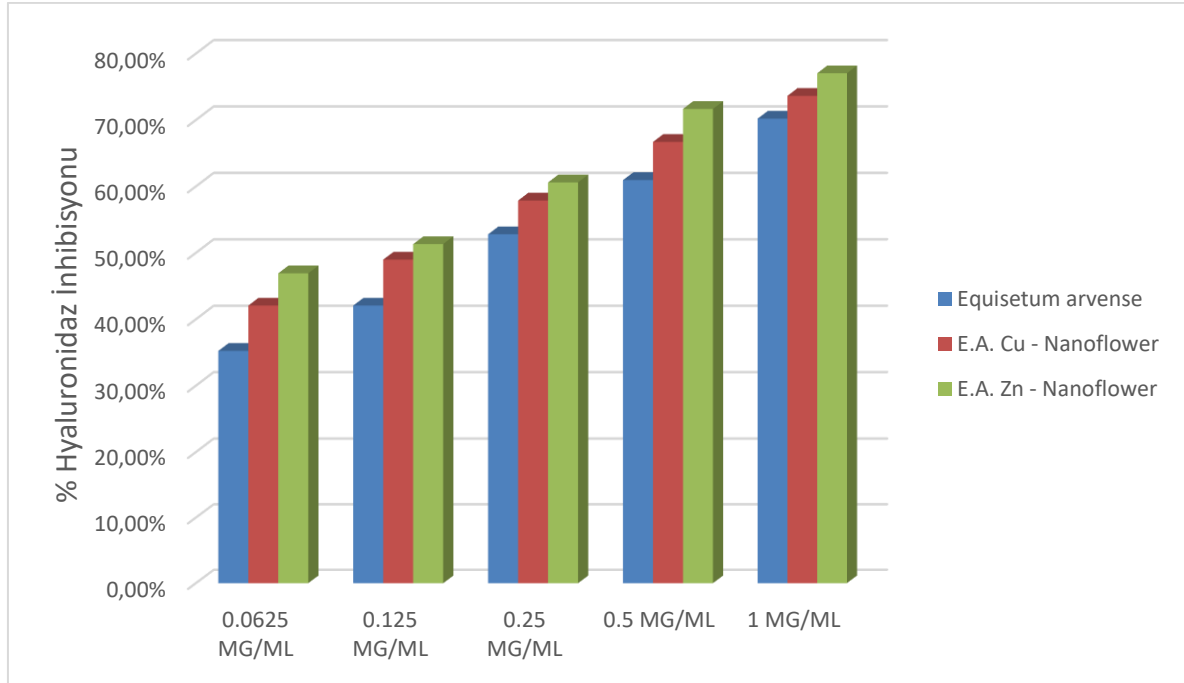
Aşağıdaki grafiklerde ise, ayrı ayrı her bir bitkinin metanollü ekstralarının ve sentezlenen nanoçiçek yapılarının hyaluronidaz enzim inhibisyonlarındaki değişim, kendi içerisinde karşılaştırmaları daha detaylı bir şekilde verilmiştir. Bu karşılaştırmalar, farklı konsantrasyonlarda ve yine pozitif kontrol olan tannik asit ile kıyaslamalı halde yer almaktadır (Grafik 4.7 – 4.11.).



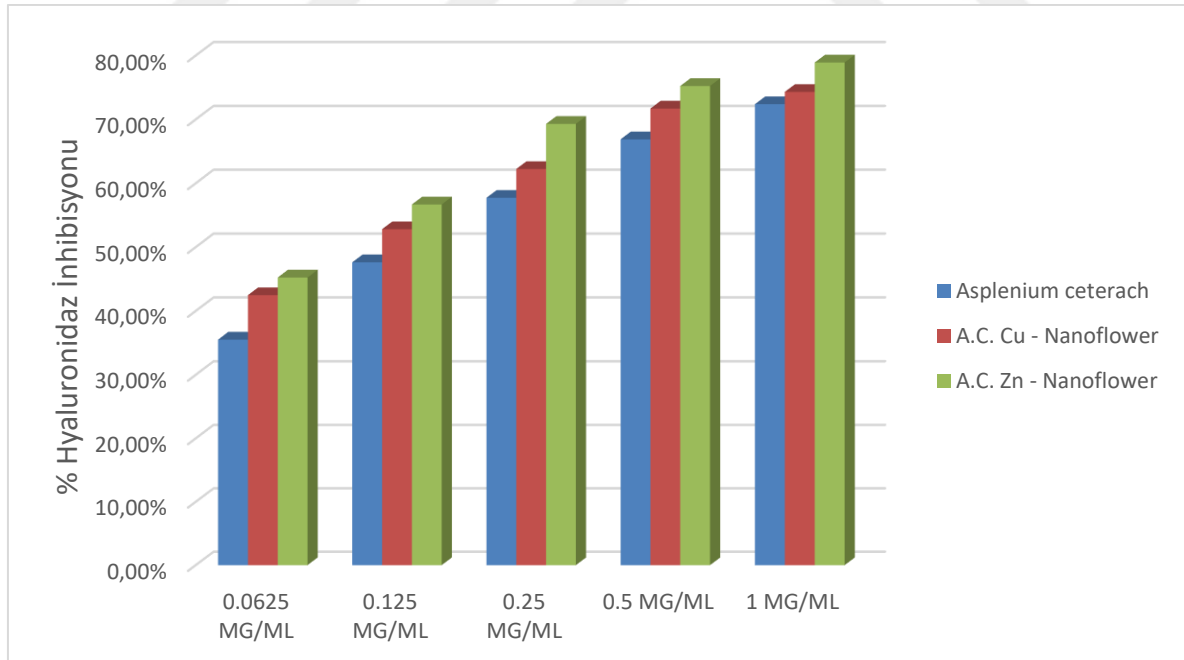
Grafik 4.7. *P. oleracea* bitkisinin metanollü ekstresi, Bakır (Cu^{2+}) ve Çinko (Zn^{2+}) hibrit nanoçiçek yapılarının, farklı konsantrasyonlarda % hyaluronidaz inhibisyonu karşılaştırmaları



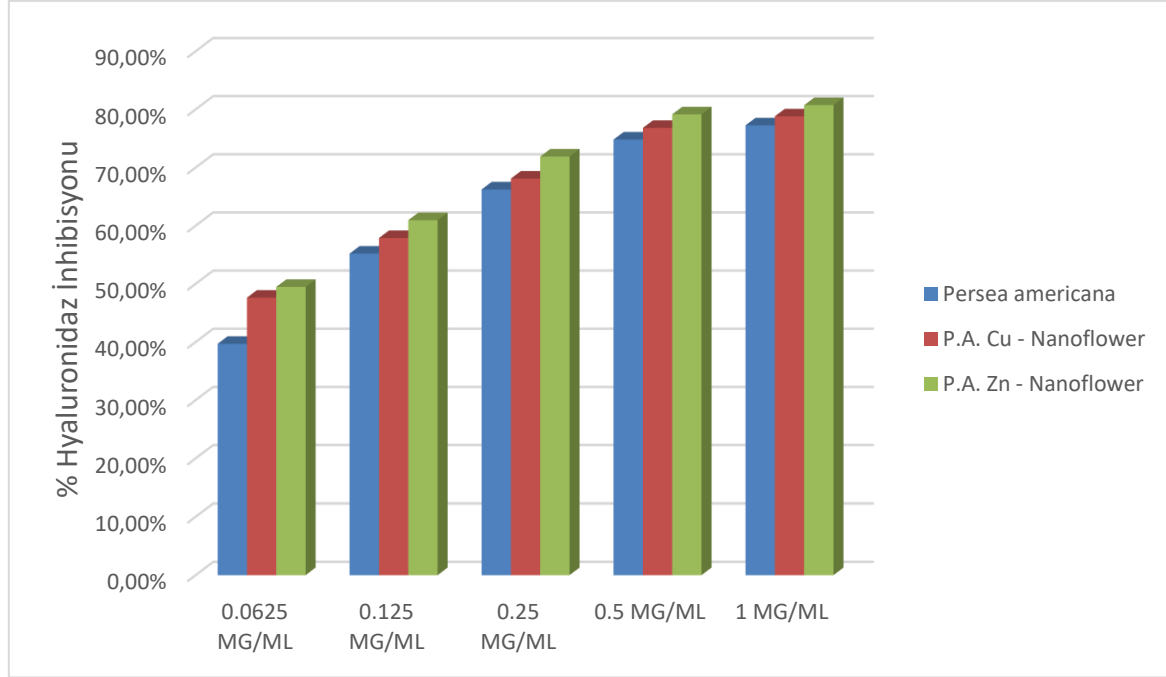
Grafik 4.8. *M. sylvestris* bitkisinin metanollü ekstresi, Bakır (Cu^{2+}) ve Çinko (Zn^{2+}) hibrit nanoçiçek yapılarının, farklı konsantrasyonlarda % hyaluronidaz inhibisyonu karşılaştırmaları



Grafik 4.9. *E. arvense* bitkisinin metanollü ekstresi, Bakır (Cu^{2+}) ve Çinko (Zn^{2+}) hibrit nanoçiçek yapılarının, farklı konsantrasyonlarda % hyaluronidaz inhibisyonu karşılaştırmaları



Grafik 4.10. *A. ceterach* bitkisinin metanollü ekstresi, Bakır (Cu^{2+}) ve Çinko (Zn^{2+}) hibrit nanoçiçek yapılarının, farklı konsantrasyonlarda % hyaluronidaz inhibisyonu karşılaştırmaları



Grafik 4.11. *P. americana* bitkisinin metanollü ekstresi, Bakır (Cu^{2+}) ve Çinko (Zn^{2+}) hibrit nanoçiçek yapılarının, farklı konsantrasyonlarda % hyaluronidaz inhibisyonu karşılaştırmaları.

4.3.2. *In Vitro* Jelatinaz Enzim İnhibisyonu Tayinlerine Ait Bulgular

Tez kapsamında araştırılan bitkilerden hazırlanan metanollü ekstratlar ve bunlardan hareketle sentezlenmiş olan bakır (Cu^{2+}) ve çinko (Zn^{2+}) hibrit nanoçiçek yapılarının, *in vitro* koşullarda jelatinaz enzim inhibisyonları, satın alınan deney kitinin protokolleri doğrultusunda, MMP aktivitesi şeklinde verilecektir. Elde edilen sonuçlar RFU cinsinden (relative fluorescence units / bağıl floresans birimi) çizelge ve grafiklere aktarılmıştır.

Metanollü ekstratların, *in vitro* koşullardaki jelatinaz enzim aktivitesi üzerindeki etkileri Çizelge 4.6.'da verilmektedir. Sentezlenen bakır (Cu^{2+}) ve çinko (Zn^{2+}) hibrit nanoçiçek formlarına ait veriler ise Çizelge 4.7. ve Çizelge 4.8.'de yer almaktadır.

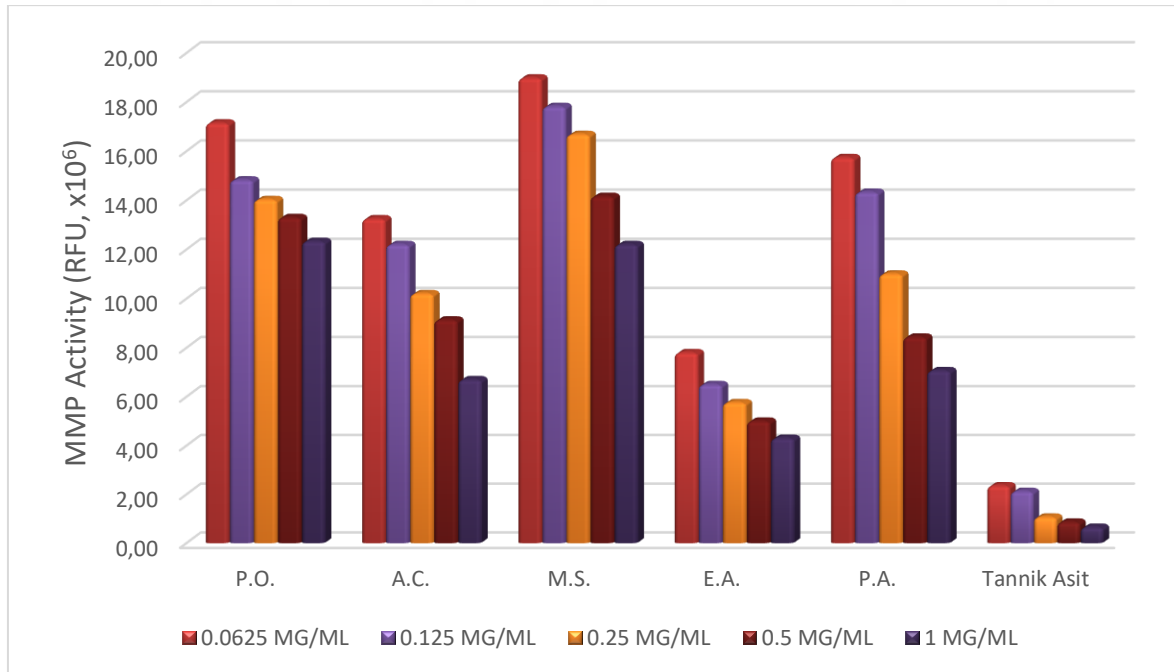
Söz konusu verilerde yer alan en yüksek RFU ($\times 10^6$) değerindeki MMP aktivitesi, en az inhibisyona sahip numuneye aittir. O halde, en az MMP aktivitesini gösteren bitki

ekstresinin ya da hibrit nanoçiçek formunun, en yüksek jelatinaz inhibisyonuna sahip olduğu anlamına gelmektedir.

Çizelge 4.6. Farklı konsantrasyonlardaki metanollü bitki ekstralarının varlığında jelatinaz enzim aktivitesi

Bitki Adı (MeOH Ekstresi)	Kısım	MMP Aktivitesi (RFU, $\times 10^6 \pm O.S.S.^*$)				
		0,0625 mg/mL	0,125 mg/mL	0,25 mg/mL	0,5 mg/mL	1 mg/mL
<i>A. ceterach</i>	Herba	13,25 $\pm$ 1,34	12,20 $\pm$ 0,74	10,20 $\pm$ 0,43	9,13 $\pm$ 0,59	6,70 $\pm$ 0,56
<i>E. arvense</i>	Herba	7,80 $\pm$ 0,69	6,50 $\pm$ 0,92	5,76 $\pm$ 0,11	5,00 $\pm$ 0,43	4,30 $\pm$ 0,32
<i>M. sylvestris</i>	Herba	18,98 $\pm$ 0,86	17,82 $\pm$ 0,58	16,68 $\pm$ 0,44	14,16 $\pm$ 0,79	12,20 $\pm$ 0,70
<i>P. americana</i>	Folia	15,74 $\pm$ 0,77	14,33 $\pm$ 0,53	11,00 $\pm$ 0,69	8,43 $\pm$ 0,42	7,07 $\pm$ 0,13
<i>P. oleracea</i>	Herba	17,15 $\pm$ 1,01	14,83 $\pm$ 0,49	14,03 $\pm$ 0,73	13,30 $\pm$ 0,56	12,33 $\pm$ 0,88
Tannik asit (pozitif kontrol)	-	2,35 $\pm$ 0,23	2,12 $\pm$ 0,08	1,07 $\pm$ 0,11	0,86 $\pm$ 0,07	0,65 $\pm$ 0,02

*: Ortalama Standart Sapma

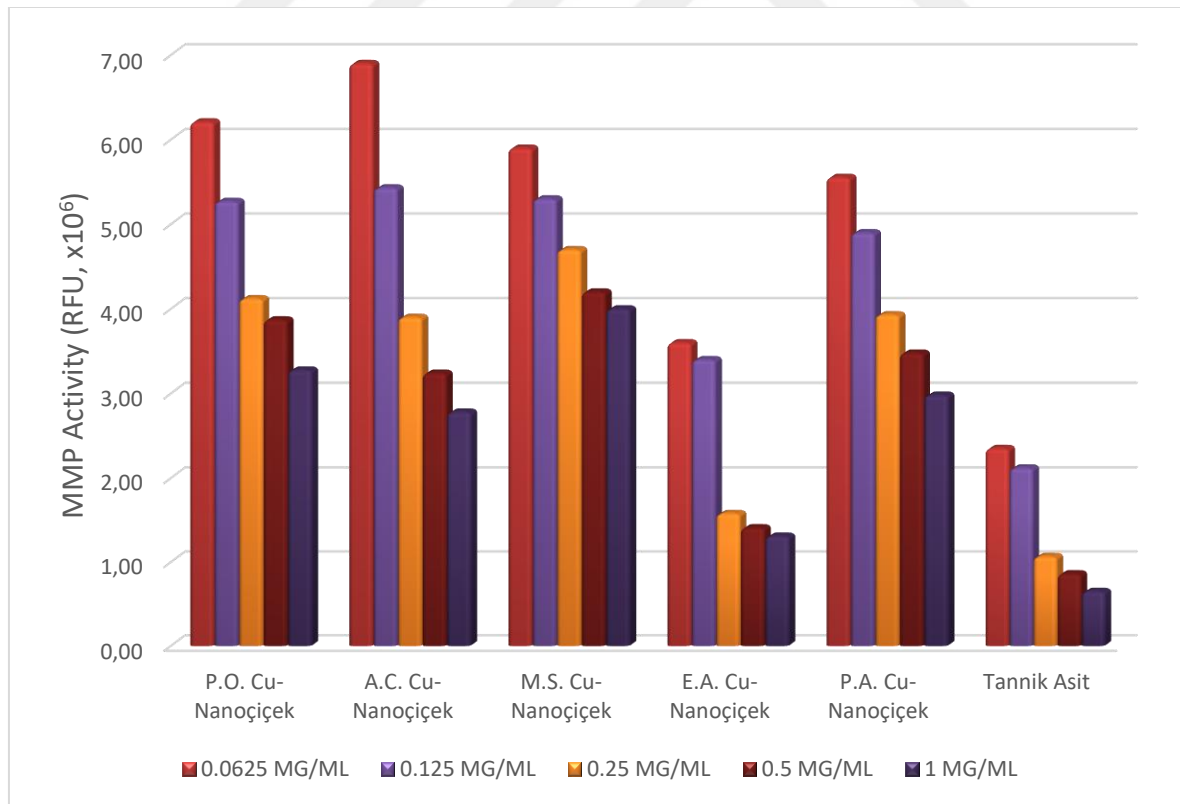


Grafik 4.12. Farklı konsantrasyonlardaki metanollü bitki ekstralarının varlığında, jelatinaz enzim aktivitesinin değişimi

Çizelge 4.7. Farklı konsantrasyonlardaki Bakır (Cu^{2+}) Nanoçiçeklerin varlığında jelatinaz enzim aktivitesi

Bitki Adı (Cu^{2+} Nanoçiçek)	Kısım	MMP Aktivitesi (RFU, $\times 10^6 \pm \text{O.S.S.}^*$)				
		0,0625 mg/mL	0,125 mg/mL	0,25 mg/mL	0,5 mg/mL	1 mg/mL
<i>A. ceterach</i>	Herba	6,90 $\pm$ 0,95	5,43 $\pm$ 0,98	3,90 $\pm$ 0,66	3,24 $\pm$ 0,73	2,78 $\pm$ 0,27
<i>E. arvense</i>	Herba	3,60 $\pm$ 0,74	3,40 $\pm$ 0,77	1,58 $\pm$ 0,18	1,41 $\pm$ 0,20	1,31 $\pm$ 0,09
<i>M. sylvestris</i>	Herba	5,90 $\pm$ 0,56	5,30 $\pm$ 0,36	4,70 $\pm$ 0,40	4,20 $\pm$ 0,08	4,00 $\pm$ 0,11
<i>P. americana</i>	Folia	5,55 $\pm$ 0,78	4,90 $\pm$ 0,74	3,93 $\pm$ 0,41	3,48 $\pm$ 0,29	2,98 $\pm$ 0,13
<i>P. oleracea</i>	Herba	6,21 $\pm$ 1,02	5,27 $\pm$ 0,56	4,12 $\pm$ 0,60	3,87 $\pm$ 0,41	3,28 $\pm$ 0,33
Tannik asit (pozitif kontrol)	-	2,35 $\pm$ 0,23	2,12 $\pm$ 0,08	1,07 $\pm$ 0,11	0,86 $\pm$ 0,07	0,65 $\pm$ 0,02

*: Ortalama Standart Sapma

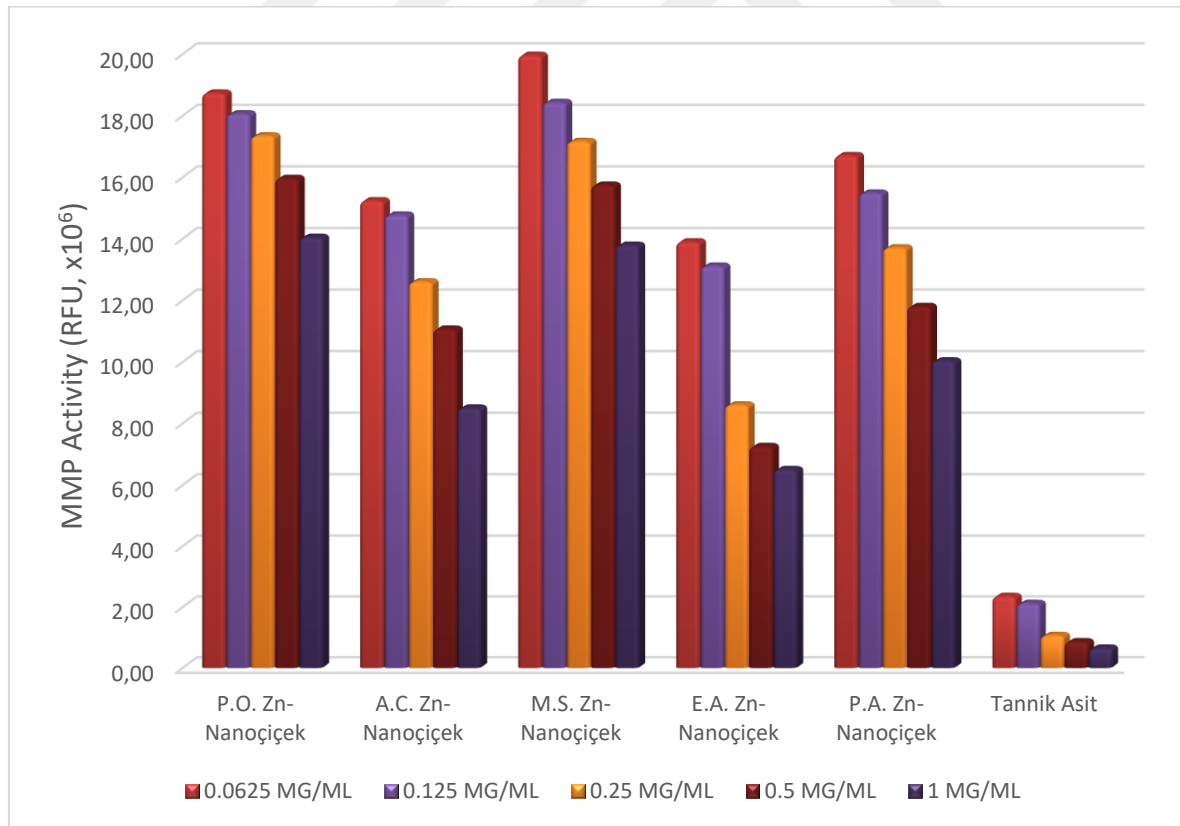


Grafik 4.13. Farklı konsantrasyonlardaki Bakır (Cu^{2+}) Nanoçiçeklerin varlığında, jelatinaz enzim aktivitesinin değişimi

Çizelge 4.8. Farklı konsantrasyonlardaki Çinko (Zn^{2+}) Nanoçiçeklerin varlığında jelatinaz enzim aktivitesi

Bitki Adı (Zn^{2+} Nanoçiçek)	Kısım	MMP Aktivitesi (RFU, $\times 10^6 \pm O.S.S.^*$)				
		0,0625 mg/mL	0,125 mg/mL	0,25 mg/mL	0,5 mg/mL	1 mg/mL
<i>A. ceterach</i>	Herba	15,24 $\pm$ 1,12	14,77 $\pm$ 0,90	12,60 $\pm$ 0,55	11,06 $\pm$ 0,69	8,50 $\pm$ 0,33
<i>E. arvense</i>	Herba	13,90 $\pm$ 0,93	13,11 $\pm$ 0,88	8,60 $\pm$ 1,21	7,25 $\pm$ 0,79	6,50 $\pm$ 0,41
<i>M. sylvestris</i>	Herba	19,96 $\pm$ 1,57	18,43 $\pm$ 1,26	17,16 $\pm$ 0,94	15,74 $\pm$ 0,68	13,79 $\pm$ 0,34
<i>P. americana</i>	Folia	16,70 $\pm$ 0,76	15,48 $\pm$ 0,49	13,71 $\pm$ 0,75	11,80 $\pm$ 0,63	10,03 $\pm$ 0,40
<i>P. oleracea</i>	Herba	18,73 $\pm$ 1,44	18,06 $\pm$ 1,09	17,34 $\pm$ 0,80	15,96 $\pm$ 0,51	14,05 $\pm$ 0,54
Tannik asit (pozitif kontrol)	-	2,35 $\pm$ 0,23	2,12 $\pm$ 0,08	1,07 $\pm$ 0,11	0,86 $\pm$ 0,07	0,65 $\pm$ 0,02

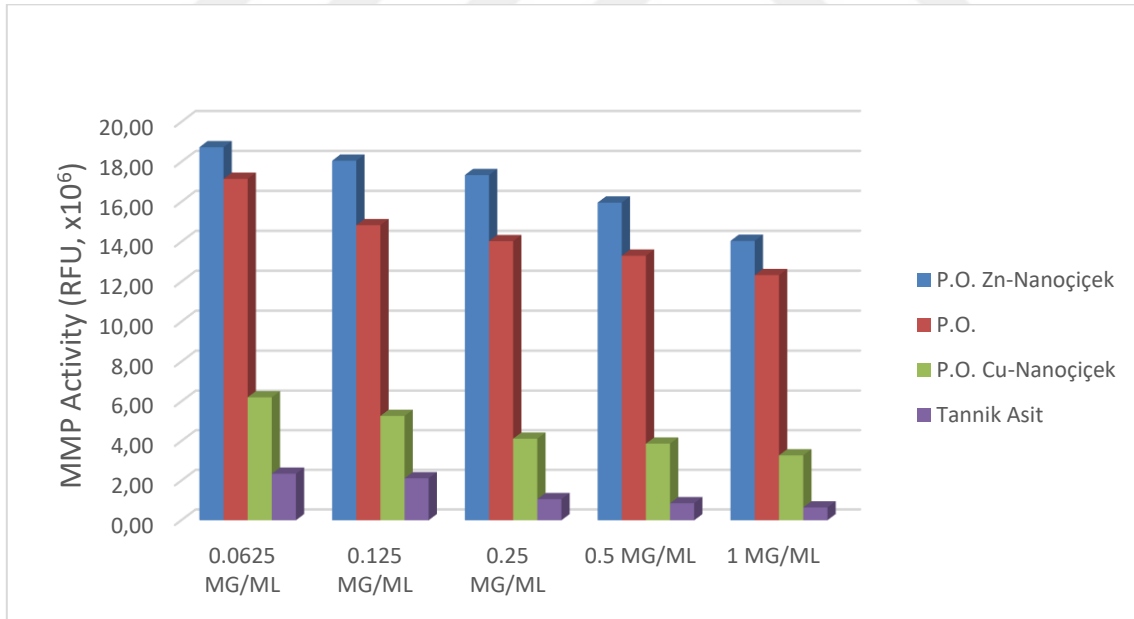
*: Ortalama Standart Sapma



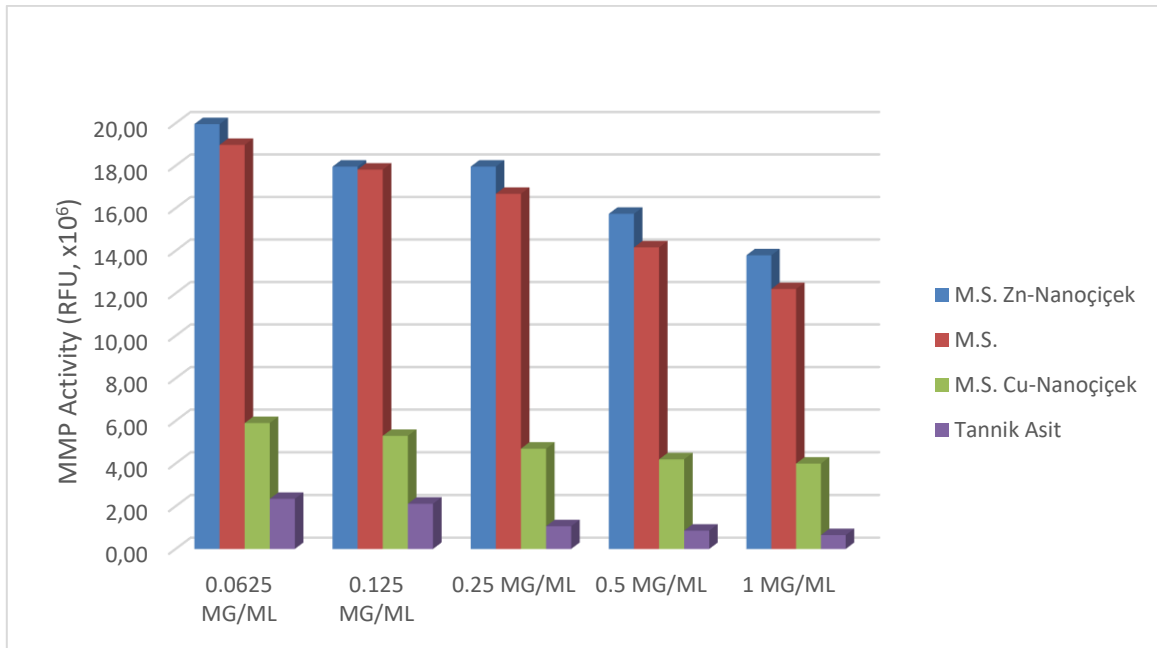
Grafik 4.14. Farklı konsantrasyonlardaki Çinko (Zn^{2+}) Nanoçiçeklerin varlığında, jelatinaz enzim aktivitesinin değişimi

Tüm bu çizelgeler ve grafikler doğrultusunda, tez kapsamında çalışılan metanolü bitki ekstraktlarının ve bunlardan hareketle sentezlenen organik-inorganik hibrit nanoçiçek formlarının göstermiş olduğu en yüksek jelatinaz inhibisyonunun, 1 mg/mL konsantrasyonda olduğu tespit edilmiştir. Bu konsantrasyondaki en yüksek inhibisyon gücüne sahip bitkiler sırasıyla; *E. arvense*, *A. ceterach*, *P. americana*, *M. sylvestris* ve *P. oleracea* olmuştur. Literatürlerden hareketle pozitif kontrol olarak seçilen tannik asidin ise jelatinaz üzerinde oldukça yüksek düzeyde inhibisyon aktivitesine sahip olduğu gözlemlenmiştir. (Grafik 4.12., Grafik 4.13. ve Grafik 4.14.)

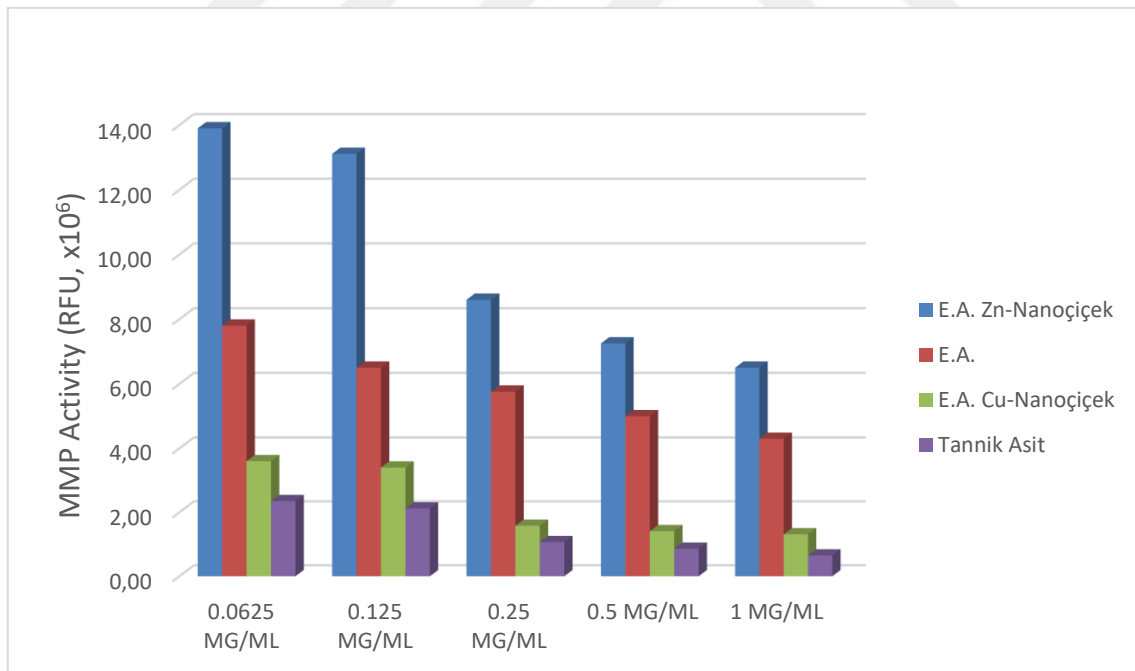
Aşağıdaki grafiklerde ise, her bir bitkinin metanollü ekstresi ve sentezlenen hibrit nanoçiçek yapılarının jelatinaz enzim aktivitesinde meydana getirdiği değişim, kendi içerisinde ve daha detaylı bir şekilde karşılaştırmalı olarak verilmiştir. Bu karşılaştırmalar, farklı konsantrasyonlarda ve yine pozitif kontrol olan tannik asit ile kıyaslamalı halde yer almaktadır (Grafik 4.15. – 4.19).



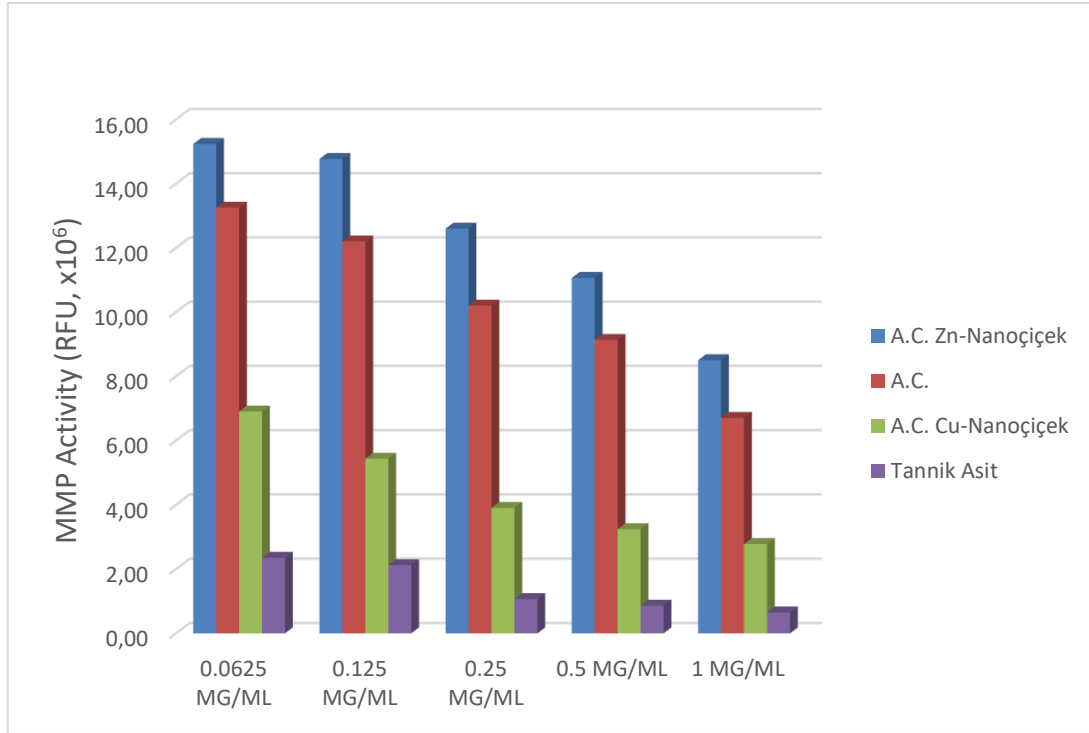
Grafik 4.15. *P. oleracea* bitkisinin metanollü ekstresi, Bakır (Cu^{2+}) ve Çinko (Zn^{2+}) hibrit nanoçiçek yapılarının, farklı konsantrasyonlardaki MMP aktivitesi



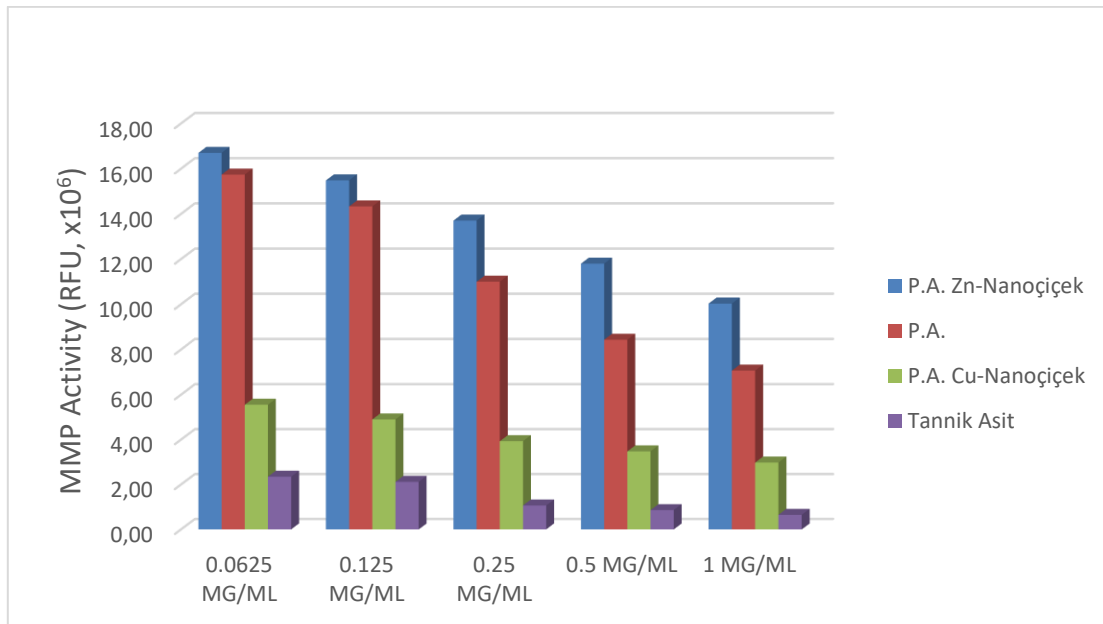
Grafik 4.16. *M. sylvestris* bitkisinin metanollü ekstresi, Bakır (Cu^{2+}) ve Çinko (Zn^{2+}) hibrit nanoçiçek yapılarının, farklı konsantrasyonlardaki MMP aktivitesi



Grafik 4.17. *E. arvense* bitkisinin metanollü ekstresi, Bakır (Cu^{2+}) ve Çinko (Zn^{2+}) hibrit nanoçiçek yapılarının, farklı konsantrasyonlardaki MMP aktivitesi



Grafik 4.18. *A. ceterach* bitkisinin metanollü ekstresi, Bakır (Cu^{2+}) ve Çinko (Zn^{2+}) hibrit nanoçiçek yapılarının, farklı konsantrasyonlardaki MMP aktivitesi



Grafik 4.19. *P. americana* bitkisinin metanollü ekstresi, Bakır (Cu^{2+}) ve Çinko (Zn^{2+}) hibrit nanoçiçek yapılarının, farklı konsantrasyonlardaki MMP aktivitesi

Elde edilen tüm bu grafiklerden hareketle, jelatinaz enzimi üzerinde en yüksek inhibisyon (1 mg/mL konsantrasyonda) gösteren ilk üç bitki sırasıyla *E. arvense*, *A. ceterach* ve *P. americana*'nın bakır (Cu^{2+}) hibrit nanoçiçek formları olmuştur.

Tez kapsamında çalışılan tüm bitkilerde, sentezlenmiş olan bakır (Cu^{2+}) nanoçiçek formlarının, metanollü ekstrele kıyasla daha yüksek oranda jelatinaz inhibisyonuna sahip olduğu tespit edilmiştir. Bunun aksine, çinko (Zn^{2+}) nanoçiçek yapılarının ise metanollü bitki ekstrelerine kıyasla, daha düşük oranda jelatinaz enzim inhibisyonuna sahip olduğu gözlemlenmiştir.





5. TARTIŞMA

Etnobotanik, etnofarmakolojik çalışmalarda, literatür kayıtlarında ve yöre halkıyla yapılan araştırmalarda görüldüğü üzere insanlar, yaşadıkları cilt problemlerine şifa bulabilmek için bitkilerden sıklıkla yararlanmışlardır. Teşhis edebildikleri dermatolojik rahatsızlıkları, binlerce yıllık tecrübe ve gözlemlerle oluşan geleneksel halk tıbbındaki basit formülasyonları uygulayarak çözüme kavuşturmuşlardır ve bunu yaparkende kullandıkları bitkilerin içeriğindeki pek çok fitokimyasal bileşiğin aslında sinerjistik etkisinden de yararlanmışlardır. Tez çalışmamızda da bitkilerin ekstreleri kullanılarak, enzimlerin inhibisyonu sırasında bu sinerjik etkinin avantajından faydalanılması amaçlanmıştır. Ayrıca kaybolmaya yüz tutan geleneksel halk tıbbına ait değerli bilgilerin, bilimsel anlamda literatüre kazandırılarak kayıt altına alınması da sağlanmak istenmiştir.

Ülkemizde ve dünyanın farklı yerlerinde halk arasında dermatolojik sorunlara karşı bitkilerin kullanımına dair oldukça fazla veriler bulunmaktadır. Doktora tez çalışmamız kapsamında da cilt üzerinde geleneksel kullanıma sahip olan *A. ceterach*, *M. sylvestris*, *P. oleracea*, *P. americana* ve *E. arvense* bitkileri seçilerek, bu bitkilerin anti-aging etkilerinin olup olmadığı, hyaluronidaz ve jelatinaz enzimleri üzerindeki inhibisyon etkilerine, *in vitro* ortamda bakılarak değerlendirilmiştir.

Başta cilt yaşlanması olmak üzere, ciltte oluşan istenmeyen durumlar oldukça karmaşık ve fizyolojik bir sürecin sonucunda meydana gelmektedir. Ciltteki hyaluronik asit ve jelatin seviyesindeki azalma, bu süreçte önemli bir rol oynar. Bu nedenle, hyalüronidaz ve jelatinaz enzimlerinin (MMP-2 ve MMP-9) inhibisyonun sağlanması, cilt yaşlanmasının önlenmesi veya yavaşlatılması açısından oldukça rasyonel bir yöntem olabilir.

Günümüzde kullanılan topikal ilaçlar veya dermokozmetik ürünlerin mekanizması genellikle, azalan çeşitli cilt bileşenlerinin tekrardan yerine konulması ya da sentezlenme hızlarının artırılması esasına dayanmaktadır. Tez kapsamındaki araştırmamızda ise, bu ürünlerin işleyiş mekanizmalarından farklı olarak, söz konusu cilt bileşenlerinin azalmasının/parçalanmasının önüne geçilebilmesi

amaçlanmıştır. Hyaluronidaz enziminin ve jelatinaz (MMP-2/MMP-9) enziminin aktiviteleri inhibe edildiğinde, cilt dokusunda serbest halde kalan hyaluronik asit ve jelatinler ile cildin nem dengesi, canlılığı, elastik yapısı ve gerginliği üzerinde olumlu etkiler görülecektir. Böylece cildin yüzeyi daha sağlıklı ve genç bir görünüme sahip olacaktır.

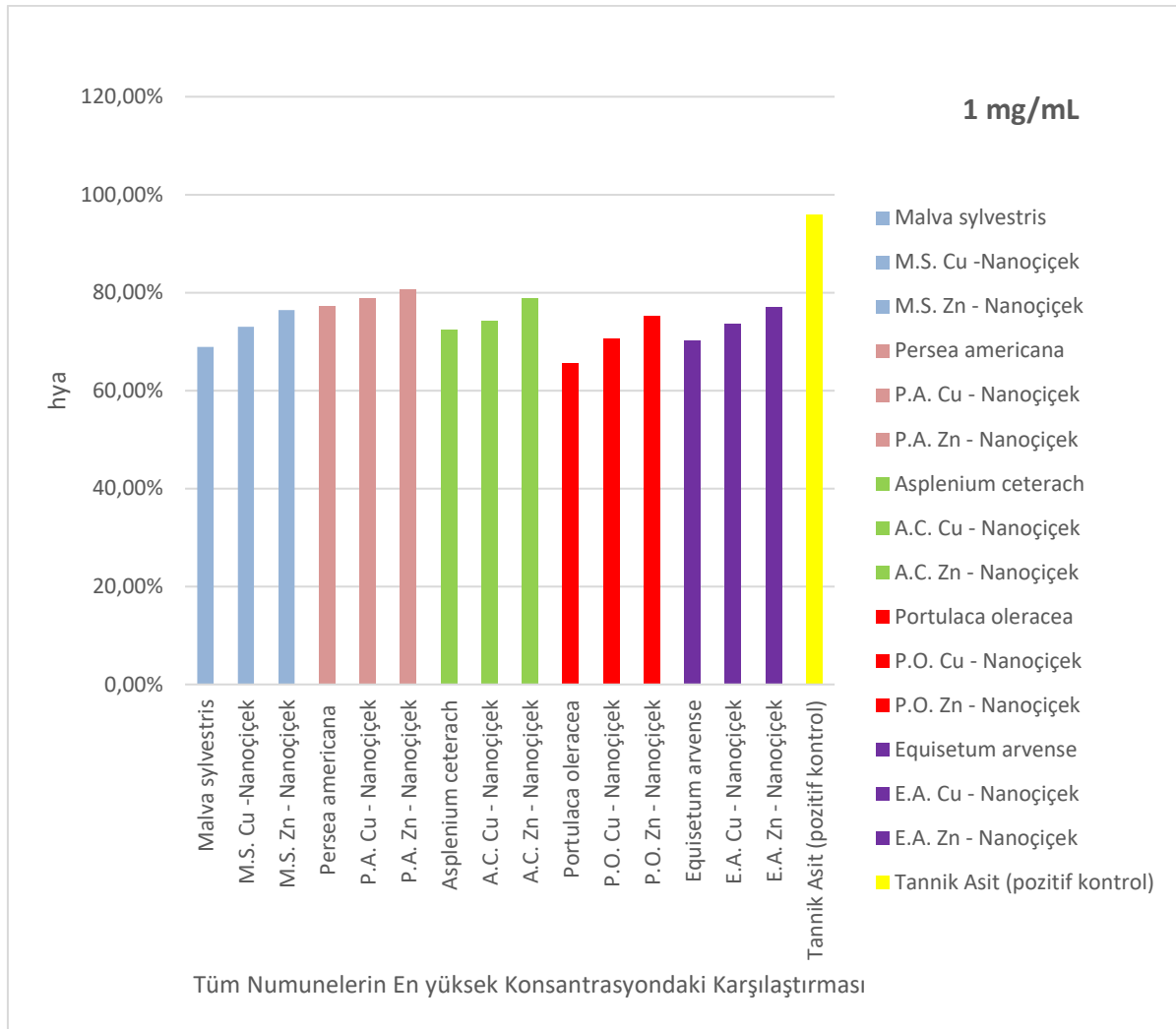
Tez çalışmalarımız kapsamında, halk arasında cilt sorunlarına karşı kullanıldığı tespit edilen 5 adet bitkinin, anti-aging amaçla yaşlanma karışıtı olarak kullanımına dair etkinliğinin bilimsel açıdan gösterilmesi ve nanoçiçek formları sentezlendiğinde, bu etkinliğinin olası artışı amaçlanmıştır.

Bu doğrultuda gerçekleştirilen *in vitro* enzim inhibisyonu çalışmalarında en yüksek hyaluronidaz inhibisyonuna sahip bitki ekstresinin $77,24 \pm 2,03$ oranıyla, 1 mg/mL konsantrasyondaki *P. americana* olduğu görülmüştür. Ardından $72,38 \pm 3,71$ inhibisyon oranıyla *A. ceterach* ve $70,21 \pm 7,12$ 'lik inhibisyon oranıyla *E. arvense* gelmektedir.

Sentezlenen bakır (Cu^{2+}) hibrit nanoçiçek yapıları arasında da en yüksek hyaluronidaz enzim inhibisyonunu $78,79 \pm 2,24$ oranıyla, 1 mg/mL konsantrasyondaki *P. americana* ekstresi göstermiştir. Ardından $74,30 \pm 2,59$ inhibisyon oranıyla *A. ceterach* ve $73,64 \pm 6,07$ 'lik inhibisyon oranıyla *E. arvense* gelmektedir.

Sentezlenen çinko (Zn^{2+}) hibrit nanoçiçek yapılarının arasında da yine en yüksek hyaluronidaz enzim inhibisyonuna $80,73 \pm 2,59$ oranıyla, 1 mg/mL konsantrasyondaki *P. americana* olduğu görülmüştür. Ardından $78,90 \pm 1,11$ inhibisyon oranıyla *A. ceterach* ve $77,04 \pm 3,39$ 'luk inhibisyon oranıyla *E. arvense* gelmektedir.

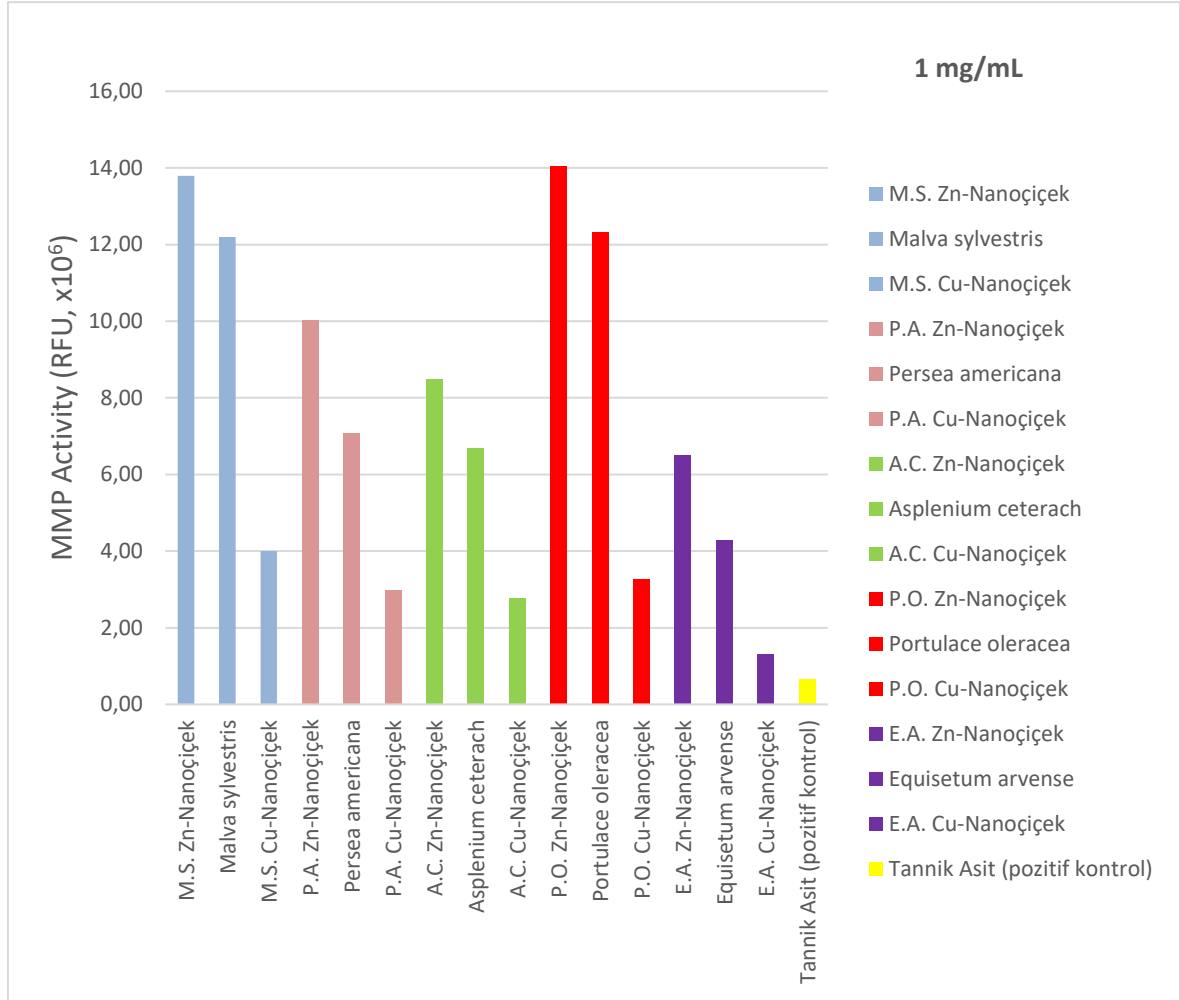
Tüm bu sonuçlardan hareketle, hyaluronidaz enzimi üzerindeki en yüksek inhibisyon aktivite artışının, çinko (Zn^{2+}) hibrit nanoçiçek yapılarının sentezlenmesi ile meydana geldiği kanıtlanmaktadır (Grafik 5.1.).



Grafik 5.1. 1 mg/mL konsantrasyondaki tüm bitki ekstraları ve hibrit nanoçiçek yapılarının hyaluronidaz enzim inhibisyonlarının karşılaştırılması

Bir diğer *in vitro* enzim inhibisyonu çalışmamızda yapılan floresans ölçümleri sonucunda, jelatinaz (MMP-2/MMP-9) enzimi üzerindeki en yüksek inhibe edici etkiye sahip olan bitkinin *E. arvense* olduğu görülmüştür. Ardından sırasıyla, *A. ceterach* ve *P. americana* gelmektedir. Bu bitkilerden sentezlenen bakır (Cu^{2+}) hibrit nanoçiçek yapıları, söz konusu jelatinaz enzimlerinin inhibisyonunu arttırmış olmasına rağmen, çinko (Zn^{2+}) hibrit nanoçiçek formlarının inhibisyon üzerinde olumlu bir etkisi görülemedi.

Tüm bu sonuçlardan hareketle, jelatinaz enzimi üzerindeki en yüksek inhibisyon aktivite artışının, bakır (Cu^{2+}) hibrit nanoçiçek yapılarının sentezlenmesiyle meydana geldiği kanıtlanmaktadır (Grafik 5.2.).



Grafik 5.2. 1 mg/mL konsantrasyondaki tüm bitki ekstreleri ve hibrit nanoçiçek yapılarının varlığında, ortamdaki MMP aktivitesinin karşılaştırılması

Ayrıca, çinko (Zn^{2+}) hibrit nanoçiçek formlarının jelatinaz enzim inhibisyonu yerine, enzimlerin aktivitesinde ve reaksiyon kinetiğinde artışa yol açtığı belirlenmiştir. Söz konusu MMP enzimlerinin aktif bölgelerinde taşıdığı çinko (Zn^{2+}) iyonlarındna dolayı, bu durumun gerçekleşmiş olabileceği düşünülmektedir.

Farklı bilim dallarında yapılan pek çok araştırmada nanoyapıların, normal haldeki yapılara kıyasla çeşitli üstünlükleri ve avantajlarının olduğu ortaya konulmuştur. Tez çalışmamız doğrultusunda da sentezlenen hibrit organik-inorganik nanoçiçek yapılarının, farklı enzimler üzerinde inhibisyon gücünün daha yüksek olduğu tespit edilmiştir.

Özetle, hyaluronidaz enzimi üzerinde çinko (Zn^{2+}) hibrit nanoçiçek yapılarının inhibisyonu daha etkili bulunmuş iken; jelatinaz (MMP-2/MMP-9) enzimi üzerinde ise bakır (Cu^{2+}) hibrit nanoçiçek yapılarının daha yüksek inhibisyon gücüne sahip oldukları tespit edilmiştir.





6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Cildin yaşlanmasıyla ve olumsuz çevre şartlarıyla oluşan istenmeyen kırışıklıklar ve gergin olmayan cilt yapısı dış görünüşümüzü etkileyen fiziksel bir problem olarak düşünülmesinin yanında, modern yaşamın getirdiği hayat tarzıyla birlikte pek çok kişinin sosyal hayatını da ciddi boyutlarda etkilemektedir. Bu sebeple her yaşta ve cinsiyetten insanların özellikle modern yaşamın içine, hayatlarının her döneminde cildine ve bakımına özen göstererek estetik, genç ve yıpranmamış bir görünümünü sürdürebek ya da kavuşmak istedikleri bilinmektedir.

Farmakognozi bilimi kapsamında, geçmişten günümüze dek aktarılan geleneksel halk tıbbındaki bilgiler ışığında modern batı tıbbında, çeşitli bitkisel ekstraktları içeren preparatların ya da izole edilen aktif bileşiklerin farmakolojik etkinliğine dair detaylı bilimsel çalışmalar yapılagelmektedir. Bitkisel içerikli bir ürünün etkili, kaliteli ve güvenli olmasında, söz konusu bitkinin yetiştirilme koşulları, toplanma zamanı, kurutulma şekli, ekstraksiyon yöntemi, dozu, konsantrasyonu ve standardizasyonu gibi parametreler son derece önemli rol oynamaktadır. Doğal ortamda yetişen bitkiler stres altında kaldığında veya başka bitkilerle beraber yetiştirildiğinde istenilen aktif maddeyi üretmektedirler (Dattner, 2003). Tüm bu koşulların sağlanması sonucunda farklı farmasötik formlarda ürünler geliştirilmiş olup; etkili, güvenli ve kaliteli olduğu gösterilerek gerekli ruhsat ya da izinleri alınıp ilaç ve kozmetik sektörüne kazandırılmıştır. Doğanın iyileştirici gücüne olan talep, söz konusu sektörlerin pazar payına da yansımıştır.

Literatür taramalarından ve çeşitli etnobotanik araştırmalardan hareketle ülkemizde halk arasında, bitkilerin geleneksel yöntemlerle halk ilacı haline getirilmesi ile pek çok cilt sorununa şifa sağlandığı bilinmektedir. Bu bitkiler arasından seçilen tez materyallerimizin, bilimsel olarak etkinliği *in vitro* koşullarda gösterilmiş olup, bu bitkilerden hareketle iki farklı hibrit nanoçiçek yapıları da sentezlenmiştir. Elde edilen bu hibrit nanoyapıların, hyaluronidaz ve jelatinaz enzimleri üzerinde, normal bitki ekstraktlarına kıyasla daha yüksek inhibisyon gücüne sahip oldukları görülmüştür.

Çalışmalarımız için seçilen bitkilerin, söz konusu enzimler üzerindeki aktivitelerinin daha önce çalışılmamış olması ve organik-inorganik hibrit nanoçiçek formlarının da ilk kez sentezlenmiş olması sebebiyle bilim dünyasına yeni veriler kazandırılmaktadır. Ayrıca insanların hemen hemen her alanda olduğu gibi, cilt ürünlerinde de kimyasal ve sentetik kaynaklı preparatlardan ziyade, bitkisel ve doğal kaynaklı ürünlere yöneldiği gözlemlenebilmektedir. Bu durumunun sebepleri arasında, doğal içerikli ürünlerin daha az yan etki profili göstermesi ve daha temiz içeriğe sahip olması sayılabilir. Bu sebeplerin bir sonucu olarak fitokimyasal içeriğe sahip ürünlerin/preparatların, dermokozmetik sektöründeki pazar payının giderek hız kazandığı da aşıkardır.

Tüm bunların yanında, geneleksel halk tıbbında uzun yıllardır kullanım öyküsüne sahip olan bitkilerden hareketle, etnofarmakolojik araştırmaların ışığında yeni bir ilacın ya da preparatın geliştirilmesi, yapay/sentetik ürünlere kıyasla daha az risk barındırmaktadır. Geleneksel şifa kaynaklarımıza yönelerek, yeni nesil farmasötik preparatların meydana çıkarılması oldukça akılcı ve güvenilir bir fırsat olarak değerlendirilebilir (Gürbüz, ve diğerleri, 2019).

Hastalıklardan korunmak ya da tedavi amacıyla bitkilerin kullanılması sırasında bitkisel ürünler zararsızdır yanılıısına düşölmemesi gerekir. Unutulmamalıdır ki, 16.yüzyılın en önemli bilim insanlarından olan ve modern tıbbın kurucularından birisi olarak kabul edilen Paracelsus'un da belirttiğı gibi, doğadaki her şey zehirdir, zehir ile şıfayı birbirinden ayıran ise dozudur. Bitkiler doğada kendisini böceklerden, enfeksiyonlar (bakteri, virüs ve mantar kaynaklı) gibi doğal düşmanlardan koruyabilmek için oldukça toksik maddeler üretebilmektedirler. Örneğın, kodein, morfin, digitoksin gibi kalp glikozitleri, salisilik asit, rezerpin, kolşisin, belladona alkaloidleri, antrakinonlar, efedrin, opioidler, kafein, teofilin gibi pek çok toksik olabilecek fitokimyasal bileşikleri ihtiva eden bitkiler bulunmaktadır. Bu sebeple, bitkiler ve bitkisel ürünler daima bilimin ışığında ve belirli dozlarda oldukça dikkatli kullanılmalıdır. Aksi takdirde istenmeyen sonuçlar ve yan etkiler gelişebilir (Erdem ve Eren, 2009). İnsanlar tarafından masum olarak görölen bitkileri kullanmadan önce, özellikle günümüzdeki yaygın bilgi kirliliğinden ve medyada yer alan eksik/hatalı bilgilerden şıfa aramak yerine; Farmakognozi uzmanlarının yaptığı

bilimsel çalışmalardan yararlanılması gerektiğinin ne kadar önemli olduğu da açığa çıkmaktadır.

Tez kapsamındaki çalışmalarımızın neticesinde, giderek hız kazanan doğal içeriğe sahip ilaç ve dermokozmetik sektöründe daha yenilikçi formülasyonların oluşturulmasına katkı sağlanacaktır. Gelecek yıllarda bahsi geçen bu bitki özlerinin ve organik-inorganik hibrit nanoçiçek yapılarının kullanılmasıyla ilgili, başta toksisite çalışmaları olmak üzere daha detaylı bilimsel araştırmaların yapılması ve bilim dünyasına kazandırılması planlanmaktadır. Söz konusu çalışmaların sonucunda cilt problemlerinde kullanılabilecek standardize ekstreleri içeren etkili, kaliteli ve güvenilir ticari preparat/preperatların elde edilmesi ve ülkemizin fitokozmetik sektörüne kazandırılması amaçlanmaktadır.



KAYNAKLAR

- Aguilar, A., Camacho, J. R., Chino, S., Jacquez, P., & López, M. E. (1994). Herbario medicinal del IMSS. *Información etnobotánica. Instituto Mexicano del Seguro Social. Mexico, DF, Mexico.*
- Altinkaynak, C., Ildiz, N., Baldemir, A., Özdemir, N., Yilmaz, V., & Öcsoy, İ. (2019). Synthesis of organic-inorganic hybrid nanoflowers using *Trigonella foenum-graecum* seed extract and investigation of their anti-microbial activity. *Derim*, 36(2), 159-167.
- Altinkaynak, C., Tavlasoglu, S., Ozdemir, N., & Ocsoy, I. (2016). A new generation approach in enzyme immobilization: Organic-inorganic hybrid nanoflowers with enhanced catalytic activity and stability. *Enzyme and Microbial Technology*, 93, 105-112
- Altinkaynak, C., Tavlasoglu, S., Kalin, R., Sadeghian, N., Ozdemir, H., Ocsoy, I., & Özdemir, N. (2017). A hierarchical assembly of flower-like hybrid Turkish black radish peroxidase-Cu²⁺ nanobiocatalyst and its effective use in dye decolorization. *Chemosphere*, 182, 122-128.
- Altinkaynak, C., Yilmaz, I., Koksall, Z., Özdemir, H., Ocsoy, I., & Özdemir, N. (2016). Preparation of lactoperoxidase incorporated hybrid nanoflower and its excellent activity and stability. *International Journal of Biological Macromolecules*, 84, 402-409.
- Ambasta, S. P., & Ramchandran, K. (1986). *The useful plants of India*. Publication and Information Directorate. CSIR, New Delhi, 109.
- Argueta, A., Gallardo, V. M. C., & Instituto Nacional Indigenista (Mexico). (1994). *Atlas de las plantas de la medicina tradicional mexicana*. México, D.F: Instituto Nacional Indigenista, 1786.
- Arukwe, U., Amadi, B. A., Duru, M. K. C., Agomuo, E. N., Adindu, E. A., Odika, P. C., Leke, K.C., Egejuru, L., & Anudike, J. (2012). Chemical composition of *Persea americana* leaf, fruit and seed. *International Journal of Recent Research and Applied Studies*, 11(2), 346-349.
- Asgarpanah, J., & Roohi, E. (2012). Phytochemistry and pharmacological properties of *Equisetum arvense* L. *Journal of Medicinal Plants Research*, 6(21), 3689-3693.
- Athaydes, B. R., Alves, G. M., de Assis, A. L. E. M., Gomes, J. V. D., Rodrigues, R. P., Campagnaro, B. P., Nogueira, B. V., Silveria, D., Kuster, R., M., Pereira, T., M., C., Kitagawa, R. R. & Gonçalves., R., C. R. (2019). Avocado seeds (*Persea americana* Mill.) prevents indomethacin-induced gastric ulcer in mice. *Food Research International*, 119, 751-760.
- Aydemir, E. H. (2013). Deri yaşlanması. *Okmeydanı Tıp Dergisi*, 29, 89-93

- B.M. Carlson (2019). Skin. In *The Human Body: Linking Structure and Function*. London: Academic Press, 65-85.
- Badole, S., & Kotwal, S. (2014). *Equisetum arvense*: Ethanopharmacological and Phytochemical review with reference to osteoporosis. *International Journal of Pharmaceutical Science and Health Care*, 1, 131-41.
- Baharvand Ahmadi, B., Bahmani, M., Naghdi, N., Saki, K., Baharvand Ahmadi, S., & Rafieian Kopaei, M. (2015). Medicinal plants used to treat infectious and non-infectious diseases of skin and skin appendages in city of Urmia, northwest Iran. *Der Pharmacia Lettre*, 7(11), 189-196.
- Bai, H. P., Lu, X. X., Yang, G. M., & Yang, Y. H. (2008). Hydrogen peroxide biosensor based on electrodeposition of zinc oxide nanoflowers onto carbon nanotubes film electrode. *Chinese Chemical Letters*, 19(3), 314-318.
- Baldemir, A., Köse, N. B., Ildız, N., İlgün, S., Yusufbeyoğlu, S., Yilmaz, V., & Ocsoy, I. (2017). Synthesis and characterization of green tea (*Camellia sinensis* (L.) Kuntze) extract and its major components-based nanoflowers: a new strategy to enhance antimicrobial activity. *RSC Advances*, 7(70), 44303-44308.
- Barbieri, J. S., Wanat, K., & Seykora, J. (2014). *Skin: Basic structure and function*. In Mcmanus, L. M., & Mitchell, R. N. (Eds.), *Pathobiology of human disease: a dynamic encyclopedia of disease*. San Diego: Academic Press, 1134-1144.
- Bebbington, A. M., & Wright, R. G. (2007). *Toxicity of Equisetum to horses*. Ontario Ministry of Agriculture, Food and Rural Affairs.
- Bekele-Tesemma, A., Birnie, A., & Tengnas, B. (1993). Useful Trees and Shrubs for Ethiopia. Regional Soil Conservation Unit. *Swedish International Development Authority: Stockholm*.
- Berk, S., Tepe, B., Arslan, S., & Sarikurkcü, C. (2011). Screening of the antioxidant, antimicrobial and DNA damage protection potentials of the aqueous extract of *Asplenium ceterach* DC. *African Journal of Biotechnology*, 10(44), 8902-8908.
- Bor, E., Durbilmez G. D., & Koca Çalışkan, U. (2020, 3-4 September) *The Investigation Of Hyaluronidase Inhibition: Plant Extract Used For Skin Problems In Folk Medicine And Its Hybrid Nanoflowers*. Paper presented at the 10th International Phytocosmetics and Phytotherapy Congress (IPPC-Greece 2020 + Virtual).
- Bottcher, H. (1965). Miracle drugs. *Zagreb: Zora*, 23-139.
- Braun-Falco, O., HH, Plewing G. W., & Burgdorf, W. H. C. (2000). *Dermatology Second. Completely Revised Edition*, 147-48.
- Bulur, I. (2016). Yaşlanma ve Deri / Aging And Skin. *Osmangazi Tıp Dergisi*, 38 (1).

- Bulut, Y. (2006). Useful Plants of Manavgat District (Antalya). *Master Thessis, Süleyman Demirel University, Institute of Science, Isparta*.
- Bulut, Z., & Yilmaz, H. (2010). The current situation of threatened endemic flora in Turkey: Kemaliye (Erzincan) case. *Pakistan Journal of Botany*, 42(2), 711-719.
- Callagari L., Montolivo G. (1938). Chemical and pharmacological studies on *Malva sylvestris* L. I. Chrmical composition and vitamin contenet. *Bollettino della Società Italiana di Biologia Speriment*. 13: 201-202.
- Carrió, E., & Vallès, J. (2012). Ethnobotany of medicinal plants used in Eastern Mallorca (Balearic Islands, Mediterranean Sea). *Journal of Ethnopharmacology*, 141(3), 1021-1040.
- Chen, J., Shi, Y. P., & Liu, J. Y. (2003). Determination of noradrenaline and dopamine in Chinese herbal extracts from *Portulaca oleracea* L. by high-performance liquid chromatography. *Journal of Chromatography A*, 1003(1-2), 127-132.
- Chowdhary, C. V., Meruva, A., & Elumalai, R. K. A. (2013). A Review On Phytochemical and Pharmacological Profile Of *Portulaca Oleracea* Linn.(Purslane). *International Journal of Research in Ayurveda & Pharmacy*, 4(1).
- Classen, B., & Blaschek, W. (1998). High molecular weight acidic polysaccharides from *Malva sylvestris* and *Alcea rosea*. *Planta Medica*, 64(07), 640-644.
- Cobley, L. S. (1976). *An introduction to the botany of tropical crops* (No. 2. ed.). Longman.
- Crane, E., & Walker, P. (1984). *Pollination directory for world crops*. International Bee Research Association.
- Csóka, A. B., Frost, G. I., & Stern, R. (2001). The six hyaluronidase-like genes in the human and mouse genomes. *Matrix Biology*, 20(8), 499-508.
- Csóka, A. B., Scherer, S. W., & Stern, R. (1999). Expression analysis of six paralogous human hyaluronidase genes clustered on chromosomes 3p21 and 7q31. *Genomics*, 60(3), 356-361.
- Cui, J., & Jia, S. (2017). Organic–inorganic hybrid nanoflowers: A novel host platform for immobilizing biomolecules. *Coordination Chemistry Reviews*, 352, 249-263.
- Çimen Oral, D. (2007). *Konya ilinde kullanılan halk ilaçları üzerinde etnobotanik araştırmalar*. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.

- Dattner, A. M. (2003). From medical herbalism to phytotherapy in dermatology: Back to the future. *Dermatologic Therapy*, 16(2), 106-113.
- Davis, P. H. (1967). *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*, Edinburgh at the University press, Printed in Great Britain by Robert Cunningham and Sons Limited, Alva, 13-14.
- Davis, P. H. & Coode, M. J. E & Cullen, J. (1965). *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*. Volume 2: 402-408, University Press, Edinburgh.
- Davis, P.H. (1965–1985). *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*. Vols. 1–9. 1st ed. Edinburgh, UK: University Press.
- Davis, P.H., Mill, R.R., & Tan, K. (1988). *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*. Vol. 10 (Supplement). 1st ed. Edinburgh, UK: University Press.
- Del Refugio Ramos, M., Jerz, G., Villanueva, S., López-Dellamary, F., Waibel, R., & Winterhalter, P. (2004). Two glucosylated abscisic acid derivatives from avocado seeds (*Persea americana* Mill. Lauraceae cv. Hass). *Phytochemistry*, 65(7), 955-962.
- Dillard, C. J., & German, J. B. (2000). Phytochemicals: nutraceuticals and human health. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 80(12), 1744-1756.
- Durbilmez, G. D., Bor, E., Dönmez, C., Geçili, F., Özdemir, N., & Çalışkan, U. K. (2019) Synthesis of Hybrid Nanoflowers with Plant Extracts Traditionally Utilized In Skin Problems and Their Activity Profile. In I. International Aromatic Plants and Cosmetic Symposium, 45-54.
- Durusoy, Ç., & Ulusal, B. G. (2007). Dermatolojide bitkisel tedavi-fitoterapi. *Türk Dermatoloji Dergisi*, 1, 47-50.
- Dweck, A. C. (2001). Purslane (*Portulaca oleracea*) - The Global Panacea. *Personal Care Management*, 2, 7-15.
- Emets, T. I., Steblyuk, M. V., Klyuev, N. A., & Petrenko, V. V. (1994). Some components of the seed oil of *Malva sylvestris*. *Chemistry of Natural Compounds*, 30(3), 292-294.
- Erdem, S., & Eren, P. A. (2009). Adverse effects of herbal medicines and products. *Türk Hijyen ve Deneysel Biyoloji Dergisi*, 66(3), 133-141.
- Ernst, E. (2000). The usage of complementary therapies by dermatological patients: a systematic review. *British Journal of Dermatology*, 142(5), 857-861.
- Ezekwe, M. O., Omara-Alwala, T. R., & Membrahtu, T. (1999). Nutritive characterization of purslane accessions as influenced by planting date. *Plant Foods for Human Nutrition*, 54(3), 183-191.

- FAO, (1994). Neglected Crops 1492 from a Different Perspective (Edited by J.E. Hernández Bermejo and J. León), *FAO Plant Production and Protection Series*, no.26, ISBN 92-5-103217-3, Page 10.
- Farage, M. A., Miller, K. W., Elsner, P., & Maibach, H. I. (2007). Structural characteristics of the aging skin: a review. *Cutaneous and Ocular toxicology*, 26(4), 343-357.
- Faydaoğlu, E., & Sürücüoğlu, M. S. (2011). Geçmişten günümüze tıbbi ve aromatik bitkilerin kullanılması ve ekonomik önemi. *Kastamonu Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi*, 11(1), 52-67.
- Fraser, J. R. E., Laurent, T. C., & Laurent, U. B. G. (1997). Hyaluronan: its nature, distribution, functions and turnover. *Journal of Internal Medicine*, 242(1), 27-33.
- Gasparetto, J. C., Martins, C. A. F., Hayashi, S. S., Otuky, M. F., & Pontarolo, R. (2012). Ethnobotanical and scientific aspects of *Malva sylvestris* L.: a millennial herbal medicine. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 64(2), 172-189.
- Ge, J., Lei, J., & Zare, R. N. (2012). Protein–inorganic hybrid nanoflowers. *Nature Nanotechnology*, 7(7), 428-432.
- Glesinger, L. (1954). Medicine through centuries. *Zagreb: Zora*, 21-38.
- Guarrera, P. M. (2003). Food medicine and minor nourishment in the folk traditions of Central Italy (Marche, Abruzzo and Latium). *Fitoterapia*, 74(6), 515-544.
- Guil, J. L., Torija, M. E., Gimenez, J. J., & Rodriguez, I. (1996). Identification of fatty acids in edible wild plants by gas chromatography. *Journal of Chromatography A*, 719(1), 229-235.
- Gurbuz, I., Yesilada, E., & Ito, S. (2009). An anti-ulcerogenic flavonol diglucoside from *Equisetum palustre* L. *Journal of Ethnopharmacology*, 121(3), 360-365.
- Güner, A., Özhatay, N., Ekim, T., & Başer, K.H.C. (2000). *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*. Vol. 11 (Supplement 2). 1st ed. Edinburgh, UK: University Press.
- Gürbüz, İ., Özkan, A. M. G., Akaydın, G., Salihoğlu, E., Günbatan, T., Demirci, F., & Yeşilada, E. (2019). Folk Medicine In Düzce Province (Turkey). *Turkish Journal of Botany*, 43(6), 769-784.
- Hanlidou, E., Karousou, R., Kleftoyanni, V., & Kokkini, S. (2004). The herbal market of Thessaloniki (N Greece) and its relation to the ethnobotanical tradition. *Journal of Ethnopharmacology*, 91(2-3), 281-299.

Hayat, A., Temamogullari, F., Yilmaz, R., & Karabulut, O. (2011). Effect of *Equisetum arvense* on Wound Contraction of. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 10(1), 81-83.

Iranshahy, M., Javadi, B., Iranshahi, M., Jahanbakhsh, S. P., Mahyari, S., Hassani, F. V., & Karimi, G. (2017). A review of traditional uses, phytochemistry and pharmacology of *Portulaca oleracea* L. *Journal of Ethnopharmacology*, 205, 158-172.

Ishtiaq, M., Hanif, W., Khan, M. A., Ashraf, M., & Butt, A. M. (2007). An ethnomedicinal survey and documentation of important medicinal folklore food phytonims of flora of Samahni valley,(Azad Kashmir) Pakistan. *Pakistan Journal of Biological Sciences*, 10(13), 2241-2256.

İnternet: Anti-Aging Skin Care / Matrix Metalloproteinases and Your Skin. Web: <http://anti-aging skincare.weebly.com/-matrix-metalloproteinases.html> adresinden 5 Mayıs 2020 tarihinde alınmıştır.

İnternet: ERÜ-TAUM (Erciyes Üniversitesi – Teknoloji Araştırma ve Uygulama Merkezi) Web: <http://taum.erciyes.edu.tr/lab.html> adresinden 15 Aralık 2020 tarihinde alınmıştır.

İnternet: ITIS (Integrated Taxonomic Information System) – *Portulaca oleracea* L. Web: https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=20422#null adresinden 23 Nisan 2020 tarihinde alınmıştır.

İnternet: ITIS (Integrated Taxonomic Information System) *Asplenium ceterach* L. Web: https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=616715#null adresinden 23 Nisan 2020 tarihinde alınmıştır.

İnternet: ITIS (Integrated Taxonomic Information System) *Equisetum arvense* L. Web: https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=17152#null adresinden 23 Nisan 2020 tarihinde alınmıştır.

İnternet: ITIS (Integrated Taxonomic Information System) *Malva sylvestris* L. Web: https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=21840&print_version=SCR&source=from_print#null adresinden 23 Nisan 2020 tarihinde alınmıştır.

İnternet: ITIS (Integrated Taxonomic Information System) *Persea americana* Mill. Web: https://www.itis.gov/servlet/SingleRpt/SingleRpt?search_topic=TSN&search_value=18154#null adresinden 23 Nisan 2020 tarihinde alınmıştır.

İnternet: The Food and Agriculture Organization Corporate Statistical Database (2016). Avocado. Web: https://id.wikipedia.org/wiki/Daftar_negara_menurut_produksi_alpukat#cite_note-1 adresinden 01 Mayıs 2020 tarihinde alınmıştır.

İnternet: TÜBİVES (Türkiye Bitkileri Veri Servisi/Turkish Plants Data Service) Web: <http://www.tubives.com/> adresinden 23 Nisan 2020 tarihinde alınmıştır.

Marks, J. G., & Miller, J. J. (2019), Structure and Function of the Skin, *Lookingbill and Marks' Principles of Dermatology*. Elsevier Inc., 2-10.

Jena, B. K., & Raj, C. R. (2008). Seedless, surfactantless room temperature synthesis of single crystalline fluorescent gold nanoflowers with pronounced SERS and electrocatalytic activity. *Chemistry of Materials*, 20(11), 3546-3548.

Joshi, A. R., & Joshi, K. (2000). Indigenous knowledge and uses of medicinal plants by local communities of the Kali Gandaki Watershed Area, Nepal. *Journal of Ethnopharmacology*, 73(1-2), 175-183.

Karadeniz, A., Cinbilgel, I., Gün, S. Ş., & Çetin, A. (2015). Antioxidant activity of some Turkish medicinal plants. *Natural Product Research*, 29(24), 2308-2312.

Karawya, M. S., Balbaa, S. I., & Afifi, M. S. A. (1971). Investigation of the carbohydrate contents of certain mucilaginous plants. *Planta Medica*, 20(03), 14-23.

Kass, E. H., & Seastone, C. V. (1944). The role of the mucoid polysaccharide (hyaluronic acid) in the virulence of group A hemolytic streptococci. *Journal of Experimental Medicine*, 79(3), 319-330.

Kaya, Z., & Raynal, D. J. (2001). Biodiversity and conservation of Turkish forests. *Biological Conservation*, 97(2), 131-141.

Kelly, K. (2009). *The history of medicine*. New York: Facts on file, 29-50.

Khan, J., Alexander, A., Saraf, S., & Saraf, S. (2013). Recent advances and future prospects of phyto-phospholipid complexation technique for improving pharmacokinetic profile of plant actives. *Journal of Controlled Release*, 168(1), 50-60.

Kharisov, B. I. (2008). A review for synthesis of nanoflowers. *Recent Patents on Nanotechnology*, 2(3), 190-200.

Koca Çalışkan U., Altinkaynak C., Dönmez C., Eruygur N., Özdemir N. (2018, 28-30 October) *Synthesis and Evaluation of Copper-Sericin Hybrid Nanoflowers: Novel Products for Drug and Dermocosmetic Industry with Enhanced Enzyme Inhibitory Features*. Paper presented at 2nd International Cosmetic Congress, Antalya, Turkey.

Koca Çalışkan U., Özdemir N., Altinkaynak C., Aka C. (2017, 27-29 November) *Novel Nanobiocatalyst of Hybrid Nanoflowers Comprising Medicinal Plant Extracts for potential Applications in Medicine and Cosmetics*. Paper

presented at the 6th International Phytocosmetics and Phytotherapy Congress (IPPC-Brazil), Sao Paulo, Brasil.

- Kunow, M. A. (2003). *Maya Medicine: Traditional healing in Yucatan*. New Mexico: University of New Mexico Press, 129.
- Kültür, Ş. (2007). Medicinal plants used in Kırklareli province (Turkey). *Journal of Ethnopharmacology*, 111(2), 341-364.
- Kültür, Ş., Ecevit-Genç, G., & Erarslan, Z. B. Medicinal Plants Traditionally Used to Treat Skin Diseases in Turkey–Eczema, Psoriasis, Vitiligo. *Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 44(1), 137-166.
- Lakkakula, J. R., Matshaya, T., & Krause, R. W. M. (2017). Cationic cyclodextrin/alginate chitosan nanoflowers as 5-fluorouracil drug delivery system. *Materials Science and Engineering: C*, 70, 169-177.
- Lee, S. W., Cheon, S. A., Kim, M. I., & Park, T. J. (2015). Organic–inorganic hybrid nanoflowers: types, characteristics, and future prospects. *Journal of Nanobiotechnology*, 13(1), 54.
- Leporatti, M. L., & Impieri, M. (2007). Ethnobotanical notes about some uses of medicinal plants in Alto Tirreno Cosentino area (Calabria, Southern Italy). *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 3(1), 34.
- Lima, C. R., Vasconcelos, C. F. B., Costa-Silva, J. H., Maranhão, C. A., Costa, J., Batista, T. M., Carneiro, E.M., Soares, L.A.L., Ferreira F. & Wanderley, A. G. (2012). Anti-diabetic activity of extract from *Persea americana* Mill. leaf via the activation of protein kinase B (PKB/Akt) in streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*, 141(1), 517-525.
- Liu, Y., Ji, X., & He, Z. (2019). Organic–inorganic nanoflowers: from design strategy to biomedical applications. *Nanoscale*, 11(37), 17179-17194.
- Madan, K., & Nanda, S. (2018). *In-vitro* evaluation of antioxidant, anti-elastase, anti-collagenase, anti-hyaluronidase activities of safranal and determination of its sun protection factor in skin photoaging. *Bioorganic Chemistry*, 77, 159-167.
- Malamas, M., & Marselos, M. (1992). The tradition of medicinal plants in Zagori, Epirus (northwestern Greece). *Journal of Ethnopharmacology*, 37(3), 197-203.
- Mao, C. J., Wang, D. C., Pan, H. C., & Zhu, J. J. (2011). Sonochemical fabrication of 8-hydroxyquinoline aluminum (Alq3) nanoflowers with high electrogenerated chemiluminescence. *Ultrasonics Sonochemistry*, 18(2), 473-476.
- Matlawska, I. (1994). The flavonoids from the flowers of *Malva sylvestris* L. (Malvaceae). *Acta Poloniae Pharmaceutica*, 51, 167-167.

- McMullan, D. (1995). Scanning electron microscopy 1928–1965. *Scanning*, 17(3), 175-185.
- Meyer, K. (1971). Hyaluronidases. In Boyer P.D. (Ed.) *The Enzymes* (Vol. 5), Elsevier, Academic press, 307-320.
- Moreno-Urbe, V. (2008). Herbolaria y tradición en la región de Xico. *Mexico: Veracruz, Diseño Editorial*.
- Morton, J. F. (1987). *Fruits of warm climates*. Florida Flair Books, Miami, USA, 91-102
- Mukarram, M., Ahmad, I., & Ahmad, M. (1984). HBr-Reactive acids of *Malva sylvestris* seed oil. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 61(6), 1060-1060.
- Nagula, R. L., & Wairkar, S. (2019). Recent advances in topical delivery of flavonoids: A review. *Journal of Controlled Release*, 296, 190-261.
- Nelly, A., Annick, D. D., & Frederic, D. (2008). Plants used as remedies antirheumatic and antineuralgic in the traditional medicine of Lebanon. *Journal of Ethnopharmacology*, 120(3), 315-334.
- Novais, M. H., Santos, I., Mendes, S., & Pinto-Gomes, C. (2004). Studies on pharmaceutical ethnobotany in Arrábida natural park (Portugal). *Journal of Ethnopharmacology*, 93(2-3), 183-195.
- Odhav, B., Beekrum, S., Akula, U. S., & Baijnath, H. (2007). Preliminary assessment of nutritional value of traditional leafy vegetables in KwaZulu-Natal, South Africa. *Journal of Food Composition and Analysis*, 20(5), 430-435.
- Odugbemi, T. (2006). Medicinal plants as antimicrobials In: Outline and pictures of Medicinal plants from Nigeria. *University of Lagos press*. ISBN, 53-64.
- Oğuz O. (2002). Yaşlılık ve deri, *Türkiye Klinikleri Journal of Dermatology*; 12: 225-228.
- Oh, H., Kim, D. H., Cho, J. H., & Kim, Y. C. (2004). Hepatoprotective and free radical scavenging activities of phenolic petrosins and flavonoids isolated from *Equisetum arvense*. *Journal of Ethnopharmacology*, 95(2-3), 421-424.
- Oliveira, I., Valentão, P., Lopes, R., Andrade, P. B., Bento, A., & Pereira, J. A. (2009). Phytochemical characterization and radical scavenging activity of *Portulaca oleraceae* L. leaves and stems. *Microchemical Journal*, 92(2), 129-134.
- Owolabi, M. A., Jaja, S. I., & Coker, H. A. (2005). Vasorelaxant action of aqueous extract of the leaves of *Persea americana* on isolated thoracic rat aorta. *Fitoterapia*, 76(6), 567-573.

- Özhatay, N., Kültür, Ş., & Gürdal, B. (2015). Check-list of additional taxa to the Supplement Flora of Turkey VII. *İstanbul Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 45(1), 61-86.
- Özhatay, N., Kültür, Ş., & Gürdal, B. (2017). Check-list of additional taxa to the supplement flora of Turkey VIII. *Istanbul Journal of Pharmacy*, 30-44.
- Öztürk, M., Seçmen, Ö., Gemici, Y., Görk, G. (1990). *Ege Bölgesi Bitki Örtüsü*, Baskı: Tükelmat A. Ş., ISBN: 975-375-006-4, İzmir, s. 74.
- Öztürk, Ö. G. (2013). Matriks Metalloproteinaz Enzim Ailesi. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*, 22(2), 209-220.
- Pamplona-Roger, G.D.(1999). Encyclopedia of Medicinal Plants, Safeliz Publication, Spain, 719 -720.
- Peksel, A., Arisan-Atac, I., & Yanardag, R. (2006). Antioxidant Activities of Aqueous Extracts Of Purslane (*Portulaca Oleracea* subsp. sativa L.). *Italian Journal of Food Science*, 18(3), 295-308.
- Petrovska, B. B. (2012). Historical review of medicinal plants' usage. *Pharmacognosy Reviews*, 6(11), 1.
- Phillipson, J. D., & Melville, C. (1960). An investigation of the alkaloids of some British species of *Equisetum*. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 12(1), 506-508.
- Pieroni, A., Quave, C. L., Villanelli, M. L., Mangino, P., Sabbatini, G., Santini, L., Bocetti, T., Profili, M., Ciccio, T., Rampa, L., G., Antonini, G., Girolamini, C., Cecchi, M. & Tomasi, M. (2004). Ethnopharmacognostic survey on the natural ingredients used in folk cosmetics, cosmeceuticals and remedies for healing skin diseases in the inland Marches, Central-Eastern Italy. *Journal of Ethnopharmacology*, 91(2-3), 331-344.
- Pirbalouti, A. G., Yousefi, M., Nazari, H., Karimi, I., & Koohpayeh, A. (2009). Evaluation of burn healing properties of *Arnebia euchroma* and *Malva sylvestris*. *Electronic Journal of Biology*, 5(3), 62-6.
- Pittayaprupek, P., Meephansan, J., Prapapan, O., Komine, M., & Ohtsuki, M. (2016). Role of matrix metalloproteinases in photoaging and photocarcinogenesis. *International Journal of Molecular Sciences*, 17(6), 868.
- Povolotskaya, A. V., Povolotskiy, A. V., & Manshina, A. A. (2015). Hybrid nanostructures: synthesis, morphology and functional properties. *Russian Chemical Reviews*, 84(6), 579.
- Reicherter J. M. (2015). Anatomy and physiology for polygraph examiners. In Krapohl, D., & Shaw, P. (Eds.), *Fundamentals of Polygraph Practice*, Academic Press, 29-60.

- Roig, J.T. (1998). Ciencia Técnica (Ed.) *Plantas medicinales, aromáticas o venenosas de Cuba*. Habana, Cuba.
- Rundhaug, J. E. (2005). Matrix metalloproteinases and angiogenesis. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 9(2), 267-285.
- Sandhu, N. S., Kaur, S., & Chopra, D. (2010). *Equisetum arvense*: pharmacology and phytochemistry—a review. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 3(3), 146-150.
- Savaş, N. (2018). *Avokado (Persea americana) ve Oğulotu (Melissa officinalis) fonksiyonel besinlerinin, Caenorhabditis elegans termotoleransı üzerine etkilerinin incelenmesi*. Yüksek Lisans Tezi, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Aydın.
- Scherrer, A. M., Motti, R., & Weckerle, C. S. (2005). Traditional plant use in the areas of monte vesole and ascea, cilento national park (Campania, Southern Italy). *Journal of Ethnopharmacology*, 97(1), 129-143.
- Semalty, A., Semalty, M., Rawat, M. S. M., & Franceschi, F. (2010). Supramolecular phospholipids–polyphenolics interactions: The PHYTOSOME® strategy to improve the bioavailability of phytochemicals. *Fitoterapia*, 81(5), 306-314.
- Shende, P., Kasture, P., & Gaud, R. S. (2018). Nanoflowers: the future trend of nanotechnology for multi-applications. *Artificial Cells, Nanomedicine, and Biotechnology*, 46(sup1), 413-422.
- Simopoulos, A. P., Norman, H. A., & Gillasp, J. E. (1995). Purslane in human nutrition and its potential for world agriculture. *Plants in Human Nutrition*, Vol. 77, 47-74.
- Simopoulos, A. P., Norman, H. A., Gillasp, J. E., & Duke, J. A. (1992). Common purslane: a source of omega-3 fatty acids and antioxidants. *Journal of the American College of Nutrition*, 11(4), 374-382.
- Somturk, B., Hancer, M., Ocsoy, I., & Özdemir, N. (2015). Synthesis of copper ion incorporated horseradish peroxidase-based hybrid nanoflowers for enhanced catalytic activity and stability. *Dalton Transactions*, 44(31), 13845-13852.
- Sun, J., Ge, J., Liu, W., Lan, M., Zhang, H., Wang, P., Wang, Y., & Niu, Z. (2014). Multi-enzyme co-embedded organic–inorganic hybrid nanoflowers: synthesis and application as a colorimetric sensor. *Nanoscale*, 6(1), 255-262.
- Tabeshpour, J., Razavi, B. M., & Hosseinzadeh, H. (2017). Effects of Avocado (*Persea americana*) on metabolic syndrome: a comprehensive systematic review. *Phytotherapy Research*, 31(6), 819-837.
- Tangül, Ş. (2016). Deri yaşlanması ve antioksidanların önemi. *Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 40(1), 36-53.

- Tcheghebe, T. O., Nyamen, L. D., Tatong, N. F., & Seukep, A. J. (2016). Ethnobotanical uses, phytochemical and pharmacological profiles, and toxicity of *Persea americana* Mill.: an overview. *Pharmacol Online*, 215, 213-221.
- Temamogullari, F., Hayat, A., & Baba, F. (2009). Effects of yarrow extract on wound healing in rabbits. *Journal of Animal and Veterinary Advances*, 8(6), 1204-1206.
- Tırnaksız, F., & Kaymak, Y. (2008). Hyalüronik Asit. *Türkiye Klinikleri Journal of Dermatology*, 18(1), 9-16.
- Tolksdorf, S., & McCready, M. H. (1949). The turbidimetric assay of hyaluronidase. *The Journal of Laboratory and Clinical Medicine*, 34(1), 74-89.
- Tomou, E. M., & Skaltsa, H. (2018). Phytochemical investigation of the fern *Asplenium ceterach* (Aspleniaceae). *Natural Product Communications*, 13(7), 1934578X1801300715.
- Torres, L. O., Pérez, M. E. T., & Contreras, A. A. (2005). *Plantas medicinales de la medicina tradicional mexicana para tratar afecciones gastrointestinales: estudio etnobotánico, fitoquímico y farmacológico*. Edicions Universitat Barcelona.
- Tosi, B., Tirillini, B., Donini, A., & Bruni, A. (1995). Presence of scopoletin in *Malva sylvestris*. *International Journal of Pharmacognosy*, 33(4), 353-355.
- Tosun, I., Karadeniz, B., & Yüksel, S. (2003). Samsun yöresinde tüketilen yenabilir bazı yabani bitkilerin nitrat° İçerikleri. *Ekoloji Çevre Dergisi*, 12(47), 32-34.
- Toutfaire, M., Bauwens, E., & Debacq-Chainiaux, F. (2017). The impact of cellular senescence in skin ageing: A notion of mosaic and therapeutic strategies. *Biochemical Pharmacology*, 142, 1-12.
- Tucakov, J. (1964). Pharmacognosy. *Beograd: Institute for text book issuing in SR. Srbije*, 11–30.
- Turan, M., Kordali, S., Zengin, H., Dursun, A., & Sezen, Y. (2003). Macro and micro mineral content of some wild edible leaves consumed in Eastern Anatolia. *Acta Agriculturae Scandinavica, Section B-Plant Soil Science*, 53(3), 129-137.
- Tuzlacı, E., & Aymaz, P. E. (2001). Turkish folk medicinal plants, part IV: Gönen (Balıkesir). *Fitoterapia*, 72(4), 323-343.
- Tuzlacı, E., & Tolon, E. (2000). Turkish folk medicinal plants, part III: Şile (Istanbul). *Fitoterapia*, 71(6), 673-685.

- Ugurlu, E., & Secmen, O. (2008). Medicinal plants popularly used in the villages of Yunt Mountain (Manisa-Turkey). *Fitoterapia*, 79(2), 126-131.
- Uzun, E., Sariyar, G., Adersen, A., Karakoc, B., Ötük, G., Oktayoglu, E., & Pirildar, S. (2004). Traditional medicine in Sakarya province (Turkey) and antimicrobial activities of selected species. *Journal of Ethnopharmacology*, 95(2-3), 287-296.
- Üremiş, İ., & Uygur, F. N. (1999). Minimum, optimum and maximum germination temperatures of some important weed species in the Çukurova Region of Turkey. *Türkiye Herboloji Dergisi*, 2(2), 1-12.
- Valiakos, E., Marselos, M., Sakellaridis, N., Constantinidis, T., & Skaltsa, H. (2017). Ethnopharmacological approach to the herbal medicines of the “Elements Alpha to Delta” in Nikolaos Myrepsos’ *Dynameron*. Part II. *Journal of Ethnopharmacology*, 205, 246-260.
- Viegi, L., Pieroni, A., Guarrera, P. M., & Vangelisti, R. (2003). A review of plants used in folk veterinary medicine in Italy as basis for a databank. *Journal of Ethnopharmacology*, 89(2-3), 221-244.
- Vokou, D., Katradi, K., & Kokkini, S. (1993). Ethnobotanical survey of Zagori (Epirus, Greece), a renowned centre of folk medicine in the past. *Journal of Ethnopharmacology*, 39(3), 187-196.
- Vural, H., Eşiyok, D., & Duman, İ., (2000). *Kültür Sebzeleri (Sebze Yetiştirme)*, Ege Üniversitesi Basımevi, Bornova, İzmir, 414- 417.
- Wang, X., Shi, J., Li, Z., Zhang, S., Wu, H., Jiang, Z., Yang, C., & Tian, C. (2014). Facile one-pot preparation of chitosan/calcium pyrophosphate hybrid microflowers. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 6(16), 14522-14532.
- Wei, Y., Yang, R., Yu, X. Y., Wang, L., Liu, J. H., & Huang, X. J. (2012). Stripping voltammetry study of ultra-trace toxic metal ions on highly selectively adsorptive porous magnesium oxide nanoflowers. *Analyst*, 137(9), 2183-2191.
- Weindl, G., Schaller, M., Schäfer-Korting, M., & Korting, H. C. (2004). Hyaluronic acid in the treatment and prevention of skin diseases: molecular biological, pharmaceutical and clinical aspects. *Skin Pharmacology and Physiology*, 17(5), 207-213.
- Wellmann, M. (Ed.) (1958). *Pedanii Dioscuridis Anazarbei de materia medica libri quinque*. Berlin, Weidmannsche Verlagsbuchhandlung.
- Wenzel, G. E., Fontana, J. D., & Correa, J. B. (1990). The viscous mucilage from the weed *Portulaca oleracea*, L. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 24(1), 341-353.

- White, J. W., & Crane, E. (1975). Honey a Comprehensive Survey. *by Eva Crane, Morrison and Gibb Ltd*, 194-206.
- Wiar, C. (2006). *Ethnopharmacology of medicinal plants*. New Jersey: Humana Press, 1-50.
- Wimmer Fr. (Ed.) (1866) *Theophrastos Eresius*. De Historia plantarum IX, 18, Paris. In Greek.
- Wollina, U. (2011). Geriatric dermatology. *Clinics in Dermatology*, 29(1), 1-2.
- Xiang, L., Xing, D., Wang, W., Wang, R., Ding, Y., & Du, L. (2005). Alkaloids from *Portulaca oleracea* L. *Phytochemistry*, 66(21), 2595-2601.
- Xu, X., Yu, L., & Chen, G. (2006). Determination of flavonoids in *Portulaca oleracea* L. by capillary electrophoresis with electrochemical detection. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 41(2), 493-499.
- Yaar, M., & Gilchrest, B. A. (2003). Aging of skin. *Fitzpatrick's Dermatology in General Medicine*, 2, 1697-1706.
- Yan, T., Cheng, F., Wei, X., Huang, Y., & He, J. (2017). Biodegradable collagen sponge reinforced with chitosan/calcium pyrophosphate nanoflowers for rapid hemostasis. *Carbohydrate Polymers*, 170, 271-280.
- Yapar, E. A., & Tanrıverdi, S. T. (2016). Yaşlanma karşıtı kozmetik yaklaşımlar ve ürün bileşenleri. *Balıkesir Sağlık Bilimleri Dergisi*, 5(2), 99-109.
- Yasir, M., Das, S., & Kharya, M. D. (2010). The phytochemical and pharmacological profile of *Persea americana* Mill. *Pharmacognosy Reviews*, 4(7), 77.
- Yazici, I., Türkan, I., Sekmen, A. H., & Demiral, T. (2007). Salinity tolerance of purslane (*Portulaca oleracea* L.) is achieved by enhanced antioxidative system, lower level of lipid peroxidation and proline accumulation. *Environmental and Experimental Botany*, 61(1), 49-57.
- Yeşilada, E. (2002). *Biodiversity in Turkish folk medicine*. In *Biodiversity*. Springer, Boston, MA, 119-135.
- Yeşilada, E., Honda, G., Sezik, E., Tabata, M., Fujita, T., Tanaka, T., Takedai Y. & Takaishi, Y. (1995). Traditional medicine in Turkey. V. Folk medicine in the inner Taurus Mountains. *Journal of Ethnopharmacology*, 46(3), 133-152.
- Yeşilada, E., Sezik, E., Honda, G., Takaishi, Y., Takeda, Y., & Tanaka, T. (1999). Traditional medicine in Turkey IX: Folk medicine in north-west Anatolia. *Journal of Ethnopharmacology*, 64(3), 195-210.
- Yılmaz, G. (2018). Some Medicinal Plants Used as Folk Medicine for Dermatological Diseases in European Turkey. *Current Perspectives on Medicinal and Aromatic Plants (CUPMAP)*, 1(1), 48-52.

- Yue, M. E., Jiang, T. F., & Shi, Y. P. (2005). Simultaneous determination of noradrenaline and dopamine in *Portulaca oleracea* L. by capillary zone electrophoresis. *Journal of Separation Science*, 28(4), 360-364.
- Zhang, B. L., Li, P. T., Zhang, H. P., Fan, L. L., Wang, H., Li, X. J., Tian, L., Ali, N., Ali, Z., Zhang, Q. Y., (2016). Papain/Zn 3 (PO 4) 2 hybrid nanoflower: preparation, characterization and its enhanced catalytic activity as an immobilized enzyme. *RSC Advances*, 6(52), 46702-46710.
- Zhang, J. Y., Chen, X. G., & Ma, X. (2002). Quantification of noradrenaline and dopamine in *Portulaca oleracea* L. by capillary electrophoresis with laser-induced fluorescence detection. *Analytica Chimica Acta*, 471(2), 203-209.
- Živković, S., Popović, M., Dragišić-Maksimović, J., Momčilović, I., & Grubišić, D. (2010). Dehydration-related changes of peroxidase and polyphenol oxidase activity in fronds of the resurrection fern *Asplenium ceterach* L. *Archives of Biological Sciences*, 62(4), 1071-1081.
- Živković, S., Skorić, M., Šiler, B., Dmitrović, S., Filipović, B., Nikolić, T., & Mišić, D. (2017). Phytochemical characterization and antioxidant potential of rustyback fern (*Asplenium ceterach* L.). *Lekovite Sirovine*, 37, 15-20.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı : BOR
Adı : Emrah
Uyruğu : T.C.

Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet Tarihi
Doktora	Gazi Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Farmakognozi Ana Bilim Dalı	Devam ediyor
Lisans	Gazi Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi	2014
Lise	Nuh Mehmet Baldöktü Anadolu Lisesi/Kayseri	2009

İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
2016–Devam ediyor	T.C. Sağlık Bakanlığı, Türkiye İlaç ve Tıbbi Cihaz Kurumu (TİTCK), İlaç ve Eczacılık Başkan Yardımcılığı, İlaç Ruhsatlandırma Dairesi	Eczacı

Yabancı Dil

İngilizce

Bilimsel Faaliyetler

BOR, Emrah; DURBİLMEZ, Gökşen Dilşat; KOCA ÇALIŞKAN, Ufuk. (2020) The Investigation Of Hyaluronidase Inhibition: Plant Extract Used For Skin Problems In Folk Medicine And Its Hybrid Nanoflowers. In *10th International Phytocosmetics and Phytotherapy Congress (IPPC-Greece 2020 + Virtual)*

DURBİLMEZ, G. D., **BOR, E.**, DÖNMEZ, C., GEÇİLİ, F., ÖZDEMİR, N., & ÇALIŞKAN, U. K. (2019) Synthesis of Hybrid Nanoflowers with Plant Extracts Traditionally Utilized In Skin Problems and Their Activity Profile. In *I. International Aromatic Plants and Cosmetic Symposium* (p. 45-54).

KOCA ÇALIŞKAN, Ufuk; AKA, Ceylan; **BOR, Emrah.** (2017) Melatonin in Edible and Non-Edible Plants. *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences*, 14(1), 75.

Halk Tıbbında Cilt Üzerinde Kullanılan Bitki Ekstrelerinin Nanoçiçek Metodu İle Hazırlanması Ve Etkinliklerinin *İn-Vitro* Yöntemlerle Araştırılması, **Proje No: BAP - 02/2018-12**, (Proje Tutarı: 33.893 TL), *Proje Araştırmacısı* (2018-2020)

Hyaluronik Asitin Biyoteknolojik Olarak Üretimi ve Kozmetikte Kullanımı (Ankara - 2014). Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi, Mezuniyet Araştırma Projesi, 3.lük Ödülü.



GAZİLİ OLMAK AYRICALIKTIR..

