



**ÜLKEMİZDE YETİŞEN BAZI *POLYGONUM* L. TÜRLERİNİN
RESVERATROL İÇERİĞİ BAKIMINDAN DEĞERLENDİRİLMESİ**

Tuğsen DOĞRU

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
FARMAKOGNOZİ ANABİLİM DALI**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

MAYIS 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.

Tuğsen DOĞRU

ÜLKEMİZDE YETİŞEN BAZI *POLYGONUM* L. TÜRLERİNİN RESVERATROL
İÇERİĞİ BAKIMINDAN DEĞERLENDİRİLMESİ
(Yüksek Lisans Tezi)

Tuğsen DOĞRU

GAZİ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLER ENSTİTÜSÜ
Mayıs 2021

ÖZET

Bitkilerde patojenlere karşı oluşan fenolik yapıdaki resveratrol bir fitoaleksindir ve yerfıstığı (*Arachis hypogea* L.) ile şarabın yanı sıra üzüm kabuğu (*Vitis vinifera* L.) ve Japon madımağı (*Polygonum cuspidatum* Sieb.et Zucc.) gibi tıbbi bitkiler de ana kaynağını oluşturmaktadır. Resveratrol antienflamatuvar, kardiyoprotektif, antikanser, antioksidan, yaşlanma karşıtı etki gibi farklı farmakolojik özellikleri nedeniyle gıda desteği olarak satılmakta ve kozmetik ürünlerde sıklıkla kullanılmaktadır. Polygonaceae familyasında yer alan *Polygonum* L. cinsi, ülkemizde 8'i endemik olmak üzere 43 takson ile temsil edilmektedir. Farklı türler üzerinde yara iyi edici, antienflamatuvar, antibakteriyel, antiviral, antioksidan, immünomodülatör, yaşlanma karşıtı ve östrojenik etki çalışmaları *in vitro/in vivo/in silico* yöntemler ile yapılmış olup, bu aktivitelerin bazılarında içeriğinde bulunan resveratrolün sorumlu olduğu sonucuna varılmıştır. Bu nedenle *Polygonum* türleri, halk arasında gıda olarak ve tıbbi etkilerinden dolayı kullanılmasının yanı sıra resveratrol kaynağı olması nedeniyle de dikkat çekmektedir. Ülkemizde yetişen *Polygonum* türleri daha önce resveratrol içeriği yönünden değerlendirilmemiş olup, bu tez kapsamında ilk defa değerlendirilmiştir. Tez materyallerimizden *Polygonum aviculare* L., *P. cognatum* Meissn., *P. patulum* Bieb. subsp. *patulum* ve *P. setosum* Jacq. subsp. *setosum*, Konya ilinden Mayıs 2020'de toplanmıştır. Bitkilerin farklı kısımlarından hareketle hazırlanan etanollü ekstrlerde LC-MS QTOF analizi ile resveratrol saptanmamıştır. Ancak yapılan literatür taramasında son zamanlarda yapılan çalışmalar ile Japonya'da ve Çin'de resveratrol kaynağı olarak kullanılan *P. cuspidatum* türünün *Polygonum* cinsinden ayrılarak *Reynoutria* cinsine geçtiği ve tür isminin *Reynoutria japonica* olarak kabul edildiği saptanmıştır. *Polygonum* türlerinin toprak üstü kısımlarından ve köklerinden hazırlanan etanol ekstrleri, literatürdeki çalışmalar da dikkate alınarak kozmetik ilişkili elastaz, kolajenaz ve tirozinaz (TYR) enzim inhibitör aktiviteleri yönünden farklı konsantrasyonlarda ELISA mikropak okuyucu kullanılarak test edilmiştir. *Polygonum* türlerinin kök ekstrlerinin orta derecede TYR inhibitör aktiviteye sahip olduğu, *P. cognatum* kök ekstrisinin kolajenaz enzimine karşı güçlü inhibisyon gösterdiği bulunmuştur. *P. aviculare* kök ekstrisinin 333 µg/mL konsantrasyonunda en yüksek anti-elastaz aktiviteye sahip olduğu saptanmıştır. Sonuç olarak çalışılan *Polygonum* türlerinin kozmetik ilişkili TYR, elastaz, kolajenaz enzimlerine karşı inhibitör etkiye sahip olduğu, özellikle bitkilerin köklerinden hareketle hazırlanan ekstrlerde aktivitelerin daha yüksek olduğu saptanmıştır. Ekstreler üzerinde yapılan LC-MS QTOF analizi ile kateşin ve kersetin glukozitlerinin etkiden sorumlu bileşikler olabileceği sonucuna varılmıştır.

Bilim Kodu : 1017
Anahtar Kelimeler : *Polygonum*, LC-MS QTOF, resveratrol, elastaz, kolajenaz, tirozinaz Sayfa Adedi : 83
Danışman : Doç. Dr. Fatma Sezer ŞENOL DENİZ
İkinci Danışman : Prof. Dr. Osman TUGAY

EVALUATION OF RESVERATROL CONTENT OF SOME *POLYGONUM* L.
SPECIES GROWING IN TURKEY
(M. Sc. Thesis)

Tuğsen DOĞRU

GAZİ UNIVERSITY
GRADUATE SCHOOL OF HEALTH SCIENCES
MAY 2021

ABSTRACT

Resveratrol is a phytoalexin with a phenolic structure occurs against pathogens in plants and medicinal plants such as grape skin (*Vitis vinifera* L.) and Japanese knotweed (*Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc.) are its main source, as well as peanuts (*Arachis hypogea* L.) and wine. Resveratrol is sold as a food supplement due to its different pharmacological properties such as anti-inflammatory, cardioprotective, anticancer, antioxidant, and anti-aging effects and is frequently used in cosmetic products. The genus *Polygonum* L., which is in the Polygonaceae family, is represented by 43 taxa, 8 of which are endemic in Turkey. The biological activity studies like wound healing, anti-inflammatory, antibacterial, antiviral, antioxidant, immunomodulator, anti-aging, and estrogenic effects on different *Polygonum* species were conducted with *in vitro* / *in vivo* / *in silico* methods, and it was concluded that resveratrol was responsible for some of these activities. For this reason, *Polygonum* species attract attention because of being a source of resveratrol as well as being used as food and for medicinal effects in traditional medicine. *Polygonum* species grown in our country have not been evaluated in terms of resveratrol content before and have been evaluated for the first time within the scope of this thesis. The plant material of *P. aviculare* L., *P. cognatum* Meissn., *P. patulum* Bieb. subsp. *patulum* and *P. setosum* Jacq. subsp. *setosum* was collected from Konya in May 2020. Resveratrol was not detected by LC-MS QTOF in ethanolic extracts prepared from different parts of the plant species. However, based on the literature survey on recent studies, the *P. cuspidatum* species, which is used as a source of resveratrol in Japan and China, was distinguished from the *Polygonum* genus and passed into the *Reynoutria* genus; hence, now the accepted plant name is *Reynoutria japonica*. The ethanol prepared from the aerial parts and roots of *Polygonum* species were tested for cosmetic-related elastase, collagenase and tyrosinase (TYR) enzyme inhibitory activities at different concentrations using an ELISA microplate reader, considering the similar studies in the literature. Root extracts of *Polygonum* species were found to have moderate TYR inhibitory activity, and *P. cognatum* root extract showed potent inhibition against collagenase. Our results indicated that *P. aviculare* root extract had the highest anti-elastase activity at a concentration of 333 µg/mL. Based on our results it was concluded that the *Polygonum* species studied have inhibitory activity against cosmetics-related TYR, elastase, collagenase enzymes, and the activities were higher in extracts prepared from the roots of the plants. With the LC-MS QTOF analysis performed on the extracts, we concluded that catechin and quercetin glucosides might be the compounds responsible for the activities.

Science Code : 1017

Key Words : *Polygonum*, LC-MS QTOF, resveratrol, elastase, collagenase, tyrosinase

Page Number : 83

Supervisor : Assoc. Prof. Dr. Fatma Sezer ŞENOL DENİZ

Co- Supervisor : Prof. Dr. Osman TUGAY

TEŞEKKÜR

Bilgisini ve tecrübesini benimle paylaşarak çalışmalarımı en doğru ve özverili şekilde yürütmemi sağlayan, her zaman örnek aldığım ve alacağım, tez konumun belirlenmesinden çalışmaların gerçekleştirilmesine kadar tüm aşamalarda bana destek olan, anlayışını ve hoşgörüsünü hiçbir zaman esirgemeyen, Değerli Danışman Hocam Doç. Dr. Fatma Sezer ŞENOL DENİZ'e tüm emekleri için çok teşekkür ederim.

Tez çalışmamda bilgi ve tecrübeleriyle değerli yorum ve önerilerini benimle paylaşan, tez konumu belirlemede yardımcı olan, Gazi Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dekanı Değerli Hocam Prof. Dr. İlkey ERDOĞAN ORHAN'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tezim süresince 2. Danışmanım olarak bana her türlü desteği veren, tezimde araştırma materyallerimin teminini ve teşhisini sağlayan, çalışmalarım boyunca bilgi, tecrübe ve yardımlarını esirgemeyen, Sayın Hocam Prof. Dr. Osman TUGAY'a her şey için çok teşekkür ederim.

Yüksek lisans eğitim sürecimde bilgi ve tecrübelerini eksik etmeyen Gazi Üniversitesi Farmakognozi Anabilim Dalı hocalarıma teşekkürlerimi borç bilirim.

Çalışmalarım sırasında desteklerini benden esirgemeyen, Arş. Gör. Esengül KARAHİSAR'a teşekkür ederim.

Bu tez çalışmasına 02/2020-08 kodlu proje ile maddi olanak sağlayan Gazi Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri (BAP) Koordinatörlüğüne çok teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
TEŞEKKÜR.....	vi
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	ix
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	x
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Botanik Bölüm.....	3
2.1.1. Polygonaceae familyası	3
2.1.2. <i>Polygonum</i> L. cinsi	4
2.2. Fitokimyasal Bölüm.....	6
2.3. Resveratrol	9
2.4. Resveratrol Kaynakları ve Bazı <i>Polygonum</i> Türlerinin Resveratrol İçerikleri.....	11
2.5. Cilt Yapısı ve Yaşlanma	14
2.6. Kozmetik İlgili Enzimler	17
2.7. Bitkilerin Kozmetik ve Dermokozmetik Ürünlerde Kullanımları	23
2.8. Biyolojik Aktivite Çalışmaları.....	25
2.8.1. Resveratrol üzerinde yapılan biyolojik aktivite çalışmaları	25
2.8.2. <i>Polygonum</i> türleri üzerinde yapılan biyolojik aktivite çalışmaları.....	29
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	39
3.1. Gereç	39
3.2. Yöntem.....	42
3.2.1. Ekstraksiyon ve örneklerin hazırlanması	42
3.2.2. Ekstrelerde LC-MS QTOF ile resveratrol analizi.....	42
3.2.3. Ekstrelerde LC-MS QTOF ile yapılan miktar tayini	43
3.2.4. Enzim inhibisyon tayin yöntemleri.....	43
4. BULGULAR	47
4.1. Ekstre Verimlerine Ait Bulgular	47
4.2. Ekstrelerde LC-MS QTOF ile Resveratrol Analizi Tayinine Ait Bulgular	47
4.3. Ekstrelerde LC-MS QTOF ile Yapılan Miktar Tayinine Ait Bulgular.....	53

Sayfa

4.4. Enzim İnhibisyonu Tayinlerine Ait Bulgular	54
5. TARTIŞMA.....	57
6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER	65
KAYNAKLAR	67
ÖZGEÇMİŞ	83



ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. Bazı <i>Polygonum</i> türlerinin fitokimyasal içerikleri.....	8
Çizelge 2.2. Bazı <i>Polygonum</i> türlerinin resveratrol içerikleri	13
Çizelge 2.3. Cilt yaşlanmasına karşı uygulanan farklı tedavi yöntemleri	17
Çizelge 2.4. Farklı etki mekanizmalarına dayanarak cilt üzerine etki gösteren bazı bitkilerin, kozmetik ürünlerde kullanım alanları	24
Çizelge 2.5. Bazı örneklerin melanin üretimi inhibisyon yüzdeleri	27
Çizelge 3.1. <i>Polygonum</i> türlerinin toplanma yerleri, rakımı, tarihleri ve herbaryum numaraları	39
Çizelge 3.2. HPLC ve MS parametreleri	43
Çizelge 4.1. Hazırlanan etanol ekstrelerinin % verimleri (a/a).....	47
Çizelge 4.2. Resveratrol kalibrasyon eğrisine ilişkin sonuçlar	53
Çizelge 4.3. <i>Polygonum</i> ekstrelerinde LC-MS QTOF analizi sonucu bulunan bileşikler ...	53
Çizelge 4.4. <i>Polygonum</i> ekstrelerinde LC-MS QTOF analizi sonucu bulunan bileşiklerin miktar tayini sonuçları.....	54
Çizelge 4.5. <i>Polygonum</i> ekstrelerinin elastaz, kolajenaz ve TYR enzim inhibisyonları	55

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. <i>Polygonum</i> türlerinin Türkiye’deki dağılımları.....	4
Şekil 2.2. <i>Trans</i> (sol) ve <i>cis</i> (sağ) resveratrol	9
Şekil 2.3. Resveratrol biyosentez basamakları.....	10
Şekil 2.4. Cildin yapısı.....	15
Şekil 2.5. Yaşlanma ile ciltte meydana gelen değişimler.....	15
Şekil 2.6. Resveratrolün etki mekanizması.....	26
Şekil 4.1. <i>P. cognatum</i> toprak üstü ekstresine ait MS toplam iyon kromatogramı (TİK) ve UV kromatogramı.....	48
Şekil 4.2. <i>P. cognatum</i> kök ekstresine ait MS toplam iyon kromatogramı (TİK) ve UV kromatogramı	48
Şekil 4.3. <i>P. aviculare</i> toprak üstü ekstresine ait MS toplam iyon kromatogramı (TİK) ve UV kromatogramı.....	49
Şekil 4.4. <i>P. aviculare</i> kök ekstresine ait MS toplam iyon kromatogramı (TİK) ve UV kromatogramı	49
Şekil 4.5. <i>P. patulum</i> toprak üstü ekstresine ait MS toplam iyon kromatogramı (TİK) ve UV kromatogramı	50
Şekil 4.6. <i>P. patulum</i> kök ekstresine ait MS toplam iyon kromatogramı (TİK) ve UV kromatogramı	50
Şekil 4.7. <i>P. setosum</i> toprak üstü ekstresine ait MS toplam iyon kromatogramı (TİK) ve UV kromatogramı.....	51
Şekil 4.8. <i>P. setosum</i> kök ekstresine ait MS toplam iyon kromatogramı (TİK) ve UV kromatogramı	51
Şekil 4.9. Resveratrol bileşiğine ait MS toplam iyon kromatogramı (TİK), UV kromatogramı, resveratrol’e ait ekstrakte edilmiş iyon kromatogramı (EIC)...	52
Şekil 4.10. Resveratrol bileşiğine ait MS spektrumu ve izotopik dağılımı.....	52
Şekil 4.11. LC-MS QTOF cihazında resveratrole ait MS spektrumu sonucu için yapılan kütüphane taraması ve eşleşme değerleri	52

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 3.1. <i>Polygonum aviculare</i> genel görünüm	40
Resim 3.2. <i>Polygonum cognatum</i> genel görünüm	40
Resim 3.3. <i>Polygonum patulum</i> genel görünüm	41
Resim 3.4. <i>Polygonum setosum</i> genel görünüm	41



SİMGELER VE KISALTMALAR

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

Simgeler	Açıklamalar
%	Yüzde
°C	Santigrat derece
a/a	Ağırlık/ağırlık
dk	Dakika
g	Gram
m	Metre
mg	Miligram
mL	Mililitre
mm	Milimetre
mM	Milimolar
nm	Nanometre
µg	Mikrogram
µL	Mikrolitre

Kısaltmalar	Açıklamalar
AChE	Asetilkolinesteraz (Acetylcholinesterase)
BChE	Bütirilkolinesteraz (Butyrylcholinesterase)
DMSO	Dimetilsülfoksit
DPPH	2,2-Difenil-1-pikrilhidrazil
ECM	Hücre dışı matriks (Extracellular matrix)
ELISA	Enzyme linked immunosorbent assay
GK-KS	Gaz kromatografisi-kütle spektrometresi
HNE	İnsan nötrofil elastaz
IC₅₀	50% Inhibitory concentration (%50 inhibitör konsantrasyon)
LC-MS QTOF	Liquid Chromatography-Tandem Mass Spectrometry (Sıvı Kromatografisi-Kütle-Kütle Spektrometresi)
MMP	Matriks metalloproteinaz
MİK	Minimum İnhibitör Konsantrasyon
mtDNA	Mitokondriyal DNA
NBT	Nitro mavi tetrazolyum klorür
ROS	Reaktif oksijen türleri (Reactive oxygen species)
THSG	2,3,5,4-Tetrahidroksistilben-2- <i>O</i> - β -D-glukopiranozit
TIMPs	Metalloproteinaz doku inhibitörleri
TNF-α	Tümör nekroz faktörü
TYR	Tirozinaz
TYRP1	Tirozinaz ilişkili protein 1
TYRP2	Tirozinaz ilişkili protein 2
UV	Ultraviyole
YPSK	Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
YPSK-PAD	Yüksek performanslı sıvı kromatografisi-amperometrik dedektör

1. GİRİŞ

Dünya üzerinde bitkiler eski çağlardan beri insanlar tarafından, günlük semptomları gidermek, hastalıklardan korunmak, hastalıkları tedavi etmek gibi tıbbi amaçlarla kullanılmışlardır. Sentetik ilaçların geliştirilmesi ile eski popülerliğini kaybeden bitkiler, tıp dünyasının gelişmesi, yeni tedavi arayışları içerisine girilmesi, tamamlayıcı tedavi kavramının doğmasıyla yeniden önemli hale gelmiştir. Günümüzde ise bitkiler, gerek doğrudan standardize ekstre formunda gerekse bitkinin hammadde kaynağı olarak kullanılması ile birçok hastalığın tedavisinde rol oynamaktadırlar. Bu nedenle yeni ilaç molekülü keşfinde bitkiler kolay erişilebilirlik ve ekonomik olmaları nedeniyle oldukça önemli kaynaklar arasındadır. *Artemisia annua* L. bitkisinde artemisinininden geliştirilen antimalaryal ilaçlar ve *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill meyvelerinden geliştirilen hepatit tedavisinde kullanılan terapötik ajanlar, bitkisel kaynaklardan başarılı ilaç keşfinin tipik örnekleridir (Pan ve diğerleri, 2013). 2000-2006 yıllarında, aralarında galantamin, fizostigmin, artemisinin, kinin, tübokürarin, morfin, kamptotesin, paklitaksel gibi bileşiklerin de dahil olduğu toplam 26 adet bitki orjinli bileşik, çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılmak üzere piyasaya sürülmüştür (Saklani ve Kutty, 2008).

Bu tez çalışmasında yer alan *Polygonum* L. cinsi; kersetin, poligohomoizoflavanon, kemferol 3-glikozit, kardamomin, rutin, resveratrol, tetrahidroksistilbenglukozit, proantosiyanidin B2, ökaliptol, emodin, parietin, asetofen, β sitosterol, siteorezin, α -karyofilen, epikateşin, klorojenik asit ve skualen gibi önemli fitokimyasalları içermektedir (Narasimhulu, Reddy ve Mohamed, 2014; Nkuété, Migliolo, Wabo, Tane ve Franco, 2015). Bu nedenle *Polygonum* türleri ekstre olarak kullanımlarının yanı sıra önemli bileşikleri barındırması nedeniyle önemli bir tıbbi bitkidir. Bu tez çalışmasında yurtdışında resveratrol kaynağı olarak kullanılan kabul edilen ismi *Reynoutria japonica* Houtt. olan *Polygonum cuspidatum* Sieb. & Zucc. köklerinden yola çıkılarak, ülkemizde yetişen dört *Polygonum* türünün toprak üstü ve toprak altı kısımları resveratrol içerikleri yönünden LC-MS QTOF ile ilk defa incelenmiştir.

Resveratrol, polifenolik yapıda bir fitoaleksindir ve bitkilerde stres durumlarına veya mantar enfeksiyonlarına karşı cevap olarak üretilmektedir. İlk defa *Veratrum grandiflorum* Loes. köklerinde tanımlanmış olup, kırmızı üzüm, kırmızı şarap, yer fıstığı ve Japon madımağı

olarak bilinen *P. cuspidatum* türünün köklerinde yüksek oranda bulunmaktadır (Ratz-Lyko ve Arct, 2019). Resveratrol antienflamatuvar, kardiyoprotektif, antioksidan, antiaging ve antikanser gibi farklı farmakolojik özellikleri nedeniyle sağlık ve kozmetik ürünlerinde sıklıkla kullanılmaktadır. Amerika’da gıda takviyesi olarak satılan resveratrol kapsüllerinin çoğu *P. cuspidatum* ekstresi içermekte, geriye kalanlarda ise kırmızı şarap veya kırmızı üzüm ekstreleri yer almaktadır.

Toplanan *Polygonum* türlerinden hareketle hazırlanan etanol ekstreleri resveratrol içeriklerinin yanı sıra *P. multiflorum* kozmetik ürünlerde aktif ekstre olarak yer aldığı için ekstrelerin kozmetik ürünlerde kullanımı ile ilgili potansiyelleri de *in vitro* enzim inhibisyonu yöntemleri ile değerlendirilmiştir. Elastin ve kolajen, bağ dokusunun ana bileşeni olan iki önemli proteindir. Elastin lifleri, cildin ana yük taşıyıcı bileşeni olan kolajen lifleri arasında dağınık, hassas bir ağ oluşturur (Oxlund, Manschot ve Vıdık, 1988). Bu proteinler cildin direnç ve elastikiyetinden sorumludur ve serbest oksijen radikallerinin oluşumu ile indüklenen elastaz ve kolajenaz enzimleri ile parçalanmaları cilt yaşlanmasına eşlik eden kırışıklıklara neden olur. Tirozinaz (TYR) enzimi ise mikroorganizma, bitki ve hayvanlarda yaygın olarak bulunan ve bakır içeren melanojenik bir enzimdir. Tirozinaz meyve ve mantarlarda enzimatik esmerleşmeye, insanlarda ise melanogenezise neden olmaktadır. Son zamanlarda hiperpigmentasyon tedavisi, cilt beyazlatıcı ve leke giderici amaçla kullanılmak üzere güvenli ve etkili TYR inhibitörleri arayışı önemli hale gelmiştir (Chang, 2009; Seo, Sharma ve Sharma, 2003).

Bu bilgiler ışığında *P. setosum* Jacq., *P. aviculare* L., *P. patulum* Bieb. ve *P. cognatum* Meissn. türlerinden hareketle hazırlanan ekstrelerin, kozmetik ilişkili elastaz, kolajenaz ve tirozinaz enzimlerini inhibe etme kapasiteleri de araştırılmıştır.

Bu nedenle bu çalışma, ülkemizde yaygın olarak yetişen ve endemik tür açısından zengin olan *Polygonum* türlerinin resveratrol içeriklerinin değerlendirilmesi, alternatif kaynakların ortaya çıkarılması ve yeni biyolojik aktivitelerinin araştırılması açısından literatüre katkı sağlanması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Botanik Bölüm

Bu bölümde Polygonaceae familyası, *Polygonum* cinsi ve tez materyalini oluşturan *P. setosum*, *P. cognatum*, *P. aviculare* ve *P. patulum* türlerinin botanik özellikleri ile ilgili genel bilgi verilmiştir.

P. bellardii Türkiye Florası'na göre geçerli isim olmasına rağmen daha sonra hazırlanan Türkiye Bitkileri Listesi'ne göre *P. patulum*'un sinonimi olarak verilmiştir (Coode ve Cullen, 1970; Keskin, 2012). Bu yüzden tezde geçerli isim olarak *P. patulum* verilmiştir. Fitokimyasal ve Biyolojik Aktivite bölümlerinde bahsedilen *P. bellardii* taksonu ile ilgili bilgiler "Türkiye Bitkileri Listesi" ne göre *P. patulum*'a aittir. Fakat *P. patulum* ve *P. bellardii*'nin sistematik pozisyonunun tam olarak belirlenebilmesi için sistematik çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır. Tezde çalışılan türün adının *P. patulum* olarak verilmesinin nedeni en son yayınlanan güncel kaynağın "Türkiye Bitkileri Listesi: Damarlı Bitkiler" olmasıdır (Güner, Aslan, Ekim, Vural ve Babaç, 2012).

2.1.1. Polygonaceae familyası

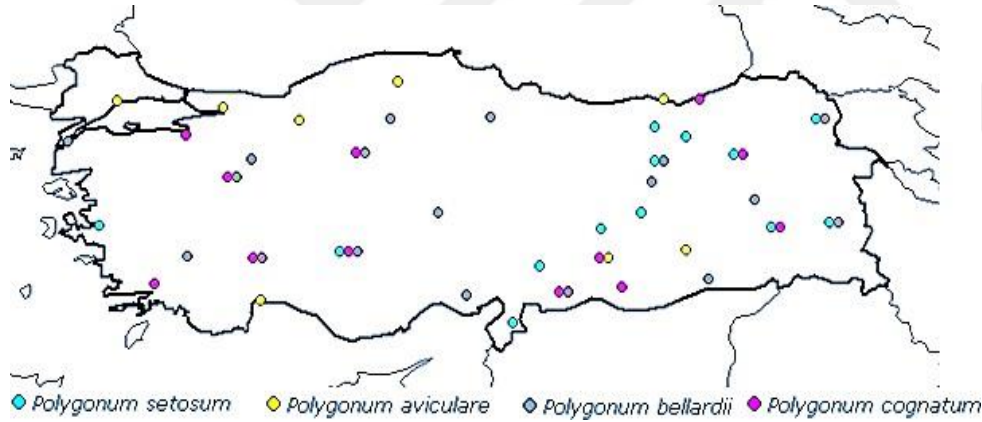
Otsu, çalı ve tırmanıcı. Yapraklar almaşık ve basit. Stipullar genellikle gövde boyunca zarsı bir boğumkını ile birleşik. Çiçekler, başak, demet ya da bileşik salkım şeklinde, erdişi ya da tek eşeyli, ışınsal. Pediseller genellikle belirgin boğumlu. Periant 3-6 parçalı, segmentler tabanda birleşik, meyvede sıklıkla geniş. Petaller yok. Stamenler 6-9, nadiren 16'ya kadar. Ovaryum üst durumlu, tek bölmeli. Stilus 2-4. Ovül 1 ve tabansal. Meyve üç açılı ya da merceksi fındıksı, meyvede periant dökülmez (Davis, 1970).

Polygonaceae, Türkiye'de kuzukulağıgiller olarak bilinmekte olup otsu, çalimsı bitkileri ve küçük ağaçcıkları içeren Angiospermae sınıfında yer alan bir familyadır. Dünya üzerinde yaklaşık 56 cins ve 1266 türle temsil edilirler. Çoğunlukla kuzey yarım kürede yayılış gösteren familya üyelerinin, yaprakları basit, lanseolat, reniform, çiçekleri erdişi veya tek eşeyli, pedisele eklenme yeri belirgindir (Geven, Bingöl ve Güney, 2008).

Ülkemizde, Polygonaceae familyası, 8 cins (*Calligonum*, *Pteropyrum*, *Atraphaxis*, *Oxyria*, *Eniex*, *Rheum*, *Rumex* ve *Polygonum*) ve 74 kadar türü ile yayılış göstermektedir (Geven ve diğerleri, 2008). Polygonaceae familyası, besin içeriği oldukça zengin ve halk tarafından sıklıkla kullanılan *Polygonum cognatum* (madımak), *Fagopyrum esculentum* Moench. (karabuğday) gibi bitkileri de içerisinde barındırmaktadır (Kan, 2011; Saraç ve diğerleri, 2018).

2.1.2. *Polygonum* L. cinsi

Tek yıllık, çok yıllık veya çalimsı bitkiler veya tırmanıcı, periant segmentleri; hemen hemen eşit, serbest veya birleşik, petaloit, stamenler genellikle 8, stigmalar 2 veya 3 adet, meyveler üç açılı veya merceksi fındıksı, meyvede en azından periantın bir kısmı kalıcı (Coode ve Cullen, 1970). Tez kapsamında kullanılan *Polygonum* türlerinin ülkemizdeki dağılımları Şekil 2.1’de verilmiştir.



Şekil 2.1. *Polygonum* türlerinin Türkiye’deki dağılımları

Polygonum cinsinin sistematikteki yeri aşağıdaki gibidir (TÜBİVES, 2021):

Alem (Kingdom) Plantae (Bitkiler alemi)

Altalem (Subkingdom) Tracheobionta

Bölüm (Division) Magnoliophyta

Sınıf (Class) Magnoliopsida Brongn.

Altsınıf (Subclass) Caryophyllidae

Takım (Ordo) Polygonales

Aile (Familia) Polygonaceae

Cins (Genus) *Polygonum*

Tez çalışmamız kapsamında topladığımız türlere ait bilgiler aşağıda yer almaktadır:

Polygonum aviculare L. (köyotu)

Tek yıllık otsu, gövde genellikle dik. Okrea internodlardan çok daha kısa, tabanda kahverengimsi, belirsiz damarlı. Yapraklar eliptik, en üstteki yaprakların aksillerinde çiçekler demet halinde. Periantlar 3 mm'den daha kısa, pembemsi veya beyaz, periant tüpü loblardan daha kısa. Tohum 2,5-3 mm (Resim 3.1).

Çiçeklenme zamanı: Temmuz-Kasım. Yükseklik 700 m (Coode ve Cullen, 1970).

Polygonum cognatum Meisn. (madımak)

Çok yıllık, ince odunsu, gövde yatıksı ve yaprağa benzer yeşil renkte. Okrea şeffaf, üç damarlı, göze çarpan, internod boyunca veya internodlardan daha uzun (nadiren daha kısa ve daha gevşek). Yapraklar oblong-eliptik, saplı ve genellikle hafif mukronat. Çiçekler, yaprak aksillerinde küme halinde. Periant pembemsi, 4-5 mm, meyvede büyüme devam etmekte. Tohum parlak (Resim 3.2).

Çiçeklenme zamanı: Mayıs-Eylül. Yol kenarları, kayalık (Coode ve Cullen, 1970).

Polygonum patulum M. Bieb. (atmercimeleği)

Tek yıllık tüysüz, dik ve yükselici, boyu 20-60 cm. Gövde ince, beyazımsı çizgili, en fazla 3 mm kalınlığında. Yapraklar eliptik, darca eliptik veya linear oblong, 12-45 x 2-12 mm, dökülücü. Brakteler yapraklardan çok daha küçük. Çiçek durumu gevşek, uçta, her bir nodda 2-3 çiçekli, çiçekler 3-4 cm. Periant kalıcı ve tohumu çevreler, üç kanatlı-ovoid. Tohumlar genellikle parlak ve benekli (Resim 3.3).

Çiçeklenme zamanı: Mayıs-Ağustos. 500-1800 m (Coode ve Cullen, 1970).

Polygonum setosum Raf. (ebemekmeği)

Çok yıllık, sert ve odunsu, gövde hemen hemen dallanmamış, dik, sıkı, tüysüz, 10-40 cm. Alttaki okrealar çentikli ve şeffaf. Yapraklar lineardan linear-lanseolata, düz veya nadiren dışa doğru kıvrık, grimsi yeşil, 5 mm'den daha az genişlikte. Çiçek durumu dallanmış spika. Periant beyazdan pembeye, pembe damarlı, yaklaşık 3 mm, braktelerden daha kısa (Resim 3.4).

Çiçeklenme zamanı: Temmuz-Eylül. Eğimli, kayalık, yamaçlar. Yükseklik 1300-3500 m (Coode ve Cullen, 1970).

2.2. Fitokimyasal Bölüm

Tez hazırlık aşamasında yapılan literatür taramalarında, tez materyalini oluşturan *Polygonum* cinsi üzerinde yurtdışında ve ülkemizde kantitatif-kalitatif olmak üzere pek çok fitokimyasal analiz çalışmalarının gerçekleştirildiği görülmüştür. Bu bölümde *Polygonum* türleri üzerinde yapılan fitokimyasal çalışmalar derlenmiştir. *Polygonum* türlerinde; flavonoidler, triterpenoidler, antrakınonlar, kumarinler, fenilpropanoidler, lignanlar, seskiterpenoidler, stilbenoidler, tanenler, proteinler, aminoasitler, karbonhidratlar ve sükröz fenilpropanoid esterleri olmak üzere pek çok primer ve sekonder metabolit saptanmıştır. Özellikle flavonoidler cinsinde çok yaygın bulunmakla beraber, cinsin kemotaksonomisinde belirleyici olarak kullanılmaktadırlar (Nkuété, Migliolo, Wabo, Tane ve Franco, 2015).

P. cognatum yapraklarından hazırlanan etanollü ekstrenin içeriği; piran-4-on, 2,3-dihidro-3,5-dihidroksi-6-metil (%15), heksadekanoik asit (%3,03), heksadekanoik asit etil esteri (%2,79), etil linoleat (%2,66), benzenasetaldehit (%4,15), etanamin, *N*-etil-*N*-nitrozo (%3,41), 1,4:3,6-dianhidro- α -D-glukopiranozit (%4,03), 2,3-dihidro-benzofuran (%3,15), izosorbit (%6,30), 2-metoksi-4-vinilfenol (%5,17), 6H-purin-6-on, 2-(dimetilamino)-1,7-dihidro (%2,70), (-)-loliolit (%2,80) olarak gaz kromatografisi-kütle spektrometresi (GK-KS) ile aydınlatılmıştır. Aynı çalışmada toplam flavonoid miktarı $12,36 \pm 0,435$ mg/g kateşin eşdeğeri bulunurken, toplam fenol miktarı $31,59 \pm 2,02$ mg/g gallik asit eşdeğeri bulunmuştur (Eruygur ve diğerleri, 2020).

P. bellardii All. üzerinde yapılan çalışmalarda bitkinin, flavonoid, antrakınon, naftakinon, seskiterpen, lignan, kumarin ve stilbenler içerdiği rapor edilmiştir. Ayrıca türden, yeni bir flavonol glikoziti olan mirisetin 3-O-(5"-asetil α -arabinofuranozit) bileşiği izole edilmiştir. Bunların yanında rutin, α -amirin, β -sitosterol ve β -sitosterol-3-O- β -glukozit bileşikler de bitkiden elde edilmiştir (Mohamed, Ibraheim, Abd El-Mawla ve Abd El-Kader, 2006). Yapılan bir çalışmada *P. bellardii* toprak üstü kısımlarından hareketle hazırlanan metanol ekstresinden, 17-hidroksipentakosanil asetat olarak tanımlanan yeni uzun zincirli yağ alkolü asetatı, yeni bir ksanton olarak tanımlanan dihidroksi-3,6-dimetoksi-ksanto-5-O-[α -L-ramnopiranozil-(1') $\rightarrow$ 2')] - β -D-glukopiranozit ve iki yeni lignan olarak tanımlanan (+)-lyonirezinol-3a-O-[α -L-ramnopiranozil-(1''' $\rightarrow$ 6'')] - β -D-glukopiranozit ve (+)-izolarisiresinol-3a-O-[α -L-ramnopiranozil-(1''' $\rightarrow$ 2'') - α -L-ramnopiranozil-(1'''' $\rightarrow$ 6'')] - β -D

glukopiranozit ve β -sitosterol-3-O-asetat bileşikleri izole edilmiştir (El-kader, Ahmed, Nafady ve Ibraheim, 2013).

P. aviculare'nin üzerinde yapılan fitokimyasal analiz çalışmalarında bitkide tanen, saponin, hidroksisinnamik asit, fenolkarboksilik asit, vitamin C, Vitamin K₁, kumarin, antrakınon glikozitleri, flavonoit, seskiterpen, uçucu yağlar ve alkaloidler saptanmıştır (Salama ve Marraiki, 2010; Yunuskhodzhaeva, Eshbakova ve Abdullabekova, 2010). Bitkinin toprak üstü kısımlarından yeni bir lignan glikoziti olan avikulin ve 4 flavonoit glikoziti olan yuglanin, avikularin, astragalin ve betmidin izole edilmiştir (Kim, Woo ve Park, 1994). Ayrıca aynı bitkide mirisetin 3-O-(3"-O-galloil)-ramnopiranozit, kemferol, liquiritin, luteolin-7-O- β -D-glukopiranozit, 6-metoksiplumbagin bileşikleri de tespit edilmiştir (Shen ve diğerleri, 2018; Yunuskhodzhaeva ve diğerleri, 2010).

P. cuspidatum köklerinde; emodin, fiksion, antraglikozit A/B, resveratrol ve resveratrol glikozitleri, piseit, rutin, kersetin ve kersetin glikozitleri, luteolin, apigenin, kateşin, klorojenik asit gibi önemli sekonder metabolitler yer almaktadır (Peng, Qin, Li ve Zhou, 2013). *P. multiflorum*'da, emodin, aloe-emodin, fiksion, sitreoresin, kersetin, kemferol, rutin, hiperozit, viteksin, stilbenoidler, resveratrol, kateşin gibi sekonder metabolitler bulunmuştur (Longfei ve diğerleri, 2015). *P. multiflorum* ve *P. cuspidatum* bitkileri, Çin halk tıbbında büyük öneme sahip ve çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılan emodin bileşiğinin kaynağı olarak gösterilmektedir (Frédérich ve diğerleri, 2011). 1954'ten beri yapılan araştırmalarda, *P. orientale* L. bitkisinde 70'ten fazla fitokimyasal bileşik olduğu saptanmıştır. Flavonoit sınıfında olan, orientin, viteksin, izoviteksin, luteolin, apigenin bileşikleri bitkinin meyvelerinde bulunan sekonder metabolitlerdendir. Ayrıca hidroksisinnamik asit, gallik asit, protokateşik asit gibi fenolik asitleri de yapısında bulundurmaktadır (Goua ve diğerleri, 2020). Yapılan başka bir fitokimyasal çalışmada, *P. hydropiper* L. bitkisinden fitosterol yapısında olan kalp damar hastalıklarında koruyucu etkisi bulunmuş, antikanser ve antioksidan aktivitesi kanıtlanmış, β -sitosterol bileşiği izole edilmiştir (Baskar ve diğerleri 2012; Jones ve AbuMweis, 2009). Bunların dışında bitki, lignanlar, yeni tanımlanan triterpenik saponozitler ve kinonlar içermektedir (Goua ve diğerleri, 2020). Türkiye'de yetişen bazı *Polygonum* türleri üzerinde yapılan fitokimyasal çalışmalar sonucunda bulunan bileşikler aşağıda verilmiştir (Çizelge 2.1) (Ayaz ve diğerleri, 2016; Mahmoudi ve diğerleri, 2019; Narasimhulu ve diğerleri 2014).

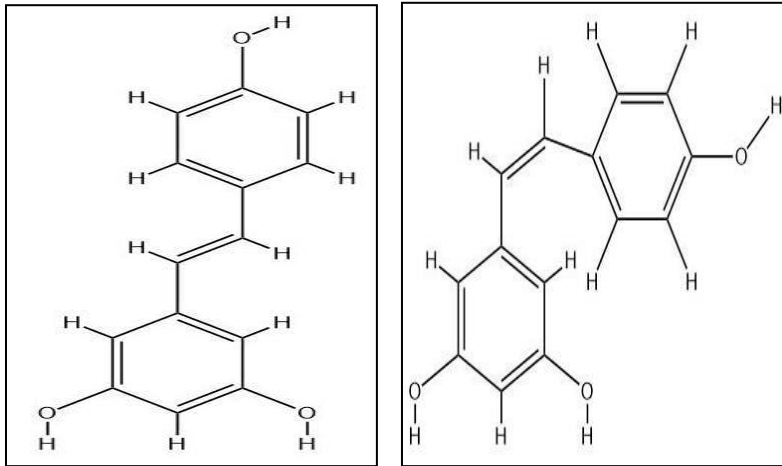
Çizelge 2.1. Bazı *Polygonum* türlerinin fitokimyasal içerikleri

Latince/Türkçe adı	Fitokimyasal bileşikler
<i>P. aviculare</i> L. / köyotu	Avicularin, kemferol, kersetin, mirsetin, kafeik asit, klorojenik asit, kumarik asit, okzalik asit, kateşin, gallik asit, naftakinon, 6-metoksiplumbagin, β -sitosterol, oleanolik asit, 5,6,7,4'-tetrametoksiflavanon
<i>P. bistorta</i> L. / çimeneveleği	3-O-metil-gallik asit, kersetin-3-O- β -D-glukopiranozit, 5-glutinen-3-on, friedelanol, 24(E)-etilidensikloartanon, 24(E)-etilidenesikloartan-3a-ol, sikloartan-3,24-dion, 24-metilenesikloartanon, c-sitosterol, β -sitosterol, β -sitosteron, friedelin, 3- β -friedelinol
<i>P. equisetiforme</i> Sibth. & Sm. / urganotu	Kinik asit, gallik asit, prokateşik asit, kafeik asit, kateşin, epikateşin, kersetin-3-O-galaktozit, kersetin-3-O ramnozit, kersetin, kemferol, cirsiliol, naringenin, luteolin
<i>P. hydropiper</i> L. / subiberi	4-metiloksazol, süksinimid, pirokateşol, karyofillen, vanilik asit, farnesol, miristik asit, arakidik asit metil esteri, kapsaisin
<i>P. lapathifolium</i> L. / tirşon	Vanikozit B, lapatozit A, 5-hidroksi-7-metoksi flavanon (pinostrobin)
<i>P. minus</i> Hudson / küçüktene	Dekanal, dodekanal, dekanol, 1-dodekanol, undekanal, tetradekanal, 1-undekanol, nonanal, 1-nonanol, β -karyofilen, rutin, kateşin, kersetin, izoramnetin, hekzanal, 1-hekzanol, α -Pinen, kemferol, undekan, nonanal, 1-nonanol, izobornil asetat, n-dekanoik asit, α -kubeben, ksantorizol, (E)-karyofilen, trans- α -bergamoten, α -bisabolol, farnesen, β -himakalen, α -selinen, valencene, δ -kadinen, alloaromadendrene, α -kurkumene, (-)- α -panasinsene, cis-lanseol, farnesol, humulene, nerolidol, dodekanoik asit, β -karyofilen oksit, trans- α -(Z)-bergamotol, tetradekanal, alloaromadendrene oksit-(1), translongipinokarveol, neoizolongifolene, 8-bromo, izokaryofilen, drimenol, drimenin, fitol, 6,7-metilendioksi- 5,3'',4'',5'' tetrametoksiflavanon, 7-4'',5''-dimetilendioksi-3,5,3''-trimetoksiflavanon
<i>P. orientale</i> L. / hanımsallandı	alphetonin, metil 3, 4-dihidroksibenzoat, apokinin, kemferol-3-O- β -D-glukozit, 1,3,5-trihidroksibenzen, 3,3'-dimetoksielajik-asit-4-O- β -D-glukozit, kemferol-3-O- α -L-ramnozit, kersetin-3-O- α -L-ramnozit, kemferol, 3,5,7-trihidroksikromon, 5,7,4'-trihidroksidihidroflavonol, dihidrokersetin, kersetin, p-hidroksifeniletanol ferulat, p-hidroksifeniletanol-p-kumarik, kateşin, izoorientin, orientin, kersetin-3-O-(2''-O- α -ramnopiranozil)- β -glukarono-piranozit, taksifoliol, luteolin, ombuine-3-O- β -D-galaktopiranozit, ombuine-3-O-rutinozit, triptofan, kersetin-3-O-metil eter, kemferol-3-O-(2''-O- α -L-ramnopiranozil)- β -D-glukuronopiranozit, kersetin-3-O- β -D-glukuronit, gallik asit, alphetonin, taksifolin, kemferol-3-O- β -D-glukozit
<i>P. perfoliatum</i> L. / kaplıçotu	4-dihidro-4-(4'-hidroksifenil)-5,7-dihidroksikumarin, 3,4-dihidro-5-hidroksi-7-metoksi-4-(4'-metoksifenil) kumarin, 3,4-dihidro-5-hidroksi-4-(4'-hidroksifenil)-7-metoksikumarin, 3,4-dihidro-5,7-dihidroksi-4-(4'-metoksifenil) kuamrin, 6'-asetil-3,6-diferuloilsükroz (heloniozit B), 2'4'6'-triasetil-3,6-diferuloilsükroz, 1'2'4'6'-tetraasetil-3,6-diferuloilsükroz, 1'2'6'-triasetil-3,6-diferuloilsükroz, 2'6'-diasetil-3,6-diferuloilsükroz, 1,3,6-tri-p-kumaroil-6'-feruloil sükroz, vanikozit A, vanikozit B, kersetin-3-O- β -D-glukuronit, 5-hidroksimetil-2-furaldehit, metil kaffeoat, protokateşik aldehit, kersetin, pinosembrin, kateşin, taksifolin, taksifolin-3-O- β -D-ksilopiranozit, 13-epitorulosal, kumarin-7-O- β -D-glukoz glikosidik, 8-okso-pinorezinol, rutin

2.3. Resveratrol

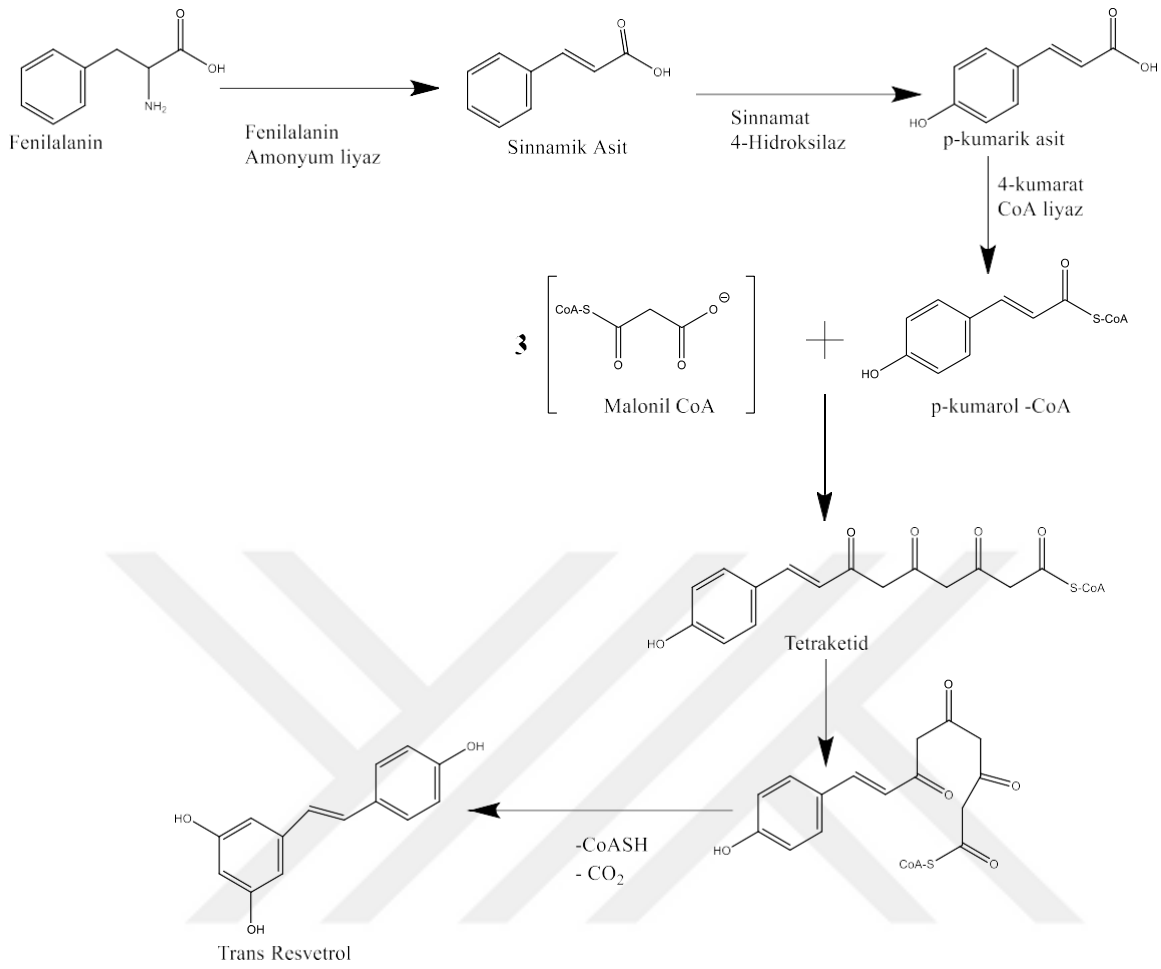
Resveratrol, üzüm (*Vitis vinifera* L.), yer fıstığı (*Arachis hypogaea* L.), Japon madımağı (*P. cuspidatum* Sieb.et Zucc.) gibi bazı bitkilerin, mantar enfeksiyonu (*Botrytis cinereu*) gibi patolojik olaylar sonucunda veya ultraviyole (UV) zararına karşı bitkinin kendisini korumak amacıyla sentezlediği bir fitoaleksindir (Fremont, 2000; Giovino, Ingrosso, Paradiso, Gara ve Santino, 2012). İlk olarak 1940 yılında keşfedilmiş, 1963 yılında *P. cuspidatum* köklerinden izole edilmiştir (Berman, Motechin, Wiesenfeld ve Holz, 2017; Nonomura ve diğerleri, 1963). Ayrıca *Botryosphaeria*, *Penicillium*, *Cephalosporium*, *Aspergillus*, *Geotrichum*, *Mucor* ve *Alternaria* gibi pek çok mantar türünün de resveratrol içerdiği tespit edilmiştir (Kataria ve Khatkar, 2019).

Resveratrolün 3,4,5-trihidroksi-*cis*-stilben ve 3,4',5-trihidroksi-*trans*-stilben olmak üzere iki izomeri bulunmaktadır ve biyolojik aktivitelerinden *trans* izomeri sorumludur (Fremont, 2000). Uluslararası Temel ve Uygulamalı Kimya Birliği'nin terminolojisine göre; resveratrol, 5-[(E)-2-(4-hidroksifenil)etenil]benzen-1,3-diol olarak adlandırılmaktadır. Temel yapısında iki fenolik halka arasında çift stiren bağı içermektedir. Bu nedenle doğada *trans* ve *cis* formları olarak bulunmaktadır (Şekil 2.2) (Thapa, Pandey, Park ve Sohng, 2019).



Şekil 2.2. *Trans* (sol) ve *cis* (sağ) resveratrol

Resveratrol (moleküler ağırlığı: 228,24 g/mol), iki aromatik halkanın metilen köprüsüyle bağlanması ile meydana gelmiş bir stilbenoittir (Wu ve diğerleri, 2001). Başlıca fenilalaninden, fenilpropanoit/malonat yolağı aracılığıyla sentezlenirler (Şekil 2.3) (Şahin ve Keser, 2017).



Şekil 2.3. Resveratrol biyosentez basamakları

Çeşitli hastalıkların tedavisi için odak noktası haline gelen resveratrol bileşiği: bitkilerden ekstraksiyon ve izolasyon, kimyasal sentez yöntemi, genetiği değiştirilmiş mikroorganizmalar kullanılarak biyoteknolojik yöntemler ile elde edilebilmektedir (Beekwilder ve diğerleri, 2006; Farina, Ferranti ve Marra, 2006; Wang, Liu ve Chen, 2013). Resveratrol, 1992 yılında Renaud ve De Lorgeril tarafından ortaya atılan Fransız paradoksu terimi ile ilgi çekmeye başlamıştır. Fransız paradoksu, Fransız halkının yüksek kalorili gıdalar tüketmelerine rağmen kalp-damar hastalıkları insidansının düşük olmasından dolayı ortaya çıkmıştır. Bu durum Fransız halkının çoğunun şarap tüketmeleri ile ilişkilendirilerek, paradoks şarabın içindeki bileşenlerin araştırılması ile aydınlatılmaya çalışılmıştır (Çatalgöl, Batirel, Taga ve Özer, 2012).

Resveratrol üzerinde antioksidan, antikanser, nöroprotektif, kardiyoprotektif, antienflamatuvar, antidiyabetik, antimikrobiyal, fotoyaşlanmayı önleyici ve fitohormonal

etki çalışmaları bulunmakla beraber, resveratrolün çok geniş bir terapötik uygulamaya sahip potansiyel bir ilaç adayı olduğu da kanıtlanmıştır (Pangeni, Sahni, Ali, Sharma ve Baboota, 2014).

Hastalıkların gelişmesinde ve kronik hastalıkların önlenmesinde önemli role sahip olduğu düşünülen resveratrolün, *in vitro* ve *in vivo* deneylerin olumlu sonuçlarından dolayı son on yılda klinik çalışmaları büyük hız kazanmıştır. Çeşitli hastalıklara karşı Faz I, Faz II, Faz III ve Faz IV aşamalarında olan çalışmaları bulunmaktadır. Prostat kanseri, kolorektal kanser, meme kanseri gibi kanser çeşitleri, Alzheimer, iskemik felç gibi nörodejeneratif hastalıklar, koroner arter, ateroskleroz, hipertansiyon, enflamasyon ve oksidatif stres kalp damar hastalıkları gibi rahatsızlıklara karşı ilaç aday molekülü veya takviye edici gıda olarak yürütülen çalışmaları devam etmektedir (Smoliga, Baur ve Hausenblas, 2011). Günümüzde resveratrolün, diyabet, böbrek yetmezliği, inflamasyon, kronik obstrüktif akciğer hastalığı, polikistik over sendromu üzerine Faz III ve endometriyozis üzerine Faz IV aşamalarına gelmiş hastalıkların tedavisinde umut vadeden çalışmaları halen sürmektedir (Patel ve diğerleri, 2011; Singh ve diğerleri, 2019).

2.4. Resveratrol Kaynakları ve Bazı *Polygonum* Türlerinin Resveratrol İçerikleri

İlk olarak 1940 yılında *Veratrum grandiflorum* (Maxim. ex Miq.) O.Loes. bitkisinde tespit edilen resveratrolün (3,4,5-trihidroksistilben), üzüm, çam ağaçları, yaban mersini ve baklagiller dahil olmak üzere 70'in üzerinde bitki türünde bulunduğu tespit edilmiştir (Cai, Knorr ve Smetanska, 2012; Takaoka, 1939). En zengin kaynaklardan biri olarak da Japon ve Çin geleneksel tıbbında önemli bir rol oynayan *P. cuspidatum* kökleri gösterilmektedir (Nonomura, Kanagawa ve Makimoto, 1963). *V. vinifera* bitkisinin 8 varyetesinde, *trans*-resveratrol, *cis*-resveratrol, ϵ -viniferin ve pterostilbenin bileşikleri analiz edilmiştir. *Trans*-resveratrol, *cis*-resveratrol, ϵ -viniferin miktarları sırasıyla ortalama 142, 0,30 ve 70 $\mu\text{g/g}$ bulunurken, pterostilbene rastlanmamıştır. *Trans*-resveratrol yüzdesi varyetelerde %2,5 ile %32,9 arasında değişmiştir (Bavaresco, Cantü, Fregoni ve Trevisan, 1997). Yapılan başka bir çalışmada, *trans*-piseit, *cis*-piseit, *trans*-resveratrol ve *cis*-resveratrolün, beyaz ve roze şaraplarındaki konsantrasyonları değerlendirilmiştir. Bu bileşiklerin ortalama konsantrasyonları; beyaz şarapta 0,480 mg/L, pembe şarapta 2,15 mg/L bulunmuştur (Romero-Pe'rez, Lamuela-Ravento's, Waterhouse ve Torre-Boronat, 1996). Ayrıca asma

yapraklarındaki resveratrol miktarını arttırmak amacıyla da çeşitli yöntemler bulunmaktadır. Asma yapraklarında resveratrol üretiminde güçlü bir elisitör olduğu gösterilen $AlCl_3$, bağlarda asma yapraklarını mantar enfeksiyonuna karşı korumak için de sıklıkla kullanılmaktadır (Adrian, Jeandet, Bessis ve Joubert, 1996).

2000 yılı sonbahar, 2001 yılı ilkbahar dönemlerinde toplanan *Arachis hypogaea* L. bitkisinin köklerinden hareketle hazırlanan metanol ekstresinde, en yüksek ve en düşük resveratrol içerikleri sırasıyla 1,330; 0,130 mg/g ve 0,063; 0,015 mg/g bulunmuştur. *Arachis* L. türlerinin kökleri tarlalarda tarımsal atık olarak da bulunabileceğinden resveratrol için iyi bir kaynak oluşturduğu düşünülmektedir (Chen, Wu ve Chiou, 2002).

Polygonum türleri arasında ise *P. cuspidatum* kökleri resveratrol kaynağı olarak sıklıkla kullanılmaktadır. Çin, *P. cuspidatum* kök ekstrelerinden hareketle *trans*-resveratrolün elde edilmesinde öncü ülkelerdendir. Birçok Çinli şirket (örneğin; Wuxi Gorunjie Technology Co. ve Shanghai DND PharmTechnology Co.), farklı saflık derecelerine sahip *trans*-resveratrol elde etmektedir (Kiselev, 2011). Yapılan bir çalışmada, Yüksek Hızlı Karşı Akım Kromatografisi (High-Speed Counter-Current Chromatography) (HSCCC) kullanılarak *P. cuspidatum* köklerinde, %2,18 *trans*-resveratrol ve %1,07 *trans*-piseit saptanmıştır (Chen, Han, Yang ve Zhang, 2001). *P. cuspidatum*'un iki varyetesinin (Hu Zhang ve Meksika Bambu) köklerinde bulunan stilbenoitler üzerinde yapılan başka bir çalışmada, köklerden resveratrolün yanı sıra piseatannol glikozit, resveratrolozit ve piseit bileşikleri de izole edilmiştir. Resveratrol miktarı varyetelerde sırasıyla 3,77 mg/g ve 2,96 mg/g olarak bulunmuştur (Vastano ve diğerleri, 2000). Bir başka çalışmada ise; *P. cuspidatum* bitkisinin farklı kısımları resveratrol içeriği açısından yüksek performanslı sıvı kromatografisi (YPSK) ile değerlendirilmiştir. Çok yıllık kök, yaprak, gövde ve tek yıllık kökün resveratrol içeriği sırasıyla 1024,96; 764,74; 123,57 ve 26,88 µg/g olarak belirlenmiştir (Haiwu ve Liuxin 2005).

P. capitatum Buch Ham. ex D Don, *P. chinensis* L., *P. cuspidatum* ve *P. multiflorum* Thunb. bitkilerinde bulunan biyoaktif bileşenlerin analizi için *P. chinensis*'in tüm bitki kısmından, kalan üç *Polygonum* türünün yaprak ve gövdelerinden hareketle metanollü ekstre hazırlanmıştır. Hazırlanan ekstrelerin, toplam fenol ve toplam flavonoit miktarını tayin etmek amacıyla sıvı kromatografisi-kütle spektrometresi (SK-KS) kullanılmıştır.

P. cuspidatum'un yaprakları ve gövdeleri, köklerden daha fazla flavonoit içeriğine sahipken, bitkinin köklerinin resveratrol ve resveratrol glikozitlerini daha fazla içerdiği tespit edilmiştir (Huang, Cai, Xing, Corke ve Sun, 2008).

P. multiflorum kök ekstresi üzerinde yapılan bir başka kantitatif/kalitatif analiz çalışmasında, köklerin kültürü yapılmış, içerdiği ana fenolik bileşikler Ultra Performanslı Sıvı Kromatografisi-Kütle Spektrometresi (Ultra Performance Liquid Chromatography-Mass Spectrometer) (UPLC-MS) ile araştırılmıştır. Transjenik bitki kökü $168,50 \pm 2,12 \mu\text{g/g}$ oranında resveratrol taşıırken, kültürü yapılmamış doğrudan doğadan temin edilen bitki kökünün $178,00 \pm 9,89 \mu\text{g/g}$ oranında resveratrol taşıdığı belirlenmiştir (Thiruvengadam, Praveen, Kim, Kim ve Chung, 2014). *P. multiflorum* kökleri ile yapılan biyoaktivite-yönlendirmeli izolasyon çalışmasında, antioksidan özelliğinden sorumlu olarak 2,3,5,4'-tetrahidroksistilben-2-O-D-glukopiranozit, 2,3,5,4'-tetrahidroksistilben, heptaasetil stilben glukozit, resveratrol-4'-O-D-glukopiranozit, piseatannol-3-O-glukopiranozit olmak üzere 4 farklı stilbenoit izole edilmiştir (Ryu ve diğerleri, 2002).

P. cillinerve (Nakai) Ohwi.'nin resveratrol ve antrakınon içeriği yönünden değerlendirildiği bir çalışmada, *P. cillinerve* rizomlarından oluşan 11 örnek Çin'in Anhui Eyaleti Bozhou şehrindeki Geleneksel Çin Tıbbı pazarından satın alınmıştır. Aynı drogtan oluşan 2 örnek ise Çin'in Henan Eyaletinde bulunan Funiu Dağı'ndan toplanmıştır. Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi-Amperometrik Dedektör (High Performance Liquid Chromatography-Pulsed Amperometric Detector) (YPSK-PAD) ile yapılan analizde bitkilerin resveratrol içerikleri $757,319 \mu\text{g/g}$ ile $894,658 \mu\text{g/g}$ arasında tespit edilmiştir (Wu, Wang, Liu, Niu ve Wu, 2017). Bazı *Polygonum* türlerinin bu çalışmalar ile tespit edilen resveratrol içerikleri Çizelge 2.2'de verilmiştir.

Çizelge 2.2. Bazı *Polygonum* türlerinin resveratrol içerikleri

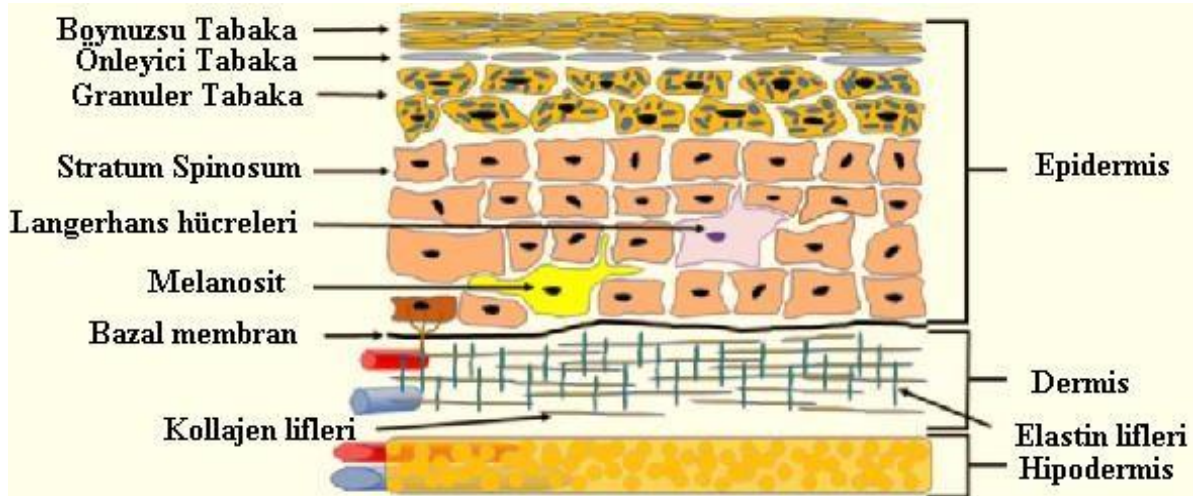
Tür	Bitki kısmı	Resveratrol içeriği	Analiz Yöntemi
<i>P. cillinerve</i>	Rizom	$757,319\text{-}894,658 \mu\text{g/g}$	YPSK-PAD
<i>P. cuspidatum</i>	Tek yıllık kök	$26,88 \mu\text{g/g}$	YPSK
	Çok yıllık kök	$1024,96 \mu\text{g/g}$	YPSK
	Yaprak	$764,74 \mu\text{g/g}$	YPSK
	Gövde	$123,57 \mu\text{g/g}$	YPSK
<i>P. multiflorum</i>	Kök	$178,00 \pm 9,89 \mu\text{g/g}$	UPLC-MS

2.5. Cilt Yapısı ve Yaşlanma

Cilt, memeli vücudunda homeostazı ve UV ışığına karşı duyarlılığı sağlayan, kas, kan ve endokrin fonksiyonlar gibi tüm vücudun ana destek sistemlerini içeren önemli bir organdır (Tobin, 2017). Cildin en önemli görevi, patojenik etkenler, UV maruziyeti ve serbest radikallere karşı fiziksel, kimyasal ve immün bariyer görevi üstlenerek vücudu korumaktır. Termoregülasyonda büyük öneme sahip olan cilt aynı zamanda vitamin D sentezi, prohormonların periferik dönüşümü gibi endokrin fonksiyonlarda sensör olarak rol alır. Cilt temel olarak üç farklı katmandan oluşur: Epidermis, dermis, hipodermis (Şekil 2.4). Epidermis, en iç tabakadan başlayarak sırayla bazal tabaka (stratum germinativum), dikenli tabaka (stratum spinosum), granüler tabaka (stratum granulosum) ve stratum corneum olmak üzere 4 kısma ayrılır. Epidermiste başlıca 3 hücre yapısı vardır; %95'ini hemidesmosomlar yardımıyla bazal membrana tutulan keratinositler, geri kalanını melanin sentezinden sorumlu olan melanosit hücreleri ve Langerhans hücreleri oluşturur. Keratinositler, epiderminin ana hücreleridir. Saç ve tırnakların yapısal proteini olan keratinin üretilmesinde ve cildin bağışıklık fonksiyonunda aktif rol oynarlar. Tümör nekroz faktörü (TNF- α) gibi sitokinlerin ve diğer enflamatuar mediyatörlerin salınımını indükler. Melanositler, yüz, bacak ve genital bölgede yüksek oranda bulunurlar ve epidermiste pigment üreten hücrelerdir. Güneşten korunmayı sağlayan melanositler, bazal tabakada her 10 keratinositte yaklaşık 1 sıklıkta bulunur. Langerhans hücreleri, stratum spinosumun keratinositleri arasında dağılmış olarak bulunur. Bu katmandaki hücrelerin %3-5'ini oluştururlar. Melanositler gibi, hemidesmozomlar aracılığıyla keratinositlere bağlanmazlar. Langerhans hücreleri, monosit makrofaj kökenlidir ve kemik iliğinden kaynak alırlar. Vücudun antijenle karşılaşması ile Langerhans hücreleri lenf düğümlerine göç eder ve T lenfositlerin antijenleri tanımasını, alınmasını, işlenmesini ve sunumunu sağlayarak immün sistemi stimüle ederler. Hyaluronik asit, Langerhans hücrelerinin olgunlaşması ve göçünde kritik bir rol oynar (James, Berger ve Elston, 2011: 1,11; Menon, 2002).

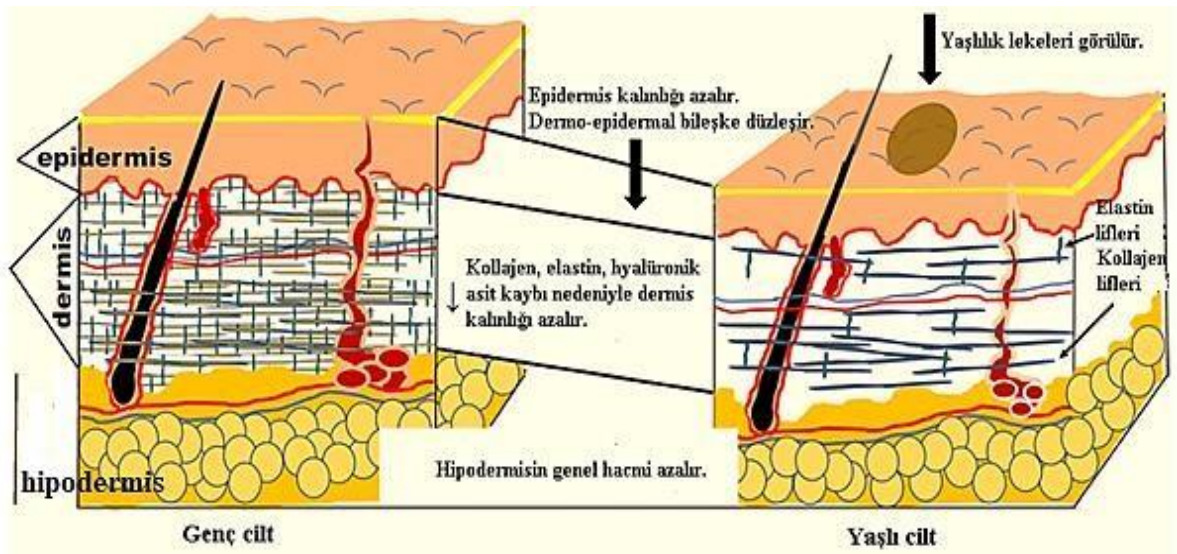
Dermis, bağ dokusu elemanlarından oluşur. Cildin büyük kısmını oluşturan dermis, hücre dışı matris (extracellular matrix) (ECM) olarak adlandırılan kolajen, elastin, glikozaminoglikanlarla beraber ECM'lerin üzerine yerleşen fibroblastlardan oluşur. Dermiste damarlar yaygın olarak bulunur ve ter bezleri, yağ bezleri, mast hücreleri, lökositleri içerir. Hipodermis cildin en derin tabakasıdır. Dermisin altında, kasın üstünde yer

alır. Vücudu ayırarak, mekanik yaralanmalardan korur ve yedek enerji kaynağı olarak görev alır. Hipodermisin ana hücreleri, bağ doku hücrelerinden biri olan adipositlerdir (Khavkin ve Ellis, 2011; James ve diğerleri, 2011: 1,11; Menon, 2002).



Şekil 2.4. Cildin yapısı (Lephart, 2018)

Yaşlanma, her canlının yaşadığı ve çeşitli değişimlerle kendini gösteren evrensel bir süreçtir. İntrinsik ve ekstrinsik yaşlanma olmak üzere 2 farklı süreçle meydana gelir. İntrinsik yaşlanma doku dejenerasyonundan kaynaklanır ve insan dermisinde, kolajen kaybı, elastik lif ağında dejenerasyon ve su kaybına bağlı dermis atrofisi olmak üzere 3 faktör ile ilişkilendirilir (Şekil 2.5).



Şekil 2.5. Yaşlanma ile ciltte meydana gelen değişimler (Lephart, 2018)

Ekstrinsik yaşlanmada ise daha çok UV ışığına maruziyet, kirlilik, yanlış beslenme gibi çevresel faktörler etkilidir (Uitto, 2008). İnsanlarda yaşlanmanın ilk göze çarpan belirtisi ciltte meydana gelen değişimlerdir. Ciltte çeşitli nedenlerle meydana gelen bu değişimler, çeşitli patolojik durumlara ya da estetik problemlere neden olduğu için bu konudaki araştırmalar son yıllarda gittikçe hızlanmıştır. 1960'larda yaşlanma ve fotoyaşlanma arasındaki fark, 1960-1980 yılları arasında yaş alma ile meydana gelen yapısal ve fonksiyonel değişiklikler, 1970'lerden sonra ise yaşlanma ile gen ekspresyonunda meydana gelen değişiklikler tanımlanmıştır. 1980'ler ve sonrasında yaşlanma/fotoyaşlanma sürecinde meydana gelen değişiklikleri önlemek için çalışmalara başlanmış, 1990'larda yaşlanmanın moleküler temelleri araştırılmıştır. Cildin yapısı, doğal etkenlerle (güneş ışığı, nem), çevresel etkenlerle (yanlış beslenme, kirlilik), dermatolojik hastalıklarla veya normal yaşlanma süreci gibi biyolojik süreçlerden sonra bozulabilir. Cildin maruz kaldığı bu etkenler, tek başına ya da sinerjik etki yaratarak cildin yapısında değişikliklere neden olabilmektedirler (Yaar, Eller ve Gilchrist, 2002). Yaşlanmanın en önemli çevresel nedenlerinden biri güneş ışınlarıdır. Cilt renginde değişiklikler, kırışıklıklar, cildin canlılığını kaybetmesi gibi çeşitli durumlara neden olan güneş ışınları özellikle güneşe sık maruz kalan yüz, boyun, göğüs üstü, eller ve kollar gibi bölgelerde daha sık değişikliklere yol açmaktadır (Helfrich, Sach ve Voorhees, 2008). Güneşin yaymış olduğu UV ışığı, dalga boyuna bağlı olarak, cildin farklı katmanlarındaki farklı hücrelerle etkileşime girerler. UV-B (280-320 nm) epidermiste bulunan keratinositleri etkiler. Cilt, UV-B ışığına maruz kalınca, kendini korumak amacıyla, melanosit sentaz enzimi ile melanin üretir (Berneburg, Plettenberg ve Krutmann, 2000; Costin ve Hearing, 2007; Pillaiyar, Manickam ve Namasivayam, 2017). Bu durum normal bir fizyolojik süreçken melaninin, anormal üretilmesi ile melanin hiperpigmentasyonunun neden olduğu cilt lekeleri gibi çeşitli dermatolojik problemlere neden olabilmektedir (Briganti, Camera ve Picardo, 2003). UV-A (320-400 nm) daha derine nüfuz eder ve hem epidermal hücrelerle hem de dermal fibroblastlarla etkileşir. UV-A ışığı, reaktif oksijen türleri (ROS) ve matris proteinlerini (kolajen, elastin, jelatin) parçalayan matriks metalloproteinazların (MMP) ekspresyonunu artırır. UV-A ışığı ile artan ROS miktarı, mitokondriyal DNA'yı (mtDNA) mutasyona uğratarak, oksidatif fosforilasyon kapasitesini azaltmaktadır. ROS ile meydana gelen DNA hasarı, cilt kanserine neden olabilecek sitokin miktarını artırır ve immünsupresyona neden olur. Ayrıca ROS, sedef hastalığı, skleroderma gibi dermatolojik hastalıkların da oluşumuna neden olur (Berneburg ve diğerleri, 2000; Trouba, Hamadeh, Amin ve Germolec, 2002).

Yapılan tüm bu araştırmalar sonucunda, ciltte meydana gelen değişikliklerin nedenleri gözetilerek farklı etkenlere karşı çeşitli yaklaşımlar ortaya çıkarmıştır (Ganceviciene, Liakou, Theodoridis, Makrantonaki ve Zouboulis, 2012; Rabe, Mamelak, McElgunn, Morison ve Sauder, 2006) (Çizelge 2.3).

Çizelge 2.3. Cilt yaşlanmasına karşı uygulanan farklı tedavi yöntemleri

Kozmetolojik Bakım	Topikal Tıbbi Ajanlar
Günlük cilt bakımı	Antioksidan (Vitamin C ve E, Proantosiyanidin, α -lipoik asit)
Güneş ışınlarından korunma (Şapkalar, güneş gözlükleri, UV koruma faktörü)	Hücre regülatörleri
İnvaziv İşlemler	Çevresel yaşlanma faktörlerinden kaçınmak
Kimyasal peelingler (glikolik asit %50)	Sigara, kirlilik, stres
Görünür ışık cihazları	UV ışığı zararı
Yoğun darbeli ışık	Beslenme ve diyet
Lazer foto gençleştirme	Fiziksel aktivite, genel sağlık
Radyofrekans	Doğal Bileşiklerle Tedavi
Enjekte edilebilir cilt biyostimülasyonu ve gençleştirme (Botulinum toksini)	Soya-izoflavonları (genistein, daidzein, glisitein)
Dinamik kırışıklıkların önlenmesi	Resveratrol
Statik, anatomik kırışıklıkların düzeltilmesi	Yeşil çay polifenolleri
Yağ ve hacim kaybı, cilt büyütme ve şekillendirme restorasyonu	Kinetin
Sistemik Ajanlar	Lutein
Hormon replasman tedavisi	Çam ağacı ekstresi
Antioksidanlar	Kojik asit

2.6. Kozmetik İlgili Enzimler

Kolajenaz enzimi

Kolajen insan derisinin ana yapı taşlarından olup, ciltteki ECM'lerin lifli elemanıdır. İnsanlarda, ECM'lerin en yaygın bileşeni olan kolajen toplam protein miktarının üçte birini, cildin kuru ağırlığının dörtte üçünü oluşturur. Hidroksiprolin, hidroksilislin ve glisin

aminoasitleri bakımından zengindir. Omurgalılarda romen rakamları ile adlandırılan 28 farklı kolajen tipi tanımlanmıştır. Bunlar yapılarına göre deri başta olmak üzere, kıkırdak, kan damarları, kemik, kornea, böbrek, kalp, endotel hücreleri gibi birçok yerde bulunmaktadır. Kolajen tip I, derideki kolajenlerin yaklaşık %70'ini tip III %10'unu oluşturur. Ayrıca eser miktarda tip IV, V, VI ve VII bulunmaktadır.

Özellikle kolajen tip I, II ve III formlarının temel işlevleri, bağ dokusunda bir iskelet görevi görmektir. Bunlar hücreye destek ağı oluşturarak, vücut dokularının stabilitesini ve dayanıklılığını sağlarlar. Ancak yaşlanma ve UV radyasyonuna uzun süre maruziyet, derideki kolajen içeriğini büyük ölçüde azaltmaktadır. Bu durum, ciltte kırışıklıkların meydana gelmesine neden olur (Chompoo, Upadhyay, Fukuta ve Tawata, 2012; Rangaraj, Harding ve Leaper, 2011; Shoulders ve Raines, 2009). MMP'ler, tüm ECM'lerin parçalanmasına neden olan çinko içeren bir enzim ailesidir. Bu enzimler, ciltte bulunan fibroblastlar, keratonositler, makrofojlar, eozonofiller, endotel hücreler gibi farklı tipteki hücreler tarafından üretilir. MMP aktivasyonu ise metalloproteinaz doku inhibitörleri (TIMPs) tarafından inhibe edilir. ECM'nin, MMP'ler tarafından parçalanması, anjiyogenez, dokuların gelişmesi, doku tamiri, dokunun yeniden şekillenmesi gibi fizyolojik durumlarda hücre göçü ve hücre ayrılmasını sağlar. MMP'ler bağ doku bileşenlerinin parçalanmasında rol oynadığı için romatoid artrit, osteoartrit, kronik ülser, fotoyaşlanma, tümör hücresi metastazı gibi patolojik durumlara da neden olabilmektedir. MMP enzim ailesi, kolajenaz, jelatinaz, membran tip MMP'nin de dahil olduğu 15 alt gruptan oluşur. Kolajenaz alt grubu; fibroblast kolajenaz (MMP-1), nötrofil kolajenaz 2 (MMP-8), kolajenaz 3 (MMP-13) olmak üzere 3'e ayrılır. Kolajenazlar, kolajenin üçlü sarmal bölgesini parçalayabilen proteinazlardır. Bu enzimler kolajen tip I, II, III ve V proteinlerini parçalar. MMP-1'in, kolajen tip III afinitesi diğerlerine göre daha yüksekken; MMP-8'in kolajen tip 1'e, MMP-13'ün kolajen tip II'ye afinitesi yüksektir. Menapoz sonrası kadınların yılda %1 oranında kolajen kaybettikleri çalışmalarla gösterilmiştir. Bu durum cildin incelmesine, kırışmasına ve kırılğan olmasına neden olmaktadır (Farris, Krutmann, Li, McDaniel ve Krolj, 2013). Ayrıca kolajenazların aşırı aktivitesi, distrofik epidermolizis bülloza gibi ciddi patolojik durumlara yol açtığından çalışmalarda, yeni potansiyel kolajenaz inhibitörü aday bileşikler aranmaktadır (Kähäri ve Saarialho-Kere, 1997).

Elastaz enzimi

Fibroblastlar, glikozaminoglikanlar veya asit mukopolisakkaritlerden oluşan elastik lifleri sentezler. Elastik lifler, elastin ile protein filamentlerinin agregasyonu sonucu meydana gelir ve cildin elastikiyetinin korunmasında rol oynar. Elastin, tropoelastininin çapraz bağlanmasıyla oluşan çözünmeyen bir biyopolimerdir. Elastin, arterler, akciğer, tendon, cilt ve kıkırdak dahil olmak üzere birçok omurgalı dokusunun esnekliği için kritik rol oynayan önemli bir ECM elemanıdır. Elastin, dermis matrisinin yaklaşık %2'si ile %4'ünü kaplamaktadır. Elastin, deri fibroblast proliferasyonunun düzenlenmesi, monositler ve fibroblastların kemotaksisi, yaşa bağlı vazodilatasyon, endotel bağımlı vazorelaksasyon olaylarından da sorumludur. Araştırmacılar şiddetli yanık, yaralanma gibi patolojik durumların iyileşme sürecinde ciltte, elastik lif ağının yeniden oluştuğunu keşfedince, elastinin yara iyileşmesi, kasılması ve skar oluşumunu önleyici rolü bulunmuştur. Elastinin bu etkilerini, fibroblast farklılaşmasını düzenleyerek gösterdiği düşünülmektedir (Mithieux ve Weiss, 2005; Rnjak-Kovacina ve Weiss, 2013). Elastaz enzimi, elastin dahil olmak üzere insan dokularında yapısal olarak önemli molekülleri parçalayabilen akciğer, cilt, arterlerde bulunan serin proteinazlar sınıfındadır. Bu proteinaz sınıfında, nötrofil elastaz, pankreatik elastaz, makrofaj elastaz ve fibroblast elastaz yer almaktadır. Bu enzimler, bağ dokusunda normal durumlarda veya enflamasyon anında birkaç hücrede bulunur. Bağ dokusu hastalıklarının patogenezinde etkili rol oynadıkları düşünüldüğünden son zamanlarda ilgi çekmektedirler. İnsan nötrofil elastazının (human neutrophil elastase) (HNE) temel görevi, bakteriler gibi yabancı organizmaları fagositoz yoluyla yok etmektir. Ekstraselüler HNE ise yabancı organizmaların yanında vücudumuzda bulunan elastin, fibronektin, proteoglikan, plazma proteinleri gibi moleküllerin parçalanmasına neden olmaktadır. HNE, normal fiziksel durumlarda *alfa*-1 antitripsin tarafından kontrol altına alınmaktadır. Yaşlanma (özellikle 40 yaşından sonra), UV, IR ışınlarına maruziyet veya nötrofillerin içeri akışından dolayı HNE aktivitesi önemli ölçüde artar. Bu durum ECM'lerin aşırı parçalanması nedeniyle ciltte yaşlanmaya, çatlaklara ve kırışıklıklara neden olmaktadır (Janoff, 1985; Siedle, Hrenn ve Merfort, 2007).

Tirozinaz enzimi

TYR, insanda saç, göz ve cilt rengini belirleyen melaninin biyosentez yolağında rol alan bir polifenol oksidaz olarak da bilinen bakır taşıyan bir enzimdir. (Pillaiyar ve diğerleri, 2017). TYR enzimi üzerindeki ilk biyokimyasal araştırmalar 1895 yılında, *Russula nigricans* mantarı üzerinde gerçekleştirilmiştir. *Streptomyces glaucescens* bakterisinden, *Neurospora crassa* ve *Agaricus bisporus* mantarlarından elde edilen TYR en iyi karakterize edilen enzimdir. Son zamanlarda hem memelilerin melanogenezinde hem de meyve ve mantarların esmerleşmesinde anahtar rol oynadığı için araştırmacıların ilgisini çekmektedir. Melanogenez, renk pigmenti olan melaninin, epidermisteki bazal membranlarda bulunan melanositlerde enzimatik kataliz ve kimyasal reaksiyonlarla meydana gelme sürecidir. Mantarlarda ve omurgalılarda TYR, tirozinden melanin oluşumundaki ilk adımı katalize eder. Tirozin, enzimin substratıdır ve enzim, tirozinin L izomerine, D izomerine göre daha yüksek afinite gösterir. TYR, melaninin biyosentez yolağında tirozinin L-DOPA'ya hidroksilasyonu, L-DOPA'nın dopakinona oksidasyonu, dopakinonun melanine dönüşümü olmak üzere üç farklı reaksiyonu katalize eder. İnsan derisinde üretilen melanin, güneşin UV ışığına karşı önemli bir savunma mekanizması oluşturur. Ancak aşırı melanin üretimi, hiperpigmentasyon, çiller ve yaşlılık lekeleri gibi ciddi estetik problemlere neden olmaktadır. Melanin sentezinin aşamaları aydınlatılmış ve bu durum cilt hiperpigmentasyonunun tedavisi için farmakolojik yaklaşımda yeni yollar açmıştır. Hiperpigmentasyon tedavisinde, TYR katalitik aktivitesinin inhibisyonu, TYR mRNA transkripsiyonunun inhibisyonu, TYR parçalanmasının hızlanması, melanozom oluşumu ve transferinin engellenmesi, enflamasyona bağlı melanojenik yanıtın inhibisyonu gibi çeşitli mekanizmalar denenmektedir. Bu mekanizmalarla gerçekleştirilen birçok çalışma depigmentasyon veya cilt beyazlatıcı ajan keşfi için umut vadetmektedir (Chang, 2009).

Doğal kaynaklı bileşiklerin, orta ya da güçlü TYR inhibitör aktivite gösterdiği yapılan çalışmalarla bildirilmiştir (Orhan ve Tareq, 2014). Bunlar arasında ön plana çıkan sekonder metabolit gruplarından olan flavonoid türevleri, kimyasal yapılarına göre sınıflandırılmaktadırlar. Galangin, kemferol, kersetin gibi flavonollerin, TYR inhibe edici aktivitesinin, enzimin bakır kısmıyla şelasyon oluşturmasından kaynaklandığı düşünüldüğünde, luteolin, apigenin gibi flavonlarda şelasyon mekanizması gözlenmemiştir. Bu durumda, şelasyon mekanizmasının molekülün 3-hidroksil konumundan gerçekleştiği

düşünülmektedir (Kubo ve diğerleri, 2000). *Arctostaphylos uva-ursi* L., *Aloe barbadensis* Miller, *Anacardium occidentale* L., *Thea chinensis* L., *Cinnamomum cassia* Blume. bitkilerinden izole edilen sırasıyla arbutin, aloesin, anakardik asit, epigallocateşin gallat (EGCG), *trans* sinnamaldehit gibi fitokimyasallar bitki kaynaklı potansiyel TYR enzim inhibitörlerine örnektir (Kubo, Kinst-Hori ve Yokokawa, 1994; Lee, Kim, Lee, Ahn ve Lee, 2000; No, Soung ve Kim, 1999; Yagi, Kanbara ve Morinubo, 1987). *Morus nigra* L. yapraklarının sulu etanollü ekstresinin, TYR enzimine karşı 15.625 µg/mL konsantrasyonuna kadar %90'nın üzerinde inhibisyon gösterdiği bulunmuştur (De Freitas ve diğerleri, 2016). *Arnica montana* L. çiçeklerinin etil asetat fraksiyonundan izole edilen 3β,16β-dihidroksi-21-α-hidroperoksi-20(30)-taraksastan (IC₅₀: 0,02 µg/mL), pozitif kontrol 4-metoksifenole kıyasla (IC₅₀: 0,25 µg/mL) B16 melanoma hücrelerinde güçlü bir melanogenez inhibitörü olarak bulunmuştur (Maeda, Naitou, Umishio, Fukuhara ve Motoyama, 2007).

Doğal kaynaklı bileşiklerin yanı sıra *N*-hidroksi-*N*'-feniltiyoüre, *N*-siklopentil-*N*-nitrosohidroksilamin, sildenafil metil eter, 2,5-disübstitüe oksadiazoller, oksazolonlar, tetraketonlar, 4,4'-dihidroksibifenil, *S*-fenil-, *N*-aril-, *S*-alkiltiyokarbamatlar, triazolotiyadiazoller, 2-ariltiyazolidin-4-karboksilik asitler, benzaldehit tiyosemikarbazonlar, tiyosemikarbazonlar, 4-hidroksibenzaldehit türevleri, bis salisilaldehitler, 3,4-dihidroksibenzoatlar, fenilürenil kalkonlar, kumarin-resveratrol hibrit bileşenleri, polifenolik kurkumin türevleri, kurkumin diarilpentanoidler, bis-benzil glikozitler, benziliden hidantoinler, rodanin türevleri, 5-benziliden barbitüratlar gibi sentetik türevler anti-TYR etkilerinden dolayı rapor edilmişlerdir (Lee, Baek ve Nam, 2016). Sentetik bileşikler içerisinde, bir antitiroit ilacı olan metimazolün *in vitro* ve *in vivo* çalışmalarla depigmente edici bir ajan olarak etkili olduğu ve herhangi bir sitotoksiste ve mutajenite göstermediği bildirilmiştir. Hem doğal kaynaklı hem sentetik türevler anti-TYR etkiye sahiptirler ancak bunların içinden pek azı çeşitli güvenilirlik nedenlerinden dolayı kullanılmaktadır (Kima ve Uyama, 2005).

Doğal kaynaklı kolajenaz enzim inhibitörü çalışmalarında flavonoit gruplarının aktivitesi değerlendirildiğinde; flavonollerin, flavon ve izoflavonlardan daha yüksek inhibitör aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir. Özellikle kemferol, kersetin ve mirsetinin yüksek aktivite gösterdiği bildirilmiştir (Sin ve Kim, 2005). Tannik asit, EGCG ve epikateşin gallat

(ECG)'ın düşük konsantrasyonlarda dahi kolajenin parçalanmasını inhibe ettiği bulunmuştur. Bileşikler kolajene güçlü bir şekilde bağlanarak enzimin kolajen zincirlerindeki bazı aktif bölgelere erişimini engellediği düşünülmüştür (Jackson, Zhao, Wong ve Burt, 2010).

14 bitki üzerinde yapılan bir çalışmada, *Annona squamosa* L., *Ardisia elliptica* Thunb., *Senna alata* L. Roxb. bitkilerinden hareketle hazırlanan etanol ekstraterinin, antioksidan aktivitesi ile TYR ve kolajenaz enzimlerini inhibe etme aktivitesi yüksek bulunmuştur (Chatatikun ve Chiabchalard, 2017). Yapılan başka bir çalışmada, *Illicium verum* Hook. F., *Galium aparine* L., *Punica granatum* L., *Angelica archangelica* L., *Fucus vesiculosus* L., *Rosa centifolia* L., *Camellia sinensis* Kuntze. bitkilerinden hareketle hazırlanan ekstraterin (25 µg) kolajenaz enzim inhibitör aktiviteleri sırasıyla %6, %7, %11, %17, %25, %26 ve %47, elastaz inhibitör aktiviteleri %32, %58, %15, %17, %50, %24 ve %89 olarak bulunmuştur (Thring, Hili ve Naughton, 2009). Yapılan başka çalışmada, *P. granatum* L., *Ginkgo biloba* L., *Ficus carica* L. ve *M. alba* L. meyvelerinden hareketle hazırlanan ekstre karışımının, kolajenaz enzim inhibisyonu ve antioksidan aktivitesi yüksek bulunmuştur. Bununla birlikte, %2 ekstre karışımı içerecek şekilde hazırlanan formülasyonun, plaseboya kıyasla insan cildindeki kırışıklıkların derinliğini, uzunluğunu ve alanını sırasıyla %11,5, %10,07 ve % 29,55 oranlarında azalttığı gözlenmiştir (Ghimeray ve diğerleri, 2015). Başka bir çalışmada üzüm posasından hazırlanan ekstrenin, kolajenaz (IC₅₀: 20,3 µg/mL) ve elastaza (IC₅₀: 14,7 µg/mL) karşı doza bağlı inhibisyon gösterdiği tespit edilmiştir. Aynı çalışmada fenolik bileşiklerce zengin dört farklı fraksiyon hazırlanmış, stilbenleri içeren fraksiyonlar hariç tüm fraksiyonların inhibitör aktiviteleri iyi bulunmuştur (Wittenauer, Mackle, Sussmann, Schweiggert-Weisz ve Carle, 2015). 100 bitkinin elastaz ve TYR enzim inhibisyonun değerlendirildiği bir çalışmada, elastaza karşı en yüksek aktiviteyi gösteren *Pistacia lentiscus* L. yaprakları olurken, *Cytinus hypocistis* L. toprak üstü kısımları, *Limonium morisianum* Arrigoni toprak üstü kısımları ve *P. lentiscus* L. yaprakları TYR'a karşı en yüksek inhibitör aktiviteyi göstermiştir (Chiocchio ve diğerleri, 2018). Kore'de Jeju adasından toplanan 263 bitki ile gerçekleştirilen bir çalışmada, *Aesculus turbinata* Blume (IC₅₀: 43,1 /vg/mL), *Taxillus yadoriki* Sieb. ex Maxim. (IC₅₀: 36,4 µg/mL) ve *Cornus walteri* Wangner (IC₅₀: 26,1) yüksek anti-elastaz aktivite göstermiştir. *C. walteri* (IC₅₀: 139,2 µg/mL), *Maackia fauriei* (IC₅₀: 149,3 µg/mL) *Toxicodendron succedaneum* (L.) Kuntze (IC₅₀: 142,3 µg/mL), ve *Sophora flavescens* Ait. ekstraterinin pozitif kontrol grubu olan

Distylium racemosum Sieb. et Zucc (IC₅₀: 145,9 /vg/mL) ve arbutine (IC₅₀: 180,3 /vg/mL) kıyasla anti-TYR aktiviteleri yüksek bulunmuştur (Moon, Yim, Song, Lee ve Hyun, 2010).

Bahsi geçen enzimlerin, pek çok cilt probleminin tedavisinde önemli rol oynadığı düşünüldüğünden, bu enzimleri inhibe eden doğal kaynaklı ya da sentetik bileşik araştırmaları son zamanlarda hız kazanmıştır. Bu nedenle enzim inhibitörleri, kozmetik alanında leke açıcı, yaşlanma karşıtı, cilt beyazlatıcı ve kırıxıklık azaltıcı etkilerinden dolayı araştırmaların önemli konuları haline gelmişlerdir.

2.7. Bitkilerin Kozmetik ve Dermokozmetik Ürünlerde Kullanımları

Kozmetik alanlarında, bitki ekstrelerine ve karışımlarına, bitkilerden elde edilen doğal bileşiklere rağbet fazladır. Araştırmalarda, toplum tarafından kimyasal kozmetik ürünlerle doğal kaynaklı kozmetik ürünler arasındaki fark değerlendirildiğinde; doğal kozmetiklerin daha güvenli, yan etkisiz ve çevre için daha zararsız görüldüğü, dezavantaj olarak ise raf ömürlerinin kısa olması ve daha pahalı görüldükleri bulunmuştur (Johri ve Sahasakmontri, 1998; Stehlin, 1991). Bu nedenle kozmetik ürünlerinin üretiminde doğal kaynaklı ürünlerin kullanılması üreticiler için de cazip hale gelmiştir. Bitkilerin yapısında bulundurdıkları biyoaktif bileşenlerinin kuvvetli etkisi, ortaya çıkan etkilerde bileşenler arası sinerjistik etki görülebilmesi ve bileşenlerin insan vücudu ile büyük uyuma sahip olması onları kozmetik firmaları için değerli bir aktif madde kaynağı haline getirmektedir (Harhaun, Kunik, Saribekova ve Lazzara, 2020).

Kozmetik alanında kullanılan doğal kaynaklı ürünlere;

- Bitkisel yağlar, yağlar ve mumlar (hint yağı, hindistan cevizi yağı, fıstık yağı, tatlı badem yağı, kakao yağı, karite yağı, illipe yağı vb.)
 - Uçucu yağlar ve oleorezinler (sardunya, yasemin, narenciye, güveotu, paçuli, sandal ağacı, nane, sedir ağacı ve karanfil yağları vb.)
 - Bitki özsuğu ve hūlasalar (zamklar, reçineler, diğler bitki özsuğu)
 - Ham bitki materyalleri (tıbbi ve aromatik bitkiler, deniz yosunu ve algler)
 - Doğal renklendiriciler (indigo, kokineal, karmin, zerdeçal, kadife çiçeğı ve kına vb.)
- örnek olarak verilebilir (Jones ve Duerbeck, 2004:10).

Ayrıca aloin, ginsenosit, kurkumin, epikateşin, asiatikozit, ziyuglikozit I, magnolol, gallik asit, hidroksisikol, hidroksisinnamik asitler, hidroksibenzoik asitler gibi fitomoleküller, serbest radikalleri süpürücü, UV ışığına karşı cildi koruyucu, cildin nem kaybını önleyici gibi etkilere sahip olduklarından cilt yaşlanmalarını ve kırışıklıklarını önleyerek cildin parlaklığını korurlar (Mukherjee, Maitya, Nema ve Sarkar, 2011). Farklı etki mekanizmaları ile cilt rahatsızlıklarında etki gösteren bazı bitkilerin listesi Çizelge 2.4'te özetlenmiştir (Aburjai ve Natsheh, 2003).

Çizelge 2.4. Farklı etki mekanizmalarına dayanarak cilt üzerine etki gösteren bazı bitkilerin, kozmetik ürünlerde kullanım alanları

Tedavide kullanımları	Latince adı	Türkçe adı	Türkçe Drog adı
Cilt kuruluğu	<i>Ricinus communis</i> L.	Hint yağı bitkisi	Hint yağı
	<i>Theobroma cacao</i> L.	Kakao	Kakao yağı
	<i>Mangifera indica</i> L.	Mango	Mango yağı
	<i>Cocos nucifera</i> L.	Hindistancevizi	Hindistan cevizi yağı
	<i>Helianthus annuus</i> L.	Ayçiçeği	Ayçiçeği yağı
	<i>Olea europaea</i> L.	Zeytin	Zeytinyağı
Egzama	<i>Curcuma longa</i> L.	Zerdeçal	Zerdeçal rizomu
Akne, leke ve sivilce	<i>Artemisia vulgaris</i> L. <i>Artemisia absinthum</i> L.	Kabayavşan	Tüm bitki
	<i>Ocimum sanctum</i> L.	Fesleğen	Fesleğen yağı
	<i>Pisum sativum</i> L.	Bezelye	Bezelye tohumu
	<i>Cucurbita pepo</i> L.	Sakız kabağı	Sakız kabağı tohumu yağı
	<i>Allium cepa</i> L.	Soğan	Toprak altı
Cilt yaşlanması Anti aging	<i>Panax ginseng</i> C.A. Mey.	Ginseng	Kökleri
Serbest radikal süpürücü etki	<i>Camellia sinensis</i> L.	Yeşil çay, siyah çay	Çay yaprağı
	<i>Vitis vinifera</i> L.	Üzüm	Üzüm çekirdeği
Antienflamatuvar etki	<i>Trifolium pratense</i> L.	Kırmızı yonca	Çiçekleri
	<i>Matricaria recutita</i> L.	Papatya	Papatya yağı
	<i>Trigonella foenum-graecum</i> L.	Çemen	Tohum
	<i>Buxus chinensis</i> <i>Simmondsia chinensis</i>	Jojoba	Jojoba yağı
	<i>Glycyrrhiza glabra</i> L.	Meyan	Meyan kökü
Cilt koruyucu etki	<i>Aloe vera</i> L.	Sarısabır	Aloe vera jel
	<i>Avena sativa</i> L.	Yulaf	Yulaf yağı
	<i>Cucumis sativus</i> L.	Hıyar	-
	<i>Rosmarinus officinalis</i> L.	Biberiye	-

2.8. Biyolojik Aktivite Çalışmaları

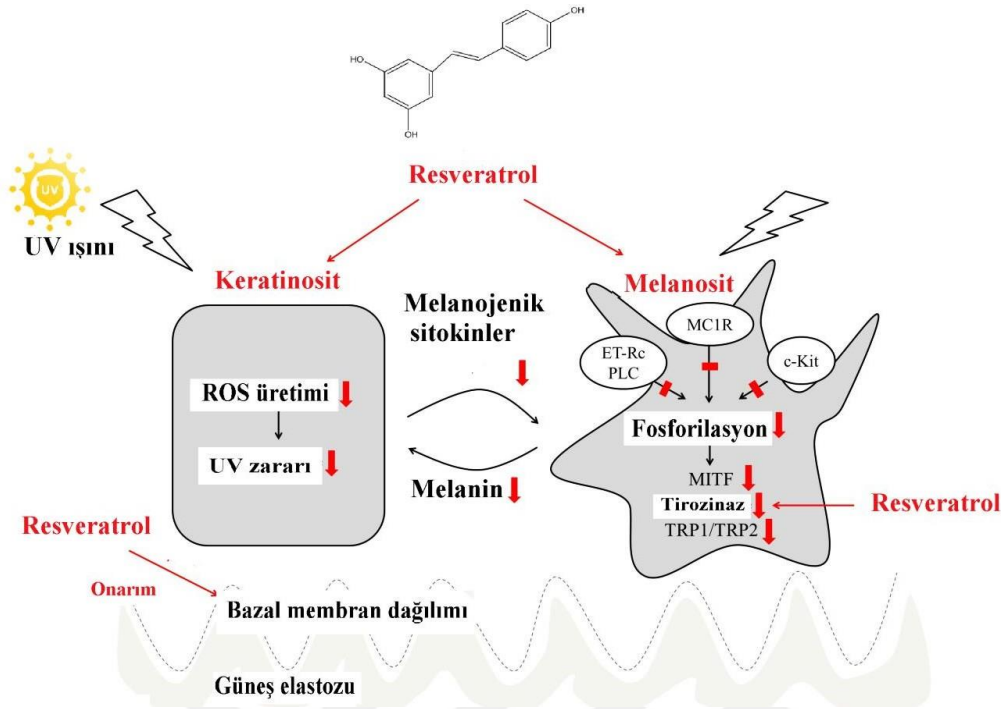
Polygonum türleri, yapısında bulundurduğu resveratrol gibi önemli biyoaktif bileşenler nedeniyle çeşitli biyolojik aktivitelere sahiptir. *Polygonum* türlerinin, kullanımlarına baktığımızda; ülkemizde dahil birçok yörede etnobotanik kullanımlarının olmasının yanı sıra, enzim inhibisyonu, yara iyi edici, antienflamatuvar, antibakteriyel, antiviral, antioksidan etkileri, immünomodülatör aktivitesi, anti-aging potansiyeli ve östrojenik aktivitesi üzerine çalışmalar bulunmaktadır. Ayrıca yurtdışında resveratrol kaynağı olarak kullanılmak suretiyle *P. cuspidatum* türünden hazırlanmış preparatları bulunmaktadır.

2.8.1. Resveratrol üzerinde yapılan biyolojik aktivite çalışmaları

Resveratrol, ülkemizde ve yurtdışında gıda takviyesi olarak kullanılmakta ve yaşlanma karşıtı etkisinden dolayı kozmetik prepatlarının yapısında yer almaktadır. Kore'de yetiştirilen 52 tıbbi bitkinin etanolle hazırlanan ekstreleri, insan TYR inhibisyon aktivitesi yönünden incelenmiştir. *V. vinifera* etanollü ekstresinin, TYR aktivitesini güçlü bir şekilde inhibe ettiği gözlenmiş, yapılan izolasyon çalışmaları sonucunda bu etkiden sorumlu aktif bileşik olarak resveratrol bulunmuştur. Resveratrolün IC_{50} değeri, $0,66 \mu g mL^{-1}$ bulunurken, *p*-kumarik asit (IC_{50} : $0,39 \mu g mL^{-1}$) ve arbutin ($IC_{50} > 100 \mu g mL^{-1}$) ile karşılaştırıldığında bu değer bileşiğin oldukça güçlü bir insan TYR inhibitörü olduğunu göstermiştir (Park ve Boo, 2003).

Yapılan başka bir çalışmada resveratrolün, mantar kaynaklı TYR inhibisyonu üzerindeki potansiyel rolü araştırılmıştır. Resveratrol ($100 \mu M$), TYR tarafından gerçekleştirilen L-tirozin oksidasyonunu baskılamıştır. Böylece resveratrol oksidasyonu ve L-tirozin oksidasyonunun inhibisyonu, resveratrolün TYR üzerinde inhibitör etkisini ortaya çıkarmıştır. Ayrıca aynı çalışmada, B16-F10 melanoma hücrelerinde gerçekleşen melanin üretiminin, resveratrol ile önemli ölçüde azaldığı bulunmuştur (Satooka ve Kubo, 2012).

Resveratrol hem doğrudan hem dolaylı olarak tirozinaz inhibitörüdür. Melanosit hücrelerini düzenleyen keratinositlerin enflamasyon süreçlerini düzenlediği ve oksidatif hasardan koruduğu bulunmuştur (Na, Shin, Choi, Kwon ve Park, 2019). Bu şekilde keratinosit kaynaklı melanosit uyarılmasını engellemektedir (Şekil 2.6).



Şekil 2.6. Resveratrolün etki mekanizması (Na ve diğerleri, 2019)

Resveratrolün hiperpigmentasyonu önleyici etkisinin araştırıldığı bir çalışmada; kobayların UV-B ile indüklenerek koyulaştırılmış derisine, %1 resveratrol içeren krem 12 gün boyunca günde bir kere olmak suretiyle topikal olarak uygulanmıştır. Melanoma hücrelerinde, tirozinaz ilişkili protein-1 (TYRP1), tirozinaz ilişkili protein-2 (TYRP2) ve mikroftalmi ile ilişkili transkripsiyon faktörünün ekspresyonunun azaldığı bulunmuştur. Ayrıca, resveratrolün, kobay derisi üzerinde meydana gelen hiperpigmentasyonu önemli ölçüde azalttığı da bildirilmiştir. Bu çalışma resveratrolün, melanin üretimini azaltarak hiperpigmentasyon, fotoyaşlanma gibi cilt hastalıklarının tedavisi için önemli bir ajan olabileceğini ortaya koymuştur (Lee, Seo, Baek ve Kim, 2014).

Resveratrolün melanin üretimi üzerine etkilerinin araştırıldığı başka bir çalışmada, resveratrolün ve beyazlatıcı etkili bir kremin (Whitegenic, Kore) melanin üretiminde güçlü inhibitör aktivite gösterdiği bulunmuştur (Çizelge 2.5) (Kim ve diğerleri, 2007).

Çizelge 2.5. Bazı örneklerin melanin üretimi inhibisyon yüzdeleri

Örneklerin konsantrasyonu: %0,02	Melanin üretimi inhibitör aktivitesi (%)
Resveratrol	53,17
Beyazlatıcı krem (Suda çözünen)	35,00
Kojik asit	22,62
Vitamin C	19,72
Meyan kökü (<i>Liquiritiae radix</i>) ekstresi	13,20
Beyaz dut (<i>Morus alba</i> L.) tozu	5,1
Arbutin	2
Beyaz dut ekstesi	1,8
Üzüm (<i>Vitis vinifera</i>) çekirdeği ekstresi	1,52

Yapılan çalışmalarda, resveratrolün, apoptozise ve mitokondriyal disfonksiyonlara neden olan nitrik oksiti inhibe ederek, normal cilt yaşlanmasını önlediği bulunmuştur. Aynı çalışmada, NF- κ B, matriks metalloproteinaz (MMP) ve UV kaynaklı fotoyaşlanmada rol alan MAP kinazların oluşturduğu hücrel sinyal mekanizmaları üzerinde etkili olduğu gösterilmiştir (Chedea ve diğerleri, 2017; Yang ve diğerleri, 2008). Bir çalışmada, resveratrolün, cilt fonksiyonlarını onaran ve bağ dokunun ana bileşeni olan kolajenin parçalanmasına neden olan MMP-9 üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Çalışma sonunda resveratrolün (5 mM), UV ışınları maruziyet sonrası artan MMP-9 ekspresyonunu inhibe etmek suretiyle kolajenin parçalanmasını önlediği bulunmuştur (Lee ve diğerleri, 2010). *Trans*-resveratrol içeren topikal formülasyonların, ratlarda kimyasal soyulmadan sonra rat derisinin iyileşmesi ve gençleşmesi üzerindeki etkileri değerlendirildiğinde; resveratrolün daha fazla kolajen üretimi sağlayarak, dermal ve epidermal kalınlığı artırdığı gözlenmiştir. *Trans*-resveratrolün, kolajen üretimini artırarak, cildin sıkılığını ve elastikiyetini artırabildiği ve kırışıklıkların azalmasını sağlayabileceği öngörülmüştür (Lyko ve Arct, 2019).

Resveratrolün, anti-aging faktör olan sirtuin 1 (SIRT1), kolajen, elastin ve antioksidan belirteçlerin gen ekspresyonlarını artırdığı, enflamatuvar ve cilt yaşlanmasına neden olan moleküllerin gen ekspresyonunu ise önemli ölçüde azalttığı bulunmuştur (Baxter, 2008). %1'lik resveratrolün topikal uygulanmasından sonra, kolajen tip I alfa 1 gen ekspresyonu %225, kolajen III alfa 1 gen ekspresyonu %230, kolajen IV alfa gen ekspresyonu %160 ve

elastin gen ekspresyonu %180 stimüle olmuştur (Lephart, Sommerfeldt ve Andrus, 2014). *In vivo* bir çalışmada, resveratrolün topikal olarak uygulanmasından sonra UV-B ışığına maruz bırakılan deney hayvanlarında, hücre proliferasyonunun, mRNA survivin ekspresyonunun ve survivin fosforilasyonunun önemli ölçüde inhibe edildiği gözlenmiştir (Baxter, 2008).

Resveratrolün yaşlanma-karşıtı etkisi, 55 kadın bireyin (40-60 yaş arası) 12 hafta boyunca resveratrol (%1), baikalin (%0,5) ve E vitamini (%1) içeren gece kremi topikal olarak kullanmasıyla araştırılmıştır. 12 hafta sonunda cilt sertliği ve elastikiyetinde anlamlı iyileşmeler olduğu, kırışıklıkların düzeldiği ve renk değişikliğinin azaldığı belirtilmiştir. Kozmetik preparatlarının yapısına sıklıkla giren resveratrol, baikalin ve vitamin E bileşiklerinin, yüksek antioksidan etkilerinin olmasıyla beraber, hemoksijenaz-1 (HO-1), vasküler endotelial büyüme faktörü A (VEGFA) ve kolajen III alfa 1 (COL3A1) gibi biyomoleküllerin ekspresyonlarını da etkiledikleri bildirilmiştir (Lyko ve Arct, 2019). Çift-kör ve plasebo-kontrollü bir başka klinik çalışmada ise 50 katılımcı (25 katılımcı takviye edici gıda 25 katılımcı plasebo ile tedavi edilmiş) 60 gün boyunca resveratrol ve prosiyanidin içeren gıda takviyesini kullanmıştır. Çalışma sonucunda cilt nemlenmesinde ve elastikiyetinde artış, cilt pürüzlerinde ve kırışıklıkların derinliğinde azalma gözlenmiştir (Buonocore ve ark., 2012; Lyko ve Arct, 2019).

Resveratrolün *acne vulgaris* üzerine etkisini araştıran tek körlü pilot çalışmada; 20 katılımcıya, resveratrolün karboksimetil selüloz ile hazırlanmış krem formülasyonu uygulanmıştır. Resveratrol içeren formülasyon, 60 gün boyunca yüzün sağ tarafına uygulanırken, sol tarafına hiçbir etken madde içermeyen taşıyıcı formülasyon uygulanmıştır. Klinik çalışmanın sonunda, yüzün resveratrol ile tedavi edilen sağ kısmında akne şiddet skorunda ortalama %53,75 azalma, yüzün taşıyıcı formülasyonla tedavi edilen tarafında %6,10 azalma görüldüğü bildirilmiştir. Histopatolojik analizler sonucunda, yüzün resveratrol ile tedavi edilen tarafında aknenin öncü lezyonu olan mikrokomedon alanında %66,7 azalma olduğu da tespit edilmiştir (Fabbrocini ve diğerleri, 2011).

Egzama, akne ve sedef hastalıklarının tedavisinde resveratrol kullanımı üzerine yapılan başka bir çalışmada; resveratrol, şiddetli egzamadan muzdarip 20 hastada (18 yaş üzeri), 2. ve 3. derece akneden şikayetçi 30 hastada (15-19 yaş arası) ve hafif ile orta şiddette kronik

sedef hastalığı tanısı olan 48 hastada (18 yaş üzeri) vitamin D ile kombine bir şekilde denenmiştir. Her üç çalışmada da %1 resveratrol içeren krem formülasyonları tedavi gruplarına uygulanmıştır. Egzama hastalarında, tedavinin başlangıcında, egzamadan etkilenen vücut alanı ortalama %69 iken; tedavi boyunca bu alan gittikçe azalmış ve tedavinin sonunda ortalama %27'ye kadar inmiştir. Akne şikayeti olan hastalarda, tedavi edilen grupta %96, kontrol grubunda %2 oranında eritem, akne lezyonu ve komedonlarda azalma görülmüştür. Sedef hastalığı tanısı olan bireylerde ise; tedavinin sonunda iyileşen veya belirgin iyileşme gösteren hastaların yüzdesi; sadece resveratrol ile tedavi edilenler için %80, plasebo verilen kontrol grubu için %10, sadece D vitamini türevleri ile tedavi edilenler için %47, D vitamini türevleri/resveratrol kombinasyonu ile tedavi edilen hastalar için %95 olarak bildirilmiştir (Pelliccia, Giannella ve Giannella, 2001).

Japonya'da yapılan çift kör ve plasebo-kontrollü bir çalışmada resveratrol bileşiğine yapısal olarak çok benzeyen ve bir stilben olan piceatannolün cilt üzerine etkileri araştırılmıştır. Çalışmada, 5 mg piceatannol içeren çarkıfelek (*Passiflora edulis* Sims.) meyve çekirdeğinden hareketle hazırlanan ekstreyi içeren kapsül, kuru cildi olan 16 kadına (34-55 yaş arası) 8 hafta boyunca oral yolla kullanılmıştır. Kontrol grubuna ise dekstrin içeren kapsül verilmiştir. Yüzdeki cilt hidrasyonu ve diğer parametreler 0., 4. ve 8. haftada ölçülmüştür. Sonuçlar, ekstre içeren kapsülü tüketenlerin derilerinin nem içeriğinin arttığını, transepidermal su kaybının ise azaldığını göstermiştir (Maruki-Uchida, Morita, Yonei ve Sai, 2018).

2.8.2. *Polygonum* türleri üzerinde yapılan biyolojik aktivite çalışmaları

Etnobotanik çalışmalar

Polygonum türlerinin etnobotanik kullanımları çok yaygın olmakla beraber; halk arasında yara iyi edici, böbrek taşlarını düşürücü ve aşırı adet kanamalarında kullanımları ön plandadır (Gürdal ve Kültür, 2013; Sağiroğlu, Köseoğlu ve Turna, 2017). Ülkemizde besin olarak tüketilen halk arasında madımak olarak da bilinen *P. cognatum* Meisn. özellikle Sivas yöresinde oldukça yaygındır. Bitkinin, Tunceli Ovacık yöresinde romatizma için, Erzurum Ilıca yöresinde böbrek taşında ve jinekolojik rahatsızlıkların giderilmesi için kullanıldığı kaydedilmiştir. İdrar artırıcı ve şeker hastalığı için infüzyon (%5) halinde kullanıldığı da kaynaklarda yer almaktadır (Özgen, Kaya ve Coşkun, 2004; Tuzlacı ve Doğan, 2010). *P.*

cognatum, Bingöl ve Bilecik bölgelerinde halk tarafından abdominal ağrıların tedavisinde, Manisa’da ise gastrointestinal rahatsızlıkların tedavisinde kullanılmaktadır (Güler, Manav, Uğurlu, 2015; Polat, Çakılcıoğlu, Satıl, 2013; Polat, 2019; Sargın, Akçicek, Selvi, 2013; Sargina, Selvi, López, 2015).

P. bellardii halk arasında “saç otu” veya saç büyüten olarak bilinmektedir. Marmaris bölgesinde bitki, toprak üstü kısımlarının dekoksasyonu hazırlanarak böbrek taşlarını düşürmek amacıyla, Niğde’de infüzyon şeklinde hazırlanarak bronşit hastalığında dahilen kullanılmaktadır (Gürdal ve Kültür, 2013; Özdemir ve Alpınar, 2015).

Dioscorides’in Materia Medica’sında yer alan bilgilere göre; *P. aviculare* L. bitkisinin, safra kesesi taşlarında, mide ve bağırsak ağrı ve ülserlerinde, hemoroitte, aşırı adet kanamalarında, sıtma hastalığında ve yara tedavisinde kullanımı mevcuttur. Eski çağlardan beri halk tıbbında karaciğer, böbrek ve mesane hastalıkları için kullanılmaktadır. Tüberküloz, mide ülseri, dizanteri, sıtma ve çeşitli tümörlerde hemostatik olarak; modern tıpta astrenjan, tonik ve idrar söktürücü olarak kullanımı bulunmaktadır (Yunuskhodzhaeva ve diğerleri, 2010). *P. aviculare* yaprakları, Malatya’da infüzyon halinde hazırlanarak halk tarafından böbrek taşlarını düşürmek amacıyla kullanılmaktadır (Tetik, Civelek ve Çakılcıoğlu, 2013).

P. cuspidatum ise Çin’de sıklıkla kullanılmaktadır. Karaciğer rahatsızlıklarının tedavisinde bitkinin dekoksasyonu kullanılır. Topikal formülasyonu hazırlanarak yanık, yara ve travmatik yaralanmalarda kullanılmaktadır. Kore’de ise bitkinin rizomları ağız ve diş hijyeni için kullanılmaktadır (Nkuété, Migliolo, Wabo, Tane ve Franco, 2015).

In vitro çalışmalar

Antioksidan etki

P. cuspidatum kök ekstresinin antioksidan aktivitesi DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil), NBT (nitro mavi tetrazolyum klorür) ve lipid peroksidasyonu yöntemleri ile değerlendirildiğinde; ekstrenin IC₅₀ değeri sırasıyla serbest radikal süpürücü deneylerinde 110 µg/mL, süperoksit radikal süpürme deneylerinde 3,2 µg/mL ve lipid peroksidasyon deneylerinde 8 µg/mL olarak bulunmuştur (Hsu, Chan ve Chang, 2007).

P. bellardii toprak üstü kısımları üzerinde yapılan bir başka çalışmada; bitkinin etil asetatlı fraksiyonu ve farklı fraksiyonlarından izole edilen kersetin-3-O-5-asetil- α -arabinofuranozit, kersetin-3-O- β -D-glukopiranozit, mirisetin-3-O-5-asetil- α -arabinofuranozit ve mirisetin-3-O-arabinofuranozit yüksek antioksidan aktivite göstermiştir. Bitkinin *n*-bütanolü fraksiyonu ise CCl₄ ile karaciğer hasarı oluşturulmuş ratlarda silimarine eşdeğer hepatoprotektif etki göstermiştir. Ayrıca etil asetatlı ve *n*-bütanolü fraksiyonun antibakteriyel aktivitesi yüksek bulunmuştur (El-Kader ve diğerleri, 2012). *P. patulum* bitkisinin toprak üstü kısımlarından farklı solvanlarla hazırlanan fraksiyonlarının DPPH ve demir (III) iyonu indirgeyici antioksidan güç yöntemi (FRAP) metodları ile antioksidan aktivitesine bakıldığında, bitkinin etil asetatlı fraksiyonunun en yüksek aktiviteye sahip olduğu bulunmuştur (Shahraki, 2013).

P. aviculare'nin sulu-etanolü ekstresinin, DPPH ve NBT (süperoksit radikal süpürücü aktivite) yöntemleri ile antioksidan aktiviteleri yüksek bulunmuştur. DPPH yönteminde maksimum inhibisyon %80 olarak bulunurken, süperoksit radikal süpürücü aktivitesinde IC₅₀ değeri 0,8 µg/mL olarak bulunmuştur (Hsu, 2006).

Sitotoksik etki

P. bellardii bitkisinin toprak üstü kısımlarından gallik asit, kersetin, mirisetin, kersetin-3-O- β -D-glukopiranozit ve mirisetin-3-O- α -arabinofuranozit, kersetin-3-O-(5''-asetil- α -arabinofuranozit ve mirisetin-3-O-(5''-asetil- α -arabinofuranozit) bileşikleri izole edilmiştir. Bitkinin bütanolü ekstresinin, HeLa, MCF-7 ve HepG-2 hücre hatlarında yüksek sitotoksik aktiviteye sahip olduğu bulunmuştur. Mirisetin-3-O-(5''-asetil- α -arabinofuranozit), HeLa (IC₅₀: 75,04 mg/mL) ve HepG-2 (IC₅₀: 41,03 mg/mL) hücrelerinde belirgin sitotoksikite göstermiştir (El-Kader ve diğerleri, 2013).

Alzheimer hastalığı üzerine etki

Ülkemizde “sicimlik” ismiyle bilinen *P. maritimum* L. türü üzerinde yapılan *in vitro/ in silico* bir çalışmada; bitkinin yaprak ve köklerinden hareketle hazırlanan metanol ve diklorometan ekstrelerinin, nöroprotektif potansiyeli araştırılmıştır. Metanol ekstresi, diklorometan ekstresi ile karşılaştırıldığında; asetilkolinesteraz (AChE) ve

bütirilkolinesteraz (BChE) inhibe edici potansiyeli daha yüksek bulunmuştur. Ayrıca bitkide tanımlanan 15 biyoaktif bileşenin moleküler kenetleme çalışmalarında AChE ve BChE enzimlerine bağlanabilecekleri gösterilmiştir. Bu bileşikler arasında en yüksek bağlanmayı gösteren etken madde prosiyanidin olarak bulunmuştur (Rodriguesa ve diğerleri, 2018).

Antimikrobiyal etki

Yapılan başka bir çalışmada *P. cognatum* bitkisinin yapraklarından hareketle hazırlanan etanolü ekstrenin mikrodilüsyon yöntemi ile, *Enterococcus faecalis*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* ve *Candida albicans* bakteri ve mantar suşları kullanılarak antimikrobiyal etkisi değerlendirilmiştir. Test edilen mikroorganizmalar arasında Minimum İnhibitör Konsantrasyon (MİK) değerleri kıyaslandığında; sırasıyla *S. aureus*, (MİK: 0,156 mg/mL) *P. aeruginosa* (MİK: 0,312 mg/mL) ve *E. coli*'nin (MİK: 0,625 mg/mL) ekstreya karşı daha duyarlı olduğu görülmüştür. (Erugur ve diğerleri, 2020).

P. aviculare bitkisinin farklı solvanlarla hazırlanan yaprak ve kök ekstralarının, *E. coli*, *Proteus mirabilis*, *P. aeruginosa*, *Salmonella typhi*, *S. paratyphi*, *Shigella flexnerifor*, *S. aureus*, *Bacillus subtilis*, *Streptococcus pyogenes*, *Aspergillus flavus*, *A. fumigatus*, *A. niger* ve *C. albicans* suşlarına karşı disk difüzyon yöntemi ile antimikrobiyal aktivitesi değerlendirildiğinde, bitkinin köklerinden hazırlanan kloroformlu ekstrede *C. albicans* hariç tüm mikroorganizmalara karşı iyi derecede antimikrobiyal aktivite gösterdiği bulunmuştur (Salama ve Marraiki, 2010).

P. bellardii toprak üstü kısımlarından hazırlanan etilasetatlı ve *n*-bütanolü fraksiyonlarının, *S. aureus*, *B. subtilis*, *E. coli*, *P. aeruginosa* ve *C. albicans* suşlarına karşı agar difüzyon yöntemi ile değerlendirdikleri antimikrobiyal aktivite çalışmasında, hem antibakteriyel hem antifungal aktiviteleri iyi bulunmuştur (El-Kader, Nafady, Ahmed ve Ibraheim, 2012).

Cilt üzerine etki

Yapılan *ex vivo* bir çalışmada; *P. aviculare* bitkisinden hareketle hazırlanan ekstrenin, MMP-1 enzimi üzerindeki etkilerine bakılmıştır. %2 ekstre içeren krem 8 gün boyunca cilt dokularına uygulanmıştır. Çalışmanın 5. gününde cilt dokuları, MMP-1 ekspresyonunun

indüklenmesi için IR-A ışınlarına maruz bırakılmıştır. Yapılan ölçümler sonucu; kremin, MMP-1 ekspresyonunu azalttığı, cildin elastikiyetinden sorumlu olan elastinin prekürsörü tropoelastini, IR-A etkisinden koruduğu kaydedilmiştir. Randomize ve çift körlü yürütülen başka bir çalışmada; 20 sağlıklı gönüllünün (30-65 yaş) yüzünün bir yarısına *P. aviculare* ekstresini içeren bir krem (%2), diğer yarısına plasebo krem 28 gün boyunca günde iki kez uygulanmıştır. Çalışmanın sonunda katılımcıların, cilt pürüzlülüğü %11,2, kırışıklık hacmi %11,5 kırışıklık derinliği %11,2 oranlarında azalmıştır (Loing ve Borel, 2013).

P. cuspidatum'un kökünden izole edilen 4 antrakınonun (fiksiyon, emodin, sitreorosein, antraglikozit B) anti-TYR etkisi araştırılmış, en yüksek inhibisyonu fiksiyon göstermiştir. Aynı bileşiklerin dermal geçirgenliklerine de bakılmış ve en iyi geçirgenliği, çalışılan antrakınonlar içinde yine fiksiyon göstermiştir (Leu, Hwang, Hu ve Fang, 2008; Wang, Liu ve Chen, 2013).

Klinik bir çalışmada, *Diospyros kaki* L.f., *P. cuspidatum* ve *Castanea crenata* var. *dulcis* Nakai (DPC) bitki ekstrelerinden hareketle hazırlanan cilt temizleyici formülasyon, 20-50 yaş arası sağlıklı gönüllülerden (n=23) oluşan test grubunda denenmiştir. DPC içeren cilt temizleyicisi, cilde uygulandığında, cildin yağ içeriği %77,3, gözenek boyutu %71,43 ve ciltteki gözenek sayısı %24,83 azalmıştır. Kontrol temizleyiciye kıyasla, DPC içeren temizleyici kullanıldığında özellikle ciltteki yağlanma ve gözenek boyutunun anlamlı ölçüde azaldığı gözlenmiştir (Lee ve diğerleri, 2015).

Polygonum türlerinin yapısında bulunan stilbenoit yapısındaki resveratrol ve türevlerinin kozmetik ile ilişkili olan TYR, hyalüronidaz ve elastaz enzimleri üzerine etkileri de dikkat çekmektedir. Resveratrol türevi olan piseit (5,4'-dihidroksistilben-3-O- β -D-glukopiranozit), *P. cuspidatum*'da bulunan stilbenoitlerden biridir. Piseit üzerinde yapılan bir çalışmada, bileşiğin, TYR, TYR ile ilişkili protein 1 (TYRP1), TYR ile ilişkili protein 2 (TYRP2) ve mikroftalmi ile ilişkili transkripsiyon faktörleri üzerindeki etkilerine bakılmıştır. Piseitin, TYR inhibe edici aktivitesi nedeniyle melanin üretimini büyük ölçüde azalttığı, hiperpigmentasyonda arbutinden daha yüksek etkiye sahip olduğu bulunmuştur. Ayrıca piseitin, fibroblastlardaki tip I prokolajen üretimini de önemli ölçüde artırdığı tespit edilmiştir (Jeong, Jin, Kim, Chang ve Park, 2010; Jin ve diğerleri, 2011).

P. maritimum bitkisinden hareketle hazırlanan asetonlu ekstrenin *in vitro* antioksidan, antienflamatuvar, kırışıklık karşıtı, anti-akne, anti-melanojenik ve antimikrobiyal etkileri araştırılmıştır. Çalışma sonucunda antioksidan aktivite yüksek bulunmuş, ekstrenin nitrik oksiti ve melanoma hücrelerindeki melanin salınımını azalttığı ve TYR'ı güçlü oranda inhibe ettiği bulunmuştur (Rodriguesa ve diğerleri, 2019).

P. chinense L. bitkisinden hareketle hazırlanan etanol ekstresinin, atopik dermatite neden olan mantar ve bakterilere karşı inhibitör etkisi disk difüzyon yöntemi ile araştırılmıştır. Çalışmada patojen mikroorganizmalara karşı güçlü antimikrobiyal etkinin olduğu ortaya çıkarılmıştır (Jiang ve diğerleri, 2018).

Bir başka çalışmada ise *P. minus* Huds. yaprak ekstresi kullanılarak hazırlanan bir krem 48-60 yaş arasındaki sağlıklı 23 kadına uygulanmıştır. Sonuçlar incelendiğinde kremin 2 ay boyunca kullanılmasıyla, kırışıklık sayısında ve uzunluğunda belirgin azalma olduğu gözlenmiştir (Haris, Ming, Perin, Blanche ve Jinapong, 2011).

P. multiflorum bitkisinden izole edilen 2,3,5,4-tetrahidroksistilben-2-O- β -D-glukopiranozit (THSG) bileşiği, kompetitif olmayan bir TYR inhibitörü olduğu yapılan çalışma ile gösterilmiştir. Bileşik, melanogenezi inhibe edip, TYR protein ekspresyonunu ve transkripsiyonunu azaltmıştır. Aynı zamanda TYR/TYR proteini arasındaki kompleks oluşumunu da azalttığı bildirilmiştir (Cheung, Leung, Liu ve Che, 2014). Aynı türden izole edilen bir stilben glikozitinin [(E)-2,3,4',5- β -tetrahidroksistilben-2- β -D-glukopiranozit 6"-O-monogalloil esteri] TYR aktivitesini doza bağımlı olarak azalttığı belirlenmiştir. Bileşik, aynı zamanda melanogenez indükleyicisi olan forskolin uygulanmış B16 melanoma hücrelerinde melanin üretimini de inhibe etmiştir (Kim ve diğerleri, 2009). *P. multiflorum* türü ile yapılan bir başka çalışmada ise köklerden hareketle hazırlanan sulu ekstrenin Hs68 insan fibroblast hücreleri üzerindeki etkisi araştırılmıştır. Çalışmada ekstrenin kolajen üretimini artırmadığı fakat UV-B uygulamasından sonra artan kolajenaz ve elastaz enzim aktivitelerini önemli ölçüde düzenlediği saptanmıştır (Kim ve Leem, 2014).

Yapılan bir çalışmada *P. hydropiper* tomurcuklarının kolajenaz inhibitör etkisi araştırılmıştır. Tomurcuklardan hazırlanan metanollü ekstre doza bağımlı olarak kolajenaz inhibitör etki göstermiştir ve etkiden sorumlu bileşik olarak hiperozit tespit edilmiştir

(Kawaguchi ve Nagata, 2019). Aynı türün tomurcukları ile yapılan bir başka çalışmada ise aktivite-yönlendirmeli fraksiyonlama işlemi ile TYR inhibitör etkiden sorumlu bileşik olarak (+)-taksifolin izole edilmiştir (Miyazawa ve Tamura, 2007). Bazı yenilebilir bitkilerin farklı çözücüler ile hazırlanan ekstrelerinin elastaz enzimi üzerine inhibitör etkilerinin araştırıldığı bir başka çalışmada ise *P. lapathifolium* metanol ekstresi yüksek oranda elastaz inhibitör etki göstermiştir (Sökmen ve Sağkal, 2017).

İn vivo ve klinik çalışmalar

Antienflamatuvar etki

P. cognatum'un kolit tedavisindeki aktivitesinin *in vivo* olarak incelendiği bir çalışmada, ratlara 2 g/kg dozunda uygulanan ekstrenin serum interleükin 6 (IL-6) ve TNF- α seviyelerini azalttığı belirlenmiştir (Çevik ve diğerleri, 2014).

P. aviculare bitkisinin diş eti iltihabına karşı olumlu etkisini araştırmak için yapılan klinik çalışmada; 18-25 yaşları arasındaki 60 erkek 2 hafta boyunca, günde iki kez *P. aviculare* bitki ekstresini kullanmışlardır. Bitki kök, gövde ve yaprak-çiçek kısımları olmak üzere 3'e ayrılmış, her bir kısımdan hareketle hazırlanan ekstreyi 10'ar hasta kullanmıştır. Sonuçlar değerlendirildiğinde; kök ekstresinin plak oluşumunu önlemede diğerlerine göre daha etkili olduğu görülmüştür. Ayrıca *P. aviculare* ekstresinin, astrenjan, antienflamatuvar ve antiglikolitik özellikleri nedeniyle diş eti iltihabını önemli ölçüde azalttığı da çalışmada bildirilmiştir (Begne ve diğerleri, 2001).

Yurt dışında resveratrol kaynağı olan *P. cuspidatum*, Çin Farmakopesi'nde kayıtlı, Geleneksel Çin Tıbbı'nda iyi bilinen ve enflamatuvar hastalıklar, hepatit, tümör ve diyare gibi rahatsızlıklar için Çin, Kore ve Japonya'da kullanılan bir türdür. Ana bileşenleri stilbenler (resveratrol, polidatin) ve antrakinonlardır (Baxter, 2008). Gruplarda 10'ar katılımcının bulunduğu bir çalışmada; bir gruba 40 mg resveratrol içeren *P. cuspidatum* ekstresi 6 hafta boyunca verilmiş, diğer grup plasebo kullanmıştır. Bireylerin kan örnekleri, tedavinin 1., 3. ve 6. haftaların sonunda alınmıştır. 40 mg resveratrol içeren *P. cuspidatum* ekstresinin, oksidatif ve enflamatuvar stres üzerinde güçlü baskılayıcı etkisi olduğu tespit edilmiştir (Ghanim ve diğerleri, 2010). Memelilerde araşidonik asitten (ARA)

eikozanoitlerin sentezi, COX, lipooksijenaz (LOX) ve sitokrom P450 (CYP-P450) aracılığıyla gerçekleşir. Proenflamatuvar mediyatörlerin sentezinde rol oynayan COX ve LOX olmak üzere iki enzim yolağı bulunmaktadır. Her ikisi de prostanoitler ve lökotrienler gibi enflamasyonda rol oynayan maddelerin biyosentezini sağlar. Resveratrolün ise bu enzimleri inhibe etmek suretiyle enflamasyon baskılayıcı özelliği olduğu düşünülmektedir (Lastra ve Villegas, 2005).

İmmün sistem üzerine etkileri

Çift kör ve plasebo-kontrollü gerçekleştirilen bir çalışmada 20 sağlıklı profesyonel basketbol oyuncusu (17-35 yaş arası) iki gruba ayrılmıştır. Bir gruba, 6 hafta boyunca, günde %20 *trans*-resveratrol içerecek şekilde standardize edilmiş 200 mg *P. cuspidatum* ekstresi verilmiş olup, diğer gruba plasebo uygulanmıştır. 6 hafta sonunda sonuçlar kıyaslandığında; *P. cuspidatum* standardize ekstresinin, TNF- α ve IL-6 dahil olmak üzere bazı bağışıklık sistemi faktörleri üzerinde baskılayıcı etkilerinin olduğu kanıtlamıştır (Zahedi, Jazayeri, Ghiasvand, Djalali ve Eshraghian, 2013).

Parkinson hastalığı üzerine etkileri

P. cuspidatum'dan izole edilen resveratrolün ve lipozomal formunun, Parkinson hastalığındaki (PH) nigral hücreler üzerinde etkilerinin araştırıldığı *in vivo* bir çalışmada; tedavi edilmeyen grup, negatif kontrol grubu, pozitif kontrol grubu, resveratrol ve resveratrol lipozom grubu olmak üzere 5 grup (n=6) oluşturulmuştur. Son üç gruba, PH oluşturmak için, 6-hidroksil dopamin intraserebroventriküler yolla enjekte edilmiştir. Negatif kontrol grubuna, normal salin enjeksiyonu yapılmıştır. 14 gün boyunca resveratrol ve resveratrol lipozomunu (günde 20 mg/kg) kullanan ratlarda, anormal davranış, nigral hücrelerin kaybı, apoptozis ve toplam reaktif oksijen miktarında önemli ölçüde azalma gözlenmiştir. Resveratrolün lipozom formülasyonu ise serbest resveratrol'den daha etkili bulunmuştur (Wang, Xu, Fu, Ma ve Xiang, 2011).

Yaşlanma karşıtı etki

Ratlarda yapılan bir başka çalışmada; resveratrol miktarı %20 olan *P. cuspidatum* ekstresi, 49 gün boyunca 100 mg/kg dozda deney hayvanlarına oral yolla verilmiştir. 49. günde yaşlanmanın belirteçleri olarak görülen, *N*-metil-2-piridon-5-karboksamit (2PY) ve fenilasetilglisin (PAG) miktarlarının üriner seviyelerindeki değişiklikler, bitkinin yaşlanma karşıtı etki için potansiyel bir rol oynayabileceğini göstermiştir (Perona, Dall'Acqua ve Sutb, 2018).

Saç beyazlamasını önleyici etki

P. multiflorum bitkisinin saç beyazlamasını önleyici etkisine yönelik mekanistik bir çalışma yapılmıştır. Çalışmada, *P. multiflorum* kök ekstresi, ekstreyi içeren preparat ve bitkide majör olarak bulunan stilben yapısındaki THSG bileşiği kıyaslanmıştır. Erkek farelerde, H₂O₂ ile oluşturulan saç beyazlığı, özellikle *P. multiflorum* kök ekstresi ile büyük ölçüde giderilmiştir. Ekstre, α -MSH (alfa melanosit uyarıcı hormon), MC₁R (melanokortin-1 reseptörü) ve TYR ekspresyonunu arttırarak daha fazla melanin üretimini sağlamıştır. Araştırmada *P. multiflorum* kök ekstresinin, ekstreyi içeren preparata göre saç koyulaşması üzerinde daha iyi etki gösterdiği bulunmuştur. THSG ise hem ekstreden hem de preparat haline getirilmiş ekstreden daha düşük etki göstermiştir (Han, Lu, Zhang, Yu ve Zhao, 2015).



3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

Deneysel çalışmalarımızda kullanılan bitkisel materyallerin toplanma veya temin edilme yerleri ve tarihleri Çizelge 3.1.'de verilmiştir. Toplanan bitki materyalleri yaygın herbaryum tekniklerine göre preslenerek kurutulmuştur. Herbaryum materyali haline getirilen örnekler Selçuk Üniversitesi Fen Fakültesi Herbaryumu'nda (KNYA) saklanmaktadır.

Kurutulan örneklerin, Türkiye Florası ve Türkiye Bitkileri Listesi kaynakları kullanılarak bilimsel isimleri teşhis edilmiş ve Türkçe adları belirlenmiştir (Coode ve Cullen, 1970; Güner ve diğerleri, 2012).

Çizelge 3.1. *Polygonum* türlerinin toplanma yerleri, rakımı, tarihleri ve herbaryum numaraları

Tür Adları	Toplanma Yerleri, Rakımı ve Toplanma Tarihleri	Herbaryum Numarası
<i>Polygonum aviculare</i> (Resim 3.1)	C4 Konya; Çumra, Bozkır arası, step, 1060 m, 31.05.2020, O.Tugay 17.510 & T.Doğru	27634
<i>Polygonum cognatum</i> (Resim 3.2)	C4 Konya; Hadim, Çalca mevkii, 1600 m, 31.05.2020 O.Tugay 17.528	27632
<i>Polygonum patulum</i> (Resim 3.3)	C4 Konya; Çumra, Bozkır arası, step, 1060 m, 31.05.2020, O.Tugay 17.511 & T.Doğru	27633
<i>Polygonum setosum</i> (Resim 3.4)	C4 Konya; Seydişehir yolu, 1570 m, 06.06.2020, O.Tugay 17.545 & T.Doğru	27631



Resim 3.1. *Polygonum aviculare* genel görünüm (Fotoğraf: Dr. Osman Tugay)



Resim 3.2. *Polygonum cognatum* genel görünüm (Fotoğraf: Dr. Osman Tugay)



Resim 3.3. *Polygonum patulum* genel görünüm (Fotoğraf: Dr. Osman Tugay)



Resim 3.4. *Polygonum setosum* genel görünüm (Fotoğraf: Dr. Osman Tugay)

3.2. Yöntem

3.2.1. Ekstraksiyon ve örneklerin hazırlanması

Toplanan bitki materyalleri, toprak üstü ve toprak altı kısımlarına ayrılmış, gölgede kurutulmuş ve toz edilmiştir. Daha sonra her bir örnek tartılmış ve üzerine %96'lık etanol ilave edilerek oda sıcaklığında 7 gün boyunca maserasyona bırakılmıştır. Gün boyunca çalkalayıcı yardımıyla çalkalanarak ekstraksiyonun verimi arttırılmıştır. Elde edilen ekstre, filtre kağıdından süzölmüştür. Kalan süzöntü, 40 °C'de düşük vakum altında rotavaporda (Büchi, İsviçre) kuruluğa kadar yoğunlaştırılıp, çözücüsünden kurtarılmıştır. Elde edilen kuru ekstre tartılarak verimleri (a/a) cinsinden hesaplanmıştır. Daha sonra enzim inhibisyonu deneylerinde ve kantitatif analizlerde kullanılmak üzere +4°C'de saklanmıştır.

Biyolojik aktivite çalışmaları arasında yer alan enzim inhibisyon tayin yöntemlerini gerçekleştirmek üzere ekstreler uygun miktarda tartılmış ve stok konsantrasyonları 5 mg/mL olacak şekilde dimetil sülfoksit (DMSO) (Merck, Almanya) içinde çözülmüştür. Taramaya dahil edilen saf maddeler de stok konsantrasyonları 1 mg/mL olacak şekilde DMSO içinde çözülmüşlerdir. İnhibisyonları yüksek çıkan ekstrelerden farklı dilüsyonlar hazırlanarak deneyler tekrarlanmış ve IC₅₀ değerleri hesaplanmıştır.

3.2.2. Ekstrelerde LC-MS QTOF ile resveratrol analizi

Analiz parametreleri

Analizler Agilent 1260 serisi HPLC sistemi ve bu sisteme bağlı Agilent 6550 iFunnel Yüksek Çözünürlüklü Kütle Spektrometre cihazında yapılmıştır (Agilent Technologies, Inc., CA, USA). MS sistemi Çift spreylili Agilent Jet Stream Elektrosprey iyonlaşma tekniğinde kullanılmış ve negatif modda analizler yapılmıştır. MS çalışma modu 2 GHz Extended Dynamic Range. olarak belirlenmiş, kromatografik ayırım için Thermo Hypersil Gold C-18 (4.6 mm x 150 mm x 3 µm) kolon kullanılmıştır. Analiz ve veri değerlendirmelerde Agilent MassHunter Yazılım B06.00 ve Metlin Metabolit veritabanı kullanılmıştır.

HPLC ve MS parametreleri Çizelge 3.2'de detaylı olarak verilmiştir.

Çizelge 3.2. HPLC ve MS parametreleri

Kolon	Thermo Hypersil Gold C-18 (4,6 mm x 150 mm x 3 µm)
Kolon Fırını	30 °C
Enjeksiyon hacmi	5 µL
Analiz süresi	60 min.
Mobil Faz A	5 mM amonyum asetat
Mobil Faz B	Asetonitril
Akış	0,6 mL/dk
Akış programı	0 dk- 5 % B
	0,5 dk- 5 % B
	20 dk- 20 % B
	30 dk-40 % B
	38 dk- 70 % B
	42 dk- 90 % B
	50 dk- 90 % B
	50,1 dk- 5 % B
İyonlaşma modu	Negatif
Kurutucu gaz sıcaklığı	250 °C
Kurutucu gaz akış, N ₂	14 L/dk
Nebulizer	20 psi
Sheath gaz sıcaklığı	375°C
Sheat gaz akış, N ₂	12 L/dk
Kapiler Voltaj	4500 V
Nozzle Voltaj	2000 V
Kütle okuma aralığı	100-1700 amu
Referans iyonlar	966,725

3.2.3. Ekstrelerde LC-MS QTOF ile yapılan miktar tayini

Ekstrelerde resveratrol analizi için uygulanan koşulların aynısı kullanılmıştır. *Polygonum* ekstrelerinde kütüphane taraması ve literatür verileri ile varlığı saptanan kateşin, kersetin 3-glikozit ve kersetin 3-galaktozit bileşikleri için standart madde enjeksiyonu yapılarak doğrulama ve miktar tayinleri yapılmıştır.

3.2.4. Enzim inhibisyon tayin yöntemleri

Elastaz inhibisyonu

Elastaz enzim inhibisyonu Kraunsoe ve diğerleri'nin, Lee ve diğerleri tarafından modifiye edilmiş spektrofotometrik yöntemi kullanılarak test edilmiştir (Kraunsoe, Claridge ve Lowe, 1996; Lee ve diğerleri, 2009). Enzim kaynağı olarak domuz pankreatik elastazı (Tip IV,

Sigma, EC 3.4.21.36) kullanılırken, substrat olarak N-Suc-(Ala)₃-*p*-nitroanilit (Sigma, ABD) kullanılmıştır.

Yöntemin esası, substrattan salınan nitroanilin'in 410 nm dalga boyunda ölçülmesine dayanmaktadır. 1,015 mM substrat 0,1 M Tris-Cl (pH 8,0) tamponunda hazırlanmış ve bu çözelti (130 µL) DMSO'da çözülen ekstreler (10 µL) ile 96 kuyucuklu mikropakta karıştırılmıştır. Mikropak 25 C°'de 5 dk ön-inkübasyona bırakıldıktan sonra 0,5 ünite/mL (15 µL) enzim solüsyonu eklenmiştir. Enzim eklendikten sonra mikropak 25°C'de 30 dk inkübe edilmiş ve substrattan salınan *p*-nitroanilin miktarı 410 nm'de ELİSA mikropak okuyucuda (Versamax tunable microplate reader, ABD) okutulmuştur. Referans olarak oleanolik asit (Sigma), kontrol olarak ise DMSO kullanılmıştır. Örneklerin % elastaz inhibisyonları aşağıda verilen formüle göre hesaplanmıştır. Her örnek 4 paralel olarak çalışılmış ve sonuçlar 4 deneyden elde edilen % inhibisyonların ortalaması ± standart sapma olarak verilmiştir.

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

A₁= Örnek çözeltilerinin 410 nm dalga boyundaki absorbansı

A₂= Kontrol çözeltilerinin 410 nm dalga boyundaki ortalama absorbansı

Kolajenaz inhibisyonu

Kolajenaz enzim inhibisyonu Wart ve Steinbrink tarafından geliştirilen, modifiye edilmiş spektrofotometrik yöntem kullanılarak ölçülmüştür (Barrantes ve Guinea, 2003; Van Wart ve Steinbrink, 1981). Enzim kaynağı olarak *Clostridium histolyticum* kolajenazı (Sigma, EC 3.4.24.3) kullanılırken, substrat olarak N-(3-[2-furil]akriloil)-Leu-Gly-Pro-Ala (FALGPA) (Sigma, ABD) kullanılmıştır. 0,8 ünite/mL enzim 50 mM trisin tamponunda (10 mM CaCl₂ ve 400 mM NaCl ile pH 7,5) çözülmüştür. Substrat FALGPA 2 mM olacak şekilde aynı tamponda çözülmüştür. 25 µL tampon, 25 µL DMSO veya ekstre ve 25 µL enzim 96 kuyucuklu mikropak kuyucuğunda karıştırılmıştır. 15 dk ön-inkübasyondan sonra 50 µL substrat eklenmiştir. Absorbans 340 nm'de 20 dk boyunca 2 dk aralıkla ELISA mikropak okuyucuda (Versamax tunable microplate reader, ABD) okutulmuştur. Referans olarak (-)-epigallokateşin gallat (EGCG, Sigma), kontrol olarak ise DMSO kullanılmıştır. Örneklerin % kolajenaz inhibisyonları aşağıda verilen formüle göre hesaplanmıştır. Her örnek 4 paralel olarak çalışılmış ve sonuçlar 4 deneyden elde edilen % inhibisyonların ortalaması ± standart

sapma olarak verilmiştir.

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

A₁= Örnek çözeltilerinin 340 nm dalga boyundaki absorbansı

A₂= Kontrol çözeltilerinin 340 nm dalga boyundaki ortalama absorbansı

Tirozinaz İnhibisyonu

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

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

A₁= Örnek çözeltilerinin 492 nm dalga boyundaki absorbansı

A₂= Kontrol çözeltilerinin 492 nm dalga boyundaki ortalama absorbansı



4. BULGULAR

4.1. Ekstre Verimlerine Ait Bulgular

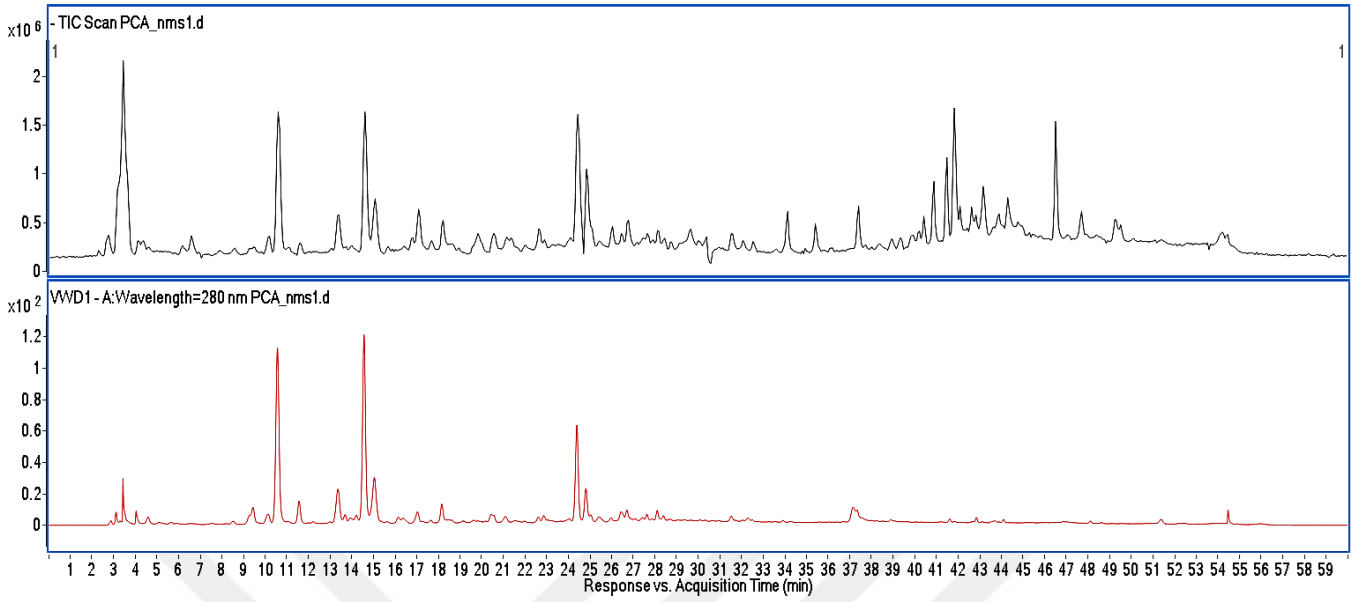
Tez gereçlerimizi teşkil eden bitkisel materyallerden hareketle hazırlanan etanol ekstreleri tartılarak hesaplanan % verimleri (a/a) Çizelge 4.1’de verilmektedir.

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

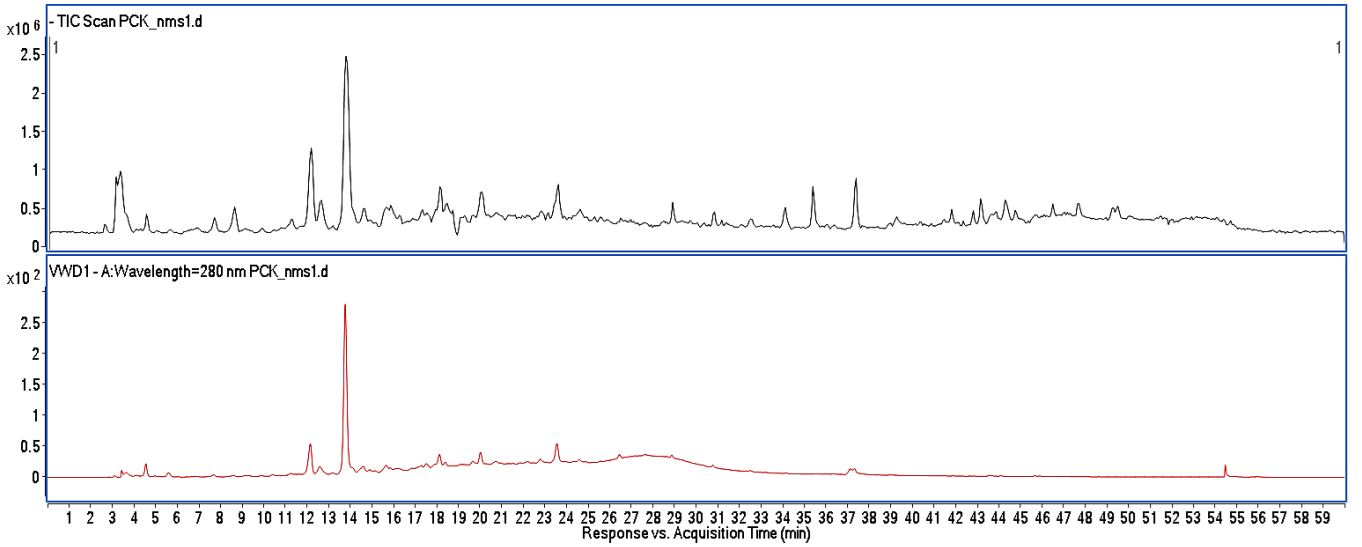
Bitki	Kısım	Tartılan bitki kısmı	Tartılan ekstre	% Verim (a/a)
<i>P. aviculare</i>	Toprak üstü	28,38 g	1,4928 g	5,26
	Toprak altı	29,43 g	1,4168 g	4,81
<i>P. cognatum</i>	Toprak üstü	14,6 g	0,765 g	5,24
	Toprak altı	52,26 g	2,2549 g	4,31
<i>P. patulum</i>	Toprak üstü	19,31 g	1,5271 g	7,91
	Toprak altı	7,71 g	0,135 g	1,75
<i>P. setosum</i>	Toprak üstü	20,07 g	0,9858 g	4,91
	Toprak altı	53,25 g	0,8315 g	1,56

4.2. Ekstrelerde LC-MS QTOF ile Resveratrol Analizi Tayinine Ait Bulgular

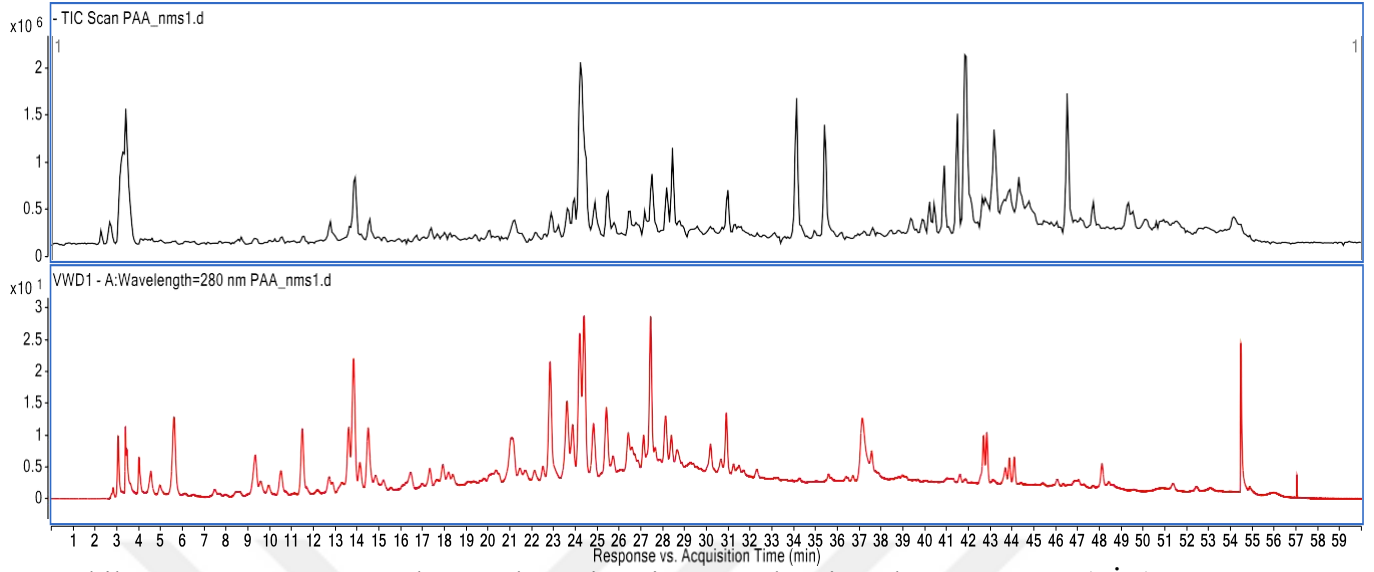
Polygonum örneklerinden hazırlanan etanollü ekstrelerin, içerdiği bileşenlere ait kromatogram görüntüleri Şekil 4.1- Şekil 4.8’de, resveratrole ait kromatogram görüntüleri Şekil 4.9 ve Şekil 4.10’da verilmektedir. Şekil 4.11’de resveratrole ait ön kütüphane taraması görüntüsü verilmektedir.



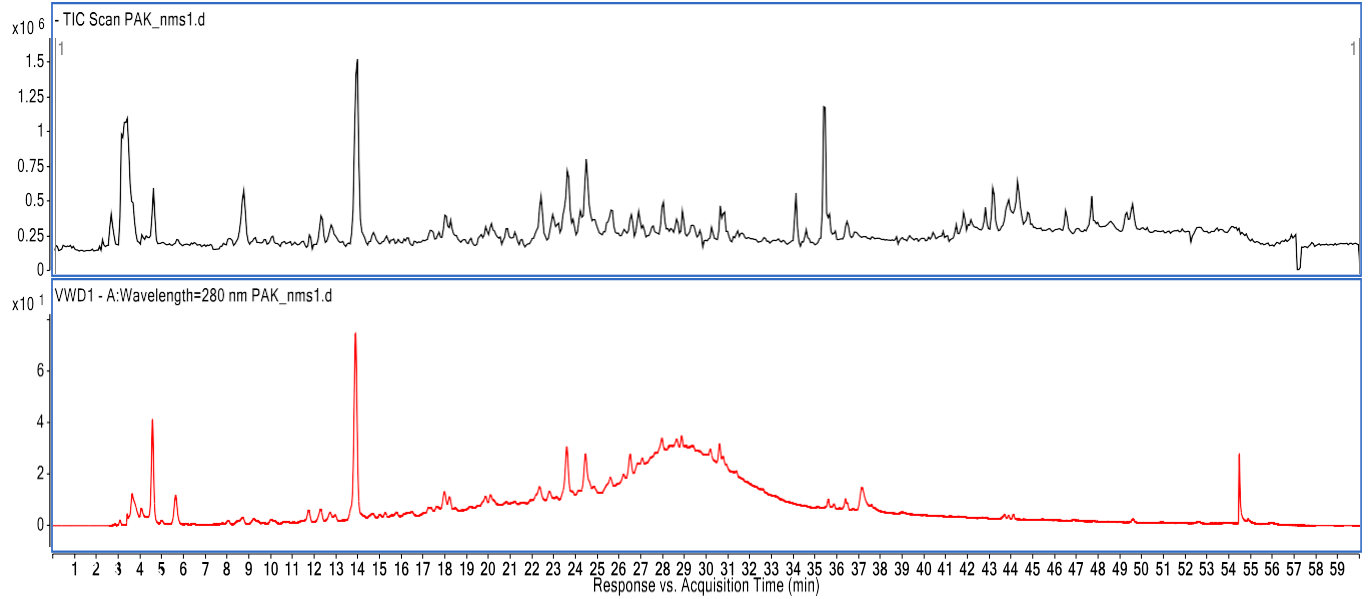
Şekil 4.1. *P. cognatum* toprak üstü ekstresine ait MS toplam iyon kromatogramı (TİK) ve UV kromatogramı



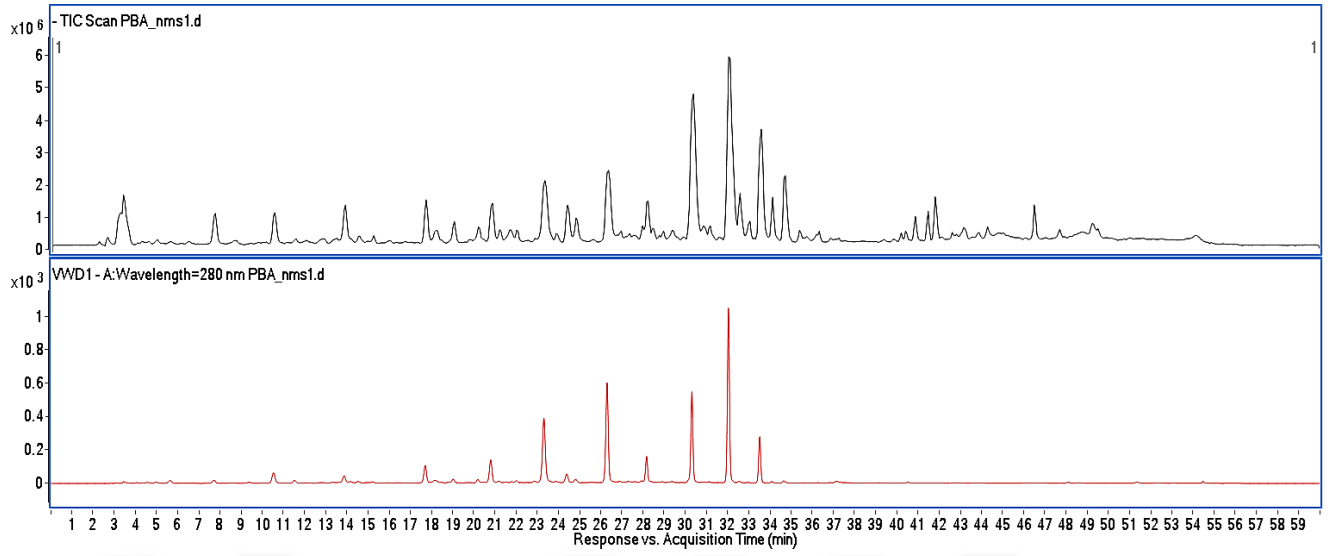
Şekil 4.2. *P. cognatum* kök ekstresine ait MS toplam iyon kromatogramı (TİK) ve UV kromatogramı



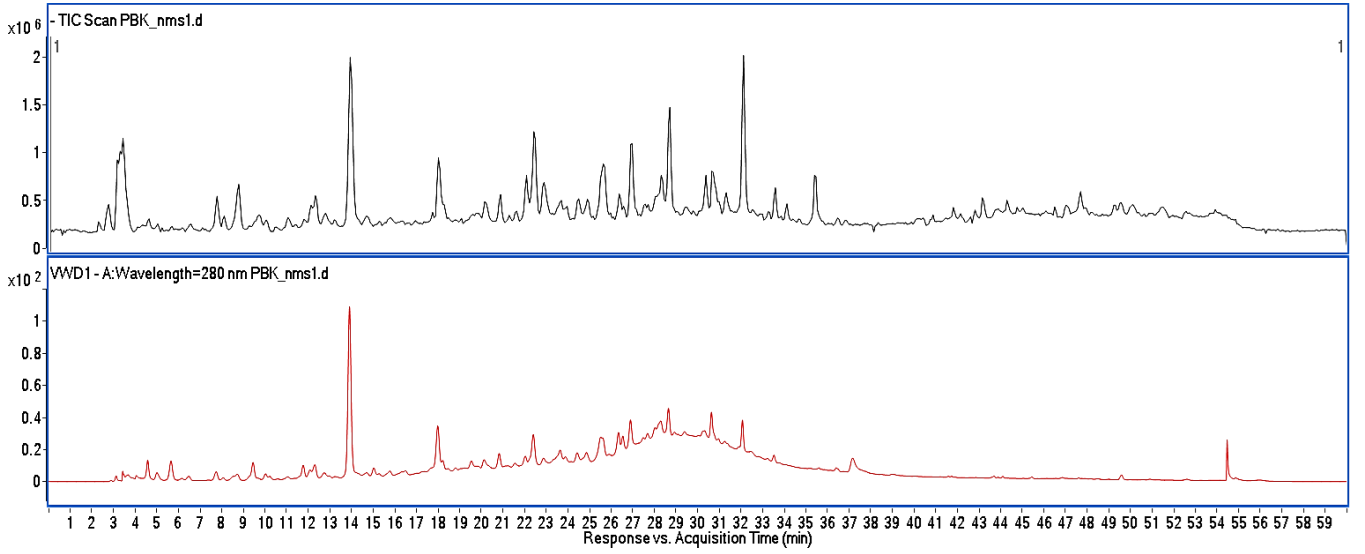
Şekil 4.3. *P. aviculare* toprak üstü ekstresine ait MS toplam iyon kromatogramı (TİK) ve UV kromatogramı



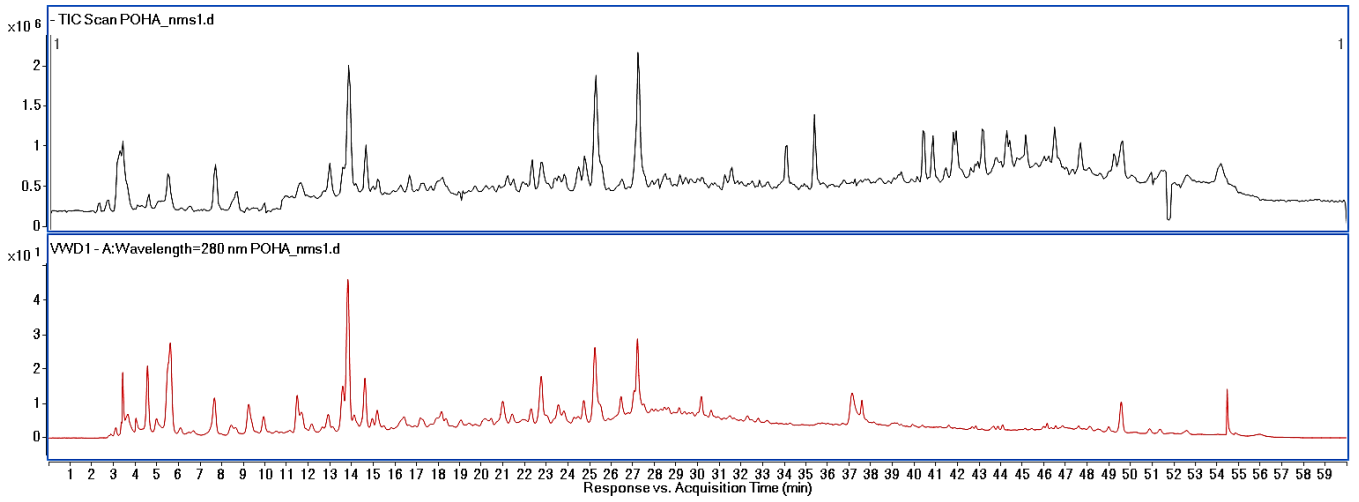
Şekil 4.4. *P. aviculare* kök ekstresine ait MS toplam iyon kromatogramı (TİK) ve UV kromatogramı



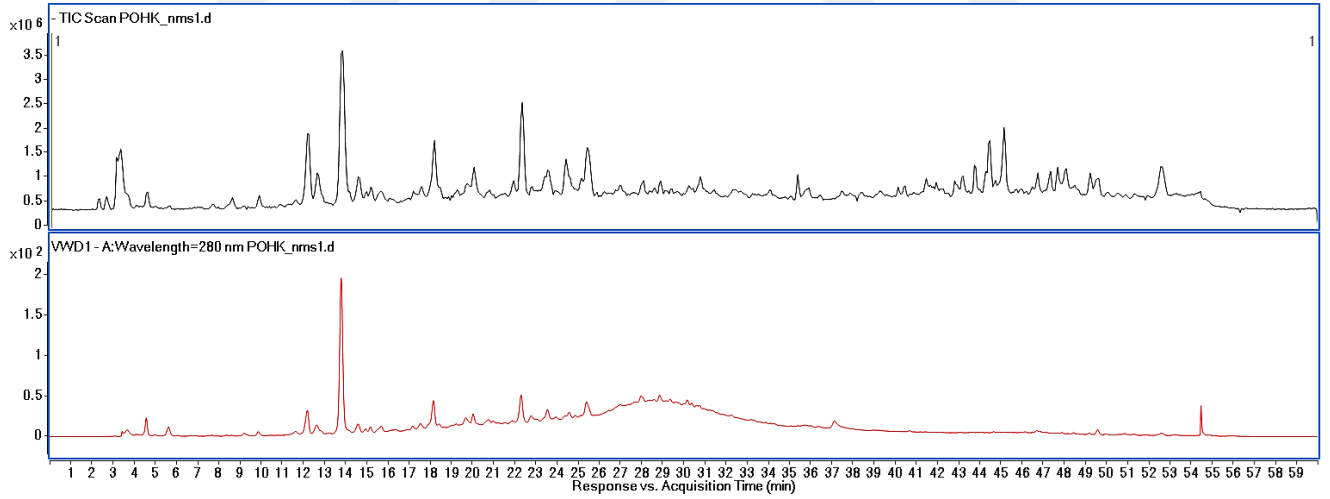
Şekil 4.5. *P. patulum* toprak üstü ekstresine ait MS toplam iyon kromatogramı (TİK) ve UV kromatogramı



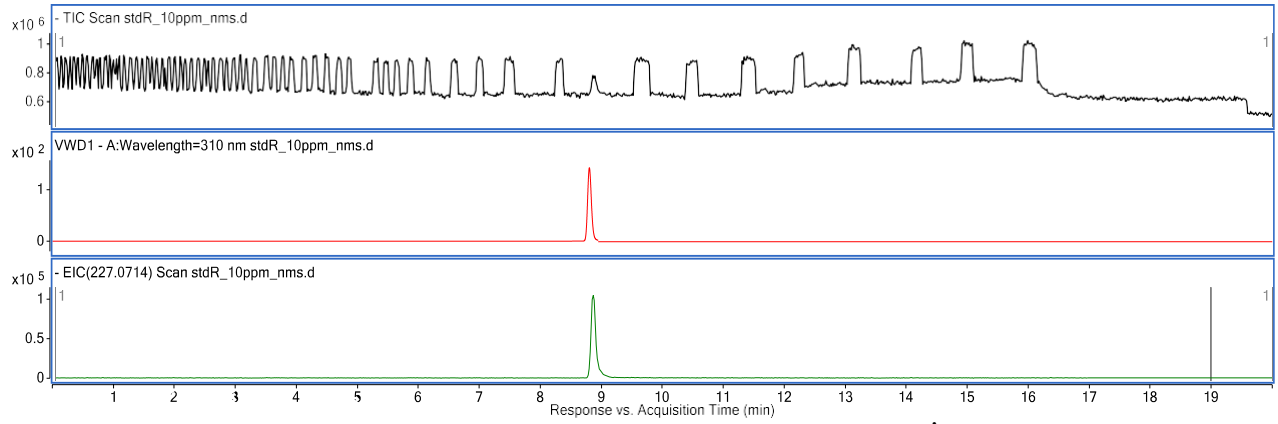
Şekil 4.6. *P. patulum* kök ekstresine ait MS toplam iyon kromatogramı (TİK) ve UV kromatogramı



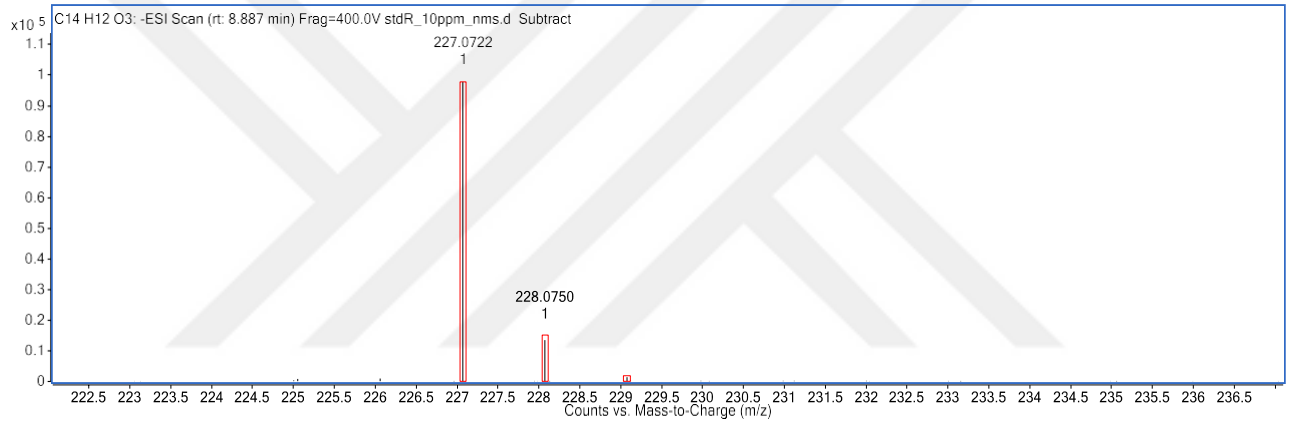
Şekil 4.7. *P. setosum* toprak üstü ekstresine ait MS toplam iyon kromatogramı (TİK) ve UV kromatogramı



Şekil 4.8. *P. setosum* kök ekstresine ait MS toplam iyon kromatogramı (TİK) ve UV kromatogramı



Şekil 4.9. Resveratrol bileşiğine ait MS toplam iyon kromatogramı (TİK), UV kromatogramı, resveratrol'e ait ekstrakte edilmiş iyon kromatogramı (EIC)



Şekil 4.10. Resveratrol bileşiğine ait MS spektrumu ve izotopik dağılımı

Spectrum Identification Results: - Scan (rt: 8.887 min) Sub

Automatically Show Columns

Best	ID Source	Name	Formula	Species	m/z	Score	Diff (ppm)	Score (MFG)	Mass	Mass (Tgt)
	MFG	C14 H12 O3	(M-H)-		227.0722	96.04	-3.36	96.04	228.0794	

Score (iso. abund)	Score (mass)	Score (MFG, MS/MS)	Score (MS)	Score (MFG)	Score (iso. spacing)	Height	Ion Formula	Species	m/z
97.37	94.65	96.04	96.04	97.19	98018.5		C14 H11 O3	(M-H)-	227.0722

Height (Calc)	Height Sum% (Calc)	Height % (Calc)	m/z (Calc)	Diff (mDa)	Height	Height %	Height Sum %	m/z	Diff (ppm)
96313.4	85.3	100	227.0714	-0.8	98018.5	100	86.8	227.0722	-3.68
14815.7	13.1	15.4	228.0748	-0.2	13473	13.7	11.9	228.075	-0.96
1654.4	1.5	1.7	229.0772	-1	1324.6	1.4	1.2	229.0782	-4.33
138	0.1	0.1	230.0799	-3.4	105.3	0.1	0.1	230.0833	-14.97

Şekil 4.11. LC-MS QTOF cihazında resveratrole ait MS spektrumu sonucu için yapılan kütüphane taraması ve eşleşme değerleri

Resveratrole ait kalibrasyon grafiği Çizelge 4.2’de yer almaktadır.

Çizelge 4.2. Resveratrol kalibrasyon eğrisine ilişkin sonuçlar

Madde	Rt (dk)	Kalibrasyon denklemi	r ²
Resveratrol	8,887	y=43947,490421x+ 28658,658664	0,999

y: pik alanı, x: analit konsantrasyonu, r: regresyon katsayısı

Sonuç olarak *Polygonum* ekstrelerinde LC-MS QTOF analizi sonucunda retansiyon zamanı, parçalanma ürünleri ve kütüphane taramasına göre bulunduğu tespit edilen bileşikler Çizelge 4.3.’de verilmektedir (Wu ve diğerleri, 2019).

Çizelge 4.3. *Polygonum* ekstrelerinde LC-MS QTOF analizi sonucu bulunan bileşikler

Madde ismi	Rt (dk)	Kapalı formül	M-H iyonu
Kinik asit	3,46	C ₇ H ₁₂ O ₆	191.0560
Galloilfruktoz/glukoz	3,69	C ₁₃ H ₁₆ O ₁₀	331.0630
Galloilfruktoz/glukoz	4,6	C ₁₃ H ₁₆ O ₁₀	331.0595
Gallik asit	5,69	C ₇ H ₆ O ₅	169.0141
1-O- Galloilfruktoz	7,72	C ₁₃ H ₁₆ O ₁₀	331.0631
Gallokateşin/Epigallokateşin	8,66	C ₁₅ H ₁₄ O ₇	305.0597
Prosiyanidin B1	12,2	C ₃₀ H ₂₆ O ₁₂	577.1165
Kateşin	13,82	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	289.0662
Epikateşin	17,34	C ₁₅ H ₁₄ O ₆	289.0657
3-Galloilprosiyanidin B1/B2	18,19	C ₃₇ H ₃₀ O ₁₆	729.1206
Kateşin /Epikateşin gallat	23,62	C ₂₂ H ₁₈ O ₁₀	441.0698
Kersetin 3-glukozit	23,86	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	463.0792
Rutin	23,89	C ₃₀ H ₂₆ O ₁₄	609.1327
Kersetin 3-galaktozit	24,79	C ₂₁ H ₂₀ O ₁₂	463.0798
Kersetin	31,55	C ₁₅ H ₁₀ O ₇	301.0316

4.3. Ekstrelerde LC-MS QTOF ile Yapılan Miktar Tayinine Ait Bulgular

Ekstrelerde kütüphane taraması ve standart doğrulaması ile tespit edilen kateşin, kersetin 3-glikozit/3-galaktozit majör bileşiklerinin miktar tayini sonuçları Çizelge 4.4’de verilmiştir.

Çizelge 4.4. *Polygonum* ekstrelerinde LC-MS QTOF analizi sonucu bulunan bileşiklerin miktar tayini sonuçları

Bitki kısmı	Kateşin (mg/g)	Kersetin 3-glikozit / 3-galaktozit (mg/g)
<i>P. aviculare</i> toprak üstü kısmı	2,78	0,93
<i>P. aviculare</i> toprak altı kısmı	4,09	1,36
<i>P. cognatum</i> toprak üstü kısmı	1,38	0,46
<i>P. cognatum</i> toprak altı kısmı	4,62	1,54
<i>P. patulum</i> toprak üstü kısmı	5,86	1,95
<i>P. patulum</i> toprak altı kısmı	8,18	2,72
<i>P. setosum</i> toprak üstü kısmı	5,06	1,69
<i>P. setosum</i> toprak altı kısmı	10,46	3,48

4.4. Enzim İnhibisyonu Tayinlerine Ait Bulgular

Tez gereçlerimizi teşkil eden bitkisel materyallerden hareketle hazırlanan etanollü ekstrelerin, 333 µg/mL final konsantrasyondaki elastaz, kolajenaz ve TYR enzim inhibisyonlarına ait bulgular Çizelge 4.5'te verilmektedir.

Çizelge 4.5. *Polygonum* ekstrelerinin elastaz, kolajenaz ve TYR enzim inhibisyonları

Bitki	Kısım	TYR Enzim İnhibisyonu (% İnhibisyon $\pm$ S.S. ^a) 333 μ g/mL ^b	Elastaz Enzim İnhibisyonu (% İnhibisyon $\pm$ S.S. ^a) 333 μ g/mL ^b	Kolajenaz Enzim İnhibisyonu (% İnhibisyon $\pm$ S.S. ^a) 333 μ g/mL ^b
<i>P. aviculare</i>	Toprak üstü	- ^c	-	33,13 $\pm$ 4,07 ^d
	Toprak altı	24,95 $\pm$ 1,83	68,87 $\pm$ 0,29 (IC ₅₀ : 169,33 $\pm$ 3,58 μ g/mL)	69,63 $\pm$ 2,92 (IC ₅₀ : 220,50 $\pm$ 1,13 μ g/mL)
<i>P. cognatum</i>	Toprak üstü	-	16,47 $\pm$ 0,94	56,87 $\pm$ 5,66 (IC ₅₀ : 220,35 $\pm$ 3,46 μ g/mL)
	Toprak altı	48,64 $\pm$ 1,66	11,04 $\pm$ 1,22	74,46 $\pm$ 3,53 (IC ₅₀ : 200,30 $\pm$ 2,26 μ g/mL)
<i>P. patulum</i>	Toprak üstü	-	13,6 5 $\pm$ 1,22	27,52 $\pm$ 2,50
	Toprak altı	42,87 $\pm$ 0,59	50,97 $\pm$ 0,35 (IC ₅₀ : 326,63 $\pm$ 2,84 μ g/mL)	55,54 $\pm$ 3,52 (IC ₅₀ : 297,70 $\pm$ 2,40 μ g/mL)
<i>P. setosum</i>	Toprak üstü	-	6,90 $\pm$ 1,76	36,31 $\pm$ 2,31
	Toprak altı	45,99 $\pm$ 2,30	62,92 $\pm$ 0,98 (IC ₅₀ : 247,50 $\pm$ 5,02 μ g/mL)	16,37 $\pm$ 2,51 ^d
Referans		84,56 $\pm$ 0,27 ^e (IC ₅₀ : 0,68 $\pm$ 0,05 μ g/mL)	46,90 $\pm$ 3,66 ^f	44,64 $\pm$ 2,87 ^g

^a Standart sapma (n=4), ^b Final konsantrasyon, ^c Etki gözlenmedi, ^d Absorbans okunamadığı için final konsantrasyon 166 μ g/mL, ^e Kojik asit (133 μ g/mL), ^f Oleanolik asit 1 mM, ^g Epigallokateşin gallat 1 mM



5. TARTIŞMA

Tıbbi bitkiler, yapılarında bulundurdıkları biyoaktif bileşenler sayesinde geniş terapötik etkiye sahiptirler ve çeşitli hastalıkların tedavisinde sıklıkla başvurulan kaynaklar arasındadırlar. 2013 yıllarının sonunda, Birleşik Devletler Gıda ve İlaç Dairesi (U.S. Food and Drug Administration) (FDA) 547 doğal ürünü ve bu ürünlerin türevlerini onaylamıştır. Son 30 yılda ise, doğal ürünlerin veya yeni doğal ürünlerin model oluşturduğu kimyasal bileşiklerin yüzdesi toplamın yaklaşık %50'sine yükselmiştir (Rao ve diğerleri, 2019). Dünya Sağlık Örgütü raporuna göre, dünya nüfusunun neredeyse %65'i birçok rahatsızlığın tedavisi için ilk olarak doğal biyoaktif bileşenlerin tüketimine başvurmaktadır. Bu nedenle biyoaktif bileşenlerin, doğal kaynaklardan ileri kromatografik yöntemlerle teşhisi, izolasyonu, analizi ve biyolojik aktivite tayinleri büyük önem arz etmektedir (Chopra ve Dhingra, 2021).

Biyoaktif bileşenler arasında sağlık üzerine olumlu etkileri nedeniyle büyük önem taşıyan resveratrol, üzüm kabuklarında yüksek oranda bulunmakla beraber 70'in üzerinde bitkide tespit edilmiştir. Bileşik anti-enflamatuvar ve antioksidan etkilerinden dolayı kardiyovasküler hastalıklar, kanser, nörodejeneratif hastalıklar (Parkinson, Alzheimer), metabolik hastalıklar (diyabet, obezite) gibi pek çok hastalığın tedavisi için araştırılmıştır (Pasquariello ve diğerleri, 2020). Bitkilerde bulunan polifenolik yapıdaki resveratrolün, MAP kinazlar, NF- κ B ve MMP'ler dahil UV aracılı fotoyaşlanma ile ilişkili hücresel sinyalleme mekanizmaları üzerinde etkili olduğu gösterilmiştir. Hücresel proliferasyonu, mRNA survivin ekspresyonunu ve survivin fosforilasyonunu belirgin bir şekilde inhibe ettiği ve ROS seviyelerini azalttığı belirlenmiştir (Baxter, 2008). Çeşitli etki mekanizmaları nedeniyle resveratrol birçok kozmetik preparatın içeriğinde aktif bileşen olarak bulunmaktadır (Kiselev, 2011).

Resveratrolün bu tip hastalıklara karşı koruyucu ve tedavi edici etkileri ile ilgili birçok literatür çalışması mevcutken, olası toksisitesi ve yan etkileri hakkında az sayıda rapor bulunmaktadır. Araştırılan yan etkiler arasında resveratrolün, hipersensitiviteye neden olduğu, beyaz kan hücreleri, alanin aminotransferaz, TNF- α ve IL-6 seviyelerini düşürdüğü, kemoterapötik dozlarda normal hücreler için sitotoksik olabileceği yer almaktadır (Shaito, 2020). İnsanlarda resveratrol takviyesinin uzun vadeli kullanımları hakkında sınırlı veriler

bulunmasına rağmen güçlü farmakolojik etkilerinden dolayı hastalıkların tedavisinde araştırmalarına devam edilmektedir.

Resveratrolün biyolojik etkileri üzerine yapılan araştırmaları resveratrol içeren bitkilerin araştırılıp ortaya çıkarılması takip etmektedir. Resveratrol yaklaşık 100 türde ve 34 familyada yer almaktadır. Genellikle köklerden, gövdelerden, yapraklardan, çiçeklerden, meyvelerden ve tohumlardan elde edilmektedir. Yapılan çalışmalarda *Paeonia suffruticosa* Andr. ($8,7 \times 10^{-1}$ g kg⁻¹) tohumlarındaki resveratrol içeriği en yüksek bulunurken; *P. cuspidatum* ($4,209 \times 10^{-1}$ g kg⁻¹) kökleri bu türü takip etmektedir (Tian ve Liu, 2020).

Çin’de ve Japonya’da *P. cuspidatum* kökleri, iltihap, enfeksiyon, sarılık, cilt yanıkları ve hiperlipemi gibi hastalıklarının tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. *P. cuspidatum* taşıdığı resveratrol nedeniyle sıklıkla araştırılmıştır (Vrchotová, Sera ve Triska, 2007). Yaptığımız literatür taramasında *P. cuspidatum* ismi artık *Reynoutria japonica* türünün sinonimi olarak kayıtlarda yer almaktadır. Aynı şekilde resveratrol içerdiği tespit edilen *P. cillinerve* (757,319-894,658 µg/g) ve *P. multiflorum* (178,00 ±9,89 µg/g) türlerinin de yürütülmüş filogenetik çalışmalar ile *Reynoutria* cinsine aktarıldığı tespit edilmiştir.

Türkiye’de *R. japonica* 2019 yılında Samsun Terme/Bazlamaç bölgesinde teşhis edilmiş, bu cinsin de ilavesiyle familyanın Türkiye florasındaki cins sayısı 11’e yükselmiştir (Karaer, Terzioğlu ve Kutbay, 2020). *R. japonica* üzerinde yapılan izolasyon çalışmasında, bitkinin köklerinden, emodin, fallasinol, emodin-8-O-beta-D-glukopiranozit, 20-metoksi-6-asetil-7-metilyuglon, resveratrol ve piseit izole edilmiştir. Ayrıca, aynı çalışmada cis-resveratrol ve cis-piseit fitokimyasal izomerizasyon yoluyla elde edilmiştir (Yan, Jianyu, Wei ve Changxiang, 2001).

Tez çalışmamız kapsamında LC-MS QTOF ile resveratrol içeriği yönünden değerlendirilen *P. aviculare*, *P. setosum*, *P. patulum*, *P. cognatum* toprak altı ve toprak üstü ekstrelerinde ise resveratrol saptanmamıştır. Ancak ileriki dönemlerde yapılması planlanan arazi çalışmaları ile *P. equisetiforme* Sm. ve *R. japonica*’nın sinonimi olarak bilinen *P. cuspidatum* türlerinin toplanıp resveratrol içeriğinin değerlendirilmesi planlanmaktadır.

Yapılan kalitatif/kantitatif analiz çalışmalarında bitki ekstralarının toprak üstü ve toprak altı kısımlarının fenolik bileşiklerce (kinik asit, fenolik asitler, kateşin ve kateşin türevleri, kersetin ve kersetin heterozitleri) zengin olduğu sonucuna varılmıştır. Bitkide bulunan kateşin, kersetin 3-glukozit ve kersetin 3-galaktozit gibi başlıca bileşenlerin ise kalitatif tayinlerinin yanı sıra kantitatif analizlerle miktarları saptanmıştır. *P. aviculare*, *P. cognatum*, *P. patulum* ve *P. setosum* toprak üstü ekstralarında kateşin miktarları sırasıyla 2,78 mg/g; 1,38 mg/g; 5,86 mg/g; 5,06 mg/g olarak kersetin 3-glukozit ve kersetin 3-galaktozit miktarları sırasıyla 0,93 mg/g; 0,46 mg/g; 1,95 mg/g; 1,69 mg/g olarak bulunmuştur. *P. aviculare*, *P. cognatum*, *P. patulum* ve *P. setosum* toprak altı ekstralarında kateşin miktarları sırasıyla 4,09 mg/g; 4,62 mg/g; 8,18 mg/g; 10,16 mg/g olarak kersetin 3-glukozit ve kersetin 3-galaktozit miktarları sırasıyla 1,36 mg/g; 1,54 mg/g; 2,72 mg/g; 3,48 mg/g olarak bulunmuştur.

Bitkisel kaynaklı ürünler, yaşlanma karşıtı, cilt aydınlatıcı, leke açıcı, kırışıklık karşıtı, kronik cilt hastalıkları gibi farklı dermal problemlerin tedavisinde yer almaktadır. Farklı etkenlerle ECM'lerin parçalanması, melanin üretiminin aşırı artması, serbest radikallerin oluşumu, DNA, lipit ve protein hasarları ciltte meydana gelen değişimlerin önemli nedenlerindendir. Bu nedenle araştırmalarda, bitki ekstralarının ve aktif bileşenlerinin, MMP'lerin inhibisyonu, kolajen ekspresyonunun artırılması, elastaz ve hyaluronidaz inhibisyonu, TYR inhibisyonu, antioksidan ve serbest radikal süpürücü etkileri sıklıkla değerlendirilmektedir (Mukherjee ve diğerleri, 2011).

Polygonum, ülkemizde geniş yayılıma sahip ve endemik tür açısından zengin olan bir cinstir. Cinsin bazı türlerinde kozmetik ilişkili enzim inhibitör aktiviteleri yüksek bulunmuştur. Ülkemizde de yetişen *P. aviculare* ve *P. minus* ekstresini içeren formülasyonların kırışıklık azaltıcı etkilerinin olduğu yapılan çalışmalarda bildirilmiştir (Haris ve diğerleri, 2011; Loing ve Borel, 2013). *P. minus* bitkisinin kırışıklık karşıtı etkisi toplam fenol içeriğinin ve antioksidan aktivitesinin oldukça yüksek olmasına atfedilmektedir (Haris ve diğerleri, 2011). Su biberi olarak da bilinen *P. hydropiper* tomurcuklarından izole edilen (+)-taksifolin ve *P. maritimum*'un asetonlu ekstresi güçlü anti-TYR aktivite göstermiştir (Miyazawa ve Tamura, 2007; Rodrigues ve diğerleri, 2019). Ayrıca yapılan bir çalışmada *P. tinctorium* çiçek ekstresinin antimelanojenik etkisi incelenmiş, sonuçlar değerlendirildiğinde ekstrenin, hiçbir sitotoksikite göstermeden melanin miktarını ve TYR aktivitesini azalttığı

bildirilmiştir. Aynı çalışmada, mikroftalmi ilişkili transkripsiyon faktörünün ekspresyonunu azaltarak TYR ve TYRP2 ekspresyonlarını da güçlü şekilde inhibe ettiği bulunmuştur. Çalışmada bitki içeriği YPSK ile değerlendirilmiş, bitkide bulunan başlıca bileşikler, izokersitrin ve kersetin olarak bulunmuştur (Chung ve diğerleri, 2018). *P. hydropiper* tomurcuklarından hareketle hazırlanan metanollü ekstrenin doza bağlı kolajenaz inhibisyonu gerçekleştirdiği, *P. lapathifolium*'un metanollü ekstresinin ise yüksek oranda elastaz inhibitör aktivitesi olduğu bulunmuştur (Sökmen ve Sağkal, 2017; Kawaguchi ve Nagata, 2019). *P. hydropiper*'de, majör olarak bulunan hiperozit bileşiğinin kolajenaz inhibitör aktivitesi (IC_{50} : 1,7 $\mu\text{g/mL}$) yüksek bulunurken, etkiden sorumlu olabileceği varsayılmaktadır (Kawaguchi ve Nagata, 2019). *P. cuspidatum*'dan hazırlanan sulu ekstrenin ve sulu ekstreten hareketle poliamit kolon kromatografisi kullanılarak elde edilen fraksiyonun elastaz inhibisyon aktiviteleri sırasıyla %53,56; %61,27 bulunmuştur. Ekstrenin ana bileşenini oluşturan ve resveratrol türevi olan polidatin ise %82,53 oranında inhibisyon göstermiştir (Xiao-jing, Pei-dong, Jing-ru, Guang-qun ve Cheng, 2012).

Tez çalışmasında yapılan *in vitro* kozmetik ilişkili enzim inhibisyon tayinlerinin sonuçlarına bakıldığında ise; *P. cognatum* kök ekstresi en yüksek kolajenaz enzim inhibitör (IC_{50} : 200,30 $\pm$ 2,26 $\mu\text{g/mL}$) aktivitesi gösterirken; *P. aviculare* (IC_{50} = 220,50 $\pm$ 1,13 $\mu\text{g/mL}$) ve *P. patulum* kökleri (IC_{50} = 297,70 $\pm$ 2,40 $\mu\text{g/mL}$), *P. cognatum* toprak üstü kısımları (IC_{50} =220,35 $\pm$ 3,46 $\mu\text{g/mL}$) ise referans olarak kullanılan EGCG (%44,64) kıyasla oldukça yüksek derecede kolajenaz enzim inhibisyon aktivitesi göstermiştir. *P. aviculare*'nin toprak üstü etanollü ekstresinde elastaza karşı anlamlı bir aktivite gözükmezken bitkinin köklerinde (IC_{50} = 169,33 $\pm$ 3,58 $\mu\text{g/mL}$) diğer bitki kısımlarına göre yüksek anti-elastaz aktivite görülmüştür. *P. setosum* ve *P. patulum* kök ekstrelerinin elastaza karşı IC_{50} değerleri sırasıyla 247,50 $\pm$ 5,02 $\mu\text{g/mL}$; 326,63 $\pm$ 2,84 $\mu\text{g/mL}$ olarak bulunmuştur. Referans olarak kullanılan oleanolik asite göre *P. aviculare*, *P. setosum* ve *P. patulum* kökleri yüksek derecede elastaz inhibitör etki göstermiştir. *P. patulum* (%13,65), *P. cognatum* (%16,47), *P. setosum* (%6,90) toprak üstü kısımları ve *P. cognatum* kökleri (%11,04) elastaza karşı orta derecede inhibisyon oluşturmuştur. Ekstrelerin TYR inhibe edici etkileri değerlendirildiğinde, *Polygonum* türlerinin toprak üstü kısımlarında aktivite saptanmazken; tüm türlerin kök ekstrelerinin [*P. aviculare* (%24,95), *P. patulum* (%42,87), *P. cognatum* (%48,64) ve *P. setosum* (%45,99)] TYR karşı orta derece inhibisyon aktivitesi saptanmıştır.

Çalışmamızda, *Polygonum* ekstrelerinde LC-MS QTOF analizi sonucu tespit edilen bileşikler arasında majör olarak bulunan kateşin üzerinde yapılan bir çalışmada; yeşil çay polifenollerinin (kateşin ve EGCG) kolajenaz tarafından oluşan kolajenolitik aktivite üzerine inhibisyonu değerlendirilmiştir. Kateşin (%70) ve (%88) kolajene karşı kolajenazın kolajenolitik aktivitesini doza bağlı olarak yüksek oranda inhibe etmiştir (Madhan, Krishnamoorthy, Rao ve Nair, 2007). Başka bir çalışmada *Callistemon lanceolatus* Sm. türünden izole edilen kateşinin elastaz enzimine karşı yüksek derecede inhibisyon ($IC_{50}=20,2 \mu\text{g/mL}$) gösterdiği bulunmuştur (Kim, Byun, Hyun ve Lee, 2009). Yeşil çayda bulunan polifenolik bileşenlerin anti-TYR etkisinin incelendiği çalışmada; kateşin, epikateşin ve epigallokateşin inhibisyon aktivitelerine bakılmıştır. Üç bileşik de çalışmada orta derecede TYR inhibisyon aktivitesi göstermiştir (No ve diğerleri, 1999).

Kersetinin anti-kolajenaz aktivitesine bakıldığında; $50 \mu\text{M}$ konsantrasyonda enzime karşı %31 inhibitör aktivite gösterdiği bulunmuştur (Sin ve Kim, 2005). Kersetinin TYR enzim inhibisyonu aktivitesi üzerine yapılan kinetik çalışmada, doza bağlı olarak enzim aktivitesini baskıladığı ve IC_{50} değerinin 0.13 mM olduğu bulunmuştur (Chen ve Kubo, 2002). Biyo-aktivite yönlendirmeli bir izolasyon çalışmasında kersetin, *Heterotheca inuloides* Cass. çiçeklerinden izole edilmiştir. İzole edilen kersetinin ($IC_{50}= 0,07 \text{ mM}$) TYR enzimine karşı kompetitif inhibisyon gerçekleştirdiği saptanmıştır. Aynı çalışmada, kersetin 3- β -glukozitinin 1 mg/mL 'ye kadar inhibisyon göstermediği bu durumdan hareketle C-3 pozisyonundaki serbest hidroksil grubunun aktivitenin ortaya çıkmasında önemli bir rol oynayabileceği sonucuna varılmıştır (Kubo ve diğerleri, 1994). *Drosera madagascariensis* DC.'den hareketle hazırlanan etanol ekstresinin insan nötrofil elastaz inhibitör etkisinin araştırıldığı çalışmada enzim inhibisyonundan sorumlu olan bileşiklerin kersetin ve özellikle hazırladığımız kök ekstrelerinde daha yüksek oranda bulunan kersetin 3-galaktozit (hiperozit), kersetin 3-glikozit (izokersitrin) olduğu saptanmıştır (Melzig, Pertz ve Krenn, 2001). Melzig ve ark. yürüttüğü bir başka çalışmada ise bitkilerden elde edilen 40 fenolik bileşiğin nötrofil elastaz inhibisyonunun araştırılmış, en güçlü inhibisyonu özellikle kateşol yapısı taşıyan flavonoidlerin gösterdikleri saptanmıştır. Taranan fenolik bileşikler arasında kersetin 3-galaktozit'in en yüksek inhibisyona sahip olduğu belirlenmiştir (Melzig, Loser ve Ciesielski, 2001). *Rubus sanctus* Schreb. bitkisinin yara iyi edici etkisinin araştırıldığı bir çalışmada, farklı polaritedeki ekstrelerin elastaz, kolajenaz ve hyaluronidaz enzimlerine karşı inhibitör etkileri araştırılmıştır. Bitkinin metanol ekstresinden aktivite-yönlendirmeli

fraksiyonlama işlemi ile kersetin 3-galaktozit izole edilmiş ve bu bileşiğin elastaz ve kolajenazı inhibe ederek, yara iyi edici etkiden sorumlu olduğu belirtilmiştir (Akkol, Süntar, İlhan ve Aras, 2015). Başka bir çalışmada kersetin 3-O-ramnozit, kersetin 3-O-galaktozit, kersetin 3-O-arabinozit heterozitleri sırasıyla %32,61; %38,05; %30,47 anti-kolajenaz; %39,46; %50,84; %41,25 anti-elastaz aktivite gösterdiği bulunmuştur (Özbilgin ve diğerleri, 2018). *Cotinus coggygria* Scop. bitkisinin yaprak ve pedisellerinden hareketle hazırlanan etanollü ekstrelerin elastaz, kolajenaz ve tirozinaz inhibisyonlarının araştırıldığı bir çalışmada ise pedisel ekstrelerinden aktivite-yönlendirmeli fraksiyonlama işlemi sonucunda elde edilen aktif fraksiyonlardan metil gallat, kersetin 3-glikozit, kersetin 3-galaktozit ve kemferol 3-glikozit izole edilmiştir (Deniz ve diğerleri, 2019).

Bu bilgiler ışığında tez çalışmamız kapsamında taradığımız ekstrelerde bulunan kersetin glukozitlerinin kolajenaz ve elastaz enzim inhibisyonlarından, kateşin ve kateşin türevlerinin ise üç enzimin inhibisyon aktivitesinden sorumlu olabileceği öngörülmektedir. Yürütmüş olduğumuz bu ön çalışma ile *Polygonum* türlerinin kozmetik ilişkili enzim inhibisyonu yönünden umut vadettiği görülmektedir. Tez materyallerinden birini oluşturan *P. aviculare* türünün tüm bitki kısmı üzerinde yapılan bir çalışmada; bitkiden izole edilen 11 flavonol glukuronit yapısının, insan nötrofil modelinde ROS üretimini ve elastaz salınımını önemli ölçüde inhibe ettiği bulunmuştur (Granica, Czerwińska, Żyżyńska-Granica ve Kiss, 2013). *P. bellardii* üzerinde yapılan çalışmada bitkinin toprak üstü kısımlarının *n*-bütanollü ($IC_{50}=14,20 \mu\text{g/mL}$) ve etil asetatlı ($IC_{50}=23,16 \mu\text{g/mL}$) ekstrelerinin, 5-LOX aktivitesini önemli ölçüde inhibe ettiği gözlenirken; başka bir çalışmada *n*-bütanollü ($IC_{50}=34,7 \mu\text{g/mL}$) ve etil asetatlı ($IC_{50}=20,51 \mu\text{g/mL}$) fraksiyonlarının DPPH yöntemi ile antioksidan aktivitesi yüksek bulunmuştur (El-Kader ve diğerleri, 2013). Tez çalışmasında yapılan enzim inhibisyon aktivitesi çalışmasında bitkinin kökleri, toprak üstü kısımlarına göre çok daha fazla aktif bulunurken; toprak üstü kısımları elastaz ve kolajenaza karşı orta derecede inhibisyon göstermiştir. Ekstrelerde LC-MS QTOF ile yaptığımız kateşin ve kersetin glikozit miktar tayini sonuçları değerlendirildiğinde bu bileşiklerin toprak altı ekstrelerinde toprak üstü ekstrelerine göre daha yüksek oranda bulunduğu saptanmıştır. Kök ekstrelerinin enzim inhibisyonunun daha yüksek olması, bahsi geçen bileşikleri toprak üstü kısımlarına göre daha yüksek oranda içermeleri ile açıklanabilir.

Sonuç olarak çalışılan *Polygonum* türlerinin toprak üstü ve toprak altı kısımlarının resveratrol içermediği, kozmetik ilişkili TYR, elastaz ve kolajenaz enzimlerine karşı inhibitör etkiye sahip olduğu, özellikle bitkilerin köklerinden hareketle hazırlanan ekstrelerde daha yüksek oranda bulunan kateşin ve kersetin glikozitlerinin etkiden sorumlu bileşikler olabileceği tespit edilmiştir.





6. SONUÇLAR VE ÖNERİLER

Bitkilerde bulunan biyoaktif bileşenler, yüz yıllardır yeni ilaç keşfinde en çok başvurulan kaynaklar arasındadır. Yapılan bu tez çalışmasında Türkiye’de yetişen bazı *Polygonum* türlerinde, tedavide önemli bir yere sahip olan resveratrol bileşiğinin LC-MS QTOF ile kalitatif analizi gerçekleştirilmiştir. Sonuçlar değerlendirildiğinde; toplanan dört *Polygonum* türünde de resveratrol saptanmamıştır. Ancak literatürler araştırıldığında son zamanlarda yapılan çalışmalarda, Japonya’da ve Çin’de resveratrol kaynağı olarak kullanılan *P. cuspidatum* türünün *Polygonum* cinsinden ayrılıp *Reynoutria* cinsine geçtiği ve bitki isminin *Reynoutria japonica* olarak kabul edildiği saptanmıştır. Türkiye’de 2019 yılında yapılan bir çalışmada, *R. japonica* bitkisi ülkemizde ilk defa Samsun ilinden toplanmış ve teşhis edilmiştir (Karaer, Terzioğlu ve Kutbay, 2020). Bu nedenle ilerleyen çalışmalarımızda arazi çalışması ile *R. japonica* bitkisini farklı kısımları toplanarak içeriğindeki olması muhtemel resveratrol ve türevlerinin araştırılması planlanmaktadır.

Tez çalışması kapsamında yürütmüş olduğumuz bu ön çalışma ile *Polygonum* türlerinin kozmetik ilişkili enzim inhibisyonu yönünden umut vadettiği görülmektedir. Çalışılan 4 *Polygonum* taksonu dışında ülkemizde 8’i endemik olmak üzere toplam 43 takson yetişmektedir. Pandemi dönemi nedeniyle kısıtlı sayıda tür toplanmış olsa da bu ön çalışmadan alınan olumlu sonuçlar ile ilerleyen zamanlarda daha fazla *Polygonum* türü üzerinde benzer çalışmaların yürütülmesi planlanmaktadır. Etkili ekstrelerde aktivite yönlendirmeli fraksiyonlama işlemi yapılarak etkiden sorumlu olabilecek diğer bileşikler de tespit edilebilir. Tüm bu veriler ışığında üzerinde çalıştığımız *Polygonum* türleri, resveratrol taşımasa da içerdiği diğer biyoaktif bileşikler nedeniyle bitkisel kozmetik ürün geliştirilmesi ile ilgili araştırmalarda daha ileri çalışmalar ile incelenmelidir.



KAYNAKLAR

- Aburjai, T., Natsheh, F. M. (2003). Plants used in cosmetics. *Phytotherapy Research*, 17, 987–1000.
- Adrian, M., Jeandet, P., Bessis, R., Joubert, J. M. (1996). Induction of phytoalexin (Resveratrol) synthesis in grapevine leaves treated with aluminum chloride (AlCl₃). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44, 1979-1981.
- Akkol, E. K., Süntar, İ., İlhan, M., and Aras, E. (2015). *In vitro* enzyme inhibitory effects of *Rubus sanctus* Schreber and its active metabolite as a function of wound healing activity. *Journal of Herbal Medicine*, 5(4), 207-210.
- Anton, S. D., Embry, C., Marsiske, M., Lud, X., Doss, H., Leeuwenburgh, C., Manini, T. M. (2014). Safety and metabolic outcomes of resveratrol supplementation in older adults: results of a twelve-week, placebo-controlled pilot study, *Experimental Gerontology*, 57, 181–187.
- Ayaz, M., Junaid, M., Ullah, F., Sadiq, A., Ovais, M., Ahmad, W., Zeb, A. (2016). Chemical profiling, antimicrobial and insecticidal evaluations of *Polygonum hydropiper* L. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 16(1), 1-14.
- Ayaz, M., Junaid, M., Ullah, F., Subhan, F., Sadiq, A., Ali, G., Ovais, M., Shahid, M., Ahmad, A., Wadood, A., El-Shazly, M., Ahmad, N., Ahmad, S. (2017). Anti-Alzheimer's studies on β -Sitosterol isolated from *Polygonum hydropiper* L. *Frontiers in Pharmacology*, 8, 697.
- Barrantes, E., Guinea, M. (2003). Inhibition of collagenase and metalloproteinases by aloins and Aloe gel. *Life Sciences*, 72(7), 843-850.
- Baskar, A. A., Numair, A. K. S., Paulraj, G. M., Alsaif, M. A., Muamar, M. A., Ignacimuthu, S. (2012). β -sitosterol prevents lipid peroxidation and improves antioxidant status and histoarchitecture in rats with 1,2-dimethylhydrazine-induced colon cancer. *Journal of Medicinal Food*, 15(4), 335-343.
- Bavaresco, L., Cantü, E., Fregoni, M., Trevisan, M. (1997). Constitutive stilbene contents of grapevine duster stems as potential source of resveratrol in wine. *Vitis*, 36 (3), 115-118.
- Baxter, R. A. (2008). Anti-aging properties of resveratrol: review and report of a potent new antioxidant skin care formulation. *Journal of Cosmetic Dermatology*, 7, 2–7.
- Beekwilder, J., Wolswinkel, R., Jonker, H., Hall, R., Vos, C. H. R., Bovy, A. (2006). Production of resveratrol in recombinant microorganisms. *Applied and Environmental Microbiology*, 72(8), 5670-5672.

- Begne, M. G., Yslas, N., Reyes, E., Quiroz, V., Santana, J., Jimenez, G. (2001). Clinical effect of a Mexican *Sanguinaria* extract (*Polygonum aviculare* L.) on gingivitis. *Journal of Ethnopharmacology*, 74, 45–51.
- Berman, A. Y., Motechin, R. A., Wiesenfeld, M. Y., Holz, M. K. (2017). The therapeutic potential of resveratrol: a review of clinical trials. *Precision Oncology*, 1, 35.
- Berneburg, M., Plettenberg, H., Krutmann, J. (2000). Photoaging of human skin. *Photodermatol Photoimmunol Photomed*, 16(6), 239–244.
- Briganti, S., Camera, E., Picardo, M. (2003). Chemical and instrumental method to treat hyperpigmentation. *Pigment Cell & Melanoma Research*, 16, 101–110.
- Buonocore, D., Lazzeretti, A., Tocabens, P., Nobile, V., Cestone, E., Santin, G., Bottone, M. G., Marzatico, F. (2012). Resveratrol-procyanidin blend: nutraceutical and antiaging efficacy evaluated in a placebocontrolled, double-blind study. *Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology*, 5, 159–165.
- Cai, Z., Knorr, D., Smetanska, I. (2012). Enhanced anthocyanins and resveratrol production in *Vitis vinifera* cell suspension culture by indanoyl-isoleucine, N-linolenoyl-L-glutamine and insect saliva. *Enzyme and Microbial Technology*, 50, 29–34.
- Chang, T. S. (2009). An updated review of tyrosinase inhibitors. *International Journal of Molecular Sciences*, 10(6), 2440–2475.
- Chatatikun, M., Chiabchalard, A. (2017). Thai plants with high antioxidant levels, free radical scavenging activity, antityrosinase and anticollagenase activity. *Chatatikun and Chiabchalard BMC Complementary and Alternative Medicine*, 17, 487.
- Chedea, V. S., Vicaș, S. I., Sticozzi, C., Pessina, F., Frosini, M., Maiolic, E., Valacchi, G. (2017). Resveratrol: from diet to topical usage. *Food & Function*, 8(11), 3879–3892.
- Chen, L., Han, Y., Yang, F., Zhang, T. (2001). High-speed counter-current chromatography separation and purification of resveratrol and piceid from *Polygonum cuspidatum*. *Journal of Chromatography*, 907, 343–346.
- Chen, Q. X., Kubo, I. (2002). Kinetics of mushroom tyrosinase inhibition by quercetin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50(14), 4108–4112.
- Chen, R. S., Wu, P. L., Chiou, R. Y-Y. (2002). Peanut roots as a source of resveratrol. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 1665–1667.
- Cheung, W. K. F., Leung, W. N. A., Liu, W. K., Che, C. T. (2014). Tyrosinase inhibitory activity of a glucosylated hydroxystilbene in mouse melan-a melanocytes. *Journal of Natural Products*, 77, 1270–1274.

- Chiocchio, I., Mandrone, M., Sanna, C., Maxia, A., Tacchini M., Poli, F. (2018). Screening of a hundred plant extracts as tyrosinase and elastase inhibitors, two enzymatic targets of cosmetic interest. *Industrial Crops and Products*, 122, 498-505.
- Chompoo, J., Upadhyay, A., Fukuta, M., Tawata, S. (2012). Effect of *Alpinia zerumbet* components on antioxidant and skin diseases-related enzymes. *Complementary and Alternative Medicine*, 12, 106.
- Chopra, B., Dhingra, A. K. (2021). Natural products: A lead for drug discovery and development. *Phytotherapy Research*, 2021, 1-43.
- Chung, Y. C., Ko, J. H., Kang, H. K., Kim, S., Kang, C. I., Lee, J. N., Park, S. M., Hyun, C. G. (2018). Antimelanogenic effects of *Polygonum tinctorium* flower extract from traditional Jeju fermentation via upregulation of extracellular signal-regulated kinase and protein kinase B activation. *International Journal of Molecular Sciences*, 19, 2895.
- Coode, M. J. E., Cullen, J. (1970). *Polygonum* L. In Davis, P.H. (Ed.). *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*. Vol. 2. Edinburgh, pp. 269-281.
- Costin, G. E., Hearing, V. J. (2007). Human skin pigmentation: melanocytes modulate skin color in response to stress. *FASEB Journal*, 21, 976–94.
- Çatalgöl, B., Batirel, S., Taga, Y., Özer, K. N. (2012). Resveratrol: French paradox revisited. *Frontiers in Pharmacology*, 3, 141.
- Çevik, O., Şener, A., Kumral, Ö. Z., Çetinel, Ş., Altıntaş, A., Oba, R., Yegen, B. C. Yarat A. (2014). Protective and therapeutic effects of *Polygonum cognatum* Meissn. aqueous extract in experimental colitis. *Marmara Pharmaceutical Journal*, 18, 126-134.
- Davis, P. H. (1970). *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*. Vol. 2. Edinburgh.
- de Freitas, M. M., Fontes, P. R., Souza, P. M., Fagg, C. W., da Silva Guerra, E. N., de Medeiros Nóbrega, Y. K., Silveira, D., Fonseca-Bazzo, Y., Simeoni, L. A., Homem-de-Mello, M., Magalhães, P. O. (2016). Extracts of *Morus nigra* L. leaves standardized in chlorogenic acid, rutin and isoquercitrin: tyrosinase inhibition and cytotoxicity. *PLoS One*, 11: e0163130.
- Deniz, F. S. S., Salmas, R. E., Emerce, E., Çankaya, İ. İ. T., Yusufoglu, H. S., Orhan, İ. E. (2020). Evaluation of collagenase, elastase and tyrosinase inhibitory activities of *Cotinus coggygria* Scop. through *in vitro* and *in silico* approaches. *South African Journal of Botany*, 132, 277-288.
- El-kader, A. M. A., El-Readi, M. Z., Ahmed, A. S., Nafady, A. M., Wink, M., Ibraheim, Z. Z. (2013). Polyphenols from aerial parts of *Polygonum bellardii* and their biological activities. *Pharmaceutical Biology*, 51(8), 1026-1034.

- El-Kader, A. M. A., Nafady, A. M., Ahmed, A. S., Ibraheim, Z. Z. (2012). Antioxidant, hepatoprotective and antimicrobial activities of the aerial parts of *Polygonum bellardii* All. *Bulletin of Pharmaceutical Sciences*, 35, 43-54.
- Eruygur, N., Uçar, E., Ataş, M., Ergül, M., Ergül, M., Sözmen F. (2020). Determination of biological activity of *Tragopogon porrifolius* and *Polygonum cognatum* consumed intensively by people in Sivas. *Toxicology Reports*, 7, 59–66.
- Fabbrocini, G., Staibano, S., Rosa, G. D., Battimiello, V., Fardella, N., Ilardi, G., Rotonda, M. I. L., Longobardi, A., Mazzella, M., Siano, M., Pastore, F., Vita, V. D., Vecchione, M. L., Ayala, F. (2011). Resveratrol-containing gel for the treatment of acne vulgaris. *American Journal of Clinical Dermatology*, 12 (2), 133-141.
- Farina, A., Ferranti, C., Marra, C. (2006). An improved synthesis of resveratrol. *Natural Product Research*, 20(3), 247-252.
- Farris, P., Krutmann, J., Li, Y. H., McDaniel, D., Krolj, Y. (2013). Resveratrol: a unique antioxidant offering a multi-mechanistic approach for treating aging skin. *Journal of Drugs in Dermatology*, 12(12), 1389-1394.
- Frédérich, M., Wauters, J. N., Tits, M., Jason, C., Tullio, P., Heyden, Y. V., Fan, G., Angenot, L. (2011). Quality assessment of *Polygonum cuspidatum* and *Polygonum multiflorum* by ¹H NMR metabolite fingerprinting and profiling analysis. *Planta Medica*, 77, 81–86.
- Fremont, L. (2000). Biological Effects of resveratrol. *Life Sciences*, 66(8), 663-673.
- Ganceviciene, R., Liakou, I. A., Theodoridis, A., Makrantonaki, E., Zouboulis, C. C. (2012). Skin anti-aging strategies. *Dermato-Endocrinology*, 4(3), 308–319.
- Geven, F., Bingöl, Ü., Güney, K. (2008). ANK Herbaryum’u Polygonaceae familyasının revizyonu ve veritabanının hazırlanması. *Kastamonu Üniversitesi Orman Fakültesi Dergisi*, 8(1), 67-85.
- Ghanim, H., Sia, C. L., Abuaysheh, S., Korzeniewski, K., Patnaik, P., Marumganti, A., Chaudhuri, A., Dandona, P. (2010). An antiinflammatory and reactive oxygen species suppressive effects of an extract of *Polygonum cuspidatum* containing resveratrol. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 95(9), E1–8.
- Ghimeray, A. K., Jung, U. S., Lee, H. Y., Kim, Y. H., Ryu, E. K., Chang, M. S. (2015). *In vitro* antioxidant, collagenase inhibition, and *in vivo* anti-wrinkle effects of combined formulation containing *Punica granatum*, *Ginkgo biloba*, *Ficus carica*, and *Morus alba* fruits extract. *Clinical, Cosmetic and Investigational Dermatology*, 8, 389–396.
- Giovinazzo, G., Ingrosso, I., Paradiso, A., Gara L. D., Santino, A. (2012). Resveratrol biosynthesis: plant metabolic engineering for nutritional improvement of food. *Plant*

Foods for Human Nutrition, 67, 191-199.

- Goua, K. J., Zengc, R., Maa, Y., Lic, A. N., Yangc, K., Yanc, H. X., Jind, S. R., Qua, Y. (2020). Traditional uses, phytochemistry, and pharmacology of *Persicaria orientalis* L. Spach-a review. *Journal of Ethnopharmacology*, 249, 112407.
- Granica, S., Czerwińska, M. E., Żyżyńska-Granica, B., Kiss, A. K. (2013). Antioxidant and anti-inflammatory flavonol glucuronides from *Polygonum aviculare* L. *Fitoterapia*, 91, 180-188.
- Güler, B., Manav, E., Uğurlu, E. (2015). Medicinal plants used by traditional healers in Bozüyük (Bilecik–Turkey). *Journal of Ethnopharmacology*, 173, 39-47.
- Güner, A., Akyıldırım, B., Alkayış, M. F. Çingay B., Kanoğlu, S.S., Özkan, A.M., Öztekin, M. Tuğ, G.N. (2012). Türkçe bitki adları. Şu eserde: Güner, A., Aslan, S. Ekim, T. Vural, M. & Babaç, M.T. (edlr.). Türkiye Bitkileri Listesi (Damarlı Bitkiler). Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi Yayınları Flora Dizisi 1 İstanbul.
- Güner, A., Aslan, S., Ekim, T., Vural, M., and Babaç, M. T. (Editörler). (2012). *Türkiye Bitkileri Listesi (Damarlı Bitkiler)*. İstanbul: Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi ve Flora Araştırmaları Derneği
- Gürdal, B., Kültür, Ş. (2013). An ethnobotanical study of medicinal plants in Marmaris (Muğla, Turkey). *Journal of Ethnopharmacology*, 146, 113–126.
- Haiwu, X., Liuxin, L. (2005). Study on the content of resveratrol in some fruits. *Journal of Plant Resources and Environment*, 14(3), 55-56.
- Han, M. N., Lu, J. M., Zhang, G. Y., Yu, J., Zhao, R. H. (2015). Mechanistic studies on the use of *Polygonum multiflorum* for the treatment of hair graying. *BioMed Research International*, 4, 1-8.
- Harhaun, R., Kunik, O., Saribekova, D., Lazzara, G. (2020). Biologically active properties of plant extracts in cosmetic emulsions. *Microchemical Journal*, 154, 104543.
- Haris, H. H. B., Ming, Y. K., Perin, F., Blanche, C., Jinapong, N. (2014). Split-face placebo controlled evaluation of the *in vivo* anti-ageing efficacy of lineminustm cream (*Polygonum minus* extract) in healthy Asian skin type female subjects. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 7, 7–13.
- Helfrich, Y. R., Sachs, D. L., Voorhees, J. J. (2008). Overview of skin aging and photoaging. *Dermatology Nursing*, 20(3), 177-183.
- Hsu, C. (2006). Antioxidant activity of extract from *Polygonum aviculare*. *Biological Research*, 39, 281-288.

- Hsu, C. Y., Chan, Y. P., Chang, J. (2007). Antioxidant activity of extract from *Polygonum cuspidatum*. *Biological Research*, 40, 13–21.
- Huang, W. Y., Cai, Y. Z., Xing, J., Corke, H., Sun, M. (2008). Comparative analysis of bioactivities of four *Polygonum* species. *Planta Medica*, 74, 43–49.
- Jackson, J. K., Zhao, J., Wong, W., Burt, H. M. (2010). The inhibition of collagenase induced degradation of collagen by the galloyl-containing polyphenols tannic acid, epigallocatechin gallate and epicatechin gallate. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 21(5):1435–43.
- James, W. D., Berger, T. G., Elston, D. M. (2011). *Andrews Of The Skin Clinical Dermatology: Skin: Basic Structure and Function* (Eleventh Edition). pp. 1.
- Janoff, A. (1985). Elastase in tissue injury. *Annual Review of Medicine*, 36, 207–16.
- Jeong, E. T., Jin, M. H., Kim, M. S., Chang, Y. H., Park, S. G. (2010). Inhibition of melanogenesis by piceid isolated from *Polygonum cuspidatum*. *Archives of Pharmacal Research*, 33(9), 1331–1338.
- Jiang, X., Wang, W., Huang, X., Song, A., Lu, L., Lu, X., Wu, G. (2018). Evaluate the effect of inhibiting pathogenic bacteria and fungus of eczematous dermatitis and antioxidant activity of phenolic from Qinglicao (*Polygonum chinense* L. var. *chinense*). *Biotechnology*, 17, 62–68.
- Jin, M. H., Jeong, E. T., Kim, M. S., Song, H. J., Kwak, T. J., Park, S. G., Lee, S. M. (2011). The effects of polydatin isolated from *Polygonum cuspidatum* on melanogenesis and wrinkle formation. *Journal of Society of Cosmetic Scientists of Korea*, 37(4), 327–335.
- Johri, L. M., Sahasakmontri, K. (1998). Green marketing of cosmetics and toiletries in Thailand. *Journal of Consumer Marketing*, 15(3), 265–281.
- Jones, A., Duerbeck, K. (2004). *Natural Ingredients for Cosmetics*, EU Market Survey, European Union, 11.
- Jones, P. J. H., AbuMweis, S. S. (2009). Phytosterols as functional food ingredients: linkages to cardiovascular disease and cancer. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, 12(2), 147–151.
- Kähäri, V. M., Saarialho-Kere, U. (1997). Matrix metalloproteinases in skin. *Experimental dermatology*, 6(5), 199–213.
- Kan, A. (2011). Konya ekolojik koşullarında yetiştirilen karabuğdayın (*Fagopyrum esculentum* Moench) bazı kalite özelliklerinin araştırılması. *Selçuk Üniversitesi Selçuk Tarım ve Gıda Bilimleri Dergisi*, 25(4), 67–71.
- Karaer, F., Terzioğlu, S., Kutbay, H. G. (2020). A new genus record for the Flora of Turkey:

Reynoutria (Polygonaceae). *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi*, 23(3), 606-610.

Kataria, R., Khatkar, A. (2019). Resveratrol in various pockets: a review. *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 19(2), 116–122.

Kawaguchi, T., Nagata, K. (2019). Collagenase inhibition by water-pepper (*Polygonum hydropiper* L.) sprout extract. *Journal of Herbmmed Pharmacology*, 8(2), 114-119.

Keskin, M. (2012). *Polygonum*. Şu eserde: Güner, A., Aslan, S., Ekim, T., Vural, M., Babaç, M.T. (edlr.). Türkiye Bitkileri Listesi (Damarlı Bitkiler). Nezahat Gökyiğit Botanik Bahçesi ve Flora Araştırmaları Derneği yayını. İstanbul.

Khavkin, J., Ellis, D. A. F. (2011). Aging skin: histology, physiology, and pathology. *Facial Plastic Surgery Clinics of North America*, 19(2), 229-234.

Kim, H. J., Jung, S. W., Kim, H., Kim, S. J., Lee, J. D., Ryoo, H. C., Kwon, A. Y., Jo, M. R. (2007). Whitening and Antioxidative cosmetic Composition containing resveratrol and method for preparing the same. Patent No. 10/558,348.

Kim, H. J., Woo, E. R., Park, H. (1994). A novel lignan and flavonoids from *Polygonum aviculare*. *Journal of Natural Products*, 57(5), 581-586.

Kim, J. H., Byun, J. C., Hyun, C. G., Lee, N. H. (2009). Compounds with elastase inhibition and free radical scavenging activities from *Callistemon lanceolatus*. *Journal of Medicinal Plants Research*, 3(11), 914-920.

Kim, J., Kima, J. H., Jeung, E. S., Park, I. S., Choe, C. H., Kwon, T. H., Yu, K. Y., Jeong, S. I. (2009). Inhibitory effects of stilbene glucoside isolated from the root of *Polygonum multiflorum* on tyrosinase activity and melanin biosynthesis. *Journal of the Korean Society for Applied Biological Chemistry*, 52(4), 342-345.

Kim, M. G., Leem, K. H. (2014). Effects of *Polygoni multiflori* radix on the elastase, and collagenase activities and the procollagen synthesis in Hs68 human fibroblasts. *The Korea Journal of Herbology*, 29(1), 7-12.

Kima, Y. J., Uyama, H. (2005). Tyrosinase inhibitors from natural and synthetic sources: structure, inhibition mechanism and perspective for the future. *Cellular and Molecular Life Sciences*, 62, 1707-1723.

Kiselev, K. V. (2011). Perspectives for production and application of resveratrol. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 90, 417–425.

Kraunsoe, J. A. E., Claridge, T. D. W., Lowe, G. (1996). Inhibition of human leukocyte and porcine pancreatic elastase by homologues of bovine pancreatic trypsin inhibitor. *Biochemistry*, 35(28), 9090-9096.

- Kubo, I., Hori, I. K., Chaudhuri, S. K., Kubo, Y., Sanchez, Y., Ogura, T. (2000). Flavonols from *Heterotheca inuloides*: tyrosinase inhibitory activity and structural criteria. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 8, 1749-1755.
- Kubo, I., Kinst-Hori, I., Ishiguro, K., Chaudhuri, S. K., Sanchez, Y., Ogura, T. (1994). Tyrosinase inhibitory flavonoids from *Heterotheca inuloides* and their structural functions. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 4(12), 1443-1446.
- Kubo, I., Kinst-Hori, I., Yokokawa, Y. (1994). Tyrosinase inhibitors from *Anacardium occidentale* fruits. *Journal of Natural Products*, 57, 545– 551.
- Lastra, C. A., Villegas, I. (2005). Resveratrol as an anti-inflammatory and anti-aging agent: mechanisms and clinical implications. *Molecular Nutrition & Food Research*, 49, 405-430.
- Lee, B. M., An, S., Kim, S. Y., Han, H. J., Jeong, Y. J., Lee, K. R., Roh, N. K., Ahn, K. J., An, I. S., Cha, H. J. (2015). Topical application of a cleanser containing extracts of *Diospyros kaki* folium, *Polygonum cuspidatum* and *Castanea crenata* var. *dulcis* reduces skin oil content and pore size in human skin. *Biomedical Reports*, 3, 343-346.
- Lee, J. S., Park, K. Y., Min, H. G., Lee, S. J., Kim, J. J., Choi, J. S., Kim, W. S., Cha, H. J. (2010). Negative regulation of stress-induced matrix metalloproteinase-9 by Sirt1 in skin tissue. *Experimental Dermatology*, 19(12), 1060-1066.
- Lee, S. E., Kim, M. O., Lee, S. G., Ahn, Y. J., Lee, H. S. (2000). Inhibitory effects of *Cinnamomum cassia* bark-derived materials on mushroom tyrosinase. *Food Science and Biotechnology*, 9, 330–333.
- Lee, S. H., Sancheti, S., Sancheti, S., and Seo, S. Y. (2009). Potent antielastase and antityrosinase activities of *Astilbe chinensis*. *American Journal of Pharmacology and Toxicology*, 4(4), 127-129.
- Lee, S. Y., Baek, N., Nam, T. G. (2016). Natural, semisynthetic and synthetic tyrosinase inhibitors. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 31(1), 1-13.
- Lee, T. H., Seo, J. O., Baek, S. H., Kim, S. Y. (2014). Inhibitory effects of resveratrol on melanin synthesis in ultraviolet b-induced pigmentation in guinea pig. *Biomolecules & Therapeutics*, 22(1), 35-40.
- Lephart, E. D. (2018). A review of the role of estrogen in dermal aging and facial attractiveness in women. *Journal of Cosmetic Dermatology*, 17(3), 282-288.
- Lephart, E. D., Sommerfeldt, J. M., Andrus, M. B. (2014). Resveratrol: influences on gene expression in human skin. *Journal of Functional Foods*, 10, 377–384.
- Leu, Y. L., Hwang, T. L., Hu, J. W., Fang, J. Y. (2008). Anthraquinones from *Polygonum*

- cuspidatum* as tyrosinase inhibitors for dermal use. *Phytotherapy Research*, 22, 552–556.
- Loing, E., Borel, M. (2013). Infra'Ageing: from a new concept in skin care, to a solution powered by *Polygonum aviculare* extract. *Monographic Supplement Series: Sun Care-H&PC*, 8(4), 13-15.
- Longfei, L., Ni, B., Lin, H., Zhang, M., Li, X., Yin, X. Qu, C., Ni, J. (2015). Traditional usages, botany, phytochemistry, pharmacology and toxicology of *Polygonum multiflorum* Thunb.: a review. *Journal of Ethnopharmacology*, 159, 158–183.
- Madhan, B., Krishnamoorthy, G., Rao, J. R., Nair, B. U. (2007). Role of green tea polyphenols in the inhibition of collagenolytic activity by collagenase. *International journal of biological macromolecules*, 41(1), 16-22.
- Maeda, K., Naitou, T., Umishio, K., Fukuhara, T., Motoyama, A. (2007). A novel melanin inhibitor: hydroperoxy traxastane-type triterpene from flowers of *Arnica montana*. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 30, 873-879.
- Mahmoudi, M., Boughalleb, F., Mabrouk, M., Tlili, N., Potter, D., Abdellaoui, R., Nasri, N. (2019). Chemical analysis of the antioxidants from the aerial parts of wild *Polygonum equisetiforme* from Tunisia. *Food Bioscience*, 29, 24-29.
- Maruki-Uchida, H., Morita, M., Yonei, Y., Sai, M. (2018). Effect of passion fruit seed extract rich in piceatannol on the skin of women: a randomized, placebo-controlled, double-blind trial. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology*, 64, 75–80.
- Melzig, M. F., Loser, B., and Ciesielski, S. (2001). Inhibition of neutrophil elastase activity by phenolic compounds from plants. *Pharmazie*, 56(12), 967-970.
- Melzig, M. F., Pertz, H. H., and Krenn, L. (2001). Anti-inflammatory and spasmolytic activity of extracts from *Droserae herba*. *Phytomedicine*, 8(3), 225-229.
- Menon, G. K. (2002). New insights into skin structure: scratching the surface. *Advanced Drug Delivery Reviews*, 54(1), S3–S17.
- Miyazawa, M., Tamura, N. (2007). Inhibitory compound of tyrosinase activity from the sprout of *Polygonum hydropiper* L. (Benitade). *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 30(3), 595-597.
- Mithieux, S. M., Weiss, A. S. (2005). Elastin. *Advances in Protein Chemistry*, 70, 437-461.
- Mohamed, M. H., Ibraheim, Z. Z., Abd El-Mawla, A. M. A., Abd El-Kader, A. M. (2006). A new flavonol glycoside from *Polygonum bellardii* All. growing in Egypt. *Bulletin of Pharmaceutical Sciences*, 29(1), 203-213.

- Moon, J. Y., Yim, E. Y., Song, G., Lee, N. H., Hyun, C. G. (2010). Screening of elastase and tyrosinase inhibitory activity from Jeju Island plants. *EurAsian Journal of BioSciences*, 4, 41-53.
- Mukherjeea, P. K., Maitya, N., Nema, N. K., Sarkar, B. K. (2001). Bioactive compounds from natural resources against skin aging. *Phytomedicine*, 19, 64– 73.
- Na, J. I., Shin, J. W., Choi, H. R., Kwon, S. H., Park, K. C. (2019). Resveratrol as a multifunctional topical hypopigmenting agent. *International Journal of Molecular Sciences*, 20, 956.
- Narasimhulu, G., Reddy, K. K., Mohamed, J. (2014). The genus *Polygonum* (Polygonaceae): an ethnopharmacological and phytochemical perspectives –review. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, 6(2), 21-45.
- Nkuété, A. H. L., Migliolo, L., Wabo, H. K., Tane, P., Franco, O. L. (2015). Evaluation of multiple functions of *Polygonum* genus compounds. *European Journal of Medicinal Plants*, 6(1), 1-16.
- Nkuété, A. H., Migliolo, L., Wabo, H. K., Tane, P., Franco, O. L. (2015). Evaluation of multiple functions of *Polygonum* genus compounds. *European Journal of Medicinal Plants*, 1-16.
- No, J. K., Kim, Y. J., Shim, K. H., Jun, Y. S., Rhee, S. H., Yokozawa, T., Chung, H. Y. (1999). Inhibition of tyrosinase by green tea components. *Life sciences*, 65(21), 241-246.
- Noa, J. K., Soung D. Y., Kim, Y. J., Shim, K. H., Jun, Y. S., Rhee, S. H., Yokozawa T., Chung, H. Y. (1999). Inhibition of tyrosinase by green tea components. *Life Sciences*, 65, 241–246.
- Nonomura, S., Kanagawa, H., Makimoto, A. (1963). Chemical constituents of Polygonaceous plants. Studies on the components of Ko-jo-kon. (*Polygonum cuspidatum* SIEB et ZUCC). *Journal of the Pharmaceutical Society of Japan*, 83, 988-90.
- Orhan, İ. E., Khan, M. T. H. (2014). Flavonoid derivatives as potent tyrosinase inhibitors – a survey of recent findings between 2008-2013, *Current Topics in Medicinal Chemistry*, 14(12), 1486-1493.
- Oxlund, H., Manschot, J., Vindik, A. (1988). The role of elastin in the mechanical properties of skin. *Biomechanics*, 21(3), 213-218.
- Özbilgin, S., Acıkara, Ö. B., Akkol, E. K., Süntar, I., Keleş, H., İşcan, G. S. (2018). In vivo wound-healing activity of *Euphorbia characias* subsp. *wulfenii*: Isolation and quantification of quercetin glycosides as bioactive compounds. *Journal of*

Ethnopharmacology, 224, 400-408.

- Özdemir, E., Alpınar, K. (2015). An ethnobotanical survey of medicinal plants in western part of central Taurus Mountains: Aladağlar (Niğde–Turkey). *Journal of Ethnopharmacology*, 166, 53–65.
- Özgen, U., Kaya, Y., Coşkun, M. (2004). Ethnobotanical studies in the villages of the district of İlica (Province Erzurum), Turkey. *Economic Botany*, 58, 691-696.
- Pan, S. Y., Zhou, S. F., Gao, S. H., Yu, Z. L., Zhang, S. F., Tang, M. K., Sun, J. N., Ma, D. L., Han, Y. F., Fong, W. F., Ko, K. M. (2013). New perspectives on how to discover drugs from herbal medicines: cam's outstanding contribution to modern therapeutics. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 1, 25.
- Pangeni, R., Sahni, J. K., Ali, J., Sharma, S., Baboota, S. (2014). Resveratrol: review on therapeutic potential and recent advances in drug delivery. *Expert Opinion on Drug Delivery*, 11(8), 1285-1298.
- Park, J., Boo, Y. C. (2003). Isolation of resveratrol from vitis viniferae caulis and its potent inhibition of human tyrosinase. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, 2013, 645257.
- Pasquariello, R., Verdile, N., Brevini, T. A., Gandolfi, F., Boiti, C., Zerani, M., Maranesi, M. (2020). The Role of Resveratrol in Mammalian Reproduction. *Molecules*, 25(19), 4554.
- Patel, K. R., Scott, E., Brown, V. A., Gescher, A. J., Steward, W. P., Brown, K. (2011). Clinical trials of resveratrol. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1215(1), 161-169.
- Pelliccia, M., Giannella, A., Giannella, J. (2001). Use of resveratrol for the treatment of exfoliative eczema, acne and psoriasis. Patent No. 09/813,948.
- Peng, W., Qin, R., Li, X., Zhou, H. (2013). Botany, phytochemistry, pharmacology, and potential application of *Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc: a review. *Journal of Ethnopharmacology*, 148(3), 729-745.
- Perona, G., Dall'Acqua, S., Sutb, S. (2018). Supplementation with resveratrol as *Polygonum cuspidatum* Sieb. et Zucc. extract induces changes in the excretion of urinary markers associated to aging in rats. *Fitoterapia*, 129, 154-161.
- Pillaiyar, T., Manickam, M., Namasivayam, V. (2017). Skin whitening agents: medicinal chemistry perspective of tyrosinase inhibitors. *Journal of Enzyme Inhibition and Medicinal Chemistry*, 32, 403-425.
- Polat, R. (2019). Ethnobotanical study on medicinal plants in Bingöl (City center) (Turkey).

Journal of Herbal Medicine, 16, 100211.

- Polat, R., Cakılcıoğlu, U., Satıl, F. (2013). Traditional uses of medicinal plants in Solhan (Bingöl-Turkey). *Journal of Ethnopharmacology*, 148, 951–963.
- Rabe, J. H., Mamelak, A. J., McElgunn, P. J. S., Morison, W. L., Sauder, D. N. (2006). Photoaging: mechanisms and repair. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 55(1), 1-19.
- Rangaraj, A., Harding, K., Leaper, D. (2011). Role of collagen in wound management. *Wounds UK*, 7(2), 54-63.
- Rao, T., Tan, Z., Peng, J., Guo, Y., Chen, Y., Zhou, H., Ouyang, D. (2019). The pharmacogenetics of natural products: A pharmacokinetic and pharmacodynamic perspective. *Pharmacological Research*, 146, 104283.
- Ratz-Lyko, A., Arct, J. (2019). Resveratrol as an active ingredient for cosmetic and dermatological applications: a review. *Journal of Cosmetic and Laser Therapy*, 21, 84–90.
- Rnjak-Kovacina, J., Weiss, A. S. (2013). The role of elastin in wound healing and dermal substitute design. *Dermal Replacements in General, Burn, and Plastic Surgery*, 57-66.
- Rodrigues, M. J., Slusarczyk, S., Peciod, L., Matkowski, A., Salmas, R. E., Durdağı, S., Pereira, C., Varela, J., Barreira, L., Custódio, L. (2018). *In vitro* and *in silico* approaches to appraise *Polygonum maritimum* L. as a source of innovative products with anti-ageing potential. *Industrial Crops & Products*, 111, 391–399.
- Rodriguesa, M. J., Matkowskib, A., Ślusarczykb, S., Magnéc, C., Polezea, T., Pereira, C., Custódioa, L. (2019). Sea knotgrass (*Polygonum maritimum* L.) as a potential source of innovative industrial products for skincare applications. *Industrial Crops & Products*, 128, 391–398.
- Romero-Pe´rez, I. A., Lamuela-Ravento´s, M., Waterhouse, L., Torre-Boronat, M. (1996). Levels of *cis* and *trans* resveratrol and their glucosides in white and rosé *Vitis vinifera* wines from Spain. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 44(8), 2124-2128.
- Ryu, G., Ju, J. H., Park, Y. J., Ryu, S. Y., Choi, B. W., Lee, B. H. (2002). The radical scavenging effects of stilbene glucosides from *Polygonum multiflorum*. *Archives of Pharmacol Research*, 25(5), 636-639.
- Saklani, A., Kutty, K. S. (2008). Plant-derived compounds in clinical trials. *Drug Discovery Today*, 13(3-4), 161-171.
- Salama, H. M. H., Marraiki, N. (2010). Antimicrobial activity and phytochemical analyses of *Polygonum aviculare* L. (Polygonaceae), naturally growing in Egypt. *Saudi Journal*

of *Biological Sciences*, 17, 57-63.

- Saraç, H., Daştan, T., Demirbaş, A., Daştan D., S., Karaköy, T., Durukan, H. (2018). Madımak (*Polygonum cognatum* Meissn.) bitki özütlerinin besin elementleri ve *in vitro* antikanserojen aktiviteleri. *Süleyman Demirel Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi*, 340-347.
- Sargın, S. A., Akçicek, E., Selvi, S. (2013). An ethnobotanical study of medicinal plants used by the local people of Alaşehir (Manisa) in Turkey. *Journal of Ethnopharmacology*, 150(3), 860-874.
- Sargina, S. A., Selvi, S., López, V. (2015). Ethnomedicinal plants of Sarigöl district (Manisa), Turkey. *Journal of Ethnopharmacology*, 171, 64-84
- Satooka, H., Kubo, I. (2012). Resveratrol as a kcat type inhibitor for tyrosinase: potentiated melanogenesis inhibitor. *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 20(2), 1090–1099.
- Seo, S. Y., Sharma, V. K., Sharma, N. (2003). Mushroom tyrosinase: recent prospects. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 51(10), 2837-2853.
- Shahraki, E. (2013). Antioxidant activity of *Polygonum patulum* M. Bieb. *Phytoscience*, 1(1), 001-005.
- Shaito, A., Posadino, A. M., Younes, N., Hasan, H., Halabi, S., Alhababi, D., Pintus, G. (2020). Potential adverse effects of resveratrol: a literature review. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(6), 2084.
- Shen, B. B., Yang, Y. P., Yasamin, S., Liang, N., Su, W., Chen, S. H., Wang, X. J., Wang, W. (2018). Analysis of the phytochemistry and bioactivity of the genus *Polygonum* of Polygonaceae. *Digital Chinese Medicine*, 1, 19-36.
- Shoulders, M. D., Raines, R. T. (2009). Collagen structure and stability. *Annual Review of Biochemistry*, 78, 929-958.
- Siedle, B., Hrenn, A., Merfort, I. (2007). Natural compounds as inhibitors of human neutrophil elastase. *Planta Medica*, 73(5), 401-420.
- Sin, B. Y., Kim, H. P. (2005). Inhibition of collagenase by naturally-occurring flavonoids. *Archives of Pharmacal Research*, 28(10), 1152-1155.
- Sin, B. Y., Kim, H. P. (2005). Inhibition of collagenase by naturally-occurring flavonoids. *Archives of Pharmacal Research*, 28(10), 1152-1155.
- Singh, A. P., Singh, R., Verma, S. S., Rai, V., Kaschula, C. H., Maiti, P., Gupta, S. C. (2019). Health benefits of resveratrol: Evidence from clinical studies. *Medicinal Research Reviews*, 39(5), 1851-1891.

- Smoliga, J. M., Baur, J. A., Hausenblas, H. A. (2011). Resveratrol and health-a comprehensive review of human clinical trials. *Molecular Nutrition & Food Research*, 55(8), 1129–1141.
- Sökmen, B. B., Sağkal, Y. (2017). Elastaz aktivitesine giresun yöresindeki bazı yenilebilir bitkilerin farklı çözücülerdeki ekstrelerinin inhibisyon etkilerinin incelenmesi. *Karadeniz Fen Bilimleri Dergisi*, 7(2), 10-18.
- Stehlin, D. (1992). Cosmetic safety: more complex than at first blush. Department of Health and Human Services, Public Health Service, Food and Drug Administration, Office of Public Affairs.
- Şahin, G., Keser, A. (2017). Resveratrolün adipozite üzerine etkileri. *Beslenme ve Diyet Dergisi*, 45(3), 264-272.
- Takaoka, M. (1939). Resveratrol, a new phenolic compound from *Veratrum grandiflorum*. *Journal of Chemical Society of Japan*, 60, 1090–1100.
- Tetik, F., Civelek, Ş., Çakılcıoğlu, U. (2013). Traditional uses of some medicinal plants in Malatya (Turkey). *Journal of Ethnopharmacology*, 146, 331–346.
- Thapa, S. B., Pandey, R. P., Park, Y. I., Sohng, J. K. (2019). Biotechnological advances in resveratrol production and its chemical diversity. *Molecules*, 24(14), 2571.
- Thiruvengadam, M., Praveen, N., Kim, E. H., Kim, S. H., Chung, I. M. (2014). Production of anthraquinones, phenolic compounds and biological activities from hairy root cultures of *Polygonum multiflorum* Thunb. *Protoplasma*, 251(3), 555–566.
- Thring, S. A. T., Hili, P., Naughton, D. P. (2009). Anti-collagenase, anti-elastase and anti-oxidant activities of extracts from 21 plants. *BMC Complementary and Alternative Medicine*, 9, 27.
- Tian, B., Liu, J. (2020). Resveratrol: A review of plant sources, synthesis, stability, modification and food application. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 100(4), 1392-1404.
- Tobin, D. J. (2017). Introduction to skin aging. *Journal of Tissue Viability*, 26, 37-46.
- Trouba, K. J., Hamadeh, H. K., Amin, R. P., Germolec, D. R. (2002). Oxidative stress and its role in skin disease. *Antioxidants & Redox Signaling*, 4(4), 665-673.
- Tuzlacı, E., Doğan, A. (2010). Turkish folk medicinal plants, IX: Ovacık (Tunceli). *Marmara Pharmaceutical Journal*, 14, 136-143.
- TÜBİVES. (2021). Türkiye Bitkileri Veri Servisi. Web: <http://www.tubives.com/> Son erişim tarihi: 04 Mayıs 2021’de alınmıştır.

- Uitto, J. (2008). The role of elastin and collagen in cutaneous aging: intrinsic aging versus photoexposure. *Journal of Drugs in Dermatology*, 7(2), 12-6.
- Vastano, B. C., Chen, Y., Zhu, N., Ho, C., Zhou, Z., Rosen, R. T. (2000). Isolation and identification of stilbenes in two varieties of *Polygonum cuspidatum*. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48, 253-6.
- Vrchotová, N., Sera, B., Triska, J. (2007). The stilbene and catechin content of the spring sprouts of *Reynoutria* species. *Acta Chromatographica*, 19, 21.
- Wang, D. G., Liu, W. Y., Chen, G. T. (2013). A simple method for the isolation and purification of resveratrol from *Polygonum cuspidatum*. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, 3(4), 241-247.
- Wang, Y., Xu, H., Fu, Q., Ma, R., Xiang, J. (2011). Protective effect of resveratrol derived from *Polygonum cuspidatum* and its liposomal form on nigral cells in Parkinsonian rats. *Journal of the Neurological Sciences*, 304(1-2), 29-34.
- Wart, V. H. E., Steinbrink, D. R. (1981). A continuous spectrophotometric assay for *Clostridium hystolyticum* collagenase. *Analytical Biochemistry*, 113(2), 356-365.
- Wittenauer, J., Mackle, S., Sussmann, D., Schweiggert-Weisz, U., Carle, R. (2015). Inhibitory effects of polyphenols from grape pomace extract on collagenase and elastase activity. *Fitoterapia*, 101, 179–187.
- Wu, J. M., Wang, Z. R., Hsieh, T. C. H., Bruder, J. L., Zou, J. G., Huang, Y. Z. (2001). Mechanism of cardioprotection by resveratrol, a phenolic antioxidant present in red wine. *International Journal of Molecular Medicine*, 8(1), 3-17.
- Wu, Y., Wang, X., Liu, P., Niu, Q., Wu, Q. (2017). Quantitative determination of anthraquinones and resveratrol in *Polygonum cillinerve* (Nakai) Ohwi by HPLC-PAD. *Journal of AOAC International*, 100(1), 25-29.
- Wu, Z., Wang, X., Chen, M., Hu, H., Cao, J., Chai, T., Wang, H. (2019). A Study on tissue-specific metabolite variations in *Polygonum cuspidatum* by high-resolution mass spectrometry-based metabolic profiling. *Molecules*, 24(6), 1058.
- Xiao-jing, L., Pei-dong, S., Jing-ru, Q., Guang-qun, C., Cheng, Y. (2012). Elastase inhibitory activity of extracts from *Polygonum cuspidatum*. *Natural Product Research and Development*, 24, 378–380.
- Yaar, M., Eller, M. S., Gilchrest, B. A. (2002). Fifty Years of skin aging. *Journal of Investigative Dermatology Symposium Proceedings*, 7, 51-58.
- Yagi, A., Kanbara, T., Morinubo, N. (1987). Inhibition of mushroom tyrosinase by aloe extract. *Planta Medica*, 53, 515–517.

- Yan, H., Jianyu, Z., Wei, N., Changxiang, C. (2001). Studies on the constituents of *Reynoutria japonica* Houtt. *Natural Product Research and Development*, 13(6), 16-18.
- Yang, Z., Yang, S., Misner, B. J., Chiu, R., Liu, F., Meyskens, F. L. (2008). Nitric oxide initiates progression of human melanoma *via* a feedback loop mediated by apurinic/apyrimidinic endonuclease-1/redox factor-1, which is inhibited by resveratrol. *Molecular Cancer Therapeutics*, 7(12), 3751-3760.
- Yunuskhodzhaeva, N. A., Eshbakova, K. A., Abdullabekova, V. N. (2010). Flavonoid composition of the herb *Polygonum aviculare*. *Chemistry of Natural Compounds*, 46(5), 803-804.
- Zahedi, H. S., Jazayeri, S., Ghiasvand, R., Djalali, M., Eshraghian, M. R. (2013). Effects of *Polygonum cuspidatum* containing resveratrol on inflammation in male professional basketball players. *International Journal of Preventive Medicine*, 4, S1–4.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı: DOĞRU, Tuğsen

Uyruğu: T.C.

Eğitim Derecesi

Yüksek lisans

Eğitim Birimi

Gazi Üniversitesi

Farmakognozi ABD

Mezuniyet Tarihi

/ Devam ediyor

Lisans

Gazi Üniversitesi

Eczacılık Fakültesi

/ 2018

Lise

Karatay TOKİ

Anadolu Lisesi

/ 2013

İş Deneyimi, Yıl

2019-devam ediyor

Çalıştığı Yer

Selçuk Üniversitesi

Eczacılık Fakültesi

Farmakognozi ABD

Görev

/ Araştırma Görevlisi

2018-2019

Dünyagöz Hastanesi

/ Mesul Müdür Eczacı

Yabancı Dil

İngilizce



GAZİLİ OLMAK AYRICALIKTIR..